

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

TESE

Ácidos Húmicos de Solos Escuros da Amazônia
(Terra Preta de Índio)

Tony Jarbas Ferreira Cunha

2005



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLOS ESCUROS DA AMAZÔNIA
(TERRA PRETA DE ÍNDIO)**

TONY JARBAS FERREIRA CUNHA

Sob a Orientação do Professor
Gabriel de Araújo Santos

e Co-orientação dos Pesquisadores
Beata Eموke Madari
Ladislau Martin Neto

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências em
Agronomia, Área de Concentração
em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Abril de 2005

631..417

C972a

T

Cunha, Tony Jarbas Ferreira, 1964-

Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia (Terra preta de índio) / Tony Jarbas Ferreira Cunha. – 2005.

138f. : il., tab.

Orientador: Gabriel de Araújo Santos.

Tese(doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia.

Bibliografia: f. 97-118.

1. Solos – Teor de ácido húmico – Amazônia – Teses.
2. Solos – Acidez – Amazônia – Teses. 3. Ácido húmico – Teses. 4. Análise espectral – Teses. I. Santos, Gabriel de Araújo, 1949- . II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Agronomia. III. Título.

INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO

TONY JARBAS FERREIRA CUNHA

Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo, como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** em Agronomia.

TESE APROVADA EM 04/04/2005

Gabriel de Araújo Santos . Ph.D. UFRRJ
(orientador)

Ladislau Martin Neto. Dr. Embrapa Instrumentação Agropecuária
(Co-Orientador)

Maria Olimpia de Oliveira Rezende . Dra. USP

Lucedino Paixão Ribeiro. Dr. UFBA

Luciano Pasqualoto Canellas. Dr. UENF

DEDICATÓRIA

Aos povos indígenas e caboclos da Floresta, ao planeta Terra, a todos os seres Divinos, a minha amada Lila, um primor de companheira e aos meus pais Antonio Barbosa da Cunha e Reinilde Ferreira Cunha.

PLANETA TERRA

Este globo flutuante
No espaço sideral
É o planeta Terra
Da criação universal

Deus quando criou
Ele empregou o Seu poder
Formando um equilíbrio
Para nós poder viver

Da água se fez o ar
E do mar surgiu a vida
Começo de uma escala
De duração infinita

Vivam os oceanos
As florestas e as montanhas
E tudo que aqui habita
Os animais e as plantas

Só o reinado humano
Vive desequilibrado
Não viveram em harmonia
E agora são culpados

Estão destruindo a terra
E poluindo o mar
Derribando as florestas
E acabando com o ar

Peço força a meu Pai
Para defender a minha Mãe
Garantir o direito à vida
Das gerações do amanhã.

“Padrinho Paulo Roberto”

ORAÇÃO SIMPLES

Senhor, fazei-me instrumento de vossa paz
Onde houver ódio, que eu leve o amor
Onde houver ofensa, que eu leve o perdão
Onde houver discórdia, que eu leve a união
Onde houver dúvida, que eu leve a fé
Onde houver erro, que eu leve a verdade
Onde houver desespero, que eu leve a esperança
Onde houver tristeza, que eu leve a alegria
Onde houver trevas, que eu leve a luz.

Ô Mestre, fazei que eu procure mais
Consolar que ser consolado
Compreender que ser compreendido
Amar que ser amado
Pois é dando que se recebe
É perdoando que se é perdoado
E é morrendo que se vive
Para a vida eterna.

“São Francisco de Assis”

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Juramidã, quem dá força para vencer as batalhas da minha vida.

Ao Mestre Irineu e ao Padrinho Sebastião, amigos da espiritualidade e parceiros neste trabalho. Ao Dr. Win Sombroek, *1934-†2003, pelas boas conversas à beira dos perfis de terras pretas.

À Embrapa Solos e a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade de realização do meu Doutorado.

À Embrapa Instrumentação Agropecuária e sua equipe técnica (Marcelo Simões, Wilson Tadeu, Débora Milori, Colnago) entre outros colegas e estudantes, pelo apoio na realização das análises espectroscópicas de UV-Vis, RPE, RMN e Fluorescência. À Universidade do Norte Fluminense (UENF) e a Saint Steven University/Hungria pelo apoio nas análises de Infravermelho e Titulação Potenciométrica. À USP de São Carlos, também pelo apoio a este estudo.

Ao Profº Dr. Gabriel de Araújo Santos e aos pesquisadores Drª. Beata Eموke Madari e Drº Ladislau Martin Neto, orientador e co-orientadores, respectivamente, pelos ensinamentos, amizade, incentivo e confiança em mim depositada durante a realização deste trabalho.

Aos colegas Humberto Gonçalves dos Santos, Nilson Rendeiro Pereira, Braz Calderano Filho, Adoildo da Silva Melo, Enio Fraga da Silva, João Souza Martins pelo apoio nos trabalhos de campo na Amazônia.

As amigas Lúcia Helena Cunha dos Anjos, Luciene Lucas e ao amigo Roberto, pelo apoio na revisão do trabalho, incentivo e ajuda durante todo o decorrer do treinamento. Também aos professores do curso de Pós-graduação em Agronomia da UFRRJ pelos incentivos e amizade.

Aos colegas Daniel Vidal Perez, Vinicius de Melo Benites, Celso Vainer Manzatto, Gilson Gregores, Etelvino Novotny, H. Knicker, David Vilas Boas, Leocadio Correa de Mesquita, Mauro da Conceição, Rojane Chapeta Peixoto Santos, Rondinele Mouta e Viviane Escaleira, pelo apoio nas análises laboratoriais.

Às colegas Claudia Regina Delaia, Ione Ferro Martins e Maria da Penha Delaia pelo apoio bibliotecário e às colegas Jacqueline Silva Rezende Mattos e Mirian Miguel Augusto da Cruz pela ajuda na formatação desta tese.

Outras pessoas (técnicos de laboratório, bibliotecárias, colegas pesquisadores, professores e estudantes) que posso não ter me recordado e que deram apoio a este trabalho, agradeço do fundo do meu coração.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Os Solos Antropogênicos da Amazônia Brasileira: As Terras Pretas...	04
2.2. O Carbono Pirogênico (Black Carbon) e os Solos Antropogênicos.....	06
2.3. As Substâncias Húmicas	07
2.4. Natureza, Composição e Estrutura dos Ácidos Húmicos.....	08
2.5. Extração e Fracionamento do Material Húmico	08
2.6. Caracterização Física e Química (Métodos Espectroscópicos).....	10
2.6.1 Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV - Vis)	11
2.6.2 Espectroscopia no infravermelho (IV)	12
2.6.3 Espectroscopia de fluorescência	14
2.6.4 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE)	16
2.6.5 Espectroscopia ressonância magnética nuclear (RMN)	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Descrição, Coleta e Caracterização Morfológica	20
3.2. Análises Laboratoriais de Rotina	21
3.3. Análises Laboratoriais Especiais	21
3.3.1 Quantificação das substâncias húmicas	21
3.3.2 Extração, fracionamento químico e purificação do material húmico para fins analíticos	21
3.3.3 Análise termogravimétrica e determinação do conteúdo de cinzas (avaliação da estabilidade térmica dos ácidos húmicos)	22
3.3.4 Análise da composição elementar (estudo da composição química dos ácidos húmicos)	22
3.3.5 Acidez total	22
3.3.6 Acidez carboxílica (COOH) e acidez fenólica (OH)	23
3.3.7 Grau de oxidação (w)	23
3.3.8 Espectroscopia na região do ultravioleta-visível, relação E_4/E_6 e coeficiente $\Delta\log k$	23
3.3.9 Espectroscopia na região do infravermelho DRIFT (caracterização dos grupamentos funcionais presentes nas estruturas dos ácidos húmicos)	24
3.3.10 Espectroscopia de fluorescência e estimativa do grau de humificação	24
3.3.11 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) (quantificação dos radicais livres orgânicos dos ácidos húmicos)	25
3.3.12 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de polarização cruzada e rotação no ângulo mágico com amplitude variável (RMN ^{13}C -VACP/MAS) (caracterização dos tipos de átomos de carbono presentes nas estruturas dos ácidos húmicos)	25

3.3.13 Índice de polaridade.....	27
3.4 Análises estatísticas dos dados químicos e espectroscópicos	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. Características Químicas dos Solos	29
4.2. Quantificação das Substâncias Húmicas em Perfis de Solos Modais Representativos dos Grupos de Ácidos Húmicos	31
4.3. Análise Termogravimétrica	37
4.4. Composição Elementar	39
4.5. Fórmulas Empíricas e Massas Moleculares Teóricas	44
4.6. Acidez Total, Carboxílica e Fenólica	45
4.7. Caracterização por Espectroscopia de UV-VÍIS	47
4.8. Caracterização por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT)	50
4.9. Caracterização por Espectroscopia de Fluorescência	56
4.9.1 Espectros de excitação com emissão em 543nm	56
4.9.2 Espectros de emissão com excitação em 240nm	58
4.9.3 Espectros de emissão com excitação em 465nm	59
4.9.4 Espectros de varredura síncrona $\lambda = 55\text{nm}$	59
4.9.5 Estimativa do grau de humificação	61
4.10. Caracterização por Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)	67
4.10.1 Curvas de saturação de potência.....	67
4.10.2 Quantificação dos radicais livres orgânicos (RLO)	68
4.10.3 Efeito da temperatura na concentração de radicais livres orgânicos de amostras de solo intactas representativas de solos antropogênicos e não antropogênicos	72
4.11. Caracterização por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear com Amplitude Variável (VACPMA ^s RMN ¹³ C).....	73
4.12. Outras Correlações Obtidas Entre os Resultados Provenientes das Diversas Técnicas Utilizadas Neste Estudo e Índices Propostos na Literatura Científica.....	80
5. ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA (ESTATÍSTICA MULTIVARIADA) DOS DADOS QUÍMICOS E ESPECTROSCÓPICOS	85
5.1 Estatística Multivariada: Análise Fatorial	85
5.2. Estatística Multivariada: Análise de Agrupamentos Hierárquicos	90
5.3. Estatística Multivariada: Análise Discriminante	91
6. CONCLUSÕES	94
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
9. ANEXOS	119

RESUMO

CUNHA, Tony Jarbas Ferreira. **Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia (Terra Preta de Índio)**. Seropédica: UFRRJ, 2005. 138p. (Tese, Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo).

Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia brasileira (Terra Preta do Índio) foram caracterizados usando-se espectroscopias de UV-Vis, DRIFT, Fluorescência de excitação e emissão, EPR, e RMN, análises termogravimétricas, composição elementar, e medidas de acidez (total, carboxílica e fenólica). A fração ácidos húmicos (AH) foi extraída usando-se o método da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). Os AH foram separados em três grupos conforme o uso da terra. Solos antropogênicos sob floresta (SAF), solos antropogênicos sob cultivo (SAC) e solos não antropogênicos sob floresta (SNAF). Os solos do grupo SNAF são representativos dos Latossolos amazônicos e foram coletados em áreas adjacentes aos solos antropogênicos, sendo este o grupo referência para comparação como os grupos SAF e SAC. Teste de comparação de média (teste t), e análises estatísticas multivariadas (análise fatorial, análise de agrupamento e análise discriminante) foram aplicadas no estudo. Os solos dos grupos SAF e SAC mostraram melhores características de fertilidade que os solos não antropogênicos (SNAF) (pH: SAF = 5,1, SAC = 5,4, SNAF = 4,4; saturação por bases [V%]: SAF = 59, SAC = 51, SNAF = 18; capacidade de troca cátions [CTC]: SAF = 17,5, SAC = 17,2, SNAF = 9,5 cmol_c kg⁻¹; P assimilável: SAF = 116, SAC = 291, SNAF = 5 mg kg⁻¹). No grupo SAF e SAC ~ 44% do carbono total foi encontrado na fração humina, ~32% na fração ácidos húmicos e ~13% na fração ácidos fúlvicos. Estes valores para o grupo SNAF foram 49, 19 e 16%, respectivamente. A mais relevante característica dos AH dos solos antropogênicos, comparado aos solos não antropogênicos foram sua superior reatividade, estabilidade, e grau de humificação. Os AH dos grupos SAF e SAC foram caracterizados por alta acidez total (SAF = 612, SAC = 712, SNAF = 575 cmol kg⁻¹) e acidez carboxílica (SAF = 435, SAC = 454, SNAF = 320 cmol kg⁻¹), altas concentrações de radicais livres orgânicos (SAF = 4,07, SAC = 6,59, SNAF = 2,11 spin g⁻¹ 10¹⁷), alto índice termogravimétrico (ITG) (SAF = 3,0, SAC = 3,3, SNAF = 2,3), baixa razão E₄/E₆ (SAF = 4,2, SAC = 4,2, SNAF = 6,0), alto índice de aromaticidade (IADRIFT: SAF = 0,87, SAC = 0,85, SNAF = 0,77; NMR(%): SAF = 36, SAC = 39, SNAF = 25), alto índice de hidrofobicidade (SAF = 0,37, SAC = 0,48, SNAF = 0,35), alto grau de humificação (A₄/A₁: SAF = 2,574, SAC = 3,313, SNAF = 1,713; I₄₈₅/I₄₀₀: SAF = 2,004, SAC = 2,161, SNAF = 1,510), e foram mais recalcitrantes (C recalcitrante/C lábil: SAF = 2,0, SAC = 2,0, SNAF = 1,0) que os AH do grupo SNAF. Os dados também mostraram diferenças entre os AH dos grupos SAF e SAC.

Palavras chave: Espectroscopia, reatividade, estabilidade, fertilidade, carbono pirogênico.

ABSTRACT

CUNHA, Tony Jarbas Ferreira. **Humic acids of the Amazonian dark earth soils: Terra Preta de Índio**. Seropédica: UFRRJ, 2005. 138p. (Thesis, Doctor Science. in Agronomy, Soil Science).

The HA of some Amazonian dark earth soils (Terra Preta de Índio) from Brazilian territory were characterized using ultraviolet-visible (UV-Vis), Fourier transform diffuse reflectance infrared (DRIFT), fluorescence excitation and emission, electron paramagnetic resonance (EPR), and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, thermogravimetric analysis, elemental composition, and measurement of acidity (total, carboxylic, phenolic). The HA fraction was extracted using the method recommended by the International Humic Substances Society (IHSS). The HA samples were separated in 3 groups based on the corresponding land use of the area of its origin: anthropogenic soils under forest (SAF), anthropogenic soils under agricultural use (SAC), non-anthropogenic soils under forest (SNAF). The SNAF soils were representative of Amazonian soils. They were collected to adjacent areas to the anthropogenic soil profiles. This way the SNAF group was a reference group for comparison purposes to the anthropogenic soil groups (SAF and SAC). Comparative (test t) and multivariate statistical analyses (factor analysis, cluster analysis, and discriminant analysis) were applied in the study. The anthropogenic soil groups (SAF and SAC) showed better fertility characteristics than the non-anthropogenic soils (SNAF) (pH: SAF = 5.1, SAC = 5.4, SNAF = 4.4; base saturation [V%]: SAF = 59, SAC = 51, SNAF = 18; calculated cation exchange capacity [CEC]: SAF = 17.5, SAC = 17.2, SNAF = 9.5 $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$; available P: SAF = 116, SAC = 291, SNAF = 5 mg kg^{-1}). In the SAF and SAC soil groups ~44% of the total carbon was found in the humin fraction, ~32% in the humic acid fraction, and ~13% in the fulvic acid fraction. These values for the SNAF soils were 49, 19, 16%, respectively. The most relevant characteristics of the HA of anthropogenic soils, compared to the non-anthropogenic ones were their superior reactivity, stability, and humification degree. The HA of the SAF and SAC groups featured higher total acidity (SAF = 612, SAC = 712, SNAF = 575 cmol kg^{-1}) and carboxylic acidity (SAF = 435, SAC = 454, SNAF = 320 cmol kg^{-1}), higher concentration of organic free radicals (SAF = 4.07, SAC = 6.59, SNAF = 2.11 $\text{spin g}^{-1} 10^{17}$), higher thermogravimetric index (ITG) (SAF = 3.0, SAC = 3.3, SNAF = 2.3), lower E_4/E_6 ratio (SAF = 4.2, SAC = 4.2, SNAF = 6.0), higher aromaticity index (IADRIFT: SAF = 0.87, SAC = 0.85, SNAF = 0.77; NMR(%): SAF = 36, SAC = 39, SNAF = 25), higher hydrophobicity index (SAF = 0.37, SAC = 0.48, SNAF = 0.35), higher humification degree (A4/A1: SAF = 2.574, SAC = 3.313, SNAF = 1.713; I485/I400: SAF = 2.004, SAC = 2.161, SNAF = 1.510), and were more recalcitrant (recalcitrant C/labile C: SAF = 20, SAC = 20, SNAF = 1.0) than the HA of the SNAF group. Data also showed that there was difference between the HA of the SAF and SAC soil groups.

Key words: Spectroscopy, reactivity, stability, fertility, black carbon

1. INTRODUÇÃO

O solo exerce grande influência sobre os ambientes e as sociedades de maneira geral, sendo um dos mais importantes recursos naturais, essenciais para o desenvolvimento do país. Mesmo em solos considerados pobres química e fisicamente, sociedades altamente desenvolvidas foram estabelecidas, como é o caso de Israel. Em diferentes regiões do mundo, seja em clima tropical ou temperado, foram realizadas inúmeras comparações detalhadas entre solos naturais, portanto não antropofizados e os de regiões vizinhas, onde o homem tem exercido diferentes ações sobre o mesmo, dentre elas, a agricultura.

Em diferentes locais, foi possível muitas vezes, acompanhar a evolução dos solos, à medida que se fazia o desmatamento e o cultivo, comparando-se diversas técnicas de desmatamento e utilização dos mesmos. Esses estudos revelaram, à primeira vista, que as rupturas de equilíbrio provocadas pelas mudanças ambientais, afetam substancialmente os solos. Na realidade, freqüentemente, acarretam também importantes modificações na morfologia superficial e profunda dos mesmos (Ruellan, 1988).

Os problemas causados pela erosão dos solos, a necessidade de conservá-los e o manejo destes, como base do desenvolvimento sustentável da produção agrícola e das sociedades, são fatores importantes para demonstrar ao homem moderno que o solo ainda é bastante desconhecido em seus processos dinâmicos e, portanto mal utilizado.

Nas últimas décadas, as atividades agrícolas vêm modificando a cobertura vegetal original de grande parte do território brasileiro. Ecossistemas naturais, como a floresta amazônica, vêm, há muito tempo, perdendo suas características originais, cedendo lugar a atividades agropecuárias ou extrativistas. A expansão das fronteiras agrícolas tem acarretado grandes desequilíbrios em regiões florestais no Brasil, com a introdução do arroz e da soja, principalmente na parte sul da região amazônica, ocasionando desmatamentos que têm levado à degradação com perda da biodiversidade, redução do conteúdo de matéria orgânica e também acarretando a degradação da cobertura pedológica, pelo esgotamento e erosão.

Entretanto, na Amazônia brasileira, ocorrem solos com horizontes superficiais de coloração escura e que apresentam elevados teores de nutrientes, denominados de horizonte A antrópico, e estes solos mesmos quando submetidos ao uso agrícola mantêm as suas características de fertilidade e altos conteúdos de matéria orgânica por muitos anos. Este tipo de epipedon é encontrado em diversos tipos de solos de ocorrência na Amazônia brasileira, tais como latossolos, argissolos, cambissolos, plintossolos e nitossolos, ainda sob floresta ou submetidos a diversos tipos de exploração agrícola, com culturas de subsistência como o milho, feijão e mandioca, além de fruticultura, hortaliças e até mesmo produção de grama em larga escala.

Atualmente, estudos vêm sendo realizados com estes solos objetivando: analisar as razões para a alta sustentabilidade dos mesmos; obter informações sobre quais práticas de uso de terra, pelas colonizações indígenas anteriores, conduziu a tal enriquecimento duradouro e desenvolver pacotes tecnológicos visando reproduzir estes benefícios para os agricultores, atuais proprietários destas terras. Por exemplo, pesquisas com sistema de cultura têm sido desenvolvidas nestes solos pela EMBRAPA.

Vários trabalhos também foram realizados, principalmente em relação à gênese dos solos com horizonte A antrópico. Entretanto, muito pouco foi feito no que diz respeito a

estudos sobre as características químicas, propriedades físico-químicas e espectroscópicas da sua matéria orgânica. Nada foi encontrado na literatura em relação ao estudo destas propriedades, em frações humificadas da matéria orgânica, quando estes solos são submetidos ao uso agrícola.

Acredita-se que o estudo dos ácidos húmicos dos solos antropogênicos através de suas características espectroscópicas, concentração e características físico-químicas pode contribuir para o conhecimento da matéria orgânica destes solos, bem como de diversos aspectos relacionados a características estruturais, funcionalidade, reatividade, efeito do uso agrícola e potencial produtivo dos mesmos. Este estudo é parte de um projeto maior da EMBRAPA denominado de *“Terra Preta Nova: sistemas indígenas e manejo do solo como base do desenvolvimento de manejo sustentável da fertilidade de solos da Amazônia”*.

O estudo da matéria orgânica em agroecossistemas brasileiros é tema estratégico para que se alcance a sustentabilidade da agricultura em ecossistemas tropicais, e da preservação ambiental mundial. Todavia, no que concerne aos solos antropogênicos, muitas questões estão ainda por serem respondidas, principalmente quanto a sua origem, distribuição e características da sua matéria orgânica. A justificativa de estudo destes solos está baseada nas seguintes razões:

- As propriedades destes solos podem fornecer informações sobre estratégias de assentamentos, capacidade de suporte e comportamento dos povos indígenas em tempos pré-históricos. Estas informações tornam-se importantes devido ao fato de que existem poucas informações documentadas.
- Uma importante fonte de produção de alimentos na Amazônia, pelos caboclos locais, é sobre estes solos. As terras pretas antrópicas apresentam alta fertilidade e são altamente valorizadas pelos agricultores locais. Poucas pesquisas agrônômicas foram realizadas com estes solos.
- A alta e sustentável fertilidade destes solos favorece produções agrícolas elevadas, sem o uso de fertilizantes, levando a execução de uma produção agrícola ambientalmente amigável. A maioria dos solos da região Amazônica são altamente intemperizados e tem baixos conteúdos de nutrientes disponíveis. Se as técnicas utilizadas pelos índios pré-colombianos para construir a Terra Preta forem conhecidas, pequenos proprietários poderiam melhorar o padrão de vida sem a necessidade de derrubar novas áreas quando as suas terras diminuíssem a produtividade. Isto contribuiria para a preservação de valiosos recursos naturais.
- A grande estabilidade e o elevado conteúdo de matéria orgânica têm importantes implicações para o sequestro de carbono no solo. O estoque de carbono nas Terras Pretas é frequentemente maior do que nos solos adjacentes, mesmo considerando a sua área de abrangência. Se os níveis de matéria orgânica de outros solos agrícolas puderem ser aumentados, como no caso das Terras Pretas, menores quantidades de CO₂ seriam emitidas para a atmosfera. Isto pode ter importante efeito nas mudanças climáticas.

A hipótese científica deste trabalho é “mesmo considerando a alta recalcitrância da matéria orgânica e o tipo peculiar de formação dos solos antropogênicos, quando estes são submetidos ao uso agrícola, há diferenças nas propriedades químicas e espectroscópicas dos seus ácidos húmicos”.

O objetivo geral deste trabalho foi estudar a natureza físico-química e as características espectroscópicas de ácidos húmicos de solos com horizonte A antrópico, submetidos ao uso agrícola, de diversas regiões da Amazônia brasileira. Os objetivos específicos encontram-se listados abaixo:

1. Estudar a composição quantitativa das frações humificadas da matéria orgânica dos solos antropogênicos (ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina) e as possíveis relações destas com a fertilidade dos solos;
2. Estudar a composição elementar, a acidez total, os grupos funcionais e identificar as principais unidades estruturais dos ácidos húmicos de solos com horizonte A antrópico;
3. Estudar as possíveis mudanças nas características físico-químicas e espectroscópicas dos ácidos húmicos decorrentes do uso agrícola;
4. Verificar a adequabilidade de uso das técnicas disponíveis (ressonância magnética nuclear, ressonância paramagnética eletrônica, espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia na região do ultravioleta-visível, análises termodegradativas, espectroscopia de fluorescência), em estudos físico-químicos de substâncias húmicas de solos antropogênicos;
5. Avaliar as características de reatividade, estabilidade e o grau de humificação dos ácidos húmicos em solos submetidos ao uso agrícola, através de diferentes técnicas espectroscópicas e outros parâmetros químicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Os Solos Antropogênicos da Amazônia Brasileira: As Terras Pretas

Na Amazônia Brasileira, ocorrem solos com horizontes superficiais de cor escura e que apresentam elevados teores de fósforo e cálcio, que são conhecidos, popularmente, como “Terra Preta dos Índios” (Cunha et al., 2001; Kern & Kämpf, 1989; Smith, 1980; Sombroek, 1966). Estes horizontes de coloração escura são denominados no Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, de horizonte A antrópico (EMBRAPA, 1999) e são definidos como:

“Horizonte formado ou modificado pelo uso contínuo do solo, pelo homem, como lugar de residência ou cultivo, por períodos prolongados, com adições de material orgânico em mistura ou não com material mineral, ocorrendo, às vezes, fragmentos de cerâmica e restos de ossos e conchas. Este tipo de horizonte se assemelha aos horizontes A chernozêmico ou A húmico, já que a saturação por bases é variável, e, geralmente, difere destes por apresentar teor de P_2O_5 solúvel em ácido cítrico mais elevado que na parte inferior do solum, em geral superior a 250mg/kg de solo. Por sua elevada fertilidade, são procurados por populações ribeirinhas para o cultivo da agricultura de subsistência como mandioca, banana, milho, mamão, etc.”.

As áreas com Terra Preta são encontradas na região amazônica, sobre os mais diversos tipos de superfícies geomórficas (Lima, 2001), e ordens de solos tais como: Latossolos, Argissolos, Cambissolos, Nitossolos e Plintossolos (Cunha, 2001; Lima, 2001; Kern & Kämpf, 1989; Smith, 1980). O horizonte A antrópico, que corresponde à camada de Terra Preta, possui em média 40 a 50 cm de espessura podendo chegar até mesmo a 200 cm de profundidade (Cunha, 2001; Hartt, 1885).

A cor preta dos horizontes superficiais das Terras Pretas foi atribuída ao maior acúmulo de material orgânico nestes solos, Kern & Kämpf (1989). Smith (1980) atribuiu este acúmulo, principalmente, aos resíduos de queimadas, sendo corroborado por Glaser et al., (1999 e 2000).

Os resultados obtidos por Glaser et al. (1999 e 2000), mostram conteúdos mais elevados de carvão na matéria orgânica do solo (MOS) das Terras Pretas, podendo representar até 35% da matéria orgânica destes solos e ocorre em todo o horizonte A antrópico, ao passo que nos outros solos, o carvão ocorre apenas nos primeiros centímetros do horizonte A, em concentrações inferiores a 14%.

A estabilidade da cor escura destes horizontes, depois de prolongados períodos de exposição, às condições de clima tropical quente e úmido com chuvas torrenciais, foi enfocada por Smith (1980), como fato extraordinário. Para o autor, tal fato parece mais uma consequência dos altos conteúdos de carvão nos horizontes A antrópicos. O carvão, em razão de sua estrutura altamente aromática, é química e microbiologicamente inerte e persiste

no ambiente por milhares de anos (Glaser et al., 2000). Não está claro, no entanto, segundo esses mesmos autores, se é preservado apenas em razão da sua recalcitrância ou se processos químicos de estabilização também estão envolvidos.

A intensidade da cor escura e a profundidade dos horizontes antrópicos parecem indicativas do tempo e continuidade da ocupação dos sítios (Denevan, 1996). Smith (1980) sugere uma taxa de acumulação de cerca de 1 cm para cada dez anos de ocupação, e sendo assim, 2m de profundidade indicaria 2.000 anos de ocupação. Sugestão não corroborada por Lima, (2001), que por não se conhecer com razoável segurança a densidade populacional e os costumes de cada população da Amazônia pré-colombiana, este cálculo torna-se inadequado.

Estes solos têm sido documentados com mais frequência, acompanhando os principais rios da região, podendo também ser encontrado nas áreas de interflúvios a poucas centenas de metros de algum curso de água. Segundo Smith (1980), as terras pretas ribeirinhas são mais extensas e mais profundas do que aquelas encontradas nas áreas de interflúvios.

Para Lima (2001), parece evidente que a ocupação histórica do espaço amazônico foi intrinsecamente associada à penetração através da várzea, a qual representa uma fonte abundante de proteína animal de fácil captura (peixes, quelônios, peixe-boi, outrora abundante). Por possuir solos mais ricos, poderia sustentar produções maiores e requerer menor esforço para preparo da área, além de representar uma importante, e, talvez, única via de transporte para as populações pré-colombianas.

Várias hipóteses foram levantadas sobre a origem e formação das Terras Pretas. Até meados do século passado, pesquisadores entendiam que estes solos ter-se-iam originados em função de eventos geológicos: cinzas vulcânicas, decomposição de rochas vulcânicas ou a partir de sedimentos depositados em fundos de lagos extintos (Camargo, 1941; Falesi, 1972; Faria, 1946; Franco, 1962).

A primeira descrição de Terra Preta foi realizada por Hartt (1885), conhecida naquela época como “terra cotta”. Este termo é baseado numa sequência de publicações arqueológicas indicando que naquela época as cerâmicas foram provavelmente às únicas relíquias das culturas antigas, Zech & Glaser (2001).

Tão antigos quanto as investigações das Terras Pretas foram os questionamentos sobre a sua origem. Faria (1946), propôs que as áreas de Terra Preta já eram férteis antes do estabelecimento da população nativa. Mais tarde, uma sequência de origem geogênica foi proposta. Por exemplo, vulcânica (Hilbert, 1955), fluvial (Franco, 1962) e sedimentar (Falesi, 1974).

A primeira sugestão de uma origem antropogênica para as Terras Pretas foi proposta por Gourou (1949). Desde então esta teoria foi corroborada por EMBRAPA (1999), Falesi (1972), Glaser (1999), Hilbert (1968), Ranzani et al., (1962), Smith (1980), Sombroek (1966), Woods et al., (1999a, 2000) e Zech et. al., (1990). Entretanto, ainda existem controvérsias sobre como o homem pré-colombiano formou estes horizontes, se em função da incorporação intencional de nutrientes ao solo através de práticas de manejo como queimadas, ou se estes solos teriam se originado a partir da ocupação humana pretérita, ou seja, esses solos seriam antigos assentamentos indígenas (Kern & Kämpf, 1989; Kern, 1996; Sombroek, 1966).

Durante os anos 60 e 70, áreas de Terra Preta por toda parte da bacia amazônica foram mapeadas e investigadas, em relação a parâmetros que davam suporte à origem antropogênica destes solos. Nos anos 80 pensou-se que a Terra Preta era um tipo de local de

despejos de restos alimentares, que adquiriu fertilidade específica por adição de esterco, lixo doméstico e refugos de caça e pesca (Zech et al., 1990). Todavia, está ainda sujeitas a especulação o mecanismo detalhado pelo qual o húmus da Terra Preta adquiriu sua estabilidade e propriedades especiais.

No final dos anos 90, investigações a nível molecular mostraram que as Terras Pretas contêm grandes quantidades de resíduos carbonizados, que são conhecidos por conterem altos teores de nutrientes e persistirem no ambiente por séculos. Futuras pesquisas deverão focar-se sobre a identificação de práticas de uso da terra pelas populações pré-colombianas e a implementação deste conhecimento para criar novas áreas de Terras Pretas.

2.2. O Carbono Pirogênico (Black Carbon) e Os Solos Antropogênicos.

A ocorrência de carvão em solos antropogênicos, como as Terras Pretas do Índio na Amazônia, tem sido relatada na literatura (Sombroek, 1966; Glaser et al., 2000), indicando que resíduos de queima de materiais orgânicos, provavelmente contribuem para a matéria orgânica de solos antropogênicos, e que estes são os responsáveis pela estabilidade da matéria orgânica nestes solos (Zech, 1990; Glaser et al., 2000).

Altos conteúdos de material orgânico recalcitrante nas terras pretas (Zech et al., 1990), podem ser atribuídos à utilização de resíduos de combustão e até mesmo ao uso de cinzas (fuligem) como fertilizantes. Isto porque o fogo é fator dominante na história de ecossistemas florestais, e a grande maioria das florestas do mundo, com exceção das florestas permanentemente úmidas e de cinturões mais úmidos nos trópicos, foram queimadas em intervalos freqüentes de mais ou menos mil anos (Spurr & Barnes, 1973).

Novakov (1984) definiu o termo black carbon como “material produzido por combustão e que apresenta microestrutura grafitica”. Termos como carvão, fuligem, carbono elementar ou carbono pirogênico, são encontrados na literatura como sinônimos de black carbon. Este material pode ser encontrado em toda superfície terrestre (Glaser, 1998). Estudando solos Australianos (Skjemstad et al., 1999), identificou carvão nestes solos e atribuiu sua presença ao manejo do fogo pelos povos aborígenes por milhares de anos. Em solos da Alemanha, Schmidt et al., (1999), detectou carvão finamente dividido como o principal constituinte da MOS de Chernossolos.

Estudo desenvolvido em solos antropogênicos na região da Bavária na Alemanha, datado do período Neolítico, com idade entre 2.700 a 5.500 anos e onde foram encontrados artefatos e covas, como os que ocorrem nos solos antropogênicos da Amazônia, evidenciaram que o carbono aromático detectado por várias técnicas espectroscópicas é derivado do carvão. Este carvão é proveniente de queima da vegetação ou de outros materiais carbonizados como resíduos de queimas de outros locais no mesmo período, Schmid, et al., (2001).

Estudando o efeito da vegetação e da queima na composição química da matéria orgânica em solos derivados de cinzas vulcânicas (Golchin et al., 1997), observaram que em pastagens onde ocorre queima anual, a matéria orgânica do solo (MOS) e os ácidos húmicos continham grande proporções de carbonos sp^2 . O carbono sp^3 contribuiu com apenas 19% na composição da MOS estudada. Quando as pastagens foram tomadas pela floresta a natureza química da MOS e do ácido húmico mudou. As maiores mudanças constatadas pelos autores ocorreram nos primeiros 20 a 30 anos. Estas mudanças consistiram na diminuição do carbono sp^2 e aumento do carbono sp^3 . Em solos sob floresta nativa a MOS

apresentou natureza altamente alifática com o C-alquil contribuindo com 35% do carbono total destes solos.

O termo carbono pirogênico é usado para descrever o mais inerte componente da matéria orgânica (o componente grafítico), e o termo carvão tem sido usado para descrever uma grande variedade de materiais orgânicos pretos e altamente aromáticos formados durante a combustão, mas que não precisam ter a estrutura grafítica (Smernik & Oades, 2000).

Segundo Seiler & Crutzen (1980), a queima da biomassa leva a uma significativa produção de materiais vegetais carbonizados, e o aquecimento da matéria orgânica do solo resulta em considerável aumento na aromaticidade da matéria orgânica remanescente, em detrimento de grupos carboxílicos e estruturas alifáticas (Almendros et al., 1992). Por outro lado, Glaser et al., (2001), informam que com o tempo, o carbono pirogênico é parcialmente oxidado, e grupos carboxílicos são produzidos nos lados do anel aromático, aumentando a capacidade de troca e a reatividade deste nos solos antropogênicos.

A produção mundial de carbono pirogênico foi estimada por Seiler & Crutzen, (1980), como sendo da ordem de $0,5-1,7 \times 10^9$ Mg ano⁻¹. O fluxo de carbono pirogênico para a atmosfera na forma de CO₂, foi estimado por Griffin & Golberg (1975), como sendo da ordem de 5 kg ha⁻¹ ano⁻¹. Esta quantidade é bem menor do que as emissões decorrentes de mudança no uso da terra e agricultura, que juntas emitem cerca de 0,15 a 0,16 Pg (1 Pg = 10¹⁵g) de carbono. Esta baixa emissão está relacionada ao fato de que o carbono pirogênico não é biodegradado por microrganismos (Seiler & Crutzen, 1980), pois a sua oxidação a CO₂ é muito lenta (Shneour, 1966; Smernik et al., 2000).

Kumada (1983), informa que resíduos de plantas queimadas favorecem a formação de ácidos húmicos por oxidação química. Segundo Zeck et al., (1996), a lenta oxidação de materiais orgânicos nos solos provavelmente leva a formação de materiais húmicos.

Na terra preta a matéria orgânica consiste de aproximadamente 35% de carbono pirogênico ao longo do espesso horizonte A antrópico, Glaser et al. (2000 e 2001). Nos solos vizinhos às manchas de terra preta, os latossolos com outros tipos de horizonte A, o carbono pirogênico ocorre somente nos primeiros centímetros do perfil do solo constituindo cerca de 14% da MOS. Datações de ¹⁴C têm mostrado idades de cerca de 1000 a 1500 anos para carbono pirogênico, sugerindo alta estabilidade desta espécie de carbono (Glaser, 1999). O estoque de carbono pirogênico dentro de 1m de profundidade nas terras pretas foi estimado por Glaser et al., (2001) como sendo 4 a 11 vezes mais que nos latossolos sem horizonte A antrópico e aumentaram com o aumento do conteúdo de argila.

2.3. As Substâncias Húmicas

As substâncias húmicas participam de muitos processos agronômicos, ambientais e geoquímicos (Steverson, 1994; Rezende, 1999), podendo servir como reservatório de micronutrientes, atuar como tamponante no sistema solo, contribuir na estruturação dos solos, ajudar a manter o regime de água no solo e dissolução de minerais.

O termo substância húmica refere-se a uma categoria de materiais de ocorrência natural, encontrado ou extraído de solos, sedimentos e águas. São resultantes da decomposição de resíduos de plantas e animais, podendo ser encontrada em todos os sistemas terrestres e aquáticos, constituindo uma das mais abundantes formas da matéria orgânica na superfície da terra. (MacCarthy, 2001).

Por outro lado, Aiken et al., (1985), definem substância húmica como sendo uma categoria de ocorrência natural, biogênica, composta de substâncias orgânicas heterogêneas que geralmente se caracterizam por sua coloração amarelada ou escura, de alto peso molecular e de natureza refratária. Todavia, não existe concordância no meio científico de que as substâncias húmicas são de alto peso molecular, conforme demonstrado por Piccolo (2001). Estas definições são muito vagas e pouco informam sobre a natureza química dos materiais húmicos. Neste caso é interessante definir estes materiais operacionalmente em termos dos métodos de extração e fracionamento.

Através do procedimento clássico de extração, três frações húmicas podem ser obtidas: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina. As definições das frações das substâncias húmicas são baseadas nas características de solubilidade em sistemas aquosos, apesar de existirem muitos materiais orgânicos que são solúveis em base e precipitam em meio ácido que não são ácidos húmicos (Hayes & Clapp, 2001). Ácido húmico é a fração que não é solúvel em água sob condições ácidas, podendo tornar-se solúvel (ou extraível) a valores altos de pH. Ácido fúlvico é fração que é solúvel em meio aquoso em todos os valores de pH. A humina representa a fração que não é solúvel em meio aquoso (ou que não é extraível em meio aquoso), em nenhum valor de pH (MacCarthy, 2001).

2.4. Natureza e Composição dos Ácidos Húmicos

Todas as substâncias húmica são amorfas e tem grupos funcionais contendo oxigênio (carboxílicos, fenólicos e alcoólicos) que dominam as suas propriedades químicas.

Os ácidos húmicos podem ser definidos como a porção do “húmus” que é solúvel em soluções alcalinas e precipitam a baixos valores de pH. Análises da composição elementar de ácidos húmicos extraídos de vários solos apresentam valores de carbono que variam de 49-62%; Hidrogênio 3-6%; Nitrogênio 0,45-5,0% e peso molecular que varia de 1.000 a 30.000, Haworth, (1971). Entretanto, Cameron et al., (1972), usando técnica cromatográfica e filtração sob pressão para isolar ácidos húmicos de um Sapric Histosol, concluíram que os valores de peso molecular das frações variaram de 2.000 a 1.300.000 Da, observando que 75% dos ácidos húmicos tinham valores de peso molecular <100.000 Da, e que 25% tinha valores < 10.000 Da, menos de 20% ficaram dentro da categoria de alto peso molecular.

Quanto à origem dos ácidos húmicos, foi sugerido que estes são produzidos por polimerização de quinonas originadas da oxidação de constituintes aromáticos da vegetação (Flaig, 1960).

Quanto à composição dos materiais húmicos, MacCarthy (2001), sugere que os mesmos apresentam natureza heterogênea, e que não é possível isolar componentes húmicos verdadeiros que satisfaçam todos os critérios de pureza. Desta forma, muitos estudos realizados no passado com materiais denominados de substâncias húmicas, continham na verdade muitos materiais de natureza não húmica. Estes materiais incluem carboidratos, peptídeos, ácidos graxos, hidrocarbonetos entre outros. Materiais como carvões também são encontrados nas frações húmicas de alguns solos, como os de origem antropogênica, que foram submetidos à queima. Estes carvões dariam surgimento a estruturas aromáticas, apesar destes materiais encontrarem-se associados a componentes húmicos eles não podem ser considerados como substâncias húmicas, (Hayes & Clapp, 2001).

2.5. Extração e Fracionamento do Material Húmico

A matéria orgânica humificada é composta por frações alcalino-solúveis (ácidos húmicos e fúlvicos), e por uma fração insolúvel ou residual denominada humina. Os ácidos húmicos correspondem à fração alcalino-solúvel que precipita em meio fortemente ácido (pH 2,0 ou menor). Esta fração é mais estudada devido a facilidade de extração e presença preferencialmente nas camadas superficiais dos solos, onde sua concentração é maior e também por participar da maioria das reações que ocorrem no solo, tais como: agregação e estabilidade dos agregados pela formação de complexos organo-minerais; solubilização de P e diminuição da energia de fixação dos óxidos; adsorção de metais pesados; tampão do solo e diminuição do valor do ponto de carga de efeito salino zero, além de servir como reserva de nutrientes às plantas e microrganismos.

A extração da matéria orgânica do solo é um passo crítico no seu estudo. O método de extração (solvente aplicado e procedimento) tem impacto tanto na quantidade como na composição da matéria orgânica extraída para ser analisada. Esta extração, é baseada nas características físico-químicas do solvente (Madari, 1998). As propriedades e mecanismos de extratores da matéria orgânica do solo podem ser encontrados em Ailken et al, (1985) e Stevenson, (1994).

Stevenson (1994) estabeleceu critérios para um método ideal de extração:

- O método deve separar os materiais sem alterá-los;
- As substâncias húmicas extraídas devem estar livres de contaminantes inorgânicos, como argila e cátions polivalentes;
- A extração deve ser completa, assegurando que todas as frações com diferentes pesos moleculares sejam representadas;
- O método deve ser universalmente aplicável a todos os solos.
- Não deve ser tóxico.

A “International Humic Substances Society” descreve na página (<http://www.ihss.gatech.edu/>) o método de solubilização da matéria orgânica do solo em solução de hidróxido de sódio (NaOH) e fracionamento desta, baseado nas características de solubilidade das substâncias húmicas. É importante mencionar que este não é um método recomendado ou aprovado, mas um método que se tem mostrado satisfatório para muitos tipos de solo e que pode ser realizado em muitos laboratórios (Novotny, 2002). Trata-se de um método relativamente eficiente e pode ser usado como método padrão para comparações (Swift, 1996).

Stevenson (1994) aponta como principais desvantagens do método: a dissolução da sílica mineral e de tecidos orgânicos frescos que contaminariam o extrato; a autooxidação de alguns constituintes orgânicos no contato do extrato alcalino com o ar e outras alterações químicas que poderiam ocorrer em meio alcalino como a condensação entre aminoácidos e os grupos C=O de aldeídos aromáticos ou quinonas. No entanto, estes problemas podem ser minimizados efetuando-se todos os passos em atmosfera de N₂.

A solubilização das substâncias húmicas em meio alcalino provavelmente esteja relacionada à conversão dos grupos ácidos (principalmente carboxílicos e fenólicos) em íons, com subsequente formação de uma dispersão (Novotny, 2002). Provavelmente, outros mecanismos contribuem com a solubilidade das substâncias húmicas e colóides do solo e também com a repulsão intramolecular que leva a uma conformação mais “aberta” facilitando a sua hidratação.

No que diz respeito à purificação das frações húmicas, diferentes extratores da matéria orgânica produzem extratos com diferentes graus de pureza. Os extratos obtidos de material orgânico de solos minerais podem conter até 30 % de cinzas. Dependendo do solo e do tipo de vegetação, também várias quantidades de diferentes substâncias não húmicas podem ser extraídas (Madari, 1998). Em função do objetivo e método de análise utilizados nos materiais húmicos, processos de purificação podem ser necessários após os procedimentos de extração e fracionamento.

O conteúdo de cinzas dos extratos pode ser diminuído por repetidas precipitações com ácidos minerais, por passagem do material através de resina trocadora de íons e por dissolução dos ácidos húmicos repetidas vezes em solução alcalina diluída (KOH 0,1 mol L⁻¹), com ajustamento do pH para 7, e posterior centrifugação em alta velocidade. Pode-se também reduzir o conteúdo de cinzas dos ácidos húmicos, utilizando-se uma mistura de ácido fluorídrico (HF 0,3 mol L⁻¹) e ácido clorídrico (HCl 0,1 mol L⁻¹). A diálise tem sido amplamente usada para purificação de ácidos húmicos. Este método também é aplicado para remover sais e componentes orgânicos de baixa massa molecular, (Schnitzer & Khan, 1978).

2.6 Caracterização Física e Química (Métodos Espectroscópicos)

Neste item são apresentadas apenas informações básicas a respeito de cada técnica espectroscópica utilizada neste estudo. Maiores detalhes sobre as diferentes técnicas podem ser encontrados em diversos textos disponíveis: UV-Vís e Infravermelho (Silverstein et al., 2000); Fluorescência (Senesi, 1990a); EPR (Senesi, 1990b); NMR (Wilson, 1987), entre outros citados ao longo deste estudo.

As técnicas espectroscópicas utilizam diferentes regiões do espectro eletromagnético, para obter a partir da interação da energia com a matéria, informações úteis sobre a estrutura das substâncias e compostos orgânicos. A espectroscopia é o estudo da interação da energia quantizada (energia eletromagnética) com a matéria. Um espectro é um gráfico de absorção ou emissão de energia (radiação) contra o comprimento de onda (λ) ou a frequência desta radiação (ν), (Silverstein et al., 2000).

Para qualquer tipo de espectroscopia (com exceção da espectrometria de massas), a mudança de energia de um estado para outro é dada pela equação: $\Delta E = h\nu$, onde h é a constante de Planck e ν é a frequência da radiação eletromagnética absorvida. A energia consumida numa transição é uma propriedade molecular e característica de sua estrutura.

A aplicação das técnicas espectroscópicas permite o estudo não destrutivo da matéria. Pequenas quantidades de amostra são exigidas e as metodologias experimentais são relativamente simples. O principal problema envolvido no uso dessas metodologias diz respeito ao alto custo dos equipamentos e à necessidade de conhecimento de uma teoria complexa de funcionamento das técnicas, embora a interpretação dos espectros seja relativamente simples (Canellas, 1999).

2.6.1 Espectroscopia na região do ultravioleta -visível (UV - Vis).

A espectroscopia na região do Ultravioleta (200-400nm) e do Visível (400-800nm) permite a identificação de transições de elétrons dos orbitais σ , π e π^* de seu estado fundamental para orbitais de maior energia em um estado excitado.

Espectros de UV-Vis de substâncias húmicas apresentam pouca definição, e a absorção decresce com o aumento do comprimento de onda. Não importando a origem das substâncias húmicas, espectros UV-Vis são similares devido a presença de elétrons livres, a ligações π e a presença de conjugações na molécula, que promovem a sobreposição das absorções de energia. Para muitas das estruturas eletrônicas, esta absorção ocorre em uma porção pouco acessível do ultravioleta. Na prática, a espectroscopia no ultravioleta é limitada, na maior parte, aos sistemas conjugados. Entretanto, a seletividade da absorção no ultravioleta constitui uma vantagem permitindo que grupos característicos possam ser reconhecidos em moléculas de complexidade bastante variável (Silverstein et al., 2000).

Compostos contendo elétrons desemparelhados tais como nos átomos de oxigênio ou enxofre mostram absorção de energia na região do UV-Vis, assim como sistemas contendo duplas ligações conjugadas. Esses grupos são chamados de cromóforos. Em função da grande quantidade e variabilidade de cromóforos existentes nas substâncias húmicas, os espectros obtidos são geralmente formados pela sobreposição de várias bandas, sem banda de absorção definidas, apresentando absorção decrescente com o aumento do comprimento de onda.

O índice mais utilizado até hoje para se avaliar o grau de humificação é a razão entre a absorbância (A) em 465 nm e a 665 nm, chamada de relação E_4/E_6 . A magnitude da relação E_4/E_6 foi descrita por Kononova (1982) como um indicador do grau de condensação dos núcleos aromáticos das substâncias humificadas, ou grau de humificação. Os valores E_4/E_6 para ácidos húmicos variam de 3,5 - 5,0. Alta relação E_4/E_6 reflete um baixo grau de condensação aromática e infere-se a maior presença ou proporção relativa de cadeias alifáticas laterais. Entretanto, Chen et al., (1977), demonstraram que a relação E_4/E_6 está mais relacionada ao tamanho da partícula ou peso molecular, do que ao grau de condensação das moléculas húmicas. Estes mesmos autores correlacionaram a relação E_4/E_6 com o conteúdo de C, O, radicais livres, COOH e acidez total.

A relação E_4/E_6 é influenciada pelo pH. Com o aumento da concentração de H^+ ou de sais, há um decréscimo na absorbância na região do UV-Vis que segundo Ghosh & Schnitzer (1979), é devido à contração das moléculas com o aumento da força iônica ou da acidez. Estas se contraem cada vez mais até assumir uma configuração semelhante à de um colóide esférico rígido, o menor tamanho possível de um colóide orgânico. Como as evidências experimentais sugerem que a relação E_4/E_6 é governada pelo tamanho e conformação da partícula, a espectroscopia UV-Vis pode ser usada para estimativa de peso molecular e para cálculos de sua geometria (Senesi et al., 1996).

Kumada (1987) utilizou características de absorção de luz na região do UV-Vis para dividir os ácidos húmicos em 4 tipos diferentes. Ácido húmico do tipo A não apresentam bandas de absorção características e apresentam valores de $\Delta \log k$ ($\log 400 \text{ nm} - \log 600 \text{ nm}$) menores que 0,6. Ácidos húmicos do tipo B apresentam um ombro fraco de absorção em 275 nm e um valor de $\Delta \log k$ entre 0,6 e 0,8. Ácidos húmicos do tipo Rp apresentam o mesmo espectro do tipo B, porém com valores mais elevados de $\Delta \log k$ (entre 0,8 e 1,1). Os

Ácidos húmicos do tipo P apresentam absorções características na região do visível em 615, 570 e 450 nm.

2.6.2 Espectroscopia no infravermelho (IV)

A aplicação da espectroscopia de IV na análise de substâncias húmicas é relativamente comum, existindo na literatura uma quantidade razoável de informações e dados resultantes dessa técnica (Sposito et al., 1976; Celi et al., 1997; Dick et al., 1997).

Segundo Stevenson (1994), a importância da espectroscopia IV no estudo de substâncias húmicas reside no fato, de que através dela é possível obter informações sobre natureza, reatividade e arranjo estrutural dos grupos funcionais oxigenados presentes; identificar a ocorrência de estruturas de carboidratos e proteínas; estabelecer a presença ou ausência de impurezas inorgânicas (metais, argilo-minerais); realizar análise quantitativa sob condições controladas e analisar as interações entre matéria orgânica – metal e matéria orgânica – pesticidas.

Resultados obtidos da espectroscopia IV, juntamente com os resultados de outras técnicas (análise elementar, RMN ^{13}C , determinação do peso molecular, etc.), permitem montar o “quebra-cabeça” sobre a estrutura, composição e reatividade das substâncias húmicas (Canellas, 1999).

Os espectros na região de IV dos ácidos húmicos são relativamente simples, quando comparados aos de substâncias puras, por possuir poucas bandas de absorção e geralmente largas. A complexidade do ambiente químico que envolve os grupamentos funcionais dos ácidos húmicos, cada um caracterizado por uma constante de força diferente para cada ligação, tem como resultado final uma série de sobreposições de bandas de absorção. A mistura complexa de unidades orgânicas que caracterizam os ácidos húmicos acaba simplificando o espectro de IV. A espectroscopia nessa região, apresenta limitações para caracterização estrutural, mas pode ser muito útil no indicativo da presença e do comportamento dos grupamentos funcionais.

Substâncias húmicas contêm variedade de bandas de absorção diagnóstica na região intermediária do infravermelho (2,8 – 50 μm ou 4000 – 400 cm^{-1}), desta forma a espectroscopia de infravermelho é uma técnica importante e válida para sua caracterização e análise. Em relação à composição das substâncias húmicas, a espectroscopia de infravermelho pode fornecer informações sobre a natureza e arranjo estrutural de grupos funcionais contendo oxigênio, presença de carboidratos e constituintes de proteínas e impurezas orgânicas (Johnston, et al., 1994). A técnica pode ser aplicada para análise quantitativa. Capriel (1997) determinou quantitativamente a hidrofobicidade de ácidos húmicos com espectroscopia de DRIFT. A espectroscopia na região do infravermelho também pode ser aplicada no estudo de interações matéria orgânica-metal ou pesticida (Stevenson, 1994) e interações entre poluentes orgânicos e substâncias húmicas (Piccolo, 1994).

No início do desenvolvimento da espectroscopia de infravermelho, sua aplicação era associada à análise de moléculas orgânicas. Esta técnica tornou-se de grande valor no estudo de substâncias húmicas, com a introdução de interferômetros não dispersivos com a transformada de Fourier (FT-IR). Instrumentos de FT-IR são mais eficazes para utilizar a energia infravermelha do que instrumentos com sequência dispersiva, por fazerem uso de todas as frequências simultaneamente (White & Roth, 1986) fornecendo desta forma, espectros de alta resolução. Uma outra vantagem dos instrumentos de FT-IR é que eles são capazes de realizar uma varredura rápida em toda região do espectro (Durana & Mantz, 1979).

Espectro de infravermelho de substâncias húmicas.

A energia total de uma molécula consiste de energias de translação, rotação, vibração e eletrônica (Jonhston & Aochi, 1996). Interagindo com o material, diferentes comprimentos de ondas de radiação infravermelha podem ser absorvidos nos níveis de energia de rotação e vibração. Existem dois principais tipos de vibrações: estiramentos (simétrico e assimétrico) e dobramentos ou deformações. No estiramento as ligações axiais dos átomos não mudam, mas a distância entre os átomos aumenta ou diminui. No dobramento ou deformação as ligações axiais dos átomos se alteram e as vibrações destes são geralmente encontradas em baixas frequências e requerem menos energia, que nos estiramentos vibracionais.

Substâncias húmicas fornecem espectros de infravermelho característicos. As principais bandas dos materiais húmicos são as seguintes (comprimento de onda em cm^{-1}):

3380*	estiramentos de grupos O-H de OH fenólico
3400 – 3300 [#]	estiramentos de grupos O-H, estiramentos de grupos N-H
3030*	estiramentos de C-H aromáticos
2940 – 2900 [#]	estiramentos de C-H alifáticos
2600*	estiramentos de O-H de ligações –COOH
1725 – 1720 [#]	estiramento de C=O de –COOH e cetonas
1660 – 1630 [#]	estiramento de C=O de grupos amidas, C=O de quinonas e ou C=O de ligações de hidrogênio conjugado com cetonas
1620 – 1600 [#]	estiramento de C=C aromático e/ou estiramento assimétrico de –COO
1590 – 1517 [#]	estiramento simétrico de COO^- , deformação de N-H + estiramento de C=N (segunda banda da amida)
1525*	estiramento de C=C aromático
1460 – 1450 [#]	deformação C-H alifático
1400 - 1390 [#]	deformação de OH e estiramento de C-O de OH fenólico, deformação de C-H de grupos CH_2 e CH_3 , estiramento assimétrico de COO^-
1350*	estiramento simétrico de COO^- e/ou dobramento de –CH de grupos alifáticos e estiramento C-OH de OH fenólicos
1270*	estiramento de C-OH de OH fenólico
1280 – 1200 [#]	estiramento de C-O e deformação de OH de grupos COOH, estiramento de C-O de grupos aril éteres
1225*	estiramento de C-O e deformação de OH de COOH
1170 – 950 [#]	estiramento C-O de polissacarídeos, Si-O de impurezas de silicatos
1170*	estiramento de C-OH de OH alifáticos
1170 ^{&}	Polissacarídeos
1070*	estiramento C-C de grupos alifáticos
1050 ^{&}	Polissacarídeos
830*	dobramento fora do plano de CH aromático
775*	dobramento fora do plano de CH aromático

* Baes & Bloom, 1989; [&] Niemeyer et al., 1992, [#] Stevenson, 1994.

Os espectros de infravermelho de substâncias húmicas podem ser classificados em três tipos (Steverson, 1994): Tipo I, II e III. Espectros do tipo I são característicos de substância de alto peso molecular, espectros do tipo II representam ácidos fúlvicos de baixo peso molecular e os espectros do tipo III contém bandas indicativas de proteínas e carboidratos (ácidos húmicos de lagos).

Principais regiões de absorções características de substâncias húmicas

Banda a 1610 cm^{-1} . Esta banda de absorção basicamente representa o estiramento de C=C de estruturas aromáticas, mas sua origem da banda nem sempre é adequada, pois ligações duplas não aromáticas podem absorver neste comprimento de onda (Teng & Posner, 1967). Bandas de vibrações de C=C aromáticos são supostamente associadas com bandas de estiramentos C-H aromáticos a 3030 cm^{-1} (Schinitzer, et al., 1958).

Banda a 1720 cm^{-1} . Existe forte evidência de que a maior parte da absorção nesta região pode ser atribuída ao estiramento C=O de grupos COOH. Íons carboxilatos absorvem próximo de 1.620 cm^{-1} (Johnston et al., 1994). O resto da absorção pode ser devido a cetonas de cadeia aberta saturada ou aldeídos, mas se não existir uma absorção razoável entre 1785 e 1735 cm^{-1} , a presença de grupos C=O de ésteres saturados é improvável (Stevenson, 1994).

Banda a 2900 cm^{-1} . Esta banda representa estiramento de C-H alifáticos. O estiramento de C-H aromático ocorre a frequências ligeiramente maiores que 3000 cm^{-1} e pode ser mascarada pelo estiramento principal de OH. A razão para a ausência desta banda pode ser o resultado de substituições no anel aromático (Steverson, 1994).

Região de 3300 – 3400 cm^{-1} . Esta é a frequência onde ligações de H de estiramentos de grupos O-H absorvem. No estado associado, grupos OH produzem bandas de absorções a 3600 cm^{-1} .

Outras bandas de absorção importantes: 1270 cm^{-1} (estiramento de G-OH de OH-fenólico) e 1525 cm^{-1} (estiramento de C=C aromáticos).

2.6.3 Espectroscopia de fluorescência.

Segundo MacCarty & Rice (1985), a absorção da radiação UV-Visível desloca uma molécula do estado vibracional e eletrônico fundamental, para o estado vibracional e eletrônico excitado. A maior parte das moléculas retorna ao seu estado fundamental, dissipando a energia adicional na forma de calor. Em algumas moléculas somente uma fração da energia é dissipada como calor, e a energia residual é emitida como radiação eletromagnética de maior comprimento de onda que a radiação incidente, ocorrendo assim a fluorescência.

Poucas moléculas alifáticas e alicíclicas exibem fluorescência na região de UV-visível. Para uma molécula fluorescer, deve possuir cromóforos (fluoróforos) que absorvem a radiação incidente. Estes são estruturas que contêm duplas ligações conjugadas ou anel

aromático. Grupos capazes de doar elétrons, tais como $-\text{OH}$ ou $-\text{NH}_2$, aumentam a fluorescência. Por outro lado, grupos capazes de receber elétrons, tais como $-\text{COOH}$, tendem a diminuir a fluorescência em compostos aromáticos (Senesi, 1990a).

Existem dois tipos de espectros de fluorescência. O de excitação e o de emissão. O espectro de excitação é obtido por varredura da radiação incidente sobre uma variação do comprimento de onda fixado (usualmente λ_{max} para fluorescência). O espectro de emissão resulta da irradiação da amostra com luz de comprimento de onda fixo (usualmente λ_{max} para absorção), e da varredura do espectro de emissão (fluorescência). Ou seja, os espectros de emissão são produzidos quando o comprimento de onda de emissão é variado e o comprimento de onda de excitação é fixado. Os espectros de excitação são produzidos quando o comprimento de onda de excitação é variado e o comprimento de onda de emissão é fixado, MacCarty & Rice (1985).

Espectros de excitação de substâncias húmicas são geralmente melhores resolvidos do que espectros de emissão, e são caracterizados por um número de bandas de absorção e/ou ombros que estão geralmente localizados em três regiões de comprimento de onda: longo (480-440 nm), intermediário (400-380 nm) e curto (360-300 nm).

Um outro modo de espectroscopia de fluorescência, “synchronous scan”, normalmente apresenta resoluções de picos melhores que os obtidos por métodos convencionais de fluorescência, isto é, emissão e excitação. Desta forma fornece parâmetros mais distintos para a identificação da estrutura molecular responsável pela fluorescência de cada amostra (Senesi, 1990a). Espectros de excitação como o de varredura sincronizada “synchronous scan” são obtidos medindo-se a intensidade de fluorescência quando da varredura simultânea de comprimentos de ondas de excitação e emissão e mantendo-se constante o valor de $\lambda = \lambda_{\text{em}} - \lambda_{\text{ex}}$ (Chen et al., 2002).

As bandas de absorção de fluorescência de substâncias húmicas geralmente são largas e pouco resolvidas. A associação de fluoróforos com o oxigênio molecular ou íons metálicos paramagnéticos podem reduzir largamente a fluorescência, Penzer & Brown (1980). Devido ao baixo limite de detecção da espectroscopia de fluorescência, interferências de impurezas podem tornar-se um problema na obtenção de espectros.

O deslocamento da intensidade máxima de fluorescência do curto para o longo comprimento de onda, está associado com o aumento do número de núcleos aromáticos substituídos e/ou com sistemas conjugados insaturados, portadores de um alto grau de ressonância (Milor et al., 2002). No que diz respeito a ácidos húmicos, espectros de fluorescência de emissão com medições a baixa intensidade e longos comprimentos de ondas, indicam a presença de anéis aromáticos condensados e outros sistemas de ligações insaturados, um alto grau de humificação e a presença de grupos receptores de elétrons como grupos carbonilas e carboxilas. Por outro lado, espectros de fluorescência de emissão com medições a curtos comprimentos de ondas e alta intensidade, estão associados a baixos conteúdos de estruturas aromáticas, baixa massa molecular e a grupos doadores de elétrons como hidroxilas e metoxilas (Chen et al., 2002).

No que concerne à avaliação do grau de humificação de substâncias húmicas, a espectroscopia de fluorescência fornece interessantes informações através de índices (relação A_4/A_1 , I_{465}/I_{399} , A_{465}), conforme demonstrado por Zsolnay et al., (1999), Kalbitz et al., (1999) e Milor et al.; (2002), respectivamente.

No método proposto por Zsolnay et al., (1999), o espectro de emissão total é dividido em quatro regiões e o grau de humificação é calculado através da relação A_4/A_1 (570-641

nm/356-432 nm). A idéia básica em torno desta relação é que como moléculas fluorescentes tornam-se mais condensadas, seu espectro de emissão irá tender a se deslocar para a região de maiores comprimentos de onda (Milori et al., 2002).

De acordo com Kalbitz et al., (1999), espectros de fluorescência sincronizados de substâncias húmicas, apresentam dois picos em torno de 360 e 400 nm e um ombro em torno de 470 nm. Este comportamento depende do grau de humificação, podendo ser medida através da relação I_{465}/I_{399} .

Milori et al., (2002), propôs um terceiro método para avaliar o grau de humificação de ácidos húmicos. Este consiste no uso do comprimento de onda azul como fonte de excitação. A absorção neste comprimento de onda, está mais relacionada com estruturas cuja concentração aumenta com o grau de humificação. Para Milori e colaboradores, a área total sobre o espectro de fluorescência resultante da excitação da luz azul é proporcional ao grau de humificação, mantendo uma concentração de 20 mg L⁻¹ e pH 8. Este estudo demonstrou que a espectroscopia de fluorescência é uma valiosa técnica para avaliar o efeito do uso da terra e sistemas de manejo sobre o grau de humificação de ácidos húmicos, de solos não antropogênicos, mesmo após um curto tempo de uso agrícola.

2.6.4 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE).

Segundo Stevenson (1994), as substâncias húmicas são conhecidas por possuírem concentrações relativamente altas de radicais livres estáveis, que são estranhos à sua estrutura, mas de grande importância porque eles podem influenciar nas reações das quais participam os ácidos húmicos, tais como na complexação de íons metálicos, interação com pesticidas e poluentes orgânicos tóxicos (Riffaldi & Schinitzer, 1972; Senesi et al, 1987). Os radicais livres também estão envolvidos na síntese e degradação das substâncias húmicas.

A concentração de radicais livres aumenta na medida em que o processo de humificação avança (Schinitzer & Levesque, 1979). É possível através da técnica de EPR, obter informações sobre o grau de humificação de substâncias húmicas de solos, bem como o grau de aromaticidade das mesmas, através de parâmetros, como a concentração de radicais livres orgânicos (CRLO).

É definido como radical livre um átomo ou grupo de átomos que contenha excesso de elétrons desemparelhados. Substâncias que contêm radicais livres são atraídas para um campo magnético, permitindo sua detecção por RPE. Os elétrons em torno de um átomo não estão estáticos e sim em ação de rotação. Quando dois elétrons estão presentes sobre um átomo eles têm spins contrários, que anulam uns aos outros. Nos radicais livres os elétrons estão desemparelhados e com isto, o sinal eletrônico de spin não é anulado, e o radical livre exibe momento magnético, que é a causa do paramagnetismo, Stevenson (1994).

Spins eletrônicos atuam como um pequeno magneto. Quando uma molécula que contém um ou mais elétrons desemparelhados é colocada em um campo magnético e submetida à radiação eletromagnética, cujo comprimento de onda é microondas na região de rádio frequência, a energia é absorvida e um pico é registrado. Através do conhecimento de valores de intensidade e frequência de um campo magnético, requerido para induzir a ressonância, um fator “g” pode ser calculado. Para elétrons livres, o fator “g” é 2.0023. A derivação deste fator é uma medida da interação dos elétrons com o ambiente. Sob uma dada condição, a intensidade da absorção de RPE é proporcional ao número de spins desemparelhados da amostra (Senesi, 1990b).

A perturbação utilizada para produzir a transição é um campo magnético B_1 , perpendicular a B_0 . Através dessa irradiação ocorrerão transições entre níveis adjacentes com $m = \pm 1$. Dessa forma, surgirá no caso do spin $I = 1/2$, uma linha espectral posicionada na frequência de Larmor, (ver figura no anexo).

As fontes de radicais livres estáveis de ácidos húmicos são: hidroquinonas, polímeros semi-quinonas, complexos organo-minerais, hidrocarbonetos polinucleares, Stevenson (1994). A probabilidade das quinonas e substâncias semelhantes serem primeiramente responsáveis pelas propriedades dos radicais livres de substâncias húmicas foi reportada por Senesi et al., (1989).

A técnica de RPE é bastante eficiente nos estudos de substâncias húmicas. Por apresentar alta sensibilidade (detecta até 10^{12} spins em 0,1 mL), possibilita o estudo de amostras nos estados sólido, líquido e gasoso. Não é destrutiva e não usa radiação ionizante, além de permitir a identificação e determinação do íon metálico paramagnético, fornecendo informação sobre seu estado de valência e simetria.

O sinal de radicais livres das substâncias húmicas é produzido por grupos semiquinona, formados pela dehidrogenação oxidativa de compostos fenólicos (Riffaldi & Schnitzer, 1972) e estão em equilíbrio com as formas quinona e hidroquinona.

As substâncias húmicas contêm radicais livres muito estáveis, que estão relacionados à reações de polimerização/despolimerização, grau de aromaticidade e humificação da matéria orgânica (Riffaldi & Schnitzer, 1972). A técnica de RPE é uma das únicas capazes de fornecer informações estruturais, sem artefatos ou condições experimentais restritivas, sobre a complexação de íons metálicos com outras substâncias húmicas (Martin Neto et al., 1994).

A Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) pode ser usada na caracterização química de substâncias húmicas, para detalhar as interações e formação de complexos de grupos funcionais orgânicos com metais paramagnéticos, tais como Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} e para estudar a concentração de radicais livres orgânicos geralmente atribuídos à presença de sistema quinona-semiquinona, possivelmente em sistema conjugado a anéis aromáticos. Tanto ácidos húmicos quanto ácidos fúlvicos são sabidamente ricos em radicais livres orgânicos, os quais são nativos em sua estrutura molecular e representam uma de suas mais peculiares propriedades reativas (Senesi, 1990b).

Espectros de RPE de substâncias húmicas apresentam tipicamente sinal de radicais livres orgânicos em torno de $g = 2,00$ (próximo ao campo de ressonância do elétron livre) e linhas largas em $g = 9,0$ e $4,3$, atribuídas ao íon Fe^{3+} em sítio tetraédrico ou octaédrico em spin alto e campo cristalino de simetria rômica, sugerindo que os íons Fe^{3+} estejam fortemente ligados e protegidos dentro das estruturas das substâncias húmicas. Um outro conjunto comum nos espectros da matéria orgânica é o do sexteto de linhas devido aos íons Mn^{2+} . Cada linha é separada da próxima por cerca de 100 G ($A = 100$ G) e o fator $g = 2$. Além dos sinais típicos em RPE, a quantificação de spins por grama é outro parâmetro classicamente usado na descrição química das substâncias húmicas. Esta é uma medida difícil e pouco exata, pois a medida absoluta da concentração de spins requer o conhecimento de um grande número de fatores, os quais podem encerrar erros e variar muito com as condições ambientais, (Senesi (1990b).

A concentração de spins é geralmente estimada usando-se um padrão contendo um número de centros paramagnéticos conhecido. Uma vez que a área sob a curva de absorção (usa-se em geral a primeira derivada da curva original) é diretamente proporcional ao número

de centros paramagnéticos contribuintes para a ressonância, a concentração de uma amostra pode ser calculada comparando-se sua área com a área do padrão (Senesi, 1990b).

2.6.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

A espectroscopia de RMN pode fornecer informações estruturais sobre a matéria orgânica do solo através do uso de várias técnicas (experimentos em RMN).

A técnica de RMN no estado sólido obteve grandes progressos recentemente, com o desenvolvimento de magnetos supercondutores e da técnica com transformada de Fourier (FT) utilizada para aquisição e manipulação dos dados, e também da técnica de polarização cruzada com rotação do ângulo mágico, Preston, (1996).

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) usando polarização cruzada (CP) com rotação do ângulo mágico (MAS) tem sido bastante empregada no estudo da matéria orgânica de solos florestais (Kögel-Knabner et al., 1992; Preston, 1996; Zech et al., 1996, 1997; Guinto et al., 1999; Mathers et al., 2000). A atenção para a ressonância magnética nuclear no estado sólido é devido a sua natureza não destrutiva, pois elimina a necessidade do uso de extratores, que podem levar a resultados que não reflitam a verdadeira natureza do material orgânico (Schnitzer, 1982). A ressonância magnética nuclear do ^{13}C com polarização cruzada e rotação do ângulo mágico (^{13}C CPMAS RMN), diferencia o núcleo do ^{13}C baseado em seus ambientes químicos, dando indicação de toda composição do carbono. Dividindo-se o espectro em diversas regiões correspondentes aos grupos funcionais do carbono pode-se identificar estes ambientes químicos, porém este procedimento analítico é somente semiquantitativo (Mathers et al., 2000; Mathers & Xu, 2002).

A RMN é o fenômeno observado em núcleos que possuem momento magnético μ e momento angular J . Estes momentos são paralelos e se correlacionam através da razão giromagnética γ , que é uma constante para cada isótopo, onde $\mu = \gamma J$. O momento angular J é igual a $hI/2\pi$, onde I é o número quântico de spin e h a constante de Planck. O spin do próton e nêutron, assim como o do elétron, é igual a $1/2$. Como um núcleo pode ter mais de um próton e/ou nêutron, o spin nuclear total I pode assumir valores de números inteiros ou semi-inteiros, 0; $1/2$; 1; $3/2$; 2;....., de acordo com o número de prótons e nêutrons da estrutura nuclear (Wilson, 1987).

Na espectroscopia de RMN os átomos de carbono contidos em diferentes estruturas químicas da MOS são diferenciados com base nos valores de deslocamento químico, Mathers et al.,(2000). A intensidade do sinal observada para um dado valor de deslocamento químico, expresso como uma função da intensidade total dos sinais adquiridos representa a proporção de cada tipo de carbono presente na amostra. (Baldock & Preston, 1995).

Os espectros de RMN podem ser divididos por regiões de deslocamento químico. O nome dado a cada região é generalizado, e acredita-se ser um indicativo da forma de carbono presente. Vale ressaltar, que as quantidades de cada tipo de carbono obtido por esta técnica, são valores aproximados devido a alguma sobreposição entre regiões adjacentes, além de que, em espectros da MOS obtidos no estado sólido a altura dos picos, que podem variar na largura e forma, não refletem acuradamente a intensidade de cada tipo de C. Além disso, picos tendo a mesma área de integração não necessariamente indicam ter o mesmo número de spins, porque a eficiência da polarização cruzada não é uniforme para todas as espécies moleculares. (Mathers et al., 2000).

O espectro de RMN ^{13}C pode ser subdividido em regiões de deslocamentos químicos, tais como: Alquil C (0-45 ppm), metoxil (45-65 ppm), O-alkil (65-90 ppm), di-O-alkil (90-110 ppm), C-aromático (110-140 ppm), O-aromático (140-160 ppm), C-carbônico (160-245 ppm), Dick et al., (2001), Schöning & Kögel-Knabner (2002) e Knicker et al.; (2004).

No que diz respeito às regiões de deslocamento químico, em solos e materiais derivados de plantas, o pico dominante na região alquil está geralmente em torno de 30 ppm e representa carbono polimetilênico $-\text{CH}_2-$ (Skjemstad et al., 1997). Um pico a 33 ppm é também frequentemente observado e representa carbonos polimetilênicos em estruturas altamente rígidas. A região de O-alkil é geralmente dominada por sinais de celulose ou outras estruturas polissacarídicas. A banda na região de 60 a 90 ppm é devida a carbonos de celulosas, com o pico a 65 ppm atribuído ao carbono de grupo alcoólico e o pico agudo próximo a 105 ppm devido a carbono anomérico. Prosseguem os autores informando que outro pico próximo a 55 ppm é a combinação de dois picos, um pico agudo devido a carbono metoxil e um pico mais largo atribuído a carbono em estruturas nitrogenadas como proteínas e peptídeos. A região aromática reflete a combinação de estruturas do tipo C-aromático e O-aromático.

Em estruturas de lignina, os carbonos substituídos fenólicos e metoxílicos ressonam entre 145 e 150 ppm. Carbono aromático substituído ressona próximo a 135 ppm e os carbonos não substituídos restantes ressonam próximo a 120 ppm. Os deslocamentos químicos de carbonos aromáticos dependem muito do grau, da localização e do tipo de substituição no anel. Na região de C-carbônico, apesar de frequentemente aparecer um agudo pico, este é proveniente da combinação de grupos carboxilas, ésteres e amidas. Estes grupos não são facilmente distinguidos um do outro, porém em solos e materiais de plantas, grupos amidas contribuem mais para o aparecimento deste pico. Uma pequena e larga banda próxima a 200 ppm pode ser observada podendo ser atribuída a aldeídos, cetonas ou quinonas, Skjemstad et al, (1997).

A espectroscopia de RMN no estado sólido possui limitações devidas à baixa abundância natural do ^{13}C (em torno de 1,1 %) na MOS, a baixa recuperação de muitas técnicas utilizadas para fracionamento, as dificuldades de quantificação e a presença de materiais magnéticos. (Skjemstad et al., 1997) Um fator importante que deve ser considerado quando se interpreta espectros de RMN no estado sólido, é se o espectro reflete ou não quantitativamente a atual distribuição dos tipos de carbono presentes na amostra (Baldock & Preston, 1995).

Em experimentos usando-se a polarização cruzada (CP/MAS RMN) existe um problema adicional, onde um núcleo de carbono somente pode efetuar a polarização cruzada com prótons que estejam próximos (Alemany et al., 1983). Desta forma, núcleos de carbono distantes de prótons não são eficientemente observados.

Em amostras que contém quantidades significantes de carbono isolado de prótons como no carvão, que ocorre nos solos antropogênicos, o espectro de ^{13}C CP/MAS RMN não fornece dados quantitativos. Neste caso, um outro experimento que pode ser utilizado para o estudo de estruturas desprovidas de hidrogênio é a técnica de ^{13}C VACP/MAS (ressonância magnética com amplitude variável e polarização cruzada), que consiste em se variar a amplitude do B_1 do ^1H ou do ^{13}C durante o tempo de contato da polarização cruzada. Este experimento minimiza os problemas decorrentes da rápida rotação em torno do ângulo mágico, que causa uma perda seletiva dos sinais de grupos químicos com fraco acoplamento

dipolar ^{13}C - ^1H (Novotny, 2002). Uma ilustração da sequência de pulso VACP é mostrada no anexo.

No que concerne à aplicação da técnica de RMN em estudos de substâncias húmicas de solos antropogênicos, pode-se citar o trabalho realizado por Zech, et al., (1990) que utilizaram amostras de solos intactas para realização das análises.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição, Coleta e Caracterização Morfológica.

Foram selecionadas 18 áreas de ocorrência de solos antropogênicos nas regiões de Humaitá, Lábrea, Apuí, Novo Aripuanã, Manicoré e Manaus, no estado do Amazonas. Nestes solos foram realizadas amostragens do horizonte A Antrópico (Horizonte Au1), em função da separação morfológica realizada no campo (Lemos & Santos, 1996). A amostragem foi realizada na camada de 0-20 cm, coletando-se várias sub-amostras que foram misturadas e acondicionadas para as análises futuras.

As áreas de estudo, foram selecionadas em função dos diferentes sistemas de uso encontrados, abrangendo áreas sob mata e áreas cultivadas. Também foram selecionados quatro solos adjacentes a algumas manchas de solos antropogênicos sob mata. No total trabalhou-se com 22 amostras de solos, em função do uso e tipo de solo, conforme descrito abaixo:

- **SAF:** Solos antropogênicos sob floresta;
- **SAC:** Solos antropogênicos sob cultivo, e
- **SNAF:** Solos não antropogênicos sob floresta.

Na Tabela 01 encontram-se listados os solos selecionados, sua localização, tipo de uso e agrupamento.

Tabela 01. Características e situação dos solos selecionados

Nº Amostra	Tipo de solo	Grupo	Uso atual	Localização
AH01	Solo antropogênico	SAF	Floresta	Humaitá
AH02	Solo antropogênico	SAF	Floresta	Novo Aripuanã
AH03	Solo antropogênico	SAF	Floresta	Apuí
AH04	Solo antropogênico	SAF	Floresta	Apuí
AH06	Solo antropogênico	SAF	Floresta	Irاندوبا
AH07	Solo antropogênico	SAF	Floresta	Rio Preto da Eva
AH10	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Humaitá
AH11	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Novo Aripuanã
AH13	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Apuí
AH14	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Rio Preto da Eva
AH15	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Rio Preto da Eva
AH16	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Novo Airão
AH17	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Rio Preto da Eva
AH18	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Rio Preto da Eva
AH19	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Irاندوبا
AH20	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Irاندوبا
AH21	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Novo Airão
AH22	Solo antropogênico	SAC	Cultivo	Açutuba
AH26	Solo não antropogênico	SNAF	Floresta	Manicoré
AH27	Solo não antropogênico	SNAF	Floresta	Humaitá

AH28	Solo não antropogênico	SNAF	Floresta	Manicoré
AH29	Solo não antropogênico	SNAF	Floresta	Humaitá

3.2 Análises Laboratoriais de Rotina

3.2.1 Análises químicas dos solos:

As análises químicas dos solos consistiram na determinação de pH (água e KCl), complexo sortivo, óxidos do ataque sulfúrico, P assimilável, carbono oxidável, nitrogênio e condutividade elétrica do extrato da pasta saturada. Com os resultados analíticos, foram calculadas a CTC, soma de bases (valor S), saturação por bases (valor V), saturação por sódio, saturação por alumínio e relação C/N, conforme EMBRAPA (1997).

3.3. Análises Laboratoriais Especiais:

3.3.1. Quantificação das substâncias húmicas:

O fracionamento químico quantitativo das substâncias húmicas foi realizado segundo Benites et al., (2003), sendo obtidas as frações humina (H), ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF). A determinação quantitativa de carbono nos extratos das frações ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina foi feita através da oxidação do C com dicromato de potássio e titulação do excesso, com sulfato ferroso amoniacal de acordo com Yeomans & Bremner (1988).

Obtiveram-se os valores absolutos de cada fração e da soma destes, em miligrama de carbono por grama de solo, e também o percentual de cada fração em relação ao carbono total. Foram calculadas as relações entre as frações ácidos húmicos e ácidos fúlvicos (AH/AF), e a relação entre as frações solúveis no extrato alcalino (AF + AH) e o resíduo humina (H), obtendo-se a relação AF + AH / H (Benites et al., 2002).

3.3.2 Extração, fracionamento químico e purificação do material húmico para fins analíticos:

A extração e o fracionamento do húmus para obtenção dos ácidos húmicos, bem como sua purificação, foram realizados conforme método da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS), cujo protocolo metodológico encontra-se descrito em Swift (1996), com uma modificação deste com pré-tratamento da amostra de solo com uma solução de HCl a pH entre 1 e 2 para redução do conteúdo de cinzas (remoção de metais adsorvidos), e utilização do K^+ para remoção dos sólidos em suspensão (Novotny, 2002), conforme descrição a seguir. Após pré-tratamento dos solos com HCl 0,1 mol L⁻¹, foram adicionadas quantidades de amostras com cerca de 1000 mg de ácidos húmicos (estimado pelo fracionamento quantitativo) a 200 mL de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ sob atmosfera de N₂. Após agitação por 24 h, o material foi centrifugado a 10.000 g por 30 min. O sobrenadante foi recolhido e imediatamente o pH foi ajustado para 2,0, por gotejamento de solução aquosa de HCl 20%. O resíduo foi novamente submetido à extração, da mesma forma, e o sobrenadante juntado ao anterior, ajustando-se, imediatamente, o pH para 2,0. O extrato acidificado foi reservado para precipitação dos AH. Após 18 h, o excesso de sobrenadante foi sifonado e descartado. O restante do material foi centrifugado a 5.000 g por

10 min, eliminando-se o sobrenadante. Para remoção dos sólidos solúveis em suspensão, os ácidos húmicos foram re-dissolvidos em solução de KOH a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ onde se adicionou KCl para atingir-se uma concentração de $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ de K^+ e então se centrifugou a 4.000 g por 15 min. Após esta etapa os ácidos húmicos foram purificados com solução de HF + HCl 0,5% (Schnitzer, 1982) por 24 h e centrifugados a 5.000 g , repetindo-se o processo mais duas vezes. As amostras purificadas foram lavadas com água deionizada e transferidas para sacolas de celofane de aproximadamente 100 mL. A diálise das amostras foi realizada em água deionizada em recipiente coletivo de 20 L (12 sacolas por bateria), sendo a água trocada duas vezes ao dia, até que não houvesse aumento maior que $1\mu\text{S}$ na medida de condutividade da água de diálise, 1 hora após a troca desta. As amostras foram então congeladas e liofilizadas, e após a liofilização foram acondicionadas em dessecador.

3.3.3 Análise termogravimétrica e determinação do conteúdo de cinzas (avaliação da estabilidade térmica dos ácidos húmicos)

As curvas de termodecomposição de todas as amostras de ácidos húmicos foram obtidas em um analisador termogravimétrico, TGA-50 SHIMADZU, utilizando-se $3,3 \pm 0,1 \text{ mg}$ de amostras, em ambiente estático ao ar, conforme Benites et al., (2002). O peso inicial foi estabilizado a 30°C e a curva de aquecimento foi de 5°C min^{-1} até 105°C com um tempo de espera de 10 min, seguido de aquecimento a 5°C min^{-1} até 650°C , ou até 600°C quando detectado o final da queima pela estabilização do peso do resíduo. O processo consumiu em média 2 h 30 min por amostra, além de 30 min adicionais para o resfriamento do aparelho. A curva de termodecomposição foi adquirida por interface com microcomputador utilizando-se o programa TA-50 WSI (Shimadzu, 1989), a uma razão de um ponto a cada 10 s, num total de 800 pontos por curva. A perda de peso até 105°C , incluído o tempo de espera, foi considerada como umidade da amostra. O resíduo ao final da queima foi considerado como igual ao teor de cinzas. O índice termogravimétrico (ITG) foi calculado pela razão entre a perda de massa no segundo evento ($350\text{-}650^\circ\text{C}$) e a perda de massa no primeiro evento ($105\text{-}350^\circ\text{C}$), conforme procedimento descrito em Benites et al., (2002).

3.3.4. Análise da composição elementar (estudo da composição química dos ácidos húmicos)

A composição dos ácidos húmicos foi determinada em analisador elementar. As análises foram realizadas utilizando-se aproximadamente $1,1 \pm 0,1 \text{ mg}$ de amostras pesadas em microbalança acoplada ao aparelho. O padrão de referência usado foi a acetanelida (C: 70,19%; H: 4,15%; N: 10,19%), sendo o aparelho calibrado diariamente e as leituras das amostras alternadas por leituras de branco, na razão de um branco para cada seis amostras. Os valores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram corrigidos para base seca e sem cinzas, utilizando-se as informações obtidas pelos dados da análise termogravimétrica, através da equação:

$$\% \text{ corrigido} = \% \text{ original} \times 100 / (100 - \% \text{ umidade} - \% \text{ cinzas})$$

O teor de oxigênio foi determinado por subtração a partir dos dados corrigidos ($\% \text{O} = 100\% - (\% \text{C} + \% \text{H} + \% \text{N})$). Também foram calculadas as razões atômicas: $\text{H/C} = ((\% \text{C}/12)$

/ (%H/1)); C/N = ((%C/12) / (%N/14)); O/C = ((%O/16) / (%C/12)) e O/H = ((%O/16) / (%H/1)).

3.3.5 Acidez total:

Foi determinada conforme Schintzer & Gupta (1965), colocando-se amostras de 50 a 100 mg de ácidos húmicos em kitasato, adicionando-se 20 mL de Ba(OH)₂ 0,125 mol L⁻¹ preparado com água sem CO₂ dissolvido. Simultaneamente, foi realizada prova em branco somente com 20 mL de Ba(OH)₂ 0,125 mol L⁻¹. O ar dos frascos foi deslocado pela passagem de N₂ e o sistema submetido à agitação por 24h à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o resíduo lavado com água fervida sem CO₂. O filtrado foi titulado potenciométricamente até pH 8,4 com HCl 0,5 mol L⁻¹. O cálculo da acidez total foi realizado conforme a equação:

Acidez total = (título da amostra – título do branco) x C do HCl x 1000/massa da amostra em mg.

3.3.6 Acidez carboxílica (COOH) e acidez fenólica (OH):

A acidez carboxílica foi determinada conforme Schintzer & Gupta (1965). Amostras de 50 a 100 mg de ácidos húmicos foram colocadas em erlenmeyer de 125 mL, adicionando-se 40 mL de água sem CO₂ e 10 mL de Ca(OAc)₂ 1 mol L⁻¹. Simultaneamente foi conduzida uma prova em branco somente com 40 mL de água sem CO₂ e 10 mL de Ca(OAc)₂ 1 mol L⁻¹. O sistema foi submetido à agitação por 24h, à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o resíduo lavado com água sem CO₂. O filtrado foi titulado potenciométricamente até pH 9,8 com NaOH 0,1 mol L⁻¹. O cálculo do teor de grupamentos COOH foi realizado conforme a equação:

Teor de COOH = (título da amostra – título do branco) x C do NaOH x 1000/massa da amostra em mg.

A acidez fenólica foi obtida por diferença entre a acidez total e o teor de COOH.

3.3.7 Grau de oxidação (w):

Foi determinado através da seguinte equação: $W = 2QO - QH/QC$, onde: QO, QH e QC são as quantidades dos elementos oxigênio, hidrogênio e carbono, respectivamente, Orlov (1985).

3.3.8 Espectroscopia na região do ultravioleta-visível, relação E₄/E₆ e coeficiente Dlogk:

Foi realizado conforme procedimentos descritos em Canellas (2000a), Chen et al., (1977) e Yonebayashi & Hattori (1988). Os espectros de UV-vis foram obtidos numa faixa espectral de 200 a 800 nm. Os espectros foram registrados a 25 °C com o caminho ótico

constante de 1 cm, em solução preparada com 20 mg de ácido húmico diluído em 1 L de NaHCO_3 0,05 mol L^{-1} , com pH em torno de 8,0. Para determinação da relação coeficiente E_4/E_6 , foi dividida a absorvância em 465nm pela obtida em 665 nm.

O coeficiente $\Delta\log k$ foi obtido pela diferença entre o log da absorvância em 400nm e 600nm, ou seja, $\Delta\log k = \log E_4 - \log E_6$, (Kumada, 1987).

3.3.9 Espectroscopia na região do infravermelho DRIFT (caracterização dos grupamentos funcionais presentes nas estruturas dos ácidos húmicos)

Os espectros de DRIFT foram obtidos em unidades de Kubelka-Munk. Unidades de Kubelka-Munk são análogas às unidades de absorbância no espectro de infravermelho. Os picos e bandas observados na espectroscopia DRIFT são similares aos observados na espectroscopia de infravermelho por transmissão (Niemeyer, et al., 1992; Baes & Bloom, 1989).

Os espectros foram registrados com uma resolução nominal de 4 cm^{-1} , dentro da faixa espectral compreendida entre 4.000 e 400 cm^{-1} . As amostras de ácidos húmicos foram analisadas em espectrofotômetro pertencente à Universidade de Gödolo, na Hungria, adaptado com uma unidade de reflectância difusa, utilizando-se aproximadamente 5 mg de AH + 250 mg de KBr, que foram acondicionados em uma célula de 1,2 cm de diâmetro, sendo os espectros tratados de forma similar a espectros obtidos por espectroscopia de absorção.

Alguns autores utilizando-se de espectroscopia DRIFT em unidades de Kubelka-Munk, têm usado índices para avaliar qualitativamente a hidrofobicidade da matéria orgânica do solo (Capriel et al., 1995; Dick et al., 2003).

3.3.9.1 Índice de aromaticidade, hidrofobicidade e reatividade.

A relação entre a absorbância da banda de absorção na região 3.057-3.055 cm^{-1} e em 2.934-2.928 cm^{-1} foi chamada, neste trabalho, de índice de aromaticidade, uma vez que expressa a relação entre o estiramento de C-H de grupos aromáticos e estiramento axial assimétrico de C-H alifático, respectivamente.

Por outro lado, a relação entre a absorbância da banda de absorção na região 2.928 cm^{-1} e 1.050-1.080 cm^{-1} foi chamada, neste trabalho, de índice de hidrofobicidade, uma vez que expressa a relação entre grupos apolares (CH_3) e polares (-OH, C-O), respectivamente, adaptado de Freixo et al.; (2002). A razão entre as bandas de absorção a 1.720-1.722/1.525, foi chamada neste trabalho índice de reatividade, por expressar a relação entre estiramentos C=O de COOH e cetonas e o estiramento de C=C aromático.

3.3.10 Espectroscopia de fluorescência e estimativa do grau de humificação:

Os espectros de fluorescência foram registrados em 3 modos: emissão, excitação e sincronizado em espectrômetro de luminescência Perkin Elmer LS50B, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, utilizando-se soluções de 2 mg de AH em 100 mL de NaHCO_3 0,005 mol L^{-1} , com pH resultante de aproximadamente 8,4, abertura das fendas de

10 nm e velocidade de aquisição de 20 nm/min, conforme procedimento descrito em Milori et al., (2002).

Utilizou-se três procedimentos para estimativa do grau de humificação dos ácidos húmicos. O primeiro deles foi o método proposto por Zsolnay et al., (1999), a partir de espectros de fluorescência no modo de emissão com excitação em 240 nm. O espectro de emissão total foi dividido em quatro regiões, e o grau de humificação calculado através da relação do último quartio (665-585 nm) com o primeiro (425-345 nm), resultando no índice A_4/A_1 .

O segundo método foi adaptado de Kalbitz et al., (1999), utilizando-se espectros de fluorescência no modo de varredura síncrona. Kalbitz et al., (1999), informam que estes espectros apresentam dois picos, um em torno de 360 e outro em 400 nm e um ombro em torno de 470 nm. Este comportamento pode mudar de acordo com o grau de humificação, podendo esta mudança ser avaliada através das relações entre os picos de fluorescência, resultando no índice I_{480}/I_{400} .

O terceiro método foi baseado em Milori et al., (2002), que consiste no uso do comprimento de onda azul como fonte de excitação. Estas absorções estão mais ligadas com estruturas cuja concentração aumenta com o aumento do grau de humificação, conforme anteriormente demonstrado por Milori et al., (2000). Neste procedimento a área total sob o espectro de fluorescência resultante da excitação com luz azul foi considerada como proporcional ao grau de humificação e foi chamada de índice A_{465} .

3.3.11 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) (quantificação dos radicais livres orgânicos dos ácidos húmicos)

As medidas de radicais livres orgânicos foram realizadas usando espectrômetro de RPE da Bruker-EMX com cavidade retangular, operando em banda X (aproximadamente 9,0 GHz) em temperatura ambiente. As amostras de AH (20 mg em média) foram colocadas em tubos de quartzo e compactadas até 5 mm de altura a partir da base do tubo, com duas repetições por amostra. A concentração de radicais livres orgânicos (spins g^{-1}) foi obtida pela integração do sinal da primeira derivada do radical livre, comparado a um padrão de KCl (Strong pitch), fornecido pela Bruker, com concentração de spins conhecida (3×10^{15} spins cm^{-1}), utilizando o rubi sintético como padrão secundário (Singer, 1959; Martin-Neto et al., 1994).

As quantidades de radicais livres foram determinadas normalizando-se pela massa (ou conteúdo de carbono). A largura da linha foi estimada pela separação pico a pico da primeira derivada de absorção do sinal (Senesi & Steelink, 1989). As medidas de RPE foram realizadas em uma cavidade ressonante esférica, nas seguintes condições experimentais: campo magnético (H_0) = 3400 Gauss (G), frequência de modulação (FM) = 100 kHz, amplitude de modulação (AM) = 0,5 G e potência de microondas (P) = 0,2 mW. As condições experimentais para o rubi sintético foram H_0 = 5400 G, FM = 100 kHz e P = 10 mW. O padrão de KCl foi analisado nas seguintes condições: H_0 = 3400 G, FM = 100 kHz, AM = 0,5 G e P = 0,2 mW. As curvas de saturação de potência do sinal dos radicais livres orgânicos indicaram não haver saturação do sinal com a potência de microonda de 0,2 mW. Foram utilizadas 20 varreduras para as medidas de radicais livres. A curva de saturação de potência de microondas para o sinal de radical livre foi obtida com passo de 1 dB variando a potência de 0,02 a 200 mW num total de 40 medidas, campo central H_0 =3458 G, largura de

varredura $H = 70$ G, frequência $\nu = 9,44$ GHz, temperatura ambiente e amplitude de modulação $= 1$ G.

3.3.12 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de polarização cruzada e rotação no ângulo mágico com amplitude variável (RMN ^{13}C -VACP/MAS) (caracterização dos tipos de átomos de carbono presentes nas estruturas dos ácidos húmicos)

Utilizou-se o experimento de VACP/MAS RMN ^{13}C , uma vez que as interações dipolares variam entre os diferentes grupos químicos que se pretende quantificar, devido às diferenças no acoplamento ^{13}C - ^1H , diferença de mobilidade molecular e também devido ao efeito da rotação que acaba sendo seletivo para os grupos com menor interação dipolar, como aqueles com maior mobilidade e/ou não protonados, (Novotny, 2002). Este experimento é realizado variando-se a amplitude do B_1 do ^1H ou do ^{13}C durante o tempo de contato da polarização cruzada, abrangendo-se as diferentes condições de Hartmann-Hahn existentes na amostra.

Os experimentos de RMN ^{13}C com polarização cruzada (CP) e rotação do ângulo mágico (MAS) com amplitude variável (VACP/MAS RMN ^{13}C) foram realizados em um espectrômetro Varian (modelo Unity Inova 400), da Embrapa Instrumentação Agropecuária, utilizando aproximadamente 600 mg de ácidos húmicos. As amostras foram acondicionadas em rotor cilíndrico de zircônia, com 5 mm de diâmetro (Doty Supersonic), girando a 6 kHz em um probe Doty Supersonic para amostras sólidas. Os espectros de VACP/MAS RMN ^{13}C foram obtidos usando-se as seguintes condições experimentais: frequência de ressonância de 100.05 MHz para ^{13}C , banda espectral para polarização cruzada de 20 KHz, pulso de preparação do próton de 3,8 μs , tempo de contato de 1 ms, tempo de aquisição de 12,8 ms e tempo de espera para relaxação de 500 ms. Os valores de deslocamento químico foram referenciados ao Hexametil benzeno (HMB), que possui linha bem definida em 17,2 ppm.

Os espectros de RMN de ^{13}C VACP/MAS foram divididos em seis regiões de acordo com Knicker & Lüdemann (1995): alquil C (0-45 ppm), C-metoxil (45-60 ppm), O-alquil C + di-O-alquil (60-110 ppm), C-aromático C + O-aromático C (110-160 ppm), carboxil (160-185 ppm) e carbonil C (185-245 ppm), integrando-se as áreas eletronicamente.

Taxa insuficiente de rotação (6,0 kHz), leva ao desdobramento do sinal isotrópico em bandas laterais espaçadas à frequência de rotação. Por este motivo, bandas laterais para os sinais de aromáticos entre 140 e 110 ppm ocorrem a uma distância da frequência da velocidade de rotação em ambos os lados do sinal central. As mesmas ocorrem na região de deslocamento químico de 275 a 220 ppm e de 0 a -50 ppm, sendo estas acrescentadas àquela obtida para 140-110 ppm. Embora a banda lateral da região entre 220 e 160 ppm, numa velocidade de rotação baixa, seja observável entre 300 e 275 ppm, sua banda lateral em alto campo sobrepõe com a região de carbono de alquil entre 45 e 0 ppm. Consequentemente, para a determinação da intensidade do C-carbonílico, a banda lateral de baixo campo foi adicionada duas vezes àquelas da região entre 220 e 160 ppm. Da mesma maneira, esta banda lateral foi subtraída da região entre 0 e 45 ppm para obtenção do carbono alquil, conforme procedimentos descritos em Knicker et al., (2004).

Todas as integrais foram corrigidas pelas áreas das bandas laterais da seguinte maneira: foi integrada a área total do espectro (-50 até 325 ppm) e posteriormente foram integradas as áreas: -50-0; 0-45; 45-60; 60-90; 90-110; 110-140; 140-160; 160-185; 185-245; 245-300 e 300-325 ppm. Para correção das bandas laterais, os cálculos utilizados foram: região

160-110 = 300-245 ppm + 0-45 ppm + 160-110 ppm; região 185-160 ppm = (325-300 ppm x 2) + 185-160 ppm; região 0-45 ppm: 0-45 ppm – 325-300 ppm, obtendo-se no final as seguintes áreas corrigidas: 0-45; 45-60; 60-110; 110-160; 160-185 e 185-245 ppm, Knicker et al., (2004). As atribuições aos deslocamentos, foram:

0-45 ppm: C-sp³

45 – 110 ppm: O e N-alquil

45 – 60 ppm: C-N-alifático, metoxil

60 - 90 ppm: O-alquil (carboidratos e álcoois)

90 – 110: Carboidratos

110 – 160 ppm: C sp²

110 – 140 ppm: H- aromático; C-aromático, C-olefínico

140 – 160 ppm: O-aromático e N-aromático

160 – 245 ppm: C-carbonílico; C-carboxílico; C-amídico

160 – 185ppm: C-carboxílico e C-amídico.

185 – 245 ppm: Aldeídos e cetonas.

Os graus de Alifaticidade e Aromaticidade foram calculados segundo Hatcher et al., (1981), conforme abaixo:

$$\text{Grau de alifaticidade (\%)} = \frac{(\% \text{ 0 – 110 ppm})}{(\% \text{ 0 – 160 ppm})} \times 100$$

$$\text{Grau de aromaticidade (\%)} = \frac{(\% \text{ 110-160 ppm})}{(\% \text{ 0 – 160 ppm})} \times 100$$

Para o cálculo da razão C-recalcitrante/C-lábil das amostras de ácidos húmicos estudadas, o C-recalcitrante foi obtido pela soma da percentagem de C-alquil (0-45 ppm), C-aromático (110-140 ppm) e C-fenólico (140-160 ppm). Para o C-lábil, considerou-se a soma da proporção relativa de C-O-alquil (45 -110 ppm) do espectro de VACPMS ¹³C RMN. A metodologia deste cálculo foi modificada de Novotny et al., (1999).

3.3.13 Índice de polaridade.

O índice de polaridade foi calculado conforme Torrentes et al., (1997), sendo utilizado neste trabalho para se avaliar o comportamento dos ácidos húmicos estudados quanto à presença de compostos polares e apolares.

$$\text{Índice de Polaridade} = \%O + \%N/\%C$$

3.4 Análises Estatísticas dos Dados Químicos e Espectroscópicos:

As inferências sobre os resultados foram efetuadas com base em análise de regressão multivariada, correlações de Pearson, testes para médias e estatísticas multivariada de componentes principais com rotação varimax (PCA), análise hierárquica de agrupamentos (“clusters”) e análise discriminante. A análise descritiva dos dados, teste de comparação de médias, a estatística multivariada, correlações bivariadas e a construção de gráficos foram realizadas utilizando-se o programa Statistica®, o programa Origin® e programas dos próprios instrumentos espectroscópicos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Características Químicas dos Solos.

As principais características químicas dos solos podem ser visualizadas na Tabela 02. Chama a atenção os valores elevados de cálcio e fósforo assimilável dos solos antropogênicos que variaram de 0,25 a 16,07 cmol_c kg⁻¹ para o Ca⁺⁺ e de 15 a 1365 mg kg⁻¹ para o fósforo assimilável, comparados aos valores observados nos solos não antropogênicos onde os teores de cálcio variaram de 0,05 a 2,81 cmol_c kg⁻¹ e os de fósforo assimilável de 1 a 9 mg kg⁻¹.

Tabela 02. Características químicas dos solos estudados.

Amostras	pH	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	Al ⁺⁺⁺	SB	CTC	V	Pass.
-----cmol _c kg ⁻¹ -----								%	mg kg ⁻¹
SAF-AH01	6,3	12,57	2,90	0,08	0,00	15,57	20,41	76	235
SAF-AH02	4,2	8,46	0,50	0,14	0,00	9,10	17,51	52	15
SAF-AH03	3,7	5,32	0,20	0,08	0,00	5,60	8,86	64	23
SAF-AH04	6,0	11,27	1,00	0,18	0,00	12,49	21,29	59	96
SAF-AH06	5,2	8,03	2,01	0,12	0,03	10,23	19,90	51	169
SAF-AH07	5,0	7,33	1,53	0,11	0,93	9,01	17,20	52	158
SAC-AH10	6,4	10,47	2,50	0,16	0,00	13,16	17,46	75	267
SAC-AH11	5,8	6,33	1,47	0,23	0,00	8,07	14,23	57	337
SAC-AH13	5,1	8,10	1,27	0,46	0,10	9,86	21,93	45	227
SAC-AH14	5,2	4,54	0,83	0,07	0,30	5,49	17,05	32	102
SAC-AH15	5,0	3,46	0,20	0,04	0,80	3,72	17,16	22	142
SAC-AH16	5,8	9,81	2,20	0,08	0,00	12,1	20,17	60	153
SAC-AH17	6,1	6,22	0,96	0,11	0,00	7,34	11,01	67	361
SAC-AH18	4,4	0,25	0,27	0,02	1,06	0,06	8,69	6	47
SAC-AH19	5,5	7,10	1,37	0,21	0,00	8,72	16,26	54	106
SAC-AH20	5,2	16,07	2,20	0,29	0,00	18,72	28,35	66	1365
SAC-AH21	5,4	9,19	1,30	0,04	0,00	10,60	19,6	54	130
SAC-AH22	5,9	7,67	1,23	0,40	0,00	9,33	15,00	62	250
SNAF-AH26	4,4	0,45	0,46	0,05	0,91	0,96	8,94	11	3
SNAF-AH27	4,7	0,93	0,70	0,55	0,50	2,28	10,38	22	6
SNAF-AH28	4,6	2,81	1,73	0,22	0,39	4,78	12,94	37	1
SNAF-AH29	4,1	0,05	0,05	0,02	0,59	0,14	5,86	2	9

SB: soma de bases; CTC: capacidade de troca de cátions; V: saturação por bases; Pass: Fósforo assimilável.

Estudos edafo-ambientais realizados na Amazônia, mostraram que na maioria dos latossolos os teores de Ca⁺⁺ e Mg⁺⁺ são baixos, devido ao intenso intemperismo e lixiviação ocorrentes na região (Sombroek, 1966; Silva et al., 1989; Rodrigues et al, 1974 e Vieira & Santos, 1987). Os teores de cálcio e magnésio observados nos solos não antropogênicos, estão, portanto de acordo com os baixos teores destes elementos encontrados nos solos altamente intemperizados da Amazônia. Por outro lado, na maioria das amostras de solos antropogênicos os teores de Ca⁺⁺ são mais elevados que os de Mg⁺⁺. Este comportamento pode ser atribuído ao descarte de materiais pelos povos pré-colombianos, tais como ossos,

que são ricos em cálcio e também devido a maior afinidade do cálcio com as superfícies de troca, o que desfavorece a sua lixiviação.

Na Tabela 03 podem ser observados os valores químicos médios por grupos de solos. Estes são semelhantes aos valores observados por Smith (1980), Éden et al., (1984), Kern & Kämpf (1989) e Lima (2001) em outros solos antropogênicos de vários locais da Amazônia. Verifica-se que os solos pertencentes aos grupos SAF e SAC, diferem significativamente em algumas características químicas, dos pertencentes ao grupo SNAF.

Tabela 03. Características químicas médias dos grupos de solos.

Grupos	pH	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Al ⁺⁺⁺	SB	CTC	V	Pass.
		-----cmol _c kg ⁻¹ -----						%	mg kg ⁻¹
SAF	5,1a	8,8a	1,4a	0,1a	0,16a	10,33a	17,5a	59a	116b
SAC	5,4a	7,4a	1,3a	0,1a	0,19a	8,93a	17,2a	51a	291a
SNAF	4,4b	1,1b	0,7b	0,2a	0,60b	2,04b	9,5b	21b	5c

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%. SB: soma de bases; CTC: capacidade de troca de cátions; V: saturação por bases; Pass: Fósforo assimilável.

Os teores de bases trocáveis (Ca⁺⁺ e Mg⁺⁺), P assimilável, CTC, soma de bases e saturação por bases são, significativamente, mais elevados nos solos pertencentes aos grupos SAF e SAC do que nos solos pertencentes ao grupo SNAF (Tabela 03). Não foi observada diferença significativa para os valores de K⁺. Estas diferenças químicas observadas nos solos antropogênicos são devidas à adição de resíduos orgânicos (urina, fezes, tecidos animais e vegetais e ossos) e de carbono pirogênico (carvão) decorrente da ação do fogo, pelos povos pré-colombianos (Smith, 1980).

Nos solos da Amazônia, especialmente nos solos de terra firme, que na maioria, possuem a fração mineral dominada por caulinita e óxidos de ferro, a matéria orgânica é um dos principais contribuintes tanto da fertilidade química quanto física destes solos (Sombroek, 1966). O carbono na forma de carvão, nos solos antropogênicos, deve estar atuando como filtro, retendo bases trocáveis. Associa-se a isto o aumento da capacidade de retenção de água que também é favorecida pelo carvão, evitando desta forma a perda de nutrientes por lixiviação, o que pode explicar também os elevados teores de nutrientes nos solos dos grupos SAF e SAC.

Steiner, et al., (2004) estudando o efeito de 15 combinações de fertilizantes orgânicos (composto orgânico, faves de galinha, serrapilheira e carvão) em Latossolos altamente intemperizados da região Amazônica, sobre o crescimento de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*), durante 4 ciclos agrícolas, observaram que as parcelas que receberam fertilização mineral (NPK e calcário) + carvão mostraram aumento de 40% no crescimento das plantas e aumento de 50% no rendimento, quando comparado com a parcela que recebeu apenas fertilizantes químicos. No segundo ano agrícola aumentos de mais de 800% no rendimento foram constatados, devido à aplicação de carvão. Estes resultados evidenciam o papel do carvão na retenção de nutrientes e/ou sua capacidade de sorção e seu efeito positivo na produtividade das culturas. Os autores observaram ainda que o uso do carvão aumentou a atividade microbiana e diminuiu as perdas de nutrientes por lixiviação.

O efeito do fogo em propriedades físicas e químicas do solo tem sido reportado na literatura científica (Masson, 1948; Sertsu & Sanchez, 1978). Segundo (Glaser et al., 2002) resíduos de carvão e biomassa carbonizada deixados nos locais das queimadas, podem servir para melhorar a fertilidade de solos tropicais por contribuir com a retenção de nutrientes. Tem

sido reportado também que a adição de carvão ao solo tem efeitos positivos sobre suas propriedades aumentando a fertilidade e produtividade do mesmo (Ketterings & Bigham, 2000; Glaser et al., 2002). Entretanto, estudos de impacto ecológico-econômico são necessários, no que diz respeito ao uso do carbono pirogênico como condicionador do solo.

O pH em água esta em torno de 5,0 nos solos pertencentes aos grupos SAF e SAC, enquanto nos solos pertencentes ao grupo SNAF, a acidez é mais elevada, estando o pH em torno de 4,4. Mudanças no pH de solos, após a produção de carvão, foram reportadas por Oguntunde et al., (2004), e atribuídas ao aumento do nível de cátions tocáveis que este material proporcionou ao solo. Aumento do pH foi também reportado, em estudos envolvendo sistemas que adotam a derrubada e queima “slash-and-burn” e em solos onde foi adicionado carvão (Glaser et al., 2002; Lehmann et al., 2003). Vale ressaltar, que os solos antropogênicos contêm até cerca de 70 vezes mais carbono pirogênico do que os solos não antropogênicos (Glaser et al., 2001), justificando desta forma as variações de pH observadas entre os grupos SAF e SAC e o grupo SNAF.

A capacidade de troca de cátions também foi mais elevada nos solos pertencentes aos grupos SAF e SAC. Este comportamento está associado à presença de elevados teores de matéria orgânica altamente reativa e de carbono pirogênico nestes solos. Segundo (Glaser et al., 2001), o carvão pode sofrer lenta oxidação nos lados da sua estrutura aromática, formando grupos carboxílicos que são responsáveis tanto pelo potencial de formação de complexos organo-minerais, bem como pela sustentabilidade da capacidade de troca de cátions nestes solos. Isto evidencia que a matéria orgânica pode melhorar diversos fatores limitantes que afetam grande parte dos solos da bacia amazônica, tais como deficiência de N, P, S, K, Ca, Mg, Zn e Cu, toxidez de alumínio, baixa capacidade de troca de cátions e risco de erosão.

4.2. Quantificação das substâncias húmicas em perfis de solos modais representativos dos grupos de ácidos húmicos:

Para a quantificação das substâncias húmicas foram selecionados três perfis modais representativos dos diferentes grupos de ácidos húmicos (Tabela 04).

Os dados apresentados estão de acordo com estudos realizados por Volkoff & Cerri (1981); Volkoff et al., (1988); Manarino et al., (1982) e Martins, (1987) em outros Latossolos.

Nestes perfis a maior parte da matéria orgânica é composta pela fração humina, chegando a contribuir com mais de 50% do carbono total nos horizontes superficiais. Este comportamento pode ser verificado pela relação AF+AH/H, onde na maioria dos horizontes observados foi menor que 1. Os solos antropogênicos, por sua vez não apresentaram maior proporção de AH, comparado com a fração de AF até o horizonte BA, quando sob mata e ao longo de todo o perfil quando sob cultivo. Os maiores teores de carbono foram observados nos perfis de solos antropogênicos, chegando até cerca de 50 g kg⁻¹ no horizonte A destes solos comparado ao solo não antropogênico onde o conteúdo de carbono total foi em torno de 34 g kg⁻¹.

Tabela 04. Frações húmicas em percentagem relativa do carbono total e razões AH/AF e AF+AH/H em perfis de solos representativos dos grupos de ácidos húmicos.

Horizontes	C total g kg ⁻¹	AF -----%-----	AH	H	AH/AF	AF+AH/H
LATOSSOLO AMARELO Coeso antrópico (floresta)						
Au1	50,8	07	21	51	3,0	0,5
Au2	20,0	06	19	77	3,1	0,3
AB	9,5	13	37	45	2,9	1,1
BA	8,5	16	25	51	1,6	0,8
Bw1	5,8	20	10	68	0,5	0,4
Bw2	3,6	27	18	56	0,6	0,8
LATOSSOLO AMARELO Coeso antrópico (cultivo)						
Apu1	45,8	10	26	49	2,7	0,7
Au2	36,2	06	13	89	2,0	0,2
AB	22,4	07	36	58	5,1	0,7
BA	16,0	09	30	60	3,4	0,6
Bw1	7,5	22	25	54	1,2	0,9
Bw2	4,1	19	20	66	1,0	0,6
LATOSSOLO AMARELO Distrófico típico (floresta)						
A	34,8	20	22	43	1,1	1,0
BA	23,0	25	10	68	0,4	0,5
Bw1	13,7	24	11	64	0,4	0,5
Bw2	6,2	26	07	66	0,3	0,5

AF: ácido fúlvico; AH: ácido húmico; H: humina.

No processo de humificação dos Latossolos, de um modo geral, os resíduos vegetais depositados na superfície do solo sofrem rápida mineralização, originando produtos pré-húmicos que migram facilmente em profundidade. Uma parte destes produtos origina os ácidos fúlvicos livres e outra parte sofre processos de polimerização e condensação e irá integrar os ácidos húmicos e humina (Volkoff & Andrade, 1976; Volkoff et al., 1978; Volkoff & Cerri, 1988). Chama a atenção o comportamento da razão AH/AF no perfil de LATOSSOLO AMARELO Coeso antrópico sob cultivo que, quando comparado com o perfil de solo antropogénico sob mata, evidencia que o cultivo favoreceu a oxidação de frações mais lábeis da MOS, resultando numa diminuição dos teores destas frações (substâncias húmicas de baixa massa molecular) em superfície e conseqüente redução relativa dos teores de ácidos fúlvicos com a profundidade.

No solo não antropogénico sob floresta a fração AF foi a segunda maior fração observada ao longo do perfil, chegando a constituir cerca de 24 % da composição da MOS. Nos solos antropogénicos, valores desta magnitude só foram observados nos horizontes subsuperficiais. Entretanto, nos solos sob cultivo, os teores de AH nestes horizontes são bem próximos aos encontrados para os AF (Tabela 04). Quanto à fração humina, esta permaneceu relativamente constante nas diferentes profundidades dos perfis.

Na Tabela 05 pode-se observar as quantidades de carbono total e de substâncias húmicas nos diferentes solos estudados.

Tabela 05. Quantidades de substâncias húmicas, carbono total e relações destas em percentagem relativa do carbono total de todas as amostras.

Amostra	Carbono total	AF	AH	H	AF	AH	H	$\frac{AH}{AF}$	$\frac{AF+AH}{H}$
----- g kg ⁻¹ -----				----- % -----					
SAF-AH01	50,8	5,1	12,7	25,9	10	25	51	2,6	0,69
SAF-AH02	38,5	8,1	12,0	20,0	21	31	52	1,5	1,00
SAF-AH03	39,2	8,6	12,0	12,9	22	31	33	1,4	1,61
SAF-AH04	54,3	4,9	19,2	22,2	9	35	41	3,9	1,07
SAF-AH06	45,2	5,9	15,6	18,6	13	35	41	2,6	1,17
SAF-AH07	39,5	5,1	11,6	20,7	13	29	52	2,3	0,81
SAC-AH10	45,8	4,6	11,8	22,5	10	26	49	2,7	0,73
SAC-AH11	28,6	3,1	11,5	12,0	11	40	42	3,8	1,21
SAC-AH13	52,9	8,5	13,6	24,5	16	26	46	1,6	0,91
SAC-AH14	42,2	4,6	19,1	17,5	11	45	41	3,9	1,37
SAC-AH15	51,9	8,8	24,0	16,3	17	46	31	2,7	2,03
SAC-AH16	45,0	6,8	16,5	25,2	15	37	56	2,4	0,93
SAC-AH17	34,0	3,7	8,6	20,6	11	25	61	2,2	0,59
SAC-AH18	39,9	3,2	16,2	12,3	8	41	31	4,9	1,58
SAC-AH19	39,9	4,4	11,4	16,5	11	28	41	2,6	0,95
SAC-AH20	67,0	7,4	17,7	29,1	11	26	43	2,5	0,86
SAC-AH21	50,4	3,0	14,1	20,3	6	28	40	4,5	0,85
SAC-AH22	38,9	3,1	11,1	15,2	8	28	39	3,4	0,92
SNAF-AH26	34,6	5,5	6,3	17,6	16	18	51	1,2	0,67
SNAF-AH27	34,8	7,0	7,7	15,0	20	22	43	1,1	0,98
SNAF-AH28	35,4	7,4	5,5	19,5	21	16	55	0,7	0,67
SNAF-AH29	46,7	3,7	9,1	22,4	8	19	48	2,6	0,56

AF: ácido fúlvico; AH: ácido húmico; H: humina.

Os teores de carbono total variaram de 28,6 a 67,0 g kg⁻¹, amostras AH11 e AH20, respectivamente. A fração humina foi dominante em quase todas as amostras. No que diz respeito às frações alcalino solúveis, a fração ácidos húmicos apresentou teores mais elevados do que a fração ácidos fúlvicos conforme pode-se constatar através da relação AH/AF.

No que diz respeito aos resultados quantitativos médios por grupo de solos, estes podem ser visualizados na Tabela 06.

Tabela 06. Quantidades médias de substâncias húmicas, carbono total e relações destas por grupos de ácidos húmicos em percentagem relativa do carbono total.

Grupo	Carbono total	AF	AH	H	AF	AH	H	$\frac{AH}{AF}$	$\frac{AF+AH}{H}$
----- g kg ⁻¹ -----				----- % -----					
SAF	44,6 a	6,3 a	13,9a	20,1 a	15 a	31 a	45 a	2,1 a	1,06 a
SAC	44,7 a	5,1 a	14,6a	19,3 a	11 a	33 a	43 a	3,0 a	1,08 a
SNAF	37,9 b	5,9 a	7,1b	18,6 a	16 a	19 b	49 a	1,2 b	0,72 a

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%. AF: ácido fúlvico; AH: ácido húmico; H: humina.

Os teores de carbono orgânico total apresentaram diferenças significativas entre os solos dos grupos SAF e SAC quando comparados ao grupo SNAF. Os valores observados neste estudo são mais elevados do que os observados por Lima (2001) e coerentes com observações realizadas em outros solos antropogênicos por, Sombroek (1966), Ranzani et al., (1970), Smith (1980), Eden et al., (1984), Kern & Kämpf (1989), e Pabst (1991).

Os teores elevados de carbono nos solos antropogênicos em ambiente com temperatura e precipitação elevadas, poderiam ser atribuídos à formação de complexos matéria orgânica-cálcio, e à composição da própria matéria orgânica, rica em carbono pirogênico (carvão). Estes elevados teores, associados à presença de artefatos cerâmicos ou líticos, tem sido considerados como atributo distintivo entre os solos antropogênicos e os não antropogênicos (Embrapa, 1999; Kämpf et al.; 2003).

Nos diferentes grupos de solos, de onde foram extraídos os ácidos húmicos verifica-se que o comportamento das frações humificadas da matéria orgânica seguiu o mesmo comportamento observado na análise quantitativa dos três perfis modais selecionados (Tabela 04). Houve predomínio da fração ácidos húmicos em relação à fração ácidos fúlvicos na maioria das amostras analisadas, evidenciando a existência de uma dinâmica bastante particular das frações húmicas nos solos antropogênicos. Dinâmica que pode ser associada à presença do carbono pirogênico.

Entretanto, chama a atenção os teores de ácidos fúlvicos encontrados para os solos do grupo SNAF, que são bastante próximo dos teores de ácidos húmicos, conforme se observa na relação AH/AF de 1,4 para este grupo. A fração humina foi a fração dominante em todas as amostras e os maiores teores foram observados no grupo SNAF (Tabela 06).

Estudando a composição húmica de solos antropogênicos da Amazônia, Lima (2001), verificou que nestes solos há uma predominância de frações altamente humificadas (ácidos húmicos e humina), com menor contribuição das frações mais solúveis e móveis (fração ácidos fúlvicos). O autor encontrou valores para a razão AH/AF da ordem de 14 no horizonte A de um Cambissolo Antrópico e da ordem de 4 em um Argissolo Antrópico. Comportamento semelhante também foi verificado neste estudo, onde valores da ordem de 3,0 foram observados para a razão AH/AF (Tabela 06).

O predomínio das frações ácidos húmicos sobre as frações ácidos fúlvicos em solos antropogênicos, ao contrário do que se observa nos demais solos de terra firme e várzea da Amazônia, pode ser o resultado de intensa humificação e rápida mineralização de grandes quantidades de material orgânico rico em N, P e Ca incorporado ao solo (Zech et al., 1990). Por outro lado, as condições bioclimáticas atuais como temperatura e precipitação elevadas, drenagem adequada e caráter eutrófico dos solos antropogênicos devem favorecer também o acúmulo de formas mais estáveis à decomposição e manutenção de altas razões AH/AF.

Foi observada menor razão AH/AF nos solos pertencentes ao grupo SNAF, que apresentam baixos conteúdos de bases trocáveis, quando comparado aos grupos SAF e SAC. Isso evidencia que o húmus dos solos antropogênicos apresenta melhor qualidade do que o húmus dos solos não antropogênicos. A razão AH/AF foi utilizada por Kononova (1982) como um indicador da qualidade do húmus, pois um baixo conteúdo de bases trocáveis no solo pode diminuir a intensidade do processo de humificação, isto é, as reações de síntese e condensação química e microbiana (Orlov, 1985). Desta maneira a composição

do húmus pode ser utilizada como um apropriado indicador dos efeitos do manejo sobre a qualidade do solo (MacCallister & Chien, 2000; Canellas et al., 2003).

O uso da matéria orgânica do solo como indicador de qualidade está baseado na sua importante ação sobre a fertilidade dos solos (afeta propriedades químicas, físicas e biológicas). Além disso, suas frações humificadas são marcadores químicos estáveis na história dos solos. Os ácidos húmicos são considerados marcadores naturais do processo de humificação, podendo refletir condição de formação e manejo dos solos. Solos naturalmente férteis em ambientes temperados apresentam-se mais enriquecidos em ácidos húmicos, onde a razão AH/AF é maior do que 1. Por outro lado, nos trópicos, valores menores do que 1 tem sido reportado na literatura científica (Dabin, 1981; Canellas et al., 2000; Canellas et al., 2003; Cunha et al., 2003). Em ambiente tropical, onde a presença de bases trocáveis nos solos é baixa, devido ao intemperismo a que estes foram submetidos, espera-se uma menor intensidade dos processos de humificação (condensação e síntese) e como consequência, menores teores de ácidos húmicos (Canellas et al., 2003). Baseado nos dados deste estudo (Tabelas 03 e 06) e nas considerações acima, infere-se haver, para os solos pertencentes ao grupo SNAF (solos não antropogênicos), menor intensidade dos processos de condensação e síntese, o que justifica também, os menores teores de ácidos húmicos observados neste grupo.

Foi observada estreita correlação entre os teores de ácidos húmicos, razão AH/AF e parâmetros de fertilidade do solo (capacidade de troca de cátions) para a maioria das amostras (Figuras 01 e 02, respectivamente).

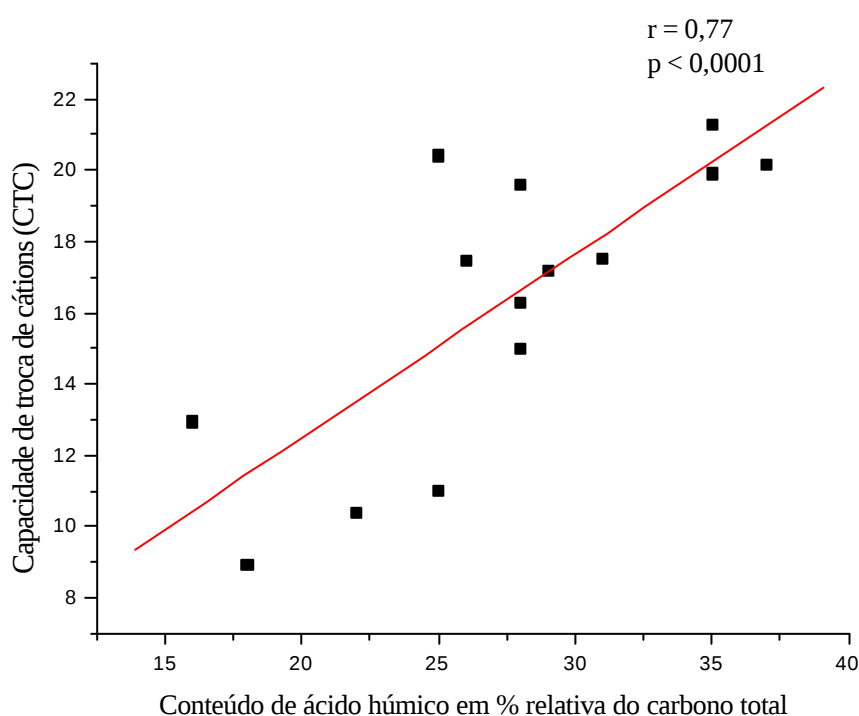


Figura 01. Correlação entre os teores de ácidos húmicos e a capacidade de troca de cátions dos solos.

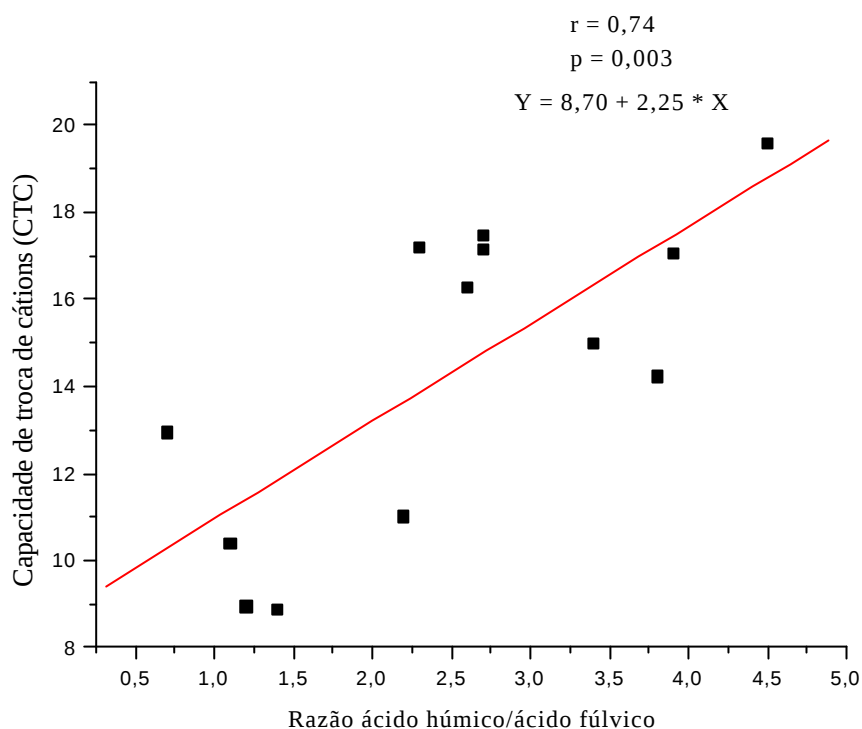


Figura 02. Correlação entre a razão AH/AF e a capacidade de troca de cátions dos solos.

Correlações estreitas, entre a fração ácidos húmicos e atributos químicos (CTC, Valor S e Ca^{++}) em solos antropogênicos da Amazônia (Terra Preta do Índio), também foram obtidos por Souza et al., (2003). Isto evidencia a importância desta fração húmica para a fertilidade dos solos antropogênicos, e também sua importância como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo. Canellas et al., (2003) também verificaram em solos não antropogênicos que o aumento dos teores de ácidos húmicos foram acompanhados de melhoria da fertilidade e da qualidade da matéria orgânica do solo, com conseqüente aumento do conteúdo de substâncias húmicas alcalino-solúveis mais condensadas (ácidos húmicos).

Devido ao fato da fração ácidos húmicos ser a que mais sofre alterações estruturais durante o processo de humificação, esta poderia ser utilizada como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo (Kogel-Knaber et al., 1988) e também como “Índice de fertilidade do solo”. Entretanto, a natureza do húmus do solo pode variar substancialmente com o clima, vegetação e condições do próprio solo, levando a interconvenções das frações húmicas (Volkoff & Cerri, 1988). A distribuição das frações húmicas em função das condições ambientais foi estudada por Volkoff et al (1978), Volkoff et al., (1984) e Volkoff & Cerri (1988).

A influência de processos pedoclimáticos na estabilização da matéria orgânica do solo foi citada por Duchaufour (1977) como uma conseqüência de alternâncias sazonais climáticas, em particular dos ciclos de umedecimento e secagem do solo. Por outro lado, Dabin (1976) mostrou que existe um equilíbrio cíclico entre as frações da matéria orgânica do solo no decorrer do ano, com aumento das frações mais polimerizadas nos períodos mais secos e aumento da fração ácidos fúlvicos nos períodos úmidos, sendo a fração ácidos húmicos a que menos sofre variação.

Turenne, citado por Duchaufour (1977), estudou estes processos ambiente tropical sob cerrado, através de variações da relação AH/AF, e constatou que, enquanto os períodos de secagem condicionam a polimerização (ou seja, passagem de AF para AH), os períodos de umedecimento favorecem o processo inverso de despolimerização. Estes processos de despolimerização e polimerização são dominantes em regiões de clima tropical com estação seca bem definida, ocorrendo, sobretudo, em solos argilosos (Dabin, 1982).

No Brasil, tanto solos distróficos quanto eutróficos apresentam conteúdos de ácidos húmicos semelhantes. Em alguns casos, solos eutróficos são mais ricos em ácidos fúlvicos do que solos distróficos (Santa Isabel, 1988; Borges, 1993; Benites, et al., 2001; Lima, 2001; Canellas et al., 2003). Entretanto, vale ressaltar que isso não descarta a importância do papel dos ácidos húmicos na fertilidade física e química de solos tropicais (Souza et al., 2003).

Baseado nos dados das correlações acima apresentadas (Figuras 01b e 02b) e nas considerações dos efeitos da sazonalidade na qualidade e nos processos de interconversões das frações húmicas, acredita-se que a utilização dos conteúdos de ácidos húmicos ou mesmo da razão AH/AF como indicador da fertilidade do solo, pode representar uma boa ferramenta para avaliação do potencial produtivo dos solos, ou seja, da sua fertilidade física e química, apenas em regiões de clima menos contrastado, como, por exemplo, na região Amazônica e outras do Brasil.

4.3. Análise Termogravimétrica

A Figura 03 apresenta as curvas da primeira derivada de decomposição térmica dos ácidos húmicos nos diferentes grupos. As formas dessas curvas são muito similares entre si, independentes dos grupos (SAF, SAC ou SNAF). Os termogramas foram caracterizados por um pico endotérmico (em torno de 105°C) relacionado à desidratação, e por dois picos de oxidação exotérmica: o primeiro (105 e 350°C) é consequência do resultado da degradação térmica de polissacarídeos, descarboxilação de grupos ácidos e desidratação de estruturas alifáticas hidroxiladas (Dell'Abate et al., 2002; Francioso, et al., 2003) e o segundo pico (350 e 650°C) está relacionado à quebra de estruturas aromáticas e rompimento de ligações C-C (Provenzano & Senesi, 1999). Outros pesquisadores também observaram aspecto semelhante (bimodal) nas curvas das primeiras derivadas de termogramas de ácidos húmicos (Benites, 2002; Giovanela, 2003).

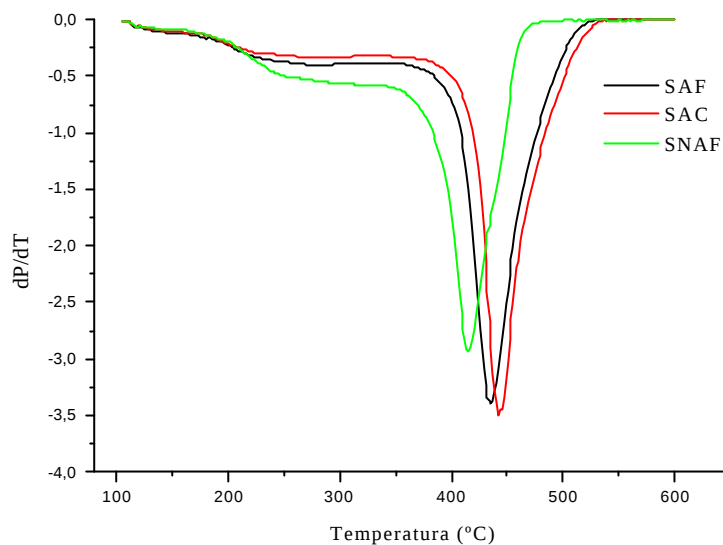


Figura 03. Curvas médias das primeiras derivadas dos termogramas dos ácidos húmicos representativos dos grupos SAF, SAC e SNAF.

Os ácidos húmicos apresentaram variações entre as diferentes amostras estudadas, no que diz respeito ao percentual de perda de massa em cada evento e ao pico máximo de termodegradação do segundo evento (Tabela 07).

Tabela 07. Resultados da análise termogravimétrica dos ácidos húmicos.

Amostra nº	Grupos	Umidade (%)		PPI (%)		ITG	Qmáx °C
		0 – 105°C	105–350°C	350-650°C			
AS-AH01	SAF	4,77	22,98	68,33	2,97	435,68	
AS-AH02	SAF	5,36	22,00	65,01	2,96	421,27	
AS-AH03	SAF	4,56	21,42	64,80	3,03	439,41	
AS-AH04	SAF	4,95	20,80	65,02	3,13	421,95	
AS-AH06	SAF	5,09	23,05	63,24	2,74	422,91	
AS-AH07	SAF	3,78	23,98	63,02	2,63	429,30	
AS-AH10	SAC	5,05	20,87	70,11	3,36	443,59	
AS-AH11	SAC	5,34	19,55	70,77	3,62	445,63	
AS-AH13	SAC	8,55	24,45	66,86	2,73	444,53	
AS-AH14	SAC	9,31	19,79	69,96	3,54	486,24	
AS-AH15	SAC	5,89	20,49	72,62	3,54	483,86	
AS-AH16	SAC	8,05	21,60	63,05	2,92	425,47	
AS-AH17	SAC	8,78	18,23	72,27	3,96	501,21	
AS-AH18	SAC	5,71	22,52	70,74	3,14	481,21	
AS-AH19	SAC	5,09	21,81	71,50	3,28	476,88	
AS-AH20	SAC	7,83	22,25	67,54	3,04	460,46	
AS-AH21	SAC	7,47	20,28	69,47	3,43	462,15	
AS-AH22	SAC	7,04	21,24	68,97	3,25	447,50	
SNA-AH26	SNAF	6,32	25,28	64,60	2,56	425,80	
SNA-AH27	SNAF	5,75	29,71	56,70	1,91	414,93	
SNA-AH28	SNAF	7,20	25,37	59,96	2,36	415,95	
SNA-AH29	SNAF	7,85	25,52	64,60	2,53	453,60	

PPI: perda de peso por ignição; ITG: índice termogravimétrico; Qmáx: máximo de termodegradação.

No primeiro evento a perda de massa variou de 18,23 a 29,71%, enquanto no segundo evento esta variação foi de 56,70 a 72,62%, com amplitude do índice termogravimétrico (ITG) da ordem de 1,91 a 3,96 (Tabela 07), indicando que entre os solos antropogênicos (grupos SAF e SAC) e os solos não antropogênicos (grupo SNAF) existem diferenças no comportamento termogravimétrico dos seus ácidos húmicos e portanto, na estabilidade térmica dos mesmos. O máximo de termodegradação (Qmáx) variou de 414,93 °C a 501,21 °C nas amostras AH 27 e 17, respectivamente.

Na Tabela 08, estão listados os valores médios referentes aos dados da análise termogravimétrica nos diferentes grupos formados.

Tabela 08. Dados médios da análise termogravimétrica dos grupos de ácidos húmicos.

Grupo	Uso	Umidade	PPI		ITG	Qmáx °C
		%	105–350°C	350-650°C		
SAF	Floresta	4,75 b	22,37 b	64,90 a	3,0 b	428,42
SAC	Cultivo	7,01 a	21,09 b	69,49 a	3,3 a	463,23
SNAF	Floresta	6,78 a	26,47 a	61,47 a	2,3 c	427,57

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%; PPI: perda de peso por ignição; ITG: índice termogravimétrico; Qmáx: máximo de termodegradação.

Entre os grupos, observa-se que a perda de massa no primeiro evento foi maior para o grupo SNAF, sugerindo que os ácidos húmicos deste grupo são menos resistentes à degradação térmica, por possuir uma maior quantidade de cadeias alifáticas e uma menor quantidade de grupamentos funcionais, o que se confirma pelo menor índice termogravimétrico (ITG), observado para os ácidos húmicos deste grupo.

Ibarra et al., (1994), relacionaram a perda de massa até 300° C à termodegradação de cadeias alifáticas. Tem sido comumente reportado na literatura científica, que o pico observado no primeiro evento das curvas de DTG de substâncias húmicas, apresenta correlação direta com a perda de grupos funcionais polares. Grupos funcionais ácidos (carboxílicos e fenólicos) são eliminados entre 250 e 400°C. Campanella & Tomassetti (1990), monitorando a degradação térmica de substância húmicas com a espectroscopia de infravermelho, reportaram que para extratos de solos, a descarboxilação e a perda de insaturação acontecem por volta de 280°C. Ioselis et al., (1985), também observaram a decomposição de grupos funcionais carboxílicos, fenólicos e alcoólicos em substâncias húmicas até cerca de 300°C.

No segundo evento, apesar de não ter sido observada diferença significativa na perda de massa entre os diferentes grupos, observa-se valor de perda de massa maior para os ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos, e entre estes, os ácidos húmicos pertencentes ao grupo SAC. Shurygina et al., (1971) e Benites (2002), atribuíram o segundo evento à termodegradação de núcleos aromáticos. O fato dos ácidos húmicos originados dos solos antropogênicos apresentarem perda relativa de massa, maior no segundo evento em relação ao grupo SNAF, está relacionado à maior quantidade de grupamentos aromáticos altamente condensados presentes nestes ácidos húmicos.

4.4. Composição Elementar

Na Tabela 09 podem ser visualizados os resultados da composição elementar, cinzas e as respectivas razões atômicas dos ácidos húmicos.

Tabela 09. Composição elementar, razões atômicas e conteúdo de cinzas dos ácidos húmicos.

Amostra Nº	Grupo	C	H	N	O	Razão atômica				Cinzas %
						H/C	O/C	O/H	C/N	
-----g kg ⁻¹ -----										
SA-AH01	SAF	596,3	42,0	59,5	302,1	0,85	0,38	7,19	12,00	4,04
SA-AH02	SAF	599,5	42,3	58,4	299,8	0,85	0,38	7,09	12,00	7,63
SA-AH03	SAF	605,7	45,6	58,6	290,1	0,90	0,36	6,36	12,00	9,22
SA-AH04	SAF	606,4	40,0	54,8	298,9	0,79	0,37	7,47	13,00	9,23
SA-AH06	SAF	594,9	44,2	61,8	299,1	0,89	0,38	6,77	11,00	8,63
SA-AH07	SAF	584,4	47,4	68,9	299,3	0,97	0,38	6,31	10,00	9,23
SA-AH10	SAC	608,4	34,4	59,7	297,6	0,68	0,37	8,65	12,00	3,97
SA-AH11	SAC	637,5	26,0	45,8	290,7	0,49	0,34	11,18	16,00	4,34
SA-AH13	SAC	583,5	38,8	68,9	308,8	0,80	0,40	7,96	10,00	0,14
SA-AH14	SAC	647,4	34,3	56,8	261,6	0,64	0,30	7,63	13,00	0,94
SA-AH15	SAC	628,8	37,7	58,1	275,5	0,72	0,33	7,31	13,00	1,01
SA-AH16	SAC	632,4	38,7	60,2	268,7	0,73	0,32	6,94	12,00	7,30
SA-AH17	SAC	652,0	32,9	59,0	256,1	0,60	0,29	7,78	13,00	0,73
SA-AH18	SAC	611,9	45,8	65,6	276,7	0,90	0,34	6,04	11,00	1,02
SA-AH19	SAC	618,3	40,9	54,5	286,8	0,79	0,35	7,01	13,00	1,61
SA-AH20	SAC	635,4	40,2	66,6	257,8	0,76	0,30	6,41	11,00	2,38
SA-AH21	SAC	637,2	32,1	57,5	273,2	0,60	0,32	8,51	13,00	2,78
SA-AH22	SAC	632,3	39,1	54,5	274,0	0,74	0,33	7,01	14,00	2,74
SP-AH26	SNAF	597,6	55,2	72,3	274,9	1,11	0,34	4,98	10,00	3,81
SP-AH27	SNAF	570,1	60,0	86,3	283,6	1,26	0,37	4,73	8,00	7,84
SP-AH28	SNAF	595,0	56,3	83,2	265,6	1,13	0,33	4,72	8,00	7,47
SP-AH29	SNAF	620,2	53,6	78,6	247,9	1,04	0,30	4,63	9,00	2,03

Os valores obtidos para a composição elementar, encontram-se dentro da faixa ou pouco acima daquelas normalmente reportadas na literatura para ácidos húmicos de clima temperado (C: 538 – 587 g kg⁻¹; H: 32 – 62 g kg⁻¹; N: 8 – 43 g kg⁻¹ e O: 328 – 383 g kg⁻¹) (Rice & MacCarthy, 1991; Stevenson, 1994).

Os conteúdos de carbono variaram de 570,1 a 652,0 g kg⁻¹, sendo o maior valor observado para o ácido húmico 17 extraído de solo antropogênico sob cultivo. Os conteúdos de nitrogênio e hidrogênio variaram de 45,8 a 86,3 e de 26,0 a 60,0 g kg⁻¹, respectivamente.

Na Tabela 10 estão listados os valores médios para carbono, nitrogênio, hidrogênio e oxigênio, razões atômicas e cinzas, nos grupos formados.

Tabela 10. Diferenças na composição elementar, razões atômicas e cinzas entre os grupos de ácidos húmicos.

Grupo	C	H	N	O	Razão atômica				Cinzas
	-----g kg ⁻¹ -----				H/C	O/C	O/H	C/N	%
SAF	598,0 b	44,0 b	60,0 b	298,0 a	0,90 b	0,40 a	6,87 a	11,70 a	8,00 a
SAC	627,0 a	37,0 c	59,0 b	277,0 b	0,70 c	0,30 b	7,70 a	12,60 a	2,40 b
SNAF	596,0 b	56,0 a	80,0 a	268,0 b	1,10 a	0,30 b	4,76 b	8,80 b	5,30 a

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

Entre os grupos, os valores médios para o conteúdo de carbono variaram na seguinte ordem: SAC > SAF = SNAF. Já os valores médios para o conteúdo de nitrogênio

diminuíram na seguinte ordem: SNAF > SAC = SAF. A análise destes dados mostra que os ácidos húmicos pertencentes ao grupo SAC, são relativamente mais ricos em carbono do que os ácidos húmicos pertencentes aos grupos SAF e SNAF, devido provavelmente a uma maior incidência de centros aromáticos em suas estruturas e às reações de polimerização e condensação que devem ser favorecidas pelo cultivo; os ácidos húmicos do grupo SNAF são relativamente mais ricos em nitrogênio e hidrogênio, evidenciando uma maior alifaticidade para os ácidos húmicos deste grupo (razão H/C = 1,10).

No que concerne aos ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC, o cultivo aumentou o conteúdo de C e diminuiu o de H e O. Este comportamento contradiz dados encontrados na literatura científica, que informam que o cultivo usualmente diminui o conteúdo de C e H, mas aumenta o de O nos ácidos húmicos, devido à maior oxidação das substâncias húmicas quando sob cultivo (Dziadowiec et al., 1992; Migliarina & Rosell, 1995).

Esta informação não é corroborada por Stevenson (1994), que informa que quanto maior o estágio de humificação das substâncias húmicas, maior é o conteúdo de C e menor o de H. Prossegue o autor informando que ainda com o avanço da humificação é menor a acidez das substâncias húmicas e, portanto menor é o conteúdo de O. Baseado no exposto acima pode-se inferir que o cultivo dos solos antropogênicos favoreceu o aumento do grau de humificação da sua matéria orgânica. O aumento do grau de humificação com o cultivo também foi reportado por Bayer et al., (2000, 2002) e Pérez et al., (2004). Incremento no conteúdo de nitrogênio e diminuição dos conteúdos de H e O são observados durante o processo de humificação de substâncias húmicas. A diminuição do conteúdo de O com a humificação é consequência, principalmente, das reações de descarboxilação, uma vez que, além de menor conteúdo de O, os ácidos húmicos também apresentam menor conteúdo de grupamentos COOH, comparado, por exemplo, com a fração ácidos fúlvicos (Stevenson, 1994; Canellas et al., 1999).

O aumento do conteúdo de carbono e a diminuição do oxigênio nos ácidos húmicos estudados podem explicar a maior resistência à termodegradação dos ácidos húmicos extraídos dos solos antropogênicos sob floresta (Tabela 08).

Objetivando esclarecer as relações estequiométricas entre os elementos químicos, calcularam-se as razões atômicas para os diversos ácidos húmicos. As razões atômicas têm sido utilizadas indiretamente para estabelecer o grau de condensação, a fonte de matéria orgânica, as transformações diagenéticas, bem como as condições ambientais sob as quais elas foram formadas (Stuermer et al., 1978; Rice & MacCarthy, 1991), além de serem um indicador simples do comportamento químico das substâncias húmicas (Canellas et al., 1999). A composição elementar foi expressa como razões atômicas de H/C, O/C, O/H e C/N.

Em geral, o cultivo reduziu a razão H/C e O/C e aumentou a razão C/N e O/H. O aumento da razão C/N pode estar relacionado à redução na mineralização de polissacarídeos e/ou à incorporação de carbono novo nas estruturas dos ácidos húmicos. Por outro lado, o aumento da razão O/H com o cultivo (grupo SAC) indica maior oxidação e humificação dos ácidos húmicos pertencentes a este grupo.

Na Tabela 10 observa-se que a razão H/C foi maior para o grupo SNAF. Por outro lado, a baixa relação H/C (< 1), observada nos grupos SAF e SAC sugere uma alta estabilidade e maior grau de humificação da matéria orgânica destes solos, o que é indicativo de caráter mais aromático nestes ácidos húmicos, sendo corroborado pelos dados da análise termogravimétrica (Tabela 08), que refletem maior estabilidade química e, consequentemente, maior resistência à degradação microbiana.

Observou-se estreita correlação entre a razão H/C, considerada como índice de aromaticidade (Stevenson, 1994), e o índice termogravimétrico (Figura 04), ou seja, quanto menor a razão atômica H/C, maior a resistência da amostra à termodegradação, indicando alta resistência de estruturas aromáticas altamente condensadas a processos de oxidação.

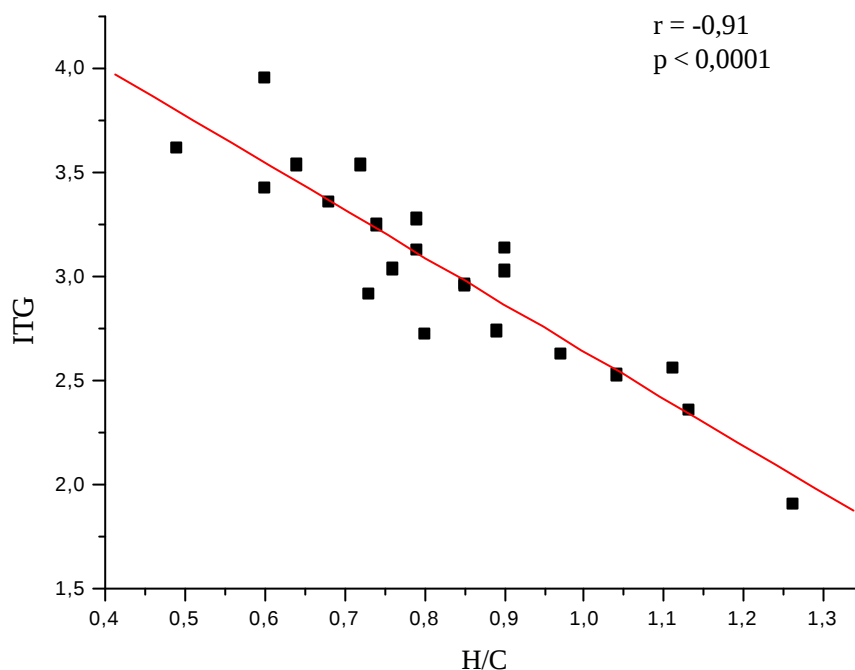


Figura 04. Correlação entre o índice termogravimétrico (ITG) e a razão atômica H/C.

A razão atômica O/C permite estimar a abundância de oxigênio contido em grupos funcionais (Bravard & Righi, 1991). Os valores da relação O/C não variaram entre os ácidos húmicos pertencentes aos grupos SAC e SNAF. Entretanto o menor conteúdo relativo de oxigênio, observado para os ácidos húmicos do grupo SNAF sugere uma concentração relativa menor de grupos funcionais oxigenados, comparado aos ácidos húmicos do grupo SAF.

A relação C/N indica o grau de incorporação do nitrogênio na estrutura húmica e o grau de humificação. Uma alta relação C/N indica baixa incorporação de nitrogênio e baixo grau de humificação. A relação C/N nos grupos SAF e SAC se encontra dentro da faixa que indica estabilidade biológica (10 – 12), Stevenson (1982). Isso sugere pequena mineralização secundária da MOS destes solos (Rosell et al.; 1989). Por outro lado, nos ácidos húmicos do grupo SNAF o valor desta relação, encontra-se abaixo da faixa sugerida para estabilidade biológica, indicando que neste grupo o processo de mineralização secundária é maior, evidenciando a baixa resistência destes ácidos húmicos a este processo.

Desta forma, uma relação C/N dentro da faixa de estabilidade biológica e a baixa relação H/C dos ácidos húmicos dos grupos SAC e SAF, sugerem alta estabilidade e grau de humificação maior da matéria orgânica dos solos de onde estes ácidos húmicos foram extraídos, sendo os ácidos húmicos do grupo SAC os que apresentaram a maior relação C/N e a menor relação H/C. A relação C/N em torno de 8,80 nos ácidos húmicos do grupo SNAF sugere uma taxa de mineralização maior destes ácidos húmicos do que os extraídos de

solos antropogênicos. Os altos conteúdos de nitrogênio e baixa relação C/N nos ácidos húmicos do grupo SNAF refletem uma maior presença de fragmentos de proteínas e peptídeos nos ácidos húmicos pertencentes a este grupo.

4.4.1. Estudo comparativo da composição elementar através do diagrama H/C versus O/C.

O diagrama H/C versus O/C tem sido reportado na literatura científica em estudos de substâncias húmicas. Kuwatsuka et al., (1978), utilizaram para comparar a composição elementar entre ácidos húmicos, fúlvicos, carvão e diversos tipos de constituintes de plantas. Shiroya & Kumada (1973), utilizaram para comparar a composição elementar de ácidos húmicos e carvão. Canellas, (1999) utilizou em estudos de substâncias húmicas originárias de matéria orgânica de origem urbana e Van Krevelen (1950) em análises de processos de coalificação.

Os processos químicos que influenciam a formação dos ácidos húmicos podem ser avaliados através do diagrama de Van Krevelen, mostrado na Figura 05.

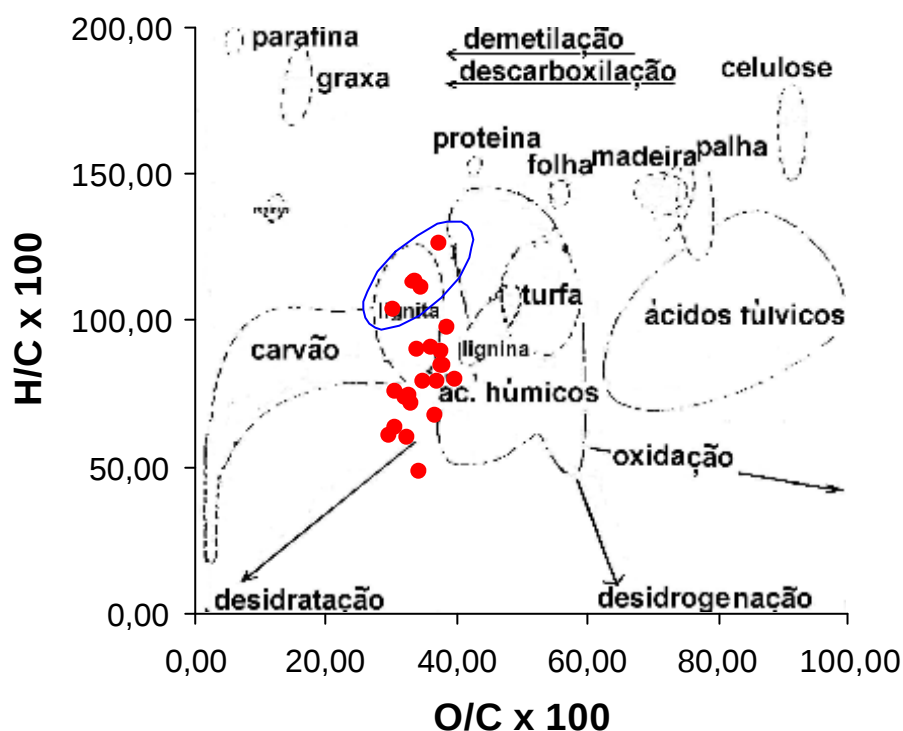


Figura 05. Diagrama H/C versus O/C dos ácidos húmicos. Pontos dentro da elipse referem-se aos ácidos húmicos pertencentes ao grupo SNAF.

A baixa posição dos ácidos húmicos de origem antropogênica indica que a desidrogenação, desidratação e a demetilação são os processos dominantes na geração destes ácidos húmicos. Isso indica que a estrutura química destes ácidos húmicos é estável e a tendência a mineralização é menor, quando comparado com os ácidos húmicos originados de solos pertencentes ao grupo SNAF, circulado em azul na posição mais superior do diagrama.

Os ácidos húmicos extraídos dos solos não antropogênicos apresentaram a mais alta relação H/C entre os ácidos húmicos estudados, e localizaram-se próximo à área de lignita. Já os ácidos húmicos extraídos de solos de origem antropogênica, com menores valores para a relação H/C, na sua grande maioria localizaram-se entre a área de ácidos húmicos e do carvão, isto é, precedendo a coalificação que progride para a esquerda. Este comportamento pode ser relacionado à origem pirogênica destes ácidos húmicos.

Observa-se na Figura 05, os principais caminhos para reações como descarboxilação, desmetilação, desidratação, desidrogenação, hidrogenação e oxidação. Estas são representadas por linhas retas no diagrama (Van Krevelen, 1950). Nos estágios iniciais e intermediários do processo de humificação, ocorrem principalmente a desidrogenação e desmetilação, sugerindo que as partes alifáticas das moléculas húmicas são eliminadas à medida que o processo de humificação progride. Nos estágios finais do processo de humificação as reações de desidratação passam a ocorrer, indicando que as reações de condensação desidratativa tornam-se importantes nos ácidos húmicos com alto grau de humificação, caso dos ácidos húmicos extraídos dos solos antropogênicos (posição mais inferior no diagrama).

4.5. Fórmulas Empíricas e Massas Moleculares Teóricas

Na Tabela 11 podem ser observados os cálculos das fórmulas empíricas e as massas moleculares teóricas para todos os ácidos húmicos estudados.

Tabela 11. Fórmulas empíricas e massas molares teóricas dos ácidos húmicos.

Amostra n°.	Grupo	Fórmula empírica	Massa teórica g mol ⁻¹
SA-AH01	SAF	C ₃₅ H ₃₀ N ₃ O ₁₃	706
SA-AH02	SAF	C ₃₆ H ₃₀ N ₃ O ₁₃	719
SA-AH03	SAF	C ₃₆ H ₃₃ N ₃ O ₁₃	717
SA-AH04	SAF	C ₃₉ H ₃₁ N ₃ O ₁₄	767
SA-AH06	SAF	C ₃₄ H ₃₀ N ₃ O ₁₃	680
SA-AH07	SAF	C ₃₀ H ₂₉ N ₃ O ₁₁	610
SA-AH10	SAC	C ₃₆ H ₂₄ N ₃ O ₁₃	704
SA-AH11	SAC	C ₄₉ H ₂₄ N ₃ O ₁₇	917
SA-AH13	SAC	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ O ₁₂	610
SA-AH14	SAC	C ₄₀ H ₂₅ N ₃ O ₁₂	740
SA-AH15	SAC	C ₃₈ H ₂₇ N ₃ O ₁₂	723
SA-AH16	SAC	C ₃₇ H ₂₇ N ₃ O ₁₂	698
SA-AH17	SAC	C ₃₉ H ₂₃ N ₃ O ₁₁	712
SA-AH18	SAC	C ₃₃ H ₂₉ N ₃ O ₁₁	640
SA-AH19	SAC	C ₄₀ H ₃₂ N ₃ O ₁₄	778
SA-AH20	SAC	C ₃₃ H ₂₅ N ₃ O ₁₀	631
SA-AH21	SAC	C ₃₉ H ₂₃ N ₃ O ₁₂	730
SA-AH22	SAC	C ₄₁ H ₃₀ N ₃ O ₁₃	771
SP-AH26	SNAF	C ₂₃ H ₃₀ N ₃ O ₀₈	466
SP-AH27	SNAF	C ₂₉ H ₃₂ N ₃ O ₁₀	581
SP-AH28	SNAF	C ₂₃ H ₂₉ N ₃ O ₀₉	487
SP-AH29	SNAF	C ₂₅ H ₂₈ N ₃ O ₀₈	505

As massas molares teóricas dos ácidos húmicos estudados variaram de 466 a 917 g.mol⁻¹; ácido húmico 26 e 11, respectivamente. Os valores obtidos para as massas molares foram menores do que os obtidos por Stevenson (1994), que sugere uma estrutura para os ácidos húmicos que resulta numa fórmula empírica C₇₃H₄₈N₄O₃₆ com massa molar teórica de 1.557 g mol⁻¹.

As fórmulas empíricas médias e os valores médios para a massa molar teórica por grupo de ácido húmico podem ser visualizados no Tabela 12.

Tabela 12. Fórmulas empíricas e massas moleculares teóricas médias dos ácidos húmicos nos diferentes grupos.

Grupo	Uso	Fórmula empírica	Massa teórica g mol ⁻¹
SAF	Floresta	C ₃₅ H ₃₀ N ₃ O ₁₃	700 a
SAC	Cultivo	C ₃₈ H ₂₆ N ₃ O ₁₃	721 a
SNAF	Floresta	C ₂₅ H ₃₀ N ₃ O ₀₉	510 b

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

Observa-se que os valores para massa molecular, estimada através da fórmula empírica, foram maiores para os ácidos húmicos de origem antropogênica e entre estes, foi relativamente maior para os ácidos húmicos do grupo SAC, sugerindo que o uso agrícola favorece uma maior condensação destes ácidos húmicos. A menor massa molecular, observada para os ácidos húmicos do grupo SNAF (solos não antropogênicos), reflete um baixo grau de polimerização e pode ser indicativo de quantidades relativamente altas de cadeias laterais de hidrocarbonetos alifáticos nestes ácidos húmicos (Kononova, 1966), se confirmando pelos elevados valores da razão H/C observados para este grupo (Tabela 10).

4.6. Acidez Total, Carboxílica e Fenólica.

Os resultados obtidos para a análise dos grupos funcionais contendo oxigênio, para os ácidos húmicos estudados, podem ser visualizados na Tabela 13.

Tabela 13. Acidez total, carboxílica (COOH) e fenólica (OH) e razão acidez carboxílica/acidez fenólica dos ácidos húmicos.

Amostra nº	Grupos	Acidez Total	Acidez Carboxílica	Acidez Fenólica	COOH OH
		-----cmol kg ⁻¹ -----			
SA-AH01	SAF	811	531	280	1,89
SA-AH02	SAF	516	429	186	2,30
SA-AH03	SAF	562	462	100	4,62
SA-AH04	SAF	596	408	188	2,17
SA-AH06	SAF	511	402	109	3,69
SA-AH07	SAF	576	378	199	1,90
SA-AH10	SAC	828	488	340	1,43
SA-AH11	SAC	966	495	470	1,05
SA-AH13	SAC	658	412	247	1,67
SA-AH14	SAC	625	469	156	3,00
SA-AH15	SAC	752	486	266	1,82
SA-AH16	SAC	671	426	245	1,73

SA-AH17	SAC	742	448	294	1,52
SA-AH18	SAC	678	440	237	1,85
SA-AH19	SAC	633	460	173	2,66
SA-AH20	SAC	655	417	238	1,75
SA-AH21	SAC	655	476	179	2,66
SA-AH22	SAC	684	428	256	1,67
SP-AH26	SNAF	596	345	251	1,37
SP-AH27	SNAF	666	255	411	0,62
SP-AH28	SNAF	490	303	187	1,62
SP-AH29	SNAF	549	375	174	2,15

Os valores obtidos para a acidez total variaram de 490 a 966 cmol kg⁻¹ (ácido húmico 28 e ácido húmico 11, respectivamente). Os valores para a acidez carboxílica variaram de 255 a 531 cmol kg⁻¹ (ácido húmico 27 e ácido húmico 01, respectivamente). Quanto aos valores obtidos para a acidez fenólica, estes variaram de 100 a 470 cmol kg⁻¹ (ácidos húmicos 03 e ácido húmico 11, respectivamente).

Em relação aos grupos de ácidos húmicos (Tabela 14), observa-se que a maior acidez total é atribuída aos ácidos húmicos do grupo SAC, seguidos pelos ácidos húmicos do grupo SAF e depois do grupo SNAF. Entretanto não foi observada diferença significativa entre os ácidos húmicos do grupo SAF e SNAF.

Tabela 14. Análise de grupos funcionais contendo oxigênio (cmol kg⁻¹) nos grupos de ácidos húmicos.

Grupos	A. Total	Acidez Carboxílica	% da A Total	Acidez Fenólica	% da A. Total	<u>COOH</u> <u>OH</u>
SAF	612 b	435 a	71,07	177 a	28,93	2,76
SAC	712 a	454 a	63,76	258 a	36,24	1,90
SNAF	575 b	320 b	55,65	256 a	44,34	1,44

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

Dentre os grupamentos funcionais estudados observa-se um maior número de grupamentos carboxílicos em relação a grupamentos fenólicos, em todos os grupos de ácidos húmicos (razão COOH/OH > 1). Comportamento semelhante tem sido reportado na literatura científica (Schnitzer & Khan, 1972; Toledo, 1976; Stevenson, 1994). Isso provavelmente deve-se ao fato de que compostos fenólicos podem ser facilmente oxidados em ambientes aeróbios (Kügel-Knabner et al.; 1991; Baldock et al.; 1997).

O conteúdo de grupos carboxílicos tem sido considerado como um índice válido de humificação (Rosell et al., 1989; Baranciková et al., 1997). Baseado nesta premissa, observa-se que os ácidos húmicos originados dos solos antropogênicos (grupo SAF e SAC) são os mais humificados dentre os ácidos húmicos estudados (maior acidez carboxílica), e entre estes, os ácidos húmicos provenientes do grupo SAC, apesar de não ter sido observada diferença significativa (Tabela 14). Esta observação é reforçada pelos resultados obtidos na análise elementar (Figura 06). Também se observou que o aumento no grau de humificação (< razão H/C) foi acompanhado pelo aumento da acidez total e carboxílica (Tabela 14).

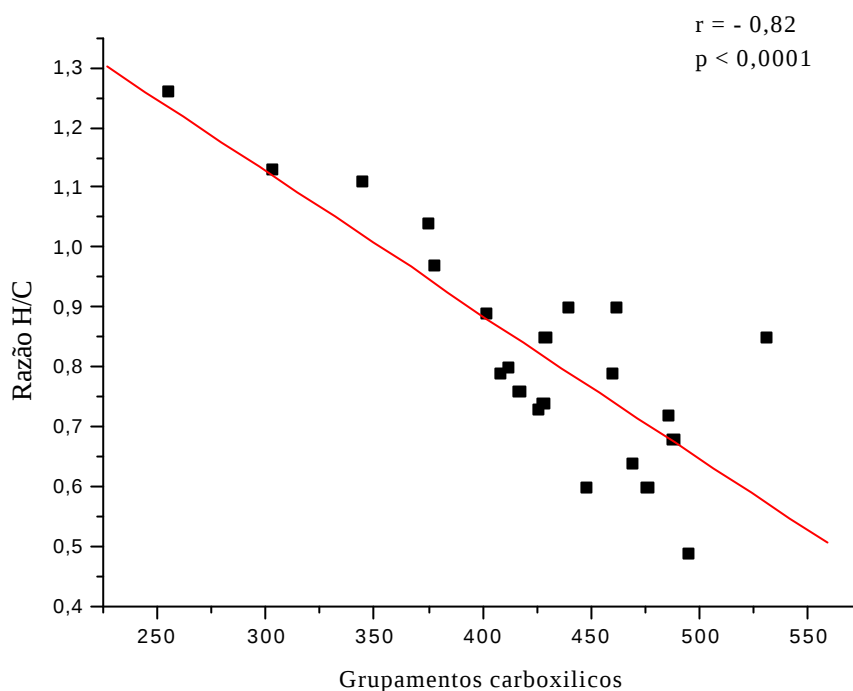


Figura 06. Correlação entre a razão H/C *versus* conteúdo de grupos carboxílicos.

Os dados obtidos para acidez total, carboxílica e fenólica (Tabela 14) sugerem uma maior disponibilidade de hidrogênio ionizável nos ácidos húmicos do grupo SAC em relação aos outros grupos. Observou-se que a contribuição da acidez carboxílica para a acidez total deu-se na seguinte ordem: grupo SAF > grupo SAC > grupo SNAF. A contribuição da acidez fenólica deu-se na seguinte ordem: grupo SNAF > grupo SAC > grupo SAF, indicando que para os ácidos húmicos menos humificados há uma maior contribuição da acidez fenólica para a acidez total.

Em resumo, os ácidos húmicos pertencentes aos grupos SAF e SAC são potencialmente mais reativos, o que favorece as reações de troca iônica, reações com minerais do solo, reações de complexação com cátions metálicos, etc, além da possibilidade de participar de todas as reações importantes dos ciclos biogeoquímicos.

4.7 Caracterização por Espectroscopia de UV-VÍ

Na Figura 07 são apresentados os espectros de absorção de luz na região do UV-Vis (200 a 800 nm) das amostras representativas dos grupos de ácidos húmicos.

Observa-se uma diminuição da intensidade de absorção com o aumento do comprimento de onda. Foi observado um discreto “ombro” em torno de 270 nm, assinalado no gráfico, possivelmente relacionado ao fato deste material possuir cromóforos que absorvem em toda a região analisada, conforme observado por Steverson (1982). Este “ombro” pode ser atribuído a presença de estruturas aromáticas. Analisando amostras de diversas origens, Ghosh & Schnitzer (1979), observaram um “ombro” na região de 250 a

270 nm, e atribuíram à conjugação estrutural quinona e cetônica, portanto indicativo de sistemas aromáticos, (Canellas, 1999).

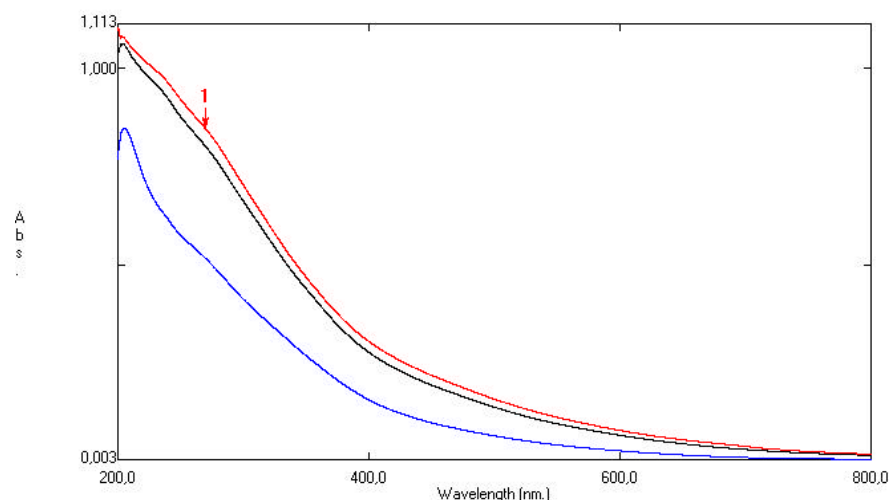


Figura 07. Espectros representativos de absorção de luz na faixa do ultravioleta e do visível das amostras por grupos de ácidos húmicos. Em preto, grupo SAF; em vermelho, grupo SAC e em azul, grupo SNAF.

O valor de $\log K$ foi adotado neste estudo, objetivando-se analisar as propriedades ópticas dos ácidos húmicos, pois expressa a natureza das substâncias húmicas (Yonebayashi & Hattori, 1988), podendo ser observados na Tabela 15.

Tabela 15. Diferenças nas propriedades ópticas entre os grupos de ácidos húmicos.

Grupo	nº	$\log K$	E_4/E_6
SAF	6	0,5 b	4,2 b
SAC	12	0,5 b	4,2 b
SNAF	4	0,7 a	6,0 a

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

Os valores para $\log K$ diferiram significativamente entre os ácidos húmicos extraídos dos solos antropogênicos (grupos SAF e SAC) e os ácidos húmicos pertencentes ao grupo SNAF (solos não antropogênicos), indicando que os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC, que apresentam baixos valores para $\log K$ em relação aos ácidos húmicos do grupo SNAF, possuem alto grau de humificação, e concordam com resultados reportados em estudos realizados por Kuwatsuka et al.; (1978); Ishiwatari (1985); Yonebayashi & Hattori, (1988).

Utilizando-se das características de absorção na região do UV-Vis, pode-se classificar os ácidos húmicos em 4 diferentes tipos: A, B, Rp e P (Kumada, 1987). Ácidos húmicos do tipo A não apresentam bandas de absorção características e os valores para $\log K$ são menores que 0,6. Ácidos húmicos do tipo B apresentam um ombro fraco de absorção em 275nm e um valor de $\log K$ entre 0,6 a 0,8. Ácidos húmicos do tipo Rp apresentam o mesmo espectro do tipo B, porém com valores mais elevados de $\log K$ entre 0,8 a 1,1. Os ácidos húmicos que apresentam absorções características na região do visível em 615, 570 e 450 nm são considerados como do tipo P. Analisando-se os dados referentes a $\log K$ (Tabela 15) pode-se classificar os ácidos húmicos dos diferentes grupos como: ácidos

húmicos dos grupos SAF e SAC como sendo do tipo A e os ácidos húmicos do grupo SNAF como sendo do tipo B, sugerindo que os ácidos húmicos do grupo SAF e SAC possuem uma maior evolução, que se reflete na sua maior acidez (Tabela 14), maior conteúdo de carbono (Tabela 06), maior massa molecular estimada pela fórmula empírica (Tabela 12) e menor razão E_4/E_6 (Tabela 15).

4.7.1. Relação E_4/E_6

A fraca absorção de radiação na região do visível por substâncias húmicas é de causa incerta (Bloom & Leenheer, 1989), mas é útil por permitir a obtenção da razão E_4/E_6 , usada como parâmetro de humificação (Kononova, 1966).

A relação E_4/E_6 está relacionada à aromaticidade e ao grau de condensação da cadeia de carbonos aromáticos dos ácidos húmicos, podendo assim ser usada como índice de humificação (Kononova, 1966, Steverson, 1982). Chen et al., (1977), entretanto relacionaram a razão E_4/E_6 ao tamanho das moléculas e à massa molecular.

Os valores obtidos na relação E_4/E_6 (Tabela 15) situaram-se em torno de 4,0 para os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC e em torno de 6,0 para os ácidos húmicos do grupo SNAF. Kononova (1982) relata valores da relação E_4/E_6 para ácidos húmicos menores que 5 e entre 6 e 8 para ácidos fúlvicos. Os ácidos húmicos do grupo SNAF, estão dentro da faixa indicada para ácidos fúlvicos, sugerindo que estes ácidos húmicos são menos evoluídos quimicamente em relação aos dos grupos SAC e SAF.

O cultivo não alterou os valores da razão E_4/E_6 entre os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC. Desta forma, baseado em Kononova (1966) e Stevenson (1982), este comportamento é indicativo de que o mesmo não afetou os níveis de condensação dos anéis aromáticos destes ácidos húmicos.

Os dados aqui obtidos (Figura 08) parecem corroborar as considerações propostas por Chen et al., (1977), de que a razão E_4/E_6 estaria relacionada ao tamanho das moléculas e à massa molecular e não ao grau de condensação dos ácidos húmicos. Também sugerem uma maior quantidade relativa de compostos de baixo peso molecular no grupo SNAF. Segundo Tan (1992), quanto maior o valor da relação E_4/E_6 maior é a quantidade relativa destes compostos.

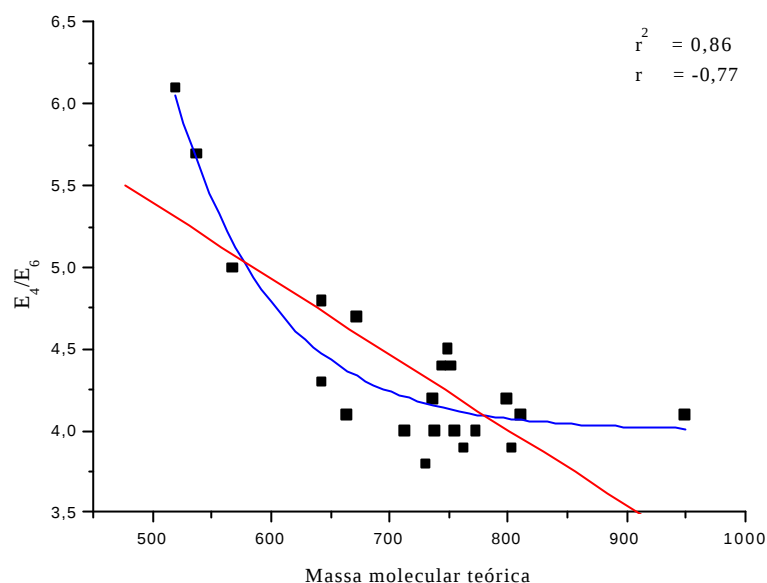


Figura 08. Correlação linear e ajuste exponencial de primeira ordem entre os valores da razão E_4/E_6 versus massa molecular teórica.

4.8 Caracterização por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (DRIFT).

São apresentados na Figura 09 os espectros de infravermelho de ácidos húmicos representativos dos grupos SAF, SAC e SNAF, uma vez que os ácidos húmicos pertencentes a um mesmo grupo apresentaram espectros muito similares entre si. Estes espectros são típicos de ácidos húmicos de solos (Stevenson, 1994; Senesi et al., 2003).

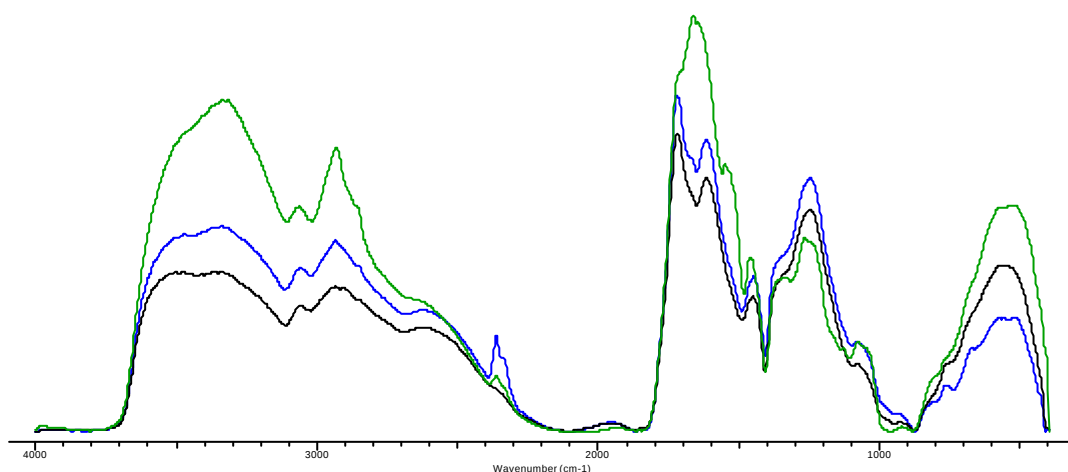


Figura 09. Espectros de DRIFT dos ácidos húmicos representativos dos grupos SAF (azul), SAC (preto) e SNAF (verde).

As principais bandas de absorção nos espectros encontram-se sumarizadas na Tabela 16,

Tabela 16. Atribuições das possíveis bandas de absorção no IV dos ácidos húmicos estudados.

Frequência (cm ⁻¹)	Possíveis atribuições
3.470-3.300	Estiramento de O-H em grupos fenólicos (contribuição de OH alifático, H ₂ O e amina)
3.055-3.061	Estiramento de C-H de aromáticos
2.928-2.934	Estiramento assimétrico de C-H alifático
2.853-2.857	Estiramento simétrico de C-H alifático
1.720	Estiramento de C=O de ácidos carboxílicos e cetonas
1.661-1.628	Estiramento C=O de grupo amida (<i>banda da amida I</i>)
1.616-1.614	Estiramento simétrico de COO ⁻
1.553-1.540	Estiramento C=O, deformação de N-H + estiramento C=N (<i>banda da amida II</i>)
1.446-1.450	Deformação angular assimétrica de C-H em metil e metileno
1.246-1.248	Estiramento simétrico do ânion carboxilato
1.049-1.080	Estiramento simétrico de C-O em polissacarídeos
820-750	Deformação angular de O-H em gibbsita ou caulinita
762-764	Deformação angular fora do plano de ligações C-H de anéis aromáticos
515-578	Estiramento de C-O de estruturas do tipo polissacarídeo, estiramento de Si-O (impurezas do tipo silicato)

As identificações estão baseadas nos trabalhos de Stevenson, 1994; Russel, 1987; Baes & Bloom, 1989; Ricca, et al.; 1993; Vinkler, et al.; 1976; Hernandez, et al.; 1993 e Senesi, et al., 2003.

Apesar de todos os grupamentos funcionais que são sensíveis à radiação infravermelha, tais como hidroxilas alcoólicas e fenólicas, carboxilas e carbonilas, estruturas alifáticas (alguns CH₃ e CH₂) e aromáticas, estarem possivelmente presentes nas estruturas das substâncias húmicas independente da sua origem, o conteúdo relativo desses grupos pode ser diferente de uma amostra para outra.

A resolução dos espectros obtidos por DRIFT neste estudo, mostrou uma melhora significativa, quando comparada a espectros publicados anteriormente, obtidos usando-se espectrofotômetros de FTIR (Lima et al., 2001).

Nos espectros dos ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC, as bandas de absorção em 1.720 cm⁻¹ (principalmente grupos C=O), 1.614 cm⁻¹ (principalmente grupos COO⁻ e aromáticos) e em 1.246 a 1.250 cm⁻¹ (principalmente OH ou grupos COOH), foram mais diferenciadas e melhores resolvidas do que nos espectros dos ácidos húmicos do grupo SNAF. Nas regiões compreendidas entre 2.853-2.857 e 2.928-2.934 cm⁻¹, referentes ao estiramento simétrico e assimétrico de C-H, respectivamente, observa-se que os ácidos húmicos do grupo SNAF apresentam bandas de absorção mais definidas, sugerindo maior alifaticidade (Stevenson, 1994). Neste grupo de AH, essas bandas de absorção são nitidamente mais intensas do que as observadas nos espectros referentes aos grupos SAF e SAC.

Entre os grupos SAF e SAC, a banda de absorção em 1.720 cm⁻¹ é mais intensa do que a banda de absorção em 1.614 cm⁻¹. As bandas nesta região do espectro de DRIFT recebem várias atribuições, incluindo o estiramento C=C de anel aromático, o estiramento C=O do

grupo amida e a deformação angular N-H. Amidas substituídas e não-substituídas apresentam a banda C=O (*banda de amida I*) em 1.690-1.640 cm^{-1} e a deformação N-H (*banda de amida II*) em 1.590-1.517 cm^{-1} (Morrison & Boyd, 1995 e Stevenson, 1994).

Amidas cíclicas exibem, adicionalmente, uma *banda de amida II* por volta de 1.540 cm^{-1} , que resulta da interação entre a deformação N-H e o estiramento C-N do grupo C-N-H (Silverstein et al, 2000). Todos estes tipos de vibrações foram observados nos espectros de DRIFT de todos os grupos, sendo as bandas da amida melhores resolvidas para os ácidos húmicos do grupo SNAF, e os sinais de frequência podem ser sobrepostos nessa região e estar deslocados mais para a direita ou mais para a esquerda como resultado da influência relativa de cada grupo. O estiramento C=C de aromáticos, por exemplo, é provavelmente responsável por essa banda em materiais derivados de lignina e carbono aromático, enquanto a *banda de amida I* deve prevalecer em materiais de origem protéica.

Na Figura 10, pode-se constatar que quanto maior o conteúdo de N, maior é a frequência e a intensidade da banda de amida, indicando claramente a existência de grupos amida nas estruturas destes ácidos húmicos, principalmente os do grupo SNAF (pontos mais superiores à direita da figura).

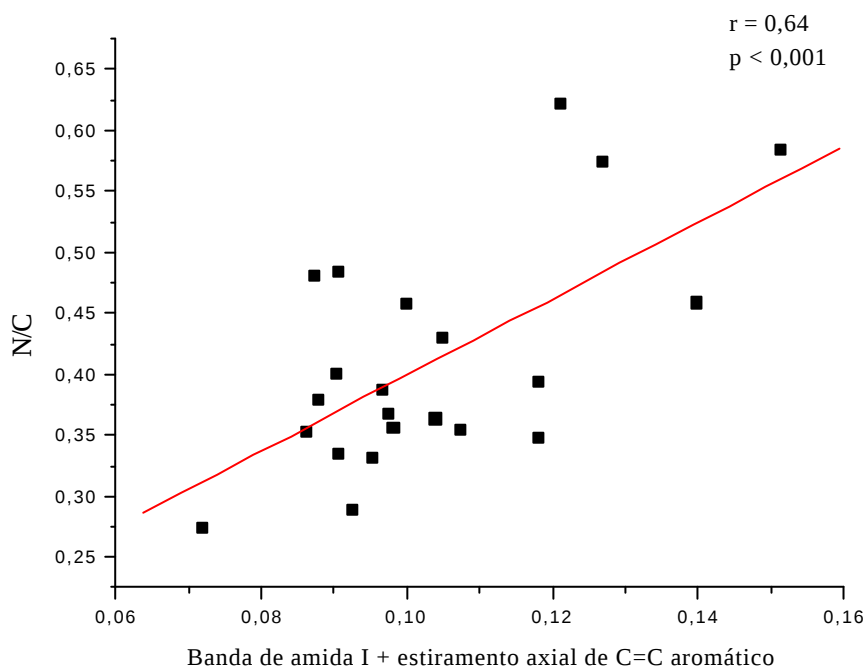


Figura 10. Representação gráfica da razão N/C *versus* frequência da banda de amida I + estiramento de C=C aromático.

A forte presença de grupos amida nos ácidos húmicos do grupo SNAF confirma a natureza protéica do N. Os ácidos húmicos deste grupo apresentaram teor médio de N da ordem de 80 g kg^{-1} , enquanto para os dos grupos SAF e SAC os teores foram da ordem de 60 e 59 g kg^{-1} , respectivamente (Tabela 10).

Na faixa de absorção situada entre 1.400 a 900 cm^{-1} , não foram observadas grandes diferenças entre os espectros dos ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC. Entretanto nos espectros do grupo SNAF, bandas nesta região, são mais evidentes do que nos outros

grupos. A banda em torno de 1.080cm^{-1} , referente ao estiramento C-O de polissacarídeos, foi melhor definida para os ácidos húmicos do grupo SNAF.

Conforme classificação proposta por Steverson & Goh (1971), os ácidos húmicos referentes aos grupos SAF e SAC, cujo espectro característico esta representado por bandas de absorção fortes em 1.720 , 1.614 e 1.246 cm^{-1} , porém com a primeira apresentando maior intensidade do que a segunda, insere-se no grupo I. Os ácidos húmicos do grupo SNAF, podem ser inseridos no grupo III, por apresentar, além das bandas de absorção anteriores, um ombro em torno de $1.540\text{-}1.550\text{ cm}^{-1}$, sugerindo a presença de proteínas e carboidratos. De fato, os ácidos húmicos deste grupo foram os que apresentaram os maiores teores de nitrogênio.

Em resumo, os espectros apresentaram absorções características, porém com intensidades relativas similares ou diferentes. Na região abaixo de 1.800 cm^{-1} , foram observadas algumas diferenças relevantes. As características similares, porém com intensidades relativas diferentes foram: uma intensa e larga banda de absorção centrada entre $3.470\text{-}3.300\text{ cm}^{-1}$ atribuída à estiramento de O-H em grupos fenólicos (contribuição de OH alifático e amina); um pico de intensidade média, centrado entre $3.061\text{-}3.055\text{ cm}^{-1}$, atribuído a estiramento de C-H aromático, sugerindo baixa substituição de anéis aromáticos nas moléculas dos ácidos húmicos; uma banda de absorção intensa entre $2.934\text{-}2.928\text{ cm}^{-1}$ e mais fraca entre $2.857\text{-}2.853\text{ cm}^{-1}$, atribuídas à estiramento assimétrico e simétrico de C-H alifático, respectivamente; uma banda de absorção entre $1.246\text{-}1.250\text{ cm}^{-1}$, atribuída ao estiramento simétrico do ânion carboxilato e uma banda de absorção fraca na região de $1.080\text{-}1.049\text{ cm}^{-1}$, atribuída à estiramento de C-O de polissacarídeos e impurezas de silicatos.

As características diferentes observadas na região abaixo de 1.800cm^{-1} dos espectros de DRIFT foram: absorção na região de $1.720\text{-}1.709\text{ cm}^{-1}$, atribuída à estiramento de C=O de ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas, cujas intensidades relativas são fortes para os ácidos húmicos do grupo SAC, médias para os ácidos húmicos do grupo SAF e fracas (quando existentes) para os ácidos húmicos do grupo SNAF. De fato, a razão entre as bandas de absorção a $1.720\text{-}1.722/1.525$ (chamada neste trabalho de índice de reatividade) foi de 1,15 e 1,17 para os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC, respectivamente. Os valores acima de 1,0 indicam uma maior concentração relativa de estiramentos C=O de grupos carboxílicos comparados ao estiramento C=C aromático. Não foi possível o cálculo para o grupo SNAF, devido ao fato destas bandas estarem ausentes ou muito indefinidas. Uma banda de absorção entre $1.661\text{-}1.628\text{ cm}^{-1}$, observada apenas nos ácidos húmicos do grupo SNAF, atribuída ao estiramento C=O de grupos amidas (*banda da amida I*), e também C=O de quinonas e H-ligado a cetonas conjugadas; um forte pico entre $1.614\text{-}1.612\text{ cm}^{-1}$, geralmente atribuído ao estiramento de C=C aromático e estiramento simétrico do ânion COO^- , que estão presentes somente nos ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC; uma absorção em 1.553 cm^{-1} , atribuída à deformação de N-H e estiramento de C=N de amidas (*banda da amida II*), observada apenas nos espectros dos ácidos húmicos do grupo SNAF; uma banda na região de $1.354\text{-}1.327\text{ cm}^{-1}$, atribuída à deformação simétrica de CH_3 , observada apenas nos espectros do grupo SNAF; absorção na região de $762\text{-}669\text{ cm}^{-1}$, atribuída à deformação angular fora do plano de ligações C-H de anéis aromáticos, observadas nos espectros dos grupos SAF e SAC.

Em geral, os dados obtidos através da espectroscopia DRIFT, sugerem uma mistura de características aromático-alifáticas, uma grande quantidade de grupos carboxílicos e um

menor número de grupos nitrogenados para os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC. Os ácidos húmicos do grupo SNAF foram caracterizados por apresentarem um maior conteúdo de componentes nitrogenados, por exemplo, cadeias de polipeptídios (Senesi et al., 2003), e um menor conteúdo de grupos carboxílicos e fenólicos, demonstrando que qualitativamente os ácidos húmicos do grupo SNAF são menos reativos do que os dos grupos SAF e SAC e que o N é parte importante da estruturas dos ácidos húmicos do grupo SNAF. Entre os grupos SAF e SAC o índice de reatividade observado foi relativamente maior para o grupo SAC (1,17), demonstrando que os ácidos húmicos deste grupo são os mais reativos e dando suporte aos dados de acidez total observados para estes ácidos húmicos (Tabela 14).

4.8.1 Índice de aromaticidade (IA) e índice de hidrofobicidade (IH) DRIFT.

Na Tabela 17 encontram-se os valores para o índice de aromaticidade e hidrofobicidade dos ácidos húmicos.

Os índices de aromaticidade variaram de 0,73 a 0,91 (ácidos húmicos 29 e 04 respectivamente). Já os valores para os índices de hidrofobicidade variaram de 0,01 a 1,18 (ácidos húmicos 16 e 10, respectivamente).

Tabela 17. Índices de aromaticidade (IA) e Índice de hidrofobicidade (IH) obtidos dos espectros de infravermelho dos ácidos húmicos.

Amostra	Grupo	IA	IH
SA-AH01	SAF	0,86	0,29
SA-AH02	SAF	0,85	0,61
SA-AH03	SAF	0,85	0,26
SA-AH04	SAF	0,91	0,26
SA-AH06	SAF	0,88	0,44
SA-AH07	SAF	0,87	0,33
SA-AH10	SAC	0,87	1,18
SA-AH11	SAC	0,87	0,49
SA-AH13	SAC	0,82	0,47
SA-AH14	SAC	0,85	0,92
SA-AH15	SAC	0,83	0,24
SA-AH16	SAC	0,90	0,01
SA-AH17	SAC	0,82	0,37
SA-AH18	SAC	0,78	0,34
SA-AH19	SAC	0,86	0,35
SA-AH20	SAC	0,85	0,36
SA-AH21	SAC	0,87	0,53
SA-AH22	SAC	0,86	0,49
SP-AH26	SNAF	0,79	0,37
SP-AH27	SNAF	0,79	0,31
SP-AH28	SNAF	0,76	0,35
SP-AH29	SNAF	0,73	0,36

Na Tabela 18 observa-se os valores médios para o índice de aromaticidade e hidrofobicidade por grupos de ácidos húmicos.

Tabela 18. Índices de aromaticidade (IA) e Índice de hidrofobicidade obtidos dos espectros de infravermelho.

Grupo	IA	IH
SAF	0,87 a	0,37 b
SAC	0,85 a	0,48 a
SNAF	0,77 b	0,35 b

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

O índice de aromaticidade observado foi maior nos solos antropogênicos. Já os ácidos húmicos provenientes dos solos sob mata (grupos SAF e SNAF) apresentaram-se mais hidrofílicos do que os ácidos húmicos provenientes dos solos cultivados. Nas Figuras 11 e 12 observa-se que a correlação entre os IA e a relação H/C e E_4/E_6 foi significativa, confirmando o esperado, onde os ácidos húmicos mais aromáticos apresentaram a menor relação H/C e E_4/E_6 .

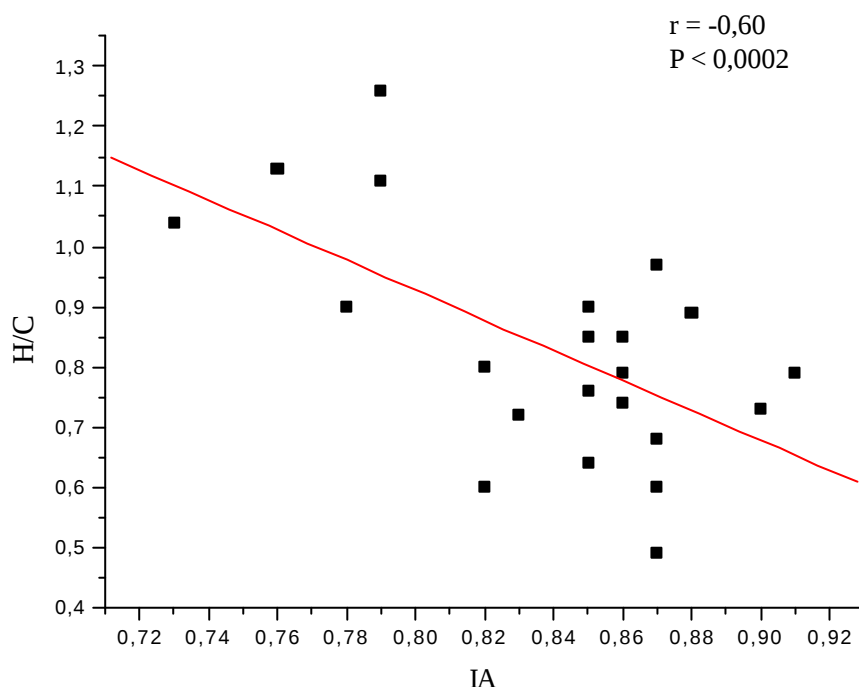


Figura 11. Correlação entre o índice de aromaticidade *versus* H/C.

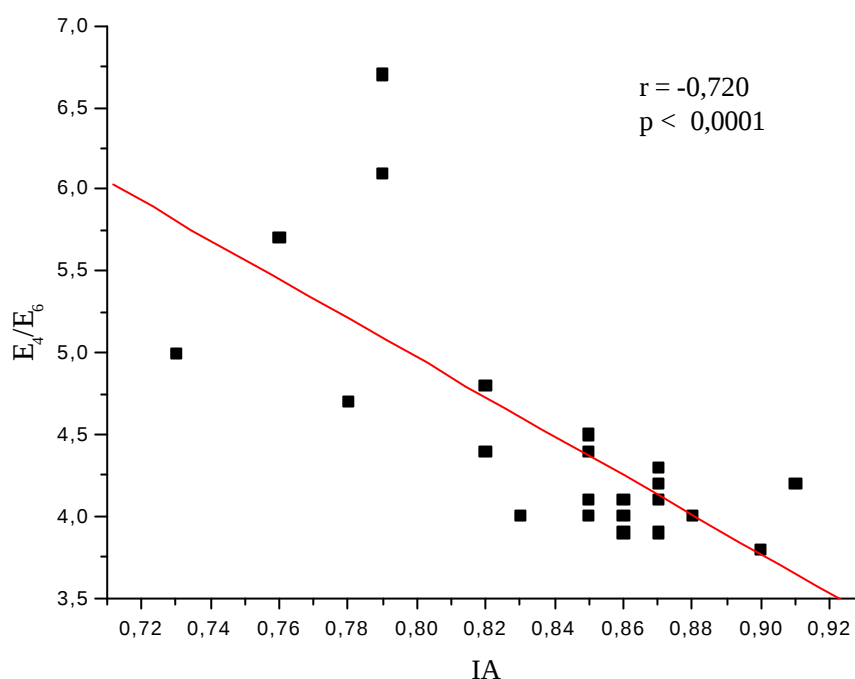


Figura 12. Correlação entre o índice de aromaticidade *versus* relação E_4/E_6 .

4.9. Caracterização por Espectroscopia de Fluorescência.

A espectroscopia de fluorescência fornece informações, que podem ser usadas para diferenciar e classificar substâncias húmicas naturais de acordo com a sua origem, gênese e natureza, além de permitir estudar estruturas moleculares e funcionalidades das substâncias húmicas (Tan & Sposito, 1993), sendo sensível à presença de metais pesados e contaminantes orgânicos (Spark & Swift, 1994). Tem sido empregada em estudos de substâncias húmicas aquáticas e também em materiais de origem terrestre (Senesi et al, 1991; Baranciková et al., 1997; Piana e Zahir, 2000; Novotny, 2002; Milori et al., 2002; Senesi et al., 2003; Pérez et al., 2004; Canellas et al., 2004).

É possível utilizar a espectroscopia de fluorescência como instrumento de estudo das substâncias húmicas, principalmente nos solos em que o conteúdo de ferro inviabiliza os estudos através de outras técnicas espectroscópicas como, por exemplo, a Ressonância Magnética Nuclear e Paramagnética Eletrônica.

4.9.1 Espectros de excitação com emissão em 543 nm

Os espectros de fluorescência obtidos no modo de excitação usando-se um comprimento de onda fixo para emissão ($\lambda_{em} = 543$), são marcadamente distintos entre os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC e os do grupo SNAF (Figura 13).

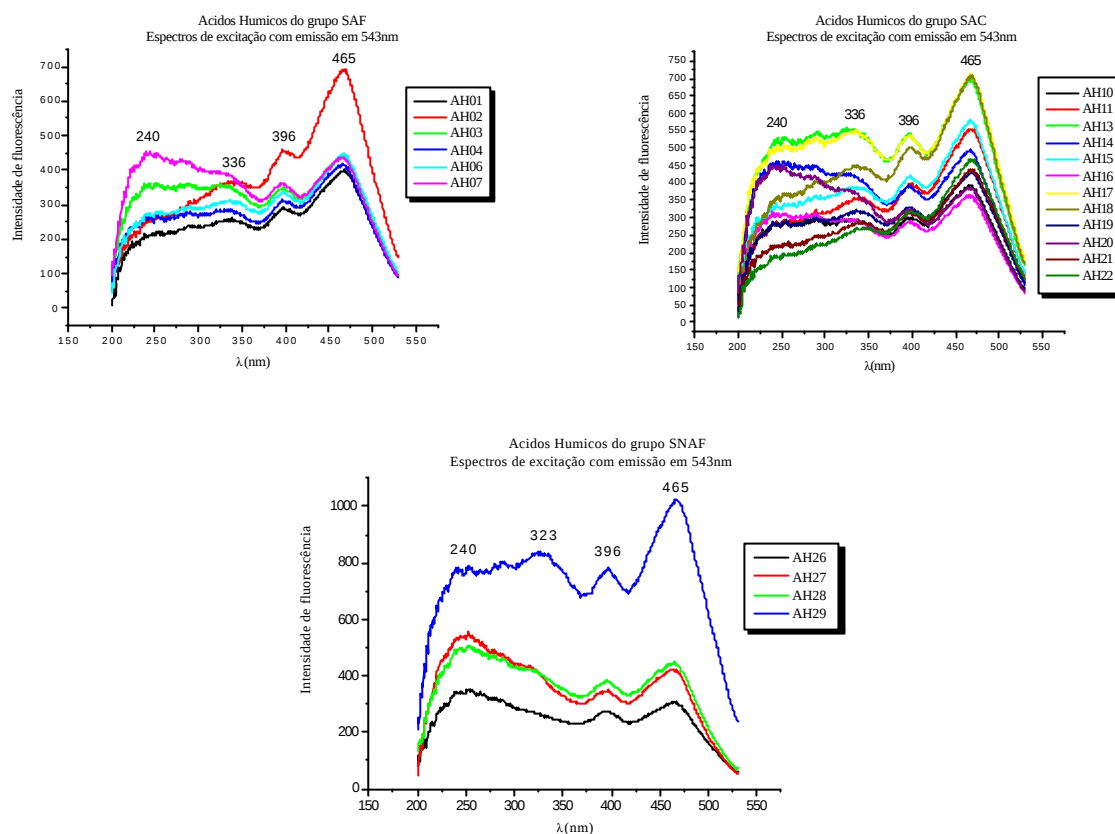


Figura 13. Espectros de fluorescência bidimensionais no modo de excitação com emissão em 543 nm dos grupos de ácidos húmicos.

Os grupos SAF e SAC exibem um máximo de absorção em 465 nm, enquanto para os ácidos húmicos do grupo SNAF, na sua maioria, o máximo de absorção está centrado na região de curto comprimento de onda, 240 nm, sugerindo maior grau de humificação para os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC. O comportamento observado para a amostra AH-29, semelhante ao observado para os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC, provavelmente seja devido ao fato deste ácido húmico ser proveniente de um solo com horizonte A húmico, que é semelhante ao horizonte A antropogênico (EMBRAPA, 1999).

Conforme proposto por Senesi et al., (1991), Spark & Swift (1994) e Novotny (2002), pode-se dividir os espectros em diferentes regiões e integrá-los nestas regiões, para em seguida calcular a razão entre as áreas obtidas referentes às regiões de moléculas mais humificadas com λ_{ex} longo (L), no intervalo de 410-530 nm, pela região de moléculas mais simples com λ_{ex} muito curto (MC), de 200-300 nm, e curto (C), de 300-360 nm, para com isso, avaliar melhor o grau de humificação de substâncias húmicas (Figura 14). Valores mais elevados para estas razões (L/ML e L/C) indicam substâncias húmicas mais evoluídas.

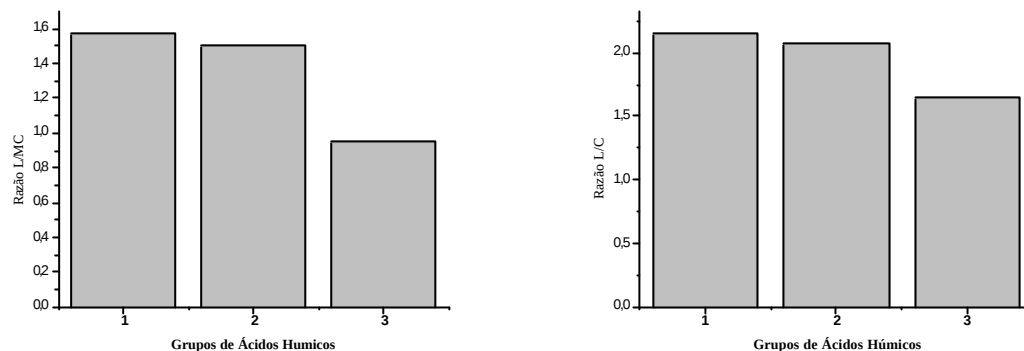


Figura 14. Razão entre as áreas sob diferentes regiões dos espectros de fluorescência no modo de excitação com emissão em 543 nm. 1:grupo SAF; 2: grupo SAC e 3:grupo SNAF.

A Figura 14 permite visualizar melhor as diferenças, entre os grupos de ácidos húmicos quanto ao grau de humificação. Os ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos (grupos SAF e SAC) apresentam valores mais elevados para as razões entre os intervalos L/MC e L/C, confirmando o comportamento observado nos espectros de excitação com emissão em 543 nm (Figura 13), que permitiu a observação de mais detalhes do que os espectros no modo de emissão.

4.9.2 Espectros de emissão com excitação em 240 nm

Os espectros de fluorescência obtidos no modo de emissão para os diferentes grupos de ácidos húmicos são mostrados na Figura 15.

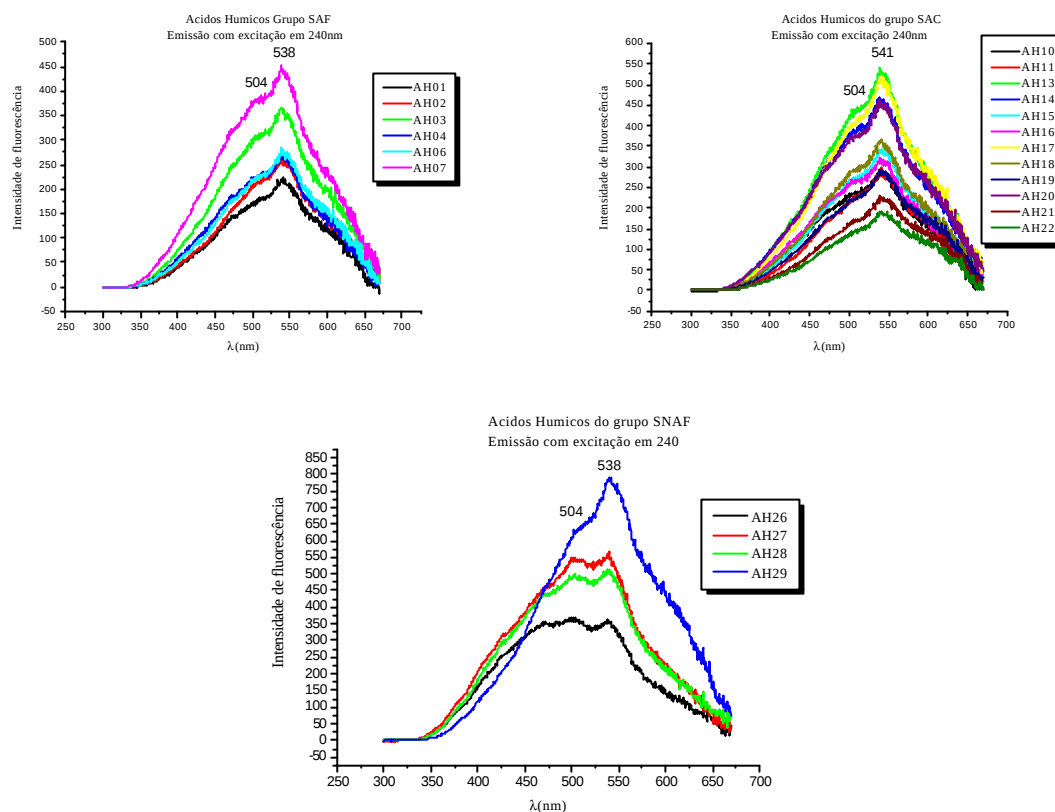


Figura 15. Espectros de fluorescência bidimensionais no modo de emissão com excitação em 240 nm dos grupos de ácidos húmicos.

Estes espectros são semelhantes a outros de ácidos húmicos de solos (Senesi et al., 1991). Foram obtidos a partir da seleção do menor comprimento de onda de fluorescência no espectro de excitação (240 nm), devido a intensidade relativa de fluorescência de substâncias húmicas no modo de emissão ser dependente do comprimento de onda de excitação (Spark & Swift, 1994).

Os ácidos húmicos de todos os grupos apresentaram um ombro em 504 nm e um pico agudo com máximo comprimento de onda centrado em 538, 541 e 538 nm, para os ácidos húmicos dos grupos SAF, SAC e SNAF, respectivamente. Não foram observadas diferenças nos máximos de absorção entre os grupos SAF e SNAF. Entretanto, os ácidos húmicos do grupo SAC (solos antropogênicos sob cultivo), apresentaram o pico máximo de absorção centrado em maior comprimento de onda, 541 nm, sugerindo que os ácidos húmicos deste grupo são mais humificados.

4.9.3 Espectros de emissão com excitação em 465 nm

Os espectros de emissão com excitação em 465nm exibem um pico agudo centrado em 539 nm e um pequeno e discreto ombro em 504 nm. Basicamente o máximo comprimento de onda de absorção foi o mesmo dos exibidos nos espectros de emissão com excitação em 240 nm (Figura 16).

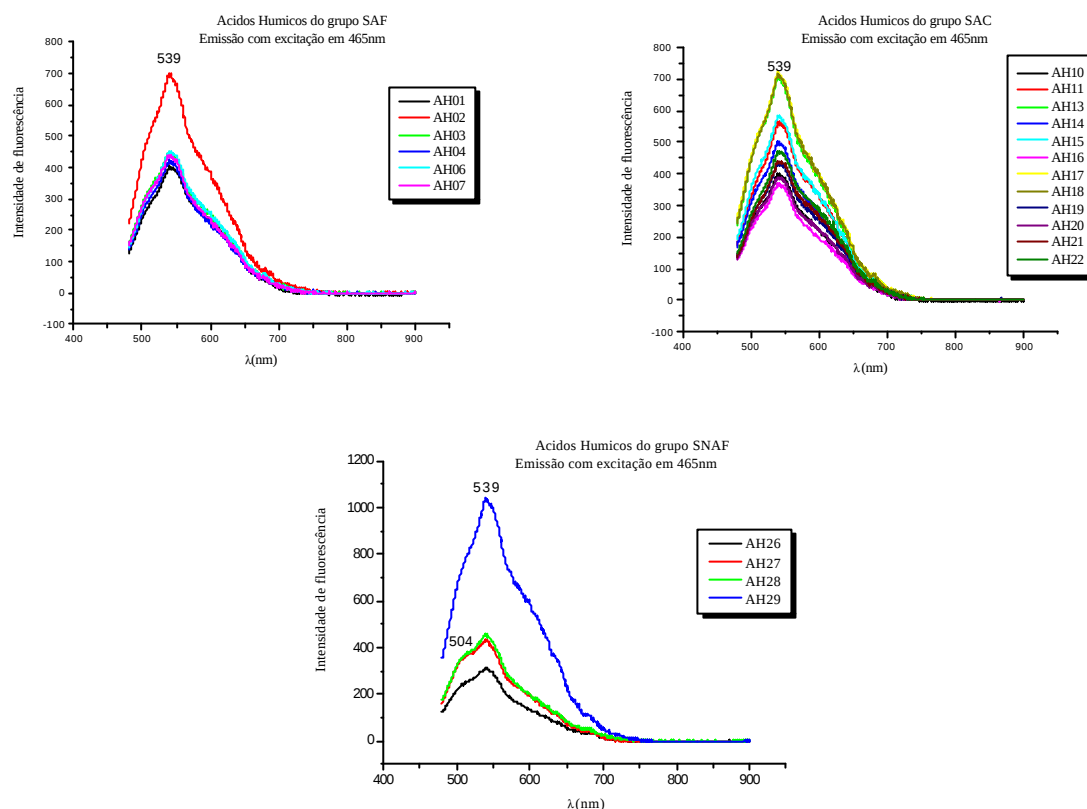


Figura 16. Espectros de fluorescência bidimensionais no modo de emissão com excitação em 465 nm dos grupos de ácidos húmicos.

4.9.4 Espectros de varredura síncrona $\Delta\lambda=55\text{nm}$

A emissão de fluorescência por misturas complexas de compostos fluorescentes, algumas vezes não pode ser satisfatoriamente obtida por técnica usual de excitação com comprimento de onda fixo selecionados especificamente para componentes individuais. Segundo Lloyd, (1971), considerável melhora na resolução dos espectros pode ser obtida quando os comprimentos de ondas de emissão e excitação são variados juntos, como ocorre no modo de varredura síncrona. A interpretação de espectros neste modo de varredura pode ter grande potencial para o estudo de estruturas aromáticas condensadas nas substâncias húmicas (Miano et al., 1988).

Os espectros de fluorescência no modo de varredura síncrona podem ser visualizados na Figura 17. Os mesmos são caracterizados por apresentarem um pico principal centrado em 475 nm para os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC e em 462 nm para os ácidos húmicos do grupo SNAF. Um ombro em 403 nm foi observado em todos os espectros dos diferentes grupos, porém, melhores resolvidos nos ácidos húmicos do grupo SNAF.

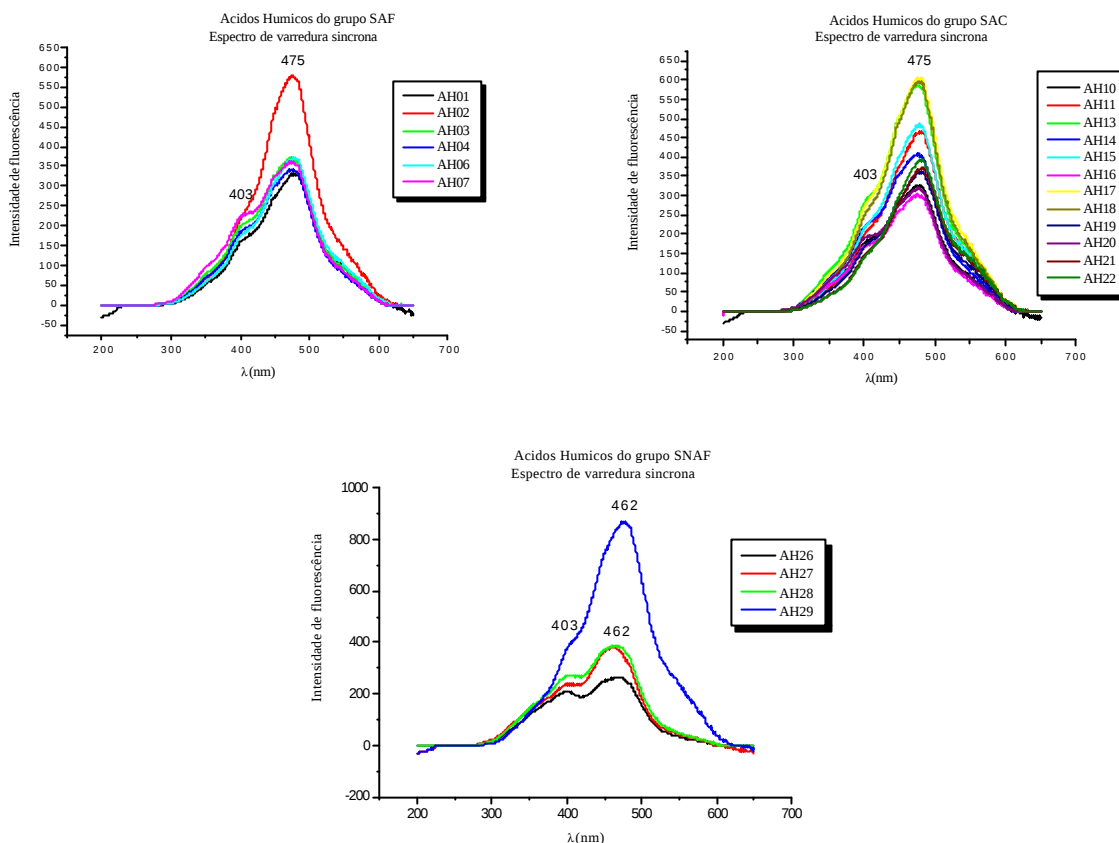


Figura 17. Espectros de fluorescência bidimensionais de varredura síncrona com λ_{ex} de 55 nm dos grupos de ácidos húmicos estudados.

No modo de excitação síncrona observou-se uma maior resolução decorrente do estreitamento das bandas devido à multiplicidade de duas funções, ou seja, os espectros dos dois modos de varredura (emissão e excitação) que ocorrem simultaneamente. Este aumento da resolução pode ser observado no pico de emissão em 403 nm (Figura 18) que não é bem definido no modo de emissão-excitação.

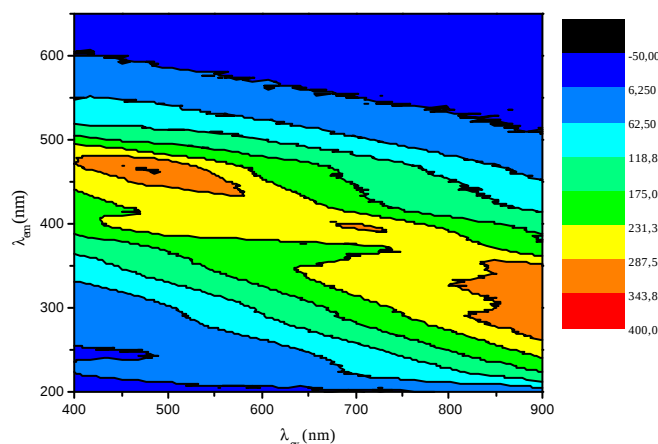


Figura 18. Mapa de contornos dos espectros de fluorescência no modo tridimensional de excitação síncrona do ácido húmico 10 originado de solo antropogênico sob cultivo.

Bandas e picos de fluorescência em longos comprimentos de onda são associados a compostos de elevado peso molecular, ricos em anéis aromáticos condensados capazes de um grande grau conjugação com grupos substituintes doadores de elétrons como grupos carboxílicos e carbonílicos (Senesi et al., 1991). Por outro lado, bandas e picos em curtos comprimentos de ondas estão associados a componentes estruturais simples de pequeno peso molecular, portadores de grupos substituintes doadores de elétrons como hidroxilas, metoxilas e amino, pequeno nível de policondensação aromática e cromóforos conjugados (Senesi, 2003).

A prevalência de baixo comprimento de onda nos espectros no modo de excitação e sincronizado para os ácidos húmicos do grupo SNAF, sugere a presença de moléculas relativamente pequenas (de fato a massa molecular teórica calculada para os ácidos húmicos pertencentes a este grupo foi de 528 g mol^{-1} , bem menor do que as massas obtidas para os ácidos húmicos pertencentes aos grupos SAF e SAC que foram de 692 e 721 g mol^{-1} , respectivamente (Tabela 12), de baixo grau de humificação e policondensação aromática em relação aos ácidos húmicos do grupo SAF e SAC. Substâncias húmicas de maior tamanho molecular apresentam espectros com máximos de emissão deslocados para o vermelho, Korshin & Violleau (2000). Este deslocamento para o vermelho é relacionado a um maior grau de humificação (Senesi et al., 1991; Kalbitz et al., 1999; Novotny, 2002).

Considerando-se que espectros de fluorescência com picos deslocados para maiores comprimentos de onda ($> 500 \text{ nm}$), estão relacionados à presença de sistemas aromáticos condensados, altamente substituídos e/ou sistemas insaturados capazes de alto grau de conjugação (Senesi, 1990a), infere-se que os ácidos húmicos originados de solos antropogênicos (grupos SAF e SAC) são caracterizados por serem menos quimicamente heterogêneos, mais policondensados e portadores de alto nível de cromóforos conjugados. A alta substituição de grupos doadores de elétrons, como grupos carboxílicos e carbonílicos nos ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC, reflete-se na maior acidez total e carboxílica observada para estes ácidos húmicos (Tabela 14). Foram observadas variações nas intensidades dos espectros examinados entre as diferentes amostras estudadas, que podem ser devidas a variações na concentração de grupos fluorescentes nos diferentes ácidos húmicos (Datta et al., 1971).

4.9.5 Estimativa do grau de humificação através dos índices A_4/A_1 , I_{480}/I_{400} e A_{465} .

Os dados referentes aos índices utilizados para estimar o grau de humificação dos diferentes ácidos húmicos estudados podem ser visualizados na Tabela 19.

Os valores obtidos referentes ao índice A_4/A_1 , variaram de 0,895 a 4,487, referentes aos ácidos húmicos 26 (grupo SNAF) e 21 (grupo SAC), respectivamente. Os valores obtidos referentes ao índice I_{480}/I_{400} , variaram de 1,162 a 2,820, referentes aos ácidos húmicos 26 (grupo SNAF) e 22 (grupo SAC), respectivamente. Quanto aos valores obtidos referentes ao índice A_{465} , variaram de 33.949,16 a 119.706,9, referentes aos ácidos húmicos 26 e 29 (ambos pertencentes ao grupo SNAF).

Não foi observada correlação significativa entre o índice proposto por A_{465} e os teores de radicais livres orgânicos (Figura 19), utilizados para avaliar grau de humificação de substâncias húmicas (Martin-Neto et al., 1998; Milori et al., 2002; Pérez, 2004). Desta forma, o uso total da área do espectro, conforme proposto por Milori et al. (2002), não adequado para se avaliar o grau de humificação dos materiais estudados (Figura 19).

Tabela 19. Índices de humificação obtidos por espectroscopia de fluorescência para os ácidos húmicos.

Amostra	Grupo	A_4/A_1	I_{480}/I_{400}	A_{465} (unidades arbitrárias)
SA-AH01	SAF	2,610	2,063	45.470,18
SA-AH02	SAF	3,086	2,617	79.009,84
SA-AH03	SAF	2,562	1,823	51.944,14
SA-AH04	SAF	2,282	1,817	47.370,53
SA-AH06	SAF	2,806	2,124	51.888,73
SA-AH07	SAF	2,098	1,582	49.586,52
SA-AH10	SAC	2,528	1,822	44.937,85
SA-AH11	SAC	4,065	2,351	65.107,14
SA-AH13	SAC	2,929	2,060	80.236,97
SA-AH14	SAC	2,593	1,842	56.402,51
SA-AH15	SAC	3,533	2,237	66.934,22
SA-AH16	SAC	2,384	1,779	41.683,29
SA-AH17	SAC	3,595	2,243	82.603,91
SA-AH18	SAC	3,157	2,393	81.617,74
SA-AH19	SAC	3,609	2,156	50.348,65
SA-AH20	SAC	2,708	1,650	45.113,30
SA-AH21	SAC	4,487	2,580	51.943,36
SA-AH22	SAC	4,171	2,820	55.442,58
SP-AH26	SNAF	0,895	1,162	33.949,16
SP-AH27	SNAF	1,022	1,335	46.630,93
SP-AH28	SNAF	1,172	1,271	49.965,96
SP-AH29	SNAF	3,763	2,272	119.706,90

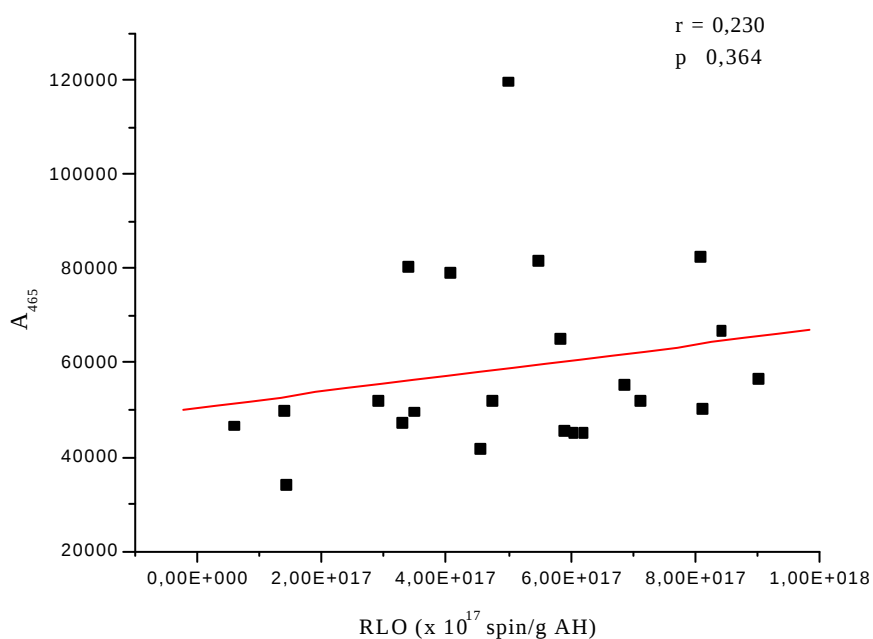


Figura 19. Correlação entre os níveis de radicais livres orgânicos (RLO) e o índice A_{465} .

Baixa correlação ($R = 0,42$) entre a área do espectro no modo de emissão, com excitação em 450 nm e o grau de humificação determinado pela razão entre as áreas de diferentes regiões espectrais, também foi obtida por Novotny, (2002), em estudos de substâncias húmicas de solos submetidos ao cultivo, concordando com dados obtidos neste estudo.

Este comportamento evidencia a limitação do uso da área sob os espectros no modo de emissão com excitação em 450 nm, como um indicador do grau de humificação (pelo menos em solos com elevados conteúdos de substâncias húmicas altamente condensadas e portadores de alto nível de cromóforos conjugados). Galetti, et al., (2004), estudando amostras intactas, verificaram não ser possível avaliar o grau de humificação de amostras de solos antropogênicos, através da análise de fluorescência induzida por Laser com excitação a 450 nm, utilizando-se a área sob o espectro. Atribuíram este comportamento ao fato de que materiais de alto grau de humificação causam um forte efeito de filtro interno. Com base nisso, foi adequado subdividir o espectro em diferentes regiões espectrais, conforme proposto por Zsolnay et al., (1999), Kalbitz et al., (1999), Senesi et al., (1991), Spark & Swift (1994), Novotny (2002).

Para os índices propostos A_4/A_1 e I_{480}/I_{400} as correlações com a concentração de radicais livres orgânicos foram relativamente melhores (Figura 20 e 21), e sendo assim estes índices foram utilizados neste estudo para se avaliar o grau de humificação dos ácidos húmicos através da espectroscopia de fluorescência.

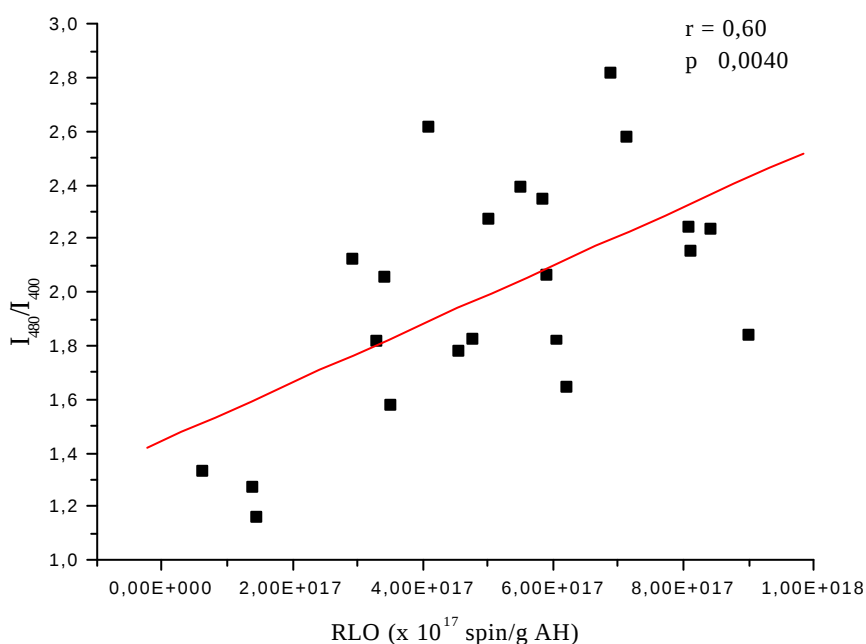


Figura 20. Correlação entre os níveis de radicais livres orgânicos (RLO) e o índice I_{480}/I_{400} .

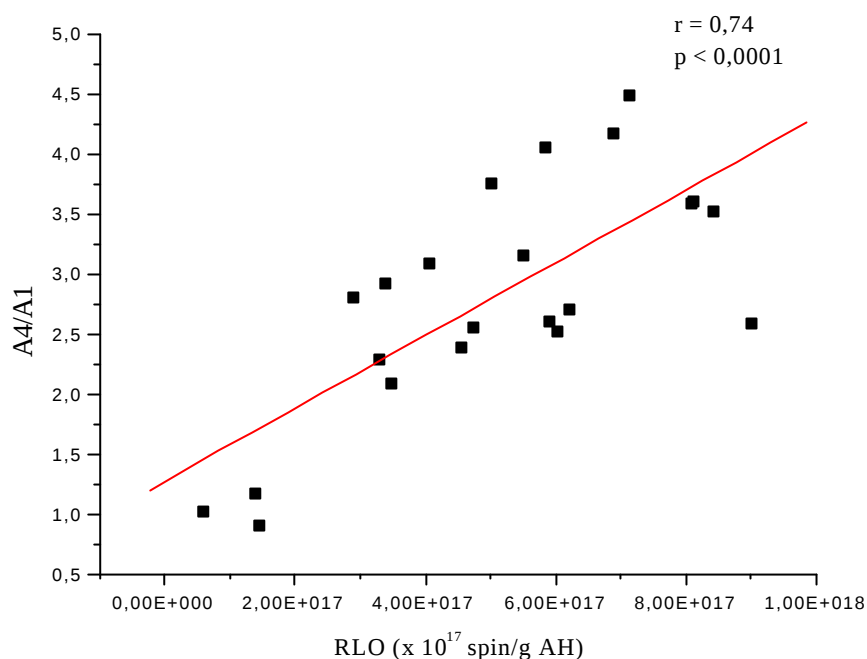


Figura 21. Correlação entre os níveis de radicais livres orgânicos (RLO) e o índice A_4/A_1 .

Na Tabela 20, pode-se visualizar os resultados médios obtidos através dos índices A_4/A_1 e I_{480}/I_{400} para os diferentes grupos de ácidos húmicos. Entre os ácidos húmicos estudados os dos grupos SAF e SAC apresentaram os maiores valores tanto para o índice A_4/A_1 como para o índice I_{480}/I_{400} em relação ao grupo SNAF, sugerindo que os ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC são mais evoluídos e, portanto mais humificados do que os do grupo SNAF. Entre os grupos SAF e SAC os valores mais elevados foram observados para o grupo SAC, indicando que o cultivo favoreceu o processo de humificação destes ácidos húmicos. Neste estudo, humificação é entendida como a degradação de compostos lábeis e acúmulo de material quimicamente recalcitrante.

Tabela 20. Índices de humificação obtidos para os grupos de ácidos húmicos.

Grupo	A_4/A_1	I_{480}/I_{400}
SAF	2,574 b	2,004 a
SAC	3,313 a	2,161 a
SNAF	1,713 c	1,510 b

Os valores para os índices A_4/A_1 e I_{480}/I_{400} seguiram, de modo geral, o mesmo comportamento dos radicais livres orgânicos (RLO). A correlação entre estes dois índices foi significativa (Figura 22), mostrando a subdivisão dos espectros em diferentes regiões, para avaliação do grau de humificação dos materiais estudados, foi mais adequada do que a integração da área total do espectro, conforme utilizada no índice A_{465} .

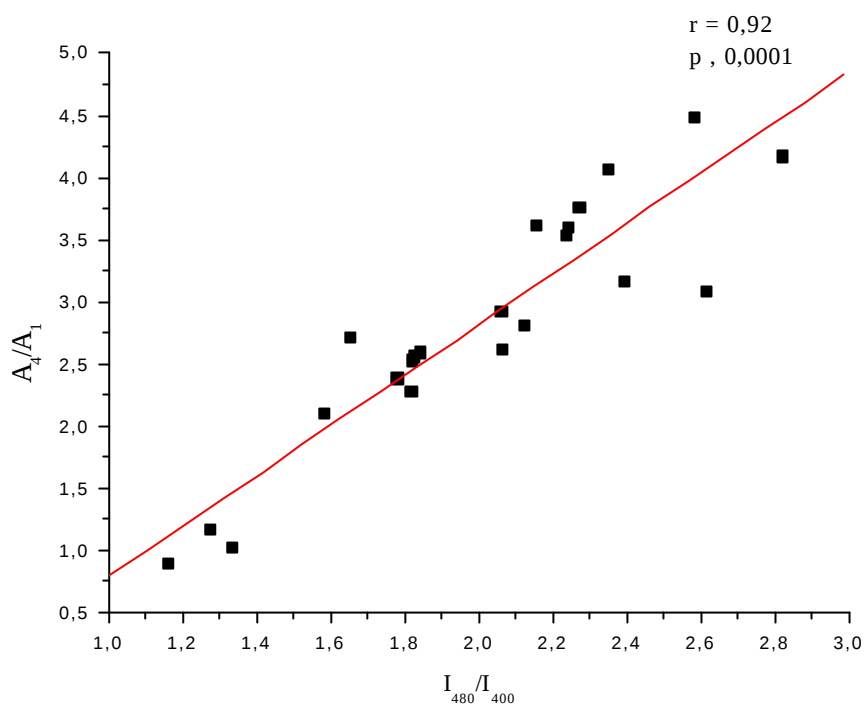


Figura 22. Correlação entre os índices de humificação A_4/A_1 e I_{480}/I_{400} .

Correlação inversa foi observada (Figuras 23 e 24), entre os índices de humificação utilizados e os resultados da razão H/C, considerada como índice de aromaticidade (Stevenson, 1984). Isto sugere que os ácidos húmicos de mais alta estabilidade e grau de humificação mais evoluído, portanto menor razão H/C (solos antropogênicos), foram os que apresentaram os maiores valores relativos aos dois índices de humificação utilizados, corroborando os dados e confirmando a consistência dos mesmos (Tabela 10 e Figuras 20 e 21).

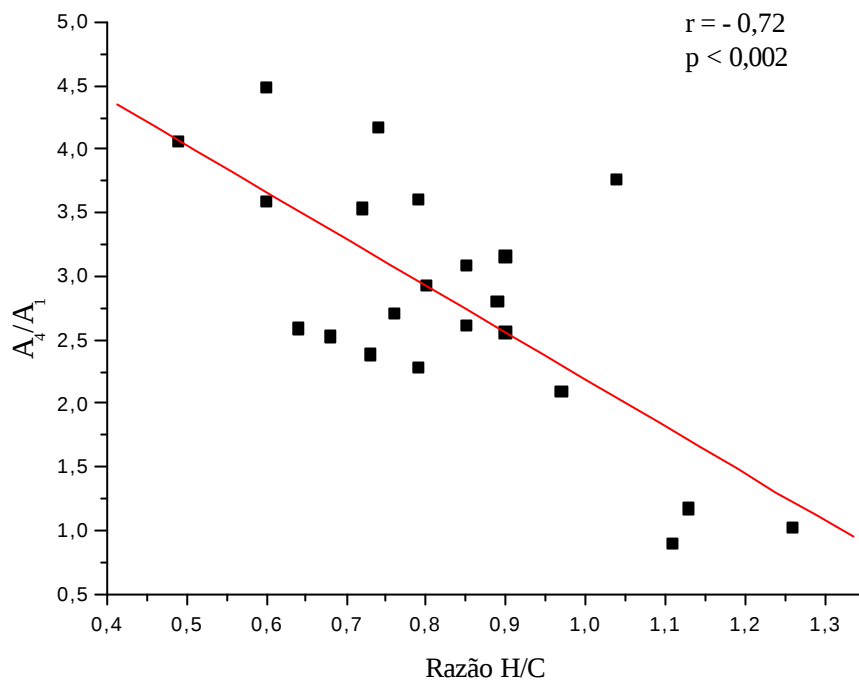


Figura 23. Correlação entre a razão H/C e o índices A_4/A_1 .

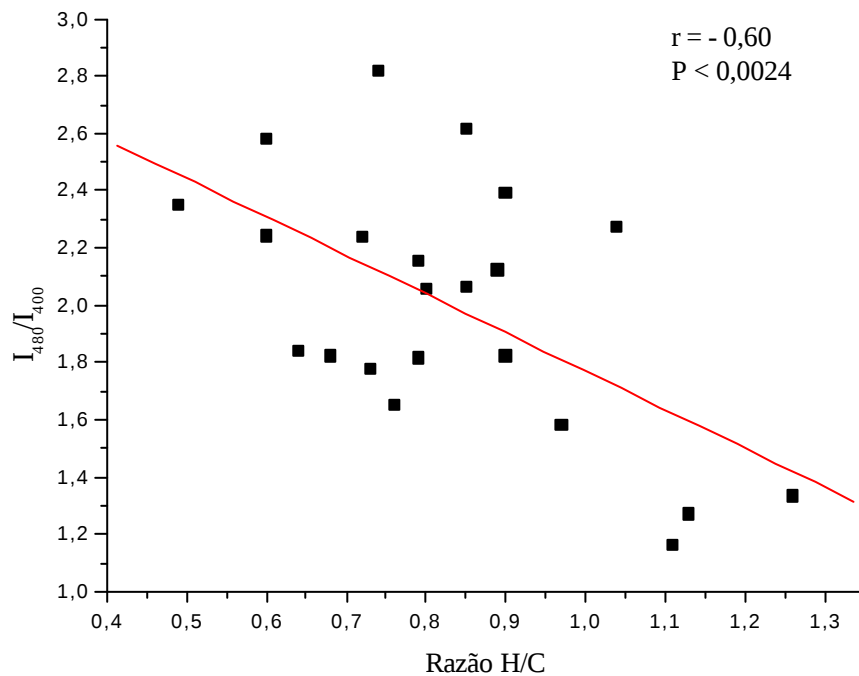


Figura 24. Correlação entre a razão H/C e o índice I_{480}/I_{400} .

4.10. Caracterização por Espectroscopia Paramagnética Eletrônica (EPR).

4.10.1 Curvas de saturação progressiva de potência das microondas.

As curvas de saturação de potência para ácidos húmicos representativos de solos antropogênicos (AH 10) e não antropogênicos (AH 27) podem ser visualizadas na Figura 25, onde a intensidade do sinal é proporcional a $P^{1/2}$ até o limite da saturação do sinal. Após este limite, não foi verificada proporcionalidade na intensidade do sinal (Wertz & Bolton, 1972), sendo a potência de saturação determinada de 0,2 mW, a qual foi adequada para obter a máxima intensidade dos sinais sem que houvesse saturação dos mesmos.

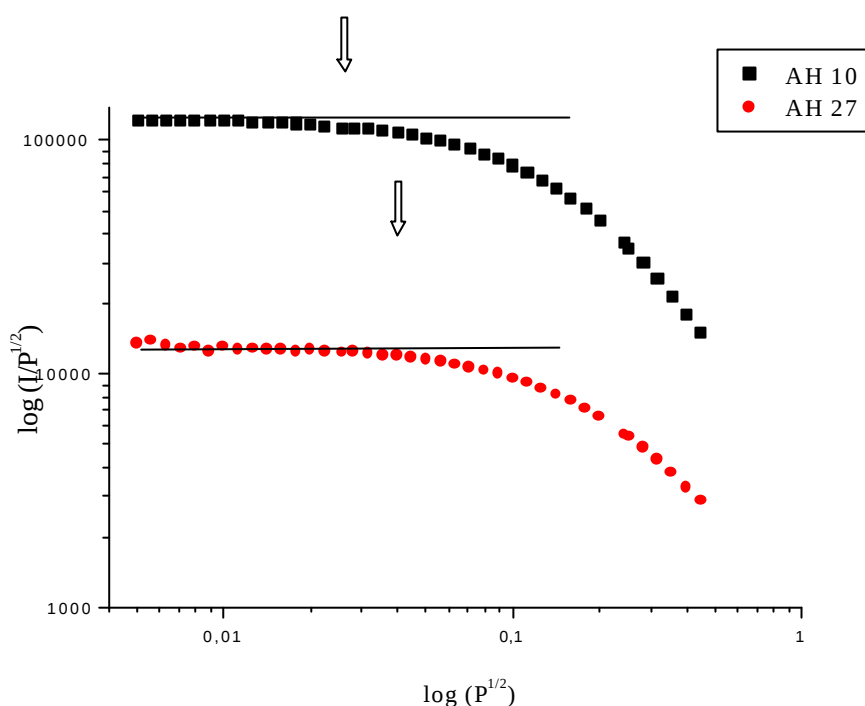


Figura 25. Curvas de saturação de potência representativa de ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos (AH 10) e não antropogênicos (AH 27).

A Figura 26 ilustra espectros representativos em primeira derivada dos ácidos húmicos estudados nos diferentes grupos.

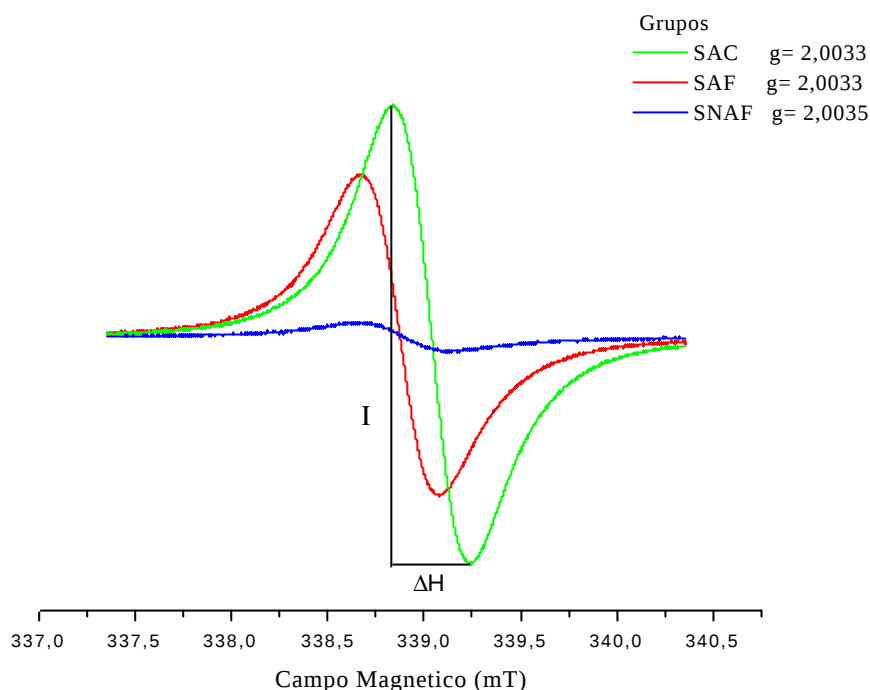


Figura 26. Espectros típicos de EPR de amostras de ácidos húmicos pertencentes aos grupos estudados (I= intensidade do sinal; H= largura da linha). Condições experimentais: $H_0 = 3400\text{G}$, $H = 100\text{G}$, $\omega = 9,44\text{GHz}$, Temperatura ambiente, Amplitude de modulação = $0,5\text{G}$.

Os espectros foram caracterizados por uma única linha de absorção fina e simétrica sem nenhuma interação hiperfina, com valor-g centrado em torno de 2,0033. Geralmente os espectros dos radicais livres orgânicos de substâncias húmicas não apresentam estruturas hiperfina, principalmente em amostras sólidas, (Senesi, 1990b).

4.10.2 Quantificação dos radicais livres orgânicos (RLO)

A humificação da matéria orgânica do solo leva de maneira geral, a formação de compostos mais aromáticos, de maior massa molar aparente, maior grau de condensação das estruturas e maior concentração de radicais livres orgânicos. Este último parâmetro pode ser obtido pela espectroscopia de EPR (Senesi, 1990a; Martin-Neto, 1991) e tem sido utilizado na estimativa do grau de humificação das substâncias húmicas (Riffaldi & Schnitzer, 1972; Schnitzer & Lévesque, 1979; Senesi, 1990a; Martin-Neto, 1991; Baranciková et al., 1997; Novotny, 1997; Jezierski et al., 1998; Jerzykiewics et al., 1999; Olk et al., 1999; Novotny, 2002; Pérez, 2004); e em estudos do impacto de diferentes sistemas de cultivo do solo (Martin-Neto et al., 1994; Pilon, 2000; Bayer et al., 2002; Pérez et al., 2004).

Os parâmetros obtidos na análise de EPR para todos os ácidos húmicos (concentração de radicais livres orgânicos, largura da linha e valor-g) podem ser visualizados na Tabela 21.

Tabela 21. Dados médios de medidas de EPR dos ácidos húmicos.

Amostra nº	Grupos	CRLO	Largura da linha	valor-g
		Spins g ⁻¹ x 10 ¹⁷	Gauss	
SA-AH01	SAF	5,90	4,12	2,0033
SA-AH02	SAF	4,07	4,05	2,0033
SA-AH03	SAF	4,75	4,04	2,0033
SA-AH04	SAF	3,30	4,72	2,0032
SA-AH06	SAF	2,91	4,52	2,0033
SA-AH07	SAF	3,49	4,17	2,0033
SA-AH10	SAC	6,04	4,11	2,0033
SA-AH11	SAC	5,84	4,04	2,0033
SA-AH13	SAC	3,40	4,22	2,0036
SA-AH14	SAC	9,00	3,39	2,0032
SA-AH15	SAC	8,42	3,57	2,0033
SA-AH16	SAC	4,56	4,11	2,0032
SA-AH17	SAC	8,09	3,30	2,0033
SA-AH18	SAC	5,49	3,56	2,0033
SA-AH19	SAC	8,10	3,66	2,0033
SA-AH20	SAC	6,20	3,63	2,0033
SA-AH21	SAC	7,12	3,64	2,0033
SA-AH22	SAC	6,87	3,52	2,0033
SP-AH26	SNAF	1,44	4,31	2,0034
SP-AH27	SNAF	0,61	4,82	2,0035
SP-AH28	SNAF	1,40	4,55	2,0033
SP-AH29	SNAF	5,00	3,58	2,0034

Os valores para a concentração de radicais livres orgânicos foram diferentes entre os ácidos húmicos estudados variando de 0,61 a 9,00 Spin g⁻¹ x 10¹⁷ para os ácidos húmicos 27 (grupo SNAF) e 14 (grupo SAC). Estes valores são consistentes com valores encontrados na literatura para ácidos húmicos de solo de diferentes origens e natureza (Senesi, 1990b; Baranciková et al., 1997; Martin-Neto, 1991; Bayer et al, 2002; Novotny, 2002). Os valores obtidos para a largura de linha variaram de 3,30 a 4,82 Gauss para os ácidos húmicos 17 (grupo SAC) e 27 (grupo SNAF), respectivamente, e estão de acordo com a largura da linha, de radicais livres orgânicos detectados em substâncias húmicas, que geralmente variam de 2 a 10 Gauss (Novotny, 1997; Novotny, 2002).

O valor-g fornece informações sobre a natureza química do radical livre orgânico (Wertz & Bolton, 1972). Os dados espectroscópicos para o valor-g variaram de 2,0032 a 2,0036. Valores desta magnitude são consistentes com a presença de radicais livres orgânicos conjugados com sistemas aromáticos (Senesi, 1990b; Martin-Neto et al., 1991; Olk et al., 1999; Senesi, 2003), embora contribuições de radicais metoxibenzênicos, cujo valor-g varia de 2,0035-2,0040 e radicais associados a nitrogênio não possam ser excluídas (Novotny, 2002).

Os valores médios obtidos por grupos de ácidos húmicos podem ser observados na Tabela 22.

Verifica-se que os maiores valores para a concentração de radicais livres orgânicos, são dos ácidos húmicos do grupo SAC, seguido dos ácidos húmicos do grupo SAF e por fim dos ácidos húmicos do grupo SNAF. Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que os ácidos húmicos dos solos antropogênicos (principalmente sob cultivo) são os de maior

grau de condensação (baixa razão H/C), portanto mais humificados, o que implica numa maior quantidade de radicais livres orgânicos (Senesi et al., 1990a). Por outro lado, a diferença observada entre os grupos SAF e SAC deve-se ao efeito do cultivo que favoreceu a oxidação de compostos mais lábeis e a acumulação relativa de estruturas mais aromáticas.

Tabela 22. Dados de EPR por grupos de ácidos húmicos.

Grupos	CRLO	Largura da linha	valor-g
	Spin g ⁻¹ x 10 ¹⁷	Gauss	
SAF	4,07 b	4,27 a	2,0033 a
SAC	6,59 a	3,73 b	2,0033 a
SNAF	2,11 c	4,32 a	2,0034 a

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

Entre os ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos, os do grupo SAC foram os que apresentaram a menor largura de linha, que juntamente com os dados de CRLO indicam que estes são os mais humificados. O valor de largura de linha, está relacionado com o tempo em que o elétron excitado gasta para devolver ao ambiente a energia absorvida (tempo de relaxação) e também, com a interação do radical livre orgânico com o ambiente. Quanto mais condensadas as moléculas, menor a largura de linha, Senesi & Steelink (1989).

O maior valor para largura da linha foi observado para os ácidos húmicos do grupo SNAF (Tabela 22), indicando menor condensação e aromaticidade dos ácidos húmicos pertencentes a este grupo. O aumento da largura de linha observada nos ácidos húmicos do grupo SAF em relação aos do grupo SAC, sugere que os radicais livres no grupo SAF estão menos protegidos do que nos ácidos húmicos do grupo SAC (solos antropogênicos sob cultivo), tendo desta forma, a possibilidade de interagir com o meio e relaxar mais rapidamente (Saab, 1999).

Verificou-se uma concentração de radicais livres orgânicos, nos ácidos húmicos do grupo SAC três vezes maior do que a concentração obtida para os ácidos húmicos do grupo SNAF. Diferenças significativas também foram observadas na concentração de radicais livres orgânicos dos grupos SAF e SAC, sugerindo que os ácidos húmicos do grupo SAF são menos aromáticos do que os ácidos húmicos do grupo SAC. Os ácidos húmicos do grupo SNAF seriam os menos aromáticos de todos os ácidos húmicos estudados. Bayer et al., (2000) avaliando o efeitos do preparo do solo e cultivo, sobre as propriedades químicas de ácidos húmicos também encontraram menores valores para a concentração de radicais livres orgânicos em solos não cultivados. Menores valores para a concentração de radicais livres orgânicos de ácidos húmicos extraídos de solos não cultivados, foram também encontrados por Pérez et al., (2004), que demonstrou o efeito do cultivo no favorecimento da humificação.

Segundo Senesi (1990b) e Senesi (2003) a concentração de radicais livres orgânicos é geralmente bem correlacionada com outras propriedades químicas e estruturais dos ácidos húmicos, incluindo conteúdos de oxigênio, OH fenólico, caráter aromático, complexidade molecular, grau de humificação e tamanho da partícula. No presente estudo, estreitas correlações foram encontradas entre diversos parâmetros químicos e espectroscópicos (UV-Vis, composição elementar, acidez carboxílica e fluorescência) e a concentração de radicais livres orgânicos (Tabela 23).

Tabela 23. Correlação entre a concentração de radicais livres orgânicos (CRLO) e parâmetros químicos e espectroscópicos dos ácidos húmicos.

X	Y	r (p < 0.0001)
CRLO	E ₄ /E ₆	- 0,70
CRLO	H/C	- 0,78
CRLO	COOH	0,79
CRLO	A ₄ /A ₁	0,74

Neste estudo, não foi observada estreita correlação entre o conteúdo de OH fenólico e a concentração de radicais livres orgânicos, conforme observado por (Senesi, 2003). Sposito et al., (1996), propõem que as substâncias húmicas geralmente mostram uma relação inversa entre o conteúdo de grupos carboxílicos e o nível de radicais livres orgânicos. Entretanto, uma estreita correlação direta foi observada entre a CRLO o teor de grupos COOH, sugerindo que para os ácidos húmicos estudados, o aumento da humificação dos mesmos, foi acompanhado por aumento dos teores de grupos carboxílicos e não de grupamentos OH fenólicos.

Na Figura 27 pode-se observar a correlação estreita e direta obtida entre o ITG e a CRLO. Isto sugere que os ácidos húmicos mais resistentes à termodegradação são os que se apresentam mais humificados, portanto portadores de uma estrutura mais evoluída e rica em compostos aromáticos altamente condensados, o que é confirmado pela correlação estreita e inversa observada entre o conteúdo de radicais livres orgânicos e a razão H/C e E₄/E₆ (Tabela 23). Riffaldi & Schnitzer (1972) também encontraram correlações significativas entre maiores concentrações de radicais livres orgânicos e menores razões H/C, parâmetro indicativo do grau de aromaticidade das substâncias húmicas (Stevenson, 1994).

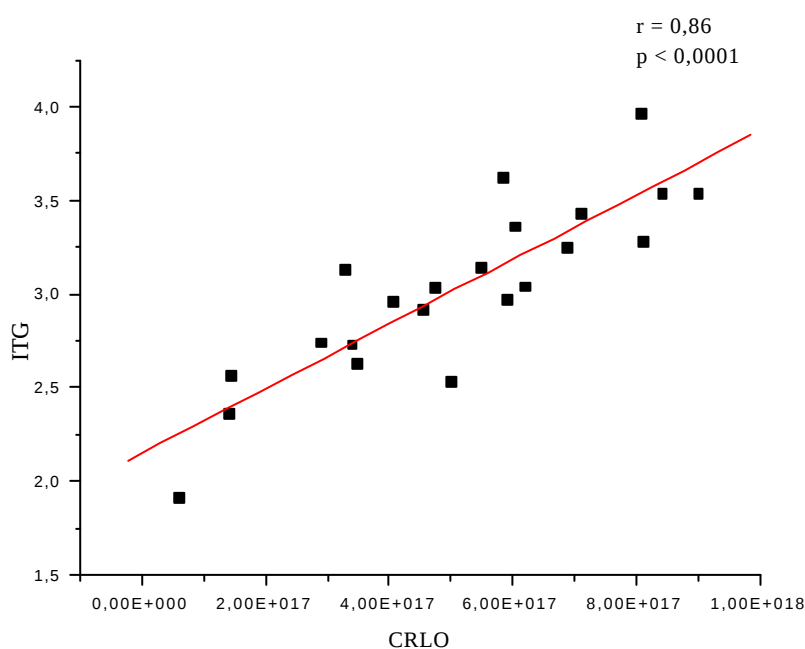


Figura 27. Correlação entre a concentração de radicais livres orgânicos (CRLO) e o índice termogravimétrico (ITG).

4.10.3 Efeito da temperatura na concentração de radicais livres orgânicos de amostras de solo intactas representativas de solos antropogênicos e não antropogênicos.

Para avaliar o efeito da temperatura sob a concentração de radicais livres orgânicos, foram calcinadas a 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 °C, amostras de solos intacto representativas dos ácidos húmicos 10 e 27 representativos dos grupos SAC e SNAF, respectivamente. Nas Figuras 28 e 29 são mostradas as quantidades de radicais livres orgânicos para os solos estudados, em função da temperatura. O zero na escala do gráfico corresponde à temperatura ambiente.

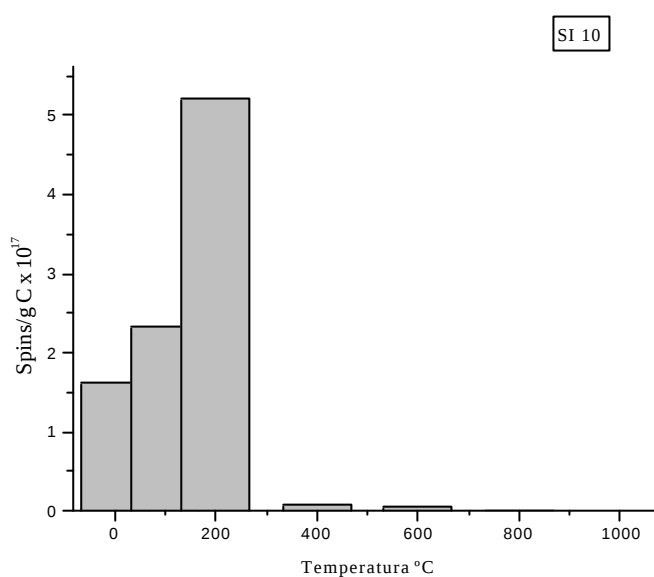


Figura 28. Concentração de RLO em função da temperatura no solo intacto 10.

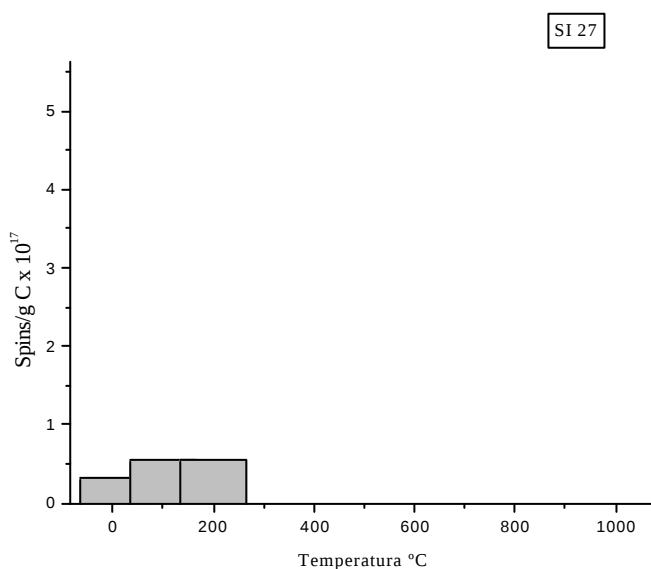


Figura 29. Concentração de RLO em função da temperatura no solo intacto 27.

Analisando-se as figuras, observa-se um aumento na concentração de radicais livres nos dois solos até cerca de 200 °C. Possivelmente, este comportamento possa estar relacionado ao fato de que grupos alifáticos da matéria orgânica do solo são oxidados primeiramente (Francioso, et al., 2003), levando ao aumento da concentração relativa da fração aromática e com isso aumentando a quantidade relativa de radical livre orgânico (Saab, 1999).

Entre 400 e 600 °C, só foi verificada a presença de RLO no solo antropogênico. Os teores foram de 0,08 e 0,05 Spins $\text{g}^{-1} \times 10^{17}$, para 400 e 600 °C respectivamente. A presença de radicais livres mesmo em baixa concentração, no solo antropogênico submetido a temperaturas da ordem de 600 °C, mostra a forte resistência da MOS destes solos à queima, o que é indicativo de uma matéria orgânica rica em substâncias húmicas mais evoluídas, mais recalcitrante e portanto, mais estáveis à termodegradação. Este comportamento se reflete na alta estabilidade da matéria orgânica dos solos antropogênicos, que mesmo em condições de temperatura e precipitação elevadas (favoráveis à oxidação da matéria orgânica) se mantêm em elevados conteúdos após vários anos, mesmo após serem submetidos ao uso agrícola.

No que diz respeito à concentração de radicais livres orgânicos nos solos intactos (SI), verificou-se que o solo antropogênico apresentou as maiores concentrações (Figuras 28 e 29) acompanhando o comportamento observado para CRLO dos ácidos húmicos extraídos destes solos (Tabela 21). No solo não antropogênico a CRLO não ultrapassa 0,5 Spins $\text{g}^{-1} \times 10^{17}$ (medidos na temperatura ambiente).

4.11. Caracterização por espectroscopia de ressonância magnética nuclear com amplitude variável (VACPMAS RMN ^{13}C).

Os espectros de VACPMAS RMN ^{13}C dos ácidos húmicos representativos dos grupos SAF, SAC e SNAF, exibem feições que são comuns a substâncias húmica de solos (Preston, 1996; Senesi, et al., 2003; Pérez, et al., 2004), e que aparecem tipicamente em cinco principais regiões de deslocamento químico. Estas incluem C-alquil (0-45 ppm), O-alquil C (45-110 ppm), C-aromático (110-140 ppm), C-fenólico (140-160 ppm) e C-carboxílico, amida, cetona e éster (160-245 ppm). (Figura 30 e Anexo 1).

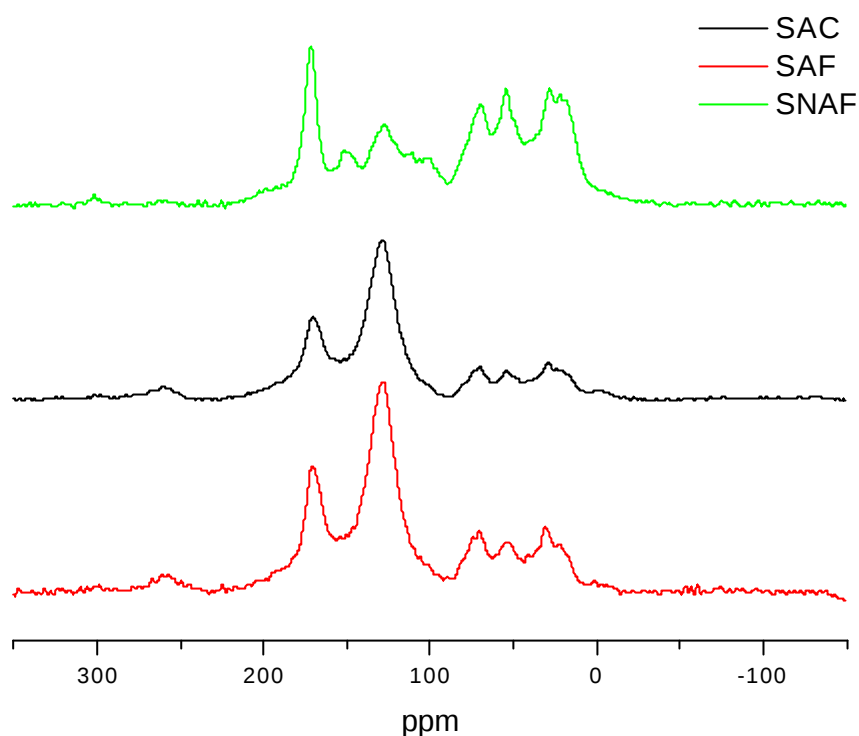


Figura 30. Espectros de ^{13}C VACPMS de amostras representativas de ácidos húmicos pertencente aos diferentes grupos estudados.

Os principais deslocamentos químicos observados nos espectros de VACPMS RMN ^{13}C nas diferentes regiões do espectro podem ser visualizados na Tabela 24.

Tabela 24. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de VACPMS ^{13}C NMR dos ácidos húmicos estudados.

amostra	alquil	metox	O- alquil	di-O- alquil	aromático	fenólico	COO ⁻	CO ⁼
	0-45	45-60	60-90	90-110	110-140	140-160	160-185	185-245
1	23-31	55	70	102	129	-	172	201
2	30	56	71	-	129	-	172	189-221
4	32	58	72	102	129	-	171	199
7	30	57	71	101	128	-	171	199
10	30	56	70	101-106	128	-	171	199
15	33	55	71	101	128	-	170	199
17	32	56	72	102	129	-	170	198
19	30	56	71	102	129	-	171	200
20	24	56	71	101	129	-	171	199
27	30	56	71	102	128	152	172	194-199
29	30	56	71	101	128	-	172	199

Os principais sinais observados nos espectros são semelhantes em praticamente todos os ácidos húmicos estudados, entretanto apresentam variações nas suas intensidades. Estes sinais foram:

Sinais agudos e intensos e ombros de ressonância de carbono alifático que ocorrem em 23, 29 e 31 ppm, que podem ser atribuídos, respectivamente, a grupos metil terminal, grupos metilenos de anéis alifáticos e grupos metilenos em longas cadeias alquílicas de origem variada, como ácidos graxos, lipídios, cutina e outros biopolímeros alifáticos (Preston, 1996; Senesi, 2003);

Sinal em torno de 56 ppm, atribuído a C-metoxílico, que se sobrepõe com a intensidade do sinal, devido a N-C-alquil que tem sua região de deslocamento químico entre 46 e 67 ppm (Preston, 1996). Estes sinais são provavelmente devido à incorporação de lignina e outros componentes semelhantes ao solo (Malcolm, 1990; Pérez et al., 2004);

Um sinal forte em torno de 71 ppm e um pico mais fraco em torno de 101 ppm geralmente atribuídos a carbono de anéis e ao carbono anomérico de estruturas de polissacarídeos nos ácidos húmicos (Preston, 1996; Senesi et al., 2003);

Sinal em torno de 128 ppm, agudo e intenso em todos os ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos. Nos ácidos húmicos originados dos solos não antropogênicos este sinal apresenta-se com baixa intensidade.

Sinal em torno de 152 ppm observado com maior intensidade no ácido húmico extraído de solo não antropogênico (AH-27, Tabela 24). Estes sinais (128 e 152 ppm) são atribuídos a carbono aromático, incluindo C-aromático O-substituídos (C-fenólico) e,

Sinal em torno de 171 ppm observado em todas as amostras estudadas. O mesmo é atribuído a carbono carboxílico e carbono amídico secundário ou éster (Malcolm, 1989; Preston, 1996; Senesi et al., 2003).

As intensidades relativas dos sinais de RMN (Figura 30 e Anexo 1) e a distribuição do ^{13}C obtida por integração das regiões destes espectros, diferiram entre as várias amostras de ácidos húmicos estudados. As maiores distribuições relativas de ressonância de carbono alifático foram exibidas pelas amostras AH-27 e AH-29, extraídos dos solos não antropogênicos (Tabela 25).

A região de deslocamento químico entre 45 – 110 ppm é normalmente atribuída à presença de C mono ou di-oxigenados (O-C-alquil) ou ainda a C ligado a grupos nitrogenados. Carbono adjacente de grupos aminas em proteínas aparece ao redor de 58 ppm (Pillon, 2000). A maior distribuição relativa destes compostos foi encontrada para os ácidos húmicos provenientes dos solos não antropogênicos (AH-27 e AH-29). A maior parte dessa absorção foi devida ao deslocamento químico entre 60 – 90 ppm, típico de compostos nitrogenados, o que confirma o alto teor de N observado nestes ácidos húmicos (%N = 8%, Tabela 09). A presença de carboidratos também não pode ser descartada. Alta intensidade no sinal na região de O-alquil C para amostras com elevado conteúdo de carboidratos foi reportado por Kogel-Knabner (1988).

Tabela 25. Distribuição relativa das principais regiões de deslocamento químico do ^{13}C obtidos no experimento de VACPMAS ^{13}C RMN dos ácidos húmicos.

Dados do experimento de VPO para o RHN dos ácidos ramificados.								
amostra.	alquil	metoxil	O-alquil di-O-alquil	aromático	COO ⁻	CO ⁼	grau	
------%-----								
	0-45	45-60	60-110	110-160	160-185	185-245	Alif	Arom
1	21	8	13	30	13	15	58	42
2	19	12	24	27	10	8	67	33
4	18	9	23	31	10	9	62	38
7	22	10	25	28	10	5	67	33
10	19	10	22	33	10	6	61	39
15	19	9	22	34	10	6	60	40
17	20	9	20	33	13	5	60	40
19	17	10	23	34	11	5	60	40
20	21	10	24	29	11	5	65	35
27	28	12	28	20	10	2	77	23
29	30	11	23	23	11	2	74	26

Alif: grau de alifaticidade; Arom: grau de aromaticidade.

A distribuição do ^{13}C obtida por integração das regiões dos espectros por grupos de ácidos húmicos pode ser observada na Tabela 26.

Tabela 26. Distribuição relativa do deslocamento químico do ^{13}C nos grupos de ácidos húmicos estudados.

Grupo	Ranking estimado:							
	alquil	metoxil	O-alquil di-O-alquil	aromático	COO ⁻	CO ⁼	grau	
	-----%-----							
	0-45	45-60	60-110	110-160	160-185	185-245	Alif	Arom
SAF	20b	10b	21b	29b	11a	9 ^a	64b	36b
SAC	19b	10b	22b	33a	11a	5b	61c	39a
SNAF	29a	12a	26a	22c	11a	2c	75a	25c

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%. Alif: grau de alifaticidade; Arom: grau de aromaticidade.

Observa-se na Tabela 26 que entre os diferentes grupos, os ácidos húmicos pertencentes ao grupo SNAF (extraídos de solos não antropogênicos) são mais ricos em grupamentos alifáticos, metoxílicos e em estruturas de polissacarídeos. As maiores concentrações de carbono aromático, incluindo também carbono fenólico, foram observadas nos ácidos húmicos provenientes dos solos antropogênicos (SAF e SAC), e entre estes, esta concentração é maior nos ácidos húmicos extraídos de solos sob cultivo (SAC).

A natureza dos ácidos húmicos estudados foi mais alifática do que a observada em ácidos húmicos de regiões temperadas (Chen & Pawluk, 1995). A maior alifaticidade dos ácidos húmicos em solos de regiões tropicais e subtropicais, provavelmente está relacionada, à maior estabilização de estruturas alifáticas em solos com predomínio de minerais de carga variável, devido à forte interação com a matriz mineral (Oades et al., 1989; Parfitt et al., 1997). Estes resultados são consistentes com as variações observadas por Ussiri & Johnson (2003) e Mahieu et al., (1999), para ácidos húmicos de solos florestais.

Um importante parâmetro que pode ser calculado do espectro ^{13}C RMN é o grau de aromaticidade (Tabela 26). Este é obtido por integração das áreas dos picos relacionados a carbonos aromáticos (110-160 ppm), e normalizado pela área total do espectro menos a área dos carbonos carboxílicos e carbonílicos (Baranciková et al., 1997; Hatcher et al., 1981;

Pérez et al., 2004). Baseado neste parâmetro o grau de humificação dos ácidos húmicos pode ser avaliado.

Os resultados apresentados na Tabela 26, indicam que os ácidos húmicos extraídos dos solos antropogênicos, tem grau de aromaticidade mais elevado em relação aos dos solos não antropogênicos. Estes estão de acordo com valores médios observados para a maioria das substâncias húmicas, que é de aproximadamente 35% (Malcolm, 1989). A diminuição do carbono aromático nos ácidos húmicos originados dos solos não antropogênicos foi acompanhada do aumento da percentagem do carbono alifático (C-alquil).

A região espectral de 110-160 ppm mostra uma quantidade relativa maior de C-aromático e C-olefinico nos ácidos húmicos extraídos dos solos antropogênicos em relação ao extraídos dos solos não antropogênicos. E entre os ácidos húmicos originários dos solos antropogênicos, este tipo de carbono foi mais abundante nos ácidos húmicos do grupo SAC (Tabela 26). A posição central do sinal de C-aromático dos ácidos húmicos estudados em torno de 130 ppm (Tabela 24), indica que uma proporção de anéis aromáticos não está substituída por oxigênio ou nitrogênio (Olk et al., 1995), pois o grau de substituição de oxigênio em anéis aromáticos, diminui à medida que os polímeros fenólicos dos restos orgânicos são transformados em substâncias húmicas (Baranciková et al., 1997).

O C-carbonílico (160-245 ppm) foi dominante em relação ao C-fenólico (140-160 ppm) em todos os ácidos húmicos estudados, e este comportamento é consistente com os dados obtidos no estudo dos grupamentos funcionais (Tabela 14). A percentagem de ^{13}C nesta região de deslocamento químico foi mais elevada na amostra AH-01, extraído de solo antropogênico e menor no AH-29, extraído de solo não antropogênico (Tabela 25).

O conteúdo de radicais livres orgânicos determinados por EPR, e o conteúdo de C-aromático determinado por VACPMAS ^{13}C RMN, mostraram uma relação estreita e direta (Figura 31). Este comportamento confirma os resultados obtidos por EPR, indicando que os ácidos húmicos mais evoluídos, portanto mais humificados, são os que apresentaram maior aromaticidade (ácidos húmicos extraídos de solos antropogênicos e entre estes os extraídos de solos sob cultivo). Relação direta e significativa entre a aromaticidade de ácidos húmicos extraídos de camada superficial de solo e a concentração de radicais livres orgânicos, também foram obtidas por Pillon (2000) e Bayer et al (2000), ($r = 0,91$ e $r = 0,96$, respectivamente), ao avaliarem o efeito do cultivo no conteúdo e qualidade da matéria orgânica do solo.

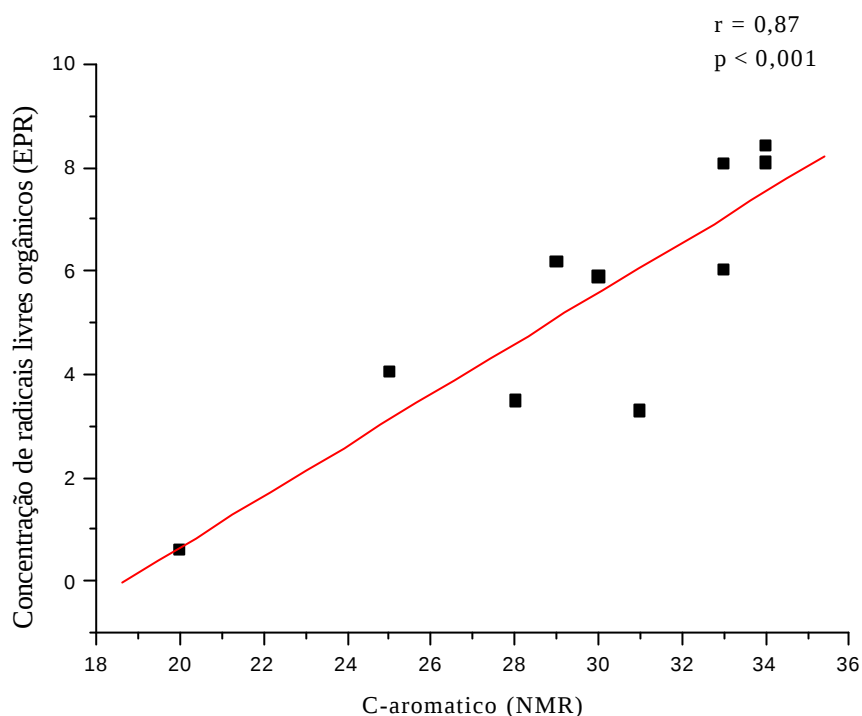


Figura 31. Relação entre o C-aromático e a concentração de radicais livres orgânicos dos ácidos húmicos estudados.

Por outro lado, a relação estreita e direta entre o C-aromático, determinado por ^{13}C RMN VACPMAS, e a concentração de radicais livres orgânicos (Figura 31), confirma, que com o avanço no grau de humificação dos ácidos húmicos, substâncias orgânicas menos complexas, pouco humificadas são seletivamente metabolizadas, enquanto que estruturas aromáticas mais complexas são seletivamente preservadas.

A correlação entre o conteúdo de C-fenólico, determinado por VACPMAS ^{13}C RMN, e a concentração de radicais livres orgânicos determinados por EPR foi muito baixa ($r = -0,01$), indicando que apenas uma pequena percentagem da variação no conteúdo de radicais livres orgânicos das amostras estudadas, é explicada pela variação do conteúdo de C-fenólico. Possivelmente, estruturas aromáticas O-substituídas, como a lignina, possam não ter sido preservadas em compostos orgânicos mais humificados com o avanço da humificação da matéria orgânica do solo (horizontes Au1 estudados), (Amelung et al., 1997), pois existe também a possibilidade da lignina servir de substrato para a biossíntese microbiana (Kögel-Knabner et al., 1991; Pillon, 2000), o que determina que as alterações no conteúdo de C-fenólico com o avanço do grau de decomposição da matéria orgânica do solo, nem sempre é consistente com o incremento do conteúdo de radicais livres orgânicos, considerado um sensível indicador do avanço do grau de humificação de substâncias húmicas do solo (Pillon, 2000).

Pillon (2000) relata que as características das substâncias húmicas a serem analisadas, como a presença de metais paramagnéticos, o processo de extração, o tratamento dos materiais húmicos e ainda as condições experimentais das medidas de EPR e NMR podem, em algumas situações, trazer limitações às análises. Preston (1996) e Smernick & Oades

(1999) relatam casos em análises de NMR e Novotny & Martin-Neto (2000) e Novotny (2002) relatam casos em análises de EPR. Desta forma, o estudo de substâncias húmicas de solos, torna-se mais eficaz quando é baseado em informações provenientes de diversas técnicas, químicas e/ou espectroscópicas.

Considerando o acima exposto, correlações entre o índice de aromaticidade obtido por NMR e as outras técnicas químicas e espectroscópicas utilizadas neste estudo são apresentadas na Tabela 27.

Tabela 27. Correlação entre o grau de aromaticidade obtido por NMR e as diversas técnicas químicas e espectroscópicas utilizadas neste trabalho (E_4/E_6 – UV-Vís; IA. DRIFT – DRIFT; w = grau de oxidação e H/C – análise elementar; A. Carboxílica – acidez método clássico; A_4/A_1 – espectroscopia de fluorescência; ITG – análise termogravimétrica).

técnicas	r
Grau Aromaticidade x E_4/E_6	- 0,87
Grau Aromaticidade x IA. DRIFT	0,72
Grau Aromaticidade x w	0,91
Grau Aromaticidade x H/C	- 0,87
Grau Aromaticidade x A. carboxílica	0,90
Grau Aromaticidade x A_4/A_1	0,39
Grau Aromaticidade x ITG	0,84

Os resultados apresentados na Tabela 27, indicam que o grau de aromaticidade, que é relacionado ao grau de humificação dos ácidos húmicos estudados, pois geralmente, maior aromaticidade indica um estágio mais avançado de humificação (Chen & Pawluk, 1995; Preston, 1996) foi caracterizado por: aumento do índice de aromaticidade obtido por espectroscopia DRIFT; aumento do grau de oxidação; aumento da acidez carboxílica; aumento da razão A_4/A_1 , aumento do índice termogravimétrico e diminuição da razão E_4/E_6 e da razão H/C. As correlações acima, confirmam a consistência dos dados obtidos com as variadas técnicas utilizadas neste estudo, e a importância destas e dos índices provenientes das mesmas na caracterização de substâncias húmicas, principalmente no que concerne ao seu grau de humificação. A baixa correlação obtida entre o grau de aromaticidade e a razão A_4/A_1 ($r = 0,39$), demonstrou que a técnica de fluorescência não foi adequada na caracterização dos ácidos húmicos estudados. Maiores detalhes sobre estes parâmetros químicos e espectroscópicos foram discutidos nos tópicos específicos a cada técnica.

Novotny et al., (1999) propuseram uma divisão do espectro de NMR em estruturas recalcitrantes e lábeis, com o objetivo de melhorar a interpretação dos seus resultados, porém computando o C-fenólico como estrutura lábil. Razões mais elevadas entre C recalcitrante/C lábil na fração ácido húmico, estão relacionadas ao menor acúmulo de estruturas menos evoluídas. Na Tabela 28 pode-se observar os resultados referentes à razão C-recalcitrante/C-lábil obtidos neste estudo, onde o C-fenólico foi computado como estrutura recalcitrante, juntamente com o C-aromático e o C-alquil, devido aos ácidos húmicos serem provenientes de material de origem pirogênica e também devido à sobreposição dos sinais de C-aromático com C-fenólico nos espectros obtidos.

Tabela 28. Razão entre C-recalcitrante/C-lábil para os diferentes ácidos húmicos estudados.

Amostra	Grupo	C-recalcitrante/C-lábil	Média dos grupos
1	SAF	2,4	2,0
2	SAF	1,3	
4	SAF	1,5	
7	SAF	1,4	
10	SAC	1,6	2,0
15	SAC	1,7	
17	SAC	1,8	
19	SAC	1,5	
20	SAC	1,5	
27	SNAF	1,2	1,0
29	SNAF	1,6	

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a 5%.

Da Tabela 28 conclui-se que os ácidos húmicos pertencentes ao grupo SNAF são os que apresentam uma maior quantidade de estruturas menos evoluídas e mais lábeis. Entre os ácidos húmicos dos solos antropogênicos, mais recalcitrantes, não foi observada diferença. Estes resultados confirmam a condição de estabilidade química-coloidal da matéria orgânica humificada dos solos antropogênicos, dando suporte aos resultados obtidos na análise termogravimétrica e de EPR, e resultados reportados por Zech et al., (1990) e Glaser et al., (1999). Os mesmos foram consistentes com todos os resultados obtidos através das diferentes técnicas químicas e espectroscópicas utilizadas neste estudo.

4.12 Outras Correlações Obtidas Entre os Resultados Provenientes das Diversas Técnicas Utilizadas Neste Estudo e Índices Propostos na Literatura Científica.

O máximo de termodegradação, obtido pela análise termogravimétrica, apresentou correlação negativa com o teor de cinzas ($R = -0,57$; $P < 0,0001$), indicando que entre as amostras com menor temperatura de termodegradação, estão aquelas com maior teor de cinzas. Benites, (2001) atribuiu este comportamento à participação da matriz mineral residual na catálise da queima das substâncias húmicas. Por outro lado, uma melhor correlação foi observada entre o máximo de termodegradação e a concentração de radicais livres orgânicos (Figura 32) e também do índice termogravimétrico (ITG) com dados de NMR (Tabela 29).

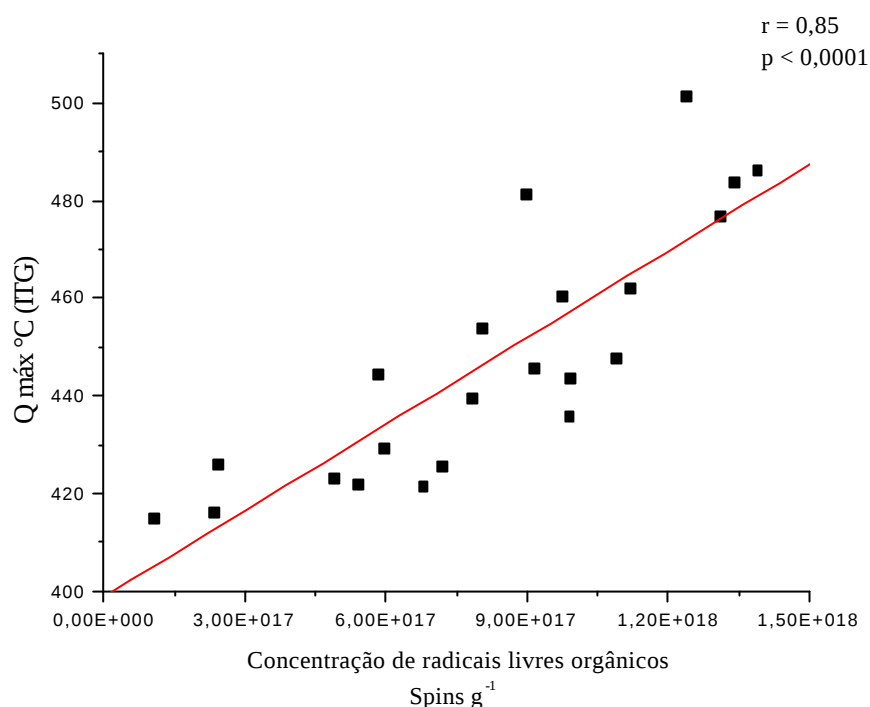


Figura 32. Relação entre a concentração de radicais livres orgânicos e o máximo de termodegradação dos ácidos húmicos.

Tabela 29. Correlação entre o índice termogravimétrico, máximo de termodegradação e parâmetros obtidos na análise de NMR.

Correlação	r
ITG x Alquil (0-45 ppm)	-0,73
ITG x Aromático (110-140 ppm)	0,89
ITG x grau de aromaticidade	0,84
ITG x grau de alifaticidade	-0,84

As informações obtidas na Figura 32 e Tabela 29 sugerem que quanto maior o grau de humificação dos ácidos húmicos maior a quantidade de calor necessária para a degradação dos mesmos. Isto é indicativo de maior resistência da matéria orgânica dos solos antropogênicos à oxidação e, portanto à queima, confirmando a sua alta recalcitrância, alta aromaticidade e a sua longa persistência nos solos mesmo quando submetidos ao uso agrícola.

Os valores obtidos para o grau de oxidação variaram de $-1,070$ a $-0,180$ entre os ácidos húmicos estudados, sendo os menores valores observados para os grupos SAF e SAC. Segundo Canellas (1999), estes valores podem ser negativos ou positivos. Valores menores na escala negativa indicam substâncias humificadas quimicamente mais evoluídas.

Na Tabela 30 observa-se os coeficientes de correlação entre o grau de oxidação e dados da composição elementar, análise termogravimétrica, índice de aromaticidade e relação E_4/E_6 dos ácidos húmicos.

Tabela 30. Coeficiente de correlação entre o grau de oxidação e dados da composição elemental, análise termogravimétrica, índice de aromaticidade (DRIFT) e razão E_4/E_6 dos ácidos húmicos estudados. ($n = 22$) * $p < 0,0001$.

Y	X	r*
E_4/E_6	w	- 0,77
C/N	w	0,94
H/C	w	- 0,84
ITG	w	0,79
IA	w	0,77

Na Tabela 30 observa-se correlação inversa da razão E_4/E_6 e o grau de oxidação, sugerindo que os compostos com baixa razão E_4/E_6 , portanto mais evoluídos, são os apresentam os maiores valores para grau de oxidação. Este comportamento é corroborado pelos valores da correlação entre H/C, IA e ITG que foram da ordem de - 0,84, 0,77 e 0,79, respectivamente, mostrando também que os compostos mais resistentes à termodegradação e os mais aromáticos são os compostos mais oxidados. Na Figura 33 visualiza-se a distribuição espacial dos ácidos húmicos na correlação entre grau de oxidação versus H/C e ITG, onde se percebe a correlação negativa e positiva, respectivamente.

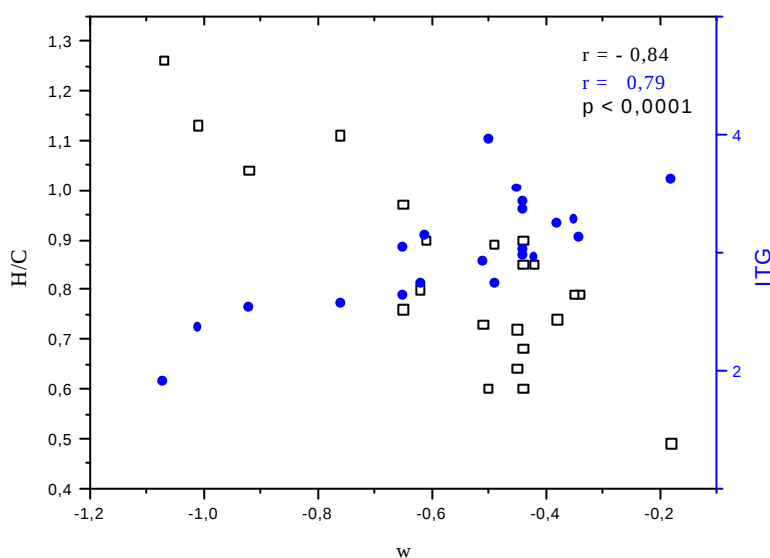


Figura 33. Distribuição espacial relativa aos dados de grau de oxidação(w) versus H/C e ITG.

Na Figura 34, são apresentados os coeficientes de correlação entre o índice de polaridade e os dados da análise termogravimétrica e EPR, onde se observa que os ácidos húmicos mais humificados (maiores quantidade de radicais livres orgânicos) e mais resistentes à termodegradação (maiores índices termogravimétrico), são os que apresentaram as menores quantidades de grupamentos polares, sugerindo que estes ácidos húmicos apresentam um maior grau de conjugação na sua estrutura húmica.

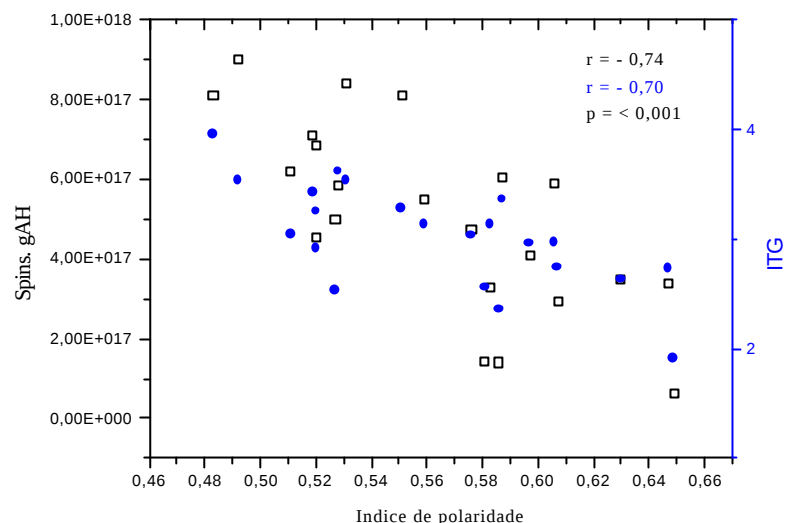


Figura 34. Distribuição espacial relativa aos dados de índice de polaridade *versus* ITG e conteúdo de radicais livres orgânicos.

Entretanto, estes resultados não deram suporte aos obtidos para acidez carboxílica (Tabela 14) que foi maior para os solos antropogênicos (grupos SAF e SAC), que apresentam maior quantidade de grupos oxigenados, mostrando que o índice de polaridade conforme proposto por Torrentes et al., (1977) não foi adequado para a avaliação da polaridade dos materiais estudados, possivelmente pelo fato do conteúdo de oxigênio ter sido obtido por diferença, confirmando-se pela correlação inversa e baixa, obtida entre o grau de oxidação e o índice de polaridade (Figura 35).

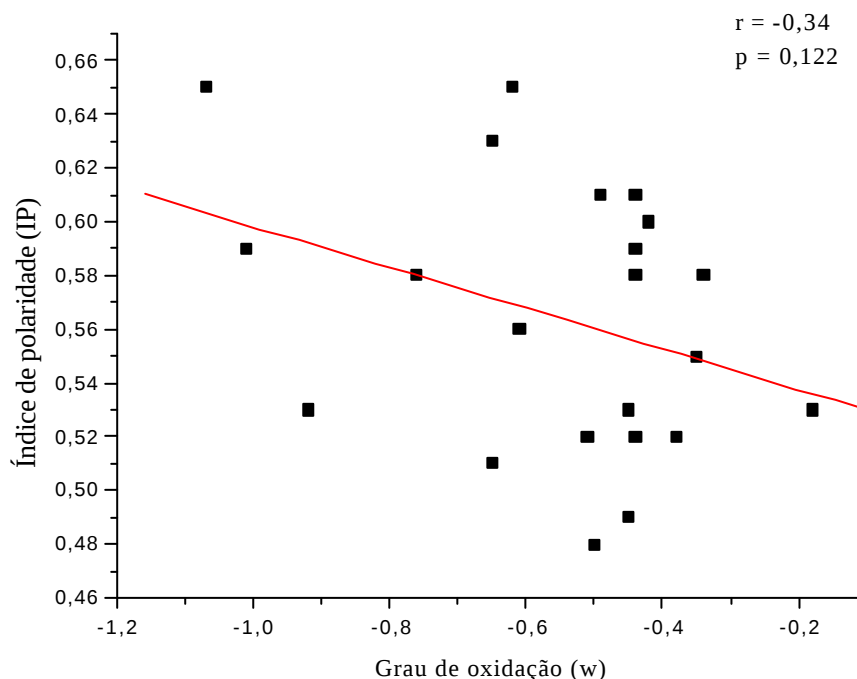


Figura 35. Correlação entre o índice de polaridade (IP) e o grau de oxidação (w) dos ácidos húmicos.

Por fim, com base nas propriedades dos ácidos húmicos dos solos antropogênicos, diretamente relacionadas à presença de carbono pirogênico, infere-se que o uso do carbono pirogênico como condicionador da fertilidade de solos agrícolas tropicais altamente intemperizados pode ser a chave para a manutenção de uma boa fertilidade química e física com conseqüente melhoria da estabilidade estrutural destes solos.

Por exemplo, o estímulo do crescimento de brotos e raízes (Wardle et al., 1998); alteração da diversidade de espécies florestais (Kim et al., 1996); aumento da germinação de sementes (Glaser et al., 2002); aumento do rendimento da cultura do milho (Mbagwu & Piccolo, 1997; Oguntunde et al., 2004); aumento da produção de biomassa (Chidumayo, 1994); aumento da produtividade e fertilidade dos solos (Ketterings & Bigham, 2000; Glaser et al., 2002; Falcão et al., 2003; Falcão et al., 2004); aumento do pH dos solos (Lehmann et al., 2003; Oguntunde et al., 2004); favorecimento das propriedades físicas como aumento da retenção de água e agregação dos solos (Tryon, 1948; Piccolo & Mbagwu, 1990) e aumento da capacidade de troca de cátions (Tryon, 1948) foram obtidos com a aplicação de carvão aos solos. Ressalta-se que as propriedades superficiais do carvão variam grandemente, dependendo do material utilizado na sua produção, e com as condições ambientais da queima, como temperatura e suprimento de oxigênio (Tryon, 1948; Glaser et al., 1998; Schmidt & Noack, 2000; Lehmann et al., 2003), de modo que o aumento da capacidade de troca e a melhoria das propriedades físicas do solo vão depender da qualidade do carbono pirogênico produzido e adicionado ao solo. Entretanto, estudos agronômicos são necessários no diz respeito ao uso do carvão como condicionador do solo, levando-se em consideração avaliações de impacto de ordem ecológica e econômica.

5. ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA (estatística multivariada) DOS DADOS QUÍMICOS E ESPECTROSCÓPICOS.

Quimiometria é uma disciplina química que usa métodos matemáticos para planejar ou selecionar procedimentos ótimos de medidas e experimentos e extrair o máximo de informação analisando os dados químicos, tendo em vista que todas as medidas feitas em química analítica apresentam uma incerteza. Apesar disso, uma grande quantidade de análise é feita sem grande preocupação em expressar a incerteza dos resultados, através das ferramentas da análise estatística. Isto é particularmente verdadeiro quando os resultados analíticos são utilizados na solução de problemas em outras áreas da química, como na química ambiental, por exemplo, (Fidencio, 1998). Entre as diversas técnicas disponíveis pode-se citar a análise fatorial, a análise de agrupamentos hierárquicos e a análise discriminante.

5.1 Estatística Multivariada: Análise Fatorial

A análise fatorial é uma técnica de análise multivariada que trata relações internas de um conjunto de variáveis, substituindo um conjunto inicial de variáveis correlacionadas por um conjunto menor de fatores (ou variáveis discriminantes) que podem ser não correlacionadas (fatores ortogonais) ou correlacionadas (fatores oblíquos) e que explicam a maior parte da variância do conjunto original (Tristão, 1997).

Utilizou-se a análise fatorial buscando-se avaliar todo o conjunto de variáveis obtidas através das diferentes técnicas utilizadas neste estudo. Visto que os dados foram padronizados (média zero e desvio padrão unitário), utilizou-se o método de Kaiser para se determinar o número de fatores extraídos, ou seja, se extraiu apenas aqueles fatores cujo autovalor fosse maior do que 1. Assim, os resultados da análise fatorial efetuada com os dados obtidos nas diferentes técnicas utilizadas neste estudo, indicaram a possibilidade de reduzir o grupo de variáveis para quatro dimensões sem perda de muita informação, pois estes quatro fatores capturaram 86% da variância total dos dados originais (Tabela 31).

Tabela 31. Carregamentos dos fatores calculados. Rotação varimax normalizada.

	Fator 1 Humificação	Fator 2 Hidrofilicidade	Fator 3 Acidez (total e fenólica)	Fator 4 Cinzas
E ₄ /E ₆	-0,833746	0,019702	0,180159	0,266139
IH	0,097123	-0,820361	-0,165707	0,200969
C%	0,508305	-0,701527	0,108049	-0,457220
H%	-0,888844	0,131634	-0,243978	0,277845
N%	-0,948406	-0,023347	-0,020246	0,211153
O%	0,323794	0,854823	-0,008427	0,333594
Cinzas	0,015535	0,221967	-0,329413	0,813623
W	0,952815	0,124181	0,003973	-0,175368
C/N	0,894330	-0,096424	0,180317	-0,256905
H/C	-0,871913	0,223229	-0,210772	0,322933
O/C	0,049349	0,895145	-0,075882	0,371243
O/H	0,850512	0,088277	0,397164	-0,123378
A. total	0,427677	0,078527	0,851096	-0,230785
A. carboxi.	0,772552	0,126005	0,095987	-0,496414
A. Fenoli	-0,014688	0,008702	0,968615	0,063600
Spins g ⁻¹	0,569092	-0,243802	0,045129	-0,701369
Largura	-0,242814	0,458229	0,037366	0,801116
A4/A1	0,485920	-0,121010	0,002895	-0,718905
I480/I400	0,490385	0,119498	-0,162028	-0,680121
IADRIFT	0,872755	0,129245	-0,081345	0,335775
ITG	0,768415	-0,294360	0,165593	-0,447737
Expl.Var	8,942807	3,270820	2,216089	4,299443
Prp.Totl	0,425848	0,155753	0,105528	0,204735

*Carregamentos em negrito são 0,7.

Após a rotação varimax e baseado nos carregamentos propõem-se a seguinte identificação dos fatores obtidos:

O primeiro fator capturou 43% da variância total e foi caracterizado por:

- Aumento do grau de oxidação, da razão O/H, da acidez carboxílica, do índice de aromaticidade DRIFT e do aumento do índice termogravimétrico.
- Diminuição da razão E₄/E₆, dos teores de hidrogênio, dos teores de nitrogênio e da razão H/C.

Como todas essas características podem ser atribuídas ao aumento do grau de humificação denominou-se esse como “fator humificação”.

O segundo fator capturou 16% da variância total e foi caracterizado por:

- Aumento do teor de oxigênio e da razão O/C

- b) Diminuição do índice de hidrofobicidade e do teor de carbono.

Devido a isso foi denominado “fator hidrofilicidade”.

Já o terceiro fator que capturou 11% da variância total foi caracterizado por:

- a) Aumento da acidez total e aumento da acidez fenólica

Sendo denominado de “fator acidez”

E por último o quarto fator capturou 0,2% da variância total e foi caracterizado por:

- a) Aumento no teor de cinzas e largura da linha nos espectros de EPR.
b) Diminuição do conteúdo de Spins. g^1 obtido por EPR, índice A_4/A_1 e I_{480}/I_{400} obtidos pela espectroscopia de fluorescência.

Devido a isso foi denominado “fator cinzas” por contribuição dessa variável e de seus efeitos sobre as análises espectroscópicas (Preston, 1996; Smernik e Oades, 2000; Novotny, 2002).

Os escores do fator humificação possibilitaram a separação dos ácidos húmicos dos grupos SAF e SAC do grupo SNAF (Figura 36), sendo estes últimos menos humificados; já o fator hidrofilicidade possibilitou uma separação parcial das amostras dos grupos SAF e SAC, sendo as do grupo SAF mais hidrofílicas em relação à média geral (maioria das amostras).

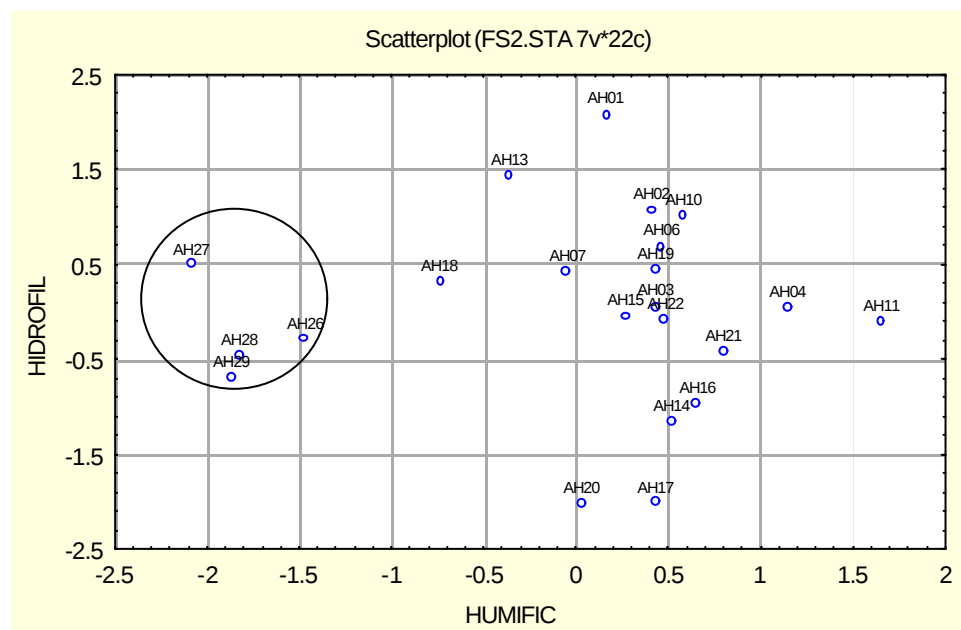


Figura 36. Agrupamento dos ácidos húmicos estudados em função dos fatores humificação e hidrofilicidade.

Foi observado dentro do fator 4, que a variável cinzas se correlacionou com as variáveis spin.g^1 , largura da linha (obtidos da EPR), razão A_4/A_1 e A_{480}/A_{400} (obtidos dos espectros de fluorescência), indicando que parte da variância destes dados foi devida ao efeito das cinzas nas amostras dos ácidos húmicos estudados, Tabela 31 e Tabela 32. Segundo Preston (1996) e Smernik & Oades (2000), as substâncias húmicas contém íons paramagnéticos que podem afetar os resultados das análises de ressonância magnética nuclear. Piana & Zahir (2000), relataram o efeito destes íons metálicos em análises de espectroscopia de fluorescência e Novotny & Martin-Neto (2002), Novotny (2002), relataram a interferência destes íons em análises de RPE.

Tabela 32. Coeficientes de correlação entre o teor de cinzas e variáveis obtidas por espectroscopia de RPE e fluorescência.

Variáveis	r	P
Spin	-0,65	0,000876
Largura	0,75	0,000036
A_4/A_1	-0,56	0,005749
I_{480}/I_{400}	-0,38	0,073656

Visando-se eliminar o efeito das cinzas na análise fatorial para interpretação mais precisa dos resultados, obteve-se regressões lineares entre o teor de cinzas e as variáveis que se correlacionaram com esse teor, e utilizou-se o resíduo dessa regressão (variância não explicada pelo modelo de regressão) para a realização de uma nova análise fatorial (Tabela 33).

Tabela 33. Carregamentos dos fatores calculados após a remoção do efeito das cinzas. Rotação varimax normalizada.

	Fator 1 Humificação	Fator 2 Hidrofilicidade	Fator 3 Acidez (total e fenólica)	Fator 4 Fluorescência
E_4/E_6	-0,818483	0,059572	0,176713	0,333697
IH	0,087221	-0,760287	-0,260895	0,223538
C%	0,552710	-0,786677	0,128317	-0,190648
H%	-0,912860	0,149803	-0,246558	0,148398
N%	-0,931101	-0,006749	-0,028564	0,271192
O%	0,268375	0,946544	-0,028664	0,018519
W	0,931146	0,116759	0,012916	-0,260387
C/N	0,876744	-0,129652	0,195861	-0,300269
H/C	-0,899008	0,253845	-0,218804	0,168898
O/C	-0,012361	0,981267	-0,083135	0,037394
O/H	0,843773	0,100525	0,398945	-0,139710
A. total	0,484307	0,002170	0,835462	-0,044658
A. carbox	0,818666	-0,016038	0,145202	-0,312309
A. fenoli	0,022808	0,014534	0,914949	0,164203
Spin residuo	0,763389	-0,192855	-0,271323	-0,303571
ΔH residuo	-0,368384	0,532665	0,460388	0,383767
A_4/A_1 residuo	0,437786	-0,073724	-0,052308	-0,794504

I ₄₈₀ /I ₄₀₀ res	0,384865	0,097630	-0,132368	-0,861480
IADRIIFT	0,837477	0,290971	-0,205425	0,081326
ITG	0,823425	-0,380285	0,179773	-0,190256
Expl.Var	9,254265	3,610336	2,367221	2,283108
Prp.Totl	46%	18%	12%	2%

*Carregamentos em negrito são 0,7.

Após as correções o resultado da análise foi:

O fator 1 (humificação) capturou 46% da variância total e foi caracterizado por:

- c) Aumento do grau de oxidação, da razão O/H, da acidez carboxílica, da concentração de spins, do índice de aromaticidade determinado por DRIFT, além do índice termogravimétrico (ITG).
- d) Diminuição da razão E₄/E₆, dos teores de hidrogênio, dos teores de nitrogênio e da razão H/C.

O fator 2 (hidrofilicidade) capturou 18% da variância total e foi caracterizado por:

- c) Aumento do teor de oxigênio e da razão O/C
- d) Diminuição do índice de hidrofobicidade e do teor de carbono.

O fator 3 (acidez) respondeu por 12% da variância total e foi caracterizado por:

- a) Aumento da acidez total e aumento da acidez fenólica

O fator 4, capturou 2% da variância e teve contribuições importantes apenas de índices obtidos da espectroscopia de fluorescência, indicando que mesmo após a correção do efeito das cinzas nesses dados, eles não se correlacionaram com nenhuma das demais técnicas empregadas, não tendo qualquer relação com o grau de humificação obtido pelas mais diversas técnicas, tais como análise elementar, termogravimétrica e espectroscopias eletrônica (UV-Vis), vibracional (DRIFT) e ressonância magnética (RPE).

Após a remoção do efeito das cinzas a concentração de radicais livres orgânicos, determinada por RPE, que fazia parte do fator 4 na Tabela 31, passou a contribuir significativamente no fator 1 na Tabela 33, e, portanto se relaciona com o grau de humificação dos ácidos húmicos estudados. Na Figura 37 pode-se observar o comportamento dos ácidos húmicos em função dos dois primeiros fatores (humificação e hidrofilicidade). Novamente o fator humificação separou claramente as amostras do grupo SNAF, sendo estas, menos humificadas, enquanto que as amostras do grupo SAF tenderam a ter uma maior hidrofilicidade em relação às do grupo SAC.

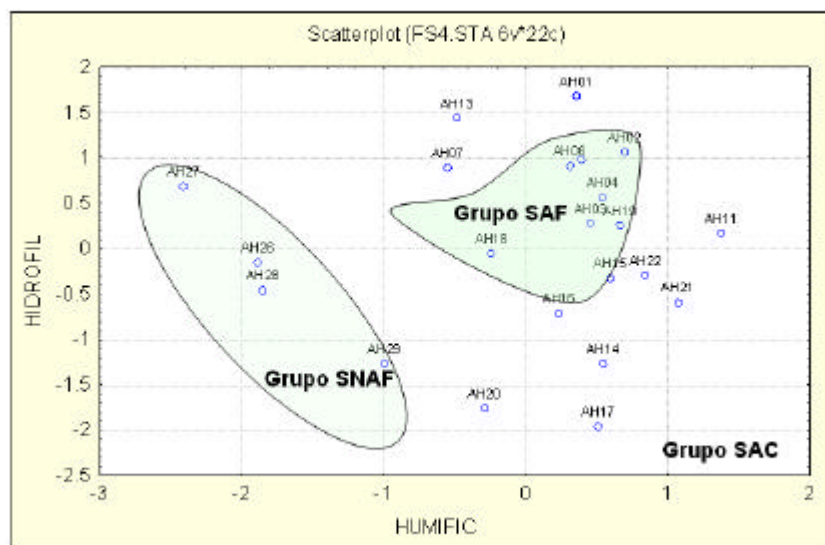


Figura 37. Agrupamento dos ácidos húmicos estudados em função dos fatores humificação e hidrofilicidade, após a remoção do efeito das cinzas.

5.2. Estatística Multivariada: Análise de Agrupamentos Hierárquicos

A análise de agrupamento é uma metodologia numérica multivariada, realizada com o objetivo de propor uma estrutura classificatória ou de reconhecimento da existência de grupos, sendo o seu principal objetivo a obtenção de uma representação dos dados pela construção de agrupamentos que tenham significado real, isto é, que não sejam meramente teóricos (Tristão, 1997).

A análise de agrupamento hierárquico dos resultados da análise fatorial realizado (Figura 38), na qual as amostras são agrupadas com base na similaridade entre as mesmas (amostras mais semelhantes estão mais próximas entre si no espaço amostral), nos leva à mesma conclusão obtida na análise de componentes principais (PCA). As amostras estão ordenadas em três diferentes grupos, que foram denominados neste trabalho, de grupo SAF (solos antropogênicos sob mata), grupo SAC (solos antropogênicos sob cultivo) e grupo SNAF (solos não antropogênicos sob mata).

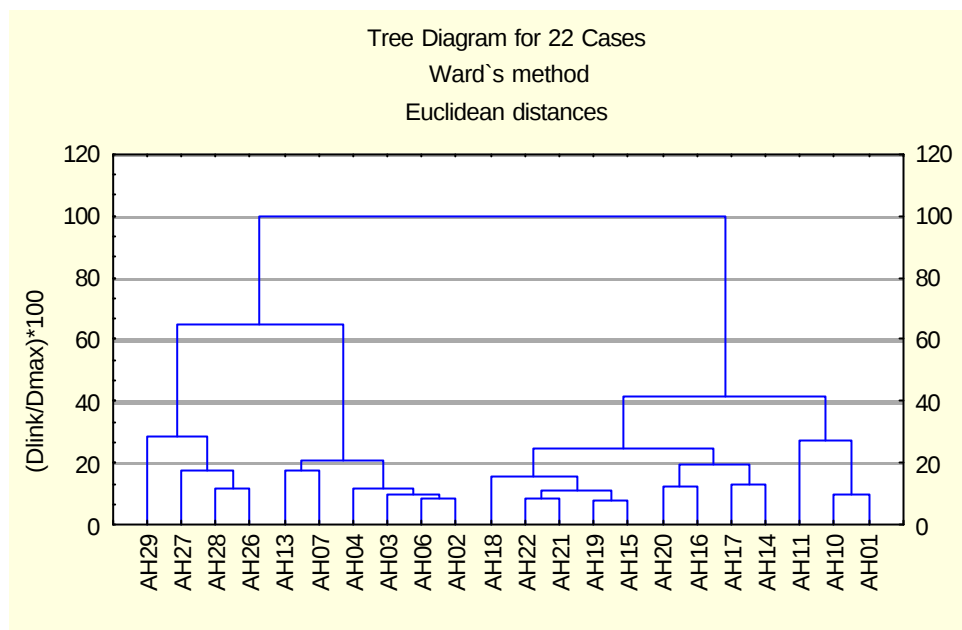


Figura 38. Grupamento hierárquico dos ácidos húmicos estudados.

5.3. Estatística Multivariada: Análise Discriminante

Outro método estatístico que pode ser utilizado para a classificação das amostras é a análise discriminante. Este é um método multivariado, que consiste em investigar como e quando é possível fazer distinções entre grupamentos com base nas observações feitas sobre eles, estimando as probabilidades de classificações corretas, permitindo testar a consistência e a integridade dos agrupamentos.

As combinações lineares derivadas do modelo de análise discriminante são denominadas funções discriminantes, as quais são derivadas em ordem de importância discriminante. A primeira função representa a melhor combinação possível das variáveis iniciais, ou seja, é aquela que extrai o máximo possível de variâncias intergrupos existente no espaço inicial; a segunda extrai o máximo possível de variância remanescente, com a restrição de ser ortogonal à primeira. Uma vez calculadas as funções discriminantes, elas podem ser usadas como instrumento de classificação (Costa, 1997).

A técnica de análise discriminante foi utilizada neste estudo como um teste de significância da análise de agrupamento (item 5.2) para verificar a adequação da partição obtida, uma vez fixado o número de grupos e conhecido os seus componentes. Utilizou-se o método “forward stepwise”, onde as variáveis são incluídas no modelo, uma a uma de acordo com a ordem decrescente de discriminação entre os grupos. Utilizaram-se as mesmas variáveis empregadas na análise fatorial, e obteve-se um acerto de 100% dos casos (Figura 39). Os índices obtidos dos espectros de fluorescência não foram incluídos no modelo por não discriminarem as amostras.

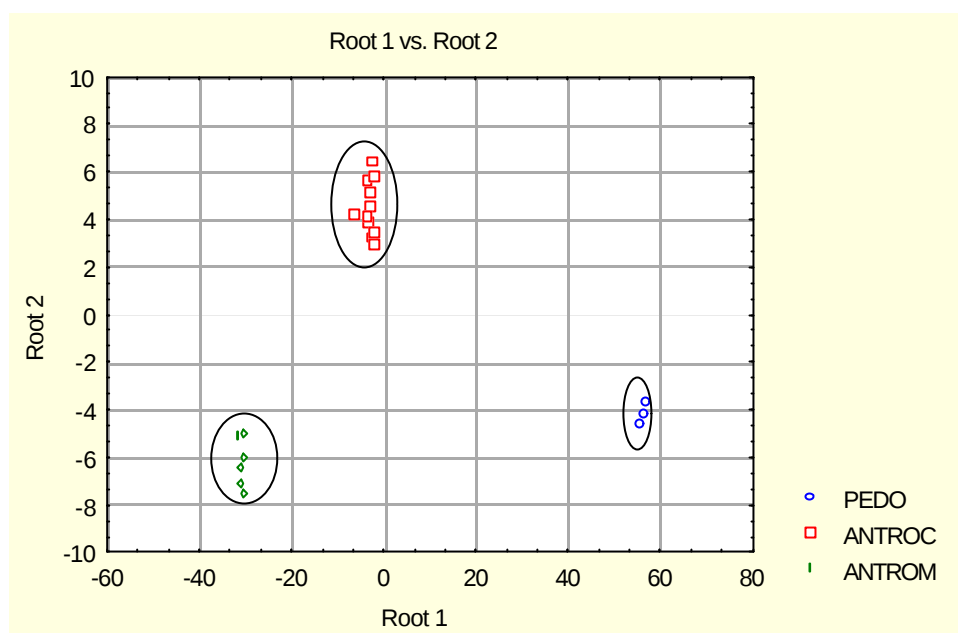


Figura 39. Agrupamento dos ácidos húmicos em função das duas primeiras variáveis discriminantes. Root 1 e 2: variáveis discriminantes 1 e 2, respectivamente.

Ao se analisar a estrutura das funções discriminantes geradas (Tabela 34), pode-se observar que a primeira função, que já é capaz de discriminar todos os grupos com acerto de 100%, tem a contribuição de diversas variáveis e índices que podem ser associados à humificação, tais como razão E_4/E_6 ; ITG, IADRIFT, concentração de radicais livres orgânicos entre outras.

Tabela 34. Cargas relativas de cada variável utilizada no modelo sobre as variáveis discriminantes 1 e 2.

	Variável discriminante 1 (Root 1)	Variável discriminante 2 (Root 2)
H%	0.039641	-0.250733
CINZAS	-0.009676	-0.214596
A. CARBOX	-0.034951	0.131721
E_4/E_6	0.052267	-0.150013
O%	-0.023359	-0.080997
IH	0.000733	0.038452
O/H	-0.026057	0.140995
LARGURA	0.004925	-0.157604
A. TOTAL	-0.005025	0.123205
H/C	0.036747	-0.259516
O/C	-0.014887	-0.110593
A. FENOL	0.011017	0.077499
Spins g^{-1} C	-0.019761	0.190168
ITG	-0.026306	0.195083
W	-0.046668	0.118349
IADRIFT	-0.041419	0.036614
C%	-0.005262	0.173462

As informações obtidas com o uso da análise quimiométrica deram suporte e concordaram com todas as avaliações feitas anteriormente sobre os dados químicos e espectroscópicos, demonstrando grande potencial desta ferramenta estatística no estudo da química ambiental. Ficou também evidente, nas condições em que foi realizado este estudo, que a técnica de fluorescência não foi adequada na caracterização dos ácidos húmicos por não discriminar as amostras e nem ter apresentado correlações estreitas com as demais técnicas espectroscópicas utilizadas neste estudo.

6. CONCLUSÕES

1. Os solos antropogênicos da Amazônia demonstraram maior teor de carbono total e maior fertilidade comparados com solos adjacentes que não apresentaram horizonte A antrópico. A maior parte da matéria orgânica dos solos estudados foi constituída pela fração humina (H), sendo a fração ácidos húmicos (AH) a dominante das frações alcalino-solúveis nos solos antropogênicos, enquanto nos solos não antropogênicos a fração ácidos fúlvicos (AF) apresentou-se com teores mais elevados do que a fração AH.
2. A fertilidade dos solos, em geral, está relacionada à fração AH. Nos solos antropogênicos um maior teor relativo de AH (maior razão AH/AF) foi observado quando comparado com os solos não antropogênicos. Este fato, e a estreita correlação entre os teores de AH e a relação AH/AF com a capacidade de troca de cátions do solo (CTC calculada), demonstram a importância da fração AH na fertilidade destes solos. As estreitas correlações obtidas entre os teores de AH e parâmetros de fertilidade química do solo sugeriram que a razão AH/AF pode ser utilizada como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo (MOS) e, portanto da fertilidade química do mesmo (*Índice de fertilidade*), pelo menos em condições climáticas menos contrastadas.
3. A análise estatística multivariada permitiu reduzir o grupo de variáveis para quatro dimensões, das quais três representam características relevantes dos AH (humificação, hidrofilicidade e acidez), demonstrando que os AH dos solos antropogênicos, com base em medidas e índices que descrevem características moleculares, são diferentes dos AH dos solos não antropogênicos. As principais diferenças entre os grupos dos solos antropogênicos sob floresta (SAF) e sob cultivo (SAC), em relação aos solos não antropogênicos (SNAF) foram no grau de humificação dos AH. Os AH pertencentes aos grupos SAF e SAC demonstraram estar num estágio mais avançado de humificação do que os do grupo SNAF. O maior grau de humificação dos AH dos solos antropogênicos foi devido à maior concentração de estruturas aromáticas e de radicais livres orgânicos. Alguns resultados sugeriram que isto está relacionado à origem pirogênica destes AH.
4. A análise multivariada também demonstrou que os AH dos solos antropogênicos sob floresta e sob cultivo foram diferentes. As principais diferenças entre os AH dos grupos SAF e SAC foram na hidrofobicidade. Os AH do grupo SAC foram mais hidrofóbicos. Este comportamento está relacionado ao cultivo que favoreceu a oxidação de frações mais lábeis da MOS com conseqüente preservação de estruturas mais recalcitrantes como C-alquil e C-aromático que foram seletivamente preservadas.
5. Diferenças foram detectadas também nas características de estabilidade e reatividade dos AH dos grupos SAF e SAC. Os AH do grupo SAC tiveram uma maior concentração de estruturas mais aromáticas que pode ser devido à preservação seletiva destas, em comparação aos AH do grupo SAF. Os AH do grupo SAC também mostraram maior reatividade que os pertencentes ao grupo SAF, sendo a acidez carboxílica a dominante em todos os AH estudados. A maior reatividade dos AH pertencentes ao grupo SAC

pode ser atribuída a dois fatores: 1. Preservação seletiva dos grupos reativos; e 2. Ambiente mais favorável à formação ou preservação de grupos funcionais reativos.

6. Nos solos antropogênicos que são ricos em matéria orgânica humificada, recalcitrante e ao mesmo tempo de elevada reatividade, há um ambiente favorável às reações de troca iônica, reações com colóides inorgânicos do solo, com moléculas orgânicas e de complexação com cátions metálicos entre outras. Por possuir matéria orgânica mais humificada e estável do que a MOS de solos não antropogênicos, provavelmente nestes solos predominam processos que favorecem a acumulação de carbono e a formação de agregados estáveis.
7. A elevada fertilidade e sua sustentabilidade, e conseqüentemente o elevado potencial de uso agrícola dos solos antropogênicos, pelo menos em parte, pode ser atribuído às características físico-químicas da fração AH da matéria orgânica destes solos.
8. Este estudo pode servir como base teórica para o manejo sustentável da fertilidade de solos tropicais, por oferecer informações sobre características desejáveis de produtos condicionantes da fertilidade do solo desenvolvidos a partir de fontes renováveis (carvão vegetal) e também por evidenciar o efeito de uso do solo nas características moleculares dos AH em solos antropogênicos.
9. As técnicas espectroscópicas de UV-Vis, DRIFT, RPE e RMN ^{13}C utilizadas neste estudo foram eficientes na obtenção de informação sobre as características físico-químicas dos AH estudados, demonstrando grande potencial destas ferramentas nos estudos de substâncias húmicas provenientes de solos de origem antropogênica. Somente a espectroscopia de fluorescência não mostrou resultados coerentes com as demais técnicas. Isto foi, provavelmente, devido à alta concentração de estruturas conjugadas (fluoróforos) nos AH destes solos antropogênicos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo permitiu salientar alguns aspectos que poderão se objetos de pesquisas futuras e contribuir para o avanço do conhecimento da dinâmica da matéria orgânica de solos tropicais, tais como:

- ✓ Estudar a dinâmica da matéria orgânica em frações granulométricas em cada classe de agregado e comparar os resultados do fracionamento físico da matéria orgânica por tamanho de partícula com os resultados do solo intacto.
- ✓ Estudar a fração humina da matéria orgânica de solos antropogênicos por técnicas químicas e espectroscópicas.
- ✓ Aplicar outras técnicas de estudo como a Eletroforese Capilar, Microscopia de Força Atômica, Microscopia Eletrônica de Varredura e Pirólise na caracterização das diversas frações da matéria orgânica dos solos antropogênicos.
- ✓ Determinar o efeito do acúmulo de matéria orgânica sobre a superfície específica de microagregados do solo, em diferentes profundidades do perfil.
- ✓ Estudar a agregação e suas relações com o estoque de carbono dos solos antropogênicos sob diferentes sistemas de preparo do solo.
- ✓ Realizar estudos de fertilidade visando avaliar possíveis antagonismos/sinergismos entre absorção de nutrientes, devido às grandes variações destes, nos solos antropogênicos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIKEN, G. R. et al. An introduction to humic substances in soil, sediment, and water. In: AIKEN, G.R. et al. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment, and water**. New York: Wiley, 1985. p. 1-9.

ALEMANY, L. B. et al. Cross polarization and magic angle spinning NMR spectra of model organic compounds. I. Highly protonated molecules. **Journal of American Chemical Society**, Washington, D.C., v.105, p. 2133-2141, 1983.

ALIANELLO, F. et al. Identification of primary substrates in organo-mineral fertilizers by means of isoelectric focusing. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 30, p. 2169-2181, 1999.

ALMENDROS, G. et al. Solid state NMR studies of fire-induced changes in the structure of humic substances. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 117/118, p. 63-74, 1992.

AMELUNG, W.; FLACH, K. W.; ZECH, W. Climatic effects on soil organic matter composition in the Great plains. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 61, p. 115-123, 1997.

ANDREUX, F.; CERRI, C.C.; EDUARDO, B. de P. & CHONE, T. Húmus content and transformations in natural and cultivated soils. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 90, p. 249-265, 1990.

BAES, A. U.; BLOOM, P. R. Diffuse reflectance and transmission Fourier transformation infrared (DRIFT) spectroscopy of humic and fulvic acids. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 53, p. 695-700, 1989.

BALDOCK, J. A. et al. Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using solid-state ¹³C NMR spectroscopy. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 35, p.1061-1083, 1997.

BALDOCK, J. A.; PRESTON, C. M. Chemistry of carbon decomposition processes in forests as revealed by solid state carbon-13 nuclear magnetic resonance. In: McFEE, W.W.; KELLY, J. M. (Ed.). **Carbon forms and functions in forest soils**. Madison: Soil Science Society of America, 1995. p. 89-117.

BARANČÍKOVÁ, G.; SENESI, N.; BRUNETTI, G. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. **Geoderma**, Amsterdam, v.78, p. 251-266, 1997.

BAYER, C. et al. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 238, p.133-140, 2002.

BAYER, C. et al. Effect of no-till cropping systems on soil organic matter in a sandy clay loam Acrisol from Southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v.53, p.95-104, 2000.

BENITES, V. de M. **Caracterização de solos e de substâncias húmicas em áreas de vegetação rupestre de altitude**. 2002. 71 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós - Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa.

BENITES, V. de M. **Caracterização química e espectroscópica da matéria orgânica e suas relações com a gênese de solos da Serra do Brigadeiro, Zona da Mata Mineira**. 1998. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós - Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa.

BENITES, V.M.; MADARI, B.; MACHADO, P. L. O. de A. **Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2003. 7 p. (Embrapa Solos. Comunicado Técnico, 16).

BLOOM, P. R.; LEENHEER, J. A. Vibrational, electronic, and high-energy spectroscopic methods on characterizing humic substances. In: HAYES, M. H. B. et al. (Ed.). **Humic substances II. In search for the structure**. Chichester: John Wiley, 1989. p. 409-446.

BORGES, A.L. **Alteração das propriedades de um Latossolo Amarelo de Cruz da Alma, Bahia, pelo cultivo com frutíferas perenes e mandioca**. 1993. 161 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

BOYER, J. **Fatores da pedogênese e classificação francesa dos solos**. 1971. 210 f. Curso de Pós - Graduação em Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

BRAVARD, S.; RIGHI, D. Characterization of fulvic and humic acids from na Oxisol-Spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 48, p.151-162, 1991.

CAMARGO, F. C. de. **Estudos de alguns perfis de solo coletados em diversas regiões da Hiléia**. Belém: IAN, 1941. 59 p.

CAMERON, R. S. et al. Molecular weight and shape of humic acid from sedimentation and diffusion measurements on fractionated extracts. **The Journal of Soil Science**, Oxford, v. 23, p. 394-408, 1972.

CAMPANELLA, L; TOMASSETTI, M. Thermogravimetric and IR analysis of different extracts of humic substances. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 170, p. 67-80, 1990.

- CANELLAS, L. P. **Avaliação de características físico-químicas de ácidos húmicos**. 1999. 164 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- CANELLAS, L. P. et al. Avaliação de características de ácidos húmicos de resíduos de origem urbana: I. Métodos espectroscópicos (UV-vis, IV, RMN ¹³C, C-PP/MAS) e microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 741-750, 2000a.
- CANELLAS, L. P. et al. Propriedades químicas de um cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 935-944, 2003.
- CANELLAS, L. P. et al. Organic matter quality in a soil cultivated with perennial herbaceous legumes. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 61, n. 1, p.53-61, 2004.
- CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. de A.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 69-90.
- CANELLAS, L.P. et al. Frações da matéria orgânica em seis solos de uma topossequência no Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, p. 133-143, 2000.
- CAPRIEL, P. et al. Hydrophobicity of the organic matter in arable soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, p.1453-1458, 1995.
- CAPRIEL, P. Hydrophobicity of organic matter in arable soil: influence of management. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 48, p. 457-462, 1997.
- CELI, L.; SCNITZER, M.; NÈGRE, M. Analysis of carboxyl groups in soil humic acids by a wet chemical method, Fourier-Transform infrared spectrophotometry, and solution-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. A comparative study. **Soil Science**, Baltimore, v.162, p.189-197, 1997.
- CERETTA, C. A. et al. Métodos espectroscópicos. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 69-90
- CERETTA, C. A. **Fracionamento de N orgânico, substâncias húmicas e caracterização de ácidos húmicos de solo em sistemas de cultura sob plantio direto**. 1995. 127 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Ciência de Solos) - Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- CHEN, J. et al. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, 48: 59-68, 2002.

CHEN, Y., SENESI, N., SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 41, p.352-358. 1977.

CHEN, Z.; PAWLUK, S. Structural variations of humic acids in two sola of Alberta Mollisols. **Geoderma**, Amsterdam, v. 65, p.173-193, 1995.

CHIDUMAYO, E.N. Effects of wood carbonization on soil and initial development of seedling in Miombo Woodland, Zambia. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 70, p.353-357, 1994.

CIAVATTA, C. et al. Determination of organic carbon in soil and fertilizer. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 20, p. 759-773, 1989.

COSTA, V.H. Caracterização ecológica do território brasileiro situado ao sul do paralelo 24° S. Uma abordagem climática. 1997, (Tese de Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, 86p., 1997.

CUNHA, T. J. F. et al. Caracterização e natureza do húmus de latossolos amarelos coesos de tabuleiro na região do Recôncavo Baiano. **Magistra**, Cruz das Almas, v.15, n.2, p. 147-154, 2003.

CUNHA, T. J. F. et al. Horizonte A antrópico em novas classes de solos na Amazônia Brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 28., 2001, Londrina. **Resumos...** Londrina: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2001. p. 238.

DABIN, B. Les matières organiques dans les sols tropicaux normalement drainés. **Cahiers ORSTOM**. Série Pédologie, v. 28, n3/4, p.197-215, 1981.

DABIN, B. **Matéria orgânica dos solos**. Salvador: UFBA, 1982. 104 p. Mimeografado.

DABIN, B. Méthode d'extraction et de fractionnement des matières humiques du sol. Application à quelques études pédologiques et agronomiques dans les sols tropicaux. **Cahiers ORSTOM**. Série Pédologie, Paris, v. 14, n. 4, p. 279-287, 1976.

DATTA, C.; GHOSH, K; MUKHERJEE, S. K. Fluorecence excitation spectra of different fractions of humus. **Journal of the Indian Chemical Society**, Calcutta, v. 48, n. 3, p. 279-287, 1971.

DELL'ABATE, M. T. et al. Humic substances along the profile of two Typic Haploxerert. **Geoderma**, Amsterdam, v. 107, p.281-296, 2002.

DENEVAN, W. M. A bluff model of riverine settlement in prehistoric Amazonia. **Annals of the Association of American Geographers**, Washington, D.C., v. 86, p. 654-681, 1996.

DICK, D. P. et al. Caracterização de produtos de decomposição de lodos orgânicos em diferentes tempos e meios de digestão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p.1-8, 1997.

DICK, D. P. et al. Características estruturais e distribuição d matéria orgânica em diferentes classes de latossolos. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 4., 2001, Viçosa. **Resumo de palestras e trabalhos apresentados...** Viçosa: UFV - Departamento de Solos, 2001. p. 100-101.

DICK, P. D. et al. Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two Southern Brazilian soils. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 29-39, 2003.

DORMAAR, J. F. Organic matter characteristics of undisturbed and cultivated chernozemic and solonchic A horizons. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 59, p. 349-356, 1979.

DUCHAUFU, Ph. **Pédologie 1. Pédogenèse et clasification**. Paris: Massa Editions, 1977. 477 p.

DURANA, J. F.; MANTZ, A. W. Laboratory studies of reactive and trasient systems. In: Fourier transform infrared spectroscopy (Vol 2); applications to chemical systems. Ed. FERRAO, J. R. & BASILE, L.J. New York: Academic Press, Inc., 1979. In: WHITE, J.L. & ROTH, C.B. Infrared spectrometry. In: Methods of soil analysis, Part I. Physical and mineralogical methods – Agronomy Monograph nº 9 (2nd Edition), Madison: ASA, SSSA, 1986. P. 291-330.

DZIADOWIEC, H. Properties of humic acids from forest litters of different humification degree. In: SENESI, N.; MIANO, T. M. (Ed). **Humic substances in the global environment and implications of human health**: proceedings of the 6th International Meeting of the International Humic Substances Society, Monopoli (Bari), Italy, September 20-25, 1992. Amsterdam: Elsevier, 1994. p. 573-578, 1992.

EDEN, M.J. et al. Terra Preta Soils and their archaeological context in the Caquetá Basin of Southeast Colombia. **American Antiquity**, Washington, D.C., v. 49, p.125-140, 1984.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa - Serviço de Produção de Informação, 1999. 412 p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 5).

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de Solo**. 2 ed. rev. atual. Rio de Janeiro, 1997. 212 p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1).

FALCÃO, N. P. S. et al. The role of charcoal on nutrients bioavailability of an Amazonian dark earth soil and surrounding soil. In: INTERNATIONAL MEETING OF IHSS, 12., 2004, São Pedro, SP. **Humic substances and soil water environment**: proceedings... São Carlos:

FALCÃO, N.P.S.; JOSEPHUS EDUARDUS, P.K.; VAN ROY, A. Effects of charcoal and organic fertilizer on nutrients availability in a Central Amazon Oxisol. In: ENERGY & Agricultural Carbon Utilization. Sustainable Alternatives to Sequestration. Disponível em: < <http://www.georgiainp.org/carbon/abstracts/Session1A.pdf>>. Acesso em: 22 out., 2003.

FALESI, I. C. O estado atual dos conhecimentos sobre os solos da Amazônia Brasileira. In: INSTITUTO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO NORTE. **Zoneamento agrícola da Amazônia**: 1. aproximação. Belém, 1972, p.17-67. (IPEAN. Boletim Técnico, 54).

FALESI, I. C. Soils of the Brazilian Amazon. In: WAGLEY, C. (Ed.). **Man in the Amazon**. Gainesville: University of Florida Press, 1974. p. 201-229.

FARIA, J. B. de. **A cerâmica da Tribo Uaboí dos rios Trombetas e Jamundá**: contribuição para o estudo da arqueologia pré-histórica do baixo Amazonas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. 1946. (Brasil. Ministério da Agricultura. Publicação, 89).

FIDENCIO, P. H. Avaliação potenciométrica de misturas de ácidos fracos através de calibração multivariada. (Tese de Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, 1998.

FLAIG, W. A. J. Comparative chemical investigations of natural humic compounds and their model substances. **Proceedings of Royal Dublin Society**, v.1, p.149, 1960.

FLAIG, W. A. J.; BEUTELSPACHER, H. Investigations of humic acids with the analytical ultracentrifuge (SM-106/16). In: SYMPOSIUM ON THE USE OF ISOTOPES AND RADIATION IN SOIL ORGANIC-MATTER STUDIES, 1968, Vienna. **Isotopes and radiation in soil organic-matter studies: proceedings...** Vienna: International Atomic Energy Agency, 1968. p. 23-30. (IAEA. Proceedings Series).

FRANCIOSO, O. et al. Quantitative estimation of peat, brown coal and lignite humic acids using chemical parameters, ¹H-NMR and DTA analyses. **Bioresource Technology**, Essex, v. 88, p.189, 195, 2003.

FRANCO, E. da C. As Terras Pretas do planalto de Santarém. **Revista da Sociedade dos Agrônomos e Veterinários do Pará**, Belém, v. 8, p.17-21, 1962.

FREIXO, A. A; CANELLAS, L. P. & MACHADO, P. L. O. Propriedades espectrais da matéria orgânica leve-livre e leve intra-agregado de dois latossolos sob plantio direto e preparo convencional. **R. Brás. Ci. Solo**, 26:445-453, 2002.

GALETI, H.V.A, et al. Analysis of concentration effects on laser-induced fluorescence of humic acids in solid samples. XII International Meeting of IHSS. Humic Substances and Soil and Water Environment. São Pedro-SP, 2004, 332-334p.

GEYER, W. et al. Investigation of soil humic substances from different environments using TG-FT-IR and multivariate analysis. **Termochimica Acta**, Amsterdam, v.361, p. 139-146, 2000.

GHOSH, K.; SCHNITZER, M. Macromolecular structures of humic substances. **Soil Science**, Baltimore, v. 129, n.5, p.266-276, 1980.

GHOSH, K.; SCHNITZER, M. UV and Visible absorption spectroscopic investigations in relation to macromolecular characteristics of humic substances. **The Journal of Soil Science**, Oxford, v. 30, p.735-745, 1979.

GIOVANELA, M. **Caracterização química e morfológica de substâncias húmicas de ambientes aquáticos**. 2003. 140 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

GLASER, B. et al. Black carbon in density fractions of anthropogenic soils of the Brazilian Amazon region. **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 31, p. 669-678, 2000.

GLASER, B. et al. Black carbon in soils: the use of benzenecarboxylic acids as specific markers. **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 29, p. 811-819, 1998.

GLASER, B. et al. Burning residues as conditioner to sustainable improve fertility improve in highly weathered soils of the Brazilian Amazon region. In: BSSS CONFERENCE, 1999, Edinburgh. **Proceedings ...** . Edinburgh, 1999. 5 p.

GLASER, B. et al. The “Terra Preta” phenomenon: a model for sustainable agriculture in the humid tropics. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 88, p. 37-41, 2001.

GLASER, B., GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. Organic chemistry studies on Amazonian Dark Earth. In: LEHMANN, J. et al. (Ed.). **Amazonian Dark Earths**: origin, properties, management. Amsterdam: Kluwer Academic Publisher, 2003. p. 227-241.

GLASER, B.; LEHMANN, J.; ZECH, W. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soil in the tropics with charcoal: a review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 35, p.219-230, 2002.

GOLCHIN, A. et al. The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter of a volcanic ash soil as shown by ¹³C NMR spectroscopy. I. Whole soil and humic acid fraction. **Geoderma**, Amsterdam, v. 76, p.155-174, 1997.

GOMES, J.B.V. **Caracterização, gênese e uso de solos de três sítios de restinga sob diferentes coberturas vegetais no Estado do Rio de Janeiro**. 1995. 158 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

GOUROU, P. Observações geográficas na Amazônia. **Revista Brasileira de Geografia**, Rio de Janeiro, v.11, n.3, p.354-400, 1949.

GRIFFIN, J. J.; GOLDBERG, E. D. The fluxes of elemental carbon in coastal marine sediments. **Limnology and Oceanography**, New York, v. 20, p. 456-463, 1975.

GUINTO, D.F., SAFFIGNA, P.G., XU, Z.H., HOUSE, A.P.N. PERERA, M.C.S., Soil nitrogen mineralization and organic matter composition revealed by ¹³C NMR spectroscopy under repeated prescribed turning in eucalypt forests of southeast Queensland. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 37, p. 123-135, 1999.

HARTT, F. Contribuição para a etnologia do Vale do Amazonas. **Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v. 6, p.10-14, 1885.

HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. **Thermal analysis**: fundamentals and applications to polymer science. Chichester: Wiley, 1999. 180 p.

HATCHER, P.G.; SCHNITZER, M.; DENNIS, L.W. & MACIEL, G.E. Aromaticity of humic substances in soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 45, p.1089-1094, 1981.

HAUMAIER, L.; ZECH, W. Black carbon: possible source of highly aromatic components of soil humic acids. **Organic Geochemistry**. Oxford, v. 23, p.191-196, 1995.

HAWORTH, R. D. The chemical nature of humic acid. **Soil Science**, Baltimore, v. 111, n. 1, p.71-79, 1971.

HAYES, M. H. B.; CLAPP, C. E. Humic substances: consideration of compositions, aspects of structure, and environmental influences. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 723-737, 2001.

HERNANDEZ, T.; MORENO, J. I.; COSTA, F. Infrared spectroscopic characterization of sewage sludge humic acids. Evidence of sludge organic matter-metal interactions. **Agrochimica**, v. 37, p.12-17, 1993.

HILBERT, P. **A cerâmica arqueológica da região de Oriximiná**. Belém: Instituto de Antropologia e Etnologia do Pará, 1955. 17 p. (Instituto de Antropologia e Etnologia do Pará. Publicação, 9).

HILBERT, P. **Archäologische Untersuchungen am mittleren Amazonas**. Berlin: Verlag Dietrich Reimer, 1968. (Marburger Studien sur Völkerkunde, v.1).

IBARRA, J. V.; JUAN, R. Structural changes humic acids during the coalification process. **Fuel**, London, v. 64, p. 99-126, 1985.

IBARRA, J. V.; MOLINER, R; BONET, A J. Thermal alteration of coal humic acids simulating early coalification. In: SENESI, N.; MIANO, T., M. (Ed.). **Humic substances in the global environment and implications on human health**: proceedings of the 6th

International Meeting of the International Humic Substances Society, Monopoli (Bari), Italy, September 20-25, 1992. Amsterdam: Elsevier, 1994. p. 1325-1330.

IOSELIS, P. et al. thermal characterization of natural and synthetic humic substances. **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 8, p. 95-1001, 1985.

ISHIWATARI, R. Geochemistry of humic substances in lake sediments. In: AIKEN, G. R. et al. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment, and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: Wiley Interscience Publication, 1985.

JACQUIN, F.; HAIDOUTI, C.; MULLER, J. C. Dynamique de la matière organique en sols carbonates cultivés. **Science du Sol**, Versailles, n.1, p. 27-36, 1980.

JERZYKIEWICZ, M.; DROZD, J.; JEZIERSKI, A. Organic radicals and paramagnetic metal complexes in municipal solid waste composts. An EPR and chemical study. **Chemosphere**, Oxford, v. 39, p. 253-268, 1999.

JEZIERSKI, A. et al. EPR in the environmental control: copper complexes and free radicals in soil and municipal solid waste compost. **Applied Magnetic Resonance**, v.14, p. 275-282, 1998.

JOHNSTON, C. T. et al. Characterization of humic substances using fourier transform infrared spectroscopy. In: SENESI, N.; MIANO, T., M. (Ed.). **Humic substances in the global environment and implications on human health: proceedings of the 6th International Meeting of the International Humic Substances Society, Monopoli (Bari), Italy, September 20-25, 1992**. Amsterdam: Elsevier, 1994. p. 145-152.

JOHNSTON, C. T.; AOCHI, Y.O. Fourier transform infrared and ramam spectroscopy. In: SPARKS, D.L et al. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: ASA: SSSA, 1996. P. 269-321. (Soil Science Society of America. Book Series, 5). Part 3: Chemical Methods.

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances: a reflection of land use history in a fen area. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 47, p. 219-238, 1999.

KÄMPF, N. et al. Classification of Amazonian Dark Earths in the Brazilian Amazon. In: LEHMANN, J.; KERN, D.C.; GLASER, B. & WOODS, W.I. (Eds), **Amazonian Dark Earths: Origin, Properties, Management** (pp. 77-102). The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 2003.

KERN, C. C. **Geoquímica e pedogeoquímica de sítios arqueológicos com Terra Preta na Floresta Nacional de Caxiuanã (Portel-PA)**. 1996. 124 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Centro de Geociências, Belém.

KERN, D. C.; KÄMPF, N. Antigos assentamentos indígenas na formação de solos com terra preta arqueológica na região de Oriximiná - Pará. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 13, p. 219-225, 1989.

KETTERINGS, Q. M.; BIGHAM, J.M.; LAPERCHE, V. Changes in soil mineralogy and texture caused by slash-and-burn fires in Sumatra, Indonesia. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, p.1108-1117, 2000b.

KIM, J. K.; HWANG, J.T.; KIM, H. Micropropagation by in vitro spore culture and potting medium in *Platyserium bifurcatum*. **RDA J. Agr. Sci. Biotech.**, v. 38, p. 267-272, 1996.

KNICKER, H. et al. Fire-induced transformation of C- and N- forms in different organic soil fractions from a Dystric Cambisol under a Mediterranean pine forest (*Pinus pinaster*). **Soil biology & Biochemistry**, 1-18; 2004.

KNICKER, H., LUDDEMANN, H.D. N-15 and C-13 CPMAS and solution NMR studies of N-15 enriched plant material during 600 days of microbial degradation. **Organic Geochemistry** 23, 329–341, 1995.

KÖGEL-KANABNER, I.; HATCHER, P.G.; ZECH, W. Chemical structural studies of forest soil humic acids: aromatic carbon fraction. **Soil Science Society of America Journal**. Madison, v. 55, p. 241-247, 1991.

KÖGEL-KNABER, I.; ZECH, W.; HATCHER, P.G. Chemical composition of the organic matter in forest soil. II. The humus layer. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**. Weinheim, v. 151, p.331-340, 1988.

KÖGEL-KNABNER, I.; DE LEEUW, J. W.; HATCHER, P. G. Nature and distribution of alkyl carbon in forest soil profiles: implications for the origin and humification of aliphatic biomacromolecules. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 117/118, p.175-185, 1992.

KONONOVA, M. M. **Materia orgánica del suelo**: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación. Barcelona: Oikos-tau, 1982. 364 p.

KONONOVA, M. M. **Soil organic matter, its nature, its role in soil formation and in soil fertility**. Oxford: Pergamon Press, 1966. p.127-166.

KORSHIN, G.; VIOLLEAU, D. Correlation between molecular weight and fluorescence emission in studies of NOM chlorination. In: INTERNATIONAL MEETING OF THE INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY, 10., 2000, Toulouse. **Proceedings...** Toulouse: IHSS, 2000. p. 73-76

KUMADA, K. Carbonaceous materials as a possible source of soil humus. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 29, p. 383-386, 1983.

KUMADA, K. **Chemistry of soil organic matter**. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1987. 241 p.

KUMKE, M. U.; LÖHMANNSRÖBEN, H. G.; ROCH, TH. Fluorescence spectroscopy of polyaromatic compounds in environmental monitoring. **Journal of Fluorescence**, v. 5, p.139-153, 1995.

KUWATSUKA, S.; TSUTSUKI, K.; KUMADA, K. Chemical studies on soil humic acids. I. Elementary composition of humic acids. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 24, p. 337-347, 1978.

LEHMANN, J. et al. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 249, p.343-357, 2003.

LEMOS, R.C.; SANTOS, R.D. Manual de descrição e coleta de solo no campo. 3.ed. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. 84p.

LIMA, H. N. et al. Caracterização de ácidos húmicos extraídos de Terra Preta de Índio. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HUMICAS, 4., 2001, Viçosa. **Resumo de palestras e trabalhos apresentados...** Viçosa: UFV - Departamento de Solos, 2001. p.155-156.

LIMA, H. N. **Gênese, química e micromorfologia de solos da Amazônia Ocidental**. 2001. 176 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

LLOYD, J. B. F. Synchronized excitation of fluorescence emission spectra. **Nature Physical Science**, London, v.. 231, p. 64-65, 1971.

LU, X. Q.; HANNA, J. V.; JOHNSON, W. D. Source indicators of humic substances: an elemental composition, solid state ¹³C-NMR and Py-GC/MS study. **Applied Geochemistry**, Oxford, v. 15, p.1019-1033, 2000.

MacCALLISTER, D.L.; CHIEN, W.L. Organic carbon quality and forms as influenced by tillage and cropping sequence. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 31, p. 465-479, 2000.

MacCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 738-751, 2001.

MacCARTHY, P.E. & RICE, J.A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. In: AIKEN et al.; (Ed). **Humic substances in soil, sediment and water**. Geochemistry, isolation and characterization. P.527-560. New York: John Wiley & Sons, 1985, 692p.

MADARI, B. E. **The effect of tillage on the nature and properties of humic substances**. Gödöllő: University of Agricultural Sciences, 1998. 164 p. (Ph.D. Dissertation).

MAHIEU, N.; POWLSON, D.S. & RANDALL, E.W. Statistical analysis of published carbon-13 NMR spectra of soil organic matter. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 307-319, 1999.

MALCOLM, R. L. Applications of solid-state ^{13}C NMR spectroscopy to geochemical studies of humic substances. In: HAYES, M.H.B. et al. (Ed.). **Humic substances II. In search of structure**. New York: John Wiley & Sons, 1989. p. 309-372.

MALCOLM, R.L. ^{13}C -NMR spectra and contact time experiment for Skjervatjern fulvic and humic acids. **Environment International**, New York, v. 18, p. 609-620, 1992.

MALCOM, R.L. Variations between humic substances isolated from soil, stream water, and groundwater as revealed by ^{13}C NMR spectroscopy. In: MaCCARTHY, P. et al. (Ed.). **Humic substances in soil and crop sciences: selected readings**. Madison: SSSA, 1990. p.13-35.

MANARINO, R. P.; VOLKOFF, B.; CERRI, C. C. Comparação do húmus de capoeira de floresta natural em latossolos amarelos da região Amazônica, Brasil. In: COLÓQUIO REGIONAL SOBRE MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO, 1982, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CENA: PROMOCET, 1982. p. 51-57.

MARTIN, D. et al. Characteristics of humic substances in cultivated and natural soils of Sikkim. **Geoderma**, Amsterdam, v. 84, p.345-362, 1998.

MARTIN-NETO, L. et al. EPR of micronutrients-humic substances complexes extracted from a Brazilian soil. **Soil Science**, Baltimore, v. 51, p. 369-376, 1991.

MARTIN-NETO, L.; ANDRIULO, A. E.; TRAGHETA, D. G. Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil fractions of a mollisol. **Soil Science**, Baltimore, v. 157, 365-372, 1994.

MARTINS, P. F. da S. **Consequências do desmatamento sobre o solo de um ecossistema de terra firme da Amazônia Oriental**. 1987. 231 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MASSON, H. La temperature du sol au cours d'un feu de brouss au Sénégal. **Agronomie Tropicale**, Paris, v. 3, p.174-179, 1948.

MATHERS, N. J. et al. Recent advances in the application of ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy to soil organic matter studies. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 38, p. 769-787, 2000.

MATHERS, N. J.; XU, Z. H. Solid-state ^{13}C NMR spectroscopy: characterization of soil organic matter under two contrasting residue management regimes in a 2-year-old pine plantation of subtropical Australia. **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, n. 1/2, p.19-31, 2003.

MBAGWU, J. S. C.; PICCOLO, A. Effects of humic substances from oxidized coal on soil chemical properties and maize yield. In: DROZD, J. et al. (Ed.). **The role of humic substances in the ecosystems and in environmental protection**. Wroclaw: IHSS Polish Society of Humic Substances, 1997. p.921-925.

MENDONÇA, E. S. **Matéria orgânica e características químicas de agregados de um Latossolo Vermelho-Amarelo sob mata natural, seringueira e pastagem** 1988. 94 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa.

MIANO, T. M. GARRISON, S.; MARTIN, J. P. Fluorescence Spectroscopy of humic substances. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 52, p. 1016-1019, 1988.

MIGLIERINA, A. M.; ROSELL, R. A. Humus quantity and quality of an Entic Haplustoll under different soil-crop management systems. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 26, p. 19-20, 1995.

MILORI, D. M. B. P. et al. Fluorescence spectroscopy as an alternative approach to study humification degree in soil humic acids. In: INTERNATIONAL MEETING OF THE INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY, 10., 2000, Toulouse. **Proceedings...** Toulouse: International Humic Substances Society, 2000. v. 1, p. 97-100.

MILORI, D. M. B. P. et al. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, Baltimore, v. 167, p.739-749, 2002.

MORRISON, S.; BOYD, R. **Química orgânica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995. 163 p.

MUKHERJEE, P. N.; LAHIRI, A. Polyelectrolytic behaviours of humic acids. **Fuel**, Oxford, v. 37, p. 220-226, 1958.

NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J. M. Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance fourier transform infrared spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, p.135-140, 1992.

NOVAKOV. The role of soot and primary oxidants in atmospheric chemistry. **The Science of the Total Environment**. 36:1-10, 1984.

NOVOTNY, E. H. **Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo**. 2002. 215 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Carlos.

NOVOTNY, E. H. et al. Espectroscopias de RPE e RMN em ácidos húmicos extraídos de solos submetidos a diferentes sistemas de manejo. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 3., 1999, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM - Departamento de Solos - Programa de Pós - Graduação em Agronomia, 1999. p. 226-228.

NOVOTNY, E. H. Extração, fracionamento e caracterização espectroscópica da matéria orgânica do solo. 1997. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

NOVOTNY, E.H. et al. Soil management system effects on size fractionated humic substances. **Geoderma**, Amsterdam, v. 92, p. 87-109, 1999.

NOVOTNY, E.H.; MARTIN-NETO, L. Factor affecting humic substances organic free radical analysis by EPR. In: INTERNATIONAL MEETING OF THE INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY, 10., 2000, Toulouse. **Proceedings...** Toulouse: International Humic Substances Society, 2000. v.1, p.85-90.

OADES, J. M.; GILLMAN, G. P.; UEHARA, G. Interactions of soil organic matter and variable-charge clays. In: COLEMAN, D. C.; OADES, J. M.; UEHARA, G. (Ed.) **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu: University of Hawaii, 1989. p. 69-95.

OGUNTUNDE, P.G. et al. Effects of charcoal production on maize yield, chemical properties and texture of soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 39, p. 295-299, 2004.

OLK, D.C.; BRUNETTI, G.; SENESI, N. Organic matter in double-cropped lowland rice soils: chemical and spectroscopic properties. **Soil Science**, Baltimore, v. 164, p. 633-649, 1999.

OLK, D.C.; CASSMAN, K.G.; FAN, T.W.M. Characterization of two humic acids fractions from a calcareous vermiculitic soil: implications for the humification process. **Geoderma**, Amsterdam, v. 65, p.195-208, 1995.

ORLOV, R. **Humic acids of soils**. Washington, D.C.: USDA: The National Science Foundation, 1985. 378 p.

PABST, E. Critérios de distinção entre Terra Preta e Latossolo na região de Balterra e os seus significados para a discussão pedogenética. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, Série Antropologia, Belém, v. 7, n.1, p. 5-19, 1991.

PARFITT, R.L. et al. Effects of clay minerals and land use on organic matter pools. **Geoderma**, Amsterdam, v. 75, n. 1/2, p. 1-12, 1997.

PENZER, G.; BROWN, S.B. An introduction to spectroscopy for biochemists. Academic, London, 1980.

PÉREZ, M. G. et al. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, ¹³C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy, **Geoderma**, Amsterdam, v. 118, p.181-190, 2004.

PIANA, M. J.; ZAHIR, O. Investigation of metal binding of humic substances using fluorescence emission and synchronous-scan spectroscopy. **Journal of Environmental Science and Health**, New York, v.35, p. 87-102, 2000.

PICCOLO, A. & MBAGWU, J.S.C. Effects of different organic waste amendments on soil microaggregate stability and molecular sizes of humic substances. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 123, p. 27-37, 1990.

PICCOLO, A. Interaction between organic pollutants and humic substances in the environment. In: SENESI, N.; MIANO, T. M. (Ed). **Humic substances in the global environment and implications of human health**: proceedings of the 6th International Meeting of the International Humic Substances Society, Monopoli (Bari), Italy, September 20-25, 1992. Amsterdam: Elsevier, 1994. p. 961-979.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, Baltimore, v. 166, p. 810-832, 2001.

PICCOLO, A.; MBAGWU, J. S. C. Role of hydrophobic components of soil organic matter in soil aggregate stability. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 1801-1810, 1999.

PICCOLO, A.; PIETRAMELLARA, G.; MBAGWU, J. S. C. Use of humic substances as soil conditioners to increase aggregate stability. **Geoderma**, Amsterdam, v. 75, p. 267-277, 1997b.

PICCOLO, A.; PIETRAMELLARA, G.; MBAGWU, J.S.C. Reduction in soil loss from erosion-susceptible soil amended with humic substances from oxidized coal. **Soil Technology**, Cremlingen, v. 10, p. 235-245, 1997a.

PICCOLO, A.; PIETRAMELLARA, G.; MBAGWU, J. S. C. Effects of coal derived humic substances on water retention and structural stability of Mediterranean soils. **Soil Use and Management**, Wallingford, v.12, p. 209-213, 1996.

PILLON, C. N. **Alterações no conteúdo e qualidade da matéria orgânica do solo induzidas por sistemas de cultura em plantio direto**. 2000. 232 f. (Tese de Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PRESTON, C. M. Applications of NMR to soil organic matter analysis: History and prospects. **Soil Science**, Baltimore, v. 161, p.144-166, 1996.

PROVENZANO, M. R.; SENESI, N. Thermal properties of standard and reference humic substances by differential scanning calorimetry. **Journal of Anal. Colorimetry**, v. 57, p. 517-526, 1999.

RANZANI, G.; KINJO, T.; FREIRE, O. **Ocorrência de “plaggen Epipedon” no Brasil**. Piracicaba: ESALQ-USP, 1962. 12 p. (ESALQ-USP. Boletim Técnico - Científico, 5).

RANZANI, G.; KINJO, T.; FREIRE, O. Ocorrências de “Plaggen Epipedon” no Brasil. **Notícia Geomorfológica**, Campinas, v.10, p.55-62, 1970.

REZENDE, M.O. de O. A importância ambiental das substâncias húmicas. USP/IQSC. Tese (livre docência), 152p., 1999. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

RICCA, G. et al. Structural investigations of humic acid from leonardite by spectroscopic methods and thermal analysis. **Geoderma**, Amsterdam, v.57, p. 263-274, 1993.

RICE, J. A.; MACCARTHY, P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. **Organic Geochemistry**, Oxford, v.17, p.635-648, 1991.

RIFALDI, R.; SCHNITZER, M. Electron spin resonance spectrometry of humic substances. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 36, p.301-305, 1972.

RODRIGUES, T.E. et al;. Solos da rodovia PA-70, trecho Belém-Brasília Marabá. Belém, IPEAN, 1974. 60:1-192. (IPEAN- Boletim Técnico, 60).

ROSSEL, R. A. et al. Humic acids properties of an Argiudoll soil under two tillage systems. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 81/82, p. 391-400, 1989.

RUELLAN, A. A pedologia e desenvolvimento: a ciência do solo ao serviço do desenvolvimento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 21, 1988, Campinas. A responsabilidade social da ciência do solo. Campinas: SBCS, 1988. p.69-74.;

FREITAS, S. S. (Coord.). **A responsabilidade social da ciência do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1988. p. 69-74.

RUSSEL, J. D. Infrared methods. In: Wilson, M. J. (Ed). **A handbook of determinative methods in clay mineralogy**. London: Blackie & Sons, 1987. p.133-173.

SAAB, S.C. Caracterização da matéria orgânica em gleissolos por espectroscopias de EPR, RMN, IV e UV-Visível. São Carlos: USP, 1999. 11p. Tese (doutorado em Ciências-Química analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.

SANTA-ISABEL, L. M. **Caracterização e algumas relações pedogenéticas da matéria orgânica de uma topossequência de solos em região de clima semi-árido de Itaberaba-BA**. 1988. f. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

SCHMIDT, M.W. J. et al. Charred organic carbon in German chernozemic soils. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 50, p.351-365, 1999.

SCHMIDT, M. W. I.; NOACK, A.G. Black carbon in soils and sediments: analysis, distribution, implications, and current challenges (review). **Global Biogeochemical Cycles**, v. 14, p.77-793, 2000.

SCHMIDT, M.W.I. et al. Comparative analysis of black carbon in soil. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 15, p. 163-167, 2001.

SCHNITZER, M. & LEVESQUE, M. Electron spin resonance as a guide to the degree of humification of peats. **Soil Sci.**, 127(3):140-145, 1979.

SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2. ed. Madison: American Society of Agronomy: Soil Science Society of America, 1982. p.581-594. (Agronomy, 9). Part 2: Chemical and microbiological properties.

SCHNITZER, M.; GUPTA, U.C. Determination of acidity in soil organic matter. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 27, p. 274-277, 1965.

SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Humic substances in the environment**. New York: Marcel Decker, 1972.

SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Soil organic matter**. New York: Elsevier, 1978. 319 p.

SCHNITZER, M.; LEVESQUE, M. Electron spin resonance as a guide to the degree of humification of peats. **Soil Science**, Baltimore, v.127, n. 3, p.140-145, 1979.

SCHNITZER, M.; SHEARER, D. A.; WRIGHT, J. R. A study in the infrared of high-molecular weight organic matter extracted by various reagents from a podzolic B horizon. In: s.l., 1958.

SCHÖNING, I.; KÖGEL-KNABNER, I. Organic matter composition in particle size fractions of soils under beech forest. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 25.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 9.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 8.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 4., 2002, Rio de Janeiro. **Fertbio 2002**. [S. I.]: Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo: UFRRJ - Departamento de Solos: Embrapa Agrobiologia: Embrapa Solos, 2002. CD ROM.

SCHULTEN, H. R., SORGE, C., SCHNITZER, M. Structural studies on soil nitrogen by Carie-point pyrolysis - gas chromatography/mass spectrometry with nitrogen-selective detection. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 20, p.174-184, 1995.

SEILER, W.; CRUTZEN, P.J. Estimates of gross and net fluxes of carbon between the biosphere and the atmosphere from biomass burning. **Climatic Change**, Dordrecht, v. 2, p. 207-247, 1980.

SENESE, N. et al. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescent spectroscopy. **Soil Science**, Baltimore, v. 152, p. 259-271, 1991.

SENESE, N. et al. Fractal dimension of humic acids in aqueous suspension as a function of pH and time. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 60, p.1773-1778, 1996.

SENESE, N. **Fluorescence spectroscopy applied to the study of humic substances from soil and soil related systems**: a review. Preprint extended abstract. Division of environmental Chemistry. American Chemical Society, 1990a. p. 79-82.

SENESE, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interaction with metal ions and organic chemicals, Parte I. The electron spin resonance approach. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 232, p. 51-75, 1990b.

SENESE, N.; STEELINK, C. Application of ESR spectroscopy to the study of humic substances. In: In: HAYES, M. H. B. et al. (Ed.). **Humic substances II. In search for the structure**. Chichester: John Wiley, 1989. p. 373-408.

SENESE, N.; D'ORAZIO, V.; RICCA, G. Humic acids in the first generation of EUROSOILS. **Geoderma**, Amsterdam, v.116, n.3/4, p. 325-344, 2003.

SENESE, N.; SPOSITO, G.; MARTIN, J. P. Copper (II) e Iron (III) complexation by humic acid-like polymers (melanins) from soil fungi. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 62, p. 241-252, 1987.

SERTSU, S.M.; SANCHEZ, P.A. Effects of heating on some changes in soil properties in relation to an Ethiopian land management practice. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 42, p. 940-944, 1978.

SHIMADZU, Thermogravimetric analyser software T50WA: User guide. SHIMADZU, 1989.

SHIROYA R.; KUMADA, K. Elementary composition of humic acid. Studies on the nature and chemical properties of humic acid (Part 2). **Journal of Science Soil Manure**, Tokyo, v. 44, p. 121-125, 1973.

SHNEOUR, E.A. Oxidation of graphitic carbon in certain soils. **Science**. Washington, D.C., v. 151, p. 991-992, 1966.

SHURYGINA, E. A. et al. Differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetry (TG) of soil humic substances. **Geoderma**, Amsterdam, v. 6, p.169-177, 1971.

SILVA, J.M.L. da. Caracterização e classificação de solos do terciário do nordeste do Estado do Pará. UFRRJ, 1989. 190p. (tese de mestrado).

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2000. 460 p.

SINGER, L. S. Synthetic ruby as a secondary standard for the measurement of intensities in Electron Paramagnetic Resonance. **Journal of Applied Physics**, v. 30, p. 1463-1464, 1959.

SKJEMSTAD, J. O. et al. Characterization of soil organic matter by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. In: CADISCH, G.; GILLER, K.E. (Ed.). **Driven by nature**: plant litter quality and decomposition. London: CAB International, 1997. P. 253-271.

SKJEMSTAD, J. O.; TAYLOR, J. A.; SMERNIK, R. J. Estimation of charcoal (char) in soil. **Communications in Soil Science Society of America**, New York, v. 66, p. 2283-2298, 1999.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. **Princípios de análise instrumental**. Porto Alegre: ARTMED, 2002, 836 p.

SMERNIK, L.S.; OADES, J.M. The use of spin counting for determining quantitation in solid state ^{13}C NMR spectra of natural organic matter. 1. Model systems and the effects of paramagnetic impurities. **Geoderma**, Amsterdam, v. 96, p. 1001-109, 2000.

SMERNIK, R. J.; OADES, J.M. Effects of added paramagnetic ions on the ^{13}C CP/MAS NMR spectra of soils. **Geoderma**, Amsterdam, v. 89, p. 219-248, 1999.

SMERNIK, R. J.; SKJEMSTAD, J. O.; OADES, J.M. Virtual fractionation of charcoal from soil organic matter using solid state ^{13}C NMR spectral editing. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, Vic., v. 38, p. 665-683, 2000.

SMITH, N. J. H. Anthrosols and human carrying capacity in Amazonia. **Annals of The Association of American Geographers**, Washington, D.C., v. 70, p. 553-566, 1980.

SOMBROEK, W. G. **Amazon soils**. a reconnaissance of the soils of the Brazilian Amazon region. Wageningen: Centre for Agricultural Publication and Documentation, 1966. 292 p. (Agricultural Research Reports, 672).

SOUZA, L.F. et al. Relação entre a fertilidade e as substâncias húmicas numa Terra Preta da Amazônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Botucatu: UNESP: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. CD-ROM

SPACCINI, R. et al. Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 34, p. 1839-1851, 2002.

SPARK, K. M.; SWIFT, R. S. Investigation of some of the parameters affecting the fluorescence spectra of humic substances. In: SENESI, N.; MIANO, T. M. (Ed.). **Humic substances in the global environment and implications of human health**: proceedings of

the 6th International Meeting of the International Humic Substances Society, Monopoli (Bari), Italy, September 20-25, 1992. Amsterdam: Elsevier, 1994. p . 153-160.

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford Academic Press, 1989. 227 p

SPOSITO, G.; HOLTZCLAW, K. M.; BAHAM, J. Analytical properties of the soluble, metal-complexing fractions in sludge-soil mixture: II comparative structural chemistry of fulvic acid. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 40, p.691-697, 1976.

SPOSITO, G.; MARTIN-NETO, L.; YANG, A. Atrazine complexation by soil humic acids. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 25, p. 1203-1209, 1996.

SPURR, H.S.; BARNES, B.V. **Forest ecology**. 2.ed. New York: The Ronald Press Company, 1973. 347 p.

STEINER, C. et al.. Charcoal as soil conditioner and nutrient retainer-studies in the humid tropic, Amazônia, Brazil. In: Energy & Agricultural Carbon Utilization. Sustainable Alternatives to Sequestration. Disponível em: <<http://www.georgiainp.org/carbon/abstracts/Session2A.pdf>> . Acesso em: 15 set. 2004.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2.ed. New York: John Wiley, 1994. 496 p.

STEVENSON, F. J.; GOH, K. M. Infrared spectra of humic acids and related substances. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Oxford, v. 35, p. 471-483, 1971.

STEVENSON, F.J., SCHNITZER, M. Transmission electron microscopy of extracted fulvic and humic acids. **Soil Science**, Baltimore, v.133, p.179-185, 1982.

STUERMER, D. H.; PETERS, K. E.; KAPLAN, I. R. Source indicators of humic substances and protokerogen: stable isotope ratios, elemental compositions and electron-spin resonance spectra. **Geochimica et cosmochimica Acta**, Oxford, v. 42, p. 989-997, 1978.

SWIFT, R. S. Macromolecular properties of soil humic substances: fact, fiction and opinion. **Soil Science**, Baltimore, v. 164, p. 790-802, 1999.

SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D. L.; PAGE, A. L.; HELMKE, P. A.; LOEPPERT, R. H.; SOLTANPOUR, P. N.; TABATABAI, M. A.; JOHNSTON, C. T.; SUMNER, M. E. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America: American Society of Agronomy, 1996. p. 1011-1020. (Soil Science Society of America Book Series, 5). Part 3. Chemical methods.

TAM, S. C.; SPOSITO, G. Fluorescence spectroscopy of aqueous pine litter extracts: effects of humification and aluminium complexation. **The Journal of Soil Science**, Oxford, v. 44, p. 513-524, 1993.

TAN, K. H. **Principals of soil chemistry**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1992.

TAN, K. H. **Soil sampling, preparation, and analysis**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p. 278-289.

TAN, K.H.; HILMMELSBACH, D. S., LOBARTINI, J. C. The significance of solid-state ^{13}C NMR spectroscopy of whole soil in the characterization of humic matter. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 23, p.1513-1532, 1992.

THENG, B.K.G. & POSNER, A.M. Nature of the carbonyl groups in soil humic acid. **Soil Science**, Baltimore, v.104, n.3, p.191-201, 1967

TOLEDO, A. P. P. **Estudo das interações de íons cúpricos com os ácidos húmicos e fúlvicos**. 1976. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo.

TORRENTES, A; JAYASUNDERA, S. & SCHMIDT, W.J. Influence of the polarity of organic matter on the sorption of acetamide pesticides. **J. Agric. Food Chem** 45:3320-3325, 1997.

TRISTÃO, R. A. Classificação ecológica de uma área do estado de Minas Gerais. Um método biopedológico. (Tese de Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, 1997.

TRYON, E.H. Effects of charcoal on certain physical, chemical, and biological properties of forest soils. **Ecological Monographs**, Lawrence, Kan, v. 18, p. 81-115, 1948.

USSIRI, D.A.N.; JOHNSON, C. E. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ^{13}C NMR spectroscopy and chemical methods. **Geoderma**, Amsterdam, v. 111, p.123-149, 2003.

Van KREVELEN, D. W. Graphical-statistical method for the study of structure and reaction process of coal. **Fuel**, Oxford, v.29, p.269-284, 1950.

VIEIRA, L.S. & SANTOS, P.C.T. Amazônia: seus solos e outros recursos naturais. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1987, 416p.

VINKLER, P.; LAKATOS, B.; MEISEL, J. Infrared spectroscopic investigations of humic substances and their metal complexes. **Geoderma**, Amsterdam, v. 15, p. 231-242, 1976.

VOLKOFF, B. et al. Natureza do húmus nos latossolos distróficos da Bahia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.2, p.59-63, 1978.

VOLKOFF, B.; CERRI, C. C. L'humus des sols du Brésil: nature et relation avec l'environnement. **Cahiers ORSTOM**, Série Pédologie, Paris, v. 24, n.2, p. 83-95, 1988.

VOLKOFF, B.; ANDRADE, M. J. Caracterização da matéria orgânica de alguns solos ferralíticos do Estado da Bahia: aplicação de um método de fracionamento das substâncias

húmicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 15., 1976, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1976. p.116-126.

VOLKOFF, B.; CERRI, C. C.; MELFI, A.J. Húmus e mineralogia dos horizontes superficiais de três solos de campos de altitude dos Estados de Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 8, p. 277-283, 1984.

VOLKOFF, B.; CERRI, C.C. Húmus em solos da floresta amazônica na região do rio Madeira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 5, p. 15-21, 1981.

VOLKOFF, B. et al. Natureza do húmus nos latossolos distróficos da Bahia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 2, p. 59-63, 1978.

WARDLE, D. A.; ZACKRISSON, O.; NILSSON, M.C. The charcoal effect in Boreal forests: mechanisms and ecological consequences. **Oecologia**, Berlin, v. 115, p. 419-426, 1998.

WERTZ, J.E.; BOLTON, J. R. **Electron spin resonance**. New York: McGraw Hill, 1972.

WHITE, J. L.; ROTH, C. B. Infrared spectrometry. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2.ed. Madison: America Society of Agronomy: Soil Science Society of America, 1986. v.1, p. 291-330. (Agronomy, 9) Part1: Physical and mineralogical methods.

WILSON, M. A. **NMR techniques and applications in geochemistry and soil chemistry**. Oxford: Pergamon Press, 1987. 353 p.

WOODS, W. I.; McCANN, J. M. The anthropogenic origin and persistence of Amazonian Dark Earths. **The Yearbook of the Conference of Latin American Geographers**, Washington, D.C., v. 25, p. 7-14, 1999a.

WOODS, W. I.; MEYER, D. W.; McCANN, J. M. Black earth analysis: a call for cooperation. In: CLAG 2000 CONFERENCE, 2000, Austin, Texas. **Proceedings...**

YOEMANS, J.C. & BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. Commun. **Soil Sci. Plant Anal.** 19(13):1467-1476, 1988.

YONEBAYASHI, K.; HATTORI, T. Chemical and biological studies on environmental humic acids. I. Composition of elemental and Functional Groups of Humic Acids. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 34, n. 4, p. 571-584, 1988.

ZECH, W. et al. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, Amsterdam, v. 79, p.117-161, 1997.

ZECH, W.; GLASER, B. History and origin of Terra Preta soils and future perspectives. In: TERRA PRETA SYMPOSIUM. CONFERENCE OF THE LATIN AMERICANIST GEOGRAPHERS, 2001, Benicassin, Spain. **Abstracts...** 2001.

ZECH, W; HAUMAIER, L.; HEMPFLING, R. Ecological aspects of soil organic matter in tropical land use. In: McCARTHY, P. et al. (Ed.). **Humic substances in soil and crop sciences**: selected Readings. Madison: ASA: SSSA, 1990. p.187-201.

ZECH, W. et al. Organic matter dynamics in forest soils of temperate and tropical ecosystems. In: PICCOLO, A. (Ed.). **Humic substances in terrestrial ecosystems**. Amsterdam: Elsevier, 1996. p.101-170.

ZSOLNEY, A. et al. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, Oxford, v. 38, p. 45-50, 1999.

9. ANEXOS

Espectros de Ressonância Magnética Nuclear com Polarização Cruzada e Rotação no Ângulo Mágico com Amplitude Variável (RMN ^{13}C -VACP/MAS) dos ácidos húmicos estudados obtidos no laboratório da Embrapa Instrumentação Agropecuária nas condições experimentais descritas no capítulo material e métodos, ficha de descrição de perfis modais representativos dos grupos SAF, SAC e SNAF e errata.