**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO
CENTRO DE RECURSOS HÍDRICOS E ECOLOGIA APLICADA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA ENGENHARIA
AMBIENTAL**

Orlando Paulino da Silva

**O Seqüestro de Carbono e as Substâncias Húmicas na Área de Influência
da BR-163–Cuiabá-Santarém**

**São Carlos - SP
2008**

Orlando Paulino da Silva

**O Seqüestro de Carbono e as Substâncias Húmicas na Área de Influência
da BR-163–Cuiabá-Santarém**

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Eny Maria Vieira

**São Carlos - SP
2008**

Dedico este trabalho a toda minha família, minha
mãe Maria, ao meu pai Francisco (*in memoriam*),
aos meus irmãos Mocinha e Auricélio,
pela educação que me ofereceram,
bem como valores transmitidos.
Em muitíssimo especial à Ani,
o meu porto seguro,
pelo carinho e
dedicação.

AGRADECIMENTO E RECONHECIMENTO

Às Faculdades Integradas do Tapajós (FIT), em Santarém-PA, exemplo de instituição que investe em pesquisa e produção científica para o progresso e desenvolvimento da Amazônia, fundamental no apoio irrestrito para a edificação deste trabalho.

À FIDESA - Fundação de Desenvolvimento da Amazônia, em Belém-PA, reconhecido órgão de fomento e apoio à pesquisa em toda a região Amazônica, pela oportunidade de execução do trabalho em parceria.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde, capacitação e força.

À Prof. Dra. Eny Maria Vieira, pela orientação virtuosa, confiança, integridade e competência na realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental (PPG-SEA) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Universidade de São Paulo (USP).

Ao Prof. MSc. Helvio Moreira Arruda, Diretor das Faculdades Integradas do Tapajós (FIT), exemplo de pessoa com visão de presente e futuro na construção do conhecimento.

Ao Prof. Dr. Valdir Schalch, então Coordenador do PPG-SEA quando da minha chegada em São Carlos, pela recepção, acolhida e exemplo de personalidade que inspira o alcance de metas.

Ao Prof. Dr. Silvio Crestana, Presidente da Embrapa, pela amizade, parceria e socialização de auto-estima, importante durante todo o meu doutorado.

Ao Dr. Roberto Sena Rocha, Diretor do Instituto Leônidas e Maria Deane, ILMD-Fiocruz Amazônia, no comando construtivo, pedagógico e em parceria, pela confiança em mim depositada.

À Dra. Maria Luiza Garnelo, Coordenadora de Ensino e de Pós-Graduação do Instituto Leônidas e Maria Deane, ILMD-Fiocruz Amazônia, pelo apoio e exemplo de motivação à pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marcelo Pereira, atual Coordenador da Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, pela amizade e cooperação.

À Dra. Débora Milori, Pesquisadora da Embrapa, pelos valiosos subsídios junto à metodologia e análises.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, Gerência Executiva de Santarém-PA.

Ao Grupo Gestor da Floresta Nacional do Tapajós – Flona-Tapajós.

À Laura Daniel, Ycaro, Salete, Memé, Jesem, Marcílio, Maquiné, Maurício, Elen, Rafael e Ani pela amizade e apoio em todos os momentos de trabalho.

Ao Sérgio, Célia, Serginho, Sebastian e Julieta, sempre prontos a somar tanto no convívio acadêmico como social.

À Vanessa, secretária do nosso grupo de pesquisa Química Analítica Aplicada a Medicamentos e a Ecossistemas Aquáticos e Terrestres do Instituto de Química de São Carlos, IQSC-USP, bem como aos colegas do Grupo, Eliane, Yandra, Daniel, Ricardo Cabelo e Ricardo Reis.

Aos funcionários do IQSC Mauro e Moisés, pela amizade e disposição quando solicitados.

À Diene Rodrigues e Márcia Flores, pela amizade, contribuições diversas, cooperação na parte de campo e nas chuvas que tomamos.

Aos amigos e parceiros de república Eurico, Haruo, Morte, Evandro e Lafond, pela motivação e alegria.

À Helena, bibliotecária da EESC, pela contribuição na correção das referências.

Ao Nelson, secretário do PPG-SEA, pela cooperação e agilidade no encaminhamento de todos os assuntos acadêmicos junto a EESC.

Agradeço a todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para a concretização deste trabalho.

Perguntaram ao Dalai Lama: “O que mais te surpreende na humanidade?”

E ele respondeu: “Os homens... porque perdem a saúde para juntar dinheiro, depois perdem dinheiro para recuperar a saúde.

E por pensarem ansiosamente no futuro, esquecem do presente de tal forma que acabam por não viver nem o presente nem o futuro.

E vivem como se nunca fossem morrer... e morrem como se nunca tivessem vivido.”

DÚVIDAS EM TEMPOS DE QUIOTO

Os enigmas na vida dos homens ecoam

Estão por toda parte

Viver com alegria, harmonia é sempre uma eterna arte.

Praticidade da incoerência, sentido de momento, ausência de plano

É danoso, problemático, profundo e ledó engano

O que se busca então? O que se quer então?

A ganância, incoerência, recrudescimento de alguns,

Consumo desenfreado...

Prosperam e afloram

As indagações ressoam

Para onde estamos indo?

A pobreza é ampla e perversa.

A fome segrega, aniquila, trás consigo a morte

Onde está a felicidade?

Alguém responde de dentro da nação,

E responde, rimando com emoção:

-Na natureza, beleza, igualdade de capital, social, racial

-Isto sim, é caminho racional

Portanto, devemos viver

De que forma? Máxima indagação ecoando:

-Galgando, cantando, sonhando, legislando, fiscalizando e...

Acima de tudo: AMANDO.

E o ambiente, a ganância, o futuro, a vida? ahhh... As eternas dúvidas...

Autor: OP

“Poema feito durante a Conferência de Joannesburgo, África do Sul (a Rio+10), de 26 de agosto a 04 de setembro de 2002, onde se pretendia, na época, ratificar e colocar em funcionamento o Protocolo de Quioto com a adesão de todos os países...”.

De: OP

RESUMO

SILVA, O. P. **O Seqüestro de Carbono e as Substâncias Húmicas na Área de Influência da BR-163–Cuiabá-Santarém**. 2008. 142p. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

Compreender os ciclos de nutrientes e a dinâmica da matéria orgânica no ecossistema da Amazônia é essencial para o domínio do manejo eficiente da floresta e do solo. O desaparecimento de florestas tropicais, acompanhada de acelerados processos de perda de solo e de matéria orgânica, pelo desmatamento, queimadas e avanço da fronteira agrícola despertam preocupações. As características das substâncias húmicas remetem aos processos de gênese da matéria orgânica, à capacidade de sustentabilidade para os usos múltiplos em cultivos e aparece como indicador da qualidade do solo. O objetivo deste trabalho foi relacionar as características das substâncias húmicas do solo com o seqüestro de carbono em sítios de floresta em clímax, em área moderadamente e intensamente antropizada, ambientes de influência da Rodovia BR-163-Cuiabá-Santarém, região que experimenta um incremento das ações antrópicas em função do anúncio da pavimentação desta rodovia. Foram determinadas as características das substâncias húmicas pelas técnicas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise elementar, espectroscopia de fluorescência de luz no UV/Visível, espectroscopia de absorção de Luz no UV/Visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica nuclear (EPR). Os resultados de infravermelho das substâncias húmicas do solo do sítio de floresta em clímax, indicam alta complexidade no arranjo conformacional, denotando-se a presença de elevada humificação do material orgânico, o que é corroborado pelos resultados de fluorescência, onde as características das substâncias húmicas deste ambiente apresentaram maior policondensação e grau de humificação. Utilizando-se a espectroscopia de absorção de luz no UV/Visível, constatou-se que a razão E_4/E_6 é de 2,27 para solo do ambiente de floresta em clímax. Esse é o menor valor das três frações, o que demonstra que as substâncias húmicas deste sítio estão em estágio elevado de policondensação e apresentam maior quantidade de estruturas aromáticas. Os resultados de RMN indicam que a maior percentagem de carbono aromático está exatamente nas substâncias húmicas do solo do sítio de floresta em clímax. Os resultados de EPR demonstram também que as substâncias húmicas dos solos dos sítios em clímax apresentam maiores números de radicais livres do tipo semiquinona (7,52) dos três ambientes estudados. As substâncias húmicas provenientes dos solos dos sítios com intensa atividade antrópica indicam a presença de menor grau de humificação, pelo número de radicais livres do tipo semiquinona (4,68), menor valor dos três ambientes estudados. Desta forma, as características das substâncias húmicas do solo de ambientes em clímax, pela elevada aromaticidade, policondensação e grau de humificação, proporcionam aumento da biodiversidade, incremento da produtividade, melhoria da estrutura deste solo, contribuindo junto à formação de fração húmica não lábil, bem como maior estabilidade dos complexos organominerais, condições favoráveis para o seqüestro de carbono e mitigação do aumento do efeito estufa.

Palavras-chave: substâncias húmicas, carbono orgânico, seqüestro de carbono.

ABSTRACT

SILVA, O. P. **Carbon Sequestration and Humic Substances in BR-163 Influence's Area–Cuiabá-Santarém**. 2008. 142p. Thesis (Doctorate). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

Understanding the cycles of nutrients and organic matter dynamics in Amazon's ecosystem is essential for the domain of efficient management of the forest and soil. The disappearance of tropical forests, accompanied by processes of accelerated loss of soil and organic matter, for the deforestation, forest fires and advancement of agricultural frontier arouse concerns. The characteristics of humic substances refer processes of genesis organic matter, capacity of sustainability for multiple uses in cultures appears as indicator the quality of the organic matter. The objective of this work was to relate the characteristics of humics substances in the soil, with the carbon sequestration in sites of forest in climax, in moderately and intensely area in human's use, environments in Influence of Highway BR-163-Cuiaba-Santarem, a region experiencing an increase in action of the human being according to the announcement of paving the road. There were certain characteristics of humic substances by the Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, elemental analysis, ultraviolet-visible fluorescence spectroscopy, ultraviolet-visible absorption spectroscopy, nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and electronic paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. The results of infrared of humic substances in soil site of a climax forest, show high complexity in conformal arrangement, showing up the presence of high humification of organic material, which is corroborated by the results of fluorescence, where the characteristics of humic substances this environment polycondensation and had greater degree of humification. Using ultraviolet-visible absorption spectroscopy, it was found that the reason E_4/E_6 is 2.27 for the environment of forest in climax. This is the lowest of the three fractions, which shows that the humic substances from this site are in high stage of polycondensation and the greatest amount of aromatic structures. The results of NMR indicate that the highest percentage of carbon aromatic is exactly humic substances in soil from site of forest in climax. The results of EPR also demonstrate that the soil humic substances in climax's sites show the highest numbers of free radicals semiquinona's type (7.52) in the three kinds of environments studied. The humic substances from the soil of sites with intense human activity indicate the lesser presence of degree humification, for the number of free radicals semiquinona's type (4.68), lower value of the three environments studied. Thus, the characteristics of humic substances in soil from environments in the climax for the high aromaticity, polycondensation and degree of humification, provide an increase of biodiversity, increasing productivity, improving the structure of the soil, contributing next to the formation of humic fraction not labile, greater stability of organic minerals complexes, favourable conditions for carbon sequestration and mitigation of increased greenhouse effect.

Keywords: humic substances, organic carbon, carbon sequestration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa com a Área de Influência da Rodovia BR-163 (MI – Ministério da Integração Nacional, SIPAM – Sistema de Proteção da Amazônia, 2004)	9
Figura 2. Mecanismos com as principais vias propostas para a formação das substâncias húmicas pela decomposição de resíduos animais/vegetais no solo. (STEVENSON, 1994; SANCHES, 2005)	16
Figura 3. Estrutura proposta para os ácidos húmicos (SCHULTEN & SCHINITZER, 1993)	17
Figura 4. Estrutura proposta para os ácidos fúlvicos (SCHULTEN & SCHINITZER, 1993)	18
Figura 5. Modelos conceituais propostos para a teoria macromolecular. a) moléculas das substâncias húmicas aleatoriamente enoveladas (SWIFT, 1989). b) ácido húmico proposto por SCHULTEN & SCHNITZER (1995)	19
Figura 6. Modelo estrutural das substâncias húmicas proposto por SIMPSON <i>et al.</i> , 2002	21
Figura 7. Modelos estruturais de isômeros para um dado ácido húmico de solo em 3D propostos por DIALLO <i>et al.</i> (2003). Átomos de carbono estão em preto, átomos de oxigênio em vermelho, átomos de nitrogênio em azul, átomos de enxofre em amarelo e os átomos restantes são de hidrogênio	22

Figura 8. Esquema simplificado apresentando o funcionamento do fenômeno do efeito estufa na atmosfera da Terra (EFEITO ESTUFA, 2008).	29
Figura 9. Diagrama do Mecanismo de Seqüestro de Carbono Orgânico (CO) no Solo (Adaptado de LAL & KIMBLE, 1997)	35
Figura 10. Esquema de estabilização do radical semiquinona (SCHINITZER, 1991).	57
Figura 11. Clima da sub-área calha do Amazonas (Santarém), de acordo com o IBGE, 2004	63
Figura 12. Representação da vista superior de localização dos pontos de coleta em cada parcela dos ambientes: F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)	68
Figura 13. Mesorregiões da Área de Influência da Rodovia BR-163, com a sub-área calha do Amazonas (Santarém) em amarelo (GTI–Grupo de Trabalho Interministerial da BR-163).	70
Figura 14. Diagrama Simplificado do procedimento de Extração de Substâncias Húmicas sugerido pela IHSS (Adaptado de STEVENSON, 1994)	72
Figura 15. Espectros de IV para F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)	81
Figura 16. Espectro de fluorescência para o ambiente intensamente antropizado, segundo a metodologia de ZSOLNAY <i>et al.</i> (1999).	94

Figura 17. Espectro de fluorescência para o ambiente moderadamente antropizado, segundo a metodologia de ZSOLNAY <i>et al.</i> (1999).	94
Figura 18. Espectro de fluorescência para o ambiente de floresta em clímax, segundo a metodologia de ZSOLNAY <i>et al.</i> (1999).	95
Figura 19. Espectro de fluorescência para o ambiente intensamente antropizado, segundo a metodologia de MILORI <i>et al.</i> (2002).	95
Figura 20. Espectro de fluorescência para o ambiente moderadamente antropizado, segundo a metodologia de MILORI <i>et al.</i> (2002).	96
Figura 21. Espectro de fluorescência para o ambiente de floresta em clímax, segundo a metodologia de MILORI <i>et al.</i> (2002).	96
Figura 22. Espectro de fluorescência para o ambiente moderadamente antropizado, segundo a metodologia de KALBITZ <i>et al.</i> (1999).	97
Figura 23. Espectro de fluorescência para o ambiente de floresta em clímax, segundo a metodologia de KALBITZ <i>et al.</i> (1999).	97
Figura 24. Espectros de RMN CPMAS-TOSS para as amostras das substâncias húmicas, contendo as Fases: F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais grupos funcionais detectados por RMN ^{13}C para as substâncias húmicas (MALCOLM, 1990; SENESI & MIANO, 1992; LU <i>et al.</i> , 2000; CAMPOS, 2004; SANCHES, 2005)	54
Tabela 2. Metodologias utilizadas aplicadas à técnica de fluorescência de Luz no UV/Visível	77
Tabela 3. Principais bandas observadas na região do infravermelho nas substâncias húmicas e suas possíveis atribuições (RICCA <i>et al.</i> , 2000)	82
Tabela 4. Composição elementar das frações com as razões atômicas dos elementos para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)	85
Tabela 5. Índice de humificação de acordo com a metodologia proposta por ZSOLNAY <i>et al.</i> (1999) para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)	89
Tabela 6. Índice de humificação de acordo com a metodologia proposta por MILORI <i>et al.</i> (2002) para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)	91
Tabela 7. Índice de humificação de acordo com a metodologia proposta por KALBITZ <i>et al.</i> (1999) para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)	92

Tabela 8. Valores das absorbâncias em 465 e 665 nm e valores da razão E_4/E_6 para as Fases das substâncias húmicas, sendo as Frações: F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

99

Tabela 9. Resultados das percentagens em relação às várias regiões obtidas por integração dos espectros de RMN ^{13}C CPMAS-TOSS para as Frações dos ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

103

Tabela 10. Resultados de radicais livres do tipo semiquinona e largura de linha de Gauss fornecidos por EPR para as frações de substâncias húmicas do solo dos ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF - Ácidos Fúlvicos

AH - Ácidos Húmicos

AH-metal – Interação Ácidos Húmicos e Metal

BR-163 – Rodovia BR-163-Cuiabá-Santarém

CH₄ - metano

CO – Carbono Orgânico

CO₂ – Gás carbônico (dióxido de carbono)

Da - Dalton (Dalton: unidade de massa atômica, igual a $1,66 \times 10^{-24}$ gramas)

DNIT – Departamento Nacional de Infra-estrutura e Transportes

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPR – Ressonância Paramagnética Eletrônica

EV- energia vibracional

Fase 2 - relativo à fração 2 de substâncias húmicas do solo, ambiente intensamente antropizado, denominado: “F2 (intensamente antropizado)”

Fase 3 - relativo à fração 3 de substâncias húmicas do solo, ambiente moderadamente antropizado, denominado: “F3 (moderadamente antropizado)”

Fase 4 - relativo à fração 4 de substâncias húmicas solo, ambiente de floresta em clímax, denominado: “F4 (floresta em clímax)”

Flona-Tapajós – Floresta Nacional do Tapajós

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

G-8–Grupo dos sete países mais industrializados (Estados Unidos, Japão, França, Reino Unido, Alemanha, Itália, Canadá, mais a Rússia)

GS - estado fundamental

GTI BR-163–Grupo de Trabalho Interministerial para Elaboração do Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Área de Influência da Rodovia BR-163-Cuiabá-Santarém

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IHSS - *International Humic Substances Society* - Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas

IV – Infravermelho, relacionado à espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

IPAM – Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia

IPCC–*Intergovernmental Panel on Climate Change* - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas

Metal-SH – Interação Metal Substâncias Húmicas

MI – Ministério da Integração Nacional

MO – Matéria Orgânica

N₂ – gás nitrogênio

N₂O – óxido nitroso

O₂ - gás oxigênio

ONGs – Organizações Não Governamentais

ONU – Organização das Nações Unidas

PAS – Plano Amazônia Sustentável

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SH - Substâncias Húmicas

SIPAM – Sistema de Proteção da Amazônia

UNFCCC-*United Nations Framework Convention on Climate Change* – Convenção Quadro das Nações Unidas sobre Mudança Climática

UV/Visível – Ultravioleta e Visível

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 A dinâmica Antrópica e o Carbono no Solo da Amazônia	4
2.2 Área de Influência da Rodovia BR-163-Cuiabá-Santarém	5
2.3 Matéria Orgânica do Solo e a Região Amazônica	10
2.4 Matéria Orgânica do Solo e as Substâncias Húmicas	12
2.4.1 Classificação das Substâncias Húmicas	14
2.4.2 Mecanismos Propostos para a Formação das Substâncias Húmicas	15
2.4.3 Estrutura das Substâncias Húmicas	16
2.4.4 Substâncias Húmicas e as Interações Hidrofóbicas	22
2.4.5 Interação entre Substâncias Húmicas e Metais	25
2.4.6 Importância das Substâncias Húmicas no Ambiente	26
2.5 As Mudanças Climáticas	28
2.5.1 Efeito Estufa e o Protocolo de Quioto	28
2.5.2 Os Efeitos do Aquecimento Global	32

2.5.3 Emissões de Gás Carbônico da Amazônia para a Atmosfera	33
2.5.4 Seqüestro de Carbono no Solo como contribuição à Redução do Efeito Estufa	34
2.6 Principais Métodos Utilizados para a Extração e Fracionamento das Substâncias Húmicas	36
2.7 Caracterização das Substâncias Húmicas	38
2.7.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	39
2.7.2 Análise Elementar	41
2.7.3 Espectroscopia de Fluorescência de Luz no UV/Visível	42
2.7.4 Espectroscopia de Absorção de Luz no UV/Visível	45
2.7.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	47
2.7.6 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica Nuclear (EPR)	54
3. OBJETIVOS	58
4. MATERIAIS E MÉTODOS	58
4.1 Caracterização da Área de Estudo	58
4.1.1 Características do Solo	61
4.1.2 Clima	62
4.1.3 Condições Gerais de Temperatura e Umidade do Ar	64
4.1.4 Pluviosidade	64
4.1.5 Vegetação	65
4.2 Etapa de Campo do Estudo	66
4.2.1 Contexto da Realização das Coletas de Solo e Ambientes encontrados	66
4.2.2 Coleta de Amostras de Solo	67

4.3 Preparo das Amostras para Extração de Substâncias Húmicas	71
4.4 Extração, Fracionamento e Purificação das Substâncias Húmicas	71
4.5 Caracterização das Amostras de Ácidos Húmicos	73
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
5.1 Caracterização das Substâncias Húmicas a partir das Técnicas Utilizadas	80
5.1.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	80
5.1.2 Análise Elementar	84
5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência de Luz no UV/Visível	87
5.1.4 Espectroscopia de Absorção de Luz no UV/Visível	98
5.1.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	101
5.1.6 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica Nuclear (EPR)	105
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	113
REFERÊNCIAS	114
ANEXOS	132

1. INTRODUÇÃO

A dinâmica ocupacional da Amazônia, a qual vem experimentando um incremento significativo nas últimas décadas, provocou consideráveis mudanças na região. O ciclo de carbono e de nutrientes, bem como o ciclo da água, está sendo alterado dia após dia. Essas alterações ocorrem, em grande parte, pela inserção de práticas de uso da terra como desmatamento, queimadas, avanço da fronteira agrícola, o que compromete o equilíbrio edáfico e promove a perturbação do ponto de vista físico e químico na estrutura do solo e na composição das substâncias húmicas (SH).

O conhecimento das substâncias húmicas começou a despertar o interesse dos pesquisadores brasileiros somente a partir da década de 1970, quando TOLEDO (1985), seguido de outros pesquisadores, passou a investigar a relação substâncias húmicas/fertilidade do solo.

As substâncias húmicas representam parte da matéria orgânica (MO) que, após várias transformações, permanecem no ambiente. Essas substâncias representam 2/3 do carbono orgânico (CO) contido no solo. São constituídas de uma mistura heterogênea, polifuncional, sem características físicas e químicas definidas e em diferentes graus de polidispersão.

Atualmente, o conhecimento das substâncias húmicas, seus componentes, e sua influência na estruturação e fertilidade do solo, bem como a compreensão da atuação dessas substâncias no meio ambiente, tem sido objeto de pesquisa de muitos estudiosos. Sabe-se que esses estudos muito poderão contribuir para a proteção do planeta, por meio de mudanças nas práticas de utilização do solo e, neste trabalho, investiga-se, especificamente,

as substâncias húmicas, e sua capacidade de oferecer indicadores químicos de qualidade edáfica, contribuindo para o seqüestro de carbono.

Resultados de alguns grupos de pesquisa no mundo têm indicado o solo como o terceiro maior reservatório de carbono do planeta, depois do oceânico e de combustíveis fósseis. A prática adequada de utilização do solo, por meio de manejo sustentável, representa uma possibilidade concreta para a atenuação do efeito estufa (XII Encontro Internacional de Substâncias Húmicas, 2004). A importância das substâncias húmicas para a utilização sustentável do solo está associada à questão do seqüestro de carbono orgânico, quando da constatação de interações hidrofóbicas, bem como da estabilidade química intrínseca da matéria orgânica do solo; que por sua vez, está relacionada com o grau de aromaticidade das moléculas constituintes e a sua resistência à decomposição. Observações desses fatores, entre as substâncias húmicas, apresentam-se como as principais causas da bioresistência e o longo período de permanência dessas substâncias no solo.

A diminuição das reservas de carbono orgânico (CO) no solo está diretamente relacionada às práticas agrícolas inadequadas. Tais práticas como o desmatamento e conseqüente queima de biomassa no solo, o manuseio inadequado da fertilidade, a retirada de resíduos vegetais e uso indiscriminado de pesticidas no plantio de lavouras, comprometem o seqüestro de carbono pelo solo.

O seqüestro de carbono pelo solo é favorecido à medida que o mesmo não retorna à atmosfera, já em forma de gás carbônico (CO₂) por meio do processo de mineralização.

A produção de agregados agrominerais, a partir do uso de cobertura vegetal, associada às práticas de culturas rotativas e adubação balanceada para a maximização da produção de biomassa do solo, bem como à manutenção e incremento dos resíduos vegetal no solo, e conseqüente humificação desses resíduos, representam técnicas de comprovada eficácia no aumento do seqüestro de carbono orgânico pelo solo.

Todas as práticas de conservação das florestas, reflorestamento, desenvolvimento de práticas agrícolas e de pastagens sustentáveis, reverterão-se na manutenção das substâncias húmicas no solo e, conseqüentemente, em uma melhor condição física e química do solo. As substâncias húmicas interferem positivamente em importantes processos no ambiente: a retenção de água no solo, a regulação dos processos erosivos, a retenção de calor e conseqüente aceleração do processo de germinação de sementes, a aeração e estruturação edáfica quando combinadas com argilas.

Apesar dos avanços no campo do conhecimento das substâncias húmicas, não existe um consenso quanto à estrutura dessas substâncias. Isto compromete o alcance de um conhecimento mais profundo da dinâmica de atuação das mesmas em ambientes de floresta em clímax e áreas moderada e intensamente antropizadas, como é o caso da área em estudo a BR-163-Cuiabá-Santarém.

Portanto, este trabalho apresenta dados e informações qualitativas e quantitativas que possam contribuir para apoiar políticas de desenvolvimento sustentável e de proteção dos ecossistemas da Amazônia, tendo como foco principal as substâncias húmicas em solos da área anteriormente citada, bem como o seqüestro de carbono orgânico na referida área, com vistas à reversão

do processo de degradação, em busca da melhoria na qualidade de vida regional, e por que não dizer, global.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A dinâmica Antrópica e o Carbono no Solo da Amazônia

A Amazônia possui um papel relevante na manutenção do balanço energético mundial por suportar um gigantesco estoque de carbono distribuído em seus diferentes ecossistemas (FEARNSIDE, 1997; HOUGHTON *et al.*, 2001; NASCIMENTO & LAURENCE, 2002).

A maior área de floresta tropical úmida da Terra é a Amazônia, um bioma que está passando por um processo de substituição por sistemas agrícolas. O incremento da população humana brasileira, associado à forte tendência de concentração de riquezas e a posse da terra em áreas já ocupadas nas outras regiões do Brasil, incentivou a migração para a Amazônia. Este fato somado a outras tensões ecológicas e humanas leva, inexoravelmente, a um conflito fundamental: a incompatibilidade de demandas infinitas com recursos finitos (FEARNSIDE, 1989).

O dióxido de carbono (CO₂) que atualmente é lançado excessivamente para a atmosfera, é resultante da queima de combustíveis fósseis como o gás natural, o carvão mineral e principalmente o petróleo, sendo o setor industrial e de transportes os principais responsáveis por este processo. Além disto, a ação antrópica afeta os reservatórios naturais de carbono e os sumidouros, que são ecossistemas com capacidade de absorver CO₂. (MACALADY, 1998).

No ciclo do carbono terrestre, os solos contêm maior fração de carbono, quando comparados com a vegetação e a atmosfera. Conseqüentemente, os solos são tratados como o maior reservatório e o principal sumidouro de carbono. Este é considerado seqüestrado pelo relativo longo período de tempo que possa residir nos solos e assim ficar impedido de voltar para a atmosfera (SWIFT, 2001).

A floresta amazônica, ambiente natural de estocagem de carbono, tem essa função alterada pela prática do desmatamento, mudança de uso do solo e queimadas, que contribuem para a liberação de CO₂ para a atmosfera e, conseqüentemente, favorece o efeito estufa (MOREIRA & SCHWARTZMAN, 2000).

2.2 Área de Influência da Rodovia BR-163-Cuiabá-Santarém

A Rodovia Cuiabá-Santarém (BR-163) atravessa uma das regiões mais importantes da Amazônia do ponto de vista do potencial econômico, diversidade biológica, riquezas naturais e diversidade étnica e cultural. Essa região possui uma paisagem diversa, formada pelos biomas da Floresta Amazônica e do Cerrado e por áreas de transição. Além disso, possui três imensas bacias hidrográficas (Teles Pires/Tapajós, Xingu e Amazonas) e dezenas de tributários (ARIMA & VERÍSSIMO, 2002).

Da riqueza natural da região dependem, aproximadamente, dois milhões de habitantes, envolvendo diversos grupos sociais e econômicos. Além disso, a Região Centro-Norte do Mato Grosso abriga um dos pólos agrícolas mais produtivos do País, com destaque para a produção de soja (IBGE, 2000).

Um dos maiores obstáculos para o desenvolvimento e melhoria da qualidade de vida da população é o estado precário das rodovias na região. Por essa razão, a pavimentação dessa rodovia tem sido reivindicada pelos segmentos sociais e empresariais que dela necessitam para o escoamento dos seus produtos e para o atendimento às suas demandas básicas (CARTA DE SINOP, 2003).

A percepção das vantagens de escoar a crescente produção agrícola do Norte de Mato Grosso, pelo porto de Santarém-PA, tornou o asfaltamento da BR-163 uma obra estratégica para o desenvolvimento regional e nacional. Estima-se uma expressiva redução nos custos de transporte da safra agrícola por essa via, se comparado às principais rotas atualmente utilizadas, que se destinam aos portos de Paranaguá-PR e Santos-SP. A obra servirá, também, para escoar produtos eletro-eletrônicos da Zona Franca de Manaus-AM, além de carne, madeira e produtos agro-florestais destinados ao mercado do Centro-Sul do País (DNIT, 2002).

A pavimentação da BR-163 recebe o apoio dos movimentos sociais, que têm a expectativa de que a obra dinamize a economia local de municípios com graves problemas sociais como: escassez de emprego, serviços sociais precários e infra-estrutura incipiente. Além disso, esses movimentos sociais, em parceria com organizações não governamentais - ONGs, reivindicam, em caráter prioritário, o combate à violência e à grilagem de áreas públicas, assim como a alocação de recursos financeiros no apoio à agricultura familiar e às populações tradicionais (CARTA DE SANTARÉM, 2004).

Entretanto, a pavimentação da Rodovia Cuiabá-Santarém, na ausência de um plano de sustentabilidade, poderia acelerar os impactos sociais e

ambientais indesejáveis na sua área de influência. Esses impactos se relacionam a tendência de aumento de migrações desordenadas, grilagem e ocupação irregular de terras públicas, concentração fundiária; desmatamento e exploração não-sustentável dos recursos naturais; aumento da criminalidade e agravamento das condições de saúde pública, o que se agrava pela presença ainda insuficiente do poder público na região. Portanto, a mera expectativa de início do asfaltamento desse trecho da BR-163 tem contribuído para a aceleração de processos de ocupação desordenada do território e de exploração predatória dos recursos naturais (GREENPEACE, 2003).

Neste âmbito, no intuito de prevenir impactos negativos advindos da pavimentação da rodovia, o Governo Federal criou em 15 de março de 2004, através de Decreto, o Grupo de Trabalho Inter-Ministerial para Elaboração do Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Região de Influência da Rodovia BR-163. No ano de 2006 o plano foi lançado, a partir de consultas públicas no eixo da referida rodovia, envolvendo as esferas do governo estadual e municipal, bem como os movimentos sociais e todos os atores interessados.

A Área de Influência da BR-163 possui como limites geográficos:

- ao Sul está o município de Nova Mutum (MT), ponto inicial da concessão da rodovia, e fronteira Sul do cultivo agrícola do chamado “Nortão” mato-grossense;
- ao Norte estão os municípios da margem esquerda do Rio Amazonas, receptáculos de possíveis impactos da chegada do asfalto à Santarém;

- a Leste estão os municípios de Altamira e São Félix do Xingu, na Bacia do Xingu, incluindo a chamada “Terra do Meio”;
- a Oeste os municípios do Médio Tapajós e da Transamazônica Central.

Desta forma, a Área de Influência da Rodovia BR-163 perfaz uma totalidade de 1,23 milhão de km², correspondente a 14,47% do território nacional, Figura 1.

PLANO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL PARA A ÁREA DE INFLUÊNCIA DA BR-163

MACRORREGIÕES DO PLANO AMAZÔNIA SUSTENTÁVEL - PAS

2.1

Figura 1. Mapa com a Área de Influência da Rodovia BR-163 (MI – Ministério da Integração Nacional, SIPAM – Sistema de Proteção da Amazônia, 2004).

2.3 Matéria Orgânica do Solo e a Região Amazônica

A matéria orgânica presente em solos, turfas, sedimentos e águas, consiste em uma mistura de compostos, em vários estados de decomposição, resultante da degradação química e biológica de resíduos vegetais e animais e da atividade sintética de microrganismos. (STEVENSON, 1994; ROCHA & ROSA, 2003).

Desta forma, a matéria orgânica do solo, proveniente dos vários estágios de decomposição ou de transformações, é um dos maiores reservatórios de carbono da Terra (SCHULTEN & SCHNITZER, 1995).

Esta definição evidencia que a estrutura física e química da matéria orgânica é dinâmica ao se tratar da matéria orgânica presente nos oceanos, bem como no solo e rios da Amazônia; ou seja, está em constante transformação. Esta transformação resulta da ação simultânea de microrganismos na síntese de compostos tais como: amônia, nitratos, dióxido de carbono e outros, produzidos pela ruptura de ligações de compostos orgânicos mais complexos e das transformações químicas, cuja velocidade de reação depende da temperatura, umidade e pH do solo (LAL, 2004a).

A paisagem amazônica, bem como a composição da matéria orgânica presente em seu solo, passou por consideráveis modificações resultantes do avanço ocupacional. O ciclo da água, de carbono e de nutrientes, teve interferências em decorrência do uso e ocupação do solo amazônico. Em função das alterações verificadas na cobertura vegetal da Amazônia: as florestas foram retiradas para sustentar a indústria madeireira, áreas agrícolas

e de pastagens. Estes espaços se transformaram e, conseqüentemente, as florestas tropicais amazônicas começaram a desaparecer rapidamente; isto vem sendo observado principalmente nas últimas décadas.

A matéria orgânica existente no solo apresenta-se como um sistema complexo de substâncias, cuja dinâmica é governada pela incorporação de resíduos orgânicos de diferentes naturezas e por uma transformação contínua, sob a influência de fatores biológicos, químicos e físicos (CAMARGO *et al.*, 1999).

De acordo com STEVENSON (1994), a matéria orgânica do solo é o terceiro maior reservatório de carbono do planeta, com aproximadamente $15,5 \times 10^{14}$ kg de carbono (LAL, 2004b), perdendo para os reservatórios oceânico e geológico, pois o oceânico apresenta difícil controle pelo homem, enquanto que o geológico contribui apenas para a emissão de carbono. Estudos de TATE & THENG (1980), DUXBURY *et al.* (1999) e SOLLINS *et al.* (1996) mostraram que a resistência da matéria orgânica do solo à decomposição está mais associada à sua proteção física pela fração mineral do solo do que propriamente à complexidade química das moléculas orgânicas.

A matéria orgânica do solo difere quanto ao fator estabilidade, quando se refere à ação de decomposição dos microrganismos. Segundo GHOSH & SCHINITZER (1980), OADES *et al.* (1989) a estabilidade pode ser determinada pela sua complexidade química intrínseca (característica da própria estabilidade química) e pelo seu grau de associação com a fração mineral do solo (estabilidade física). A estabilidade química intrínseca da matéria orgânica do solo esta associada à aromaticidade das moléculas orgânicas constituintes.

Quanto maior a aromaticidade, maior será a resistência destas moléculas à decomposição (STOUT *et al.*, 1985).

No que se refere à estabilização da matéria orgânica do solo pela associação com a fração mineral do solo pode ser dividida, de acordo com a origem da proteção em dois tipos: estabilidade estrutural e estabilidade coloidal. A estabilidade estrutural origina-se da formação de agregados agrominerais; logo, quando a matéria orgânica do solo está localizada no interior desses agregados, fica protegida da ação dos microrganismos. Já a estabilidade coloidal, resulta da formação de ligações coordenadas entre a matéria orgânica do solo e os cátions metálicos e minerais do solo (BEARE *et al.*, 1994 a, b; SOLINS *et al.*, 1996).

Um fator que merece destaque quando se trata do estudo da matéria orgânica e a região Amazônica é o uso do fogo, por comprometer a estabilidade estrutural dessa matéria. O fogo é uma prática usual na região, por possuir um baixo custo econômico para o lavrador. É comumente utilizado para formação de lavoura e pastagens. No entanto, esta prática agrícola ocasiona graves prejuízos ao ambiente e à micro e meso-fauna, com efeitos deletérios e impactantes à matéria orgânica presente no solo.

2.4 Matéria Orgânica do Solo e as Substâncias Húmicas

O termo húmus (originário do latim, equivalente ao solo) foi introduzido na literatura por De Saussure, em 1804, e tem sido largamente usado para descrever o material orgânico, de coloração escura, pertencente ao solo. Este material passou, a partir de então, a ser denominado de substâncias húmicas.

Portanto, a matéria orgânica do solo contém compostos que podem ser convenientemente agrupados em substâncias não húmicas e substâncias húmicas.

As substâncias não húmicas incluem aquelas com características químicas definidas, exemplos destas substâncias são carboidratos, proteínas, aminoácidos, gorduras, ceras e ácidos orgânicos de baixa massa molecular aparente. Essas substâncias são facilmente atacadas por microrganismos e têm a sua vida relativamente curta (SCHINITZER & KHAN, 1972); (KONONOVA, 1966).

As substâncias não húmicas apresentam alta taxa de decomposição e curto período de permanência no solo (THENG *et al.*, 1989 & ANDRIULLO *et al.*, 1990). Sua principal função é o fornecimento de nutrientes às plantas, por meio de sua mineralização, e de energia e carbono aos microrganismos presentes no solo (OADES *et al.*, 1989).

As substâncias húmicas, por sua vez, representam 2/3 do carbono orgânico do solo, apresentam uma estrutura química complexa, são amorfas, de cor escura, hidrofílicas, ou seja, possuem afinidade por água. São parcialmente aromáticas, com número relativo de anéis aromáticos e seu tamanho molecular aparente varia desde poucas centenas a milhares de unidades de massa atômica (SCHINITZER & KHAN, 1972).

As substâncias húmicas apresentam menor taxa de decomposição e, conseqüentemente, maior período de permanência no solo (THENG *et al.*, 1989), sendo sua função principal atuar sobre as condições físicas e químicas do solo.

2.4.1 Classificação das Substâncias Húmicas

Em torno de 10 a 15% da reserva total do carbono orgânico nos solos minerais é constituída por macromoléculas como proteínas e aminoácidos, carboidratos simples e complexos, resinas, ligninas e outros e 85 a 90% pelas substâncias húmicas.

As substâncias húmicas são constituídas de uma mistura heterogênea de compostos, onde cada uma das frações, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina, possuem uma série de moléculas de tamanhos diferentes com a maioria não apresentando a mesma configuração estrutural ou grupos reativos na mesma posição (JANOS *et al.*, 2002).

Os ácidos húmicos são solúveis em meio alcalino e insolúveis em meio ácido ($\text{pH} < 2$), precipitando-se quando da acidificação do meio. O ácido fúlvico permanece em solução quando o meio é acidificado e a humina é a fração insolúvel tanto em álcali como em ácido, ou seja, em qualquer intervalo de pH (SCHNITZER, 1991).

Dos ácidos húmicos pode ser extraído o ácido himatomelânico, que é a parte dos ácidos húmicos solúvel em álcool. Entretanto, os ácidos fúlvicos são remanescentes após separação dos ácidos húmicos por precipitação, em meio ácido ($\text{pH} < 2$), e apresentam cor amarelo-claro, massa molar relativamente baixa em comparação aos ácidos húmicos.

2.4.2 Mecanismos Propostos para a Formação das Substâncias Húmicas

A chamada teoria clássica de WAKSMAN (1938) estabelece que as substâncias húmicas são como ligninas modificadas. No entanto, a maioria dos pesquisadores acredita em um mecanismo relacionado com a formação de quinonas.

A lignina não é o principal precursor das substâncias húmicas do solo e há grandes diferenças estruturais entre as substâncias húmicas de diferentes ambientes como solos, água doce e mares (MALCOLM, 1990). Apesar de muitos estudos terem sido feitos pelos cientistas de todo o mundo, pouco se sabe sobre a estrutura química dessas complexas substâncias.

A formação das substâncias húmicas se deve ao resultado de um processo evolutivo do ciclo do carbono presente no solo, causado por sucessivos ataques microbianos às substâncias não húmicas, com posterior polimerização de produtos de decomposição e de síntese microbiana (STEVENSON, 1994), que interagem com a fração mineral do solo (WERSHAW, 1993).

Segundo STEVENSON (1994), os mecanismos pelos quais as substâncias húmicas são formadas são inúmeros, isto se deve a grande quantidade de possíveis estruturas precursoras e ao enorme número de possibilidades de interação entre elas, Figura 2.

Figura 2. Mecanismos com as principais vias propostas para a formação das substâncias húmicas pela decomposição de resíduos animais/vegetais no solo. (STEVENSON, 1994; SANCHES, 2005).

2.4.3. Estrutura das Substâncias Húmicas

Ao longo dos anos a estrutura molecular das substâncias húmicas tem sido investigada e as pesquisas sugerem várias propostas estruturais, mas nenhuma parece ser satisfatória permanecendo, ainda hoje, indefinida. A heterogeneidade e complexidade das estruturas das substâncias húmicas, bem como a ausência de identidade estrutural genérica, aparecem como as maiores dificuldades encontradas na definição de um modelo para essas substâncias, pois os processos de formação são influenciados pela natureza e pelo mecanismo de decomposição (ROCHA & ROSA, 2003).

Através de estudos de ressonância magnética nuclear (RMN), SCHULTEN & SCHINITZER (1993) propuseram um modelo para os ácidos

húmicos e neste podem ser observados grandes cadeias alifáticas, vários grupos carboxílicos, fenólicos, alcoólicos e grupos nitrogenados como aminas e nitrilas.

Os ácidos húmicos e ácidos fúlvicos são compostos similares, porém, há algumas diferenças entre eles. Os ácidos húmicos, com estrutura mais condensada, possuem um conteúdo maior de carbonos aromáticos, maior massa molar e menor teor de oxigênio que os ácidos fúlvicos. As estruturas moleculares dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos estão representadas, respectivamente nas Figuras 3 e 4.

Figura 3. Estrutura proposta para os ácidos húmicos (SCHULTEN & SCHINITZER, 1993).

Figura 4. Estrutura proposta para os ácidos fúlvicos (SCHULTEN & SCHINITZER, 1993).

Para a definição de um modelo para as substâncias húmicas, a maior dificuldade se encontra na heterogeneidade química, sendo que ocorre uma variabilidade desta heterogeneidade de acordo com a origem (aquática ou terrestre) ou da localização geográfica. A consistência de um modelo mais preciso poderá ajudar a predizer o destino de compostos orgânicos antropogênicos no ambiente, bem como o entendimento da sua dinâmica. Ademais, poderá contribuir para o entendimento do seqüestro de carbono orgânico (CO) no solo, avançando no conhecimento da dinâmica e formação das próprias substâncias húmicas (SIMÕES, 2005).

Dois modelos, atualmente, tentam explicar as características observadas para as substâncias húmicas, são eles:

- Macromolecular: para este modelo as variações conformacionais das substâncias húmicas são semelhantes aos modelos propostos para macromoléculas biológicas, como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e ligninas (SWIFT, 1989; 1999) (Figura 5a). As estruturas dependem da concentração das moléculas húmicas (CHEN & SCHNITZER, 1976), do pH (SENESI *et al.*, 1996) e da concentração iônica do meio (GOSH &

SCHNITZER, 1980; SCHNITZER, 1991). Além dessas características, SCHULTEN & SCHNITZER (1995) propõem a existência de “vazios” de tamanhos diferenciados, podendo ser hidrofóbicos ou hidrofílicos dentro das moléculas (Figura 5b). O trabalho de WANDRUSZKA (1998) fortaleceu a presença desses “vazios”, onde as substâncias húmicas foram definidas como uma estrutura pseudo-micelar de natureza polimérica.

Figura 5. Modelos conceituais propostos para a teoria macromolecular. a) moléculas das substâncias húmicas aleatoriamente enoveladas (SWIFT, 1989). b) ácido húmico proposto por SCHULTEN & SCHNITZER (1995).

● - Carbono; ● - Oxigênio; ○ - Hidrogênio, ● - Nitrogênio.
As letras **A**, **B** e **C** indicam os espaços “vazios” na molécula capazes de interagir com outros compostos.

- Supramolecular – as substâncias húmicas, neste modelo, formam agregados que são estabilizadas por ligações fracas, como ligações de hidrogênio e/ou interações hidrofóbicas. CONTE & PICCOLO (1999)

embasaram este modelo, convergindo na teoria supramolecular (PICCOLO, 2001; 2002), onde é defendido que as substâncias húmicas são formadas por moléculas pequenas e heterogêneas das mais variadas origens, auto-organizadas em conformações supramoleculares, o que explicaria o grande tamanho aparente das substâncias húmicas.

Os ácidos fúlvicos, para o conceito supramolecular, são associações de pequenas moléculas hidrofílicas dispersas em solução devido à repulsão eletrostática das cargas negativas oriundas da dissociação dos grupos ácidos, como por exemplo, os carboxílicos a quaisquer valores de pH. Neste modelo, os ácidos húmicos são constituídos por associações de estruturas predominantemente hidrofóbicas, como as cadeias polimetilênicas $((CH_2)_n)$, ácidos graxos e esteróides, os quais são estabilizados em pH neutro com forças dispersas hidrofóbicas (van der Waals, π - π e ligações CH- π), aumentando gradualmente seu tamanho com abaixamento do pH até a sua precipitação. De acordo com PICCOLLO (2001), a influência do pH se deve em função da protonação da molécula e conseqüente aumento das ligações de hidrogênio intermoleculares.

O modelo supramolecular foi corroborado pelos resultados obtidos por SIMPSON (2002) e SIMPSON *et al.*, (2002). Esses autores demonstraram que as substâncias húmicas extraídas de solos são formadas por uma mistura de substâncias agregadas de baixa massa molecular aparente (em torno de 2000 Da) e propuseram um modelo estrutural para ilustrar como as principais estruturas identificadas nas substâncias húmicas poderiam formar um agregado na presença de cátions metálicos de ocorrência natural nos ecossistemas terrestres, Figura 6.

Figura 6. Modelo estrutural das substâncias húmicas proposto por SIMPSON *et al.*, 2002.

Utilizando dados experimentais e métodos computacionais DIALLO *et al.*, (2003) excluíram os modelos nos quais é sugerido que as substâncias húmicas sejam macromoléculas com alta massa molecular aparente ou mistura de compostos orgânicos complexos e heterogêneos e observaram que as estruturas existentes possuem as características necessárias para formar supramoléculas. Entretanto, os autores não obtiveram modelo de isômero em três dimensões (3D) definitivo para um dado ácido húmico. Eles propuseram alguns isômeros prováveis, os quais são apresentados na Figura 7.

Figura 7. Modelos estruturais de isômeros para um dado ácido húmico de solo em 3D propostos por DIALLO *et al.* (2003). Átomos de carbono estão em preto, átomos de oxigênio em vermelho, átomos de nitrogênio em azul, átomos de enxofre em amarelo e os átomos restantes são de hidrogênio.

Embora a estrutura das substâncias húmicas venha sendo estudada por mais de um século, ainda não é satisfatoriamente explicada. Todos os dados experimentais obtidos por diferentes técnicas, considerando-se tanto frações químicas quanto físicas de solos de diversas origens não foram suficientes para expressar a complexidade da estrutura destas substâncias.

2.4.4 Substâncias Húmicas e as Interações Hidrofóbicas

As moléculas de água apresentam uma forte tendência de estabelecer ligações de hidrogênio, o que influencia a interação dessas moléculas com as moléculas apolares, incapazes de estabelecer tais ligações. Dependendo das características da molécula apolar, com relação ao tamanho e forma, é

possível que as moléculas de água fiquem em torno dela, mantendo suas possibilidades de estabelecimento de ligações de hidrogênio. Ainda não existe clareza quanto ao ordenamento das moléculas de água em torno da molécula apolar. Muitas vezes este ordenamento é tratado como estrutura do tipo clatrato (FRANCK & EVANS, 1945; ISRAELACHVILI, 1991) e o fenômeno como efeito hidrofóbico ou hidratação hidrofóbica (ISRAELACHVILI, 1991; WIDOM *et al.*, 2003).

A hidratação hidrofóbica é acompanhada por uma variação negativa na entalpia, devido em partes às múltiplas interações de van der Waals, e uma variação negativa na entropia, o que se deve ao aumento da ordenação do sistema. Ocorre uma compensação entre os fatores termodinâmicos, porém o termo associado à entropia é maior, e por isso, geralmente, a energia livre é positiva, de acordo com a Equação 1:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

Onde:

G é a energia livre de Gibbs;

H é a entalpia;

T é a temperatura;

S é a entropia do sistema.

A baixa solubilidade de moléculas apolares em água se explica pelo aumento de energia livre do sistema (ATKINS, 1998).

As interações hidrofóbicas estão estreitamente relacionadas com o efeito hidrofóbico. Segundo ISRAELACHVILI (1991), não há ligações associadas a esses tipos de interações, sendo um fenômeno principalmente entrópico, em que o sistema objetiva uma minimização de superfície entre as partes hidrofílica e hidrofóbica, de maneira a se obter um sistema minimamente ordenado possível. O fenômeno entrópico ocorre em meio aquoso, entre duas substâncias que possuem a hidrofobicidade como propriedade comum.

As substâncias húmicas também podem influenciar, através de interações hidrofóbicas, a dinâmica de compostos apolares (WERSHAW, 1993; MARTIN-NETO *et al.*, 2001; FERREIRA *et al.*, 2001; SIMPSON *et al.*, 2004). Entre os compostos orgânicos que podem interagir hidrofobicamente encontram-se os pesticidas apolares (SCHWARZENBACH, 1992; MARTIN-NETO *et al.*, 2001). E os hidrocarbonetos poliaromáticos que aparecem entre os mais tóxicos contaminantes ambientais (PERMINOVA *et al.*, 1999) os quais, mesmo em baixa concentração apresentam toxicidade (SALLOUM *et al.*, 2002).

A heterogeneidade química das substâncias húmicas e a baixa energia envolvida nas interações hidrofóbicas dificultam a obtenção de evidências experimentais e, conseqüentemente, dos fatores que a influenciam. A dependência do arranjo conformacional das substâncias húmicas é um outro importante fator presente nas interações hidrofóbicas (SPOSITO *et al.*, 1996; PICCOLO *et al.*, 1998; WANDRUSZKA, 1998; MARTIN-NETO *et al.*, 2001; FERREIRA *et al.*, 2002).

2.4.5 Interação entre Substâncias Húmicas e Metais

Os ácidos húmicos têm uma capacidade excepcional de complexação de metais, formando complexos de diferentes estabilidades e de características estruturais devido ao alto teor de oxigênio presente em sua estrutura. O complexo formado apresenta estabilidade variada para cada metal, sendo esta mais elevada com metais pesados. A estabilidade do quelato metal-SH é determinada por uma série de fatores, incluindo o número de átomos que formam a ligação com o metal, à natureza e concentração do íon metálico, concentração de SH, pH, tempo de complexação (ROCHA *et al.*, 1999).

É possível estudar vários aspectos das interações ácidos húmicos-metais, a partir da combinação de técnicas adequadas. É possível avaliar a intensidade dessas interações, por meio das técnicas eletroanalíticas, através de variações de correntes de potencial. A espectroscopia vibracional na região do infravermelho possibilita relacionar mudanças nos espectros vibracionais dos ácidos húmicos com os sítios de interações do AH-metal.

Portanto, através da combinação das técnicas eletroanalíticas e de espectroscopia vibracional é possível obter informações qualitativas e quantitativas sobre os sítios dessas interações. A presença de cargas elétricas na estrutura macromolecular de AH confere-lhes características polieletrólíticas que possibilitem a formação de ligações de hidrogênio com as águas de hidratação de cátions metálicos, bem como interações eletrostáticas mais fracas, como forças de van der Waals. A presença de grupos carboxílicos e fenólicos possibilita também a formação de ligações químicas simples e

polidentadas produzindo quelatos. A conformação dos AH e a sua interação com cátions metálicos é diretamente influenciada pelo pH e pela força iônica do meio (ROCHA & ROSA, 2003).

As titulações potenciométricas comprovam que a adição de cátions metálicos aos AH provocam a liberação de prótons de seus grupos ácidos, resultando em interações dos metais com esses grupos ácidos dos AH. A titulação potenciométrica pode auxiliar no estudo da relação entre a quantidade de cátions metálicos adicionados à solução e a quantidade de H^+ liberada pelos AH, sendo a quantidade de H^+ determinada pela variação do pH (KUCKUK & BURBA, 2000).

2.4.6 A Importância das Substâncias Húmicas no Ambiente

As substâncias húmicas desempenham funções importantes no ambiente atuando nas propriedades físicas, químicas e biológicas (STEVENSON, 1994). Em seguida são citadas algumas das características das substâncias húmicas e como elas atuam nas propriedades do solo.

a) Propriedades físicas:

- alta capacidade de retenção de água, com importante função reguladora nos processos erosivos no solo;
- proporcionam ao solo uma forma esponjosa, facilitando o desenvolvimento das raízes;
- a coloração escura possibilita a retenção de calor no solo, beneficiando a germinação de sementes;

- formam agregados com argilas, facilitando a aeração e estruturação do solo.

b) Propriedades químicas:

- regulam a capacidade de troca catiônica no solo formando complexos com íons como Fe^{3+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} e outros cátions monovalentes e polivalentes, permitindo a migração dos mesmos e tornando-os biodisponíveis para as plantas;

- complexam com metais potencialmente tóxicos, Cd, Cr, Hg, Pb e outros, diminuindo a sua biodisponibilidade no solo, impedindo que estes metais cheguem a rios e mananciais, como por exemplo.

c) Propriedades biológicas:

- permitem o desenvolvimento de microrganismos no solo que produzem substâncias que protegem as plantas de doenças;

- favorecem o desenvolvimento de microrganismos como bactérias fixadoras de nitrogênio que fornecem nutrientes às plantas.

Além destas funções no solo, as substâncias húmicas têm funções importantes na dinâmica de compostos orgânicos antropogênicos ou xenobióticos, pesticidas e hidrocarbonetos poliaromáticos no ambiente (SCHWARZENBACH, 1992) e no controle biogeoquímico do carbono orgânico no ecossistema global (PICCOLO, 1996).

Diferentes mecanismos de interação podem ocorrer entre os poluentes como pesticidas, medicamentos e outros e as substâncias húmicas, no entanto, a natureza e a extensão destes mecanismos não são totalmente entendidas

(GUNASEKARA *et al.*, 2003). Esta dificuldade pode ser atribuída ao fato de que os mecanismos são dependentes das propriedades físicas e químicas das substâncias húmicas, das condições experimentais ou ambientais, das propriedades físicas e químicas dos poluentes orgânicos e de suas respectivas concentrações (SENESI, 1996).

2.5 As Mudanças Climáticas

2.5.1 Efeito Estufa e o Protocolo de Quioto

As mudanças climáticas representam uma grande ameaça para o meio ambiente e a sustentabilidade do planeta, conforme a assinatura da “*United Nations Framework Convention on Climate Change - UNFCCC*” – Convenção Quadro das Nações Unidas sobre Mudança Climática, ocorrida durante a “Cúpula da Terra”, por ocasião da Conferência Internacional sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, que aconteceu no Rio de Janeiro, em 1992. A UNFCCC foi ratificada por mais de 175 países, incluindo o Brasil (BRASIL, 1992).

A atmosfera, a camada de ar que envolve a Terra é constituída por vários gases, dentre os quais o nitrogênio (N_2) e o oxigênio (O_2) são os principais, compondo 99% da atmosfera. Outros gases, como é o caso dos “gases de efeito estufa”, também são encontrados em pequenas quantidades na atmosfera (IPCC & ONU, 1997).

O Efeito Estufa, que é um fenômeno natural, é provocado por gases que têm a capacidade de reter o calor na atmosfera. O CO_2 , como por exemplo, que é o principal gás do efeito estufa, forma com outros gases, uma

camada na atmosfera que tem a propriedade de permitir que as ondas eletromagnéticas que chegam do sol atravessem a atmosfera e aqueçam a superfície terrestre.

Contudo, essa mesma camada dificulta a saída da radiação infravermelha (calor) emitida pela Terra. Esse processo impede que ocorra uma perda demasiada de calor irradiado para o espaço, especialmente à noite, mantendo, assim, a Terra aquecida. Esse fenômeno acontece há milhões de anos e é necessário, pois sem ele a temperatura média da Terra seria 33°C mais baixa e a vida no planeta, tal como a conhecemos, não seria possível (UNFCC & ONU, 2000), Figura 8.

Figura 8. Esquema simplificado apresentando o funcionamento do fenômeno do efeito estufa na atmosfera da Terra (EFEITO ESTUFA, 2008).

No final do século XVIII a concentração de CO₂ começou a aumentar a partir da Revolução Industrial que demandava a produção de grandes quantidades de carvão mineral e petróleo, principais fontes de energia. Desta

forma, a concentração de CO₂ passou de 280 ppm (partes por milhão) no ano de 1750 para cerca de 368 ppm atuais, o que representa um incremento de aproximadamente 30%. Isto se reverte no aumento da capacidade de retenção de calor pela atmosfera e, conseqüentemente, no aumento da temperatura do planeta (IPCC & ONU, 2001a).

Todos os gases de efeito estufa são produzidos e consumidos em uma variedade de processos biogeoquímicos naturais no sistema terrestre. Contudo, o carbono proveniente da queima de combustíveis fósseis e da destruição de florestas, está sendo liberado na atmosfera em um ritmo sem precedentes na história geológica do planeta. As emissões de CO₂ continuam a aumentar, com possibilidades de atingir até 550 ppm por volta do ano 2100 (IPCC & ONU, 2000).

Durante a Terceira Conferência das Partes da UNFCCC, que aconteceu em 1997, no Japão, o Protocolo de Quioto foi elaborado, tendo com objetivo alcançar metas específicas de redução de emissões dos gases causadores do efeito estufa, os quais, segundo o Protocolo de Quioto, Anexo A, são: dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O), hidrofluorcarbonos (HFCs), perfluorcarbonos (PFCs) e hexafluoreto de enxofre (SF₆) (BRASIL, 1999).

O Protocolo de Quioto é um acordo internacional que objetiva reduzir as emissões de gases estufa dos países industrializados e para garantir um modelo de desenvolvimento limpo aos países em desenvolvimento. O documento prevê que, entre 2008 e 2012, os países desenvolvidos reduzam suas emissões em 5,2% em relação aos níveis medidos no ano de 1990. O tratado foi assinado por 84 países. Destes, cerca de 30 já o transformaram em

lei. O pacto entraria em pleno vigor depois que isso acontecesse em pelo menos 55 países. O acordo impõe níveis diferenciados de reduções para 38 dos países considerados os principais emissores de CO₂ e de outros cinco gases-estufa (PROTOCOLO, 2008).

O conceito de seqüestro de carbono consagrou-se na Conferência de Quioto, por se tratar da forma de mitigação de menor custo para reverter o acúmulo de CO₂ na atmosfera na redução do efeito estufa (YU, 2004).

Foi estabelecida a redução de 8% para os países da União Européia, em relação às emissões de gases em 1990. Para os Estados Unidos, a diminuição prevista foi de 7% e para o Japão de 6%. Para a China e os países em desenvolvimento, como o Brasil, Índia e México, ainda não foram estabelecidos níveis de redução. Além da redução das emissões de gases, o Protocolo de Quioto estabelece como meta o estímulo à substituição do uso dos derivados de petróleo pelo da energia elétrica e do gás natural (BRASIL, 1999). Os Estados Unidos, o país que mais emite gases estufa, retirou-se do acordo em março de 2001.

O acordo entrou em vigor em 16 de Fevereiro de 2005, após mais de sete anos de negociações durante as quais ele quase afundou duas vezes. Primeiro com a rejeição americana em 2001; depois com a ameaça de rejeição pela Rússia, cujo presidente, Vladimir Putin, acabou livrando o Protocolo do completo fiasco, ao decidir ratificá-lo no fim de 2004 (FOLHA DE SÃO PAULO, 2006).

O objetivo principal do Protocolo de Quioto foi refrear a contribuição humana, em vista das grandes concentrações atmosféricas de CO₂ (WALSH,

1999). Entretanto, a retirada dos Estados Unidos comprometeu o objetivo, tornando o Acordo um instrumento paleativo e criticado mundialmente.

Recentemente, no mês de julho de 2008, a Cúpula do G-8 (os sete países mais industrializados - Estados Unidos, Japão, França, Reino Unido, Alemanha, Itália, Canadá – mais a Rússia), em reunião na cidade de Toyako, Japão, reconheceu a necessidade de reduzir em 50% as emissões de CO₂ para a atmosfera até o ano de 2050, uma medida para combater as mudanças climáticas (CÚPULA G-8, 2008).

2.5.2 Os Efeitos do Aquecimento Global

A magnitude e os efeitos do aquecimento global, provocados pelo incremento do efeito estufa, são difíceis de prever. Debates, estudos e pesquisas científicas estão em pleno andamento. Segundo estimativas do *“Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC”* - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas, a temperatura média global subiu 0,6°C durante o século XX, e pode elevar-se em mais 1°C até 2030. Até 2090, a projeção indica aumento de até 4°C, caso medidas de prevenção não sejam tomadas. Uma das consequências mais graves do aumento do efeito estufa é o derretimento da camada de gelo polar, o que já vem sendo observado (IPCC & ONU, 2001b).

Caso esse problema se agrave, os níveis dos oceanos podem subir cerca de um metro, inundando regiões densamente povoadas próximas aos deltas dos rios e fazendo desaparecer ilhas e espaços costeiros de baixa altitude. Outro problema seria o superaquecimento da região equatorial e a

alteração das zonas climáticas em seus limites de latitude, o que provocaria desertificação e afetaria áreas produtoras de alimentos (IPCC & ONU, 2001a).

2.5.3 Emissões de Gás Carbônico da Amazônia para a Atmosfera

O aumento do efeito estufa é provocado, ainda, pelo uso de fertilizantes na agricultura, os quais liberam N_2O ; pela produção e transporte de gás e petróleo; e pelo desmatamento, queimadas e mudança do uso do solo, como acontece na Amazônia, que tem importância central, sendo a maior área remanescente de floresta tropical úmida do planeta (HOUGHTON, 2000).

A floresta Amazônica funciona como um grande “armazém de carbono”. No momento que ocorre a conversão da floresta (derrubas e queimadas) em outros usos da terra, o carbono que se encontra armazenado no solo, raízes e tecido vegetal das árvores é liberado para a atmosfera na forma de CO_2 , o mais importante gás de efeito estufa (CAMPOS, 2001).

Em termos da quantidade de emissão de CO_2 , se forem contabilizados apenas as emissões oriundas de combustíveis fósseis e da indústria, o Brasil aparece em 16º lugar. Os países com maior emissão de CO_2 para a atmosfera são: 1º Estados Unidos, 2º China, 3º Rússia, 4º Japão, 5º Índia, 6º Alemanha e 7º Grã-Bretanha. Estimativas sugerem, no entanto, que se considerarem as emissões brasileiras decorrentes do uso do solo, o Brasil ocuparia o 6º ou 7º lugar no *ranking* de emissões (IPAM, 2002).

2.5.4 Seqüestro de Carbono no Solo como contribuição à Redução do Efeito Estufa.

O ciclo do carbono é considerado como o ciclo de maior interesse para a mudança global. Este ciclo é composto por todas as reservas e trocas de carbono de uma reserva para outra pelos processos químicos, físicos, geológicos e biológicos, onde a matéria orgânica atua no mecanismo de sorção dos gases atmosféricos orgânicos e inorgânicos no solo (SCHNEIDER, 1998). No entanto, em função do uso e ocupação pelo desmatamento, queimadas e práticas agrícolas ocorre uma desestabilização da matéria orgânica, convergindo no impedimento desta capacidade de sorção.

Em termos mundiais, se forem elencadas apenas as práticas agrícolas, contabilizando-se o período de 1860 a 1980 ocorreu uma emissão de 8×10^{14} g C/ano, o que demonstra uma contribuição significativa para o aumento do efeito estufa (SCHLEISINGER, 1997).

As práticas agrícolas, em geral, levam ao esgotamento do reservatório de carbono orgânico no solo. Isto se deve a diversos fatores como: i) desmatamento e queima da biomassa do solo; ii) inadequado manuseio da fertilidade; iii) remoção de resíduos vegetais deixando o solo exposto; e iv) utilização do sistema de plantio convencional com excessivo uso de pesticidas e outros componentes químicos (LAL, 2002).

Quando o aporte de carbono orgânico (CO) no solo é maior que a quantidade mineralizada (processo de substituição dos constituintes orgânicos pelos inorgânicos) que retorna a atmosfera sob a forma de CO₂, ocorre o que

chamamos de seqüestro de carbono pelo solo. O principal mecanismo de seqüestro de carbono orgânico (CO) pelo solo ocorre por meio da formação de agregados agrominerais. Quanto maior e mais estável for o agregado maior será o seqüestro de carbono orgânico (CO). Os principais mecanismos ou estratégias usados no processo de seqüestro de carbono orgânico são o aumento da porção estável dos agregados e a identificação da localização do carbono orgânico, (LAL & KIMBLE, 1997), Figura 9.

Figura 9. Diagrama do Mecanismo de Seqüestro de Carbono Orgânico (CO) no Solo (Adaptado de LAL & KIMBLE, 1997).

Dentre as principais técnicas específicas para o aumento do seqüestro de carbono orgânico (CO) no solo encontram-se: i) o uso de cobertura vegetal e produção contínua com o objetivo de incrementar os agregados; ii) culturas rotativas e adubação balanceada para a produção máxima de biomassa tanto na superfície quanto no perfil do solo; iii) permanência dos resíduos vegetais e sua incorporação ao solo; e iv) criação de mecanismos para o aumento da humificação destes resíduos (LAL, 1997).

2.6 Principais Métodos Utilizados para a Extração e Fracionamento das Substâncias Húmicas

Os componentes orgânicos ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina, em solos minerais, estão associados entre si e com a fração mineral do solo, sendo geralmente necessário realizar a extração e fracionamento químico quando se utilizam análises espectroscópicas para sua caracterização (DAÍ & JOHNSON, 1999; BAYER *et al.*, 2000).

São consideradas duas classes de extratores para as substâncias húmicas do solo: os moderados e os alcalinos. Na visão de alguns pesquisadores os extratores moderados são preferíveis; outros, por sua vez, preferem a extração mais completa das substâncias húmicas utilizando álcalis, ainda que ocorra risco de alterações estruturais (ROCHA *et al.*, 2004).

Alguns trabalhos de STEVENSON (1994) propõem para a extração das substâncias húmicas de solo a utilização de extratores em seqüência, onde em uma parte do material são aplicados os extratores moderados e, em seqüência, usam-se solventes alcalinos.

Segundo DICK & BURBA (1998), o responsável pela primeira tentativa para isolar substâncias húmicas de solo foi Achard que, no ano de 1786, submeteu solo turfoso a solventes alcalinos, obtendo uma solução escura a qual precipitava por acidificação. Esse material solúvel em álcali e insolúvel em ácido foi denominado de ácidos húmicos. Ainda não existe uma metodologia para a extração de substâncias húmicas, oficialmente adotada. Alguns autores utilizam extratores mais brandos, como pirofosfato de sódio DICK & BURBA (1998), agentes complexantes WHITEAD & TINSLEY (1967), ácido fórmico, solventes orgânicos. No entanto alguns autores preferem a extração mais complexa das substâncias húmicas, utilizando álcalis.

É provável que a solubilização das substâncias húmicas em meio alcalino se deve à conversão dos grupos ácidos, principalmente carboxílicos e fenólicos, em íons, sendo que sais como humatos de cátions polivalentes não são solúveis (STEVENSON, 1994).

A “*International Humic Substances Society - IHSS*” - Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas apresenta um procedimento baseado em quatro horas de extração com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, à temperatura ambiente, na razão solo/extrator 1:10 (m/v) sob atmosfera de nitrogênio (CLAPP *et al.*, 1993).

O método sugerido pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) tem sido aplicado em muitos tipos de solo por não demandar grandes aparatos experimentais, podendo ser utilizado como método padrão para comparações (SWIFT, 1996).

ROSA *et al.* (2000) estudaram parâmetros que influenciam o processo de extração alcalina e chegaram à seguinte conclusão de que as melhores condições para a extração das substâncias húmicas de amostras de turfa é a que utiliza solução de hidróxido de potássio KOH ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), razão turfa/extrator 1:20 (m/v), tempo de extração de quatro horas, temperatura ambiente, atmosfera de nitrogênio e granulometria de 0,21 nm da turfa.

Nos experimentos realizados por ROSA *et al.* (2000) verificaram que, devido ao maior rendimento e redução de co-extraídos indesejáveis, o extrator KOH apresentou vantagens quando comparados ao NaOH.

2.7 Caracterização das Substâncias Húmicas

A caracterização de substâncias húmicas por meio de técnicas espectroscópicas tem gerado importantes resultados na avaliação da qualidade do solo, sob condições temperadas e tropicais, uma vez que fornecem resultados sobre os grupos funcionais que compõem a matéria orgânica, muito embora em sistemas tropicais estes estudos ainda sejam reduzidos (MARTIN NETO *et al.*, 2001, 1998; BAYER *et al.*, 2000; MILORI *et al.*, 2002).

Para a caracterização das substâncias húmicas, faz-se necessário a utilização de procedimentos e técnicas analíticas adequadas, combinadas com métodos químicos, físicos e espectroscópicos.

As substâncias húmicas podem ser caracterizadas pelas seguintes técnicas: i) espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR); ii) análise elementar; iii) espectroscopia de fluorescência de luz no UV/Visível; iv) espectroscopia de absorção de Luz no UV/Visível; v)

espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN); vi) espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica nuclear (EPR).

Além destas, outras técnicas também podem ser utilizadas no processo de caracterização das substâncias húmicas.

2.7.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no Infravermelho (IV) é bastante utilizada para caracterizar as substâncias húmicas, fornecendo informações estruturais e funcionais das moléculas.

A absorção da radiação na região do IV pelas substâncias húmicas corresponde à energia de vibração e rotação associada às ligações químicas da molécula. A intensidade de absorção é uma função da variação do momento de dipolo envolvido na vibração da molécula. Existem duas vibrações: i) as deformações axiais (estiramento), uma vibração que envolve mudança contínua na distância interatômica ao longo do eixo da ligação entre dois átomos; ii) vibrações de deformação angular, que são caracterizadas pela mudança no ângulo entre duas ligações (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

A detecção de vibrações das ligações químicas é possível através da espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV). Como estas vibrações são diretamente dependentes dos tipos de átomos aos quais estão ligados, é possível, através da energia de vibração de bandas, identificarem-se os átomos ligados e, assim, os grupos funcionais de uma dada molécula ou substância. Esta técnica é uma das ferramentas mais comuns para a

identificação de compostos orgânicos e inorgânicos puros, pois com exceção de algumas moléculas homonucleares, tais como O₂, N₂ e Cl₂, todas as espécies moleculares absorvem radiação no IV (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

A introdução da técnica de FTIR na leitura dos espectros de infravermelho trouxe uma maior velocidade de leitura ao permitir a obtenção do somatório de muitos espectros, isto faz a definição dos sinais e exatidão da análise. A execução de várias varreduras para a diminuição dos resíduos é facilitada pela utilização de um computador na obtenção da transformada de Fourier.

Os espectros na região do IV das substâncias húmicas mostram bandas largas provavelmente devido à sobreposição das bandas de absorção dos constituintes individuais da mistura heterogênea de grupos que constituem as substâncias húmicas (ABBT-BRAUN, 1992).

SILVERSTEIN *et al.* (1994) afirmam que através dos espectros das substâncias húmicas é possível obter informações na região do infravermelho com relação à natureza, à reatividade e ao arranjo estrutural dos grupos funcionais. Ademais, por intermédio do espectro na região de infravermelho, podem-se indicar a presença ou a ausência de impurezas inorgânicas, como íons metálicos e argila. A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier é útil na detecção de trocas na estrutura química do material húmico após oxidação, pirólise e tratamentos similares, podendo também indicar possíveis interações com pesticidas (SCHINITZER & KHAN, 1972).

As bandas de absorção geralmente apresentadas pelas substâncias húmicas apresentam características na região de 3500-3200 cm⁻¹ (estiramento

OH), 3000-2840 cm^{-1} (estiramento de C-H alifático), 1760-1680 cm^{-1} (estiramento de C=O) e 1320-1210 (estiramento de C-O de COOH).

As bandas de absorção características das substâncias húmicas geralmente estão na região de 3500-3200 cm^{-1} (estiramento OH), 3000-2840 cm^{-1} (estiramento de C-H alifático), 1760-1680 cm^{-1} (estiramento de C=O) e 1320-1210 (estiramento de C-O de COOH).

2.7.2 Análise elementar

Os instrumentos chamados analisadores elementares estão baseados na oxidação em alta temperatura dos compostos orgânicos, onde os elementos de interesse são convertidos em moléculas gasosas. Desta forma, os gases resultantes são separados em uma coluna cromatográfica, geralmente com detector de condutividade térmica que serve para completar as determinações (SKOOG *et al.*, 2002).

A análise elementar é uma técnica aplicada para a caracterização de substâncias húmicas. Obtêm-se, por meio dessa análise, informações sobre a distribuição dos elementos C, H, N e O nestas substâncias (STEVENSON, 1982).

Estudos de STEELINK (1985), com o enfoque na composição elementar de substâncias húmicas, concluíram que as informações desta composição levam a indicação da fonte e a natureza do material húmico, além de avaliar a eficiência de extração e purificação obtida a partir das substâncias húmicas.

A composição dos elementos presentes nas substâncias húmicas foi classificada em termos de razões atômicas H/C, O/C e N/C. A relação C/N tem sido utilizada para evidenciar o grau de polimerização dos ácidos húmicos, enquanto que as razões H/C e C/H podem fornecer inferências a respeito das estruturas e fórmulas moleculares das substâncias húmicas (STEELINK, 1985; BELZILE *et al.*, 1997).

A razão H/C é frequentemente associada ao grau de condensação ou de aromaticidade, e esse é relacionado ao grau de humificação, sendo que maiores valores de H/C ou menores valores de C/H indicam maior quantidade de grupos alifáticos, típicos de materiais menos humificados (STEVENSON, 1982). As razões O/C e C/N indicam, respectivamente, o teor de grupos oxigenados presentes na molécula e o grau de incorporação de nitrogênio na estrutura. A relação carbono/nitrogênio (C/N) tem sido utilizada para evidenciar o grau de polimerização dos ácidos húmicos (STEVENSON, 1985). Assim, o baixo teor de nitrogênio encontrado para os ácidos húmicos, leva a uma alta relação carbono/nitrogênio, indicando que é recente a gênese do material.

2.7.3 Espectroscopia de Fluorescência de Luz no UV/Visível

Nos últimos anos tem sido dada grande atenção, por parte da comunidade científica, a utilização da Espectroscopia de Fluorescência para o estudo de alguns aspectos moleculares e quantitativos, da estrutura e da funcionalidade das substâncias húmicas.

Segundo esta técnica espectroscópica, o estado fundamental (GS) caracteriza a configuração de menor energia de um átomo ou molécula, ou

seja, o estado mais estável. A maioria das moléculas no GS tem seus orbitais ocupados por pares de elétrons, resultando no número quântico *spin* $S=0$. Este estado é denominado “singleto” por apresentar apenas uma possibilidade de configuração do momento magnético de *spin*. Ao se excitar uma molécula, o elétron promovido pode estar alinhado ou oposto ao seu par que ficou no GS. No caso de estar alinhado, obtém-se $S=1$ e o estado é chamado “triplete”, pois apresenta três possibilidades para o momento magnético de *spin* resultante, que são: +1, 0 e -1.

Ao se considerar o esquema de configuração energética de uma molécula, tem-se acima do GS o 1º estado excitado, que pode ser singleto ou triplete, seguida pelo 2º, 3º, etc., sendo que pela “Regra de Hund”, o estado triplete possui menor energia do que o singleto correspondente (DAVYDOV, 1968).

Em cada um destes estados existem diversos níveis de energia vibracional (EV). No GS, à temperatura ambiente, os elétrons da molécula ocupam o nível de menor EV, podendo ser promovidos para qualquer nível vibracional de um estado excitado.

A excitação (absorção de energia) ocorre em 10^{-15} s, um intervalo tão curto que o núcleo atômico não sente a transferência de momento, resultando na transição de um estado vibracional estável para outro instável. A configuração nuclear no GS influencia a probabilidade de absorção (princípio de Franck-Condon) (DAVYDOV, 1968). Como consequência 10^{-12} s depois ocorre a “relaxação vibracional” um decaimento não radiativo para o nível vibracional de menor energia do estado excitado. Este processo é suficientemente rápido para não sofrer competição de outros processos, de

forma que todas as reações com a molécula com o estado excitado têm origem no nível de menor EV. O tempo de vida deste estado é da ordem de 10^{-9} s, o suficiente para permitir que a molécula reaja quimicamente.

Ao retornar para o GS, o elétron pode emitir a diferença de energia na forma de radiação. Esta emissão é chamada de “fluorescência”, e terá sempre uma energia menor que a energia de excitação da molécula.

A análise de fluorescência de um composto é uma técnica muito sensível, devido à capacidade de se detectar o sinal proveniente de moléculas quando excitadas por um comprimento de onda específico. É também uma técnica bastante seletiva, já que ambos os comprimentos de onda de excitação e emissão dependem do mesmo composto de interesse, fazendo com que o sinal de fluorescência coletado seja característico para cada molécula em estudo (MUELLER *et al.*, 1992; SPARK & SWIFT, 1994).

A fluorescência de luz no UV/VIS é uma das poucas técnicas que investigam as substâncias húmicas em concentrações e condições naturais. As principais vantagens desta técnica são a alta sensibilidade e seletividade, pois somente aqueles grupos funcionais que fluorescem podem ser observados (LOMBARDI & JARDIM, 1997, 1999).

Essa técnica tem sido aplicada, principalmente, no estudo de substâncias húmicas aquáticas, porém com materiais de origem terrestre também tem se mostrado promissora (SENESI, 1990). Embora estruturas fluorescentes pareçam constituir a menor parte dos constituintes das substâncias húmicas, a fluorescência intrínseca destes compostos pode fornecer informações a respeito da estrutura, conformação e heterogeneidade,

assim como de aspectos dinâmicos e quantitativos relacionados às interações intramoleculares e intermoleculares com outras espécies (SENESI *et al.* 1996).

2.7.4 Espectroscopia de Absorção de Luz no UV/Visível

A técnica espectroscópica de absorção no UV/VIS permite identificar transições eletrônicas de elétrons π em duplas ligações conjugadas, bem como reações de transferências eletrônicas de elétrons de grupos adjacentes. Estes elétrons, por sua vez, absorvem energia na faixa do UV/VIS e os grupos que produzem esta absorção são chamados de grupos cromóforos. O que ocorre é a excitação dos elétrons, onde a absorção de energia é quantizada e conduz à passagem dos elétrons de orbitais do estado fundamental de energia para orbitais de maior energia em um estado excitado. Considerando a natureza complexa das substâncias húmicas, essa técnica não possibilita medir ou caracterizar um cromóforo específico em particular, mas permite a sobreposição de absorbâncias de vários grupos funcionais (STEVENSON, 1982).

O espectro eletrônico, neste sentido, é representado como um gráfico de absorbância, em função do comprimento de onda e irradiação. A intensidade de luz é medida por meio da lei de Beer-Lambert para um determinado comprimento de onda como mostrado na Equação 2:

$$\log_{10} \frac{(I_0)}{(I)} = \epsilon C L = A \quad (2)$$

De onde podemos evidenciar que:

I_0 = radiação incidente na amostra;

I = radiação transmitida pela amostra;

c = concentração do soluto (mol L^{-1});

ϵ = absorptividade molar;

L = caminho ótico que a radiação percorre pela amostra;

A = Absorbância.

A espectroscopia de absorção na região do UV/VIS vem sendo utilizada para caracterizar as substâncias húmicas nos últimos anos. A razão entre as absorbâncias nos comprimentos de onda a 465 nm e a 665 nm é referida como E_4/E_6 (região espectral no visível). Essa razão fornece indicações do grau de polimerização e da presença de estruturas alifáticas e aromáticas. Ela diminui com o aumento do tamanho molecular aparente das substâncias húmicas e do grau de condensação de constituintes aromáticos (CHEN *et al.*, 1997).

Uma alta razão E_4/E_6 indica a predominância de estruturas mais alifáticas. Essa razão é influenciada pelo tamanho da molécula, pelo pH do

meio, pelo teor de oxigênio, carbono, grupos carboxílicos, origem e idade das substâncias húmicas (STEVENSON, 1982).

A razão entre as absorbâncias a 465 nm e 665 nm usualmente referidas como razão E_4/E_6 tem sido utilizada, amplamente, como índice do grau de condensação dos constituintes aromáticos. No comprimento de 465 nm têm-se a absorbância por grupos alifáticos e no comprimento de onda de 665 nm por grupos aromáticos. Alguns autores têm sugerido que a razão E_4/E_6 fornece indicações relativas ao grau de polimerização e presença de estruturas alifáticas e aromáticas (CAMPOS, 2004), e observa-se que essa razão diminui com o aumento da massa molecular e condensação.

Estudos de DICK *et al.* (1998) indicam que a razão E_4/E_6 serve como um índice do grau de humificação das substâncias húmicas. Então uma baixa razão pode ser um indicativo de que é alto o grau de condensação de constituintes aromáticos, enquanto que uma alta razão reflete um baixo grau de condensação aromática e indica a predominância de estruturas alifáticas (de compostos orgânicos que não são cíclicos).

2.7.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica que fornece importantes informações para a caracterização das substâncias húmicas presentes em solos e águas.

Esta técnica torna possível a realização de estimativas da quantidade relativa e tipos de carbonos, alifáticos e aromáticos, a ainda dos grupos fenólicos e carboxílicos das substâncias húmicas do solo. A caracterização das

substâncias húmicas ocorre em estado sólido e os espectros de RMN (^{13}C) destas não permitem a identificação das estruturas, mas é possível estimar a concentração relativa e tipos de carbono alifáticos e aromáticos presentes.

A estimativa das percentagens dos diferentes tipos de carbono e prótons é obtida a partir da integração dos picos nas regiões específicas dos espectros (SWIFT, 1996).

As percentagens dos diferentes tipos de carbono e prótons, em termos de estimativa, são obtidas a partir da integração dos picos nas regiões específicas dos espectros. A representação do espectro é feita pelas frequências dos picos de absorção juntamente com suas intensidades.

Os núcleos possuem número quântico *spin* (ℓ), que corresponde à soma dos *spins* nucleares de cada partícula (prótons e nêutrons). Em alguns núcleos a carga gira em torno do eixo nuclear gerando um dipolo magnético ao longo do eixo, o momento angular da carga que está se movimentando pode ser descrito em termos de número quântico *spin* (ℓ). No momento em que o número de prótons (Z) e o número de massa (A) forem pares, o valor de ℓ será igual à zero, pois tanto os prótons como os nêutrons estarão emparelhados, como por exemplo, ^{12}C e ^{16}O . Quando Z for ímpar e A for par, o valor de ℓ será um número inteiro e restará pelo menos um próton e um nêutron desemparelhado, por exemplo, $^{14}\text{N}_7$ ($\ell = 1$) e $^{10}\text{B}_5$ ($\ell = 3$). No caso de A ser ímpar, o número quântico ℓ será fracionário, pois existirá um número ímpar de prótons ou de nêutrons, como por exemplo, para o $^1\text{H}_1$ ($\ell = 1/2$) e $^{13}\text{C}_6$ ($\ell = 1/2$). Os valores assumidos pelos números de ℓ podem ser iguais a 0, $1/2$, 1, $3/2$ etc.

O momento magnético μ de um núcleo está orientado ao longo do eixo do *spin* e é proporcional ao momento angular P conforme a Equação 3:

$$\mu = \gamma P = \gamma \frac{h}{2\pi} M_\ell \quad (3)$$

Onde:

γ é o fator giromagnético do núcleo, que tem valor diferente para cada tipo de núcleo (por exemplo, para o $^1\text{H} = 2,6752 \times 10^8 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e para o $^{13}\text{C} = 6,7283 \times 10^7 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1}$);

h = constante de Planck ($6,62608 \times 10^{-34} \text{ J s}$);

M_ℓ = número quântico magnético de spin ($\ell, \ell - 1, \dots, -\ell + 1, -\ell$).

O eixo magnético do núcleo pode assumir $2\ell + 1$, em termos da mecânica quântica, onde ℓ determina o número de orientações possíveis (definidas pelo momento magnético *spin*) em relação ao campo magnético externo (B_0), e cada orientação corresponde a níveis de energia (E), de acordo com a Equação 4:

$$E = -\gamma \frac{h}{2\pi} M_\ell B_0 \quad (4)$$

Nos casos de átomos com spin nuclear igual a $\frac{1}{2}$, como ^1H e ^{13}C , os valores possíveis de M_ℓ são $+\frac{1}{2}$ e $-\frac{1}{2}$. Assim, formam-se dois níveis de energia ($E = -\frac{1}{2} (\gamma h / 4\pi) \cdot B_0$ e $E = +\frac{1}{2} (\gamma h / 4\pi) \cdot B_0$). A diferença de energia entre os dois estados (ΔE) é dada pela Equação 5:

$$\Delta E = h \nu = -\gamma \frac{h}{2\pi} B_0 \quad (5)$$

Onde:

ν = frequência da radiação eletromagnética em que ocorre a transição.

Esta Equação relaciona a frequência eletromagnética com a força do campo e pode ser reescrita como apresentada na Equação 6:

$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (6)$$

Em uma partícula que gira rapidamente em torno de si mesmo, a força aplicada por um campo magnético externo B_0 provocará um movimento do eixo dessa partícula, chamado movimento de precessão, cuja trajetória é circular e em torno do vetor que representa o campo magnético aplicado.

A velocidade angular desse movimento (ω), em radianos por segundo, é dada pela Equação 7:

$$\omega = \gamma B_0 \quad (7)$$

A velocidade angular pode ser convertida na frequência de precessão, chamada de frequência de Larmor, mostrada pela Equação 8:

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (8)$$

A frequência na qual deve ocorrer a transição deve corresponder à frequência de Larmor da partícula.

Em um equipamento com magneto de 9,4 T (campo magnético), os ^1H entrarão em ressonância a aproximadamente 400 MHz, que é a frequência ν nesse campo magnético, e para o ^{13}C entrarão em ressonância a aproximadamente 100 MHz, pois seu γ é aproximadamente quatro vezes menor que o do ^1H . Quando utilizada a técnica pulsada, os núcleos, sob ação de um campo magnético B_0 , são submetidos periodicamente a pulsos muito curtos de radiação de radiofrequência intensa.

O campo magnético dessa radiação, simbolizado por B_1 , é perpendicular a B_0 , e desloca o momento angular resultante da partícula em um ângulo α , proporcional à duração do pulso (τ), de acordo com a Equação 9:

$$\alpha = \gamma B_1 \tau \quad (9)$$

Geralmente α é igual a 90° ou $\pi/2$ radianos, o qual é atingido no tempo de microssegundos. Quando o pulso é terminado, os núcleos começam a relaxar e retornar às suas posições de equilíbrio. O intervalo entre pulsos é tipicamente de um até vários segundos, durante o qual o sinal de radiofrequência no domínio de tempo, chamado de sinal de decaimento livre de indução (FID), é emitido pelos núcleos à medida que eles relaxam, sendo então detectado.

Pequenas diferenças na frequência de absorção do núcleo podem ocorrer devido ao seu ambiente químico, isto é, por elétrons e núcleos próximos. Esse efeito é causado por pequenos campos magnéticos gerados pelos elétrons que circulam ao redor dos núcleos. Como consequência, os núcleos estão expostos a um campo efetivo um pouco menor que o campo externo, conforme a Equação 10:

$$\mathbf{B}_{\text{efetivo}} = \mathbf{B}_0 - \sigma \mathbf{B}_0 = (1-\sigma) \mathbf{B}_0 \quad (10)$$

Onde:

σ = constante de blindagem

A Equação 9 pode ser reescrita em termos de frequência ν , na condição de ressonância, dando origem a Equação 11:

$$\nu = \frac{\gamma \mathbf{B}_0 (1-\sigma)}{2\pi} = \nu_0 (1-\sigma) \quad (11)$$

Observa-se que ν é dependente de $\mathbf{B}_0$. Normalmente é utilizado um padrão de referência interno com constante de blindagem maior do que para a maioria dos núcleos. Isso é feito para padronizar os espectros adquiridos em espectrômetros com diferentes valores de $\mathbf{B}_0$. As frequências são expressas em termos de uma quantidade empírica, chamada de deslocamento químico (δ), como apresentado na Equação 12:

$$\delta = \frac{(v_a - v_p) \cdot 10^6}{v_p} \quad (12)$$

Os subíndices **a** e **p** estão relacionados à amostra e ao padrão, respectivamente. Apesar de ser desnecessário, é freqüente o uso de ppm (em alusão a 10^6) como unidade de δ (SILVERSTEIN *et al.*, 1991).

Aparecem alguns problemas experimentais nos resultados dos espectros de RMN quando se utiliza a técnica de transformada de Fourier: i) as linhas aparecem extremamente alargadas em dezenas de Hz pelas interações dipolares magnéticas (homo e heteronucleares) e quadrupolares; ii) o deslocamento químico anisotrópico leva a um complexo alargamento de linha (kHz); iii) em sólidos os núcleos atômicos apresentam tempos de relaxação spin-rede muito longos, particularmente núcleos raros, como o ^{13}C , onde γ é pequeno e a abundância natural é muito baixa (CAMPOS, 2004).

Em função desses problemas, as linhas apresentam baixa intensidade, dado ao longo tempo que o processo requer do instrumento, pois o processo requer longo tempo do instrumento. No intuito de contornar esta situação, foram desenvolvidas as técnicas de desacoplamento (DEC), rotação da amostra em torno do ângulo mágico (MAS) e polarização cruzada (CP).

O espectro de RMN, desta forma, é representado pelas frequências dos picos de absorção e suas intensidades. Os principais grupos funcionais encontrados quando se empregou RMN de ^{13}C em estado sólido em substâncias húmicas estão apresentados na Tabela 1

Tabela 1. Principais grupos funcionais detectados por RMN ^{13}C para as substâncias húmicas (MALCOLM, 1990; SENESI & MIANO, 1995; LU *et al.*, 2000; CAMPOS, 2004; SANCHES, 2005)

Máximo Pico (ppm)	Origem do Sinal
32 – 33	carbono associado a grupos metileno $(\text{CH}_2)_n$ em longas cadeias alifáticas; carbono parafínicos
57 – 59	carbonos alifáticos em grupos metoxílicos (OCH_3) e nitrogenados (aminoácidos, peptídeos e proteínas)
73 – 75	Carbonos alifáticos ligados a grupos éter e OH (carboidratos).
131 – 133	carbono de anéis aromáticos ligados a grupos alquilas e não a elementos eletronegativos como O e N.
156	carbonos fenólicos ou aromáticos, podendo ter também contribuição de carbonos aromáticos contendo nitrogênio ou grupos éteres.
176	carbono em grupos carboxílicos $(-\text{COOH})$
210	carbono de grupos carboxílicos de ésteres e amidas.

2.7.6 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica Nuclear (EPR)

No Brasil, o uso desta técnica de avaliação qualitativa da matéria orgânica é recente, tendo os primeiros resultados publicados na década de 1990. MARTIN-NETO *et al.* (1991); BAYER *et al.* (1997).

Esta técnica espectroscópica baseia-se na absorção de energia por elétrons desemparelhados em átomos, íons ou moléculas quando sujeitos à ação de um conjunto magnético externo, e pode ser aplicada a uma quantidade considerável de sistemas com amostras no estado sólido, líquido e gasoso (WERTZ & BOLTON, 1972).

Quando um campo magnético (H) de alta intensidade é aplicado sobre a amostra, as moléculas ali contidas ficam sujeitas ao efeito Zeeman (DAVYDOV, 1968) ocorrendo a separação dos níveis de energia que apresentam degenerescência. Esta separação de dá conforme a Equação 13:

$$\Delta E = g \beta H \quad (13)$$

Sendo:

β o magnéton de Bohr;

g o fator giromagnético do elétron que, neste caso, representa a mobilidade do elétron na molécula em análise.

O espectro de EPR é obtido através da aplicação de um fluxo de radiação de baixa energia (microondas), sobre esta fórmula. Este fluxo é ressonante com a transição eletrônica do sistema em estudo. A absorção de energia incidente, assim como a conseqüente transição do elétron desemparelhado, é detectada pelo equipamento na forma de um pulso elétrico.

Para o elétron “livre”, tem-se $g = 2,0023$. Numa situação qualquer é possível calcular o fator g pela expressão apresentada pela Equação 14:

$$g = 0,714487 \, v/H \quad (14)$$

A deslocalização do elétron desemparelhado sobre o núcleo do átomo resulta em uma interação hiper-fina entre o *spin* eletrônico (S) e o *spin* nuclear (I) que possibilita $2I + 1$ transições entre os níveis de energia que são detectados pelo equipamento na forma de $2I + 1$ picos no espectro de EPR.

Também se pode, a partir desse momento, observar interações superhiperfinas – entre o *spin* eletrônico (S) e o *spin* nuclear (I') – fazendo com que cada uma das possíveis transições, isto é, cada um dos picos do espectro de EPR se subdivida em $2I' + 1$ sinais. Através dos parâmetros fator **g**, largura de linha, intensidade do sinal, número de linhas do espectro e separação entre linhas, pode-se obter informações sobre a estrutura química dos compostos em estudo e as transformações as quais são submetidas.

A estabilidade do radical livre no solo tem sido identificada através da EPR. A espectroscopia de ressonância paramagnética nuclear é usada para identificar radicais livres semiquinona e metais de transição nas substâncias húmicas (MARTIN-NETO *et al.*, 1998). O número de radicais livres semiquinona é quantificado e é relacionado com o grau de humificação das substâncias húmicas. Seu valor pode mudar quando: i) varia-se o pH da amostra em solução; ii) as substâncias húmicas são submetidas ao processo de hidrólise ácida; iii) altera-se a temperatura; iv) há processo redox; v) as substâncias húmicas são irradiadas por luz UV (SENESI, 1990).

As semiquinonas podem ser produzidas pela redução de quinonas ou por oxidação de fenóis e ânions semiquinonas e são formadas, sob condições alcalinas, como apresenta a Figura 10.

Figura 10. Esquema de estabilização do radical semiquinona (SCHINITZER, 1991).

Os espectros de EPR de ácidos fúlvicos e ácidos húmicos possuem características comuns, apresentando sinal de radical livre em $g = 2,00$. Uma segunda característica é a linha assimétrica que surge em $g = 4,2-4,3$ que é atribuída ao íon Fe^{+3} (alto spin), ligado ao ácidos fúlvicos e ácidos húmicos em sítio tetraédrico ou octaédrico em um campo cristalino de simetria cúbica. A EPR é uma das poucas técnicas que pode fornecer informações estruturais, sem artefatos ou condições experimentais restritivas para amostras como substâncias húmicas.

3. OBJETIVOS

- Relacionar as características das substâncias húmicas do solo com o seqüestro de carbono em área de floresta em clímax, em área moderadamente antropizada, bem como em área intensamente antropizada, ambientes de Influência da Rodovia BR-163-Cuiabá-Santarém, na Amazônia brasileira.

- Extrair, fracionar e caracterizar as substâncias húmicas oriundas dos referidos ambientes, empregando-se as técnicas: espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR); análise elementar; espectroscopia de fluorescência de luz no UV/Visível; espectroscopia de absorção de Luz no UV/Visível; espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN); espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica nuclear (EPR).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Caracterização da Área de Estudo

A Amazônia pertence às grandes regiões naturais do planeta e destaca-se não somente por estar localizada na faixa equatorial, mas também pela pujança de seu aspecto natural. Grande parte dela mantém-se quase perto do nível do mar e está predominantemente coberta por uma massa vegetal exuberante que se estende continuamente de leste a oeste.

A paisagem, bastante uniforme, recua desde a foz do rio Amazonas até mais além do território brasileiro, mascarando, por vezes, os contrastes

existentes no meio físico, ditados por uma variação bastante ampla de tipos de relevos e de uma rede de afluentes que correm do norte para o sul e do sul para o norte, formando a maior rede hidrográfica do mundo.

A área adotada para a realização deste estudo foi a sub-área calha do Amazonas (Santarém), a qual ocupa o extremo Norte do Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Área de Influência da BR-163-Cuiabá-Santarém, pertencente à Mesorregião Norte.

O motivo da escolha da área de estudo, deve-se ao fato de a mesma conter uma Unidade de Conservação, a Floresta Nacional do Tapajós (Flona-Tapajós), apresentando floresta em clímax, bem como o município de Santarém, que é o pólo irradiador da dinâmica ocupacional sentido norte-sul da rodovia. O município de Santarém, por sua vez, contém área de plantio tradicional, considerada ambiente moderadamente antropizado e, ainda, área intensamente antropizada, já contendo o avanço do plantio da soja. Ou seja, as características intrínsecas desta área representam, em uma escala menor, o que ocorre na vasta área do plano.

A área apresenta uma superfície de 359.200 km² e população de 835.400 habitantes (IBGE, 2002). O processo de ocupação da região remonta ao século XVIII, quando se instalaram nas margens do Rio Amazonas as primeiras povoações portuguesas. A origem de Santarém é desta época. A consolidação desta ocupação, contudo, só viria ocorrer no final do século XIX, com a exploração da borracha.

É significativa a presença de áreas protegidas localizadas em torno de Santarém e ao Norte da sub-área, sendo as mais extensas ao Norte de

Santarém, com presença de terras indígenas e reservas extrativistas. Constitui-se esta sub-área na mais populosa de toda a área de abrangência. A densidade demográfica é de 2,33 habitantes/km², sendo Santarém o município mais populoso da sub-área e de toda a área do Plano (272,2 mil hab) (IBGE, 2002).

Santarém vem tendo seu poder de comando fortalecido pela perspectiva da pavimentação da BR-163. Não só aí se instalou o terminal graneleiro da multinacional Cargill, como também uma quantidade de empresas imobiliárias que estimulam a venda de terras e o direcionamento para a produção da soja. Santarém é, também, o segundo porto mais importante de embarque de madeira para exportação na Amazônia, devendo ganhar importância nos próximos anos devido ao crescimento da produção na região.

A atividade florestal se concentra fortemente na região de Santarém, em especial na margem direita da BR-163, no lado oposto da Floresta Nacional - Flona Tapajós, onde a existência de extrativismo ilegal de madeira é, ainda, comum; visto que os proprietários de caminhões transportadores de madeira preferem atravessar a BR-163 no período da noite, com intuito de escapar das fiscalizações.

A Floresta Nacional - Flona Tapajós, por sua vez, foi criada através do Decreto N.º 73.684 de 19 de fevereiro de 1974, com aproximadamente 600.000 ha. Encontra-se totalmente localizada no oeste do estado do Pará. Seu limite norte confronta-se com a área rural do município de Belterra; a oeste com a margem esquerda do rio Tapajós; a leste o limite é a rodovia BR-163 e ao sul a área rural do município de Rurópolis. Portanto, abrange parte das áreas dos

municípios de Belterra, Aveiro, Rurópolis e Placas. A jurisdição da Flona-Tapajós, atualmente, está a cargo do Instituto Chico Mendes, órgão do Governo Federal responsável pelo gerenciamento de Unidades de Conservação.

4.1.1 Características do Solo

O solo predominante nesta região é o Latossolo Amarelo (VIEIRA & SANTOS, 1987; EMBRAPA, 2006). Esta classe de solo apresenta-se com ou sem saturação elevada de alumínio; é composta predominantemente a partir das Formações de Barreiras e Solimões - do Terciário/Quaternário - com um relevo plano a ondulado, sob cobertura vegetal dominante de floresta densa.

São solos profundos e bastante envelhecidos, podem ser de texturas médias a muito argilosos, onde a argila está em alto grau de floclulação, talvez influenciado pela sub-dominância dos óxidos de ferro na fração argilosa que inclusive atuam como elementos aglutinantes dos microagregados nos Latossolos. Não apresentam cerosidade em profundidade ($B/A < 1,20$); possuem capacidade de troca catiônica com valores médios variando de 5,31 a 11,30 meq/100g no horizonte A e de 2,68 a 4,83 meq/100g no horizonte B.

Devido ao tipo do seu material parental os minerais primários dificilmente se fazem presentes. Possuem relação silte/argila com média variando entre 0,16 e 0,52 no horizonte A e entre 0,12 e 0,42 no horizonte B; possuindo também Fe_2O_3 livre.

4.1.2 Clima

O estudo do clima da sub-área calha do Amazonas (Santarém), apresenta especial interesse tendo em vista a importância ambiental e sócio-econômica da região, bem como a necessidade de se ter informações climatológicas seguras que possam ajudar na sua compreensão.

Muitos estudos sobre o clima da Amazônia têm sido realizados, no entanto, tem contemplado, em grande parte, os fenômenos meteorológicos, tais como a temperatura do ar e a precipitação pluviométrica, deixando a desejar no que diz respeito à questão da quantidade de água, que normalmente falta ou excede à capacidade de retenção na região das raízes das plantas.

De acordo com a classificação geral de KÖPPEN, o clima da região - sub-área calha do Amazonas (Santarém), onde as coletas de solo foram realizadas – é denominado de Clima chuvoso Ami (quente úmido, com 3 meses de seca). Embora sejam considerados estes três meses de seca, não existem verão nem inverno estacional, o regime pluviométrico anual define uma estação seca, porém com total pluviométrico suficiente para manter este período.

A temperatura média dos meses nunca alcança valores inferiores a 18°C, limite abaixo do qual não é possível, normalmente, o desenvolvimento de certas plantas tropicais.

A região englobada por esses climas constitui o domínio da chamada região megatérmica, que exige temperatura constantemente alta e chuvas abundantes. A Figura 11 apresenta o clima da sub-área calha do Amazonas

(Santarém).

PLANO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL PARA A ÁREA DE INFLUÊNCIA DA BR-163

CLIMA

3.3

Figura 11. Clima da sub-área calha do Amazonas (Santarém), de acordo com o IBGE, 2004.

4.1.3 Condições Gerais de Temperatura e Umidade do Ar

A área em estudo, a exemplo de toda a região amazônica, é dotada de uma grande diversidade de regimes térmicos que compreendem temperaturas médias anuais que estão, em geral, entre 22,9°C e 27,9°C, com temperaturas nunca inferiores a 18°C. A temperatura máxima atinge valores médios entre 29,8°C e 34 °C.

A umidade do ar é bastante elevada e aparece com pequenas variações nas partes mais baixas e mais chuvosas da região, principalmente nesta área, onde atinge 91% (umidade relativa do ar). É bom lembrar que este fenômeno meteorológico está estreitamente relacionado com o regime pluviométrico, sendo, portanto, mais elevado na época das maiores chuvas.

4.1.4 Pluviosidade

A precipitação pluviométrica anual na área em estudo atinge valores bastante variáveis, oscilando de 1.071 mm a 3.654 mm, apesar dos regimes pluviométricos, para a mesma região, terem características semelhantes e bastante definidas em duas épocas, isto é, uma mais chuvosa e outra menos chuvosa.

De uma maneira geral, a época mais chuvosa ocorre normalmente a partir de dezembro ou janeiro e tem a duração de cinco a seis meses, sendo março e abril os meses mais chuvosos, apesar desse período poder variar, em decorrência da maior atuação das massas de ar: a Zona Intertropical de

Convergência no sentido norte-sul; e a massa Equatorial Continental, na parte central.

Durante a época menos chuvosa predominam as chuvas de caráter convectivo, geralmente de grande intensidade e curta duração. Este período de estiagem apresenta-se não uniforme, o qual é mais acentuado nas áreas mais elevadas e menos nas regiões próximas aos rios.

4.1.5 Vegetação

No bioma da Floresta Amazônica, os fatores biofísicos (chuvas, solos e relevo) propiciam a ocorrência de uma vegetação exuberante com maior aptidão para uso sustentável dos recursos florestais e conservação da biodiversidade.

As florestas densas e úmidas representam mais de um terço da área total de abrangência da rodovia BR-163, e se situam principalmente no Norte e Oeste do Pará e Leste do Amazonas. Já as florestas abertas cobrem quase um terço da área e ocorrem no Sul do Pará, principalmente entre os interflúvios dos Rios Xingu e Iriri. As florestas de transição aparecem no Mato Grosso, enquanto as florestas estacionais são restritas a manchas situadas na Serra do Cachimbo (Pará). Os tipos de vegetação não florestal se encontram em áreas de várzea, Cerrado e na Serra do Cachimbo.

A vegetação predominante na sub-área calha do Amazonas (Santarém), área focal escolhida para o estudo em questão, é a Floresta Ombrófila Densa Terras Baixas. Vegetação esta que tem uma influência muito importante na formação do solo, correlacionada com o estoque de matéria

orgânica, considerando que o carbono orgânico depende muito da quantidade de espécies vegetais que se encontram no solo.

4.2 Etapa de Campo do Estudo

4.2.1 Contexto da Realização das Coletas de Solo e Ambientes encontrados

Para a realização da etapa de estudo de campo, que tem como pré-requisito a obtenção da permissibilidade do acesso aos ambientes, com o objetivo de possibilitar a percepção do entorno e a realização das coletas, houve a necessidade de se estabelecer uma rotina, tomando por base a disposição para uma boa comunicação e contato com os atores envolvidos.

No caso do ambiente da Flona-Tapajós, um processo foi aberto junto a Gerência Executiva de Santarém do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, órgão então responsável pela jurisdição da Unidade de Conservação, expondo os motivos da pesquisa e requerendo permissibilidade para a realização das coletas.

O pedido foi aceito e concedida uma carta de permissão pelo órgão, que possibilitou o acesso à Unidade de Conservação; com o compromisso exclusivo de procedimentos relativos à pesquisa científica.

Nos espaços da sub-área calha do Amazonas (Santarém) longe dos centros urbanos, excetuando-se as áreas de Unidades de Conservação e Terras Indígenas, os diversos ambientes, quase sempre tem uma pessoa, (ou grupo de pessoas) que se apresenta como responsável, em que pese o fato da inexistência de titularidade legal.

Pode-se nem dizer que estes ambientes estão ocupados; pois o que se observa é uma pequena construção edificada, sempre em madeira, rodeada por vastas áreas de terra. Estes ambientes, ou são explorados por amazônidas agricultores tradicionais ou por pessoas que migraram de outras regiões, com intuito da adoção destes espaços como forma de satisfação de suas necessidades, para o uso da terra na manutenção de suas vidas e de suas famílias.

Neste sentido, procurando os “responsáveis” pelos ambientes (para, logicamente, não ter nenhuma surpresa desagradável) obteve-se a permissão para as coletas, sempre tendo o cuidado de expor a motivação científica da presente ação.

4.2.2 Coleta de Amostras de Solo

As amostras de solo foram coletadas no mês de janeiro de 2006, por ocasião do inverno amazônico. A coleta foi feita em três ambientes distintos, a saber:

- intensamente antropizado, já experimentando o avanço da cultura de soja, em área que sofreu desmatamento na década de 1980, apresentando-se extensivamente descampada;
- moderadamente antropizado, sendo usado para o cultivo de produtos da agricultura tradicional; onde o desmatamento existe, mas é, ainda, intercalado pela presença de árvores centenárias como castanheiras, dentre outras;

- floresta em clímax, considerada com intervenção antrópica nula, na área da Floresta Nacional do Tapajós – Flona Tapajós.

Para cada ambiente, as amostras de solo foram coletas em parcelas de 6 m de largura por 10 m de comprimento (60 m^2), seguindo o processo de amostragem ao acaso. Traçou-se uma linha reta ligando os ângulos opostos do retângulo formado pela parcela. O mesmo foi feito com os outros dois ângulos opostos. As duas linhas, ao se cruzarem, no centro geométrico do retângulo, formaram quatro triângulos. Traçaram-se, ainda, duas linhas retas ligando os pontos médios dos lados opostos da parcela, formando assim, oito triângulos. Desta forma, o centro geométrico da parcela foi escolhido como primeiro ponto de coleta, bem como os centros geométricos virtuais dos outros oito triângulos. Produzindo, assim, nove pontos de coleta em cada ambiente. Este procedimento foi adotado visando maior representatividade do ambiente, Figura 12.

Figura 12. Representação da vista superior de localização dos pontos de coleta em cada parcela dos ambientes: F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax).

As coletas foram realizadas em cada parcela, em uma profundidade de 0-40 cm. Após a coleta, os solos de cada parcela foram juntados entre si, devidamente acondicionados em sacos plásticos e, por sua vez, identificados (etiquetados).

Os três ambientes distintos de coleta - moderadamente antropizado, intensamente antropizado e floresta em clímax – compuseram, nesta seqüência, por convenção e para efeito deste estudo, três fases diferentes de Frações de substâncias húmicas do solo, a saber:

- Fase 2, correspondente ao ambiente intensamente antropizado, denominado: “F2 (intensamente antropizado)”;
- Fase 3, correspondente ao ambiente moderadamente antropizado, denominado: “F3 (moderadamente antropizado)”;
- Fase 4, correspondente ao ambiente de floresta em clímax, denominado: “F4 (floresta em clímax)”.

A Figura 13 apresenta a sub-área calha do Amazonas (Santarém), ocupando o extremo Norte do Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Área de Influência da BR-163-Cuiabá-Santarém, na Mesorregião Norte, com a localização dos pontos de coleta em cada ambiente.

PLANO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL PARA A ÁREA DE INFLUÊNCIA DA BR-163

MESORREGIÕES E SUB-ÁREAS

2.3

Figura 13. Mesorregiões da Área de Influência da Rodovia BR-163, com a sub-área calha do Amazonas (Santarém) em amarelo (GTI-Grupo de Trabalho Interministerial da BR-163). Localização dos pontos de coleta nos ambientes, sendo: **▲** F2 (intensamente antropizado), **▲** F3 (moderadamente antropizado) e **▲** F4 (floresta em clímax).

4.3 Preparo das Amostras para Extração de Substâncias Húmicas

Após a coleta, as amostras foram levadas ao laboratório e colocadas para secar a temperatura ambiente. Em seguida foi realizada uma limpeza manual para a retirada de raízes, bem como restos de plantas, sendo depois passadas em peneira de 0,5 mm de abertura de malha e homogeneizadas.

4.4 Extração, Fracionamento e Purificação das Substâncias Húmicas

O método clássico para extração de substâncias húmicas dos solos utiliza a solução de hidróxido de sódio. Esse método é bastante eficaz e produz excelentes resultados na extração das substâncias húmicas, podendo ser aplicado aos solos como os da Amazônia, e é considerado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) como sendo aceitável e adequado.

O procedimento de extração, que foi realizado até a exaustão, está representado no fluxograma da Figura 14.

Figura 14. Diagrama Simplificado do procedimento de Extração de Substâncias Húmicas sugerido pela IHSS (Adaptado de STEVENSON, 1994).

4.5 Caracterização das Amostras de Ácidos Húmicos

As amostras foram caracterizadas utilizando-se os procedimentos e técnicas:

- Determinação do teor em cinzas

Para a determinação do teor em cinzas das amostras, que foi realizada em duplicata, para cada uma das amostras compostas, foi submetida à calcinação 20 mg do material à temperatura de 600°C, por 2 horas, em mufla marca EDG, modelo 1800 - 3P. Os cadinhos utilizados foram previamente calcinados durante 2 horas a 800°C. As massas foram pesadas em uma balança eletrônica METTLER AE 200 (precisão de $\pm 0,5$ mg) e as massas registradas. Foi calculado o teor de matéria orgânica pela diferença de massa após a calcinação, considerando-se o resíduo final a matéria inorgânica. O teor de cinzas foi determinado pela Equação 15:

$$\% \text{ cinzas} = \frac{(m_1)}{(m_2)} \times 100 \quad (15)$$

Onde: m_1 = massa das SH após calcinação;

m_2 = massa das SH antes da calcinação.

O resultado final foi obtido a partir da media aritmética de experimentos em duplicata.

- Análise Elementar

As análises elementares foram realizadas pela Central de Análises Químicas e Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos, utilizando-se o aparelho CE Instruments EA 1110 CHNS – O, da marca Fisons, com detector de condutividade térmica.

Quantificou-se carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre (em percentagem em massa). As análises foram feitas em duplicata e o teor de oxigênio foi obtido pela diferença $[100 - (\%C + \%H + \%N + \%S)]$, descontando o teor de cinza de cada amostra (SIMÕES, 2005).

Os cálculos das razões atômicas H/C, O/C e C/N foram realizados a partir dos percentuais de C, H, N e O, usando-se o peso atômico de cada elemento. Aplicando sempre, e respectivamente, as percentagens e massa molecular de cada átomo, na razão conforme a Equação 16:

$$\text{H/C} = \frac{(\text{H\%/massa molecular do H})}{(\text{C\%/massa molecular do C})} \quad (16)$$

- Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia no infravermelho tem sido utilizada para identificar os grupos funcionais presentes nas substâncias húmicas. Informações sobre grupos funcionais como ácidos carboxílicos, aminas, hidróxidos, grupos alifáticos, dentre outros, podem ser obtidas a partir da utilização desta técnica. DAVIS *et al.* (1999).

Os espectros de infravermelho foram obtidos a partir das pastilhas de KBr (brometo de potássio), sendo que 1,0 mg da amostra das substâncias húmicas e 10,0 mg de KBr foram colocados em um almofariz de ágata, para o preparo da pastilha a ser analisada. As análises foram realizadas em espectrômetro com transformada de Fourier, da marca BOMEM MB-102, pertencente ao Laboratório de Espectroscopia da Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos-SP. Foram realizadas 16 varreduras, com resolução espectral de 4 cm^{-1} .

- Espectroscopia de Fluorescência de Luz no UV/Visível

Os espectros característicos de fluorescência das substâncias húmicas representam a soma das respostas dos diferentes fluoróforos nelas presentes. Assim, essa técnica espectroscópica tem sido usada para elucidar não só os componentes das substâncias húmicas procedentes de diferentes origens, mas também, as suas principais propriedades funcionais (CHEN *et al.*, 2003).

A obtenção dos espectros de fluorescência se deu através da utilização de soluções de 20 mg kg^{-1} , preparadas por diluição a partir de soluções de 2 mg de amostra em 10 mL de NaHCO_3 (bicarbonato de sódio) $0,05\text{ mol L}^{-1}$, ajustados para pH 8. Os espectros foram adquiridos nos modos de emissão e excitação, de acordo com as metodologias propostas por ZSOLNAY *et al.* (1999); MILORI *et al.* (2002); KALBITZ *et al.* (1999).

Os espectros de emissão, segundo a metodologia proposta por ZSOLNAY *et al.* (1999); são obtidos com excitação de 240 nm, intervalo de varredura entre 300-700 nm e filtro de 290 nm. A determinação do índice de

humificação é realizada dividindo a área de emissão entre 570-640 nm (A_4), pela área de emissão entre 356-432 nm (A_1).

Segundo a metodologia proposta por MILORI *et al.* (2002), os espectros de emissão são obtidos com excitação em 465 nm, intervalo de varredura entre 480-700 nm e com filtro sempre aberto. A determinação do índice de humificação foi baseada na absorção em 465 nm (A_{465}), que corresponde à área total.

A partir da metodologia proposta por KALBITZ *et al.* (1999) são obtidos espectros de varredura sincronizada entre 300-520 nm, simultaneamente, com excitação e filtro sempre aberto, e diferença de $\Delta\lambda = 55$ nm (comprimento de onda). A determinação do índice de humificação é determinada a partir da razão entre as intensidades de fluorescência em 470 e 350 nm.

Para uma melhor interpretação da técnica de fluorescência utilizada, na Tabela 2 pode ser observado um resumo das metodologias aplicadas com suas principais características.

Tabela 2. Metodologias utilizadas aplicadas à técnica de fluorescência de Luz no UV/Visível

Metodologia	Modo de Aquisição	Parâmetros de Aquisição (nm)	Varredura (nm)	Filtro (nm)	Índice
ZSOLNAY <i>et al.</i> (1999)	Emissão	$\lambda_{exc}= 240$	300-700	290	$A_4/A_1=\text{Área}_{570-640}/\text{Área}_{356-432}$
MILORI <i>et al.</i> (2002)	Emissão	$\lambda_{exc}= 465$	480-700	Aberto	$A_{465}=\text{Área}_{total}$
KALBITZ <i>et al.</i> (1999)	Sincronização	$\Delta\lambda = 55$	300-520	Aberto	$I_4/I_3=\text{Int}_{470}/\text{Int}_{350}$

O espectrômetro de luminescência PERKIN ELMER LS-50B, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, em São Carlos-SP, foi o equipamento utilizado para a obtenção dos espectros.

•Espectroscopia de Absorção de Luz no UV/Visível

Pesou-se 2,0 mg das substâncias húmicas, a qual foi dissolvida em 100 mL de solução de NaHCO_3 (bicarbonato de sódio) $0,005 \text{ mol L}^{-1}$. Foi obtido um espectro na região do visível dessas soluções, anotando-se as absorbâncias obtidas nos comprimentos de onda de 465 nm (E_4) e 665 nm (E_6).

Utilizou-se um espectrofotômetro de absorção no UV/Visível HITACHI Modelo U3501. A razão E_4/E_6 é a razão entre as duas absorbâncias medidas nos comprimentos de onda de 465 nm e 665 nm. Estas medidas são

indicativas do grau de condensação aromática da estrutura. No comprimento de 465 nm tem-se a absorbância por grupos alifáticos e no comprimento de onda de 665 nm por grupos aromáticos.

- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises de RMN foram feitas no Instituto de Física de São Carlos (IFSC) - USP, utilizando um espectrômetro de RMN da marca VARIAN Unit INOVA, operando a uma frequência de 100 e 400 MHz para ^{13}C , respectivamente. Foi utilizada uma rampa de radiofrequência na polarização cruzada, velocidade de rotação da amostra em torno do ângulo mágico de 13 kHz e desacoplamento em alta potência (CP/MAS).

Desta forma, a técnica de rotação em torno do ângulo mágico é mais geral e serve para se obter espectros com resolução (distinguir entre os sinais dos diferentes grupos químicos). As substâncias húmicas foram caracterizadas em estado sólido. A estimativa das percentagens dos diferentes tipos de carbono foi obtida a partir da integração dos picos nas regiões específicas dos espectros (SWIFT, 1996).

As percentagens de alifaticidade e aromaticidade foram calculadas a partir das áreas dos espectros segundo STEVENSON (1994), de acordo com as Equações 17 e 18 para as percentagens de alifaticidade e aromaticidade, respectivamente.

$$\text{Alifaticidade \%} = \frac{\text{Área dos sinais de C alifático 0-100 ppm}}{\text{Área dos sinais de C 0-160 ppm}} \times 100 \quad (17)$$

$$\text{Aromaticidade \%} = \frac{\text{Área dos sinais de C aromático 110 a 160 ppm}}{\text{Área dos sinais de C 0-160 ppm}} \times 100 \quad (18)$$

•Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica Nuclear (EPR)

As medidas de EPR foram realizadas segundo a metodologia de MARTIN NETO *et al.* (1991). Utilizou-se uma potência de microondas de 0,2 mW, amplitude de modulação de 1 G_{pp} (Gauss pico a pico), frequência de modulação de 100 kHz, 16 varreduras e temperatura ambiente. Foram colocados 20 mg de amostra em tubos de quartzo de 3,5 mm de diâmetro interno. As amostras foram medidas em balança eletrônica com precisão de ±0,05 mg.

A quantificação do número de radicais livres do tipo semiquinona foi obtida pela área dos sinais do radical livre através da integral dupla do espectro de EPR, usando o rubi como padrão secundário (SINGER, 1959, MARTIN NETO *et al.*, 1991) e utilizando uma aproximação em que a densidade de spin foi considerada proporcional à intensidade e ao quadrado da largura de linha ($I \times \Delta H^2$) (POOLE & FARACH, 1972). As quantidades de radicais livres do tipo semiquinona foram determinadas normalizando-as pela massa ou conteúdo de carbono.

As medidas de radicais livres do tipo semiquinona foram realizadas usando espectrômetro de EPR Bruker, EMX uma cavidade retangular, banda X (~9,0 GHz), pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, em São Carlos-SP.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das Substâncias Húmicas a partir das Técnicas Utilizadas

5.1.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho tem sido utilizada para caracterizar as substâncias húmicas fornecendo informações estruturais e funcionais das moléculas que as compõem. Na Figura 15 estão apresentados os espectros de IV para cada uma das fases dos ambientes estudados.

Figura 15. Espectros de IV para F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax).

Para melhor compreensão dos espectros de infravermelho apresentados na Figura 15, apresenta-se a Tabela 3, na qual estão discriminadas as principais bandas que são características das substâncias húmicas com suas possíveis atribuições.

Tabela 3. Principais bandas observadas na região do infravermelho nas substâncias húmicas e suas possíveis atribuições (RICCA *et al.*, 2000)

Bandas	Atribuições
3500 – 3300	Estiramento de OH carboxílico, fenol, álcool ou água
2900 – 2850	Estiramento de C–H alifático
~1720	C=O de ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas
~1640	Estiramento de C=O de COO ⁻ aromáticas, cetonas ou C=C conjugado com COO ⁻ ou amidas II
~1583	Estiramento de C=C de aromáticos e amidas NH ₂ ou NH
~1450	Deformação de C–H alifático de grupos CH ₂ ou CH ₃ , ou composto de N e/ou S
1408	Deformação de C–H alifáticos; estiramento assimétrico de COO ⁻
1150 – 1050	Presença de Si–O
1100 – 1040	Estiramento C–O de polissacarídeos
890 – 820	Composto de Si–O, Si–H e P–O
~770	Estiramento de cadeias alifáticas

Analisando-se os espectros apresentados na Figura 15 e comparando com a Tabela 3, verifica-se alguns picos característicos das substâncias húmicas. Observa-se que, para todos os ambientes estudados, o resultado de IV das substâncias húmicas do solo das mencionadas Fases - F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax) - apresentaram uma banda larga e intensa, muito peculiar, centrada

em torno de 3419 cm^{-1} , que é atribuída a uma superposição de bandas, as quais estão relacionadas com o estiramento de O-H de grupamentos carboxílicos, fenólicos, álcoois e da água ligada (CAMPOS *et al.*, 2007).

Nas Fases F2 (intensamente antropizado) e F4 (floresta em clímax), observa-se o aparecimento de duas bandas na região de $3000\text{ a }2900\text{ cm}^{-1}$, que são atribuídas, respectivamente, aos estiramentos anti-simétrico e simétrico de C-H dos grupos alifáticos (SANCHES *et al.*, 2007; PRADO & REZENDE, 1999).

A banda intensa observada para as substâncias húmicas do solo de todas as Fases na região de 1600 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$ do anel, e às vibrações do esqueleto aromático. Esta banda também pode ser atribuída ao estiramento anti-simétrico do grupo carboxilato $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ e ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{O})$ do grupo COOH, devido ao H ligado ao grupo OH em posição orto, como no ácido salicílico (BARROS *et al.*, 1999; SILVERSTEIN, 1994).

Em todas as Fases das substâncias húmicas verificou-se uma banda na região de $1370\text{-}1390\text{ cm}^{-1}$ que pode ser atribuída tanto à deformação $\delta(\text{OH})$, quanto ao estiramento $\nu(\text{C}-\text{O})$ de grupos fenólicos e também ao estiramento anti-simétrico de COO^- .

Fazendo-se um comparativo das bandas observadas de IV das substâncias húmicas do solo para os três ambientes - F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax), percebe-se um aumento gradativo da indefinição destas bandas. O ambiente 4 - F4 (floresta em clímax) possui os espectros com as bandas mais indefinidas,

isto se atribui ao aumento potencial na complexidade das estruturas das substâncias húmicas presentes neste meio, o que se pode inferir que ambientes mais conservados, e por sua vez menos impactados, possuem características estruturais de humificação intensificados e de conformação mais complexos e mais difíceis de serem identificados pela técnica espectroscópica de IV.

As bandas na região de 1000 a 110 cm^{-1} são referentes aos estiramentos de C-O de carboidratos e álcoois e ainda às vibrações de ligações C-C de alifático ou C-H de anéis aromáticos. Esses resultados estão de acordo com os encontrados para substâncias húmicas oriundas de solo turfoso (CAMPOS *et al.*, 2007).

5.1.2 Análise Elementar

A análise elementar foi feita com o objetivo de se conhecer as percentagens de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N), oxigênio (O) e enxofre (S) que fazem parte da macromolécula das substâncias húmicas. A Tabela 4 apresenta a composição elementar e as razões atômicas H/C, O/C e C/N.

Tabela 4. Composição elementar das frações com as razões atômicas dos elementos para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

Frações	Massa %					Razões atômicas		
	C	H	N	O*	S	H/C	O/C	C/N
Fase 2	15,59	3,41	1,46	79,54	0	2,62	3,83	12,46
Fase 3	22,24	3,27	1,23	73,26	0	1,76	2,47	21,10
Fase 4	28,17	3,82	2,23	65,78	0	1,63	1,75	14,74

* A percentagem de oxigênio foi calculada por diferença.

Observa-se pela Tabela 4 que os valores da composição elementar e das razões atômicas foram diferentes em todas as Fases, o que demonstra que os três ambientes - F2 (intensamente antropizado); F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax) - são diferentes, fato esse comprovado pelas características estruturais das substâncias húmicas presentes nestes sítios; e denota-se que o solo, para os três ambientes, possui capacidade de humificação diferenciada.

Verifica-se que ocorreu um aumento dos percentuais de C, N e H da Fase 2, passando pela Fase 3, indo até a Fase 4; enquanto que, para os percentuais de oxigênio ocorreu o inverso. BELZILE *et al.* (1997) sugeriram que com o aumento da massa molecular aparente, ocorre um aumento da percentagem de nitrogênio.

O aumento percentual de carbono das substâncias húmicas do solo entre as Fases 2 e 4, ambiente intensamente antropizado (15,59%) e de floresta em clímax (22,24%), respectivamente, foi de 80,69%. Isto indica que o ambiente onde a interferência antrópica é considerada nula, converge muito

mais no impedimento de liberação de CO₂ para a atmosfera, contribuindo para a atenuação do efeito estufa.

Esse aumento percentual de carbono revela, ainda, que a floresta em clímax é o ambiente cuja concentração de carbono orgânico acontece de maneira mais acentuada, o que também contribui para evidenciar a relação entre a fixação do carbono orgânico no solo e a mitigação do efeito estufa.

A razão O/C diminuiu da Fase 2 para a Fase 4 (de 3,83 para 1,75), como pode ser observado na Tabela 4. Isto indica que a Fase 2 (ambiente intensamente antropizado) apresenta uma concentração relativamente alta de oxigênios ligados a grupamentos alquílicos e de ácidos carboxílicos (SANCHES *et al.*, 2007).

Segundo IBARRA & JUAN (1985), uma diminuição na razão O/C significa um aumento do número de anéis condensados; o que faz inferir que as substâncias húmicas do solo do ambiente F4 (floresta em clímax) encontram-se estruturalmente mais condensadas em relação às Fases 2 e 3.

Outra confirmação do grau de condensação dos anéis aromáticos é a razão H/C que foram F2 (intensamente antropizado): 2,62; F3 (moderadamente antropizado): 1,76 e F4 (floresta em clímax): 1,63; ou seja, valores que decrescem, o que indica que o ambiente F4 (floresta em clímax), por possuir a menor razão H/C, é formado por maior quantidade de anéis condensados. SANCHES *et al.* (2007) afirmam que quanto menor for essa razão H/C, maior a percentagem de anéis aromáticos.

A razão C/N é um indicativo da origem das substâncias húmicas em ambientes naturais. Razões C/N abaixo de 20 podem indicar que o processo

de humificação foi mais favorecido pela atividade microbiana de acordo com NELSON *et al.* (1994), como se verifica para F2 (intensamente antropizado): 12,46 e F4 (floresta em clímax): 14,74. Para razões C/N acima de 20 acredita-se que a maior contribuição para a humificação do material seja a predominância de plantas vasculares (NELSON *et al.*, 1994), como pode se observar para a F3 (moderadamente antropizado).

Para as substâncias húmicas do solo da Amazônia para os três ambientes, F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax) foram nulos os percentuais de S (Enxofre), o que leva a inferir que, dentro da classificação do solo da região estudada (Latosolos Amarelo), a formação da matéria orgânica do solo, dos diferentes ambientes, deu-se com interferência desprezível do ciclo do enxofre.

5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência de Luz no UV/Visível

A fluorescência tem sido reconhecida como uma técnica relativamente simples, sensível e útil para o estudo estrutural e funcional de amostras como, por exemplo, as de ácidos húmicos.

As principais vantagens dessa técnica são a alta sensibilidade e seletividade, pois somente aqueles grupos funcionais que fluorescem podem ser observados. Com isso, o uso dessa técnica nos estudos sobre substâncias húmicas está apoiado pela presença estável de várias estruturas fluorescentes intrínsecas às moléculas húmicas e aos seus precursores, particularmente anéis aromáticos, fenóis e grupos quinona (SENESI *et al.*, 1991).

Características espectrais como posicionamento e o deslocamento das bandas, assim como intensidade e a largura, são informações úteis, às quais são correlacionadas com os atributos moleculares como tamanho molecular aparente, grau de policondensação e a presença de grupos funcionais, como carboxílicos e hidroxílicos, ligados aos anéis aromáticos.

A técnica espectroscópica de fluorescência é amplamente utilizada para avaliar o grau de humificação e complexidade das substâncias húmicas. Os espectros de fluorescência das substâncias húmicas do solo da Amazônia foram obtidos segundo a metodologia proposta por ZSOLNAY *et al.* (1999); MILORI *et al.* (2002) e KALBITZ *et al.* (1999), conforme descrito no item **4.5** (subitem •Espectroscopia de Fluorescência de Luz no UV/Visível), a fim de se obter informações sobre a humificação dos ambientes.

ZSOLNAY *et al.* (1999) estabeleceram que a irradiação ultravioleta UV, $\lambda = 240$ nm, provoca uma excitação geral das moléculas fluorescentes, quantificando a resposta de estruturas simples, como anéis aromáticos e estruturas mais complexas, condensadas e substituídas.

Essas moléculas, ao se tornarem mais condensadas e humificadas tenderão a exibir um deslocamento para um maior comprimento de onda, podendo, portando, ser associadas a sistemas insaturados conjugados (hidrocarbonetos aromáticos condensados de estrutura linear, tipo antraceno ou de estrutura cíclica como, por exemplo, pireno) e núcleos aromáticos altamente substituídos por C=O e COOH (SENESI, 1990, RIVERO *et al.*, 1998; OLK *et al.*, 1999).

Segundo ZSOLNAY *et al.* (1999) o índice de humificação é calculado pela razão entre as áreas do último quarto 570-640 nm pela área do primeiro quarto (356-432 nm) denominado índice A_4/A_1 .

Tabela 5. Índice de humificação de acordo com a metodologia proposta por ZSOLNAY *et al.* (1999) para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

Frações	Áreas		A_4/A_1
	A_4	A_1	
Fase 2	368,3151	4459,25487	0,082596
Fase 3	409,46988	2208,1756	0,185434
Fase 4	529,09417	1178,17526	0,449079

Segundo KALBITZ *et al.* (1999; 2000) o quociente das intensidades de fluorescências (áreas do último quarto 570-640 nm pela área do primeiro quarto 356-432 nm) denominado índice A_4/A_1 é uma medida de grau de humificação da matéria orgânica dissolvida. O aumento deste quociente indica um maior grau de policondensação e humificação.

Desta forma, estes resultados comprovam que as substâncias húmicas do solo da fração da Fase 4 – F4 (floresta em clímax), A_4/A_1 apresentou o maior valor (0,449079) o que indica que este ambiente possui matéria orgânica que se encontra em um maior grau de humificação quando comparado com os ambientes 3 e 2 (Fases 3 e 2), moderadamente antropizado e intensamente antropizado, respectivamente.

Os resultados de fluorescência das substâncias húmicas do solo, indicando um grau maior de policondensação e humificação, para o ambiente considerado de floresta em clímax, estão de acordo com os dados encontrados para a ressonância magnética nuclear (^{13}C), os quais indicaram que a matéria orgânica deste ambiente se encontra em um estágio mais acelerado de humificação, com maior grau de aromaticidade, quando comparado com os outros dois ambientes estudados.

Os resultados de fluorescência das substâncias húmicas do solo das Fases 2, 3 e 4, segundo a metodologia proposta por ZSOLNAY *et al.* (1999), são corroborados quando se utiliza a metodologia de MILORI *et al.* (2002), que consiste na excitação na região do azul ($\lambda_{\text{exc}} = 465 \text{ nm}$). Esta metodologia enfatiza que este comprimento de onda é altamente seletivo com estruturas mais complexas e intensamente substituídas, aos quais ocasionam deslocamentos batocrômicos nos espectros e cuja concentração é relacionada com o grau de humificação nos ácidos húmicos e isso pode ser verificado na Tabela 6.

Tabela 6. Índice de humificação de acordo com a metodologia proposta por MILORI *et al.* (2002) para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

Frações	A ₄₆₅
Fase 2	1266,8510
Fase 3	3543,6158
Fase 4	9046,0940

De acordo com a metodologia de MILORI *et al.* (2002), o índice de humificação do ambiente relativo à Fase 2 (intensamente antropizado), A₄₆₅ é 1266,8510; e cerca de 14% da Fase F4 (floresta em clímax), em que o valor de A₄₆₅ é 9046,0940. Analisando-se em termos de incremento do índice de humificação a partir do ambiente F2 (intensamente antropizado) para a fração de substâncias húmicas F4 (floresta em clímax) o resultado converge, portanto, em um aumento significativo, fazendo com que este ambiente contribua, em uma escala maior, na capacidade de retenção de carbono pelo solo, proporcionando uma contribuição significativa na mitigação do efeito estufa.

Os resultados quanto ao índice de humificação das substâncias húmicas do solo, ao se utilizar a metodologia de ZSOLNAY *et al.* (1999) e MILORI *et al.* (2002) são ratificados quando, para o experimento, utilizou-se a metodologia de KALBITZ *et al.* (1999). Tabela 7.

Tabela 7. Índice de humificação de acordo com a metodologia proposta por KALBITZ *et al.* (1999) para os ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

Frações	Áreas		A_{475}/A_{371}
	I_{371}	I_{475}	
Fase 2	29,954336	11,751954	0,392329
Fase 3	27,867699	37,776924	1.355581
Fase 4	I_{398} 43,123012	I_{475} 106,404785	I_{475}/I_{398} 2,467471

Nesta metodologia, com intuito de se obter uma maior acurácia nos resultados e em busca de um entendimento mais completo das características de humificação da matéria orgânica da Fase 4 – F4 (floresta em clímax), para tanto, utilizou-se o modo de aquisição de sincronização e, para as áreas, as intensidades de I_{475}/I_{398} , onde a razão da intensidade de fluorescência pode ser usada para medir o grau de policondensação e humificação da matéria orgânica do solo.

Obteve-se, portanto, para as substâncias húmicas do solo de F4 (floresta em clímax), $I_{475}/I_{398} = 2,467471$, indicando ambientes com matéria orgânica com elevado grau de humificação e policondensação e, ainda, aumento do número de núcleos aromáticos com um sistema conjugado insaturado capaz de exibir alto grau de ressonância. Estes resultados estão de

acordo com os encontrados por SANTOS (2006), ao estudar substâncias húmicas de diferentes tipos de solos.

Os gráficos com os resultados dos espectros de fluorescência, sendo intensidade de fluorescência (u.a) X comprimento de onda, utilizando-se as metodologias de ZSOLNAY *et al.* (1999); MILORI *et al.* (2002) e KALBITZ *et al.* (1999), estão representados nas páginas seguintes, Figuras 16 a 23, para os vários ambientes estudados.

Figura 16. Espectro de fluorescência para o ambiente intensamente antropizado, segundo a metodologia de ZSOLNAY *et al.* (1999).

Figura 17. Espectro de fluorescência para o ambiente moderadamente antropizado, segundo a metodologia de ZSOLNAY *et al.* (1999).

Figura 18. Espectro de fluorescência para o ambiente de floresta em clímax, segundo a metodologia de ZSOLNAY *et al.* (1999).

Figura 19. Espectro de fluorescência para o ambiente intensamente antropizado, segundo a metodologia de MILORI *et al.* (2002).

Figura 20. Espectro de fluorescência para o ambiente moderadamente antropizado, segundo a metodologia de MILORI *et al.* (2002).

Figura 21. Espectro de fluorescência para o ambiente de floresta em clímax, segundo a metodologia de MILORI *et al.* (2002).

Figura 22. Espectro de fluorescência para o ambiente moderadamente antropizado, segundo a metodologia de KALBITZ *et al.* (1999).

Figura 23. Espectro de fluorescência para o ambiente de floresta em clímax, segundo a metodologia de KALBITZ *et al.* (1999).

5.1.4 Espectroscopia de Absorção de Luz no UV/Visível

A relação E_4/E_6 corresponde à razão entre as absorbâncias em 465 nm e 665 nm. Esta relação é freqüentemente utilizada por muitos cientistas para a caracterização das substâncias húmicas (CHEN *et al.*, 1977). Esta razão está diretamente relacionada à condensação estrutural, sendo indicativo do grau de humificação, aromaticidade, massa molecular aparente e conteúdo ácido das substâncias húmicas (SWIFT, 1996).

Um baixo valor da razão E_4/E_6 , indica alto grau de condensação dos constituintes aromáticos, enquanto que, um alto valor de E_4/E_6 reflete em menor condensação e é resultante da presença de estruturas predominantemente alifáticas (SANCHES *et al.*, 2007).

A razão E_4/E_6 é influenciada pelo tamanho da molécula, pH do meio, pelo conteúdo de oxigênio, carbono, grupos carboxílicos, origem e idade das substâncias húmicas (STEVENSON, 1982).

Tabela 8. Valores das absorvâncias em 465 e 665 nm e valores da razão E_4/E_6 para as Fases das substâncias húmicas, sendo as Frações: F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

Frações	Absorvâncias		Razão E_4/E_6
	465 nm	665 nm	
Fase 2	0,00888	0,00125	7,10
Fase 3	0,01748	0,00565	3,09
Fase 4	0,01035	0,00455	2,27

Analisando-se os resultados da razão E_4/E_6 das substâncias húmicas do solo da Amazônia, apresentados na Tabela 8, verifica-se que as Fases 2 e 3, apresentam um maior valor da razão E_4/E_6 , 7,10 e 3,09, respectivamente, em relação à Fase 4 (2,27). Isto indica que a matéria orgânica do solo da Fase F4 (floresta em clímax) possui um maior número de estruturas aromáticas, encontrando-se em um estado de policondensação maior, em decorrência de um alto grau de humificação, em comparação a matéria orgânica do solo das Fases 3 e 2, que possuem tendência às estruturas alifáticas.

Estudos de CAMPOS *et al.* (2007) comprovaram que, no que diz respeito à razão E_4/E_6 , um maior valor desta razão significa um maior número de estruturas alifáticas e um menor número de estruturas aromáticas.

Estas evidências convergem na inferência de que o ambiente com floresta em clímax (considerado com intervenção antrópica nula) possui um grau de humificação maior, quando comparado com os ambientes moderadamente e intensamente antropizados. Estes dados são corroborados

pela menor razão H/C encontrada para F4 (floresta em clímax), durante a análise elementar, indicando que as substâncias húmicas do ambiente de floresta em clímax são formadas por maior quantidade de anéis condensados.

As substâncias húmicas do solo da Fase - F2 (intensamente antropizado) - apresentou o valor mais elevado da razão E_4/E_6 (7,10), o que leva a inferir que esta fração tem predisposição a apresentar menor quantidade de anéis condensados do que as outras Fases e, ainda, maior número de cadeias alifáticas, indicando matéria orgânica com menor quantidade de humificação.

Os estudos de SENESI & SCHNITZER (1977) são importantes, nesta comprovação, pois evidenciaram a relação entre o alto valor da razão E_4/E_6 e a predominância de estruturas alifáticas em relação às aromáticas. O valor elevado de F2 (ambiente intensamente antropizado): 7,10, - comparado com os outros dois ambiente moderadamente antropizado e de floresta em clímax - faz com que as características das substâncias húmicas desta área possuam cadeias alifáticas em quantidade maior e menor número de cadeias aromáticas, fatores que contribuem para a desagregação do solo.

A reduzida quantidade de anéis condensados, bem como humificação da matéria orgânica da área intensamente antropizada, atribui-se ao uso e ocupação do solo a que este ambiente foi submetido. A retirada da vegetação, com o desmatamento, provocou interferência na estrutura e composição das substâncias húmicas e no poder de retenção de carbono pelo solo, permitindo que o carbono existente seja liberado para o ambiente, na forma de CO_2 , o que faz contribuir com o incremento do efeito estufa.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por outros autores que estudaram as substâncias húmicas, de diferentes localidades, que também concluíram que a razão E_4/E_6 decresce com o aumento do grau de condensação (CHEN *et al.*, 1977).

5.1.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Na Figura 16, encontram-se apresentados os espectros de RMN CP/MAS de ^{13}C das amostras das substâncias húmicas.

Figura 24. Espectros de RMN CPMAS-TOSS para as amostras das substâncias húmicas, contendo as Fases: F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

Os espectros de RMN de ^{13}C das frações das substâncias húmicas do solo da Amazônia não permitiram a identificação da sua estrutura, mas foi possível estimar a concentração relativa e tipos de carbonos alifáticos e aromáticos presentes.

Os espectros das substâncias húmicas geralmente podem ser divididos em quatro regiões químicas (LU *et al.*, 2000). A região de 0-50 ppm representa a ressonância de carbonos alifáticos, metil, metileno; a região de 50-100 ppm, carbonos alifáticos ligados a oxigênio ($-\text{OCH}_3$); a região entre 100-160 ppm carbonos aromáticos, e a região entre 160-220 ppm, carbonos carboxílicos, CO carboxílicos e CO de cetonas.

Analisando-se os espectros apresentados na Figura 24 das substâncias húmicas do solo, observa-se picos na região química dos alifáticos (0-50 ppm) que são atribuídos à ressonância de carbonos alifáticos (metil, metileno).

Os picos na região de 71 a 73 ppm são atribuídos às cadeias de polissacarídeos, como a celulose (MALCOM, 1990). Na região química dos aromáticos (90 -162 ppm) foram observados picos para todas as amostras.

A região de 140-160 ppm é referente à ressonância de carbonos aromáticos substituídos por oxigênio e nitrogênio, como fenóis, éteres aromáticos ou aminas. O pico na região de 194 ppm é atribuído a carbonos de aldeídos e cetonas (LU *et al.*, 2000). Nesta região foram observados picos menos intensos para as amostras.

De posse dos espectros de RMN das amostras das substâncias húmicas do solo da Amazônia foi realizada a integração desses espectros para cada região química, e o cálculo da percentagem dos vários grupamentos em cada Fase, Tabela 9.

Tabela 9. Resultados das percentagens em relação às várias regiões obtidas por integração dos espectros de RMN ^{13}C CPMAS-TOSS para as Frações dos ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

FRAÇÕES	REGIÕES QUÍMICAS (ppm)					
	C –	O –	C–	C–	C–	Cetonas
	Alquila	Alquila	Aromático	Fenólico	Cabonyl/Carboxyl	
	(0-50) %	(50-110) %	(110-150) %	(150-160) %	(160-200) %	(200-250) %
Fase 2	24,5	33,5	17,5	3,5	16,5	4,5
Fase 3	11,0	26,0	30,0	2,5	25,5	5,5
Fase 4	16,8	18,9	35,0	4,2	18,5	3,3

Analisando-se a Tabela 9, observa-se que as substâncias húmicas do solo da Fase 4 - F4 (floresta em clímax) apresentou uma maior percentagem de carbono aromático em relação aos demais sítios, o que indica um avançado estágio de humificação, típico de matéria orgânica de ambientes preservados.

Na região característica de carbonos ligados a cetonas e aldeídos (200-250 ppm) verifica-se uma menor percentagem relativa para a Fase 4 - F4 (floresta em clímax): 3,3%; isto confirma que, nesta amostra, a percentagem de grupos contendo oxigênio é menor do que nas outras amostras. CAMPOS

(2004) obteve, também, esse mesmo comportamento quando estudou substâncias húmicas de solos turfosos.

Estas observações são corroboradas pelos resultados da análise elementar desta fração de substâncias húmicas, onde para F4 (floresta em clímax) o percentual de oxigênio foi o menor de todos os ambientes estudados: 65,78%.

As substâncias húmicas do solo do ambiente F2 (intensamente antropizado) possuem uma maior percentagem de O-alquila, região de (50-110 ppm), o que indica que na composição destas substâncias que compõem este sítio há uma predominância da função éter em relação às demais áreas estudadas. Situação que demonstra que o ambiente referido – F2 (intensamente antropizado) - apresenta uma concentração relativamente alta de oxigênios ligados a grupamentos alquílicos e de ácidos carboxílicos. SANCHES *et al.* (2007) encontraram esse mesmo comportamento, ao estudaram substâncias húmicas de solo turfoso.

O ambiente relativo à Fase F2 (intensamente antropizado) possui maior percentagem de espectros na região (0-50) e (50-110), sendo relativos a C-alquila e O-alquilas, respectivamente. Isso pode ser em decorrência deste sítio conter substâncias húmicas com cadeias alifáticas, sendo ambiente tipicamente com tendência ao estado de interferência antrópica e perturbação, denotando matéria orgânica com menor capacidade de agregação, maior presença de fração lábil, menor humificação, indicando capacidade maior de contribuição com o aumento do efeito estufa.

5.1.6 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica Nuclear (EPR)

O sinal do radical livre orgânico das substâncias húmicas oriundas de solos, por exemplo, e detectável por EPR é atribuído aos radicais livres do tipo semiquinona. Quanto maior a concentração dos radicais livres do tipo semiquinona, maior a humificação da matéria orgânica. Estudos elaborados por SENESI, 1990; MARTIN-NETO *et al.*, 1991, 1998 comprovam os resultados encontrados neste estudo. Normalmente a maior humificação esta relacionada à formação de compostos aromáticos (KÖGEL-KNABER *et al.*, 1991).

Os resultados do EPR com os radicais livres do tipo semiquinona, bem como a largura de linha de Gauss são apresentados na Tabela 10, para as substâncias húmicas do solo dos três ambientes estudados.

Tabela 10. Resultados de radicais livres do tipo semiquinona e largura de linha de Gauss fornecidos por EPR para as frações de substâncias húmicas do solo dos ambientes F2 (intensamente antropizado), F3 (moderadamente antropizado) e F4 (floresta em clímax)

Frações	Radicais Livres do tipo semiquinona <i>spins</i> g ⁻¹ de C (10 ¹⁷)	Largura de Linha de Gauss
Fase 2	4,68	5,82
Fase 3	6,71	5,47
Fase 4	7,52	4,64

As frações das substâncias húmicas do solo dos três ambientes estudados, intensamente antropizado, moderadamente antropizado e floresta em clímax, apresentaram sinal de Fe^{+3} em g~4,3, esse comportamento é típico de complexo da matéria orgânica com ferro. As amostras denominadas Fase 2 e Fase 3 apresentaram baixa relação sinal/ruído, o que refletiu na baixa concentração de *spin*, quando comparada com a amostra da Fase 4 (floresta em clímax).

Foi observado, a partir dos resultados, que as substâncias húmicas do solo do ambiente F4 (floresta em clímax) apresentaram os maiores valores de radicais livres do tipo semiquinona (7,52), indicando características típicas de ambientes onde é elevada a humificação.

As substâncias húmicas do solo do ambiente F4 (floresta em clímax) apresentaram, também, os sinais com as menores larguras de linha de Gauss (4,64) o que corrobora a afirmação que a matéria orgânica destes sítios possui elevadas características de humificação, com a maior concentração de radicais livres do tipo semiquinona, sendo esses radicais mais protegidos em relação ao meio externo. Resultados de estudos de MARTIN-NETO *et al.* (2001); SPOSITO *et al.* (1996) também evidenciaram este mesmo comportamento, quando pesquisou amostras de ácidos húmicos de solo turfoso, verificaram que a maior concentração de radicais livres do tipo semiquinona estava associada a sinais com menor largura de linha, devido ao maior grau de humificação.

A largura de linha do sinal de EPR, desta forma, pode fornecer características adicionais dos radicais livres do tipo semiquinona. Estes resultados são ratificados por estudos de outros autores como POOLE &

FARACH (1972); MARTIN-NETO *et al.* (2001) ao estudarem substâncias húmicas de solo.

O comportamento do sítio F4 (floresta em clímax), em termos de resultado do EPR, indica que este ambiente pela maior concentração de radicais livres do tipo semiquinona e maior humificação permitem que o carbono orgânico possa penetrar nos perfis mais profundos do solo, facilitando a presença de fração húmica mais estável e menos lábil, elevando a biodiversidade do solo e, portanto, sua qualidade ambiental, proporcionando maior estabilidade dos complexos organominerais e, ainda, microagregados mais estáveis. O que produz, desta forma, situação favorável para o seqüestro de carbono, contribuindo para mitigar o aumento do efeito estufa.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca de conhecimentos sobre a composição, estrutura e dinâmica das substâncias húmicas em ambientes como o da Amazônia é de fundamental importância, pois oferece subsídios à compreensão do funcionamento do ciclo de carbono, que compõe áreas em equilíbrio (floresta em clímax), em ambientes onde existe moderado uso, assim como áreas que são submetidas ao intenso avanço antrópico, às quais vêm experimentando a chegada de novas culturas, com marcantes mudanças do uso do solo.

Os resultados do infravermelho (IV) das substâncias húmicas do solo do ambiente em clímax evidenciam que há uma maior sobreposição das bandas em relação aos outros ambientes. Essa característica pode ser interpretada, como sendo o indício de uma maior complexidade no arranjo conformacional destas estruturas, o que denota que estes sítios contêm matéria orgânica em elevado estado de humificação.

Os dados obtidos da análise por espectroscopia de fluorescência dos ácidos húmicos do solo amazônico, mostraram que o maior índice de humificação e policondensação é observado no material oriundo do solo de ambiente em clímax, para as três metodologias utilizadas, ao passo que a menor humificação do material orgânico foi observada nos sítios intensamente antropizados. Isto comprova que, quanto maior a interferência humana no ambiente, maior o prejuízo em relação à estruturação do solo. Pois as substâncias húmicas são responsáveis pela maior agregação do solo e pelo acréscimo da estabilidade dos complexos organominerais.

A razão E_4/E_6 das substâncias húmicas provenientes do solo amazônico, para os ambientes moderadamente antropizado, intensamente antropizado e de floresta em clímax são 7,10; 3,09 e 2,27, respectivamente. Quanto menor a razão E_4/E_6 - no caso o sítio de floresta em clímax - mais policondensado é o material orgânico e as estruturas aromáticas são predominantes, com maior quantidade de anéis condensados e, portanto, maior humificação. O que faz inferir que estes ambientes proporcionam, ainda, uma elevada capacidade de retenção de carbono orgânico, contribuindo junto à formação da fração húmica não lábil, bem como maior estabilidade dos complexos organominerais com microagregados mais estáveis, parcela significativa de contribuição no seqüestro de carbono e na mitigação do aumento do efeito estufa.

Os resultados de RMN de ^{13}C dos ácidos húmicos dos sítios de floresta em clímax apresentam maior percentagem (35,0%), na região química C-aromático (110-150 ppm), evidência da elevada presença de aromaticidade, policondensação e estado de humificação, típica de ambiente com ausência ou reduzida interferência antrópica. Onde as características das substâncias húmicas se traduzem por um elevado estado de condensação, proporcionando uma matéria orgânica no solo com aumento da biodiversidade, agregação e produtividade incrementada com melhoria da estrutura deste solo, condições favoráveis para o seqüestro de carbono no solo.

Ao se utilizar a técnica de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), o resultado da análise das substâncias húmicas do solo do ambiente em clímax apresentou maiores valores de radicais livres do tipo semiquinona (7,52), dentre os três ambientes estudados, bem como menor valor de largura de linha

de Gauss (4,64). As substâncias húmicas do solo do ambiente intensamente antropizado, por sua vez, apresentaram os menores valores de radicais livres do tipo semiquinona (4,68). Infere-se, portanto, que as substâncias húmicas de ambientes em clímax possuem um elevado grau de humificação, justamente pela maior concentração de radicais do tipo semiquinona, sendo estes radicais mais protegidos em relação ao meio externo. Ao passo que o ambiente antropizado tem o solo com substâncias húmicas com menor característica humificante, em função do menor número de radicais do tipo semiquinona apresentado, típico de ambientes submetidos à interferência antrópica e com perturbação.

As estruturas das substâncias húmicas verificadas neste estudo são de alta complexidade e dependem, fortemente, das condições pelas quais se processa a humificação. A reatividade entre as substâncias húmicas e os demais compostos orgânicos é relacionada à estrutura molecular deste material. Devido à heterogeneidade das substâncias húmicas há, portanto, a necessidade de estudos mais detalhados sobre a estrutura, composição e propriedades funcionais o que possibilitaria um melhor entendimento quanto aos mecanismos responsáveis pela sorção e manutenção do carbono orgânico no solo, variáveis importantes para a mitigação dos problemas relativos ao aumento do efeito estufa.

Sem a pretensão de ser conclusivo na abordagem do tema, este trabalho incentiva a adoção de métodos conservacionistas para a manutenção da qualidade edáfica e exalta a importância do solo da Amazônia como “celeiro de carbono”, fatores imprescindíveis para o equilíbrio climático do planeta. A quantidade de carbono orgânico estocada no solo da Amazônia, na hipótese de

que fosse totalmente transformada em CO₂ traria, rapidamente, conseqüências imprevisíveis para o ambiente, visto que contribuiria, sobremaneira, para o aquecimento global, em função do incremento do efeito estufa.

O dado preocupante é que, paulatinamente, está ocorrendo esta transformação, visto que os solos da Amazônia, com o intenso uso e ocupação a que estão sendo submetidos, principalmente nas últimas décadas, estão perdendo seu estoque de carbono e seu poder humificante. Como constatado por este trabalho, as substâncias húmicas dos solos submetidos a diferentes usos, apresentam perda das características humificantes, quando comparadas com a floresta em clímax.

Estes dados tornam-se ainda mais alarmantes quando se constata que, apenas o anúncio da possível pavimentação da Rodovia BR-163-Cuiabá-Santarém, desencadeou um vetor antrópico, originário de outras regiões do Brasil (principalmente da região centro-oeste) em direção a mesorregião calha do Amazonas, área que é o foco deste estudo. Este vetor, formado, em sua maioria por madeireiros e produtores de soja, intensificou a pressão sobre o uso do solo; situação potencializada nos últimos cinco anos como nunca antes observado.

A adoção de práticas de manejo conservacionista configura uma alternativa para a mitigação do efeito estufa, pois proporciona um maior retorno da biomassa ao solo, aumento da produtividade, elevação da biodiversidade e da qualidade ambiental do solo. Os denominados sistemas agroflorestais estão entre estas práticas e podem ser elencados como exemplos, pois trabalha o solo do ponto de vista da sua formação e composição, com manejo adequado, na qual árvores ou arbustos são utilizados em associação com cultivos

agrícolas e/ou com animais, permitindo que o carbono orgânico possa penetrar nos perfis mais profundos do solo.

Em áreas já colonizadas, estes sistemas destinam-se a ocupar espaços já desmatados e, preferencialmente, em vias de degradação. Em ambientes intensamente antropizados (como o verificado pelo estudo da Fase 2) este procedimento é indicado por apresentar uma alternativa em direção ao restabelecimento da capacidade humificante do solo.

Para o caso específico da área em estudo – Mesorregião Calha do Amazonas-Santarém – os sistemas agroflorestais representariam para os produtores uma alternativa para evitar o desmatamento e queima das áreas de florestas para o estabelecimento de novos plantios. Assim, sem a exigência constante da derrubada e queima da vegetação, deixa de ser emitida grande quantidade de gases de efeito estufa para a atmosfera.

Além disso, os sistemas agroflorestais podem armazenar muito mais carbono do que um cultivo ou roçado tradicional. A quantidade de vegetação de um sistema deste tipo é muito maior e sua capacidade de extrair o carbono do ar, por unidade de tempo, através da fotossíntese, à medida que a vegetação dos cultivos associados cresce, também é maior.

7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

-Realizar pesquisas com as substâncias húmicas aquáticas dos rios da Amazônia e a capacidade de humificação e retenção de carbono orgânico no solo antes e após o período das chuvas;

-Quantificar a eficácia dos sistemas agroflorestais para restauração e manutenção das características humificantes do solo amazônico em ambientes intensamente antropizados;

-Estudar a dimensão de eventos climáticos extremos na Amazônia (enchentes e secas) como consequência do aquecimento global e do aumento do efeito estufa;

-Analisar os prejuízos que as mudanças climáticas trazem para a biodiversidade amazônica, procurando compreender o seu funcionamento sob novas condições climáticas.

REFERÊNCIAS

ABBT-BRAUN, G. (1992). Spectroscopic characterization of humic substances in the ultraviolet and visible region and by infrared spectroscopy. In: MATTHESS, G. *Progress in hydro geochemistry*. Berlin: Springer-Verlag, p. 29-32.

ANDRIULLO, A. E.; GALANTINI, J.; PECORARI, C.; TORIONI, E. (1990). Organic soil material in the Pampas of Argentina. *Agrochemical*, v.34, n.5-6, p.475-489.

ARIMA, E.; VERÍSSIMO, A. (2002). *Brasil em Ação: Ameaças e Oportunidades Econômicas na Fronteira Amazônica*. Instituto do Homem e do Meio Ambiente-IMAZON. Série Amazônia Nº 19.

ATKINS, P. W. (1998). *Physical Chemistry*. 6 ed. Oxford, Oxford University Press.

BARROS, M.C.P.; PAULA, J.R.; REZENDE, M.O.O. (1999). Caracterização físico-química do ácido húmico de solo da ilha de Cananéia e de sua interação com Fe(III), Cu(II) e Cd(II). *Química Nova*, v.17, n.5, p.376- 380.

BAYER C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK J.; CERETTA, C. A. (1997). Fracionamento da matéria orgânica e sua avaliação qualitativa por EPR num solo submetido a dez diferentes sistemas de cultura em plantio direto. In: *SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA*. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária. p.115-121.

BAYER C.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S.C.; MIELNICZUK J. (2000).

Interferência da fração mineral na estimativa do grau de humificação da material orgânica em agregados organominerais por ressonância paramagnética eletrônica. *R. Bras. Ci. Solo*, v.24, p.11-17.

BEARE M. H. CABRERA, M. L. HENDRIX, P. F.; COLEMAN, D. C. (1994b).

Aggregated protect and unprotected organic matter polls in conventional-and no-tillage soils. *Soil Sci. Soc. A. J.*, v.58, p.787-795.

BEARE M. H. HENDRIX, P. F., COLEMAN, D. C. (1994a). Water-stable

aggregates and organic matter fractions in conventional-and no-tillage soils. *Soil Sci. Soc. A. J.*, v.58, p. 777-786.

BELZILE, N. JOLY, H. A.; LI, H. (1997). Characterization of humic substances

extracted from Canadian lake sediments. *Canadian Journal Spectroscopy*, v. 75, p. 14-27.

BELZILE, N; JOLY, H. A.; LI, H. (1997). Characterization of humic substances

extracted from Canadian lake sediments. *Canadian Journal Spectroscopy*, v. 75, p. 14-27.

BRASIL, (1992). *Convenção sobre Mudança do Clima: o Brasil e a Convenção*

Quadro das Nações Unidas. Editado e traduzido pelo Ministério da Ciência e Tecnologia com o apoio do Ministério das Relações Exteriores da República Federativa do Brasil.

BRASIL, (1999). *Efeito Estufa e a Convenção sobre Mudança do Clima:*

Ministério da Ciência e Tecnologia e Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social. Brasília: setembro.

CAMARGO, A. O. de, SANTOS, G. A.; GUERRA, J. G. M. (1999).
Macromoléculas e Substâncias Húmicas. In: *Santos, G. A. & Camargo, F.A.O.*
(Ed.). Fundamentos da matéria orgânica do solo ecossistemas tropicais e
subtropicais. Porto Alegre, Ed. Gênese. 49p.

CAMPOS de, S. X. (2004). *Influência das substâncias húmicas de diferentes
massas molares na coagulação, floculação e sedimentação no tratamento de
água*. 123p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos,
Universidade de São Paulo, São Carlos.

CAMPOS, C. (2001). *A conservação das florestas no Brasil: Mudança do Clima
e o Mecanismo de Desenvolvimento Limpo do Protocolo de Quioto*. Brasília.

CAMPOS, S. X., AZEVEDO, E. R., BONAGAMBA, T. J., VIEIRA, E. M.,
BERNARDO, L. D. (2007). Color removal by coagulation, flocculation and
sedimentation from water containing humic substances with different apparent
molecular sizes. *Journal of water: Research and Technology-AQUA*, 56.5, p.
327-333.

CARTA DE SANTARÉM (2004). *BR 163 Sustentável: programas, políticas e
projetos para a região*. Sustentabilidade Sócio Ambiental ao longo do Eixo
Cuiabá-Santarém. Encontro de Santarém, estado do Pará, 31 de março.

CARTA DE SINOP (2003). *BR 163 Sustentável: Desafios e Sustentabilidade
Sócio Ambiental ao longo do Eixo Cuiabá-Santarém*. Encontro de Sinop, estado
do Mato Grosso, 18 a 20 de novembro.

CHEN, J.; LEBOEUF, E.; DAI, S.; BAOHUA, G. (2003). Fluorescence
spectroscopic studies of natural organic matter fractions. *Chemosphere*, v. 50,
p. 639-647.

CHEN, Y.; SCHNITZER M. (1976). Scanning electron-microscopy of a humic -
acid and of a fulvic-acid and its metal and clay complexes. *Soil Science Society
of American Journal*, v. 40, p. 682-686.

CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHINITZER, M. (1977). Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios. *Soil Science Society of American Journal*, v.41, p.352-358.

CLAPP, C.E.; HAYES, M.H.B.; SWIFT. (1993). *Organic substances in soil and water natural constituents and their influences on contaminant behaviour*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.

CONTE, P.; PICCOLO, A. (1999). Molecular size humic substances. Supramolecular associations versus macromolecular polymers. *Advances Environmental Research*, v. 3, p. 511-521.

CÚPULA G-8 (2008). Cúpula do G-8, Realizada na cidade de Toyako, Japão <<http://g1.globo.com/Noticias/Mundo/0,,MUL639128-5602,00.html>>. Acessado em 12 jul. 2008.

DAI, K. H.; JOHNSON C. E. (1999). Applicability of solid-state ^{13}C /MAS NMR analysis in Spodosols: chemical removal of magnetic materials. *Geoderma*, v. 93, p.289-310.

DAVIS, W. M.; ERICKSON, C. L.; JOHNSTON, C. T.; DELFINO, J.J; PORTER, J. E. (1999). Quantitative Fourier Transform infrared spectroscopic investigation of humic substance functional group composition. *Chemosphere*, v. 39, p. 2913-2928.

DAVYDOV, A. S. (1968) .*Quantum Mechanics*, Pergamon Press, USA.

DIALLO, M. S.; SIMPSON, A.; GASSMAN, P.; FAULON, J. L.; JOHNSON, J. H.; GODDARD, W. A.; HATCHER, P. G. (2003). 3-D Structural modeling of humic acids through experimental characterization, computer assisted structure elucidation and atomistic simulations. *Environmental Science Technology*, v. 37, p. 1783-1793.

DICK, D.; BURBA, P.; HERZOG, H. (1998). Resumos do 9th International Humic Substances Society. *Livro de resumos*, p.75.

DNIT (2002). *Relatório de Impacto Ambiental da Pavimentação da BR163-PA e BR 230-PA*. Departamento Nacional de Infra-Estrutura de Transportes Ministério dos Transportes. 2ª Unidade de Infra-Estrutura Terrestre – Pará-Amapá. Ecoplan Engenharia. Brasília.

DUXBURY, J.M.; SMITH, M.S.; DORAN, J.M. (1999). Soil organic matter as a source and a sink plant nutrients. In: COLEMAN, D. C.; OADES, J.M; UEHARA, G. *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems*. Honolulu, University of Hawaii, 1989, p.33-67.

EFEITO ESTUFA (2008). Disponível em <<http://static.hsw.com.br/gif/ozonio-efeito-estufa.jpg>>. Acessado em 02 ago. 2008.

EMBRAPA (2006). *Zoneamento Ecológico-Econômico da Área de Influência da BR-163*. Centro de Pesquisas Agropecuária do Tropicó Úmido, Embrapa CPATU, Agência de Desenvolvimento da Amazônia-ADA, Ministério da Integração Nacional-MI, Belém-PA.

FEARNSIDE, P.M. (1989). Um modelo estocástico para a estimativa da capacidade de suporte humano em parte da área de colonização da rodovia Transamazônica. *Cadernos de Geociências*. v.3: 7-36.

FEARNSIDE, P.M. (1997). Greenhouse gas emissions from deforestation in Brazilian Amazon: net committed emissions. *Climate Change*, 35: 321-360.

FERREIRA, J. A.; MARTIN-NETO. L.; VAZ, C. M. P; REGITANO, J. B. (2002). Sorption interactions between imazaquin and a humic acid extracted from a typical Brazilian Oxisol. *Journal Environmental Quality*, v.31, n.5, p. 1665-1670.

FERREIRA, J. A.; NASCIMENTO, O. R.; MARTIN-NETO, L. (2001). Hydrophobic interactions between spin-label 5-SASL and humic acid as revealed by ESR spectroscopy. *Environ. Sci. Techol.*, v.35, p. 761-765.

FOLHA DE SÃO PAULO (2006). Redação: Protocolo de Quito completa um ano enfraquecido e sem os EUA. *Folha de São Paulo*, São Paulo. 16 fev. p. A12.

FRANCK, H. S.; EVANS, M. W. (1945). Free volume and entropy in condensed systems. III. Entropy and binary liquid mixture, partial molar entropy in dilute solutions; structure and thermodynamics in aqueous electrolytes. *J. Chem. Phys.*, v.13, p. 507-532.

GHOSH, K.; SCHINTZER, M. (1980). Macromolecular structures of humic substances. *Soil Sci.*, v.129, p.266-276.

GREENPEACE (2003). Pará - Estado de Conflito: Uma Investigação sobre Grileiros, Madeireiros e Fronteiras Sem Lei no Estado do Pará. In: *Relatório Greenpeace*.

GUNASEKARA, A.; SIMPSON, M.J.; XING, B. (2003). Identification and characterization of sorption domains in soil organic matter using structurally modified humic acids. *Environ. Sci. Techonol.*, v. 37, p.852-858.

HOUGHTON, R. (2000). Annual Fluxes of carbon from deforestation and regrowth in the Brazilian Amazon, *Nature*, 403: 301-304.

HOUGHTON, R.A.; LAWRENCE, K.T.; HACKLER, J.R.; BROWN, S. (2001). The spatial distribution of forest biomass in the Brazilian Amazon: a comparison of estimates. *Global Change Biology*, 7: 731-746.

IBARRA, J. V.; JUAN, R. (1985). Structural changes in humic acids during the coalification process. *Fuel*, v.64, p.650- 656.

IBGE (2000). *Atlas do Censo Demográfico*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro-RJ.

IBGE (2002). *Censo Demográfico*. Censo Demográfico Nacional do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro-RJ.

IBGE (2004). *Caracterização de Clima*. Caracterização do clima da sub-área calha do Amazonas (Santarém), Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro-RJ.

IPAM (2002). *Perguntas e respostas sobre mudanças climáticas*. IPAM – Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia. Impressão MGM Gráfica e Editora. Apoio Fundação Ford, Agência Americana para o Desenvolvimento Internacional (USAID) e Instituto Internacional de Educação do Brasil (IIEB).

IPCC; ONU (1997). *Impacts of Climate Change: an assessment of vulnerability*. Intergovernmental Panel on Climate Change - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas Regional. ONU – Organização das Nações Unidas.

IPCC; ONU (2000). *Land Use, Land Use Changes and Forestry*. Special Report. Intergovernmental Panel on Climate Change - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas Regional. ONU – Organização das Nações Unidas.

IPCC; ONU (2001a). *Third Assessment Report. Climate Change 2001: The Scientific Basis*. Intergovernmental Panel on Climate Change - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas Regional. ONU – Organização das Nações Unidas.

IPCC, ONU (2001b). *Climate Change 2001: Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Intergovernmental Panel on Climate Change - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas Regional. ONU – Organização das Nações Unidas.

ISRAELACHVILI, J. (1991). *Intermolecular and surface forces*. 2 ed. London: Academic, 450p.

JANOS, P.; TOKAROVA. V. (2002). Characterization of coal derived humic substances with the aid of low-pressure gel permeation chromatograph. *Fuel*, v.81, p.1025-1031.

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

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. (2000). A comparative characterization of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances. *Chemosphere*, v. 40, p. 1305-1312.

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

KONONOVA, M. M. (1966). *Soil organic matter. Its nature, its role, in soil formation and in soil fertility*. 2. ed. Oxford: Pergamon Press, 544 p.

KUCKUK, R.; BURBA, P (2000). Analytical fractionation of aquatic humic substances by metal affinity chromatography on iron (III) coated cellulose. *Fresenius Journal Analytical Chemistry*, v. 366, p. 95-101.

LAL (2004a). Soil Carbon Sequestration to mitigate climate Change. *Geoderma*, v. 123. p 1-22.

LAL (2004b). Soil Carbon Sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*, v 304, p.1623.

LAL, R. (2002). Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. *Environ. Poll.*, v.116, p. 353-362.

LAL, R.; KIMBLE, J. M. (1997). Conservation tillage for carbon sequestration. *Nut. Cycle. Agroecosys.*, v. 49, p.243-252.

LOMBARDI, A. T.; JARDIM, W. F (1997). The complexation of marine and terrestrial organic materials with copper (II) ions as determined by fluorescence quenching. *Chem. Speciat. Bioavail.*, v.9, n.1, p.1-8.

LOMBARDI, A. T.; JARDIM, W. F (1999). Fluorescence spectroscopy of high performance liquid chromatography fractionated marine terrestrial organic materials. *Wat. Res.*, v. 33, n. 2, p. 512-520, feb.

LU, X.Q.; HANNA, J. V.; JOHNSON, W.D. (2000). Source indicators of humic substances in elemental composition, solid state ^{13}C CP/MAS NMR and Py-GC/MS study. *Appl. Geochem.*, v.15, n.7, p.1019- 1033.

MACALADY, D.L. (1998). *Perspectives in Environmental Chemistry*. Oxford University Press, New York.

MALCOM, L. C. (1990).The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. *Analytical Chem. Acta*, v. 232, p. 19-30.

MARTIN-NETO, L.; NASCIMENTO, O. R.; TALAMONI, J.; POPPI, N. R. (1991). EPR of micronutrients-humic substances complexes extracted from brazilian soil. *Soil Science*, v.151, p. 369-376.

MARTIN-NETO, L.; ROSELL, R.; SPOSITO, G. (1998). Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. *Geoderma*, v.81, p.305- 311.

MARTIN-NETO, L.; TRAGHETTA, D. G.; VAZ, C. M. P.; CRESTANA, S. (2001). On the interaction mechanisms of atrazine and hydroxyatrazine with humic substances. *J. Environ. Qual.*, v.30, n.2, p. 520-525.

MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. *Soil Science*, v. 167, n. 11, p. 739-749.

MOREIRA, ADRIANA G.; SCHWARTZMAN (2000). *As Mudanças Climáticas Globais e os Ecossistemas Brasileiros*. STEPHAN (Ed.). Brasília: Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia, The Woods Hole Research Center, Environmental Defense.

MUELLER, T.C.; MOORMAN, T.B.; LOCKE, M.A. (1992); Detection of herbicides using fluorescence Spectroscopy, *Weed Sci.*, v.40, p.270-274.

NASCIMENTO, H.E.M.; LAURENCE, W.F. (2002). Total aboveground biomass in central Amazonian rainforests: a landscape-scale study. *Forest Ecology and Management*. 168: p. 311-321.

NASCIMENTO, O. R.; (2001). Hydrophobic interactions between spin-label 5-SASL and humic acid as revealed by ESR spectroscopy. *Environ. Sci. Technology*, v.35, p. 761-765.

NELSON, P. N., DICTOR, M. C., SOULAS, G. (1994). Availability of organic carbon in soluble and particle-size fractions from a soil profile. *Soil Biol. Biochem*, v. 26, p.1549-55.

OADES, J. M; GILLMAN, G.P.; UEHARA, G. (1989). Interaction of soil organic matter and variable charge clays. In: COLEMAN, D.C.; OADES, J.M; UEHARA, G. *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems*. Honolulu, University of Hawaii, cap.3, p.69-95.

OLK, D. C.; BRUNETTI, G.; SENESI, N. (1999). Organic matter in double – cropped lowland rice soils: chemical and spectroscopic properties. *Soil Science*, v. 164, n.19, p.633-649.

PERMINOVA, I. V.; GRECHISHCHEVA, N. Y.; PETROSYAN, V.S. (1999). Relationship between structure and binding affinity of humic substances for polycyclic aromatic hydrocarbons: relevance of molecular descriptors. *Environ. Sci. Technology*, v.33, p.3781-3787.

PICCOLO, A. (2001). The supramolecular structures of humic substances. *Soil Science*, v. 166, p. 810-832.

PICCOLO, A. (2002). The supramolecular structure of humic substances. A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, v. 75, p. 57-134.

PICCOLO, A.; CONTE, P.; SCHEUNERT, I.; PACI, M. (1998). Atrazine interactions with soil humic substances of different molecular structure. *J. Environ. Qual.*, v.27, p.1324-1333.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CANCHERI, G. (1996). Macromolecular changes of soil humic substances induced by interactions with organic acids. *European Journal Soil Science*, v. 47, p. 319-328.

POOLE, C.P.; FARACH, H. A. (1972). *The theory of magnetic resonance*. New York: John Willey. 452p.

PRADO, A.G.S.; REZENDE, M.O. (1999). Caracterização da turfa e dos ácidos húmicos das margens do Rio Mogi-Guaçu. *Anais da Associação Brasileira de Química*, v.48, n.4, p.186- 191.

PROTOCOLO (2008). Protocolo de Quioto – Kyoto Protocol. Disponível em <http://www1.folha.uol.com.br/folha/ciencia/2001-efeito_estufa-protocolo_de_kyoto.shtml>. Acessado em 12 jul.2008.

RICCA, G.; SEVERINI, F.; DI SILVESTRO, G.; YUAN, C.M.; ADANI, F. (2000). Derivatization and structural studies by spectroscopic methods of humic acids from leonardite. *Geoderma*, v. 98, p.115- 125.

RIVERO, C.; SENESI, N.; PAOLINI, J.; D'ORAZIO, V. (1998). Characteristics of humic acids of some Venezuelan soils. *Geoderma*, v. 81, p.227-239.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H., CARDOSO, A.A. (2004). *Introdução a Química Ambiental*. Porto Alegre: Bookman.

ROCHA, J. C.; ROSA, A.H. (2003). *Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas*. São Paulo: Editora UNESP, 120 p.

ROCHA, J. C.; SARGENTINI JUNIOR, É.; TOSCANO, I. A. S.; ROSA, A. H.; BURBA, P. (1999). Multi - method study on aquatic humic substances from the Rio Negro Amazonas state/ Brasil. Emphasis on molecular- size classification of their metal contentes. *Journal oh the Brazilian Chemical Society*, v. 10, p. 169-175.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. (2000). Substâncias húmicas de turfa: Estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. *Química Nova*, v. 23, p. 472-476.

ROSELL, R.; SPOSITO, G. (1998). Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. *Geoderma*, v.81, p.305- 311.

SALLOUM, M. J. CHEFETZ, B.; HATCHER, P. G. (2002). Phenanthrene sorption by aliphatic-rich natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, v. 36. p. 1953-1958.

SANCHES, S. M., CAMPOS, S. X., VIEIRA, E. M. (2007). Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares. *Eclética Química*, v. 32, n. 1, p.49-56.

SANTOS. L. M. (2006). *Dinâmica da matéria orgânica e destino de metais pesados em dois solos submetidos à adição de lodo de esgoto*. 129p. Tese (Doutorado). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

SCHINITZER, M. (1991). Soil Organic matter - The next 75 years. *Soil Science*, v.151, n.1, p.41-58.

SCHLEISINGER, W. H. (1997). *Biogeochemistry*. An analyses of global change. 2. ed. San Diego, Academic.

SCHNEIDER, S. H. (1998). *Laboratório terra: o jogo planetário que não podemos nos dar ao luxo de perder*. Rio de Janeiro: Rocco.

SCHNITZER, M., KHAN, S. U. (1972). *Humic substances in the environmental*. New York: Marcel Dekker.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. (1993). A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, v. 80, p. 29-30.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. (1995) Three-dimensional models for humic acids and soil organic matter. *Naturwissenschaften*, v. 82, p. 487-498.

SCHWARZENBACH, R.P.; GSCHWEND, P.M. IMBODEN, D.M. (1992). *Environmental Organic Chemistry*, New York: John Willey. 681p.

SENESI, N. (1990). Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acids and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Analytical Chem. Acta*, v. 232, n.51, p.77-106.

SENESI, N. (1990). Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metals ions and organic chemicals. Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Analytical Chem. Acta.*, v. 232, p. 77-106.

SENESI, N. RIZZI, F. R; DELLINO, P. E; ACQUAFREDDA, P. (1996). Fractal dimension of humic acids in aqueous suspension as a function of pH and time. *Soil Sci. Am. J.*, v.60, p. 1773-1780.

SENESI, N.; SCHNITZER, M. (1977). Effects of pH, reaction time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid. *Soil Science*, v. 123, p. 224-234.

SENESI, N.; MIANO, T. M. (1995). Humic substances in the global environment and implications on human health. In: INTERNATIONAL MEETING OF THE INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY. *Monopoli. Proceedings... Monopoli*: [s. n.]. 1368 p.

SENESI, N.; MIANO, T. M. PROVENZANO, M. R.; BRUNETTI, G. (1991). Characterization, differentiation and classification of humic substances by spectroscopy. *Soil Science*, v. 152, n. 4, p. 259-271.

SENESI, N.; RIZZI, F. R.; DELLINO, P. E.; ACQUAFREDDA, P. (1996). Fractal dimension of humic acids in aqueous suspension as a function of pH and time. *Soil Science Society American Journal*, v. 60, p. 1773-1780.

SILVERSTEIN, R. M.; BONLER, G. C.; MORRIL, T. C. (1994). *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 387p.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. (1994). *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Editora Guanabara Koogan, S.A John Willey & Sons. p.23-56.

SILVERSTEIN, R. M; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. (1991). *Spectrometric identification of organic compounds*. 5. ed. New York: John Willey, 419p.

SIMÕES, M. L. (2005). *Estudo de interações hidrofóbicas em substâncias húmicas e componentes do solo utilizando análises espectroscópicas*. 147p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

SIMPSON, A. J. (2002). Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 40 p, S72-S80.

SIMPSON, A. J.; KINGERY, W. L.; SWAW, D. R.; SPRAUL, M.; HUMPFER, E.; DVORTSAK, P. (2002). Molecular structures and associations of humic substances in the territorial environmental. *Naturwissenschaften*, v. 89. p.84-88.

SIMPSON, A. J.; SIMPSON, M. J.; HARTCHER, P. G. (2004). No covalent interactions between aromatic compounds and dissolved humic acid examined by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 23, n. 2, p. 355-362.

SINGER, L.S. (1959). Synthetic ruby as a secondary standard for the measurement of intensities in electron paramagnetic resonance. *Journal Applied Physical*, v.30, p.1463- 1464.

SKOOG, A. D.; HOLLER, J. F.; NIEMAN, A. T. (2002). *Princípios de análise instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, p. 641-653.

SOLLINS, P.; HOMANN, P.; CALDWELL, B.A. (1996). Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanism and controls. *Geoderma*, v. 74, p. 65-105.

SPARK, K. M., SWIFT, R. S., (1994). Investigation of the Interaction between Pesticides and Humic Substances using Fluorescence Spectroscopy, *The Sci. Total Environ.*,v.152, p.9-17.

SPOSITO, G.; MARTIN-NETO, L.; YANG, A. (1996). Atrazine complexation by soil humic acids. *Journal of Environmental Quality.*, v.25, p.1203-1209.

STEELINK, C. (1985). Elemental characteristics of humic substances. In: *AIKEN, G. R; McKNIGHT D.M.; WERSHAW, R. L.; McCARTHY, P., (Ed.). Humic Substances in soil, sediments and water*. John Willey, New York, pp. 457-476.

STEVENSON, F. J. (1982). Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter. In: *HUMUS Chemistry*. New York, John: Willey & Sons p.23-56.

STEVENSON, F. J. (1985). Geochemistry of soil humic substances. In: *AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MACCARTHY, P. Humic substances in soil, sediment and water: Geochemistry, isolation and characterization*. New York: John Willey, p. 13-52.

STEVENSON, F. J. (1994). *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. New York: John Willey, 496p.

STOUT, J.D; GOH, K.M.; RAFTER, T.A. (1985). Chemistry and turnover of naturally occurring resistant organic compounds in soil. In: *PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed.). Soil biochemistry*. New York, Marcel Decker. v.5, p.1-73.

SWIFT, R. S. (1989). Molecular weight, size, shape, and charge characteristics of humic substances: some basic considerations. In: *HAYES, M.H.B., MacCARTHY, P.; MALCOM, R. L.; SWIFT, R. S. (Ed.). Humic substances. Chichester*. New York: John Willey. p. 449-466.

SWIFT, R. S. (1999). Macromolecular properties of soil humic substances: fact, fiction, and opinion. *Soil Science*, v. 164, n. 11, p. 790-802.

SWIFT, R.S. (1996). Organic matter characterization. In: *SPARKS, D.L. Methods of soil analysis: chemical methods*. Madison: SSSA. P.1011-1069.

SWIFT, R.S. (2001). Sequestration of carbon by soil. *Soil Science*, v. 166, n. 11, p. 858-871.

TATE, K. R.; THENG, B.K.G. (1980). Organic matter and its interactions with inorganic soil constituents. In: *THENG B.K.G. (Ed.). Soil with variable charge*. Palmerston North. New Zealand Society of soil Science. p.225-249.

THENG, B. K. G.; TATE, K. R.; SOLLINS, P. (1989). Constituents of organic matter in temperate and tropical soils. In: COLEMAN, D. C.; OADES, J.M.; UEHARA, G. *Dynamics of Soil organic matter in tropical ecosystems*. Honolulu, University of Hawaii, cap.1, p.5-32.

TOLEDO, A.P.P.; JUSSARA, C.L. (1985). *Ciência e Cultura*. v. 37, p.7. São Paulo.

UNFCCC; ONU (2000). *A Guide to Climate Change Process*. United Nations Framework Convention on Climate Change – Convenção Quadro das Nações Unidas sobre Mudança Climática, ONU - Organização das Nações Unidas.

VIEIRA, L.S.; SANTOS, P.C.T.C. (1987). *Amazônia: seus solos e outros recursos naturais*. São Paulo: Agronômica Ceres.

WAKSMAN, S. A. (1938). Humus: origin, chemical compositions, and importance in nature. Baltimore: Willians and Wilkins. In: STEVENSON, F. J. *Humus Chemistry: genesis, composition and reactions*. New York: John Willey, 1982. p. 26-53.

WALSH, M. J. (1999). Maximizing financial support for biodiversity in the emerging Kyoto Protocol markets. In: *The Science of the Environment*, v. 240, p. 145-156.

WANDRUSZKA, VON R. (1998). The micellar model of humic acid: evidence from pyrene fluorescence measurements. *Soil Science*, v. 163, p. 921-930.

WERSHAW, R. L. (1993). Model for humus in soils and sediments. *Environmental Science Technology*, v. 27, p. 814-816.

WERTZ, J.E.; BOLTON, J.R. (1972). *Electron Spin Resonance*. New York: Mc. Grew Hill.

WHITEAD, D.C.; TINSLEY (1967). *Journal Soil Science*, v.97, p.34.

WIDOM, B., BHIMALAPURAM, P.; KOGA, K. (2003). The hydrophobic effect. *Phys Chem. Phy.*, v.5, p.3085-3093.

XII Encontro Internacional de Substâncias Húmicas (2004). *Palestra de Abertura. Maria de Nobili, da Universidade de Udine, Itália. Presidente da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas.* Hotel Colina Verde, em São Pedro-SP, 25 de jul.

YU, C. M (2004). *Seqüestro Florestal de Carbono no Brasil: dimensões políticas socioeconômicas e ecológicas.* São Paulo: Annablume; IIEB - Instituto Internacional de Educação do Brasil.

ZSOLNAY A.; BAIGAR. E.; JIMÉNEZ, M.; STEINWEG, B.; SACCOMANDI, F. (1999). Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, v.38, p.45-50.

A N E X O S

Decreto de Criação do Grupo de Trabalho Inter-Ministerial para
Elaboração do Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Área de
Influência da Rodovia BR-163

Presidência da República
Casa Civil
Subchefia para Assuntos Jurídicos

DECRETO DE 15 DE MARÇO DE 2004.

Cria Grupo de Trabalho com a finalidade de elaborar e coordenar a implementação do Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Região de Influência da Rodovia BR-163, e dá outras providências.

O PRESIDENTE DA REPÚBLICA, no uso da atribuição que lhe confere o art. 84, inciso VI, alínea "a", da Constituição,

DECRETA:

Art. 1º Fica criado Grupo de Trabalho com a finalidade de coordenar a elaboração e a implementação do Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Região de Influência da Rodovia BR-163.

Parágrafo único. O Grupo de Trabalho deverá considerar, no desenvolvimento de seus trabalhos, as decisões do Grupo Permanente de Trabalho Interministerial instituído pelo [Decreto de 3 de julho de 2003](#), as do Plano Amazônia Sustentável e o documento de diretrizes para o Plano de Desenvolvimento Sustentável para a Região de Influência da Rodovia BR - 163.

Art. 2º O Grupo de Trabalho será composto por um representante e respectivo suplente de cada órgão a seguir indicado:

- I - Casa Civil da Presidência da República, que o coordenará;
- II - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
- III - Ministério das Cidades;
- IV - Ministério da Defesa;
- V - Ministério do Desenvolvimento Agrário;
- VI - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior;

VII - Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome;

VIII - Ministério da Educação;

IX - Ministério da Integração Nacional;

X - Ministério da Justiça;

XI - Ministério do Meio Ambiente;

XII - Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão;

XIII - Ministério da Saúde;

XIV - Ministério do Trabalho e Emprego; e

XV - Ministério dos Transportes.

§ 1º O coordenador do Grupo poderá convidar representantes de outros órgãos e entidades da administração pública federal, para contribuir na execução dos seus trabalhos.

§ 2º Os membros e respectivos suplentes serão indicados pelos titulares dos órgãos representados e designados pelo Ministro de Estado Chefe da Casa Civil da Presidência da República.

§ 3º As despesas de deslocamento dos membros do Grupo de Trabalho para o desenvolvimento de suas atividades serão custeadas pelos órgãos representados.

Art. 3º O Grupo de Trabalho deverá apresentar relatórios trimestrais, contendo informações sobre a implementação do Plano de que trata o art. 1º.

Art. 4º Este Decreto entra em vigor na data de sua publicação.

Brasília, 15 de março de 2004; 183º da Independência e 116º da República.

LUIZ INÁCIO LULA DA SILVA
Alfredo Pereira do Nascimento
Guido Mantega
Marina Silva
Ciro Ferreira Gomes
Miguel Soldatelli Rossetto
José Dirceu de Oliveira e Silva

Este texto não substitui o publicado no D.O.U. de 16.3.2004

DOCUMENTO PARA ACESSO A UNIDADE DE CONSERVAÇÃO

DIRETORIA DE ECOSSISTEMAS

COORDENAÇÃO GERAL DE UNIDADES DE CONSERVAÇÃO
SETOR DE PESQUISA E MONITORAMENTO

FORMULÁRIO PARA LICENÇA DE PESQUISA EM UNIDADES DE CONSERVAÇÃO

1. DADOS PESSOAIS DO TITULAR DA PESQUISA	
Nome do titular da pesquisa:	
O presente projeto refere-se à tese de: Mestrado () Doutorado () Outros: identificar:	
DADOS DO TITULAR	
Área de Atuação:	
CPF:	
RG:	Órg.Exp.
Endereço Residencial:	
Bairro:	
Cidade:	UF:
CEP:	Fone:
Fax:	e-mail:
Endereço Profissional:	
Bairro:	
Cidade:	UF:
CEP:	Fone:
Fax:	e-mail:
DADOS DA INSTITUIÇÃO	
Nome da Instituição:	
Endereço:	
Bairro:	
Cidade:	UF:
CEP:	Fone:
CNPJ:	
Representante legal da Instituição:	
Fax:	E-mail:
2.DADOS ORIENTADOR	
Nome:	

Instituição:	
Área de atuação:	
CPF:	
RG:	Órg. Exp.
<p style="text-align: center;">ENDEREÇO PROFISSIONAL</p>	
Rua: Bairro: Cidade: UF: CEP: Fone: Fax: e-mail:	
3. DADOS SOBRE A PESQUISA	
Título do projeto:	
<p>No presente projeto há previsão de acesso a componente do patrimônio genético das amostras a serem coletadas? ()sim ()Não</p> <p>Em caso de acesso a componente do patrimônio genético, qual a finalidade? ()pesquisa científica ()desenvolvimento tecnológico ()bioprospecção ()outros. Especificar:</p>	
Unidade (s) de Conservação onde se realizará o projeto:	

Ecossistemas:	
() 01. Floresta Amazônica () 08. Restingas () 02. Floresta Atlântica () 09. Insulares () 03. Cerrado () 10. Fluviais () 04. Pantanal () 11. Mata Fluvial () 05. Caatinga () 12. Floresta Arauc. () 06. Manguezal () 13. Banhados do Sul () 07. Dunas () 14. Cocais	
Palavras-Chaves:	
1. _____	4. _____
2. _____	5. _____
3. _____	6. _____

<hr/>

RESUMO DO PROJETO

--

OBJETIVOS DA PESQUISA (Geral e Específicos)

--

METODOLOGIA

JUSTIFICATIVA DE ESCOLHA DA UNIDADE

--

Duração provável do projeto:
Início:
Término:

CRONOGRAMA FÍSICO

PREVISÃO DA UTILIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES E OUTRAS FACILIDADES DA UNIDADE DE CONSERVAÇÃO (veículos, equipamentos, etc.)
Períodos prováveis:
Nº de pessoas envolvidas:
Especificar:

PESQUISADORES ESTRANGEIROS
Nº do processo no CNPq:
CONTRAPARTE BRASILEIRA
Nome:
Endereço da Instituição:
CPF:
RG

<p>RELAÇÃO DA EQUIPE DO PROJETO QUE TERÁ ACESSO À UNIDADE CONSERVAÇÃO, DESTACANDO A FUNÇÃO NO PROJETO: (deverão ser encaminhados os currículos de todos os membros da equipe, com função técnica no projeto (orientador, pesquisador titular e demais pesquisadores))</p>
<p>Nome: _____</p> <p>CPF: _____</p> <p>RG: _____ Órg. Exp. _____</p> <p>Função no projeto: _____</p> <p>Endereço Profissional: _____</p>
<p>Nome: _____</p> <p>CPF: _____</p> <p>RG: _____ Órg. Exp. _____</p> <p>Função no projeto: _____</p> <p>Endereço Profissional: _____</p>
<p>Nome: _____</p> <p>CPF: _____</p> <p>RG: _____ Órg. Exp. _____</p> <p>Função no projeto: _____</p> <p>Endereço Profissional: _____</p>
<p>Nome: _____</p> <p>CPF: _____</p> <p>RG: _____ Órg. Exp. _____</p> <p>Função no projeto: _____</p> <p>Endereço Profissional: _____</p>
<p>Nome: _____</p> <p>CPF: _____</p> <p>RG: _____ Órg. Exp. _____</p> <p>Função no projeto: _____</p> <p>Endereço Profissional: _____</p>

COLETAS			
Espécie	Família	Nome Comum da espécie ou de	Especificar Quantidade Por parte

		representant e da família	(ex. sangue, pelo, flor, fruto, ramos,etc)

INFORMAÇÕES ADICIONAIS DA COLETA
Instituição que utilizará o material coletado: Instituição depositária: Curador Responsável: Telefone para contato:

CUSTO TOTAL DA PESQUISA:
INSTITUIÇÕES FINANCIADORAS:

DECLARAÇÃO DE COMPROMISSO
<p>Declaro que sou responsável por todas as informações prestadas neste formulário, bem como em cumprir e fazer cumprir com as normas e regulamentos pertinentes às Unidades de Conservação, especificados no Regulamento de Parques Nacionais, Lei do SNUC, na Instrução Normativa nº109/97 e ao que determina a legislação que regulamenta o acesso ao patrimônio genético de amostras de material biológico.</p> <p style="text-align: center;">Autorizo o IBAMA usar as informações geradas por este trabalho no manejo técnico da (s) Unidade (s) de Conservação que foram alvo deste trabalho.</p> <p>Comprometo-me em fornecer ao IBAMA os dados do tombamento das amostras do material biológico depositados em coleções científicas, duas cópias das publicações científicas originárias desta pesquisa, sendo uma para a Coordenação Geral de Unidades de Conservação-</p>

CGEUC e outra para a sede da Unidade de Conservação, bem como uma cópia do material fotográfico e filmes eventualmente produzidos.

Local	Data	Assinatura do
-------	------	---------------

pesquisador:

Local	Data	Assinatura do
-------	------	---------------

orientador: