UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

Bruno Santos de Paula

CARACTERIZAÇÃO DO CARBONO ASSOCIADO A HORIZONTES
ESPÓDICOS PROFUNDOS DE SOLOS DA FLORESTA AMAZÔNICA,
VISANDO SUA ESTABILIDADE.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de
São Carlos da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva

São Carlos

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura: Bruno Santos de Paula,
Data: 23/07/15

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

De Paula, Bruno Santos

Caracterização do carbono associado a horizontes espódicos profundos de solos da floresta amazônica, visando sua estabilidade. / Bruno Santos De Paula. — São Carlos, 2015.

132 f.

Dissertação (Mestrado em Química Analítica e Inorgânica) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2015.

Edição revisada

Orientador: Prof. Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva

1. Espodossolos. 2. Floresta Amazônica. 3. Caracterização da matéria orgânica por RMN 13C. 4. Fluorescência - PARAFAC. 5. Efeito Estufa. I. Título.

*Referências Bibliográficas
conferidas pelo SBI/IQSC*

O Ovo da Vida

"Eu sustento que a única finalidade da ciência está em aliviar a miséria da existência humana"

Bertolt Brecht

"Ainda que os problemas do mundo sejam cada vez mais complexos, as soluções continuam
embaraçosamente simples."

Bill Mollison

Ofereço

À sagrada mãe terra, Alfa e Omega, início e fim de todos os tipos de vida.

À divina natureza que através de seus caprichosos ciclos biogeoquímicos e sua invencível força auto-reguladora, é capaz de transformar constante e incansavelmente os elementos e compostos simples, organizando-os à infinita variedade de moléculas que virão a nutrir
nossos corpos, mentes e espíritos.

Aos que respeitam e cultivam a terra.

Aos que respeitam e trabalham a favor da natureza e conseqüentemente encontram na
Permacultura uma filosofia de vida.

Aos que trabalham por um mundo melhor para todos e não somente para si.

Aos que resistem.

A quem essa pesquisa possa interessar.

Dedico

Ao meu grande avô Walter (*in memorian*). À minha avó Diva, grande diva da vida de todos que a conhecem. À minha tia avó “voinha” por todos ensinamentos e grande amor dispensado.

Aos meus pais Elizane e Mário que não medem esforços para me verem feliz, por todo amor, carinho, compreensão e paciência. Ao meu irmão, meu eu contraditório que tanto amo, Rafael e nossa querida irmã adotada Lindinalva.

Aos irmãos que adotei de coração andando por esta vida....

Ao meu queridíssimo orientador Wilson Tadeu, pelas conversas, conselhos e incentivos.

A todos, minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família que sempre me deu total apoio em todas as decisões da minha vida e principalmente no difícil momento que re-escolhi me re-formar para estar trabalhando mais próximo da terra.

Pessoal diretamente envolvido neste projeto que contribuíram desde o fornecimento de informações até a discussão dos dados, prof. Célia Montes, Dr. Yves Lucas, Dra. Débora Milori, Dra. Nadja Nascimento, Dr. Guilherme Taitson, Dra. Débora Ishida, Roberta Santin, Osvaldo Pereira.

Pessoal da Embrapa Instrumentação que me ajudou na mais variadas formas, Viviane Soares, Silviane Hubinger, Cléber Hilário, Amanda Tadini, Natália Aissa, Camila Carvalho, Antonio Kledson, Gustavo Nicolodelli, Aline Segnini, e Silvio Crestana.

Ao pesquisador Stéphane Mounier e à equipe do laboratório PROTEE, da Universidade de Toulon, que forneceram o algoritmo para aplicação do PARAFAC, informações de datação de ^{14}C e que participaram do projeto geral como um todo.

À professora Maria Olímpia do Laboratório de Química Ambiental da USP São Carlos, sempre receptiva às idéias e gentil disponibilizando seu laboratório para o necessário. Agradeço inclusive aos membros deste laboratório, que trabalhei antes do mestrado e que sempre me ajudaram a evoluir o conhecimento, Fernanda Benetti, Leandro Antunes, Livia Pigatin, Ramon Rachide, Darlan Silva e a técnica Maria Diva Landgraf.

À querida Bernadete Figueiredo, sempre disposta em ajudar na biblioteca do IQSC.

Aos amigos que participam da minha vida compartilhando sonhos e pesadelos, alegrias e tristezas, Felipe Pucci, Djalma Nery, Thomas Baltodano, Rafael Cordeiro, Danilo Mattos, Eduardo Michalichen, Aline Patriota e minha querida amiga em cores Julia Guermandi.

Evidentemente, agradeço ao meu orientador Wilson Tadeu pela liberdade para o trabalho e confiança, além de todas as valiosas conversas dispensadas.

À CAPES pela bolsa e a FAPESP pelo auxílio ao projeto. À EMBRAPA e ao Instituto de Química de São Carlos pela estrutura.

Enfim, agradeço a todos que me apoiaram e me ajudaram de alguma forma a realizar este trabalho.

RESUMO

Este projeto nasceu inserido num contexto de crescentes pesquisas em direção à construção de um cabedal de conhecimento acerca das ciências ambientais que tratam e estudam a dinâmica dos reservatórios de carbono e suas contribuições para o Efeito Estufa. Extrapolações de novos mapas digitalizados de solos sugerem que os espodossolos hidromórficos da Amazônia podem estar com uma contagem de carbono subestimada em até 12,3 Pg de C e trabalhos anteriores mostram que o carbono imobilizado neste perfil pode sofrer mineralização devido ao corte na rede de drenagem ou rebaixamento do nível freático, podendo assim contribuir em grande parte para o aumento de emissão dos Gases do Efeito Estufa. Nesta circunstância, coube a este trabalho, caracterizar espectroscopicamente, a matéria orgânica estocada em profundidade em 9 perfis de solo da região de São Gabriel da Cachoeira - AM, na floresta amazônica. Foram analisadas 127 amostras em quantidade de carbono e por fluorescência induzida por laser (FIL). A partir destas análises preliminares, foi possível selecionar 12 amostras de 2 perfis para análise mais detalhada através da extração das substâncias húmicas. Foram realizadas análises para obtenção da textura destes perfis, análise dos ácidos húmicos como relação C/N, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), RMN de ^{13}C no estado sólido, fluorescências bidimensional e tridimensional com aplicação do método estatístico Análise dos Fatores Paralelos (PARAFAC) e também análise dos ácidos fúlvicos como carbono orgânico total (COT), espectroscopia na região do ultra-violeta e visível e fluorescência 3D associada ao PARAFAC. Em geral, as amostras se dividiram em 3 grupos diferentes, onde a matéria orgânica em superfície se mostrou lábil e recente, a matéria orgânica nos horizontes B húmicos se mostraram com características recalcitrantes e a matéria orgânica contida nos horizontes onde existia água livre (lençol freático), se mostraram com características diferentes, indicando não serem tão jovens quanto as em superfície, porém mais jovens do que a armazenada no Bh, devido a uma possível migração por movimentos laterais do lençol freático. A correlação entre os resultados mostrou que a textura do solo é importante para a qualidade da matéria orgânica (MO) acumulada e consequentemente sua humificação. Os resultados de fluorescência corroboraram a interpretação dos dados de RMN, FTIR e textura e datação de ^{14}C . Foi notório que a humificação ocorre a partir do começo do horizonte Bh e que seu acúmulo pode ocorrer tanto nos horizontes intermediários (Bh) quanto nos mais profundos (úmidos). Dessa forma, pode-se concluir que uma drenagem excessiva das bordas dos rios nesta região que acumula carbono em profundidade, poderá expor a MO estocada a longo tempo, contribuindo para o aumento da temperatura global.

ABSTRACT

This project was born inserted in a context of increasing research towards building knowledge about environmental science that treat and study the dynamics of carbon reservoirs and their contribution to the greenhouse gas effect. Extrapolation of new digital soil maps suggests that Amazonian hydromorphic Spodosols may be with a carbon accounting underestimated by up to 12.3 Pg of C and previous work show that the carbon fixed in this profile may suffer mineralization due to the cut in the drainage network or lowering of the water level and can contribute largely to the increased emission of greenhouse gas. In this circumstance, it was instructed to this work, the spectroscopic characterization, of stored organic matter in depth at 9 soil profiles of São Gabriel da Cachoeira - AM, in the Amazon rainforest. 127 samples were analyzed for amount of carbon and laser-induced fluorescence (LIF). From these preliminary analyzes, it was possible to select 12 samples of 2 profiles for humic substances extraction and further detailed analysis. Analyzes were conducted to obtain the texture of these profiles, analysis of humic acids as C/N ratio, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), solid state ^{13}C NMR, two and three dimensional fluorescence with applying of the Parallel Factors Analysis (PARAFAC) statistical method and also fulvic acid analysis as Total Organic Carbon (TOC), ultra-violet and visible region spectroscopy and 3D fluorescence associated with PARAFAC. In general, the samples were divided into 3 different groups, wherein the surface organic matter evinced labile and recent. The B humic horizons organic matter proved recalcitrant characteristics and organic matter contained in horizons which had free water (groundwater), showed different characteristic, indicating they are not so young as the surface, but younger than stored in Bh, because of possible migration by lateral movements of the water table. The correlation between the results showed that soil texture is important for the accumulation of organic matter and therefore its humification. The fluorescence results confirmed the interpretation of the NMR, FTIR and texture data. It is noteworthy that this interpretation accords with the results of ^{14}C dating of samples from this region. It was clear that the humification occurs from the beginning of the Bh horizon and their accumulation can occur both in the intermediate horizons (Bh) and in deeper (wet). Thus, it can be concluded that excessive drainage of the edges of rivers in this region that collects carbon in depth, may expose the OM stored for long time, contributing to increase the overall temperature and therefore catalyzing an imbalance in the climate of the biggest regulatory of it in the world: the Amazon rainforest.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeito estufa natural e antropogênico. (1) A radiação solar atravessa a camada natural de gases atmosféricos. (2) Alguns raios solares são absorvidos e transformados em calor. (3) Absorção da radiação pelos GEE. (4) Estes gases "devolvem" o calor absorvido à superfície terrestre. (5) A porção da radiação não absorvida pelos GEE retornam ao espaço. (6) Aumento da quantidade de radiação absorvida devido ao aumento dos GEE's na atmosfera, aumentando o efeito estufa e o aquecimento global.	5
Figura 2 – Emissões de gases do efeito estufa por setores econômicos em 2010, representados em GtCO ₂ -eq/ano.....	6
Figura 3 – Indicadores das mudanças no aquecimento global. (a) Médias anuais e globais combinadas das temperaturas da terra e da superfície do oceano no período de 1986 a 2005 e anomalias. As cores indicam diferentes conjuntos de dados; (b) Média anual e global relativa à mudança no nível do mar no período de 1986 a 2005. As cores indicam diferentes conjuntos de dados; (c) As concentrações atmosféricas dos gases de efeito estufa dióxido de carbono (CO ₂ , verde), metano (CH ₄ , laranja) e óxido nitroso (N ₂ O, vermelho) determinada a partir de dados de núcleos de gelo (pontos) e a partir de medições atmosféricas diretas (linhas); (d) Emissões antropogênicas globais de CO ₂ a partir da silvicultura e outros usos da terra, bem como a partir da queima de combustíveis fósseis, produção de cimento, e queima. As emissões acumuladas de CO ₂ partir destas fontes e suas incertezas são mostradas nas barras ao lado direito.	7
Figura 4 – Processos físico-químicos naturais da bacia amazônica.	11
Figura 5 – Fatores que afetam a capacidade de sequestro de carbono pelo solo.....	14
Figura 6 – Ciclo global do carbono para a década de 1990, em seus principais compartimentos, mostrando os principais fluxos anuais em GtC ano ⁻¹ : fluxos pré-industriais "naturais" em preto e fluxos "antrópicos" em vermelho.	15
Figura 7 – Distribuição da matéria orgânica do solo e suas principais fontes.....	17
Figura 8 – Principais classes de moléculas depositadas ao longo do tempo nas frações da matéria orgânica do solo. (a) Monomero da celulose, hemicelulose e rede de microfibrilas responsável pela sustentação da parede vegetal; (b) Representação da estrutura da lignina e as principais ligações entre os monômeros guaiacil, siringil e hidroxifenil; (c) Representação da estrutura dos taninos; (d) Representação das estruturas lipídicas presentes na estrutura vegetal.	20

Figura 9 – Ilustração do processo de podzolização na escala pedológica (vertical) e paisagística (horizontal); onde O é o horizonte orgânico, EA é o horizonte de mobilização, E é o horizonte eluvial, Bh _s é o horizonte húmico com presença de ferro e CB é o horizonte pouco intemperizado que apresenta rocha matriz.....	23
Figura 10 – Vibrações típicas de átomos. Os sinais + e – significam vibrações perpendiculares ao plano do papel.	26
Figura 11 – Ilustração da absorção de energia pelos elétrons em diferentes estados de energia e suas possíveis transições eletrônicas.....	30
Figura 12 – Diagrama de Jablonski. As setas roxas e azuis para cima, representam a energia absorvida pelo sistema. Em laranja estão representadas as relaxações vibracionais (térmicas). As conversões interna e externa estão representadas pela seta preta tracejada. A seta preta contínua indica a conversão inter-sistema. Em verde está representada a relaxação eletrônica com emissão de luz para a fluorescência e em vermelho para a fosforescência.	31
Figura 13 – Ilustração dos componentes e do funcionamento de um espectrofluorímetro.	33
Figura 14 - Mapa detalhado dos locais de coleta das amostras	36
Figura 15 – (a) Analisador granulométrico por atenuação de raios gama e (b) Agitador automático	40
Figura 16 - Extração das substâncias húmicas. (a) Repouso da solução extratora após 1 hora de agitação; (b) Pesagem dos tubos para centrifugação; (c) Padronização dos pesos dos tubos da centrífuga; (d) Aspecto do precipitado após centrifugação e descarte do sobrenadante; (e) Processo de sifonação; (f) Tubo falcon preparado para liofilização.	43
Figura 17 - Purificação dos ácidos fúlvicos com resina Amberlite IRA-120. (a) Filtração da resina; (b) Resina disposta na coluna cromatográfica; (c) Agitação da resina com HCl.	48
Figura 18 – Membrana de diálise dos ácidos fúlvicos. (a) Aspecto de uma membrana preenchida; (b) membrana rasgada no processo.....	49
Figura 19 – Gráfico da variação da quantidade de carbono com a profundidade para cada perfil coletado.....	51
Figura 20 – Gráficos que mostram os resultados de Carbono e o índice de humificação H _{FIL} medidos por Fluorescência Induzida por Laser. (a) P2; (b) P3; (c) P4; (d) P5; (e) P6; (f) P7; (g) P8; (h) P9. Os pontos abaixo do limite de quantificação do analisador elementar foram retirados.	53
Figura 21 – Espectros de absorção no infravermelho dos ácidos húmicos extraídos dos horizontes selecionados dos perfis P4 e P5	60
Figura 22 – Espectros de RMN dos ácidos húmicos dos perfis P4 e P5.	63

Figura 23 – Deslocamentos químicos dos principais resíduos da lignina.	67
Figura 24 – Análise por agrupamento hierárquico aplicado a partir das razões elementares e da integração do sinal de RMN- ¹³ C.....	69
Figura 25 – Índices de humificação propostos por Kalbitz et al. (1999), Zsolnay et al. (1999) e Milori et al. (2002).	72
Figura 26 – Componentes de fluorescência dos AH, encontradas após aplicação do PARAFAC.....	74
Figura 27 – Scores para cada componente e profundidade.	74
Figura 28 – Localização dos picos EEM baseados na literatura divididos em 5 regiões relacionadas aos domínios da origem dos fluoróforos.	76
Figura 29 – Foto do aspecto visual dos ácidos fúlvicos após purificado.	80
Figura 30 – Espectros Uv-Vís dos ácidos fúlvicos a 10 mg L ⁻¹ e pH 8. Na legenda: identificação da amostra, λ máx de absorção, espectros que não apresentaram ombro e amostras que apresentaram cor.....	81
Figura 31 – Componentes encontradas na análise EEM / PARAFAC para os ácidos fúlvicos.	84
Figura 32 – <i>Scores</i> encontrados para os ácidos fúlvicos.	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados de Granulometria para alguns horizontes dos perfis 4 e 5.....	56
Tabela 2 – Teores de Carbono, Nitrogênio e razões atômicas dos AH.....	58
Tabela 3 – Deslocamentos químicos de RMN- ¹³ C divididos pelos grupamentos químicos....	64
Tabela 4 – Índice de decomposição dos AH analisados.....	71
Tabela 5 – resultados de COT para os AF in natura.....	79
Tabela 6 – Algumas bandas de absorção na faixa ultravioleta e visível.	82
Tabela 7 - Datação de ¹⁴ C dos perfis 3 e 9. Resultados na unidade " <i>Before Present</i> ".	87

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	3
3 REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 O aquecimento global.....	4
3.2 Região Amazônica.....	9
3.2.1 Floresta Amazônica	9
3.2.2 Bacia Amazônica.....	10
3.3 O Solo e o sequestro de carbono	12
3.4 Matéria orgânica do solo (MOS).....	16
3.4.1 Dinâmica da MOS	16
3.4.2 Estudo da MOS.....	18
3.5 Os Espodossolos	21
3.6 Técnicas Analíticas para caracterização da matéria orgânica do solo.....	24
3.6.1 Análise granulométrica por atenuação de Raios Gama	24
3.6.2 Espectroscopia no Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR) ...	25
3.6.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	27
3.6.4 Absorção, emissão e espectroscopia de fluorescência molecular.....	29
3.6.5 Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1 Área de estudo e amostragem	35
4.2 Características dos perfis amostrados.....	36
4.3 Técnicas analíticas para avaliação da qualidade da MOS	38
4.3.1 Análises do Solo Inteiro	39
4.3.1.1 Análise Elementar.....	39
4.3.1.2 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	39
4.3.1.3 Análise granulométrica por atenuação de Raios Gama	40

4.3.2 Extração dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos.....	41
4.3.3 Análise dos Ácidos Húmicos.....	44
4.3.3.1 Análise elementar	44
4.3.3.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	44
4.3.3.3 Ressonância magnética nuclear (RMN)	44
4.3.3.4 Espectroscopia de fluorescência bidimensional	45
4.3.3.5 Espectroscopia de fluorescência em matriz excitação-emissão (EEM)	45
4.3.3.6 Análise de fatores paralelos (PARAFAC).....	46
4.3.4 Análise dos Ácidos Fúlvicos	47
4.3.4.1 Purificação e ajustes para análise	47
4.3.4.2 Carbono Orgânico Total (TOC)	49
4.3.4.3 Espectroscopia de Absorção no UV-Vís	49
4.3.4.4 Espectroscopia de Fluorescência em modo Excitação-Emissão (EEM)	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	51
5.1 Análises de Solo Inteiro.....	51
5.1.1 Análise Elementar.....	51
5.1.2 Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	52
5.1.3 Granulometria dos horizontes selecionados	55
5.1.4 Mineralogia dos horizontes selecionados	57
5.2 Análise dos ácidos húmicos.....	58
5.2.1 Análise Elementar dos ácidos húmicos	58
5.2.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	60
5.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	63
5.2.4 Fluorescência bidimensional	71
5.2.5 Fluorescência em matriz de excitação-emissão e PARAFAC	73
5.3 Análises dos Ácidos Fúlvicos.....	79
5.3.1 Carbono orgânico total	79

5.3.2 Absorção na região do UV-Vís	80
5.3.3 Fluorescência em matriz excitação-emissão e PARAFAC	84
5.4 Datação de ^{14}C	86
5.5 Discussões Finais	88
6 CONCLUSÕES	91
7 CONSIDERAÇÕES E RECOMENDAÇÕES FUTURAS	93
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
APÊNDICE	115
ANEXO	116

1 INTRODUÇÃO

A quantificação do carbono estocado nos meios naturais e a avaliação de sua sensibilidade às mudanças climáticas ou ao uso da terra é um domínio de pesquisa em plena expansão. As florestas tropicais têm um papel particularmente importante neste contexto, em razão de suas elevadas fitomassas e de suas sensibilidades às pressões antrópicas. O estoque de carbono em áreas sob floresta é constituído essencialmente pela biomassa viva e pela matéria orgânica dos solos. A magnitude da floresta é tão grande, que se pode dizer que ainda pouco se conhece sobre seus ciclos num contexto geral e sistêmico, principalmente no tocante ao ciclo do carbono e sua respectiva interação com o ecossistema global.

A evolução das pesquisas de reconhecimento de solos da Amazônia proporcionou a descoberta de diversas localidades com perfis espódicos, principalmente próximo a terrenos úmidos. Os espodossolos exibem a característica de apresentar um horizonte arenoso espesso no qual permite que a matéria orgânica do solo seja transferida através desse horizonte, se acumulando numa profundidade de 1 a 5 metros (existem relatos de acúmulo de até 12 metros), produzindo um horizonte profundo rico em matéria orgânica (horizonte espódico Bh).

Trabalhos realizados recentemente chegaram a resultados surpreendentes no sentido de que os espodossolos são capazes de armazenar em média $86,8 \pm 7,1 \text{ kg C m}^{-2}$ no horizonte superficial (10 a 115 cm), $3,1 \pm 0,9 \text{ kg C m}^{-2}$ em horizontes arenosos (115 a 220 cm) e $66,7 \pm 5,8 \text{ kg C m}^{-2}$ em horizontes espódicos profundos (Bh), nas áreas com drenagem deficiente (MONTES et al., 2011). A partir da extrapolação dos dados coletados, obteve-se somente para os horizontes hidromórficos, um total de 13,6 Pg de C armazenado, considerando até 500 cm de solo. Foram usados somente mapas digitalizados reconhecidos por satélite, podendo este valor estar subestimado devido a manchas de horizontes espódicos não captados. O valor estimado por Bernoux (2002) para este perfil, considerou apenas os primeiros 30 cm de solo, resultando em apenas 1,3 Pg de C, ou seja, uma diferença de 12,3 Pg de C que evidencia que este perfil é substancialmente importante no aporte de carbono oriundo da matéria orgânica que se acumula.

Bueno (2009) trouxe à tona o problema da estabilidade deste carbono, que por sua vez, mostra-se estável em ambientes alagados. Evidenciou-se no referido trabalho que devido a

causas naturais hidrogeomorfológicas, os espodossolos das bordas dissecadas dos platôs sofreram corte da rede de drenagem e consequentemente rebaixamento do nível freático, acarretando uma significativa diminuição da matéria orgânica nos horizontes A e Bh. Em adição a esse contexto, Meehl (2007) relatou que 10 entre 18 modelos climáticos fornecem projeções alegando que a temperatura e a dinâmica do lençol freático na Amazônia serão alterados. Tais mudanças podem resultar na mineralização parcial ou total do carbono retido nestes solos e assim, por resultado, ocorrer grandes liberações de gases do efeito estufa.

Uma vez ciente de tal problemática, uma equipe multidisciplinar de pesquisadores, liderados pela pesquisadora do CENA-USP, Prof. Dra. Célia Regina Montes, foi montada para avaliar a dinâmica da mobilidade do carbono no compartimento de reserva Floresta Amazônica. Esta equipe foi composta por pesquisadores e pós-graduandos competentes às seguintes áreas do conhecimento: mineralogia, geoquímica e geomorfologia de solos e soluções, pedologia, hidrogeoquímica, geoprocessamento e sensoriamento remoto, geografia, botânica, mapeamento, modelagem, ecologia, microbiologia e análises espectroscópicas da matéria orgânica do solo e da parte mineral do solo.

Em suma, o ofício do presente projeto de pesquisa, foi contribuir para o objetivo geral do projeto multidisciplinar para avaliação da vulnerabilidade do carbono estocado em perfis espódicos amazônicos, frente às mudanças climáticas, pedoclimáticas e por manifestações antrópicas. Buscando-se utilizar informações no nível microscópico, procurou-se obter respostas para o nível macroscópico e assim, a parte concebida ao presente projeto foi analisar as características a nível molecular das frações mais estáveis da matéria orgânica do solo, através de técnicas espectroscópicas presentes na Embrapa Instrumentação, correlacionando-as com as informações ambientais do local de estudo.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho, foi quantificar e avaliar as características químico-estruturais e a recalcitrância do carbono presente em perfis de espodossolos amazônicos, num contexto de mudanças climáticas. Para tanto, foi realizado o cruzamento dos resultados de técnicas analíticas utilizadas para avaliar as características estruturais da MO e grau de humificação, utilizando métodos químicos e espectroscópicos, em análises diretas nas amostras de solo ou em substâncias húmicas. Dessa forma, os objetivos específicos foram:

- 1) Determinar a quantidade de carbono presente nos perfis espodossólicos;
- 2) Avaliar o grau de humificação através da técnica rápida e não destrutiva de Fluorescência Induzida por Laser, a fim de se selecionar amostras representativas para posterior extração das substâncias húmicas.
- 3) Avaliar as características estruturais, o grau de humificação e o tipo de matéria orgânica, a partir da análise das substâncias húmicas, utilizando o cruzamento dos dados obtidos pelas técnicas: ressonância magnética nuclear (RMN), fluorescência 2D e 3D, UV-Vís, analisador elementar (AE), infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e fluorescência induzida por Laser (FIL).
- 4) A partir dos dados analíticos, correlacionar as características estruturais do carbono dos espodossolos com outros parâmetros relativos aos dados de campo, bem como características do solo, do clima, hidrológicas e ecossistêmicas, visando estabelecer critérios de estabilidade e/ou vulnerabilidade do carbono à ação humana.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 O aquecimento global

O clima da Terra é determinado por uma série de processos físicos, químicos e biológicos complexos e interligados que ocorrem na atmosfera, na terra e nos oceanos. As propriedades radiativas da atmosfera são um importante fator de controle do clima da Terra e são fortemente afetadas pelo estado biofísico da superfície da Terra e pela abundância atmosférica de uma variedade de compostos. Estes compostos incluem os gases do efeito de estufa (GEE) como o dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) e óxido nitroso (N_2O), bem como outros constituintes radiativamente ativos tais como o ozônio e diferentes tipos de partículas de aerossol. A composição da atmosfera é determinada por processos de emissões naturais ou antrópicas de gases e aerossóis. A biosfera apresenta trocas dinâmicas entre seus compartimentos, que são regidas pelos ciclos biogeoquímicos dos elementos, que por sua vez são afetados pelas mudanças climáticas em curso no planeta (DENMAN et al., 2007).

O efeito estufa é na verdade um processo natural que ocorre na atmosfera terrestre com função de manutenção para o clima, basicamente retendo o calor solar na superfície terrestre. Se este fenômeno não ocorresse, o planeta não apresentaria vida como conhecemos hoje e sua temperatura média estaria em torno de -18°C (LE TREUT, 2007). O fenômeno de interceptação do infravermelho emitido pelos constituintes atmosféricos e sua distribuição como calor para aumentar a temperatura da atmosfera é chamado efeito estufa (BAIRD; CANN, 2011). O efeito estufa natural ocorre em razão das concentrações dos GEE (CO_2 , N_2O , CH_4 e principalmente vapor d'água) na atmosfera antes do aparecimento do homem. A energia solar de comprimento de onda muito curto, ultrapassa a atmosfera terrestre sem interação com os GEE presentes nesta camada. Ao atingir a superfície terrestre, essa radiação é refletida e volta para a atmosfera com um comprimento de onda mais longo (radiação infravermelha), que interage parcialmente com os GEE presentes nessa camada. Parte dessa irradiação é absorvida na atmosfera e consequentemente aumenta a temperatura média do ar (CARVALHO et al., 2008). A Figura 1 mostra as diferenças entre o efeito estufa natural e antrópico com maior detalhe.

Figura 1 – Efeito estufa natural e antropogênico. (1) A radiação solar atravessa a camada natural de gases atmosféricos. (2) Alguns raios solares são absorvidos e transformados em calor. (3) Absorção da radiação pelos GEE. (4) Estes gases "devolvem" o calor absorvido à superfície terrestre. (5) A porção da radiação não absorvida pelos GEE retornam ao espaço. (6) Aumento da quantidade de radiação absorvida devido ao aumento dos GEE's na atmosfera, aumentando o efeito estufa e o aquecimento global.

Adaptado de SCHAHZENSKI; HILL, 2009.

De acordo com o quinto relatório de avaliação do Painel Intergovernamental de Avaliação do Clima (IPCC, 2014), as concentrações atmosféricas de dióxido de carbono, metano e óxido nitroso, são as maiores de pelo menos os últimos 800 mil anos e a causa disso deve estar relacionada com o advento da Revolução Industrial. Até o início da idade industrial os fluxos de carbono entre a atmosfera, oceanos e continentes eram equilibrados, porém a partir do século XX, o conteúdo de CO₂ tem-se elevado majoritariamente devido aos *inputs* de origem antropogênicas, principalmente pela queima de combustíveis fósseis e resíduos sólidos, aumento das atividades industriais e mudança de uso da terra. A concentração de CO₂ na atmosfera aumentou de 277 partes por milhão (ppm) em 1750 (JOOS; SPAHNI, 2008) (início da Era Industrial), para 395,31 ppm em 2013 (QUÉRÉ et al., 2014). Médias diárias acima de 400 ppm, foram medidas pela primeira vez na estação de Mauna Loa (Havaí) em maio de 2013 (QUÉRÉ et al., 2014).

Figura 2 – Emissões de gases do efeito estufa por setores econômicos em 2010, representados em GtCO₂-eq/ano.

Adaptado de IPCC, 2014.

O círculo da Figura 2, mostra as emissões antropogênicas diretas e indiretas dos GEE (em% do total das emissões antrópicas de GEE), dividida por setores econômicos no ano de 2010. A parte destacada mostra como participações de emissões indiretas de CO₂ (em% do total das emissões antrópicas de GEE) na produção de eletricidade e calor são atribuídas aos setores de utilização final de energia. Os dados sobre as emissões na agricultura, silvicultura e outros usos da terra (AFOLU) inclui emissões terrestres de CO₂ dos incêndios florestais, incêndios de turfa e decadência de turfa que se aproximam de fluxo de CO₂ líquido dos sub-setores da silvicultura e outros usos da terra.

Já na Figura 3, que também constitui parte do relatório do IPCC 2014, é possível observar os resultados de alguns parâmetros quantitativos, representativos do monitoramento do efeito estufa desde 1850 até os dias atuais.

De acordo com a segunda comunicação nacional do Brasil à convenção quadro das Nações Unidas sobre a mudança do clima (BRASIL, 2010), cerca de 51,5% das emissões brasileiras de CO₂ ocorrem no bioma Amazônia. A agricultura e a mudança de uso da terra e florestas, somadas, forjam aproximadamente 80% das emissões dos GEEs. As mudanças de uso da terra e florestas são responsáveis por 76,4% das emissões brasileiras de CO₂, 16,8% das emissões de CH₄ e 3,8% das emissões de N₂O, o que equivale a mais de 60% das emissões nacionais de GEEs em CO₂-equivalente. As emissões de CO₂ brasileiras oriundas das mudanças de uso da terra e florestas ocorrem principalmente devido à conversão de áreas de florestas para uso agrícola, enquanto as emissões de CH₄ e N₂O devem-se à queima de biomassa nas áreas de desflorestamento (BRASIL, 2010).

Figura 3 – Indicadores das mudanças no aquecimento global. (a) Médias anuais e globais combinadas das temperaturas da terra e da superfície do oceano no período de 1986 a 2005 e anomalias. As cores indicam diferentes conjuntos de dados; (b) Média anual e global relativa à mudança no nível do mar no período de 1986 a 2005. As cores indicam diferentes conjuntos de dados; (c) As concentrações atmosféricas dos gases de efeito estufa dióxido de carbono (CO₂, verde), metano (CH₄, laranja) e óxido nitroso (N₂O, vermelho) determinada a partir de dados de núcleos de gelo (pontos) e a partir de medições atmosféricas diretas (linhas); (d) Emissões antropogênicas globais de CO₂ a partir da silvicultura e outros usos da terra, bem como a partir da queima de combustíveis fósseis, produção de cimento, e queima. As emissões acumuladas de CO₂ partir destas fontes e suas incertezas são mostradas nas barras ao lado direito.

(a) Média global de temperatura da superfície da terra e do oceano combinadas

(b) Média global da mudança do nível dos oceanos

(c) Média global das concentrações dos gases do efeito estufa

(d) Emissões antropogênicas globais de CO2

Emissões acumuladas de CO2

Adaptado de IPCC, 2014.

3.2 Região Amazônica

3.2.1 Floresta Amazônica

A floresta amazônica é palco de um ecossistema dinâmico de massiva troca de gases do efeito estufa e representa 40% da floresta tropical do mundo (CERRI et al., 2007). A região amazônica exibe particular interesse porque representa uma enorme fonte de calor nos trópicos e mostrou ter um significativo impacto na circulação extratropical, e é o maior e mais intenso centro convectivo terrestre (MARENGO; NOBRE, 2001). Os ciclos biogeoquímicos da bacia da Amazônia estão diretamente ligados aos ciclos globais através de troca com a atmosfera e descarga dos rios diretamente no oceano atlântico. Entre essas vias, a troca com a atmosfera é de longe a que possui maior interação e variação sazonal entre a escala de tempo anual. Ademais, é através das trocas com a atmosfera que a floresta amazônica interage diretamente com o sistema climático global (McCLAIN, 2001). Na dinâmica dos ciclos biológicos da floresta, a ciclagem de nutrientes possui um papel essencial na manutenção da produtividade do ecossistema (HAAG, 1985), principalmente nos solos amazônicos, caracterizados pela baixa fertilidade natural (JORDAN, 1985).

Os estoques de carbono na biomassa das florestas amazônicas (HOUGHTON et al., 2001) e nos solos (BATJES; DIJKSHOORN, 1999) têm sido vastamente estudados, embora as variações e incertezas dos valores para ambos os reservatórios sejam grandes – de 150 Mg ha⁻¹ a 425 Mg ha⁻¹ (BROWN et al., 1995; KELLER et al., 2001) para biomassa aérea; e no solo de 73 a 98 Mg ha⁻¹, de 0 a 100 cm de profundidade (BERNOUX, 1998; BATJES; DIJKSHOORN, 1999). Uma floresta típica da região amazônica, mantém em média, cerca de 420 toneladas por hectare de biomassa vegetal, o que corresponde a 210 toneladas por hectare de Carbono (HOUGHTON et al., 2000). Uma grande liberação de carbono dos ecossistemas da Amazônia poderá contribuir substancialmente para o aumento do CO₂ atmosférico, o que consequentemente agravaria o efeito estufa (BOOTH et al., 2012).

A conversão de floresta amazônica para outros usos da terra revela um forte embate ao ecossistema que impacta significativamente à execução e manutenção dos ciclos biogeoquímicos. O desmatamento causado pelas queimadas e pastoreio, libera grandes quantidades de carbono e de nitrogênio para a atmosfera, diminuindo os estoques permanentes destes elementos. Essas transformações são mais dramáticas e duradouras na conversão da

floresta em pastagens, onde as gramíneas substituem árvores e o gado substitui os animais da floresta (McCLAIN, 2001; FEARNSIDE, 2003).

A respeito da mudança de clima na floresta, Malhi e Wright (2004) relataram que desde a década de 1970, as florestas tropicais têm aumentado sua temperatura média em 0,26°C por década e ainda Cramer et al. (2004) propuseram a partir de modelos climáticos, um aumento de 3°C a 8°C na temperatura da região tropical até o final do século XXI.

3.2.2 *Bacia Amazônica*

A bacia amazônica constitui uma importante componente do sistema climático global, sendo uma das principais regiões de profunda convecção, interligando atmosfera, biosfera, geosfera e hidrosfera e possuindo uma vazão do rio que contribui com aproximadamente 17% do total de entrada de água doce global para os oceanos (CALLÈDE et al., 2010). Esta bacia abriga metade das florestas tropicais úmidas restantes do planeta, porém ela pode estar ameaçada em um mundo tendendo ao aquecimento global.

Segundo Nobre (2007), estudos revelam que as florestas tropicais são potentes reguladores do clima no mundo, por serem responsáveis por grandes fluxos de umidade na forma de vapor para o interior dos continentes, fazendo com que essas áreas não sofram grandes variações extremas de temperatura e tenham umidade suficiente para promover a vida terrestre. Devido à gravidade, inevitavelmente as terras emersas perdem água, que escorre para os oceanos. Assim, para as áreas continentais se manterem úmidas, é preciso então que essa perda pelos rios seja no mínimo compensada com mecanismos que levem a umidade no sentido inverso, ou seja, dos oceanos para as partes terrestres. Um fluxo puramente geofísico de umidade oceano-continente em locais onde não há florestas, não alcançam algumas centenas de quilômetros e portanto as precipitações diminuem exponencialmente com a distância do oceano. Porém verifica-se que as chuvas sobre as florestas nativas não dependem da proximidade com o oceano. Esta evidência aponta para a existência de uma poderosa "bomba biótica de umidade" em lugares como por exemplo, a Bacia Amazônica. Esta "bomba" consegue forçar o fluxo de umidade do oceano para o continente, fazendo-a chegar a milhares de quilômetros do interior. A "bomba" ocorre porque o ar nas camadas mais baixas da atmosfera se move das áreas com pouca evaporação para áreas onde a evaporação é mais intensa e devido à grande e densa área de folhas (que são evaporadores otimizados), as florestas tropicais matam altos índices de evaporação, maiores até que em superfícies

aquáticas como os oceanos, fazendo com que a floresta "sugue" o ar úmido de oceanos circundantes, como uma grande bomba (NOBRE, 2007).

Tendo início nas geleiras dos Andes, a água do sistema que compõe a bacia amazônica, escoar por meandros entrelaçados nas montanhas, ganhando força e compondo os principais rios tributários da bacia (Purus, Içá, Japurá e Madeira), que por sua vez formam ambientes lóticos capazes de agir como trocadores ativos de matéria e energia, sustentando uma vasta e diversa estrutura trófica (MCCLAIN; ELSENBEEER, 2001).

Gloor et al., 2013 relataram uma evidência na qual a bacia hidrográfica do maior rio do mundo (Amazonas) tornou-se substancialmente mais úmida desde o final do século XX, a partir aproximadamente de 1990, com uma forte tendência simultânea em direção a um aumento na amplitude anual de vazão do rio e um aumento da gravidade dos eventos climáticos. A grande seca de 2005 na região amazônica, por exemplo, ocorreu devido à elevação da temperatura da superfície dos oceanos, causada pela anomalia da oscilação multidecadal do oceano Atlântico (GOOD et al., 2008). O esquema apresentado na Figura 4 ilustra os principais processos de troca que interligam o sistema terrestre e aquático da bacia amazônica.

Figura 4 – Processos físico-químicos naturais da bacia amazônica.

Adaptado de MCCLAIN; ELSENBEEER, 2001.

As medidas de descarga do rio Amazonas oscilam bastante, dependendo dos locais e das épocas de amostragem, porém, seus valores médios anuais situam-se entre 200.000 a 220.000 m^3s^{-1} . A precipitação média anual é de aproximadamente 2.300 mm, apresentando regiões com valores acima de 3.000 mm, principalmente na sua parte oeste, noroeste e litoral norte. Esse regime é modulado por sistemas dinâmicos de micro a grande escala, isto é, sob influências de fatores locais e planetários (MANZI, 2008)

Uma parcela importante das chuvas da Amazônia é alimentada pela evapotranspiração dos seus ecossistemas, à qual corresponde a cerca de 55 a 60% da precipitação anual. Isso não significa que toda a evapotranspiração gerada na Amazônia é convertida em precipitação na própria região. No período da estação chuvosa, a taxa de precipitação é geralmente maior que o dobro da taxa de evapotranspiração, o que implica que a maior parte da umidade necessária para gerar as chuvas é transportada de fora da região, notadamente do oceano Atlântico, pelos ventos alísios (MANZI, 2008).

No balanço anual, a região amazônica é um grande importador de vapor de água, especialmente do oceano Atlântico. O transporte de vapor do oceano contribui com mais de três quartos da umidade que circula anualmente na região, onde o outro quarto é produzido pelo processo de evapotranspiração (MANZI, 2008). A jusante neste grande sistema de águas, o rio Amazonas deságua em torno $13,5 \text{ t.s}^{-1}$ de sólidos suspensos para o oceano (FRITSCH et al., 2011).

3.3 O Solo e o sequestro de carbono

O solo é o compartimento presente na Litosfera terrestre. Sua formação ocorre devido à contribuição de fatores como rocha de origem, intemperismo causado pelo clima, relevo, hidrologia e seres vivos, ou seja, fenômenos físicos, químicos e biológicos que agem sobre a rocha e conduzem à formação de partículas não consolidadas que se acumulam sobre a rocha mãe. Sob o ponto de vista ambiental, o sistema solo apresenta diversas funções, dentre elas estão: promover o crescimento de raízes, receber, armazenar e suprir água e nutrientes; promover trocas gasosas e promover a atividade biológica (BRADY; WEIL, 2008).

Desde a descoberta de que o sequestro de carbono pelo solo poderia diminuir a quantidade disponível deste elemento no meio ambiente, o Protocolo de Kyoto vem aumentando o interesse no entendimento dos reservatórios de carbono terrestres e seu papel nos fluxos deste elemento (COX et al., 2000). Estimativas apontam que até a década de 2050, mais C terá sido

emitido para atmosfera em virtude do manejo do solo e das mudanças do uso da terra do que pela queima de combustível fóssil (LAL, 2004).

A transferência de CO₂ atmosférico para outro reservatório de longo tempo, de modo que este não seja reemitido para a atmosfera, é chamado sequestro de Carbono (LAL, 2008). Já, segundo Feller e Bernoux (2008), o termo sequestro de C deve abordar também as emissões provenientes do CH₄ e N₂O em equivalente-CO₂, não podendo estar limitado a mera quantificação dos estoques de CO₂ nas partes subterrânea no solo e aéreas das plantas, onde neste caso, deve ser usado o termo sequestro de C pelo solo, ou sequestro de C solo-planta.

O ciclo é composto tanto pela entrada (reservatórios) quando pela saída (fluxos) no ambiente. O estoque oceânico é estimado em 38000 Pg, o geológico em 5000 Pg; no solo, o carbono é armazenado principalmente na matéria orgânica do solo (MOS) no qual 1500 Pg (até 1m de profundidade) e 2400 Pg (até 2m de profundidade); o estoque na atmosfera é de 750 Pg e para o reservatório biótico (plantas) o valor se faz em 560 Pg (LAL, 2001). O estoque de carbono atmosférico vem aumentando crescentemente frente a um desequilíbrio entre os reservatórios de carbono geológico (devido às emissões de combustível fóssil), biótico (devido ao desmatamento e incêndios), e do solo (devido principalmente às mudanças no uso e ao manejo inadequado) (LAL, 2001). Além do Carbono orgânico, existe o carbono inorgânico do solo (CIS), que armazena de 675 a 748 Pg de CO₃²⁻ e é mais importante nos horizontes subsuperficiais de solos de regiões áridas e semi-áridas (BATJES, 1996). A fonte do CIS se deve a carbonatos litogênicos (primário) e pedogênicos (secundário), sendo este último o mais importante no sequestro de Carbono (SPARKS, 2003).

No ciclo do carbono terrestre, os solos contêm maior fração de carbono, quando comparados com a vegetação e a atmosfera. Este é considerado sequestrado pelo relativo longo período de tempo que possa residir nos solos e assim ficar impedido de voltar para a atmosfera (SWIFT, 2001). O sequestro terrestre de Carbono mostra-se uma estratégia “ganha-ganha” devido aos diversos benefícios, especialmente ao positivo impacto na segurança alimentar e também na contribuição para a mitigação das mudanças climáticas, melhorando o meio ambiente (LAL, 2009). Além disso, os solos estocam globalmente, o equivalente a 300 vezes o montante de carbono liberado anualmente através da queima de combustíveis fósseis (SCHULZE; FREIBAUER, 2005). A Figura 5 apresenta os fatores que afetam a capacidade de sequestro de carbono pelo solo.

Figura 5 – Fatores que afetam a capacidade de sequestro de carbono pelo solo.

Adaptado de LAL et al., 2006.

De acordo com Lashof e Lipar (1989), nos últimos 200 anos a influência antrópica reduziu consideravelmente o carbono da biomassa, pelos desmatamentos e devolução para a atmosfera através de queimadas. Dos 6 a 8 Gt de C lançados na atmosfera nestes processos, 37,5% são transferidos aos oceanos e 37,5 a 62,5 % são acumulados na atmosfera.

Segundo Corazza et al. (1999), a capacidade de armazenamento de C pelo solo depende de seu tipo (mineralogia e textura), manejo, do clima e do tipo de cobertura vegetal. Em solos sob vegetação natural, a preservação da matéria orgânica do solo (MOS) tende a ser máxima, pois o revolvimento do solo é mínimo. Em áreas cultivadas, os teores de MOS tendem a diminuir, já que esta é mais exposta ao ataque de micro-organismos em função do revolvimento e da desestruturação do solo. As plantas enviam de 35-80% do carbono fixado na fotossíntese para baixo da superfície do solo, na produção e respiração das raízes, micorrizas e exsudatos (RYAN; LAW, 2005).

Como atividades agrícolas e desflorestamentos têm mostrado uma redução nos estoques de carbono no solo, pode-se dizer que a capacidade do solo em retirar o carbono atmosférico depende da diferença entre os níveis de carbono existentes no solo de uso agrícola e florestal comparado com o estoque de carbono de um ecossistema natural, sem perturbação. Muitas perdas de carbono do solo acontecem com a conversão de ecossistemas naturais para ecossistemas manejados (CERRI; CERRI, 2007). Na Figura 6, pode ser observado o ciclo total do carbono em seus compartimentos, junto com suas taxas de troca em Pg.ano^{-1} ($= \text{GtC ano}^{-1}$) (IPCC, 2007).

Figura 6 – Ciclo global do carbono para a década de 1990, em seus principais compartimentos, mostrando os principais fluxos anuais em GtC ano^{-1} : fluxos pré-industriais "naturais" em preto e fluxos "antrópicos" em vermelho.

Adaptado de IPCC, 2007

Na Figura 6, a perda de 140 GtC representa as emissões acumuladas da mudança no uso da terra, e o ganho de 101 GtC é referente à biosfera terrestre. Existe um fluxo contínuo de carbono, estimado em $0,4 \text{ GtC.ano}^{-1}$ ($120-119.6$), que é referente ao C assimilado pelas plantas na forma de CO_2 , ficando retido na biomassa vegetal. Globalmente, o solo retém cerca de 2300 GtC. O fluxo bruto entre a biosfera e a atmosfera é da ordem de 120 GtC.ano^{-1} e entre os oceanos e a atmosfera é de 90 GtC.ano^{-1} .

Por fim, sumariamente, é possível afirmar que as mudanças nas concentrações de carbono abaixo do solo devem causar grande impacto no estoque de carbono dos ecossistemas

terrestres e mudanças nos fluxos de carbono da atmosfera, principalmente em sistemas de solo especiais como os espodossolos, que naturalmente armazenam carbono em profundidade.

3.4 Matéria orgânica do solo (MOS)

3.4.1 Dinâmica da MOS

O termo matéria orgânica do solo (MOS) refere-se a todos os compostos que contém carbono orgânico no solo, incluindo, compostos humificados, materiais carbonizados, organismos vivos como raízes, micro, meso e macrofauna e mortos, como biomassa microbiana, resíduos frescos de plantas e animais em seus variados estágios de decomposição, bem como seus produtos e subprodutos orgânicos microbiológica e quimicamente alterados (ROSCOE; MACHADO, 2002; BAYER; MIELNICZUCK, 2008). Entretanto, segundo Dick et al. (2009), o conceito de matéria orgânica do solo ainda não está consensualmente definido, podendo diferentes grupos de pesquisadores demonstrarem entendimentos distintos dos que seja a MOS. Para Dick et al. (2009), a MOS pode ser dividida em substâncias húmicas e não húmicas. As *substâncias não húmicas* são compostos que pertencem a conhecidas classes bioquímicas e portanto apresentam características químicas bem definidas, como polissacarídeos, aminoácidos, açúcares, proteínas e gorduras e ácidos orgânicos de baixa massa molar. Já as *substâncias húmicas* não apresentam características químicas e físicas bem definidas, e são divididas em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina, com base nas suas características de solubilidade (STEVENSON, 1994). Na Figura 7 pode-se notar como se distribui a MOS e quais são suas principais fontes.

Figura 7 – Distribuição da matéria orgânica do solo e suas principais fontes.

Fonte: MOURA, 2013.

O solo comporta-se como um sistema aberto, trocando matéria e energia com o meio. O sistema atinge um estado estável quando as taxas de adição e perdas se equivalem. Sendo assim, a adição de matéria orgânica ocorre via adição de carbono pela síntese de compostos orgânicos no processo da fotossíntese e as perdas de carbono ocorrem principalmente pela liberação de CO₂ na respiração, decomposição microbiana, lixiviação e erosão. A magnitude desses processos depende direta ou indiretamente do manejo do solo e das condições hidrogeomorfológicas do local (BAYER; MIELNICZUK, 2008).

A matéria orgânica é um reservatório essencial de carbono, nutrientes e energia no ciclo de vida dos ecossistemas terrestres (WOLF; SNYDER, 2003). A MOS pode ser quimicamente estabilizada, por meio da formação de associações com minerais argila e óxidos de Fe e Al; e fisicamente protegida pela incorporação dentro de agregados (LEITE; GALVÃO, 2008). A MOS tem importante papel na estabilização dos agregados e isso aumenta os estoques de C, por meio da diminuição das perdas de C orgânico pela erosão e por proteger a matéria orgânica (MO) fisicamente contra a decomposição. Além disso, em solos de ambientes

tropicais e subtropicais, a MOS tem grande importância como fonte de nutrientes para as culturas, na retenção de cátions, complexação de elementos tóxicos e de micronutrientes, estabilidade da estrutura, infiltração e retenção de água, aeração, e serve como fonte de carbono e energia aos micro-organismos heterotróficos, constituindo-se, assim, num componente fundamental do potencial produtivo desses solos (MIELNICZUK, 1999).

A MOS é inicialmente decomposta pela mesofauna do solo e posteriormente pelos micro-organismos decompositores como fungos e bactérias, que se utilizam de aparatos enzimáticos e são responsáveis por diversos mecanismos de síntese e degradação no solo, ora promovendo a mineralização de compostos orgânicos e a liberação de nutrientes, ora imobilizando-os em sua biomassa (MUSSURY et al., 2002). A decomposição depende principalmente do tipo do material, sua idade, tamanho da partícula, relação C/N e fatores do ambiente do solo como temperatura, aeração, pH e conteúdo de nutrientes (BERG; LASKOWSKI, 2006; LEITE; GALVÃO, 2008).

3.4.2 Estudo da MOS

O consumo dos materiais mais facilmente biodegradáveis pelos micro-organismos do solo conduz o processo de humificação da matéria orgânica do solo (STEVENSON, 1994). Segundo Milori et al. (2002), a humificação se caracteriza pelo aumento de grupamentos carboxílicos, alquílicos e aromáticos na estrutura supramolecular dos ácidos húmicos, que em maior grau, proporcionam maior resistência à degradação, e desta maneira, maior permanência no ambiente em comparação aos compostos menos humificados. Entretanto Kleber (2010), aponta que o termo “recalcitrância” traduz uma abstração indeterminada cuja imprecisão semântica dificulta a pesquisa sobre o ciclo do carbono terrestre. Kleber (2010), defende ainda que a recalcitrância inerente dos materiais, muitas vezes citada, é na verdade um problema logístico de interpretação conjunta de fatores como (i) ecologia microbiana; (ii) cinética enzimática; (iii) condutores ambientais; e (iv) proteção da matriz.

Segundo Cunha et al. (2005), a formação das substâncias húmicas é caracterizada por um processo complexo baseado na síntese e/ou ressíntese dos produtos da mineralização dos compostos orgânicos que chegam ao solo. Teoricamente, pode-se simplificar os vários caminhos da humificação em dois mecanismos: a preservação seletiva de biopolímeros e a policondensação de moléculas pequenas (CAMARGO et al., 1999). Essas transformações incluem um conjunto de reações de oxidação, desidratação, hidrólise, descarboxilação e

condensação que são influenciadas pelas condições do solo, tais como, tipo de argila, pH e teor de bases (ZECH et al., 1997).

Assumindo qualquer das várias possibilidades para o processo de estabilização dos compostos orgânicos no solo, os ácidos húmicos representam a fração intermediária entre a estabilização dos compostos pela interação com a matéria mineral e a ocorrência de ácidos orgânicos oxidados livres na solução do solo (ácidos fúlvicos livres ou associados). Os ácidos húmicos são, portanto, um marcador da direção do processo de humificação e refletem, como tal, tanto a condição de gênese, como de manejo do solo (CUNHA et al., 2005). Trabalhos de referência importantes para se compreender sobre o uso da distribuição relativa das frações de matéria orgânica, como indicador da mudança de manejo do solo ou da qualidade do ambiente, são encontrados em Schnitzer & Khan (1978), Kononova (1982), Schnitzer (1991) e Kogel-Knabner (2002).

Na Figura 8, encontram-se as estruturas dos principais grupamentos químicos depositados ao longo do tempo nas frações da matéria orgânica do solo.

Existem duas formas de estudar a matéria orgânica a partir do seu fracionamento, o químico e o físico. O fracionamento químico, que foi realizado neste trabalho e é apresentado com detalhes na parte metodológica, tem a capacidade de separar os componentes recalcitrantes da fração mineral do solo em ácidos húmicos, fúlvicos e humina, possibilitando estudo mais detalhado destas porções da MOS. Já o fracionamento físico, que foi desenvolvido por Christensen (1996a, b, 2000), é baseado no grau de associação da MO com a matriz do solo, e passa a ser dividida em Matéria Orgânica Não Complexada (MONC), e se a MO estiver ligada a partículas minerais, é classificada como um Complexo Orgânico Mineral (COM). Os COMs são classificados em dois níveis hierárquicos, sendo eles primários, quando resultam da interação direta entre partículas minerais primárias e compostos orgânicos. Em um segundo nível hierárquico de organização, os COM-primários agrupam-se, formando agregados ou COM-secundários. Neste processo, pode ocorrer o aprisionamento de parte da MONC no interior dos COM-secundários, dando origem a uma divisão da MONC em: livre, na superfície ou entre agregados (MONC-livre); e oclusa, dentro dos agregados em locais pouco acessíveis a microbiota (MONC-oclusa) (ROSCOE; MACHADO, 2002).

Figura 8 – Principais classes de moléculas depositadas ao longo do tempo nas frações da matéria orgânica do solo. (a) Monômero da celulose, hemicelulose e rede de microfibrilas responsável pela sustentação da parede vegetal; (b) Representação da estrutura da lignina e as principais ligações entre os monômeros guaiacil, siringil e hidroxifenil; (c) Representação da estrutura dos taninos; (d) Representação das estruturas lipídicas presentes na estrutura vegetal.

Adaptado de CUNHA et al. (2005) e KOGEL-KNABNER (2002).

3.5 Os Espodossolos

Os espodossolos, conhecidos também como podzóis, foram distinguidos pela primeira vez como "podzols" na segunda metade do século 19 por cientistas do solo russos (KARPACZEWSKI, 1983). A definição de horizonte espódico foi estabelecida pela primeira vez na taxonomia Americana de solos (SOIL SURVEY STAFF, 1975), e posteriormente aplicada às classificações da FAO (DUDAL, 1969) e World Reference Base for Soil Resources (WRB, 1998) (DEGÓRSKI, 2007). Estes tipos de solo ocorrem amplamente em regiões úmidas frias (LUNDSTRÖM et al., 2000; SOMMER et al., 2001; SAUER et al., 2007), ou em regiões quentes tropicais úmidas (KLINGE, 1965; NASCIMENTO et al., 2004; MONTES et al., 2007, 2011). Em ambos os casos, podem ser caracterizadas pelos seguintes horizontes: um horizonte A superficial com material vegetal em decomposição, um horizonte E eluvial, formado principalmente por areia quartzosa ou de minerais originais pouco intemperizados e horizontes B espódicos, enriquecidos com substâncias húmicas que se acumulam (Bh) ou com óxidos de ferro e alumínio (Bs).

A podzolização é o processo que dá origem aos espodossolos. A especificidade dos podzóis se dá pela lixiviação completa dos elementos do horizonte E, incluindo Al e Fe. Esses elementos são pouco solúveis nas condições de solução do solo, e supõe-se que a matéria orgânica desempenhe um papel chave no seu transporte (MELFI et al., 2007). A podzolização é resultante da acidificação acentuada do húmus que leva à formação de grandes quantidades de compostos orgânicos solúveis ou pseudo-solúveis (principalmente polifenóis e ácidos orgânicos) que se deslocam para a parte inferior do perfil. Estes compostos não só se apoderam de todo ou quase todo o ferro livre dos horizontes A1 e A2 mas provocam também a degradação química da parte mineral do complexo de absorção, liberando então sílica e alumina que também migram. Os óxidos de ferro e de alumínio ligam-se na forma de complexos com os compostos orgânicos solúveis que resistem à decomposição microbiana e são desta maneira, postos em movimento descendente (LUNDSTRÖM et al., 2000; VAN HEES; LUNDSTRÖM, 2000). Segundo Lucas et al. (1996) e Lundström et al. (2000), os espodossolos se desenvolvem onde existe matéria orgânica dissolvida capaz de percolar através dos horizontes do solo para os rios, permitindo com que o Al e o Fe lixiviem e assim, favorecendo a dissolução da argila e dos óxidos de Fe.

A maior parte das muitas teorias que têm sido propostas para explicar a formação dos podzóis, foi desenvolvida a partir das propriedades geoquímicas de fase sólida (UGOLINI;

DAHLGREN, 1987; TAYLOR, 1988). Apenas alguns consideram o papel da fase solúvel celular (UGOLINI; DAHLGREN, 1987; LUCAS et al., 1996; LUNDSTRÖM et al., 2000). As teorias mais aceitas atualmente são a do fulvato e a da proto-imogolita. A teoria do fulvato envolve a formação de complexos organometálicos solúveis, especialmente com ácidos fúlvicos (UGOLINI; DAHLGREN, 1987; LUNDSTRÖM, 1993), nas quais complexos de Fe e Al migram em profundidade através do horizonte E (eluvial) e Bh até acumularem no horizonte Bs, onde se decompõem. Fe e Al liberados interagem com o silício dissolvido no horizonte Bs, precipitando na forma de imogolita ou alofana. A teoria proto-imogolita envolve a formação de uma carga positiva em uma proto-imogolita de tamanho pequeno no horizonte E eluvial (FARMER et al., 1980; FARMER; FRASER, 1982). A proto-imogolita migra através dos horizontes E e Bh. Os ácidos fúlvicos liberados na superfície do solo migram através do horizonte E e precipitam na superfície das imogolitas para formar os horizontes Bhs. Basicamente, na teoria do fulvato, o Al migra através do horizonte E como um complexo de ácido fúlvico, enquanto na teoria proto-imogolita, o Al migra na forma inorgânica proto-imogolita (MELFI et al., 2007).

Normalmente o processo de podzolização é composto por 3 estágios: no primeiro, após a produção de ácidos orgânicos e com a intempérie mineral, ocorre a *mobilização* do complexo orgâno-metálico; no segundo, ocorre a *translocação* desses complexos orgâno-metálicos através do horizonte eluvial (normalmente chamado de albico devido a cor); e no terceiro estágio ocorre a *imobilização*, normalmente devido à precipitação inorgânica de baixa cristalinidade do Fe, Al e Si onde o complexo e o material orgânico passam a ficar insolúvel e assim pouco móvel, acumulando-se no horizonte Bh (SAUER et al. 2007). O horizonte espodossolo hidromórfico (Bh) é caracterizado por apresentar iluviação dominante de complexos matéria orgânica-alumínio, com pouca ou nenhuma evidência de ferro iluvial. O horizonte é relativamente uniforme e apenas o conteúdo de matéria orgânica e de alumínio decrescem em profundidade. No horizonte Bh, em geral, os grãos de areia não estão revestidos por material iluvial, que ocorre como grânulos ou precipitados de matéria orgânica e sesquióxidos de alumínio (SCHNEIDER; SPERA, 2009). A Figura 9 mostra uma ilustração do processo de podzolização vertical e ao longo de uma catena juntamente com seus 3 estágios.

Figura 9 – Ilustração do processo de podzolização na escala pedológica (vertical) e paisagística (horizontal); onde O é o horizonte orgânico, EA é o horizonte de mobilização, E é o horizonte eluvial, Bhs é o horizonte húmico com presença de ferro e CB é o horizonte pouco intemperizado que apresenta rocha matriz.

Adaptado de SAUER et al. (2007).

Segundo Klinge (1965) e Sombroek (1990), a formação dos espodossolos amazônicos tem sido relacionada à erosão em larga escala de solos com argila de baixa atividade (LAC) restantes, fazendo com que os planaltos formados, erodam sobre depósitos de areia fluviais ou continentais. Entretanto, Nascimento et al. (2004) afirmou que os mais recentes estudos da toposequência apontaram que os solos com LAC e os espodossolos podem coexistir no mesmo material de origem e na mesma unidade geomorfológica.

A diferença entre o aporte de matéria orgânica e sua decomposição é o principal fator de acúmulo da matéria orgânica nos espodossolos (SAHRAWAT, 2003). Os espodossolos da Amazônia armazenam grandes quantidades de carbono nos horizontes superficiais. Baseado no estudo de menos de 30 perfis para toda a Amazônia, Batjes e Dijkshoorn (1999) e Bernoux et al. (2002) estimaram que nos primeiros 30 cm destes solos a média de carbono armazenada se situava entre 6 e 9,4 kg C m⁻².

O acúmulo da MO nos perfis espódicos da Amazônia é estimulado pela presença constante de água, o que caracteriza sua hidromorfia. Uma vez que em meio aquoso, a difusão de gases é

10^4 vezes menor que em meio gasoso, solos em condições alagadas propiciam o desenvolvimento de condições redutoras, onde os micro-organismos são fortemente inibidos a degradar esta MO (UNGER et al., 2009) e ainda nestas condições, as bactérias aeróbicas esgotarão rapidamente o oxigênio dissolvido, onde posteriormente as bactérias usarão íons nitrato, ferro e manganês como aceptores finais de elétrons (MONTES et al., 2007).

3.6 Técnicas Analíticas para caracterização da matéria orgânica do solo

3.6.1 *Análise granulométrica por atenuação de Raios Gama*

O analisador granulométrico de solos utiliza o princípio da atenuação de raios gama, durante o processo de sedimentação das partículas dispersas em água, para determinar a distribuição do tamanho das partículas. Este método, desenvolvido por Vaz et al. (1999), permitiu reduzir o tempo de análise para aproximadamente 20 minutos, uma vez que não demanda secamento em estufa por 24 horas e dispensa pesagens, diferentemente dos métodos da pipeta e do densímetro de Bouyoucos. A curva de distribuição de tamanho de partículas obtida pelo analisador inicia em 2 μ m e vai até 2 mm.

O método baseia-se em dois princípios básicos:

- a) Na atenuação de radiação gama, que é usada para calcular a concentração C (equação 1) em diferentes alturas da amostra, obtida através da modificação da lei de Lambert-Beer

$$C = \frac{\ln\left(\frac{I_0}{I}\right)}{x\left(\mu_p^* - \frac{\mu_w^* D_w}{D_p}\right)} \quad (\text{Equação 1})$$

onde x é a medida interna do recipiente (5cm), I_0 é a contagem de fótons [em contagens por segundo (cps)] por segundo quando o recipiente contém água pura e I quando contém o solo disperso e os parâmetros μ_p^* e μ_w^* [$\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$] são respectivamente os coeficientes de atenuação de massa do solo e da água. Dessa forma a razão C/C_0 é obtida em porcentagem, onde C_0 é a concentração da solução homogênea (massa de partículas do solo por volume de solução).

- b) Na Lei de Stokes (equação 2) que é usada para calcular o tempo de queda das partículas no meio líquido. O tempo t e a altura h determinam quando e onde as medidas de atenuação devem ser feitas para calcular o menor diâmetro d , tal que todas as partículas maiores já sedimentaram abaixo da altura h . Portanto, a concentração obtida nesse nível está correlacionada com os tamanhos de partículas maiores ou iguais a d .

$$t = \frac{18h\eta}{d^2g(D_p - D_w)} \quad (\text{Equação 2})$$

onde η (poise) é a viscosidade da água e g (m s^{-2}) é a aceleração da gravidade.

3.6.2 Espectroscopia no Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR)

A região de maior interesse para elucidação qualitativa de estruturas reativas como COOH, OH-fenólico, OH-alcoólico, OH-enólico, C=O, -NH₂, componentes estruturais alifáticos e aromáticos corresponde a faixa da 4000 a 400 cm^{-1} (STEVENSON, 1994).

Em um espectrofotômetro de infravermelho (IV), a porcentagem de radiação transmitida pela amostra devido a uma determinada condição de absorção energética, é registrada, resultando num espectro contínuo de bandas de absorção. No espectro de IV, a intensidade do sinal, que segue a lei de Lambert-Beer, está relacionada à absorbância (ou transmitância) em função do número de onda, que é expresso em cm^{-1} (SILVERSTEIN et al., 2005). Enquanto comprimentos de onda na região do ultravioleta e do visível, causam transições eletrônicas nas moléculas orgânicas, a radiação infravermelha promove alterações nos modos rotacionais e vibracionais das moléculas (BARBOSA, 2007).

A espectroscopia na região do Infravermelho médio é baseada no fato de que os diversos tipos de ligações químicas e de estruturas moleculares existentes em uma molécula, absorvem comprimentos de ondas característicos nesta região e dessa forma, os átomos envolvidos exercem diferentes estados de vibração. Dois tipos fundamentais de vibrações moleculares podem ser distinguidos: i) o estiramento, no qual os átomos vibram no mesmo eixo, variando a distância entre eles, e ii) a deformação, na qual a posição dos átomos em vibração muda em relação ao eixo da ligação. Quando a radiação IV incide na amostra, ressonante à frequência de vibração de estiramento ou de deformação, a energia é absorvida e a amplitude de vibração

é aumentada. O detector do espectrômetro de infravermelho grava então um pico de absorção naquele comprimento de onda, devido à energia alterada pela absorção na frequência de ressonância (STEVENSON, 1994). Os principais tipos de vibrações moleculares (de estiramento e deformação), são mostrados na Figura 10.

Figura 10 – Vibrações típicas de átomos. Os sinais + e – significam vibrações perpendiculares ao plano do papel.

Fonte: STUART, 1996

As vibrações de estiramento são mais energéticas e são absorvidas portanto em frequências superiores às das vibrações de deformação. Estiramentos de ligações envolvendo próton (OH, C-H e N-H) ocorrem em maiores frequências (3700 a 2650 cm^{-1}) do que estiramentos de ligações do tipo C-C, C-O, e C-N (1300 a 800 cm^{-1}) (STEVENSON, 1994).

As análises de FTIR conferem informações úteis, pois permitem identificar possíveis processos de oxidação e alteração de grupos funcionais, associados aos efeitos de manejos, mudança no pH, complexação com micronutrientes provenientes de fertilizantes ou naturalmente ocorrendo no solo. Trata-se de um método relativamente acessível e de interpretação simples dos dados. Em muitas situações pode haver sobreposição de bandas, o que requer o uso de outros métodos analíticos concomitantemente (PIGATIN, 2011).

A espectroscopia de infravermelho apresenta-se como uma técnica útil à pesquisa com substâncias húmicas pois têm fornecido importante entendimento sobre a natureza, reatividade e arranjo estrutural de grupos funcionais contendo átomos de oxigênio. No mesmo sentido, os espectros de substâncias húmicas no infravermelho podem fornecer a identificação de uma variedade de bandas de diferentes grupos funcionais presentes nestas misturas complexas deste ou de outros materiais essencialmente orgânicos (STEVENSON, 1994).

3.6.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Como todas as formas de espectroscopia, a RMN trata da interação da radiação eletromagnética com a matéria (CAMPBELL; DWEK, 1984). Entretanto, diferencia-se da espectroscopia óptica em vários aspectos fundamentais, tais como: (i) a separação entre os níveis de energia é resultado da interação do momento magnético μ de um núcleo atômico com o campo magnético aplicado (B_0); (ii) a interação se realiza com a componente magnética da radiação eletromagnética em vez da componente elétrica (BATHISTA, 2005).

Assim, a RMN é o fenômeno no qual ocorre a absorção de radiação eletromagnética (na região da radiofrequência (MHz)) por núcleos com spin nuclear (I) diferente de zero e que estão sujeitos a um campo magnético. O spin do próton e nêutron, assim como o do elétron, é igual a $1/2$. Como um núcleo pode ter mais de um próton e/ou nêutron, I pode assumir valores de números inteiros ou semi-inteiros, 0 ; $1/2$; 1 ; $3/2$; 2 , de acordo com os números de prótons e nêutrons e da estrutura nuclear. Isso posto, $I = 0$, se o número de prótons e o número de massa forem pares, por exemplo, $^{12}_6\text{C}$ e $^{16}_8\text{O}$; $I = \text{inteiro}$, se o número de prótons for ímpar e o número de massa for par, por exemplo, $^{14}_7\text{N}$ ($I = 1$) e ^2_1H ($I = 1$); e $I = \text{semi-inteiro}$, se o número de massa for ímpar, por exemplo, ^1H e ^{13}C (ambos com $I = 1/2$). Os valores dos spins para outros núcleos possíveis de detecção por RMN, assim como outras características intrínsecas, estão tabelados e podem ser encontrados em livros textos específicos sobre RMN (KNOWLES et al., 1976; GÜNTHER, 1995; GOODMAN; CHUDEK, 1994; RAHMAN; CHOUDHARY, 1996; SILVERSTEIN et al., 2005).

A maioria dos fenômenos da RMN pode ser explicada tanto pela mecânica clássica como pela mecânica quântica. Na versão quântica, o fenômeno de RMN ocorre quando se coloca a amostra em um campo magnético B_0 e os núcleos com $I > 0$ se orientam na direção do campo, gerando $2I + 1$ níveis de energia, que é dada por $E = -\mu B_0 = -mI \gamma \hbar B_0 / 2 \pi$ (para $I=1/2$,

tem-se os estados de spin $m_I = \pm 1/2$). Esse desdobramento em níveis de energia é o efeito Zeeman. A diferença de energia entre os dois níveis é dada pela equação 3.

$$\Delta E = h \nu = h \omega / 2 \pi = \gamma \hbar B_0 / 2 \pi \quad (\text{Equação 3})$$

A espectroscopia de RMN consiste, então, em detectar a frequência ($\omega = 2 \pi \nu$) em que ocorre a transição entre os dois níveis de energia.

Na versão clássica a RMN pode ser explicada da seguinte maneira: ao se colocar a amostra em um campo magnético, os spins passam a precessionar em torno da direção do campo magnético com uma frequência ω , denominada frequência de Larmor, comumente definida como ω_0 , que é proporcional ao campo magnético aplicado (B_0) e à razão giromagnética (γ), sendo $\omega_0 = \gamma B_0$. Os spins que precessionam na direção paralela ao campo magnético possuem menor energia do que os antiparalelos, de maior energia. A condição de ressonância ocorre quando se aplica uma frequência igual à frequência de precessão e, por ressonância, os spins paralelos ganham energia e mudam de estado de energia (ABREU-JUNIOR et al., 2009).

O deslocamento químico (δ) é o principal parâmetro espectral da RMN. Ele advém da blindagem magnética causada pelos elétrons que envolvem ou estão na proximidade do núcleo. O deslocamento químico é devido ao campo magnético induzido (B_{el}) na nuvem eletrônica das moléculas, pelo campo magnético B_0 . O B_{el} é um campo proporcional e de sentido contrário ao campo aplicado (B_0). Assim, quanto maior for o campo aplicado (B_0), maior será o campo eletrônico induzido (B_{el}) e maior será o deslocamento químico. Por isso, pesquisadores que atuam na área da espectroscopia de RMN buscam campos magnéticos cada vez mais altos para aumentar a separação das linhas (ABREU-JUNIOR et al., 2009).

Com o deslocamento químico, a equação de RMN fica:

$$\omega = \gamma (B_0 - B_{el}) = \gamma B_0 (1 - \sigma) \quad (\text{Equação 4})$$

em que σ é a blindagem eletrônica, proporcional a B_0 .

Normalmente, os deslocamentos químicos tanto para ^1H quanto para o ^{13}C são apresentados a partir da frequência de uma amostra padrão, por exemplo, o tetrametilsilano (TMS), cuja fórmula química é $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$. Como o deslocamento químico é dependente do campo aplicado,

utiliza-se a razão abaixo que é independente do campo magnético aplicado de acordo com a equação 5:

$$\delta = (\nu_i - \nu_{\text{ref}}) / \nu_{\text{ref}} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde ν_i e ν_{ref} , são as frequências de ressonância do núcleo observado e do padrão, respectivamente, onde o valor de δ é dado em parte por milhão (ppm) (ABREU-JUNIOR et al., 2009).

3.6.4 Absorção, emissão e espectroscopia de fluorescência molecular

O fenômeno de luminescência é caracterizado pelo processo de emissão de radiação eletromagnética pela matéria após esta ter absorvido energia. Esta absorção ocorre quando elétrons no chamado estado fundamental “S₀” (com mínimo em energia quântica) são excitados e posteriormente perdem total ou parcialmente a energia absorvida, num processo chamado relaxação, emitindo-a em forma de luz.

Segundo Valeur (2001), existem diversos tipos de luminescência, tais como a fotoluminescência, radioluminescência, catodoluminescência, eletroluminescência, termoluminescência, quimiluminescência, bioluminescência, triboluminescência e ainda a sonoluminescência. O tipo de luminescência que trata da interação da matéria com a luz é a *fotoluminescência* que por sua vez pode ser dividida em 2 processos distintos: a fluorescência e a fosforescência.

Para se entender estes processos, é preciso compreender sobre os estados de energia dos elétrons que compõe os orbitais moleculares das espécies químicas. No caso de compostos orgânicos, faz-se necessário que a espécie apresente elétrons- π , que é o fator que cria condições para que os elétrons ligantes σ e π , ou n, possam absorver a radiação na região do UV-Vís. Desta maneira, as absorções de energia podem ocorrer com os elétrons sendo excitados (em ordem decrescente de energia) da seguinte maneira: $n \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$, $\sigma \rightarrow \pi^*$ e $\sigma \rightarrow \sigma^*$. Estas transições eletrônicas são portanto características da região do ultravioleta e visível do espectro eletromagnético. Através da lei de Planck ($E = h.c/\lambda$) e do diagrama apresentado na Figura 11, é possível compreender, por exemplo, que a transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$ é menos energética e por isso envolve uma absorção de um fóton com maior comprimento de onda (λ) que a transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$, que envolve maior energia e portanto menor λ .

Figura 11 – Ilustração da absorção de energia pelos elétrons em diferentes estados de energia e suas possíveis transições eletrônicas.

Estas transições eletrônicas podem ocorrer com ou sem mudança no spin do elétron em questão e este é o fator que diferencia a fluorescência e a fosforescência. Os spins eletrônicos se dispõem paralelamente ou anti paralelamente, podendo ser denominados com spin $+1/2$ (*up*) ou $-1/2$ (*down*). De acordo com o princípio de exclusão de Pauli, dois elétrons no mesmo orbital nunca possuem o mesmo número quântico e assim nunca possuem o mesmo spin, estando estes sempre emparelhados. Assim, quando a partir de um orbital molecular (ou atômico), tem-se dois elétrons emparelhados, diz-se que estes estão no seu estado fundamental (S_0). No entanto, quando um destes elétrons absorve energia, este passa a um estado excitado, podendo continuar com o spin original e dessa forma sendo chamado de estado excitado singleto (S_1) ou podendo mudar seu spin e assim sendo chamado de estado excitado tripleto (T_1). Por definição, na fluorescência, a transição eletrônica ocorre sem mudança de spin, ou seja, sempre ocorre absorção $S_0 \rightarrow S_1$ ou $S_0 \rightarrow S_2$ e emissão $S_0 \leftarrow S_1$ (10^{-9} s). O processo de relaxação $S_2 \rightarrow S_1$ (10^{-12} s) é denominado conversão interna e ocorre antes da fluorescência. Já no processo de fosforescência, a emissão de luz ocorre devido a elétrons que mudaram seu spin (devido a um processo chamado cruzamento inter sistemas (CIS)) e dessa forma, a absorção ocorre sempre no caminho $S_0 \rightarrow S_1$ (10^{-9} s), com um subsequente CIS S_1 (ou S_2) $\rightarrow T_1$, seguida da emissão $S_0 \leftarrow T_1$ (longo tempo de vida: 10^{-6} s). Na Figura 12 encontra-se o diagrama de Jablonski, que resume os processos explicados acima, ilustrando os estados energéticos de uma molécula e as transições entre eles.

Figura 12 – Diagrama de Jablonski. As setas roxas e azuis para cima, representam a energia absorvida pelo sistema. Em laranja estão representadas as relaxações vibracionais (térmicas). As conversões interna e externa estão representadas pela seta preta tracejada. A seta preta contínua indica a conversão inter-sistema. Em verde está representada a relaxação eletrônica com emissão de luz para a fluorescência e em vermelho para a fosforescência.

Fonte: RANULFI, 2015

A fotoluminescência observada em soluções normalmente ocorre de forma *não-ressonante* (deslocamento Stokes), ou seja, o λ de emissão é maior que o λ de excitação. Isso ocorre pois existem diversos caminhos de relaxação não radiativos, tais como conversão interna e externa, transferência de carga intramolecular, mudança conformacional, transferência de elétron, transferência de próton, transferência de energia, formação de excímero ou exciplex, transformação fotoquímica ou cruzamento inter-sistemas. Já para átomos no estado gasoso, que não possuem estados de energia vibracional superpostos aos níveis de energia eletrônicos, podem emitir fluorescência *ressonante*, ou seja, com o mesmo λ absorvido (LAKOWICZ, 2006). Vale ressaltar que para cada λ de excitação para uma determinada espécie química, um λ característico deverá ser emitido e nesta premissa reside o interesse na espectroscopia que utiliza luminescência.

Além da conversão externa, que consiste na perda de energia para o solvente, existem diversos outros fatores que influenciam na medida de fluorescência, tais como efeito de polarização, ligações de hidrogênio, pH, pressão, viscosidade, temperatura, presença de íons, potencial elétrico, *quenchers* e efeito de filtro interno (EFI). O *quenching* e o EFI são efeitos muito importantes para as medidas de fluorescência e dessa forma, uma breve explicação destes conceitos será relatada a seguir.

O efeito *quenching* consiste na capacidade que determinadas moléculas tem em diminuir a intensidade de fluorescência das moléculas fluoróforas. Normalmente este efeito é causado por colisões moleculares, mas pode ocorrer também devido a formação de espécies não fluoróforas entre o fluoróforo e outro soluto. Já o *inner filter effect* (EFI) é o mais importante para as análises no modo EEM, pois este deve ser corrigido para se obter espectros reais dos fluoróforos medidos. Existem 3 formas do EFI ocorrer, sendo eles o EFI por *excitação*, por *auto-absorção* e pela *presença de outras substâncias*. Todas estas formas decorrem na distorção da fluorescência e consequentemente do espectro (VALEUR, 2001).

Normalmente a absorbância é levemente atenuada somente para baixas concentrações do fluoróforo ($A < 0,1$), pois quando a concentração é maior que este valor, a luz é absorvida antes de chegar ao seio da cubeta (que é da onde o sistema de detecção está posicionado para coletar a emissão). Dessa forma, no EFI por excitação, o que ocorre é que a intensidade de fluorescência de um composto aumenta com a concentração, chega a um máximo e depois decai e por isso, a concentração do composto é proporcional apenas à uma gama restrita de densidades óticas. No EFI por auto-absorção, ocorre que os fótons emitidos por determinado fluoróforo podem ser reabsorvidos numa região de sobreposição espectral, ocasionando uma distorção na forma do espectro para esta região. Já o EFI pela presença de outras substâncias ocorre quando outros compostos absorvem luz na mesma região que o fluoróforo de interesse, agindo como filtro para a excitação da molécula alvo. Normalmente corrige-se este efeito através de um fator de correção (VALEUR, 2001).

Técnicas de analíticas com base na detecção de fluorescência são muito populares devido a sua alta sensibilidade e seletividade, juntamente com as vantagens de resolução espacial e temporal, e da possibilidade de sensoriamento remoto usando fibras ópticas (VALEUR, 2001).

Neste trabalho, foi utilizada a técnica de fluorescência 3D, também conhecida como espectroscopia de matrizes de fluorescência de excitação-emissão ou do inglês Excitation-Emission Matrix (EEM). As superfícies de resposta são geradas pela obtenção de espectros de excitação e de espectros de emissão de uma amostra. Os espectros de excitação são produzidos pela medida da intensidade de luminescência mantendo-se constante o comprimento de onda de emissão e varrendo-se o de excitação. Espectros de emissão são obtidos de forma contrária, mas através do mesmo princípio, mantendo-se a excitação constante e varrendo-se o modo de emissão (TREVISAN, 2003).

A Figura 13 mostra os componentes de um espectrofluorímetro convencional. O aparato é constituído por uma fonte de luz, normalmente de xenônio que emite a partir de 250nm até o IV, monocromador, filtro, polarizador, câmara para amostra, monocromador para a emissão, modulo ótico, fotomultiplicadora e computador para aquisição. O modulo óptico contém porta-amostra, fendas, polarizadores e um espalhador de feixe para fotodiodos. A fluorescência é direcionada com um ângulo reto em relação ao feixe incidente e detectada através de um monocromador por um fotomultiplicador. Varreduras automáticas dos comprimentos de onda são realizadas por monocromadores motorizados, que são controlados pelo computador (LAKOWICZ, 2006).

Figura 13 – Ilustração dos componentes e do funcionamento de um espectrofluorímetro.

Adaptado de LAKOWICZ (2006)

3.6.5 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

O uso da fluorescência em estudos das SH apoia-se na presença de diversas estruturas fluorescentes pertencentes às moléculas húmicas e seus precursores, normalmente aromáticos, fenóis e grupos quinona (SENESI et al., 1991). As estruturas fluorescentes presentes nas

substâncias húmicas, constituem apenas uma pequena porção da supra molécula húmica, todavia, sua variedade e a dependência de suas propriedades do meio de origem, permitem a obtenção de informações sobre seu comportamento fluorescente e sobre a natureza química da SH (SENESI; LOFFREDO, 1999). O comportamento fluorescente médio da molécula é o resultado da soma de todos os espectros individuais dos diferentes fluoróforos da molécula. Este tipo de análise tem sido utilizada para avaliar, de maneira não invasiva, o índice de humificação da matéria orgânica do solo (KALBITZ et al., 2000; MILORI et al., 2002; CARVALHO et al., 2004).

A Fluorescência Induzida por Laser (FIL) é um método que tem se mostrado eficiente na avaliação da MOS, fornecendo resultados precisos de maneira ágil e próxima das condições naturais. Milori et al. (2006) estudaram a aplicabilidade da FIL em amostras de solo sem qualquer pré-tratamento. Foi proposto um índice de humificação (H_{FIL}) para avaliação do grau de humificação dos solos, correlacionando com os índices de humificação já propostos anteriormente por Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002). O índice de humificação $H_{FIL} = ACF/COT$, onde ACF é a área sob a curva de emissão de fluorescência, com excitação em 458nm e COT é o conteúdo de C orgânico total, quer serve para normalizar a relação entre intensidade de emissão e a concentração de fluoróforos presentes na MO da amostra. Devido a alta correlação com os outros métodos de avaliação do grau de humificação da MO, Milori et al. (2006) concluíram que o sinal de fluorescência emitido a partir de uma amostra de solo inteiro excitado na região do azul, é devido a MO e com isso, pôde ser inferida por comparação, o grau de humificação deste material.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo e amostragem

As amostras analisadas neste trabalho foram inteiramente coletadas pela equipe de campo liderada pela professora Dra. Célia Regina Montes. As localizações específicas das áreas de teste, foram baseadas em análise de documentos existentes e de imagens de satélite. Para os trabalhos em campo, foram selecionadas áreas no estado do Amazonas a aproximadamente 300 km a sudoeste da cidade de São Gabriel da Cachoeira, onde posteriormente este conjunto de coletas foi identificado com a sigla “MAR”, por se tratarem do conjunto de amostras próximas ao rio Marié.

A cidade de São Gabriel foi alcançada após 36h de viagem pelos rios Negro e Marié. Foram coletadas 127 amostras através de trado holandês, em 9 diferentes pontos de tradagem, sendo as amostras rotuladas de MAR1 até MAR9. Vale ressaltar que a região amazônica estudada, constitui a maior mancha de espodossolo das Américas e dessa forma, o grande esforço para se chegar ao local, foi recompensado pela grande representatividade deste local, para esta ordem de solo pouco estudada. Para maiores detalhes da extensão e compreensão da importância dos espodossolos na Bacia do Rio Negro, um mapa Pedológico desta Bacia é mostrado no Anexo 1.

Em todos os perfis amostrados foram observados horizontes orgânicos em profundidades superiores a 100cm. Nos perfis MAR 5, 6, 7, 8 e 9 foram observados horizontes areno-argilosos abaixo dos horizontes orgânicos profundos. Nos demais perfis o material permaneceu arenoso desde a superfície. Sempre que possível procurou-se atravessar todo o horizonte orgânico para estimar sua espessura. Entretanto, em muitos casos isto não foi possível devido à entrada de água no furo da sondagem, sem possibilidade de vedação com os tubos de PVC, e, portanto, não permitindo a retirada do material. Ao longo do trabalho, para efeito de simplificação da notação, os pontos de coleta MAR1 até MAR9 foram renomeados para P1 até P9, como mostrado na Figura 14.

As sondagens foram realizadas em profundidades que variaram da superfície até 500 cm (Bh), tomando-se cuidado para que não fosse misturada matéria de diferentes profundidades, afim de se obter a característica da matéria orgânica daquele sítio exato, pois com a variação de

poucos centímetros na profundidade, o resultado da quantidade de carbono poderia mudar drasticamente.

As amostras foram refrigeradas ainda em campo, a fim de não se perder o carbono volátil e posteriormente congeladas para preservação das mesmas. As amostras foram então devidamente transportadas nestas condições para a Embrapa Instrumentação – São Carlos. Chegando à Embrapa, as amostras foram liofilizadas, maceradas, homogeneizadas e peneiradas de forma quantitativa (100 mesh). Este material foi então armazenado à temperatura ambiente e protegido da umidade e da luz, para posterior extração das substâncias húmicas e análises espectroscópicas.

4.2 Características dos perfis amostrados

A característica do local está associada com a transformação do sistema Latossolo-Espodossolo e apresenta características de solo arenoso (perfil franco-arenoso). A vegetação acima do solo é composta por campinarana florestada e a parte mineralógica, composta principalmente pelos minerais: quartzo, caulinita, gibbsita, anatásio e rutilo. A Figura 14 mostra o mapa dos 9 locais de amostragem de forma um pouco mais detalhada.

Figura 14 - Mapa detalhado dos locais de coleta das amostras

Fonte: PEREIRA; MONTES, 2014

Existem duas subregiões que devem ser levadas em consideração. Os perfis 1 ao 4, estão localizados em uma grande área de espodossolo, que fica mais próxima a margem do rio Marié. Já os perfis 5 ao 9, se localizam em uma área de transição espodossolo x latossolo,

como é possível verificar na Figura 19 e no mapa do Anexo 2. A partir dos dados do caderno de campo é possível descrever sucintamente cada área de coleta.

O ponto 1 foi coletado nas coordenadas 00° 48' 57,35''S; 67° 25' 57,6''W e altitude de 51m. Vegetação de campina arbustiva aberta; serrapilheira pouco espessa e pouco decomposta e areia branca solta na superfície. O nome local da vegetação é Chavascal que se relaciona a uma área pantanosa de vegetação baixa e arbustiva. O perfil mostrou-se arenoso e a tradagem foi curta, apenas até 70cm, pois o material encontrava-se encharcado, provavelmente devido a este ponto ser muito próxima ao rio, apenas 20 metros de um igarapé.

O ponto 2 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 01,5''S; 67° 25' 37,1''W e altitude 83m. Vegetação de campinarana florestada com predomínio de árvores com troncos de diâmetro médio de 10cm e outros poucos com diâmetro médio de 30cm. Dossel uniforme com dois estratos arbóreos. Árvores altas com aproximadamente 40m. Serrapilheira de aproximadamente 15cm.

O ponto 3 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 27,2''S; 67° 25' 22,1''W e altitude de 63m. Vegetação de campinarana florestada com predomínio de árvores com troncos de diâmetro médio de 10 a 15cm e outros poucos com diâmetro médio da ordem de 40cm. Micro-relevo não muito marcado. Serrapilheira de aproximadamente 20cm. A partir de 80 cm, as amostras saíram misturadas com água.

O ponto 4 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 32,7''S; 67° 25' 08,4''W e altitude de 72m. Vegetação de campinarana florestada com predomínio de árvores com troncos de diâmetro médio de 5 a 20cm e outras grandes com diâmetro médio maior que 60cm. Serrapilheira de aproximadamente 25cm. A partir de 140 cm, começa o Bh. Em 185 a 195 cm, há uma transição da cor do material de marrom para preto. A partir de 310 cm, começa a aparecer água livre e o material sai úmido.

O ponto 5 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 46,1''S; 67° 24' 24,5''W e altitude de 68m. Vegetação de campinarana florestada (insular) com predomínio de árvores com troncos de diâmetro inferior a 20 cm e outros poucos com diâmetro 50 cm. Serrapilheira de aproximadamente 3cm. (Para chegar neste passou-se por uma mancha de floresta ombrófila). Início do Bh em 85 cm. A partir do começo do Bh, material torna-se seco e difícil de tradar. Em 100 cm, teve-se que usar talhadeira. A partir de 225cm, começa o segundo lençol aparecendo água livre.

O ponto 6 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 37,9''S; 67° 24' 11,8''W e altitude de 89m. Vegetação de campinarana florestada com predomínio de árvores com troncos de diâmetro da ordem de 10cm e alguns mais grossos com diâmetro de 20 a 30cm. Serrapilheira de aproximadamente 10cm. A aproximadamente 50m do ponto de coleta tinha uma área mais baixa com palmeiras.

O ponto 7 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 51,4''S; 67° 24' 07,8''W e altitude de 57m. Vegetação de campinarana florestada com predomínio de árvores com troncos de diâmetro de 5 a 10cm e poucos com diâmetro até 40cm. Serrapilheira de aproximadamente 10cm.

O ponto 8 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 47,4''S; 67° 24' 08,6''W e altitude de 80m. Vegetação de campinarana florestada com muitas palmeiras e árvores mais grossas. Serrapilheira de aproximadamente 10cm.

O ponto 9 foi coletado nas coordenadas 00° 49' 48,6''S; 67° 24' 25,1''W e altitude de 82m. Vegetação de campinarana florestada com algumas palmeiras e predomínio de árvores com troncos de diâmetro entre 5 e 10cm e alguns mais grossos com diâmetro de 20-40cm. Serrapilheira entre 2 e 3cm. Este ponto estava a aproximadamente 100m do ponto 5.

4.3 Técnicas analíticas para avaliação da qualidade da MOS

Em posse de um total de 127 amostras de solo coletadas a partir dos 9 perfis escolhidos para sondagem, buscou-se averiguar o grau de humificação destas amostras de solo intactas a partir do índice H_{FIL} oriundo da técnica de Fluorescência induzida por Laser. Através da comparação de todos os índices, definiu-se um critério para escolha das amostras mais representativas para extração das substâncias húmicas e posterior caracterização químico estrutural. Dessa forma a caracterização da matéria orgânica foi realizada em duas etapas: a primeira, com caráter preliminar de seleção e caracterização geral das amostras e a segunda, uma análise mais sofisticada das frações húmicas e fúlvicas, utilizando-se uma variedade de técnicas espectroscópicas e método estatístico, dos quais serão discutidos ao longo deste item.

4.3.1 Análises do Solo Inteiro

4.3.1.1 Análise Elementar

O equipamento utilizado para quantificação de carbono das amostras de solo inteiro e de ácidos húmicos é um CHNS/O da marca Perkin Elmer modelo 2400. As medidas ocorrem por combustão a 1000°C onde são utilizadas colunas de combustão e redução para C, H e N, que produzem CO₂ que é detectado pelo aparelho. O aparelho fornece a resposta com base em valores conhecidos de um padrão com composição elementar estável e conhecida, no caso a Acetanilida.

Para realização da análise, as amostras de solos intactos foram moídas e passadas em peneira com malha de 100 mesh (0,15 mm). Foram pesadas, em duplicata, aproximadamente 10 mg das amostras diretamente dentro das cápsulas de estanho utilizando-se uma balança analítica com precisão de 0,00001g da marca Shimadzu modelo AUW220D, e então posteriormente foram introduzidas no forno do aparelho. Os resultados foram fornecidos pelo software do aparelho em planilha.

4.3.1.2 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

As análises foram realizadas para amostras de solo intacto, utilizando espectrofluorímetro como descrito por Milori et al. (2002). Não foram produzidas pastilhas, uma vez que o solo não congelou adequadamente e ficou quebradiço. Assim, as análises foram feitas com o solo espalhado em bandejinha, em quadruplicata e tomando-se cuidado para ocorrer a medição em diferentes pontos da amostra. Os espectros foram registrados com 458 nm de comprimento de onda de excitação, que foi gerado através de um laser de argônio de onda contínua (Innova 90-6, Coherent, Santa Clara, EUA), com potência óptica de 400 mW. A fluorescência da amostra foi coletada através de uma lente convergente e focada na fenda do monocromador (distância focal de 240 mm). O sinal fotomultiplicador foi filtrado e amplificado por meio de um amplificador lock-in. A emissão de fluorescência foi registrada de 475 nm a 800 nm. Os parâmetros de análise foram: tempo de integração: 300 ms; Boxcar: 4 e Average: 5.

A espectroscopia de fluorescência induzida por laser (FIL) foi utilizada por ser um método que fornece uma resposta para o grau de humificação do solo rapidamente, exigindo pouco

preparo da amostra e dessa forma, viabilizando a análise das 127 amostras de solo espódicos. O índice de humificação (H_{FIL}) foi determinado a partir da equação proposta por Milori et al. (2002), $H_{FIL} = ACF/TC$, onde "ACF" é a área sob a curva de fluorescência e "CT" representa o carbono total nas amostras, determinado por análise elementar. Dessa forma, os resultados de índice de humificação foram utilizados para selecionar as amostras que seriam fracionadas e mais detalhes poderão ser observados nas discussões dos resultados.

4.3.1.3 Análise granulométrica por atenuação de Raios Gama

A análise granulométrica foi realizada somente para os perfis escolhidos para extração das substâncias húmicas, com intuito de cruzar as informações de textura com as informações extraídas dos métodos espectroscópicos.

Figura 15 – (a) Analisador granulométrico por atenuação de raios gama e (b) Agitador automático

Fotos pelo autor

Utilizou-se um analisador granulométrico automático de raios gama (VAZ et al, 1992; OLIVEIRA et al. 1997 VAZ et al. 1999; NAIME et al. 2001). O método se baseia na atenuação de um feixe de raios gama pelas partículas dispersas em sedimentação. As amostras de solo inteiro, previamente liofilizadas, foram pesadas em porção igual a 40 g e deixadas em agitação em solução de NaOH 1 mol L⁻¹ durante 16 horas, em agitador automático (Figura 15b). Após agitadas, as amostras foram colocadas em cubetas de acrílico que possui dimensões 5 cm x 5cm de área e ajustada a uma altura de 16 cm. Posteriormente, as cubetas foram introduzidas a plataforma de análise do equipamento (Figura 15a). Os resultados de

atenuação foram fornecidos pelo aparelho e posteriormente os gráficos referentes à granulometria foram reproduzidos no Origin.

As frações de areia fina e grossa foram estimadas através do peso de cada porção, após passagem em peneiras.

4.3.2 Extração dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos

O uso de diferentes extratores ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, H_3PO_4 , NaOH , $\text{NaOH} + \text{Na}_4\text{P}_4\text{O}_7$, resina trocadora de íons) ocasionava entre as pesquisas com substâncias húmicas, diferentes formas de extração da MOS e dessa forma, diferentes quantificações de ácidos húmicos e fúlvicos, que dificultava a comparação de resultados para o mesmo tipo de solo sob condições edafoclimáticas similares. Assim, houve uma tendência da adoção do método preconizado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (SWIFT, 1996) por ser um procedimento adequado para os vários tipos de solos e que pode ser conduzido na maioria dos laboratórios (ROSCOE; MACHADO, 2002).

Para o fracionamento químico da MOS e obtenção dos ácidos húmicos e fúlvicos, as amostras liofilizadas de solos foram submetidas a um processo de extração e purificação por diferença de solubilidade, segundo método recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (SWIFT, 1996). Este método faz uso de solução de NaOH diluído para dissolver o ácido húmico e de HCl para que este precipite.

Inicialmente realizou-se extração, juntando-se 2L de HCl 0,1 mol L^{-1} com 200g de solo (proporção de 1g de solo: 10 mL de solução, ou seja, 10% de solo). A solução permaneceu sob agitação manual por uma hora e em seguida foi deixada em repouso por 2 horas (Figura 16a), para separar o sobrenadante do resíduo por decantação, sendo este sobrenadante o extrato de ácido fúlvico 1, que foi retirado por sifonação (Figura 16e), neutralizado e descartado. Em seguida adicionou-se NaOH 0,1 mol L^{-1} , na mesma proporção, para solubilizar novamente a porção húmica. Esta solução foi agitada manualmente durante quatro horas e posteriormente deixada em repouso durante 16 horas, para separar o sobrenadante do resíduo por decantação. O precipitado neste caso, era referente à fração mineral, humina, que foi descartada. O sobrenadante foi centrifugado, por 15 minutos a 10000 rpm (Figuras 16b e 16c), para a eliminação da argila. Em seguida, com um conta-gotas, o sobrenadante foi acidificado com HCl 6 mol L^{-1} até pH 1-2 sob agitação constante e foi deixado em repouso

por mais 12 horas, para decantação. O precipitado é referente à fração de ácido húmico (Figura 16d) e o sobrenadante nesta etapa, é o extrato de ácidos fúlvicos 2 (EAF2), que foi separado por sifonação, onde 100 mL foram armazenados em tubos falcon e congelados para posterior análise.

A partir desta etapa, inicia-se a purificação dos ácidos húmicos. Os AH extraídos dos solos de acordo com o procedimento utilizado contém frequentemente íons metálicos que podem interferir em sua caracterização e portanto a purificação dos ácidos tem como finalidade a diminuição do teor de cinzas e a remoção de compostos inorgânicos de baixa massa molecular, o qual não é componente estrutural destas substâncias húmicas (GUERRA, SANTOS, 1999; NARIMOTO, 2006; SANTOS, 2014). O precipitado foi re-dissolvido em solução de KOH 0,1 mol L⁻¹, juntamente com 2,94 g KCl para completar uma concentração de íons [K⁺] equivalente a 3 mol L⁻¹. A solução foi centrifugada (10000 rpm – 15 min) para a eliminação dos sólidos suspensos (impurezas). Os AH foram então re-precipitados, adicionando-se HCl 6,0 mol L⁻¹ com agitação simultânea até que fosse atingido pH 1-2, onde posteriormente a suspensão foi mantida em repouso por 16 horas. Centrifugou-se a solução e o sobrenadante foi então descartado.

Para a eliminação da sílica, o precipitado (AH) foi suspenso em solução HCl 0,1 mol L⁻¹ + HF 0,3 mol L⁻¹ no tubo de plástico da centrífuga e agitado durante 16 horas em mesa agitadora à temperatura ambiente. Feito isso, a solução foi centrifugada e o sobrenadante foi tratado e descartado. Finalmente, o precipitado foi transferido para uma membrana de diálise, preparada segundo a metodologia de Mc Phie (1971), para eliminação do cloreto. Utilizou-se água padrão Mili-Q para a troca de água duas vezes por dia, durante 4 dias no mínimo e até que o teste utilizando nitrato de prata para Cl⁻ fosse negativo. Após a diálise, as amostras foram congeladas e liofilizadas (Figura 16f) por um período de uma semana. Após a liofilização os AH foram finalmente obtidos em sua forma para análise e foram macerados e armazenados em dessecador.

Figura 16 - Extração das substâncias húmicas. (a) Repouso da solução extratora após 1 hora de agitação; (b) Pesagem dos tubos para centrifugação; (c) Padronização dos pesos dos tubos da centrifuga; (d) Aspecto do precipitado após centrifugação e descarte do sobrenadante; (e) Processo de sifonação; (f) Tubo falcon preparado para liofilização.

Fotos pelo autor

4.3.3 Análise dos Ácidos Húmicos

4.3.3.1 Análise elementar

As medidas foram realizadas conforme descrito no item 4.3.1.1., salvo que foi pesada uma porção de apenas 2 mg para análise dos ácidos húmicos, devido este tipo de amostra apresentar grande quantidade de carbono. Neste caso foram também anotados os valores de H e N para determinação das razões elementares C/N e H/C.

4.3.3.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros foram obtidos a partir de um espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum 1000. Foram confeccionadas pastilhas homogeneizando-se 400mg de KBr com 1mg do ácido húmico. As pastilhas foram obtidas por prensagem sob 5.000 kg cm^{-2} durante 2 min. Foi utilizado KBr grau espectroscopia previamente seco em estufa. Os espectros foram adquiridos com 4 cm^{-1} de resolução, 64 varreduras e o ar foi utilizado para registrar o branco.

4.3.3.3 Ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C no estado sólido, foram obtidos em espectrômetro de estado sólido Bruker Avance III HD 400 MHz. Utilizou-se uma sequência de polarização cruzada com variação na amplitude e rotação no ângulo mágico (VACP/MAS) (do inglês: Variable-Amplitude Cross Polarization Magic-Angle-Spinning), com o tempo de contato de 1 ms, 1s de tempo de relaxamento, $5,2 \mu\text{S}$ de largura de pulso, 20 ms de tempo de aquisição e amplitude variando de 50 a 100%. O padrão de referência foi o hexametilbenzeno (HMB) com a linha do grupo metil ajustada para 17,2 ppm. As amostras foram analisadas em rotor de zircônio a uma rotação no ângulo mágico de 12 kHz.

O índice de aromaticidade (IA) foi obtido pela relação das integrais das áreas espectrais do carbono aromático (110-160ppm) pelo carbono total (0-160 ppm) (HATCHER et al., 1981).

4.3.3.4 Espectroscopia de fluorescência bidimensional

A fluorescência bidimensional foi utilizada para se obter as medidas do grau de humificação de maneira clássica, através dos métodos propostos por Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002).

Os AH foram dissolvidos em solução 0,05 mol L⁻¹ de NaHCO₃ a uma concentração de 10 mg L⁻¹, que foi previamente determinada como sendo a concentração que apresenta o menor efeito de reabsorção da fluorescência pelas supra moléculas de ácidos húmicos. As medidas foram feitas em um espectrômetro de luminescência Perkin Elmer modelo LS-50B.

Para o método proposto por Kalbitz et al. (1999), os espectros de fluorescência foram obtidos no modo sincronizado no intervalo entre 300 e 520 nm simultaneamente, com filtro aberto e diferença de comprimento de onda ($\Delta\lambda$) igual a 55 nm. A determinação do índice de humificação foi realizada a partir da razão entre as intensidades de fluorescência que possuíram um pico maior entre 400 e 360 nm, ou em 470 e 360 nm.

No método proposto por Zsolnay et al. (1999), mediu-se o espectro de emissão com excitação em 240 nm, intervalo de varredura entre 300 e 700 nm e filtro de 290 nm. A área sobre o maior quarto de emissão entre 570 e 641 nm (A4), dividida pela área sobre o menor quarto entre 356 e 432 nm (A1), denominado A4/A1, foi utilizada como índice de humificação.

Para o método proposto por Milori et al. (2002), os espectros foram obtidos por emissão com excitação em 465nm, em um intervalo de varredura entre 480 e 700 nm e com filtro aberto. A determinação do grau de humificação foi baseada na integração da área do espectro referente a este intervalo.

4.3.3.5 Espectroscopia de fluorescência em matriz excitação-emissão (EEM)

As medições foram realizadas em um espectrômetro de fluorescência modelo LS-50B Perkin Elmer. Os ácidos húmicos foram dissolvidos em solução de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) 0,05 mol L⁻¹ e ajustados à uma concentração de 10 mg L⁻¹ e pH 8 (MILORI et al., 2002).

Para reduzir o efeito de filtro interno (EFI) nas medidas de Fluorescência-3D, foi utilizado o método da Diluição Controlada (CDA), que consiste em diluir as amostras preparadas até a absorbância em 254 nm tornar-se menor do que 0,1. Seguindo a teoria enunciada por Valeur

(2002) e Lakowicz (2006) o EFI é mitigado quando a absorbância em 254 nm é menor do que 0,1. Para este fim, foi utilizado um Espectrofotômetro UV-Visível Shimadzu UV-1601PC.

Os espectros de fluorescência no modo matriz excitação-emissão (EEM) foram adquiridos com intervalo de varredura 240-700 nm para emissão, 240-700 nm para emissão, 500 nm min⁻¹ velocidade de aquisição, janela de 10nm entre excitação e emissão e com um total de 30 varreduras. As medições foram realizadas com filtro em 290 nm, utilizado para minimizar o efeito de dispersão da amostra e assim proporcionaram melhor resolução do espectro.

4.3.3.6 Análise de fatores paralelos (PARAFAC)

O modelo PARAFAC é um algoritmo que decompõe estatisticamente três vias de dados em componentes individuais de fluorescência (BRO, 1997). O trabalho de Andersen e Bro (2003) contempla uma abordagem teórica e matemática, que foge ao escopo deste trabalho, pois esta ferramenta foi aplicada apenas aos resultados deste trabalho, não havendo portanto uma preocupação com o desenvolvimento do método estatístico.

A intersecção entre a técnica EEM e o tratamento PARAFAC tem sido considerada uma ferramenta poderosa para a caracterização da matéria orgânica e vários trabalhos têm sido publicados neste sentido (STEDMON et al., 2003, STEDMON; BRO, 2008; MURPHY et al., 2008; SINGH et al., 2010).

Para uma mistura de componentes, a fluorescência global medida é a soma das contribuições dos componentes individuais multiplicados pelo seu próprio sinal de fluorescência. As componentes isoladas utilizando PARAFAC representam grupos de substâncias com propriedades de fluorescência similares em vez de compostos individuais, ou seja, uma componente pode ser um único fluoróforo ou um grupo de fluoróforos semelhantes. A contribuição dos *scores* não são concentrações reais, porém são considerados como sendo proporcionais às verdadeiras concentrações dos diferentes componentes (BRO, 1997; OHNO; BRO, 2006) e dessa forma, os *scores* representam as concentrações dos fluoróforos.

Neste trabalho, o modelo PARAFAC foi utilizado para identificar o número de componentes e para quantificar o *score* de cada componente que é diretamente proporcional à concentração de fluoróforo na amostra. O número de componentes foi escolhido utilizando a Análise da Consistência do Tensor Núcleo (do inglês, *CORe CONSistency DIAgnostic* - CORCONDIA). A CORCONDIA de um conjunto de dados, fornece uma avaliação quantitativa da forma

como os dados brutos podem ser descritos por um modelo trilinear para um dado número de componentes (BRO; KIERS, 2003).

O tratamento PARAFAC foi realizado por meio do software "programeef" com o valor de correção para espalhamento de 20. O algoritmo do software é baseado no trabalho de Bro (1997). Após o tratamento, os *scores* obtidos foram multiplicados pelo fator de diluição (realizado para o ajuste à minimização do EFI), a fim de restaurar a real contribuição de cada fluoróforo. Segundo Bro (1997), o número de componentes que melhor se ajustam ao modelo aplicado deverá resultar em CORCONDIA sempre maior que 60%.

4.3.4 Análise dos Ácidos Fúlvicos

4.3.4.1 Purificação e ajustes para análise

Os ácidos fúlvicos analisados foram obtidos na forma de extrato (EAF2), na segunda etapa de acidificação, na qual o ácido húmico é precipitado. Dessa forma, os ácidos fúlvicos dispersos na solução foram coletados em tubos falcon e armazenados em refrigerador.

O preparo das amostras de ácido fúlvico para análise, consistiu em dois processos de purificação:

1º) eliminação de metais mediante passagem em coluna cromatográfica empacotada com resina Amberlite IRA-120, previamente ativada.

2º) eliminação de cloreto através de diálise, que por sua vez também resulta em neutralização do pH, antes ácido.

O processo de ativação da resina Amberlite IRA-120 foi realizado da seguinte maneira: 1- em um béquer, cobriu-se a resina com HCl 0,1 mol L⁻¹ e agitou-se por 15 minutos (Figura 17.c); 2- removeu-se o sobrenadante; 3- adicionou-se solução de HCl 4 mol L⁻¹ até cobri-la; 5- manteve-se o sistema agitando durante 60 minutos; 6- Filtrou-se para eliminar o ácido (Figura 17.a); 7- dispôs-se a membrana na coluna cromatográfica (Figura 17.b) e lavou-se com água mili-Q até o pH da água sair neutra.

Foram preparadas duas colunas de 15 cm e o fluxo de corrida dos ácidos fúlvicos pela coluna foi de aproximadamente 0,025 mL s⁻¹. Entre uma corrida e outra, as colunas eram lavadas

com 12 mL de HCl 4 mol L⁻¹, seguida de 50 mL de HCl 0,05 mol L⁻¹ e por último, lavada com água padrão Mili-Q até o pH ficar neutro.

O processo de diálise foi realizado com membrana de marca Fischerbrand Dialysis Tubing, com especificações de: 28µm em espessura da parede; 46 mm em largura plana; 29,3 mm em diâmetro do cilindro seco e 3.500 Da em tamanho de poro (ou 10Å).

Figura 17 - Purificação dos ácidos fúlvicos com resina Amberlite IRA-120. (a) Filtração da resina; (b) Resina disposta na coluna cromatográfica; (c) Agitação da resina com HCl.

Dispões-se a solução de ácido fúlvico dentro das membranas de diálise (Figura 18.a) e procedeu-se a diálise durante 5 dias, com duas trocas de água diárias. Infelizmente a amostra superficial do perfil 5 (5A) foi perdida devido a um rasgo na membrana de diálise (Figura 18.b).

Figura 18 – Membrana de diálise dos ácidos fúlvicos. (a) Aspecto de uma membrana preenchida; (b) membrana rasgada no processo.

Após as duas etapas de purificação, fez-se necessário normalizar as concentrações, para que a comparação entre as amostras através da absorbância e da fluorescência fossem representativas quanto à intensidade dos fluoróforos de cada amostra de ácido fúlvico. Para tanto, foi utilizada a técnica de Carbono orgânico total (TOC).

Após encontradas as concentrações de carbono dos ácidos fúlvicos, as 11 amostras (pois uma foi perdida) foram ajustadas a uma concentração de 10 mg L^{-1} , exceto a amostra 5B, que se encontrava a uma concentração de $8,5 \text{ mg L}^{-1}$. Mediante este ajuste, seguiu-se o procedimento recomendado por Milori et al. (2002), introduzindo-se $0,21 \text{ g}$ de NaHCO_3 a 50 mL de cada amostra 10 mg L^{-1} purificada, afim de se ajustar o pH para 8 e se manter uma concentração de bicarbonato de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.4.2 Carbono Orgânico Total (TOC)

As análises para Carbono total foram feitas em aparelho TOC-VCPH Shimadzu acoplado a um módulo para amostras líquidas, com detector de combustão. As amostras foram oxidadas a 900°C , utilizando-se um fluxo de oxigênio de $0,3 \text{ L min}^{-1}$. A curva padrão de carbono foi construída com biftalato de potássio com as concentrações 1, 5, 10, 25, 50, 100 e 500 mg L^{-1} . O aparelho pertence ao Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de São Carlos (LQA-USP).

4.3.4.3 Espectroscopia de Absorção no UV-Vis

Para leitura dos espectros de absorção dos ácidos fúlvicos, utilizou-se as mesmas amostras preparadas segundo o item 4.3.4.1. As medidas foram realizadas em triplicata em um Espectrômetro de Absorção UV-Vis SHIMADZU modelo UV-1601PC.

4.3.4.4 Espectroscopia de Fluorescência em modo Excitação-Emissão (EEM)

Para analisar as amostras dos ácidos fúlvicos através da fluorescência 3D, realizou-se o procedimento similar ao adotado para a análise dos ácidos húmicos. As amostras foram submetidas inicialmente a medida de absorbância em espectrofotômetro UV-Visível Shimadzu UV-1601PC para ajustar as absorbâncias a serem menores que 0,1 e posteriormente, as medidas de fluorescência em modo excitação-emissão, foram realizadas em espectrômetro de fluorescência modelo LS-50B Perkin Elmer.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análises de Solo Inteiro

5.1.1 Análise Elementar

As análises elementares dos perfis coletados no rio Marié forneceram um gráfico da profundidade pela porcentagem de C, como é mostrado na Figura 20. Os valores detalhados podem ser encontrados na tabela do Apêndice 1.

Figura 19 – Gráfico da variação da quantidade de carbono com a profundidade para cada perfil coletado.

A partir do gráfico, é possível identificar que para todos os perfis, ocorre uma variação da quantidade de carbono aleatória, exceto no horizonte E (que sempre tende a zero). Normalmente, a quantidade de carbono diminui gradativamente ao longo do perfil do solo. Entretanto, para os espodossolos, pode-se notar uma variação característica que ocorre com grande quantidade de carbono no perfil superficial (como esperado), uma queda brusca a quase zero de carbono no perfil eluvial (E), um aumento da quantidade de carbono após o perfil E, que depende da textura do solo e do regime hídrico e após esta camada de acúmulo, a quantidade de carbono volta a decrescer gradativamente, tendendo a zero novamente. Os perfis que mostraram maior variação de carbono com a profundidade foram: P2, P4, P5, P6 e P9.

5.1.2 Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Com os resultados das curvas de fluorescência para cada amostra, foi possível calcular todos os valores de H_{FIL} utilizando os resultados fornecidos pela Análise elementar. Entretanto, como o limite de quantificação para o carbono nesta técnica é de apenas 0,3%, considerou-se portanto que para os valores de carbono menores que 0,3%, não seria possível o cálculo do índice H_{FIL} . Desta forma, os gráficos apresentados na Figura 21, são correspondentes ao valor de H_{FIL} somente para os horizontes que obtiveram valor de carbono maior ou igual ao limite de quantificação do aparelho. Sendo assim, alguns perfis foram desconsiderados. Devido ao ponto de coleta 1 (P1) ter sido tratado em apenas 4 horizontes e 3 deles terem apresentado quantidade de carbono menor do que 0,3%, o índice de humificação para este perfil não foi esquematizado.

De forma geral, a humificação (H_{FIL}) varia com as condições redox locais, regime hidrogeomorfológico e com a mudança de textura no solo. Pretendeu-se extrair 6 amostras de profundidades diferentes provenientes de 2 perfis.

Figura 20 – Gráficos que mostram os resultados de Carbono e o índice de humificação H_{FIL} medidos por Fluorescência Induzida por Laser. (a) P2; (b) P3; (c) P4; (d) P5; (e) P6; (f) P7; (g) P8; (h) P9. Os pontos abaixo do limite de quantificação do analisador elementar foram retirados.

A escolha das amostras para extração dos AH foi baseada em alguns diferentes preceitos: i) selecionou-se os perfis P4 e P5, que representam duas subregiões diferentes (verificar Figura 19), que tiveram as tradagens mais profundas e que apresentaram visível variação no acúmulo de carbono e no índice H_{FIL} , ii) selecionou-se a amostra mais superficial e mais profunda de cada perfil, iii) entre as quatro amostras intermediárias, a escolha foi feita com base na variação da quantidade de carbono combinada com a intensidade do índice H_{FIL} . No perfil 4, o segundo ponto (60-90cm) foi escolhido por apresentar baixo C e alto H_{FIL} e os outros três (185-195; 210-230; 250-280), por apresentarem H_{FIL} parecido e uma notável variação da quantidade de C entre elas. Já para o perfil 5, o segundo ponto (60-85cm) apresentou baixo C e o mais alto H_{FIL} , o terceiro ponto (100-105cm) alta quantidade de C e baixo H_{FIL} , o quarto ponto (170-190cm), apresentou baixo C e alto H_{FIL} e o quinto ponto (275-330cm), baixo C e baixo H_{FIL} . A análise dos resultados fundamentou estrategicamente sobre a distribuição e representatividade do conjunto total de amostras, no qual foi feita a extração dos ácidos húmicos. Faz-se importante neste ponto citar que a desconsideração dos índices H_{FIL} devido a teores de C menores que 0,3% foi feita somente depois da escolha e extração dos horizontes, tendo sido, pois, considerada para a escolha.

A fórmula para avaliar o H_{FIL} é linear e considera que a humificação é diretamente proporcional à área da fluorescência e inversamente proporcional a quantidade de carbono. Esta abordagem levantou dúvidas quanto a precisão e eficácia deste método, uma vez que é notável a relação inversa que existe entre a quantidade de carbono e o índice H_{FIL} . Recorrentemente os resultados levaram a crer que os altos graus de humificação encontrados, estavam mais relacionados a baixa quantidade de carbono da amostra, do que com a sua real

humificação. A tendência é clara nos gráficos: quando a quantidade de carbono é grande, o H_{FIL} é pequeno e à medida que a %C vai diminuindo, o H_{FIL} vai aumentando.

Ou seja, parece que mesmo que exista uma amostra com um alto grau de humificação, se esta apresentar grande quantidade de carbono, a relação proposta para o H_{FIL} diminuirá seu valor bruto e acarretará em uma resposta equivocada. Ao passo que mesmo uma amostra com pouquíssima quantidade de carbono, apresentando um sinal de fluorescência razoável, acarretará num resultado com alta humificação, o que poderá ser errôneo. A dúvida se solidifica pela análise dos valores da área sobre a curva de fluorescência, que mesmo para horizontes com quantidade de carbono desprezível, apresentaram sinal da mesma ordem de grandeza de uma amostra que contém pouca, média ou muita quantidade de carbono.

Uma vez que este método de foi desenvolvido e validado para avaliar a humificação da matéria orgânica presente na camada superior do solo, e analisando os dados obtidos neste trabalho, pode-se afirmar que este método não deve ser o mais indicado para inferir sobre grau de humificação em amostras oriundas de locais complexos e com matéria orgânica que varia ao longo do perfil, como nos espodossolos.

Realizada a etapa de comparação entre os índices H_{FIL} , e escolheu-se 6 horizontes dos perfis P4 e P5. Para facilitar, rotularam-se os horizontes que tiveram as SH extraídas de A até F, resultando na correspondência para os perfis do ponto 4: P4A: 0-25 cm; P4B: 60-90 cm; P4C: 185-195 cm; P4D: 210-230 cm; P4E: 250-280 cm; P4F: 450-490; e para os perfis do ponto 5: P5A: 0-15 cm; P5B: 60-85 cm; P5C: 100-105 cm; P5D: 170-190 cm; P5E: 275-330 cm e P5F: 340-380.

5.1.3 Granulometria dos horizontes selecionados

A análise granulométrica foi realizada pelo método de atenuação de raios gama para as amostras de solo referentes aos 12 horizontes selecionados para extração das substâncias húmicas, exceto para a amostra superficial (0-25 cm) do perfil 4 que por não possuir quantidade suficiente para esta análise, foi feita a medida da profundidade 25-40 cm em seu lugar.

Como estas amostras foram analisadas por uma equipe multidisciplinar, a pesquisadora Dra. Célia Regina Montes pode fornecer alguns outros resultados de granulometria, realizados pela pesquisadora de pós-doutorado Débora Ishida através do método da pipeta de Robinson, no

Laboratório de Qualidade do Solo da Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna-SP); donde tais resultados foram publicados no relatório Fapesp do projeto temático inserido neste projeto, sob o número do processo 2011/03250-2. Para complementar os resultados obtidos pelas análises realizadas neste trabalho, os dados extras cordialmente cedidos pelas pesquisadoras, foram colocados juntamente a tabela, com um asterisco (*) antecedendo o nome da amostra.

Tabela 1 - Resultados de Granulometria para alguns horizontes dos perfis 4 e 5.

Amostra de solo (cm)	Fração (%)				
	argila (<0,002mm)	silte (0,05 a 0,002 mm)	areia (>0,05mm)	areia fina (0,05-0,25mm)	areia grossa (0,25-2mm)
P4 25-40	2,74	12,32	84,94	65,4	19,52
P4 60-90	1,70	9,84	88,46	58,8	29,45
* P4 155-170	3,53	7,71	88,76	56,09	32,67
* P4 170-185	7,08	7,13	85,79	26,42	59,37
P4 185-195	8,27	1,09	90,64	24,74	65,90
* P4 195-210	4,03	3,62	92,35	45,02	47,33
P4 210-230	5,79	3,31	90,9	21,3	70,27
P4 250-280	7,40	1,55	91,05	11,7	79,35
* P4 280-300	4,55	3,79	91,66	12,26	79,40
P4 450-490	4,50	1,55	93,95	22,00	72,10
* P5 0-15	0,00	37,84	62,16	53,32	8,84
P5 15-25	5,74	33,84	60,42	47,54	12,87
* P5 25-60	0,00	16,80	83,20	67,36	15,84
P5 60-85	3,82	16,46	79,72	61,47	19,12
* P5 95-100	0,50	17,48	82,01	67,28	14,73
P5 100-105	12,00	20,91	67,09	53,16	13,92
* P5 115-135	16,26	18,70	65,04	53,23	11,81
* P5 150-170	19,88	26,29	53,83	50,63	3,20
P5 170-190	35,39	17,75	46,86	46,03	0,83
* P5 250-275	23,78	14,29	61,94	48,16	13,77
P5 275-330	19,15	8,07	72,78	22,83	49,95
P5 330-340	14,57	12,70	72,73	26,18	46,55

A partir da Tabela 1, é possível notar que o perfil 4 é essencialmente arenoso; sua parte superficial contém grande quantidade de areia fina e silte, que decrescem ao longo do perfil (exceto em 195cm, que apresentou alta no teor de areia fina), dando lugar ao aumento gradativo do teor de areia grossa, no qual esta diminui apenas do penúltimo para o último horizonte. O perfil mostra-se pobre em relação à argila, que tem seu maior valor em 185 cm (8,27%), logo abaixo do horizonte eluvial (que vai até 140cm).

Já o perfil 5 se mostrou um perfil interessante, por exibir uma descontinuidade notável. O perfil começa com uma grande porção de areia fina e silte, que diminuem após o horizonte E (1m), dando lugar a maior porção de argila, provavelmente porque a formação do espodossolo nesta área ocorre com lixiviação de argila, como é previsto pela teoria de formação dos podzóis em sistemas de transição latossolo-espodossolo (LUCAS et al., 2012). Nos dois horizontes superficiais (0-15-25cm), existe uma presença marcante de silte com argila (37% e 39%). No horizonte eluvial (25-85cm), a porção de areia aumenta em mais de 20%. O começo do horizonte Bh (a partir de 85cm), se mostra com 82% de areia, através da amostra 95-100cm, possivelmente devido à influência do horizonte de eluviação. Entretanto, a partir de 100 cm, ocorre um aumento repentino na quantidade de argila e de silte até 170 cm, quando a quantidade de argila supera a quantidade de silte. De 170 a 190 cm, a porção argila + silte ficou em torno de 54%. *Esta mudança de textura mostrou uma diferença no padrão da matéria orgânica*, como será discutido ao longo dos tópicos de cada técnica analítica utilizada. Para a amostra em 250-275 cm, a quantidade de argila e silte diminuem para em torno de 38% e com a quantidade de argila ainda superior que a de silte. A quantidade de areia fina até o horizonte em 275 cm variou entre 60 e 50% e partir desta profundidade, ocorreu uma outra inversão interessante na textura, pois a quantidade de areia fina, cai para em torno de 25% e a de areia grossa que era de 13,77% sobe para quase 50%, caracterizando um perfil profundo com uma mistura de 15 a 20% de argila com 46 a 50% de areia grossa.

5.1.4 Mineralogia dos horizontes selecionados

Os resultados de mineralogia dos perfis das amostras selecionadas foram obtidos pela pesquisadora Debora Ayumi Ishida através da técnica de difração de raio-x (DRX), sendo então gentilmente cedidos para inclusão neste trabalho. Os resultados de mineralogia das profundidades tratadas em campo nos perfis 4 e 5, encontram-se disponível no Anexo 3.

5.2 Análise dos ácidos húmicos

5.2.1 Análise Elementar dos ácidos húmicos

Os ácidos húmicos extraídos das amostras selecionadas foram primeiramente submetidos a análise quanto aos teores de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio como mostram os resultados da Tabela 2.

Tabela 2 – Teores de Carbono, Nitrogênio e razões atômicas dos AH.

Profundidade (cm)	Carbono (%)	Hidrogênio (%)	Nitrogênio (%)	H/C	C/N
P4					
P4A - 0-25	55,45	5,54	2,78	1,20	23,27
P4B - 60-90	53,81	5,70	2,22	1,27	28,28
P4C - 185-195	46,17	4,78	0,78	1,24	68,62
P4D - 210-230	57,69	4,59	0,95	0,95	70,85
P4E - 250-280	56,89	5,03	0,95	1,06	69,50
P4F - 450-490	54,44	4,89	0,90	1,08	70,56
P5					
P5A - 0-15	53,42	5,77	2,85	1,30	21,83
P5B - 60-85	57,66	4,65	2,72	0,97	24,73
P5C - 100-105	46,99	4,19	0,98	1,06	55,94
P5D - 170-190	47,66	4,36	1,39	1,10	40,00
P5E - 275-330	57,96	4,31	1,30	0,89	51,81
P5F - 340-380	58,42	4,37	1,53	0,90	44,55

Os resultados indicam que os perfis P4 e P5 exibem características diferentes para a matéria orgânica. Tanto no P4 quanto no P5, os dois perfis superficiais se mostraram diferentes dos perfis mais profundos, porém a relação C/N para os horizontes Bh do perfil P4 são perceptivelmente maiores que a relação C/N dos AH dos horizontes Bh do perfil P5. Para ambos os perfis, a quantidade de nitrogênio é relativamente alta nos perfis superficiais, provavelmente devido a restos de material protéico oriundo da superfície e parcamente degradado. O horizonte 185-195 cm do perfil 4 evidencia o menor teor de nitrogênio concomitante a uma das mais altas razões H/C da tabela; o que indica que nesta profundidade, essencialmente arenosa e com quase 2 metros de profundidade, pode estar havendo um

acúmulo de material alifático. Todavia, esta hipótese não pôde ser confirmada por RMN. Já para os três horizontes mais profundos deste perfil, a quantidade de carbono aumenta, mantendo a relação C/N em torno de 70.

Para o perfil P5, provavelmente pelas condições de textura mudarem bastante, a relação C/N dos horizontes Bh são menores que para o P4 e ficam em torno de 50. A profundidade em 100-105 cm (material seco e difícil de tradar), que já se destacou nas análises de textura por ser um local de transição, donde a quantidade de argila que era mínima, passa a aumentar gradativamente, também se destaca por acumular a fração orgânica com menor quantidade de nitrogênio do perfil, elevando a relação C/N para próximo de 56. Este comportamento, está provavelmente relacionado à degradação da MO por micro-organismos nesta parte do perfil, que será discutido mais adiante. O horizonte de 170 a 190 cm, que possui teor de argila + silte em torno de 54%, apresentou a menor relação C/N entre os horizontes Bh, indicando que provavelmente o incremento no teor de argila pode conservar os grupamentos nitrogenados da matéria orgânica. Os últimos dois horizontes do perfil 5 encontravam-se em ambiente úmido, que possivelmente pôde permitir uma troca de material orgânico com o ambiente, fazendo com que o resultado de carbono fosse aumentado em aproximadamente 10% em relação aos horizontes argilosos e secos anteriores. Através dos resultados do perfil 5, é possível relacionar que em termos gerais, a quantidade de nitrogênio aumenta com o incremento na porção argila do solo. Enquanto no P4 a média do teor de N para os quatro horizontes iluviais é de 0,89%, no P5 está média passa a 1,3% de N. Provavelmente esta diferença está relacionada com a diferença de textura entre os dois perfis, onde o perfil mais argiloso tem maior capacidade de conservar as estruturas nitrogenadas. As amostras P4C e P5C obtiveram os menores teores de N, talvez porque a atividade microbiana é maior neste local do perfil, como é sugerido nas análises de fluorescência.

Apesar de normalmente ambientes secos perderem nitrogênio por mineralização e volatilização de amônia, segundo Buresh et al. (2008), em ambientes alagados, o nitrogênio pode ser perdido devido também em ambientes anaeróbicos. Solos submersos em comparação com solos aerados, são ambientes favoráveis para a perda de N por nitrificação-desnitrificação e por fixação biológica de N₂. Um importante tipo de bactéria que constitui este ciclo é o anammox (do inglês, *anaerobic ammonium oxidation*), que ocorre significativamente em solo periódica ou permanentemente alagados. Desta forma, uma vez que o nitrogênio orgânico ou amoniacal é transformado a nitrato, esta espécie oxidada pode ser perdida tanto por lixiviação,

quanto por desnitrificação, sendo levada às formas mais reduzidas NO, N₂O e N₂ (ROBERTSON; GROFFMAN, 2007; BURESH et al., 2008).

5.2.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Através da técnica de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), também foi possível evidenciar diferenças entre os espectros das duas amostras superficiais com os espectros dos outros quatro horizontes mais profundos (que fazem parte do Bh), para os dois perfis. Os espectros dos AH das amostras dos perfis 4 e 5 são mostrados na Figura 22.

Figura 21 – Espectros de absorção no infravermelho dos ácidos húmicos extraídos dos horizontes selecionados dos perfis P4 e P5

As duas primeiras bandas, em 2930 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} são relativas ao estiramento simétrico e assimétrico respectivamente, das ligações C-H referentes a toda sorte de compostos orgânicos com cadeia alifática presentes na matéria orgânica. Entretanto, a banda possui maior definição e intensidade somente para as amostras superficiais de ambos perfis, indicando a maior frequência de estruturas alifáticas absorventes (mais organizadas e não polimerizadas) nesta região, nos horizontes superficiais e sub-superficiais (SILVERSTEIN et al., 2005). As bandas em 2350 cm^{-1} são referentes ao CO_2 presente na sala no momento da medição. Para o perfil P4, ocorre uma sutil diferença entre a amostra superficial e as demais em 1720 cm^{-1} , que é referente ao estiramento da ligação C=O de aldeídos, cetonas ou ácidos carboxílicos na forma protonada (STEVENSON; GOH, 1971; BAES; BLOOM, 1989; SENESI et al., 2003; GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2008), ocorrendo com maior intensidade para as amostras não superficiais. Este resultado indica que as amostras superficiais foram pouco submetidas a processos de degradação microbiana de proteínas e hidrólise.

O par de bandas em 1650 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} podem ser encontrados em todos os espectros e são referentes às deformações assimétrica e simétrica da ligação C-O do carboxilato, respectivamente (SILVERSTEIN et al., 2005). Entretanto, as bandas entre as faixas de 1650 cm^{-1} a 1600 cm^{-1} e de 1550 cm^{-1} a 1495 cm^{-1} podem também estar relacionadas às deformações assimétrica e simétrica das ligações NH_3^+ dos aminoácidos em sua forma zwitteriônica, respectivamente (SILVERSTEIN et al., 2005). A banda em 1650 cm^{-1} a 1600 cm^{-1} pode ser atribuída também ao estiramento de ligações C=C de anéis aromáticos ou ainda ao estiramento C=O de amidas, cetonas conjugadas ou quinonas (STEVENSON, 1994; MACCARTHY; RICE, 1985; SENESI et al., 2003). Pelo fato desta região apresentar diferentes sobreposições de grupamentos possíveis de ocorrer no material analisado, a nenhum grupamento a só, pode ser atribuída a ocorrência das bandas e portanto, nada pode ser concluído com certeza a respeito desta região.

De acordo com Parikh et al. (2014), o par de bandas em 1450 cm^{-1} e 1385 cm^{-1} são referentes à deformação angular de grupamentos metil e metileno, o que evidencia a característica alifática das amostras que absorveram esta faixa de radiação, sendo a amostra superficial P4A, a que apresentou maior intensidade (grande aporte de serrapilheira) e as amostras P4B, P5A e P5B apresentaram esta banda suavemente. Todavia, a banda em 1385 cm^{-1} também pode ser referente a nitro-compostos, quando acompanhada de banda em 1550 cm^{-1} , (SILVERSTEIN et al., 2005) presentes na matéria orgânica fresca. Na região de 1280 cm^{-1} a 1180 cm^{-1} , todas as amostras do horizonte Bh (ou seja, as 4 amostras mais profundas), apresentaram

sobreposição de bandas, relacionada à deformação da ligação C-O de álcoois alifáticos, ácidos carboxílicos, fenóis e ésteres benzóicos (STEVENSON, 1994, SENESI, 2003).

Para ambos os perfis, o par de bandas que possuem máximos de 1275 cm^{-1} a 1230 cm^{-1} e de 1050 cm^{-1} a 1040 cm^{-1} , diferenciam o grupo de amostras superficiais das profundas, uma vez que estes picos provavelmente representam deformações simétricas e assimétricas da ligação C-O-C presentes em polissacarídeos, respectivamente (OLK et al., 2000). Contudo, estas deformações são notavelmente percebidas no terceiro horizonte do perfil P5, indicando uma possibilidade de que talvez este horizonte possa abrigar uma matéria orgânica mais fresca oriunda da superfície. Outra banda característica de polissacarídeos, também observada apenas nos horizontes citados acima, se encontra na faixa de 1080 cm^{-1} até 1030 cm^{-1} , sendo atribuída a deformação axial de acoplamento da ligação C-C-O de álcoois secundários. Estes resultados confirmam a hipótese que as amostras superficiais correspondem à matéria orgânica pouco processada e transformada e que o grupo referente às amostras em profundidade, por apresentarem maior intensidade do grupamento carboxílico, mostram-se mais alterados.

Todas as amostras apresentaram uma pequena banda em 1150 cm^{-1} , porém com uma sutil maior intensidade para as amostras superficiais. Esta banda costuma ser referente à deformação axial da ligação C-N, porém na maioria das vezes, a energia absorvida por esta ligação se acopla com outras ligações vizinhas, mudando sua posição (SILVERSTEIN et al., 2005; PARIKH et al., 2014). Uma outra diferença entre os espectros é encontrada no par de bandas 825 cm^{-1} e 775 cm^{-1} , atribuídas a flexões fora do plano das ligações C-H das ligações substituídas e não substituídas, respectivamente, pois o grupo de amostras mais profundas, apresentam uma intensidade maior para estas bandas (SENESI et al., 2003; SILVERSTEIN et al., 2005; PARIKH et al., 2014).

Em geral, observou-se maior presença de polissacarídeos e aminoácidos e maior presença de fragmentos alifáticos, para os dois horizontes superficiais no caso do P4 e para os 3 horizontes superficiais no caso do P5. As amostras mais profundas apresentaram similaridades entre os dois perfis, ocorrendo evidências de estruturas mais aromáticas e com maior grau de grupamentos carboxílicos.

5.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros obtidos através das análises de RMN- ^{13}C VACP/MAS são mostrados na Figura 23. Para simplificar a leitura do espectro, foi montada a Tabela 3, que divide o espectro nos principais grupamentos químicos do carbono, de acordo com os seus deslocamentos químicos (NOVOTNY et al., 2006).

Figura 22 – Espectros de RMN dos ácidos húmicos dos perfis P4 e P5.

Tabela 3 – Deslocamentos químicos de RMN-¹³C divididos pelos grupamentos químicos.

Profund. (cm)	Alquila 0-45 ppm	Metoxila, N-alquila 45-59 ppm	O-alquila 59-91 ppm	Di-O- alquila 91-109 ppm	Arila 109-143 ppm	O-arila 143-163 ppm	Arila+ O-Arila 109-163 ppm	Carboxila, Amida 163-188 ppm	Carbonila 188-230 ppm	Índice de Aroma- ticidade (IA)
P4										
0-25	27,5	8,5	22,2	6,2	17,6	5,9	23,5	9,5	2,5	0,25
60-90	30,4	8,1	18,7	5,5	20,7	6,4	27,1	8,3	1,6	0,29
185-195	34,5	6,4	6,4	6,3	25,1	10,0	35,1	8,9	2,3	0,38
210-230	32,3	6,9	6,1	5,7	26,2	10,3	36,5	9,5	2,9	0,40
250-280	36,3	6,9	6,3	4,9	22,4	9,2	31,6	10,4	3,4	0,35
450-490	34,7	8,6	9,7	5,5	21,0	8,3	29,3	9,5	3,0	0,32
P5										
0-15	28,5	9,1	22,2	6,4	16,6	5,9	22,5	9,0	2,1	0,24
60-85	30,9	9,1	19,1	6,1	17,2	6,3	23,5	9,0	2,1	0,25
100-105	32,1	7,5	9,5	5,3	23,3	8,6	31,9	10,3	3,3	0,35
170-190	30,1	7,2	8,2	4,5	27,1	8,4	35,5	11,5	3,0	0,40
275-330	30,8	6,0	7,0	5,2	25,8	8,8	34,6	12,6	3,9	0,40
340-380	33,2	6,5	7,5	3,9	25,2	8,2	33,4	11,5	3,9	0,38

A ressonância nas vizinhanças de 35 ppm se refere a carbonos alquílicos primários e secundários e sua origem ocorre principalmente devido à biossíntese de substâncias como cutina e suberina por plantas vasculares (BALDOCK et al., 1992; PRESTON, 1996). Esta ressonância é encontrada com menor concentração, como mostra a Tabela 3 (área menor para o intervalo que compreende 0-45 ppm) e intensidade mais aguda e definida para as duas amostras mais próximas à superfície nos dois perfis. Apesar das amostras mais profundas terem apresentado maior frequência de grupamentos alifáticos, estes apresentaram menor resolução nesta região, possivelmente porque os ácidos húmicos a partir do horizonte húmico

(Bh), são mais transformados e assim possuem estruturas mais complexas e não-uniformes. Isto ocorre porque no processo de humificação promovido pelo consumo de porções lábeis da matéria orgânica pelos micro-organismos, existe um realocamento dos carbonos de cadeia longa, que passam a integrar outras estruturas mais complexas, condensadas e não uniformes nos horizontes inferiores, que já passaram por processos de quebra de ligações que formam grandes cadeias (pois as cadeias de hidrocarbonetos uniformes e longas resultam em linhas mais finas e definidas na região citada).

A linha por volta de 56 ppm, é conhecida por indicar a presença de carbono metoxílico oriundo de lignina e/ou carbono alfa presente nas ligações peptídicas das proteínas (GUGGENBERGER et al., 1994; CATROUX; SHINITZER, 1997). Observando os dois espectros, nota-se que existem apenas dois sinais bem definidos, em cada espectro, com máximos em 56 ppm e 61 ppm, referentes às quatro amostras mais superficiais (P4A, P4B, P5A e P5B). Para as amostras mais profundas, ou seja, que estão abaixo do horizonte eluvial e compõem as amostras Bh, é possível notar que não há sinal representativo em 61 ppm e que a linha em 56 ppm é espalhada e larga. Portanto, como as oito amostras dos horizontes Bh (P4-C,D,E,F e P5-C,D,E,F) não apresentaram sinal em 61 ppm, o sinal alargado em 56 ppm deve representar a presença de lignina; já o sinal duplo (56 e 61 ppm), representa lignina mais a presença acentuada de proteínas. Nos dois perfis, notam-se maior quantidade de ligninas e/ou proteínas na superfície, que decaem em quantidade no segundo horizonte. Já no horizonte Bh os sinais são reduzidos drasticamente, evidenciando que os resíduos protéicos são transformados, de forma que não se acumulam na forma de aminoácidos, provavelmente devido à degradação microbiana da matéria orgânica neste horizonte húmico de acúmulo.

De acordo com Baldock et al. (1992), os polissacarídeos exibem 3 sinais ao longo do espectro de RMN, onde a linha em 72 ppm é atribuída aos carbonos contidos nos anéis dos carboidratos, e as linhas próximas de 105 e 62 ppm, são referentes às formas acetal/hemiacetal (carbono ligado ao oxigênio no anel) e também aos carbonos C-6 (CH₂) das estruturas do carboidrato, respectivamente. Para ambos os perfis, o espectro evidencia que as duas amostras superficiais apresentam estas ressonâncias claramente. A partir do terceiro horizonte (Bh), esta tríade de sinais se torna pobremente resolvida, evidenciando mais uma vez uma distinção entre as amostras dos horizontes superficiais e eluviais, das amostras dos horizontes B húmicos. A Tabela 3 confirma o observado pelo espectro, mostrando a diferença nos valores de porcentagem dos grupamentos referentes à lignina, proteínas e polissacarídeos entre tais amostras, confirmando também os resultados obtidos nos espectros FTIR.

Entretanto, é possível notar também um comportamento curioso referente à amostra mais profunda do perfil 4, pois esta se apresenta com a maior área na faixa de 45 a 59 ppm, provavelmente devido à grande concentração de lignina, porém também com um aumento repentino na quantidade de O-alquila, que representa o oxigênio de carboidratos, ou quiçá grupamentos alcoólicos em meio à estrutura húmica.

O sinal que ocorre em 115 ppm é atribuído ao carbono contido em estruturas aromáticas (PRESTON, 1996) e todas as amostras apresentaram a mesma forma de sinal para esta ressonância. A partir da Tabela 3, nota-se que a porção arila é menor para as amostras superficiais em relação às amostras profundas. Nos dois perfis, percebe-se que o grupamento arila é menor na superfície e maior nos horizontes intermediários, pois há uma diminuição nos perfis mais profundos e diminuição mais acentuada, novamente, para o horizonte mais profundo do perfil 4. Esta leve semelhança do horizonte P4F com as amostras superficiais pode estar relacionada ao fato de que esta profundidade é a única, analisada no perfil 4, que apresentava água livre; ou seja, pode estar ocorrendo um aporte de matéria orgânica mais fresca devido ao fluxo do lençol freático, mostrando que este influencia na qualidade da MO deste tipo de horizonte.

Skjemstad et al. (1992) analisaram um espodossolo em Coastal Dunes na Austrália e Rumpel et al. (2004), analisaram um espodossolo háplico da Alemanha e ambos os autores observaram uma tendência de aumento do conteúdo de C-alquilico e uma diminuição do C-arílico com o aumento da profundidade. O resultado para o carbono alquilico confere com o resultado deste trabalho, uma vez que as porcentagens de C-alquil aumentam razoavelmente para o P4 e parcamente para o P5, entretanto, o resultado para o C-aril dos dois trabalhos, contrastam com o encontrado neste trabalho, uma vez que as porcentagens de carbono arílico aumentaram com a profundidade nos espodossolos hidromórficos amazônicos.

Uma ressonância que evidencia o grau de transformação dos ácidos húmicos analisados está em 150 ppm, que indica as porções de carbonos aromáticos substituídos com oxigênio e que devido ao ambiente, são provavelmente oriundos de fragmentos de guaiacil e siringil (KEELER et al., 2006). O aumento da proporção de grupamentos fenólicos com a profundidade ocorreu provavelmente porque resíduos vegetais oriundos de ligninas e taninos, são dificilmente degradados pelos micro-organismos e dessa forma, persistem na matéria orgânica mais antiga (GONZALEZ-PÉREZ et al., 2008), revelando-se neste caso na

composição química dos ácidos húmicos. A Figura 24 traz os deslocamentos químicos referentes aos fragmentos guaiacil e siringil.

Figura 23 – Deslocamentos químicos dos principais resíduos da lignina.

Fonte: KEELER et al., 2006

O fato das amostras intermediárias terem apresentado maiores sinais para o carbono aromático, indicam um maior grau de humificação e desta forma, sugere que existe um acúmulo de material mais antigo na profundidade a partir do início do Bh até o começo do lençol (aproximadamente de 1 a 3 metros). Possivelmente a degradação microbiana da matéria orgânica lábil e/ou a exposição deste material à atmosfera devido à textura arenosa, são responsáveis pelo acúmulo de material humificado nesta região do perfil.

Um fato não estudado profundamente, que todavia parece ocorrer, é a existência de outra fonte de aporte de carbono (não eluvial), através do movimento horizontal da corrente de água do lençol freático, pois as amostras referidas como contendo água livre no caderno de campo (P4F, P5E e P5F), apresentam tênue característica semelhantes entre si (no mesmo perfil) e diferentes entre as demais. Nesse sentido, observa-se que para o P5, as duas amostras úmidas apresentaram as menores porções de O-alquila e as maiores em C-carbônicos (-C=O). Todavia no perfil 4 o perfil profundo (úmido) apresentou o maior teor de O-alquila e um baixo teor de C carbonílico. Estes fatos seriam melhor explorados caso os valores de potencial redox tivessem sido aferidos.

De acordo com a Tabela 3, nota-se uma tendência gradual de aumento das porções carboxílica e carbonílica logo após os dois horizontes superficiais, dividindo mais uma vez, as características dos ácidos húmicos dos horizontes superficiais e húmicos de acúmulo (Bh) e ainda, corroborando o observado pelos espectros FTIR. É possível verificar ainda que este fato está em concordância com a teoria do fulvato, enunciada por Lundström (1993), que enuncia que os carboxilatos contidos nas substâncias húmicas (principalmente ácidos fúlvicos, porém não excluindo os ácidos húmicos), viabilizam o mecanismo de eluviação da matéria orgânica ao longo do horizonte, através de mecanismos de complexação com íons de Alumínio e Ferro. Estes complexos carboxílicos, exibem portanto a capacidade de movimentar a matéria orgânica através do perfil, facilitando o acúmulo no horizonte orgânico.

Os valores de integração dos sinais obtidos por RMN (Tabela 3) separados pelos grupos químicos, provaram-se importantes para a análise comparativa dos ácidos húmicos, uma vez que seria difícil encontrar pequenas variações dos grupamentos químicos apenas através da análise do espectro. Dessa forma, os resultados da integração dos sinais (Tabela 3), juntamente com os resultados das razões atômicas H/C e C/N (Tabela 2), foram utilizados para gerar um dendograma, através da análise estatística *Análise por Agrupamento Hierárquico* (HCA), que é mostrado na Figura 25. Através dos dados de entrada, tal tratamento pôde desvendar semelhanças ou distinções entre as análises que seriam dificilmente percebidas sem o agrupamento.

Através do dendograma, foi possível averiguar que as amostras em profundidade dos perfis P4 e P5, apesar de apresentarem certa semelhança estrutural conferida pelo RMN-¹³C no estado sólido, são na verdade distintas por mais de 20 unidades de distância. Isso deve estar relacionado com a questão da proximidade com o rio, características do relevo e também de entrada de diferentes espécies vegetais, uma vez que P5 constitui uma área de transição Latossolo-Espodossolo e P4 está localizada em um sistema espodossolo completo, hidromórfico e com maior influência pelo rio. Além disso, percebe-se que as amostras P4A e P5A são as mais parecidas e também que as amostras P4B e P5B, são parecidas com as anteriores, destacando-se num grupo distinto das amostras dos horizontes Bh e portanto, confirmando que é possível distinguir sem erro que as amostras superficiais (P4A, P4B, P5A e P5B) são completamente diferentes das em profundidade. Nota-se ainda que as amostras Bh do perfil 4 são levemente mais parecidas entre si do que as amostras Bh do perfil 5.

Figura 24 – Análise por agrupamento hierárquico aplicado a partir das razões elementares e da integração do sinal de RMN- ^{13}C .

Sumariamente, os resultados indicaram que as amostras superficiais apresentaram características de material pouco processado; as amostras do horizonte eluvial (E), apresentaram características intermediárias, ou de transição entre as superficiais e as profundas (Bh), entretanto, apresentam características mais parecidas com as amostras superficiais. As amostras mais profundas, apresentaram semelhança estrutural, baixa incidência de polissacarídeos e proteínas e sinal mais pronunciado para fenóis, carboxilas e carbonilas, provavelmente porque este material foi sendo transformado com o tempo ao longo do perfil, mais ativamente nos horizontes intermediários (por acumularem), possivelmente devido às condições hidrológicas e redox combinadas à textura e geoquímica dos locais. Em soma, os resultados do índice de aromaticidade (IA) sugeriram novamente, uma mudança brusca de comportamento entre os perfis superficiais e profundos, indicando que ocorreu uma transformação intensa no primeiro metro do perfil do solo. Este material que já foi transformado primariamente na superfície, deve ser então lentamente lixiviado, se acumulando nos perfis intermediários com características de material recalcitrante. A amostra

mais profunda do perfil 4, apesar de ser mais transformada e aromática que as amostras superficiais, se mostra em menor grau comparando-se com as amostras intermediárias, provavelmente devido a um grau de liberdade da matéria orgânica, bastante influenciada pelo lençol que pode trazer matéria orgânica menos transformada neste caso para esta profundidade. Outra hipótese pode incluir a transformação do nitrogênio orgânico em nitrogênio atmosférico (comentado no item 5.3.1). Já para a amostra mais profunda do perfil 5, o decréscimo em aromaticidade ocorreu em relação às amostras intermediárias, entretanto permaneceu a valores compatíveis com o Bh e foi bem menos acentuada do que no perfil 4, o que leva a crer que a distância do rio, realmente pode ter influência nestas amostras profundas.

Ussiri e Johnson (2003) extraíram AH de horizontes Bh de um espodossolo sobre uma floresta de New Hampshire - Estados Unidos, e os resultados mostram que os AH da região boreal exibem características semelhantes aos AH extraídos da floresta tropical. Esta semelhança pode ser destacada pelo comportamento similar de aumento das porções alquílicas e aromáticas com a profundidade e diminuição da porção O-alquila (carboidratos). Outros trabalhos na literatura (WILSON et al., 1983; NORDEN; BERG, 1990; BALDOCK; PRESTON, 1995; GRESSEL et al., 1996; DAI et al., 2001) também apresentaram resultados análogos com os obtidos no presente trabalho. Hatcher et al. (1983) propuseram que o aumento da proporção C-alquila com a profundidade, é resultado da diminuição da porção O-alquila referente aos carboidratos que são facilmente decomponíveis pelos micro-organismos do solo. Dessa forma, ocorre uma preservação seletiva da porção C-alquila, que é mais recalcitrante. Da mesma forma, ocorre com a porção C-aromática, que aumenta com a profundidade, uma vez que a microbiota decompositora atua lentamente na degradação destas partes das biomoléculas. O aumento do C aromático tem sido observado em ambientes florestais em que bactérias e/ou fungos celulolíticos dominam a comunidade decompositora (BALDOCK; PRESTON, 1995).

Baldock e Preston (1995) sugeriram um simples índice para estimar o grau de decomposição da matéria orgânica, onde a relação C-alquila/O-alquila é utilizada e desse modo, quanto menor a relação, maior o grau de decomposição que a matéria orgânica poderá sofrer. Assim, quanto maior a relação, mais decomposto foi o material, sugerindo maior humificação. O índice de degradação para seus respectivos horizontes, pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4 – Índice de decomposição dos AH analisados.

P4		P5	
0-25 cm	1,24	0-15 cm	1,28
60-90 cm	1,63	60-85 cm	1,62
185-195 cm	5,39	100-105 cm	3,38
210-230 cm	5,30	170-190 cm	3,67
250-280 cm	5,76	275-330 cm	4,40
450-490 cm	3,58	340-380 cm	4,43

Pode-se observar que o índice de decomposição (ID) é alto nos horizontes intermediários do perfil 4 e diminui para a amostra de 450 a 490 cm, mais uma vez mostrando que a amostra mais profunda pode ter influência do lençol, uma vez que ela difere do grupo de amostras intermediárias. Para o perfil 5, o grau de decomposição mostrou-se crescente com a profundidade, porém com ID das amostras úmidas (2,75m e 3,8m de profundidade) bastante próximas.

5.2.4 Fluorescência bidimensional

A partir da técnica de fluorescência bidimensional, acertadas as condições metodológicas, extraem-se alguns índices consagrados na literatura como os índices de humificação. Dessa forma, foram medidos os graus de humificação através dos métodos propostos por Kalbitz et al. (1999), Zsolnay et al. (1999) e Milori et al. (2002). O gráfico comparativo entre as diferentes profundidades, obtido pelos diferentes métodos, é mostrado a seguir pela Figura 26.

Figura 25 – Índices de humificação propostos por Kalbitz et al. (1999), Zsolnay et al. (1999) e Milori et al. (2002).

A apreciação dos resultados indicou que em geral, os índices são coerentes entre as técnicas, contudo o índice de Milori foi o que apresentou maior destaque na diferença de valor entre as amostras. No perfil 4, as três técnicas indicaram que o horizonte 250-280 cm (P4E) é o mais humificado, seguido do horizonte 185-195 cm (P4C). Pelo RMN, observou-se que o mais humificado foi o horizonte 210-230 cm, com 36,5 % de carbono aril + O-aril. Outrossim, os métodos de fluorescência bidimensional indicaram uma diminuição da humificação para o horizonte mais profundo do perfil 4, confirmando o observado pelo RMN. Já para o perfil 5, os índices de humificação por fluorescência se aproximaram bem do que foi encontrado no RMN, uma vez que as três amostras mais profundas, mostraram-se as mais humificadas do perfil pelos quatro métodos. É conhecida a interação que a MO exerce com a porção argila do solo e desta forma, pode-se notar um aumento acentuado na concentração de fluoróforos a partir do horizonte com mudança abrupta de textura no perfil 5, como se este tivesse a capacidade de concentrar estes compostos e lixiviá-los mais lentamente em relação às porções mais arenosas.

Resumindo, os métodos mostraram baixa humificação nas duas amostras superficiais nos dois perfis, mostraram uma variação na humificação entre os quatro horizontes mais profundos do perfil 4 e também uma acentuação na humificação para os três horizontes mais profundos do

perfil 5. Pode-se dizer pois, que estes métodos funcionam bem para indicar grandes variações na humificação, porém podem ser imprecisos quando se deseja averiguar uma variação mais detalhada e sutil.

5.2.5 Fluorescência em matriz de excitação-emissão e PARAFAC

A determinação das propriedades ópticas dos ácidos húmicos através da combinação da técnica analítica de fluorescência em matriz excitação-emissão (EEM) com o método estatístico de análise dos fatores paralelos (PARAFAC), constitui-se como interessante ferramenta para a caracterização de solos e sedimentos devido à sensibilidade, especificidade, rapidez da medida e preparo das amostras e ainda uma melhora na resolução dos espectros, comparados a técnica de Fluorescência-3D isolada (SANTÍN et al., 2009). Na literatura, são encontrados diversos trabalhos que empregam a técnica EEM associada ao PARAFAC para classificar amostras em ambientes complexos. Muitos trabalhos têm sido realizados empregando EEM com o objetivo de relacionar as componentes encontradas com a origem da matéria orgânica natural que pode ser oriunda de estuários (STEDMON et al., 2003; STEDMON; MARKAGER, 2005; SINGH et al., 2010, SHATRUGAN et al., 2010; MAIE et al., 2012), bacias hidrográficas (HOLBROOK et al., 2006; BAKER et al., 2008; FELLMAN et al., 2009; KOWALCZUK et al., 2010), zonas costeiras (LUCIANI et al., 2008; WALKER et al., 2009; CHEN et al., 2010; YAMASHITA et al., 2008, 2013) ou ainda ambientes marinhos (COBLE, 1996; MURPHY et al., 2006, 2008). Entretanto, somente alguns estudos foram desenvolvidos utilizando EEM (MOBED et al., 1996; ALBERTS; TAKACS 2004a, b; SIERRA et al., 2005) e associado ao PARAFAC (HE et al., 2006; SANTÍN et al., 2009; PAGANO et al., 2012) para caracterizar ácidos húmicos oriundos de solos ou sedimentos.

A análise de fluorescência em matriz excitação-emissão foi realizada e posteriormente, aplicou-se o método estatístico PARAFAC para o tratamento dos dados. A CORCONDIA obtida foi de aproximadamente 88,5%, ou seja, os dados se ajustam ao modelo em aproximadamente este valor. Normalmente, são considerados válidos, dados que apresentem CORCONDIA maior que 60% (BRO, 1997).

No presente estudo, foram encontradas 3 componentes com fluoróforos primário e secundário cada uma, que são mostrados na Figura 27. A Figura 28 mostra os *scores* resultantes dos fluoróforos obtidos para cada amostra de ácido húmico.

Figura 26 – Componentes de fluorescência dos AH, encontradas após aplicação do PARAFAC.

Figura 27 – Scores para cada componente e profundidade.

A componente 1 (C1), que possui o pico primário (e secundário) em 250 (355) / 450 nm, já foi reconhecida em alguns trabalhos (COBLE, 1996; HOLBROOK et al., 2006; BAKER et al., 2008; SINGH et al., 2010), como sendo uma componente típica tipo-húmica terrestre (ou *terrestrial humic-like*), sendo também designada como “pico A” (250/450) e “pico C” (350/450). O pico A foi reportado como sendo de origem terrestre / alóctone (do grego *allos* significa outro + *khthon* significa terra, chão) ou seja, originária de um local que não o encontrado (CORY; MCKNIGHT, 2005). De acordo com Senesi et al. (1991), tem sido mostrado que o comprimento de onda de emissão do pico C, aumenta com o aumento do número de estruturas aromáticas condensadas e também com o aumento de sistemas

insaturados em amostras de solo. Através da Figura 28, é possível entrever que este par de sinais aparece com relativa similaridade para todas as amostras, aumentando nos horizontes mais profundos, o que sugere que a humificação se desenvolve no decorrer do perfil com o aumento da profundidade.

A componente 2 (C2) é encontrada em 230 (295) / 400 nm. Averiguando outros trabalhos na literatura, foi encontrado que este pico ainda não está bem estabelecido quanto à sua origem, uma vez que diferentes trabalhos indicam que este par absorção/emissão tem diferentes origens. Stedmon e Markenger (2005) encontraram o máximo de excitação / emissão <250 (305) / 412 nm, relacionando estes fluoróforos a material húmico terrestre com maiores concentrações em córregos e rios dentro da floresta e em zonas úmidas. Esta é uma explicação consistente para a origem deste fluoróforo, uma vez que ela se equipara às condições de origem das amostras estudadas neste trabalho. Singh et al. (2010), encontraram o par ex/em <250 (285) / 395 nm e atribuíram a causa desta componente (a C3 naquele trabalho) como sendo de origem do tipo não húmica (*non-humic-like*), de material lábil com produção biológica em colunas d'água. Holbrook et al. (2006) encontraram os picos em 240 (305) / 396 nm e a atribuíram a substâncias do tipo fúlvica, o que é razoável, visto que a componente 2 dos ácidos fúlvicos deste trabalho foi encontrada em 230 (300) / 410 nm. Stedmon e Bro (2003) apresentaram uma C5 naquele trabalho, localizada em 280 (<240) / 368 nm e atribuíram estes picos a uma combinação entre o pico-N e o pico-T. Acredita-se que o pico-N representa um material lábil produzido por atividade biológica em colunas d'água, tal como produção de fitoplânctons (COBLE et al., 1998). O pico-T apresenta propriedade de fluorescência similar a do anel indol presente nas estruturas do triptofano e em vista disso, a fluorescência deste aminoácido tem sido associada à produção biológica em águas superficiais (COBLE et al., 1998; STEDMON; BRO, 2003).

Chen et al. (2003) desenharam linhas verticais e horizontais para dividir as regiões de emissão e excitação em 5 (I, II, III, IV e V), baseadas em amplo suporte de outros trabalhos da literatura, até o momento daquele trabalho. Esta classificação pode ser vista na Figura 29. De acordo com esta classificação, a componente 2 deste trabalho é encontrada na fronteira da região II com a III, que representa que a C2 está entre uma região de derivados aromáticos de proteínas (como o triptofano), com uma região de ácidos hidrofóbicos de substâncias do tipo húmicas. Baker et al. (2008) determinaram que a fluorescência emitida a 330-370 nm, após excitação a 220-235 nm (fluorescência tipo-T) está relacionada tanto a material oriundo de algas quanto de micro-organismos que degradam matéria orgânica. Entretanto, é pouco

provável que este pico tenha origem de algas no caso deste trabalho, considerando que as amostras analisadas nos perfis amazônicos, foram retiradas variando alguns metros abaixo da superfície, ou seja, de um ambiente completamente escuro.

Figura 28 – Localização dos picos EEM baseados na literatura divididos em 5 regiões relacionadas aos domínios da origem dos fluoróforos.

Fonte: CHEN et al., 2003

Observando a Figura 28, pode-se compreender que em geral, a intensidade da C2 cresce com a profundidade, exceto na parte do horizonte de transição em ambos perfis, (eluvial) P4 60 – 90 cm e P5 60 – 85 cm, e horizontes mais profundos, o que não conduz à conclusão de que esta componente está relacionada com os ácidos húmicos contidos em correntes aquáticas de florestas, como previram Stedmon e Markenger (2005), uma vez que há uma inversão (diminuição) na intensidade nos perfis P4F e P5F (úmidos). Caso a C2 indicasse realmente produção de um material mais autóctone lábil oriundo da produção de micro-organismos (NGUYEN et al., 2005; BAKER et al., 2008; SINGH, et al., 2010), a Figura 28 indica que a zona intermediária do perfil apresenta a maior concentração de resíduos da atividade microbiológica e o horizonte eluvial a menor. Contudo, a interpretação de que esta componente esteja relacionada somente a ácidos hidrofóbicos (CHEN et al., 2003) é a mais coerente, pois o comportamento dos *scores* desta componente acompanha o mesmo comportamento das componentes C1 e C3, que já são consagradas como componentes de materiais mais antigos e humificados. Neste sentido, caso a C2 fosse realmente de material mais fresco, esta provavelmente teria um comportamento inverso às outras duas componentes.

A componente 3 (C3) é encontrada em 460 (270) / 510. Matthews et al. (1996) encontrou $\lambda_{ex/em}$ em 455 / 510 nm e denominou este pico com pico-L, relacionando-o com a presença da Lignina em ácidos húmicos terrestres. Muller et al. (2011) sugeriu que os compostos do tipo-lignina deveriam ser os responsáveis pela emissão em 520 nm em matriz de resíduos sólidos orgânicos. A presença deste fluoróforo já foi anteriormente discutida (MCKNIGHT et al., 2001; STEDMON et al., 2003) por apresentar comprimentos de onda de excitação e emissão mais longos e por apresentarem banda mais ampla. Esta característica da matéria orgânica tem sido associada com a capacidade de compostos com alto peso molecular e com estruturas aromáticas condensadas, relaxarem a energia absorvida por meios vibracionais antes de relaxarem seus elétrons, o que conduz a emissão da luz emitida para o vermelho. Cory e McNight (2005) encontraram a C5 daquele trabalho em $\lambda_{ex} / \lambda_{em} = 275, 405 / >500$ e categorizaram este fluoróforo como procedente de quinonas reduzidas de origem terrestre. Santín et al. (2009) reportou que esta componente seria primariamente oriunda de ácidos húmicos de solos. Neste ponto, faz-se importante enfatizar que o par $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ em 455 / 510 não foi descrito por nenhum trabalho anterior que analisasse a matéria orgânica do solo ou dissolvida, sugerindo portanto que este fluoróforo pode ser característico do ambiente estudado neste trabalho, ou seja, de uma matéria orgânica que se acumula em profundidade em horizontes húmicos e apresenta características hidromórficas.

A distribuição dos *scores* (Figura 28) para a C3 segue o mesmo padrão que foi visto nas componentes anteriores, onde se vê uma menor intensidade para os dois horizontes superficiais nos dois perfis e uma maior intensidade no horizonte Bh, variando entre as amostras. No horizonte P5D (170 – 190 cm), a maior intensidade observada, se correlaciona bem com o resultado do índice de humificação H_{FIL} , o que pode confirmar que esta componente está relacionada com a concentração de anéis aromáticos nas amostras de ácidos húmicos.

He et al. (2006) trabalharam com amostras de ácidos húmico e fúlvico padrões, comercializados pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS), e também aplicou o PARAFAC para tratamento dos dados de EEM. Naquele trabalho foram encontradas 3 componentes similares às encontradas neste trabalho, entretanto, He e colegas utilizaram apenas a classificação dos picos proposta por Chen et al. (2003). Dessa forma, as atribuições dos picos daquele trabalho foram C1 <240, (318) / 438 nm como sendo de material do tipo-fúlvico, C2 252 / 498 nm como sendo material tipo-húmico e a C3 <240 / 290 nm como sendo de material tipo-fúlvico novamente. Comparando os dois estudos, nota-se

uma semelhança entre os fluoróforos relacionados aos ácidos húmicos terrestres, exceto o fato que ocorreu um pequeno deslocamento para o azul para todas as amostras IHSS, provavelmente devido análise dos ácidos húmicos ter sido feita em presença dos ácidos fúlvicos, que por causa do tamanho molecular menor, fluoresce a comprimentos de onda menores.

Em uma análise geral e sumária dos scores, as duas amostras superficiais apresentaram uma menor concentração de fluoróforos e as amostras intermediárias as maiores, seguidas pelas amostras mais profundas. A C1 trata-se de uma componente comum aos ácidos húmicos terrestres e está relacionada à fluorescência emitida por anéis aromáticos. Supondo que a componente C2 têm relação direta com fluoróforos produzidos por micro-organismos, sugere-se que a atividade microbiana ocorre com maior intensidade nos horizontes intermediários dos espodossolos, o que é consistente com os achados pelo RMN. A terceira componente C3, sugere que há acumulação de anéis de quinona reduzidas em maiores profundidades, principalmente no perfil 5, que é uma zona de transição espodossolo-latossolo e está mais longe do rio que o perfil 4.

Uma vasta revisão bibliográfica foi realizada para se encontrar em outros trabalhos uma possível origem dos fluoróforos presentes neste trabalho. Foram encontrados trabalhos indicando possíveis diferentes origens para as 3 componentes analisadas, diferentemente do que He et al. (2006) pode atribuir aos ácidos húmicos analisados da IHSS. Mesmo com os diferentes indícios para as 3 componentes encontradas na literatura, muitas vezes são encontrados apenas indicativos se os fluoróforos são de origem húmica, fúlvica ou de produção biológica. Deste modo, a fluorescência EEM associada ao PARAFAC mostrou-se uma ferramenta importante para revelar indícios da origem de amostras complexas, entretanto, mais pesquisas precisam ser realizadas no sentido de validar esta ferramenta com materiais de diferentes origens e fluoróforos possíveis de se encontrar tanto na matéria orgânica de solos ou rios e lagos da floresta como na matéria orgânica dissolvida em ambientes complexos como na água do mar (na qual é vastamente utilizada).

5.3 Análises dos Ácidos Fúlvicos

5.3.1 Carbono orgânico total

Após os procedimentos de extração das substâncias húmicas, os ácidos fúlvicos foram congelados para posterior análise. Após todas as análises dos ácidos húmicos, os ácidos fúlvicos foram descongelados e depois analisados primeiramente em quantidade de carbono orgânico total (COT). Os resultados de COT para as amostras de ácidos fúlvicos são encontrados na Tabela 5. Depois de obtidos estes resultados, todas as amostras foram ajustadas para uma concentração de 10 mg L^{-1} de carbono, com objetivo de normalizar a concentração para poder-se comparar as intensidades de absorção e emissão nas análises UV-Vís e EEM. Após ajustadas as concentrações, os AF foram purificados (como descrito nos materiais e métodos), antes de serem analisados. O aspecto visual dos AF após purificação é mostrado na Figura 30.

Tabela 5 – resultados de COT para os AF in natura.

P4 (cm)	COT mg/L	P5 (cm)	COT mg/L
0-25	$276,6 \pm 1,27$	0-15	$283,2 \pm 0,14$
60-90	$10,8 \pm 1,62$	60-85	$8,5 \pm 1,02$
185-195	$16,8 \pm 0,51$	100-105	$486,7 \pm 28,14$
210-230	$16,5 \pm 0,45$	170-190	$81,8 \pm 2,83$
250-280	$58,2 \pm 0,51$	275-330	$69,3 \pm 0,12$
450-490	$106,6 \pm 2,62$	340-380	$11,4 \pm 0,82$

Os resultados de carbono orgânico total para os ácidos fúlvicos indicaram em geral alta concentração de carbono para as amostras superficiais. No entanto, um resultado não esperado e bastante interessante ocorreu no horizonte P5C, que forneceu resultado de COT em $486,7 \text{ mg L}^{-1}$. Este horizonte situa-se logo após o horizonte de eluviação, aonde existe uma diferenciação repentina na textura, que provavelmente interfere positivamente na deposição de ácidos fúlvicos neste local, contribuindo para este valor alto de carbono. Uma vez que o P4 teve sempre um aumento na porção areia com a profundidade, não seria possível verificar este tipo de efeito para este perfil. Esta observação para o P5 pode também estar em concordância com a teoria do fulvato de formação dos espodossolos.

Figura 29 – Foto do aspecto visual dos ácidos fúlvicos após purificado.

Foto pelo autor

A amostra P4F apresentou um aumento no teor de carbono, que em tese, corrobora as questões levantadas na análise do RMN, onde provavelmente existe um aporte de carbono mais fresco nesta profundidade do P4, verificado também na forma de ácidos fúlvicos.

5.3.2 Absorção na região do UV-Vís

Todos os ácidos fúlvicos foram ajustados à concentração de 10 mg L^{-1} de carbono orgânico total, em solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaHCO_3 , exceto a amostra 5B que foi medida com $8,5 \text{ mg L}^{-1}$, pois esta já era sua concentração original.

Antes de começar a discutir os resultados obtidos pela espectroscopia de absorção dos ácidos fúlvicos, faz-se necessário destacar que a porção fúlvica da matéria orgânica, quase sempre se apresenta estruturalmente muito similar quando se compara amostras ao longo de um perfil e este fato ocorre porque o ácido fúlvico é pequeno e muito móvel e assim, apenas pequenas variações de sua estrutura podem ocorrer e então ser identificadas. Concordante ao exposto, é

possível notar que os dois perfis apresentam características distintas entre eles e características semelhantes ao longo do próprio perfil. Evidente que o espectro que se vê é referente a uma sobreposição de bandas de diferentes grupos cromóforos, entretanto, mesmo sendo sutis as diferenças observadas, é possível inferir a tendência estrutural do ácido fúlvico, observando o deslocamento das bandas, uma vez conhecido os comprimentos de onda máximos de absorção dos grupos funcionais. Os espectros de absorção dos ácidos fúlvicos extraídos são mostrados na Figura 31 e para ajudar na atribuição das bandas, apresenta-se a Tabela 6, que mostra bandas características de alguns grupos cromóforos.

Sabe-se que a conjugação de ligações π em estruturas alifáticas e também que a substituição de anéis aromáticos provoca um abaixamento entre os níveis de energia $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. Também é verídico que a substituição do ácido benzóico na maioria das vezes elimina a terceira banda e que a substituição do fenol pode ou não eliminar a segunda banda, dependendo do substituinte (HIRAYAMA, 1967).

Figura 30 – Espectros Uv-Vís dos ácidos fúlvicos a 10 mg L⁻¹ e pH 8. Na legenda: identificação da amostra, λ máx de absorção, espectros que não apresentaram ombro e amostras que apresentaram cor.

Tabela 6 – Algumas bandas de absorção na faixa ultravioleta e visível.

Cromóforo	Banda (s) de absorção (nm)	Solvente	Referência
Acetileno	170	-	Workman (2000)
Alqueno	175 - 185	-	
Alcoois	175 - 200	-	
Éteres	180	-	
Cetonas	180, 280	-	
Amina primária	200 - 220	-	
Ácidos carboxílicos	205	-	
Ésteres	205	-	
Aldeídos insaturados	210 - 250	-	
Carbonila alifática	270 - 310	-	
Ácido acético	204	água	Hirayama (1967)
Ácido fórmico	206,5	água	
Ácido succínico	204	água	
Ácido fumárico	208, 258	água	
Acetona	264,5	água	
Benzeno	198 e 256	hexano	
Tolueno	261	hexano	
Fenol	210,5 e 270	álcool	
Xileno	210, 262	álcool	
Ácido benzóico	202, 228 e 271	álcool	
Ácido salicílico	204, 236 e 307	álcool	
p-Benzoquinona	247, 292 e 436	álcool	
Hidroquinona	284	álcool	

Para o perfil 4, a amostra superficial (P4A) foi a que apresentou máximo mais deslocado para menor comprimento de onda, com máximo próximo a 200 nm. Os três horizontes seguintes (60 a 230 cm), apresentaram máximo em 210 nm e todas com baixa intensidade (hipocromia). O que parece ocorrer nestes quatro primeiros horizontes do perfil 4, é que estes ácidos fúlvicos são pouco substituídos e que o grupamento carboxílico predomina para estas amostras. O máximo próximo a 210 nm e a falta do ombro na região de 270 nm, pode indicar também que estas amostras apresentam pouca ou nenhuma conjugação de anéis aromáticos e por conseguinte, são horizontes com rápidas trocas (jovens) e com pouca humificação. Todavia, o horizonte P4E (250-280 cm), muda sua configuração, passando a ter banda mais alargada e com máximo em 227 nm. Não é constatada nenhuma mudança acentuada na textura do perfil de 230 cm para 250 cm, apenas uma diminuição de 10% na areia fina e um aumento de 9% na areia grossa. Porém, a amostra que começa em 250 cm se revela com uma característica de transição, pois a amostra mais profunda tem a mesma característica de banda, só que com um aumento na absortividade (hipercromia). O fenol é um cromóforo que apresenta dois máximos, o primeiro em 210,5 nm com $\log \epsilon$ igual a 3,8 e o segundo com

máximo em 270 e $\log \epsilon$ com valor 3,2, onde ϵ é a absortividade molar. Portanto este resultado leva a crer que da superfície até 230 cm, há predominância de estruturas carboxílicas nos ácidos fúlvicos do perfil 4, e que a partir de 250 cm, há predominância de estruturas aromáticas mais substituídas ou com porções fenólicas, o que poderia ser explicado pela maior atividade de degradação microbiana presente (evidenciada pela C2 do EEM), fazendo com que a estrutura fenólica, que é uma forma mais reduzida do oxigênio ligado ao anel aromático, seja mais estável.

O perfil 5 diferencia-se do perfil 4 essencialmente por ser mais argiloso. Talvez essa característica tenha influência no que foi observado na análise dos ácidos fúlvicos, uma vez que as amostras superficiais do perfil 5, representadas pelos horizontes 60 – 85 cm e 100 – 105 cm são mais intensas e apresentam um deslocamento batocrômico (para o vermelho) em relação às amostras superficiais do perfil 4. O máximo de absorção das amostras mais superficiais do perfil 5 coincide com o máximo observado para as amostras mais profundas, entretanto aquelas amostras não apresentaram um ombro tão acentuado quanto no das amostras mais profundas em 270 nm. O ácido fúlvico referente ao horizonte P5D (170 – 190 cm) apresentou um efeito hipocrômico com relação às demais e este horizonte foi exatamente o com maior porcentagem de argila (35,4%). A penúltima amostra do perfil, mostra-se com máximo em 227 nm e ombro em 270 nm, assim como as demais. A amostra mais profunda (340 – 380 cm) apresenta um máximo em 210 nm e um efeito hipercrômico perante as demais, possivelmente devido a algum grupamento que possui alta eficiência de absorção como o o-xileno (ou p-xileno), que tem seu máximo em 210 nm (212 nm) e $\log \epsilon$ igual a 3,9 (3,9). Os compostos benzenóides apresentam cor apenas se apresentarem substituintes conjugados suficientes para levar a absorção à faixa do visível (WORKMAN, 2000). Verifica-se através da Figura 30 que apenas as amostras com absorbância acima de 0,25 apresentam cor, sendo então estas as amostras que apresentam maior número de substituintes conjugados.

Este tipo de análise é complicada porque não há como saber o que se passa com certeza, pois o espectro UV-Vis fornece respostas de absorções que podem estar sobrepostas e a análise deve ser baseada em pequenas variações. O que é possível afirmar com certeza desta análise é que as amostras do perfil 4 e 5 tem ácidos fúlvicos com características diferentes e que os AF do perfil 5 são mais substituídos e em geral apresentam maior absortividade que os do perfil 4. Outro fato interessante é que os dois perfis mais profundos apresentaram a maior absortividade, onde a amostra do P4 apresentou máximo em 220 nm e a do P5 em 210 nm.

5.3.3 Fluorescência em matriz excitação-emissão e PARAFAC

As análises de EEM dos ácidos fúlvicos resultaram em duas componentes, que são apresentadas na Figura 32. A componente 1 está localizada em 255 (340) / 460 nm e a componente 2 em 230 (300) / 410 nm, com pico secundário bem fraco.

Primeiramente é possível verificar que existe uma similaridade entre as duas componentes no que concerne à sua posição e intensidade, pois como o ácido fúlvico constitui-se de pequenas moléculas, é limitado o número de grupos cromóforos nas moléculas e dessa forma, a absortividade alta ou baixa é consequência das duas componentes conjuntamente, ou seja, existe influência de grupos cromóforos semelhantes para as duas componentes.

A componente 1 encontrada nos ácidos fúlvicos deste trabalho é referenciada na literatura como picos α' (255/460 nm) e α (340/460 nm) e também são equivalentes aos picos A e C respectivamente, caracterizados por Coble (1996). Este par de picos é normalmente encontrado nas estruturas “humic-like” e se indica que estas emissões são provenientes de material produzido por macro-algas (PARLANTI et al., 2000, 2002; SIERRA et al., 2005). Pela interpretação do diagrama proposto por Chen et al. (2003), a informação que seria obtida para as duas componentes seria apenas que estas seriam oriundas de materiais tipo-fúlvico, limitando, pois, a interpretação da origem destes fluoróforos.

Figura 31 – Componentes encontradas na análise EEM / PARAFAC para os ácidos fúlvicos.

A Figura 33 reporta os *scores* relativos aos ácidos fúlvicos analisados por EEM/ PARAFAC. Em sua análise, é possível verificar que a amostra mais profunda do perfil 5 mostrou-se a que possui maior intensidade de emissão tanto para C1 quanto para C2. Isso leva a crer que em profundidade, ocorre juntamento de material, tanto lixiviado do perfil quanto em razão do movimento lateral do lençol freático. Uma vez que esta componente pode ser interpretada como oriunda de produção de macro-algas, fica mais evidente que o lençol freático exerce grande influência nas amostras em profundidade. Um resultado encontrado fora do esperado foi a grande intensidade para a C1 e C2 no horizonte eluvial, apontando que neste horizonte também pode ocorrer atividade biológica acentuada, ou que a matéria orgânica neste horizonte sofre um aumento no nível de degradação antes de passar ao horizonte húmico.

No perfil 4, as amostras mais profundas também apresentaram maior intensidade para as componentes, provavelmente devido a um acúmulo por lixiviação. Vale lembrar que o perfil 4 é mais homogêneo texturalmente, predominando areia ao longo do perfil inteiro e talvez por isso, não ocorra uma mudança brusca e acentuada na característica da matéria orgânica.

Figura 32 – *Scores* encontrados para os ácidos fúlvicos.

Parlanti et al. (2000) também comenta que encontrou o pico chamado Beta (β) com λ_{ex}/em em 300/410 e que este pico está provavelmente relacionado à exudatos de algas antes de transformação, ou seja, numa condição bastante fresca. Entretanto, este par de comprimentos de onda tem intensidade secundária na componente 2. Vale ressaltar que o pico primário deste trabalho, que está localizado em 230/410 nm, não pôde ser encontrado no trabalho de Parlanti et al. (2000, 2002) porque estes pesquisadores utilizaram comprimento de onda de excitação inicial em 250 nm e portanto, o pico β provavelmente trata-se da componente 2. Parlanti et al. (2000, 2002) ressaltam também que o pico Beta pode ser usado como marcador da atividade biológica em ambientes aquáticos e terrestres. Dessa forma, visualizando-se a coerência entre as intensidades das componentes C1 e C2, é possível dizer que as duas componentes indicam a atividade biológica.

Resumindo, de acordo com o encontrado na literatura, pode-se considerar que a C1 está relacionada com material mais antigo, já decomposto e produzido por macro-algas e que a C2 está relacionada a um material mais fresco, referente à exsudatos de algas, que estão em vida e começando o processo de decomposição.

Em geral, a taxa de atividade biológica medida através das componentes dos ácidos fúlvicos mostra que o perfil 5 apresentou maior atividade que o perfil 4, corroborando o encontrado pelas demais técnicas. Este comportamento está provavelmente relacionado com a diferença na textura entre os dois perfis e devido ao perfil 5 ter característica mais argilosa, a matéria orgânica pode ficar mais tempo imobilizada, ativando-a e conferindo maiores condições para ocorrerem reações.

Na discussão realizada para estas componentes, o que foi descrito na literatura foi considerado como sendo válido, entretanto, é importante ressaltar que não faz muito sentido a C1 indicar material antigo e a C2 apresentar material mais fresco e ao mesmo tempo os *scores* destas componentes serem coerentes, onde sempre que ocorre aumento em uma, a outra aumenta também. Dessa forma, é possível afirmar que provavelmente apenas uma das interpretações descritas seja correta e que mais pesquisas para interpretação das informações que os espectros EEM podem fornecer para estes tipos de amostras, precisam ser realizadas.

5.4 Datação de ^{14}C

Os dados das análises isotópicas do carbono do solo foram realizados no âmbito do projeto FAPESP/ANR (Processo: 2012/51469-6) intitulado "Modelling the dynamics of equatorial

forest soil deep carbon in changing environments". As análises foram realizadas no *Poznan Radiocarbon Laboratory* na Polônia. O método utilizado foi aquele descrito por Brock et al. (2010). Tais dados foram disponibilizados pelo pesquisador Yves Lucas que está diretamente envolvido no projeto temático interdisciplinar de caracterização do carbono contido nos espodossolos amazônicos.

Por se tratar de uma análise cara, foram utilizados apenas dois perfis do conjunto de dados do rio Marié, sendo estes o perfil 3 e o perfil 9. Observando-se o mapa dos locais de tradagem (Fig. 19), nota-se que o perfil 3 está bastante próximo ao perfil 4 e que o perfil 9 também está bastante próximo ao perfil 5. Desta forma, para efeito de análise, é viável considerar os resultados de datação do perfil 3, análogos aos do perfil 4, e do perfil 5, análogos ao do perfil 9. A tabela 7 fornece os resultados de datação para o ^{14}C dos perfis 3 e 9.

Tabela 7 - Datação de ^{14}C dos perfis 3 e 9. Resultados na unidade "*Before Present*".

Mar 3 0-20	109.12 ± 0.35	Mar 9 0-20	111.24 ± 0.36
Mar 3 80-100	4540 ± 50 BP	Mar 9 50-75	30 ± 30 BP
Mar 3 140-150	17500 ± 90 BP	Mar 9 75-100	2170 ± 35 BP
Mar 3 200-240	27820 ± 210 BP	Mar 9 115-120	5430 ± 50 BP
Mar 3 340-360	27940 ± 210 BP	Mar 9 170-200	5410 ± 40 BP
Mar 3 510-520	25130 ± 170 BP	Mar 9 280-340	5930 ± 35 BP

Ao analisar tais dados, nota-se que existe uma inversão na idade do carbono em profundidade no perfil 3, assim como foi discutido que existia uma matéria orgânica mais fresca em profundidade para o perfil 4. A matéria orgânica do perfil 3 mostrou-se que em geral é mais antiga em média 20 mil anos do que a matéria orgânica do perfil 9. Outro resultado importante é que a matéria orgânica presente no horizonte eluvial mostra-se muito recente, mostrando que não há acúmulo neste local e que provavelmente este sítio está relacionado a uma alta taxa de degradação da matéria orgânica. No perfil 3, a amostra logo abaixo do perfil

eluvial (80-100cm) mostrou-se também bem mais recente do que as amostras mais profundas deste perfil. As amostras do ponto 9, não mostraram inversão na datação, porém tanto as amostras intermediárias quanto a mais profunda, apresentaram idades próximas. O horizonte logo abaixo do eluvial, se diferenciou das amostras mais abaixo desta, mostrando-se mais de 2 mil anos mais recente.

Dessa forma, os resultados de datação somam-se às informações obtidas através das técnicas espectroscópicas, sendo então coerentes aos resultados deste trabalho e servindo para corroborar as hipóteses aqui levantadas.

5.5 Discussões Finais

Este estudo foi baseado na análise molecular das frações húmicas e fúlvicas de diferentes horizontes de dois perfis de espodossolos. Apesar da investigação ter sido feita com técnicas robustas de análises da MO como AE, RMN e FTIR, deve-se ater que o trabalho foi realizado em uma região de demasiado difícil acesso e por isso, não se considera a variável temporal, que seria recomendável para um estudo com tal complexidade e importância. Dessa forma, os resultados obtidos são como um retrato das condições ambientais presentes nos momentos das coletas, que por sua vez supõem-se serem boas aproximações das condições naturais cotidianas daqueles locais, uma vez que o clima e vegetação dos locais exibem pouca amplitude e alto grau de preservação, respectivamente.

A grande porção da textura arenosa ao longo do perfil 4 proporcionou uma MO com características semelhantes entre os horizontes do Bh. No P4, a MO está mais humificada nos perfis intermediários (P4C e P4D), menos humificada no perfil P4E e menos ainda no horizonte que contém água livre, P4F. As amostras do perfil 4 apresentaram *scores* para a C2, que estão relacionados a moléculas produzidas por micro-organismos, maiores que as C1 e C3. No RMN, o carbono característico de lignina e/ou proteína no P4 é maior no horizonte mais profundo; a porção O-alquila, que evidencia carbono de carboidratos é também maior neste horizonte e as porções arila e O-arila (aromáticas) diminuem se comparadas as porções do Bh (secas), mostrando que existe aporte de MO fresca a 4,5 m de profundidade neste perfil. Tais constatações indicam que o horizonte é fortemente influenciado pelo movimento do lençol freático. Os índices de humificação não foram tão diferenciados neste perfil, todavia mostraram que a MO do Bh é mais humificada que a MO da superfície e também que a mais profunda (P4F).

Um evento importante sobre o P4 é que este apresentou os maiores valores do índice de decomposição, mostrando que a matéria orgânica estocada no perfil arenoso e com influência do lençol tende a ser estável e humificada, talvez pelo motivo que confirma a C2 da fluorescência, que a atividade microbiana é intensa em algum sítio ativo do perfil e dessa forma, se acumulam compostos recalcitrantes neste perfil. Outro fato é que o Perfil 4 muda o comportamento do teor de C após o início do horizonte úmido, passando de uma média de 2,3% de C no horizonte Bh (140-310cm), para uma média de 0,62% de C no horizonte úmido (310-480cm).

Um fato curioso é o perfil P4B (60-90cm), que tem somente 0,33% de carbono, ter tido o maior sinal de fluorescência do perfil. O resultado desta medida, associado às questões discutidas no item sobre FIL, remetem à reflexão de que quando há pouca quantidade de carbono, a fluorescência é mais eficientemente capturada pelo aparelho, pois há menor quantidade de grupamentos que podem reabsorver a fluorescência emitida. Já quando há grande quantidade de carbono, é difícil medir a fluorescência intrínseca a toda MO, pois mesmo que exista maior fluorescência devido ao maior número de cromóforos, existe também uma massa maior de grupamentos que reabsorvem a fluorescência, deixando a intensidade capturada pelo aparelho menor, resultando numa medida subestimada. Outro exemplo é que enquanto a RMN mostrou que existe uma alta porção aromática para a amostra 185-194 cm do P4, e sua porção de %C está também entre uma das maiores, a medida de fluorescência (FIL) resultou em uma medida com baixa área, levando a crer que nesta amostra não existiria tanto carbono aromático ou humificado e assim, contradizendo a RMN. Assim, com estas evidências, o mais recomendado é que através de mais pesquisas, se encontre uma formula para o H_{FIL} que contemple a não linearidade da medida em relação ao grau de humificação da amostra.

As amostras úmidas do P5 (P5E e P5F) se mostraram com características diferentes da amostra úmida do P4 (P4F). O ID diminuiu após a profundidade com água livre no perfil 4 e aumentou após o horizonte com água livre no perfil 5. Para os horizontes úmidos do P5, a proporção de carbonos arila, o-arila e alquílicos (característicos da MO humificada), diminuem pouco, e são compatíveis com os valores do horizonte Bh do perfil, mostrando que estes horizontes também sofrem influência do lençol, no entanto, em menor grau que no P4. Em confirmação a esta característica, o ID deste perfil mostrou-se crescente em todo perfil, com seus maiores valores nos horizontes mais profundos.

Pelos índices de humificação clássicos (Kalbitz, Milori e Zolnay), os horizontes 5D, 5E e 5F foram os que obtiveram maior humificação. Uma alta correlação (Pearson) foi constatada entre a C3 da fluorescência 3D e o ID. Na literatura, a C3 é referenciada como sendo oriunda de quinonas reduzidas, que também tem correlação com a quantidade de estruturas aromáticas. Ainda para as amostras profundas do P5, a RMN constatou os maiores valores de C-carbonílico entre todas as amostras, relativos a cetonas e aldeídos. Esses grupamentos, que são facilmente atacáveis, podem permanecer na matéria orgânica por via tautomérica, somente em ambientes anóxicos ou redutores, que parece ser o caso nesta profundidade do P5, pois a C3 também indica isto. Segundo Unger et al. (2009), a microbiota presente em ambientes estáticos e submersos, degrada a matéria orgânica muito lentamente e provavelmente a matéria orgânica que é transformada por micro-organismos ao longo do perfil Bh, é conservada e acumulada nos horizontes úmidos, pousando ali com características mais recalcitrantes.

Como discutido no texto, a amostra P5C apresentou leve semelhança aos perfis superficiais, e isto deve ter ocorrido provavelmente porque o P5 continha maior porção argila, que tem a capacidade de se ligar e estabilizar a matéria orgânica, fazendo com que o material se conservasse melhor. O Perfil 5, essencialmente argiloso, ganhou 50% de areia grossa após o horizonte úmido. Visto que o material profundo do P5 tem característica mais recalcitrante do que o material profundo do P4, talvez este fato esteja relacionado com as diferenças de textura dos perfis ou relacionado a uma eventual alta do lençol em P5, uma vez que a amostra P5D mostrou-se com alta intensidade de C1 e C3, acompanhando as amostras mais profundas (úmidas) e assim, deixando o questionamento se por ventura a alta do lençol não seria importante para a manutenção da capacidade do solo acumular material recalcitrante.

Os indícios levam a crer que o Perfil 5 não possuía lençol dinâmico como no P4, mas estático e uma vez que a porção recalcitrante foi encontrada tanto no horizonte Bh, quanto no horizonte com água livre, é concebível dizer que a água exerce um papel importante em conservar a matéria orgânica já transformada mediante a inserção através do perfil e ao longo do tempo. Sem dúvida, a água presente nos lençóis, que são rasos nestes tipos de solo, conferem um papel de proteção à matéria orgânica, à medida que diminuem sua taxa de reatividade e evitam o contato deste material com a atmosfera oxidante.

6 CONCLUSÕES

A formação da matéria orgânica humificada nos perfis espodossólicos está mais relacionada com a lixiviação da matéria orgânica oriunda da superfície do que por um movimento ascendente do lençol freático. Foi possível constatar que o movimento do lençol freático carreando material orgânico fresco, exerce influência maior para determinados perfis do que para outros, provavelmente maior para regiões mais próximas aos rios, como foi o caso do P4. Uma vez que foi constatada grande presença de fragmentos de lignina e carboidratos nas amostras com influência do lençol, não pode ser descartada a hipótese de que também pode haver um aporte de matéria orgânica no perfil por uma possível cheia. Porém pelos resultados obtidos neste estudo, esta não é a principal causa do acúmulo de matéria orgânica humificada nestes perfis.

O que não resta dúvidas é que a matéria orgânica dos espodossolos estudados é diferente na superfície, no horizonte eluvial, no horizonte de acúmulo e dependendo da profundidade e da proximidade do rio, também diferente quando atinge o lençol freático. Enquanto no P4 a matéria orgânica mais humificada foi encontrada nos horizontes intermediários, no P5 foi encontrada nos horizontes mais profundos.

A matéria orgânica se acumula no Bh por mecanismos de lixiviação e é originada pela vegetação local, como previsto nas teorias de formação de espodossolos. O perfil profundo (úmido) estudado mais próximo ao rio (P4), mostrou que abriga matéria orgânica oriunda tanto da translocação vertical quanto da migração lateral, todavia em concentração bem menores do que o carbono que se acumula no horizonte húmico. No Perfil 5, a matéria orgânica presente no lençol se mostrou bastante humificada.

Posto que este projeto foi conduzido tanto para caracterizar e quantificar o carbono dos espodossolos, quanto para interpretar resultados sobre sua estabilidade e contribuição às emissões caso ocorra drenagem dos rios que constituem a bacia do Rio Negro que abrigam este tipo de solo nas proximidades, as observações obtidas dirigem a duas hipóteses que se baseiam nas duas diferentes situações estudadas: a primeira é que os horizontes que apresentam maior teor de carbono, são aqueles logo abaixo do perfil eluvial e seu acúmulo não depende do lençol ou do rio, mas apenas da chuva para lixiviação e dos micro-organismos para sua decomposição e estabilização. Já em segunda análise, considerando o carbono mais profundo, este parece ser influenciado a conservar-se devido ao auxílio da estabilização

(diminuição da ação dos micro-organismos do solo e proteção ao oxigênio do ar) que o lençol freático proporciona. Dessa maneira, pode-se dizer que a preocupação existente quanto ao rebaixamento do lençol freático perpetra-se justificável e latente já que a maior parte do carbono estocado nos espodossolos amazônicos encontra-se em ambiente alagado; onde caso ocorresse o rebaixamento freático, seria acarretado o risco de exposição do carbono já estabilizado e estocado em profundidade, podendo resultar na liberação deste carbono com consequente agravamento do efeito estufa global.

7 CONSIDERAÇÕES E RECOMENDAÇÕES FUTURAS

A investigação da natureza (meio ambiente) tem seus caprichos e é muitas vezes difícil, pois é fácil chegar a resultados absurdos, que não são lineares e não se relacionam, porém com imersão no trabalho, sempre é possível levantar as minúcias e formular hipóteses tentando considerar o máximo dos fatores possíveis.

É plangente que este trabalho não tenha tido acesso a outras medidas que ajudariam a interpretação dos dados, como medidas de lisímetro, potencial redox (Eh), condutividade elétrica e respirometria. Tais medidas que são realizadas no local, possibilitariam sanar dúvidas sobre o ambiente que foram retiradas as amostras e dessa forma, poder-se-iam obter correlações mais robustas entre as condições hidrológicas, microbiológica, físico-química e química. Infelizmente, devido à dificuldade de acesso ao local e elevado número de amostras para coleta, a equipe de campo não pode realizar tais medidas, que exigiriam esforços intangíveis no momento.

Infelizmente também não foi possível realizar a medida de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), que havia sido prevista no projeto, pois o equipamento da Embrapa quebrou no período em que estive apto a fazer a análise e até o presente continua sem previsão de conserto. Outro local que foi conversado para se fazer a análise foi no laboratório do prof. Douglas Franco, que também quebrou no período de dezembro de 2014. Dessa forma, relato que a principal intenção de realização da medida de EPR, seria para confirmar se os radicais livres orgânicos (RLO) aparecessem com menor concentração em profundidade seria possível acreditar que estas amostras sofrem de fato maior influência do lençol freático, que aporta matéria orgânica por movimentos laterais e não horizontais. Outra técnica que poderia confirmar isso, detalhando a composição química dos ácidos húmicos, seria a análise dos aminoácidos (OLK, 2008), que são normalmente realizadas no laboratório do pesquisador Dan Olk – EUA.

Por fim, para a investigação mais aprofundada de um caso análogo ao estudado neste trabalho, deixo como sugestão que sejam realizadas todas as técnicas utilizadas aqui, somando-se as medidas de EPR, lisímetro, potencial redox, condutividade elétrica, respirometria e identificação dos aminoácidos presentes nos ácidos húmicos; e ainda traçando um estudo sazonal, comparando-se as características da estação seca e de cheias.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU-JUNIOR, C.H.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P.; SIMOES, M.L.; DA SILVA, W.T.L. Métodos analíticos utilizados em química do solo. In: MELO, V.F.; ALLEONI, R.F. (Ed.). **Química e mineralogia do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009. v. 2, p. 529-685.

ALBERTS, J.J.; TAKÁCS, M. Comparison of the natural fluorescence distribution among size fractions of terrestrial fulvic and humic acids and aquatic natural organic matter. **Organic Geochemistry**, v. 35, p. 1141–1149, 2004b.

ALBERTS, J.J.; TAKÁCS, M. Total luminescence spectra of IHSS standard and reference fulvic acids, humic acids and natural organic matter: comparison of aquatic and terrestrial source terms. **Organic Geochemistry**, v. 35, p. 243-256, 2004a.

ANDERSEN, C.M.; BRO, R. Practical aspects of PARAFAC modeling of fluorescence excitation-emission data. **Journal of Chemometrics**, v. 17, p. 200-215, 2003.

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

BAIRD, C.; CANN, M.; **Química ambiental**. 4ª edição. Artmed: Porto Alegre, 2011. 233 p.

BAKER, A.; TIPPING, E.; THACKER, S.A.; GONDAR, D. Relating dissolved organic matter fluorescence and functional properties. **Chemosphere** v. 73, p. 1765–1772, 2008.

BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; WATERS, A.G.; PENG, X.; VASSALO, A.M.; WILSON, M.A. Aspect of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. **Biogeochemistry**, v. 16, p. 1-42, 1992.

BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; WATERS, A.G.; PENG, X.; VASSALO, A.M.; WILSON, M.A. Aspect of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. **Biogeochemistry**, v. 16, p. 1-42, 1992.

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

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 2007. 189 p.

BATHISTA, A.L.B.S. **Princípios básicos de ressonância magnética nuclear do estado sólido**. São Carlos: Instituto de Física de São Carlos, 2005. 50 p.

BATJES, N.H.; DIJKSHOORN, J.A. Carbon and nitrogen stocks in the soils of Amazon Region. **Geoderma**, v. 89, p.273-286, 1999.

BAYER, J.C.; MIELNICZUCK, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. (Eds.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Ed. Metrópole, 2008. p. 1-5.

BERG, B.; LASKOWSKI, R. Advances in ecological research. **Litter decomposition: a guide to carbon and nutrient turnover**. Massachusetts: Elsevier, 2006. v. 38, p. 1-19.

BERNOUX, M.; CARVALHO, M.C.S.; VOLKOFF, B.; CERRI, C.C. Brazil's soil carbon stocks. **Soil Science Society of American Journal**, v. 66, p. 888–896, 2002.

BERNOUX, M.M.Y. **Conteúdo de carbono dos solos da Amazônia Ocidental e mudanças decorrentes da conversão da floresta em pastagens**. 1998. 98 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

BOOTH, B. B. B.; JONES, C. D.; COLLINS, M.; TOTTERDELL, I. J.; COX, P. M.; SITCH, S.; HUNTINGFORD, C.; BETTS, R. A.; HARRIS, G. R.; LLOYD, J. High sensitivity of future global warming to land carbon cycle processes. **Environmental Research Letters**, v. 7, p. 1–8, 2012.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. **The nature and properties of soils**. Pearson Education Inc.: Upper Saddle River, New Jersey, 975p, 2008.

BRASIL - Ministério da Ciência e Tecnologia. Coordenação Geral de Mudanças Globais do Clima. **Segunda Comunicação nacional do Brasil à convenção-quadro das Nações Unidas sobre mudança do clima**. Brasília. Ministério da Ciência e Tecnologia, 2010. 280p.

BRO, R. PARAFAC. Tutorial and applications. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.38, p. 149-171, 1997.

BROCK, F.; HIGHAM, T.; DITCHFIELD, P.; RAMSEY, C.B. Current pretreatment methods for AMS radiocarbon dating at the oxford radiocarbon accelerator unit (ORAU). **Radiocarbon**, v. 52, p. 102-112, 2010.

BROWN, I.F.; MARTINELLI, L.A.; THOMAS, W.W.; MOREIRA, M.Z.; FERREIRA, C.A.C.; VICTORIA, R.L. Uncertainty in the biomass of Amazonian forests: an example from Rondônia, Brasil. **Forest Ecology and Management**, v. 75, p.175-189, 1995.

BUENO, G.T. **Appauvrissement et podzolisation des latérites du bassin du Rio Negro et gèneses des Podzols dans le haut bassin amazonien**. 2009. 191 f. Tese (Doutorado em Geografia) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2009.

BURESH, R.J.; REDDY, K. R.; VAN KESSEL, C. Nitrogen transformations in submerged soils. In: SCHEPERS, J.S.; RAUN, W.R (Ed.). **Nitrogen in agricultural systems**. Madison: Soil Science Society of America, 2008. p. 401-436.

CALLÈDE, J.; COCHONNEAU, G.; ALVES, F.V.; GUYOT, J.-L.; GUIMARÃES, V.S.; DE OLIVEIRA, E.. The River Amazon water contribution to the Atlantic Ocean, **Journal of Water Science**, v. 23, p. 247–273, 2010.

CAMARGO, F.O., SANTOS, G. DE A., GUERRA, J. G. M. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese 1999. p. 27-39.

CAMPBELL, I.D.; DWEK, R.A. **Biological spectroscopy**. Menlo Park: Benjamin/Cumming, 1984. 404p.

CARVALHO, E.R.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P.; ROCHA, J.C.; ROSA, A.H. Interactions of chlorine with tropical aquatic fulvic acids and formation of intermediates observed by fluorescence spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 53, 2004. p. 421-426.

CARVALHO, J.L.N.; AVANZI, J.C.; CERRI, C.E.P.; CERRI, C.C. Adequação dos Sistemas de Produção Rumo à Sustentabilidade Ambiental. In: FALEIRO, F.G.; FARIAS NETO, A.L. (Ed.). **Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais**. Planaltina: Embrapa Cerrados; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 671-692.

CATROUX, G.; SCHINITZER, M. Chemical, spectroscopic, and biological characteristics of the organic matter in particle size fractions separated from an Aquoll. **Soil Science Society of America Journal**, v. 51, p. 1200-1207, 1987.

CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. Agricultura e aquecimento global. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 40-44, 2007.

CHEN, M.; PRICE, R.M.; YAMASHITA, Y.; JAFFÉ, R. Comparative study of dissolved organic matter from ground water and surface water in the Florida coastal Everglades using multi-dimensional spectrofluorometry combined with multi-variate statistics. **Applied Geochemistry**, v. 25, p. 872–880, 2010.

CHRISTENSEN, B. T. Matching measurable soil organic matter fractions with conceptual pools in simulation models of carbon turnover: revision of model structure. In: POWLSON, D. S.; SMITH, P.; SMITH, J. V. (Ed.). **Evaluation of soil organic matter models**. Berlin: Springer-Verlag, 1996a. p. 143-159.

CHRISTENSEN, B. T. Structure and organic matter storage in agricultural soils. In: CARTER, M. R.; STEWART, B. A. (Ed.). **Structure and organic matter storage in agricultural soils**. Advances in Soil Science, Boca Raton: CRC, 1996b. p. 97-165.

CHRISTENSEN, B. T. **Organic matter in soil: structure, function and turnover**. Tjele: DIAS, 2000. 95 p. (DIAS Report. Plant Production, 30).

COBLE, P.G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. **Marine Chemistry**, v.51, p. 325–346, 1996.

COBLE, P.G.; DEL CASTILLO, C.E.; AVRIL, B. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. **Deep Sea Research Part II**, v. 45, p. 2195– 2223, 1998.

CORAZZA E.J.; RESCK, D.V.S.; SILVA, J.E.; GOMES, A.C. Comportamento de diferentes sistemas de manejo como fonte de depósito de carbono à vegetação do cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 425-432, 1999.

CORY R.M.; MCKNIGHT D.M. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 8142–8149, 2005..

COX, P.M.; BETTS, R.A.; JONES, C.D.; SPALL, S.A.; TOTTERDELL, I.J. Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. **Nature**, v. 408, p. 184–187, 2000.

CRAMER, W.; BONDEAU, A.; SCHAPHOFF, S.; LUCHT, W.; SMITH, B.; SITCH, S. Tropical forests and the global carbon cycle: Impacts of atmospheric CO₂, climate change and rate of deforestation. **Philosophical Transactions Royal Society of London Series**, v. 359, p. 331-343, 2004.

CUNHA, T.J.F.; CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; RIBEIRO, L.P. Fracionamento da matéria orgânica humificada de solos brasileiros. In: CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A. (Ed.). **Humosfera**: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes: Ed. UENF, 2005. p. 54-80.

DAI, K.H.; JOHNSON, C.E.; DRISCOLL, C.T. Organic matter chemistry and dynamics in clear-cut and unmanaged hardwood forest ecosystems. **Biogeochemistry**, v. 54, p. 51–83, 2001.

DEGÓRSKI, M. **Spatial variability in podzolic soils of central and northern Europe**. Washington: Institute of Geography and Spatial Organization, Polish Academy of Sciences, 2007. 175p.

DENMAN, K. L.; BRASSEUR, G.; CHIDTHAISONG, A.; CIAIS, P.; COX, P. M.; DICKINSON, R. E.; HAUGLUSTAIN, D.; HEINZE, C.; HOLLAND, E.; JACOB, D.; LOHMANN, U.; RAMACHANDRAN, S.; DIAS, P.L.S.; WOFSEY, S. C.; ZHANG, X. Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry. **Intergovernmental Panel on Climate Change**, p. 499–587, 2007.

DICK, D. P.; NOVOTNY, E. H.; DIECKOW, J.; BAYER, C. Química da material orgânica do solo. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P.M. (Org.). **Química e mineralogia do solo: aplicações**. Viçosa: SBCS, 2009. v. 2, p. 2.

DUDAL, R., **Supplement to definitions of soil units for the soil map of the world**. Roma: World Soil Research, 1969. 12 p. (Report n. 37, FAO).

FARMER, V.C., RUSSEL, J.D., BERROW, M.L. Imogolite and proto-imogolite alophane in spodic horizons: evidence for a mobile aluminium silicate complex in podzol formation. **Journal of Soil Science**, v. 31, p. 673–784, 1980.

FARMER, V.C.; FRASER, A.R. Chemical and colloidal stability of sols in the $\text{Al}_2\text{O}_3\text{--Fe}_2\text{O}_3\text{--SiO}_2\text{--H}_2\text{O}$ system: their role in podzolisation. **Journal of Soil Science**, v. 33, p. 737–742, 1982.

FEARNSIDE, P. **A floresta amazônica nas mudanças globais**. Manaus: INPA, 2003. 134 p.

FELLER, C.; BERNOUX, M. Historical advances in the study of global terrestrial soil organic carbon sequestration. **Waste Management**, v. 28, p. 734-740, 2008.

FELLMAN, J.B.; HOOD, E.; D'AMORE, D.V.; EDWARDS, R.T.; WHITE, D. Seasonal changes in the chemical quality and biodegradability of dissolved organic matter exported from soils to streams in coastal temperate rainforest watersheds. **Biogeochemistry**, v. 95, p. 277–293, 2009.

FRITSCH, E.; BALAN, E.; NASCIMENTO, N.R.; ALLARD, T.; BARDY, M.; BUENO, G.T.; DERENNE, S.; MELFI, A.J.; CALAS, G. Deciphering the weathering processes using environmental mineralogy and geochemistry: Towards an integrated model of laterite and podzol genesis in the Upper Amazon Basin. **Comptes Rendus Geoscience**, v. 343, p. 188-198, 2011.

GLOOR, M.; BRIENEN, R.J.W.; GALBRAITH, D.; FELDPAUSCH, T. R.; SCHÖNGART, J.; GUYOT, J.-L.; ESPINOZA, J.C.; LLOYD, J.; PHILLIPS, O. L. Intensification of the Amazon hydrological cycle over the last two decades, **Geophysical Research Letters**, v. 40, p. 1-5, 2013.

GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; TORRADO, P. V.; COLNAGO, L. A.; MARTIN-NETO, L.; OTERO, X. L.; MILORI, D.M.B.P.; GOMES, F.H.. ^{13}C NMR and FTIR spectroscopy characterization of humic acids in spodosols under tropical rain forest in southeastern Brazil. **Geoderma**, v. 146, p. 425–433, 2008.

GOOD, P.; LOWE, J.; COLLINS, M.; MOUFOUMA-OKIA, W. An objective Tropical Atlantic SST gradient index for studies of South Amazon dry season climate variability and change. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 363, p. 1761–1766, 2008.

GOODMAN, B.A.; CHUDEK, P.L. Nuclear magnetic resonance spectroscopy. In: Wilson, M.J. (Ed.). **Clay mineralogy: spectroscopy and chemical determinative methods**. London: Chapman & Hall, 1994. p. 121-172.

GRESSEL, N.; MCCOLL, J.G.; PRESTON, C.M.; NEWMAN, R.H.; POWERS, R.F. Linkages between phosphorus transformations and carbon decomposition in a forest soil. **Biogeochemistry**, v. 33, p. 97–123, 1996.

GUERRA, J.G.M.; SANTOS, G.A. Métodos químicos e físicos. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Ed. Gênese, 1999. 49p.

GUGGENBERGER, G.; CHRISTENSEN, B.T.; ZECH, W. Land-use effects on the composition of organic matter in particle-size separates of soil: I. lignin and carbohydrate signature. **European Journal of Soil Science**, v. 45, p. 449-458, 1994.

GÜNTHER, H. **NMR spectroscopy: basic principles, concepts, and applications in chemistry**. 2^a ed. Chichester: John Wiley, 1995. 581p.

HAAG, H.P. **Ciclagem de nutrientes em florestas tropicais**. Campinas: Fundação Cargill, 1985. 144 p.

HATCHER, P.G.; SCHNITZER, M.; DENNIS, L.W.; MACIEL, G.E. Aromaticity of humic substances in soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 54, p. 448-452, 1981.

HATCHER, P.G.; SPIKER, E.C.; SZEVEHENYI, N.M.; MACIEL, G.E. Selective preservation of petroleum-forming aquatic kerogen. **Nature**, v. 305, p. 498– 501, 1983.

HE, Z.; OHNO, T.; CADE-MENUM, B.J.; ERICH M.S.; HONEYCUTT, C.W. Spectral and chemical characterization of phosphates associated with humic substances. **Soil Science Society of American Journal**, v. 70, p. 1741–1751, 2006.

HIRAYAMA, K. **Handbook of ultraviolet and visible absorption spectra of organic compounds**. New York: Plenum, 1967. 642 p.

HOLBROOK, R.D.; YEN, J.H.; GRIZZARD, T.J. Characterizing natural organic material from the Occoquan Watershed (Northern Virginia, US) using fluorescence spectroscopy and PARAFAC. **Science of the Total Environment**, v. 361, p. 249–66, 2006.

HOUGHTON, R.; SKOLE, D.; NOBRE, C. Annual fluxes of carbon from deforestation and regrowth in the Brazilian Amazon. **Nature** , v. 403, p. 301-304, 2000.

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

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. PACHAURI, R.K.; REISINGER, A. (Eds.). **Climate Change 2007**: synthesis report - contribution of Working Groups I,II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland, 2007. 104p.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate Change 2014**: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland, 2014. 138p.

JOOS, F.; SPAHNI, R. Rates of change in natural and anthropogenic radiative forcing over the past 20,000 years. **Proceedings of the National Academy of Sciences**,v. 105, p. 1425–1430, 2008.

JORDAN, C.F. **Nutrient cycling in tropical forest ecosystems**: principles and their Application in management and conservation. New York: John Wiley, 1985. 155p.

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

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

KARPACZEWSKI, A. **Zerkało landszafta**. Polska: Mysl Moskwa, 1983. 155 p.

KEELER, C.; KELLY, E. F.; MACIEL, G. E. Chemical–structural information from solid-state ¹³C NMR studies of a suite of humic materials from a lower montane forest soil, Colorado, USA. **Geoderma**, v. 130, p. 124–140, 2006.

KELLER, M.; PALACE, M.; HURTT, G. Biomass estimation in the Tapajos National Forest, Brazil: examination of sampling and allometric uncertainties. **Forest Ecology and Management**, v.154, p. 371-382, 2001.

KLEBER, M. What is recalcitrant soil organic matter? **Environmental Chemistry**, v. 7, p. 320–332, 2010.

KLINGE, H. Podzol soils in the Amazon basin. **Soil Science**, v. 16, p. 95–103, 1965.

KNOWLES, P.F.; MARSH, D.; RATTLE, H.W.E. **Magnetic resonance of biomolecules**. New York: John Wiley, 1976. 343p.

KOGEL-KNABNER, I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, p. 139-162, 2002.

KONONOVA, M.M. **Matéria orgânica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación**. Barcelona: Oikos-Tou, 1982. 365 p.

KOWALCZUK, P.; COOPER, W.J.; DURAKO M. J.; KAHN, A. E.; GONSIOR, M.; YOUNG, H. Characterization of dissolved organic matter fluorescence in the South Atlantic Bight with use of PARAFAC model: Relationships between fluorescence and its components, absorption coefficients and organic carbon concentrations. **Marine Chemistry**, v. 118, p. 22-36, 2010.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. 3rd ed. Hamburg: Springer-Verlag, 2006. 954p.

LAL, R. Carbon Sequestration. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 363, p. 815-830, 2008.

LAL, R. Sequestering Atmospheric Carbon Dioxide. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 28 p. 90–96, 2009.

LAL, R. Soil Carbon Sequestration in Latin America. In: LAL, R.; CERRI, C.C.; BERNOUX, M.; ETCHEVERS, J.; CERRI, E. (ed.). **Carbon Sequestration in Soils of Latin America**. New York: Haworth Press, 2006. p. 49-63.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. **Geoderma**, v. 123, p. 1-22. 2004.

LAL, R. World cropland soils as a source of sink for atmospheric carbon. **Advances in Agronomy**, v. 71, p. 145–191, 2001.

LASHOF, D. A.; LIPAR D. A. **Policy options for stabilizing global climate**. Draft report to congress. Washington: EPA, 1989. 221 p.

LE QUÉRÉ, C.; MORIARTY, R.; ANDREW, R. M.; PETERS, G. P.; CIAIS, P.; FRIEDLINGSTEIN, P.; JONES, S. D.; SITCH, S.; TANS, P.; ARNETH, A.; BODEN, T. A.; BOPP, L.; BOZEC, Y.; CANADELL, J. G.; CHEVALLIER, F.; COSCA, C. E.; HARRIS, I.; HOPPEMA, M.; HOUGHTON, R. A.; HOUSE, J. I.; JAIN, A.; JOHANNESSEN, T.; KATO, E.; KEELING, R. F.; KITIDIS, V.; KLEIN, K.; GOLDEWIJK, C.; KOVEN, C. S.; LANDA, P.; LANDSCHÜTZER, A.; LENTON, I. D.; LIMA, G.; MARLAND, J. T.; MATHIS, N.; METZL, Y.; NOJIRI, A.; OLSEN, T.; ONO, W.; PETERS, B.; PFEIL, B.; POULTER, M. R.; RAUPACH, P.; REGNIER, C.; RÖDENBECK, S.; SAITO, J. E.; SALISBURY, U.; SCHUSTER, J.; SCHWINGER, R.; SÉFÉRIAN, J.; SEGSCHNEIDER, T.; STEINHOFF, B. D.; STOCKER, A.; J. SUTTON, T.; TAKAHASHI, B.; TILBROOK, G. R.; VAN DER WERF, N.; VIOVY, Y.-P.; WANG, R.; WANNINKHOF, A.; WILTSHIRE, N.; ZENG, N. Global Carbon Budget. **Earth System Science Data**, v. 7, p. 521–610, 2014.

LE TREUT, H.; SOMERVILLE, R.; CUBASCH, U.; DING, Y.; MAURITZEN, C.; MOKSSIT, A.; PETERSON T.; PRATHER, M. Historical Overview of Climate Change. In: INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). **Climate change 2007: the physical science basis**. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge: Cambridge University, 2007. 127 p.

LEITE, L.F.C.; GALVÃO, S.R.S. Matéria orgânica do solo: funções interações e manejo em solo tropical. In: ARAÚJO, A.S.F.; LEITE, L.F.C.; NUNES, L.A.P.L.; CARNEIRO, R.F.V. (Ed.). **Matéria orgânica e organismos do solo**. Teresina: EDUFPI, 2008. 220 p.

LUCAS, Y.; NAHON, D.; CORNU, S.; EYROLLE, F. Genèse et fonctionnement des sols en milieu équatorial. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, Paris, Série II A, v. 322, p. 1–16, 1996.

LUCIANI X.; MOUNIER S.; PARAQUETTI, H.H.M; REDON R.; LUCAS Y.; BOIS A.; LACERDA, L.D.; RAYNAUD, M.; RIPERT, M. Tracing of dissolved organic matter from the SEPETIBA Bay (Brazil) by PARAFAC analysis of total luminescence matrices. **Marine Environmental Research**, v.65, p. 148–157, 2008.

LUNDSTRÖM, U. S. The role of organic acids in soil solution chemistry in a podzolized soil. **Journal of Soil Science**, v. 44, p. 121–133, 1993.

LUNDSTRÖM, U.S.; VAN BREEMEN, N.; BAIN, D. The podzolization process. A review. **Geoderma**, v. 94, p. 91–107, 2000.

MACCARTHY, P.E.; RICE, J.A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. In: AIKEN G.R.; MC KNIGHT D.M.; WERSHAW, R.L.; MACCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley, 1985. p. 527- 560.

MAIE, N.; YAMASHITA, Y.; CORY,R.M.; BOYER, J.N.; JAFFÉ, R. Application of excitation emission matrix fluorescence monitoring in the assessment of spatial and seasonal drivers of dissolved organic matter composition: sources and physical disturbance controls. **Applied Geochemistry**, v. 27, p. 917–929, 2012.

MALHI, Y.; WRIGHT, J. Spatial patterns and recent trends in the climate of tropical forest regions. **Philosophical Transactions Royal Society of London Series**, v. 359, p. 311-329, 2004.

MANZI, A.O. **Aquecimento global, Mudanças climáticas e o futuro da Amazônia. GEAA: Grupo de Estudos estratégicos Amazônicos/ Mudanças Climáticas; Água no mundo moderno; Biodiversidade Amazônica.** Manaus: INPA, 2008. 184 p.

MARENGO, J.A.; NOBRE, C.A. General characteristics and variability of climate in the amazon basin and its links to the global climate system. In: MCCLAIN, M. E.; VICTORIA, R.L.; RICHEY, J. E. **The biogeochemistry of the amazon basin.** Oxford: Oxford University, 2001. 365 p.

MATTHEWS, B.J.H.; JONES, A.C.; THEODOROU, N.K.; TUDHOPE, A.W. Excitation-emission-matrix fluorescence spectroscopy applied to humic acid bands in coral reefs. **Marine Chemistry**, v. 55, p. 317-332, 1996.

MC PHIE, P. Enzyme purification and related techniques: dialysis. In: JACOBY, W.B. (Ed.). **Methods and enzymology.** New York: Academic Press, 1971. v. 22, p. 25-175.

MCCLAIN, M. E.; VICTORIA, R.L.; RICHEY, J. E. **The biogeochemistry of the Amazon basin.** Oxford: Oxford University, 2001. p. 4-5.

MCCLAIN, M.E.; ELSENBEEER, H. Terrestrial Inputs to Amazon Streams and Internal Biogeochemical Processing. In: MCCLAIN, M.E.; VICTORIA, R.L.; RICHEY, J.E (Eds). **The biogeochemistry of the Amazon basin.** Oxford: Oxford University Press, 2001. 365 p.

MCKNIGHT, D.M.; BOYER, E.W.; WESTERHOFF, P.K.; DORAN, P.T.; KULBE, T.; ANDERSEN, D.T. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. **Limnology and Oceanography**, v. 46, p. 38-48, 2001.

MEEHL, G.A. Global Climate Projections. In: INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). **Climate Change 2007: the physical science basis.** Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge: Cambridge University, 2007, 127 p.

MELFI, A.J.; PATEL-SORRENTINO, N.; LUCAS, Y.; EYROLLE, F. Fe, Al and Si species and organic matter leached off a ferrallitic and podzolic soil system from Central Amazonia. **Geoderma**, v. 137, p. 444–454, 2007.

MIELNICZUK, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Eds.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 01-08.

MILORI, D.M.B.P.; GALETI, H.V.A.; MARTIN-NETO, L.; DIEKOW, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. Organic matter study of whole soil sample using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society of American Journal**, v. 70, p. 57-63, 2006.

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, p. 739– 749, 2002.

MOBED, J.J.; HEMMINGSEN, S.L.; AUTRY, J.L.; MACGOWN L.B. Fluorescence characterization of IHSS humic substances: total luminescence spectra with absorbance correction. **Environmental Science and Technology**, v. 30, p. 3061–3065, 1996.

MONTES, C.R.; LUCAS, Y.; MELFI, A J.; ISHIDA, D.A. Systèmes sols ferrallitiques podzols et genèse des kaolins. **Comptes Rendus Geoscience**, v. 339, p. 50-56, 2007.

MONTES, C.R.; LUCAS, Y.; PEREIRA, O.J.R.; ACHARD, R.; GRIMALDI, M.; MELFI, A J. Deep plant-derived carbon storage in Amazonian podzols. **Biogeosciences**, v. 8, p. 113-120, 2011.

MOURA, J.A. **Dinâmica da matéria orgânica em solo tratado com resíduos orgânicos nos tabuleiros costeiros do estado de Sergipe**. 2013. 104 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2013.

MULLER, M.; MILORI, D.M.B.P.; DÉLÉRIS, S.C.; STEYER, J.P.; DUDAL, Y. Solid-phase fluorescence spectroscopy to characterize organic wastes. **Waste Management**, v. 31, p. 1916–1923, 2011.

MURPHY, K.R.; RUIZ, G.M.; DUNSMUIR, W.T.M.; WAITE, T.D. Optimized parameters for fluorescence-based verification of ballast water exchange by ships. **Environmental Science and Technology**, v. 40, p. 2357–2362, 2006.

MURPHY, K.R.; STEDMON, C.A.; WAITE, T.D.; RUIZ, G.M. Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 108, p. 40–58, 2008.

MURPHY, K.R.; STEDMON, C.A.; WAITE, T.D.; RUIZ, G.M. Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 108, p. 40–58, 2008.

MUSSURY, R.M.; SCALON, S.P.Q.; DA SILVA, S.V.; SOLIGO, V.R. Study of acari and collembolan populations in four cultivation systems in Dourados-MS. Braz. **Archives of Biology and Technology**, v. 45, p. 257-264, 2002.

NAIME, J.M.; VAZ, C.M.P.; MACEDO, A. Automated soil particle size analyzer based on gamma-ray attenuation. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 31, n. 3, p. 295-304, 2001.

NARIMOTO, K.M. **Técnicas espectroscópicas aplicadas à análise da matéria orgânica do solo em pomares de citros sob adição de lodo de esgoto**. 2006. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

NASCIMENTO, N.R.; BUENO, G.T.; FRITSCH, E.; HERBILLON, A.J.; ALLARD, T.; MELFI, A.J.; ASTOLFO, R.; BOUCHER, H.; LI, Y. Podzolization as a deferralization process: a study of an Acrisol-Podzol sequence derived from Palaeozoic sandstones in the northern upper Amazon Basin. **European Journal of Soil Science**, v. 55, p. 523-538, 2004.

NGUYEN, M.L.; WESTERHOFF, P.E.; BAKER, L.; HU, Q.; ESPARZA-SOTO, M.; SOMMERFELD, M. Characteristics and reactivity of algae-produced dissolved organic carbon. **Journal of Environmental Engineering**, v.131, p. 1574–1582, 2005.

NOBRE, A. D. As florestas crescem onde chove, ou chove onde crescem florestas? In: Instituto Sócio Ambiental (Org.). **Almanaque Brasil socioambiental**. São Paulo: ISA, 2007. p. 368-369.

NORDEN, B.; BERG, B. A non-destructive method (solid state ^{13}C NMR) for determining organic chemical components of decomposing litter. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, p. 271–275, 1990.

NOVOTNY, E.H.; KNICKER, H.; COLNAGO, L. A.; MARTIN-NETO, L. Effect of residual vanadyl on the spectroscopic analysis of humic acids. **Organic Geochemistry**, v. 37, p. 1562–1572, 2006.

OHNO, T.; BRO, R. Dissolved organic matter characterization using multiway spectral decomposition of fluorescence landscapes. **Soil Science Society of America Journal**, v. 70, p. 2028–2037, 2006.

OLIVEIRA, J.C.M.; VAZ, C.M.P.; REICHARDT, K.; SWARTZENDRUBER, D. Improved soil particle-size analysis through gamma-ray attenuation. **Soil Science Society of America Journal**, v.60, n.7, p. 23-26, 1997.

OLK, D.C. Improved analytical techniques for carbohydrates, amino compounds, and phenols: tools for understanding soil processes. **Soil Science Society of American Journal**, v.72, n. 6, p. 1672-1682, 2008.

OLK, D.C.; BRUNETTI, G.; SENESI, N. Decrease in humification of organic matter with intensified lowland rice cropping a wet chemical and spectroscopic investigation. **Soil Science Society of American Journal**, v. 64, p. 1337–1347, 2000.

PAGANO, T.; ROSS, A. D.; CHIARELLI, J.; KENNY, J. E. Multidimensional fluorescence studies of the phenolic content of dissolved organic carbon in humic substances. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, p. 937-943, 2012.

PARIKH, S.J.; MARGENOT, A.J.; MUKOME, F.N.D.; CALDERON, F.; GOYNE, K.W. Soil chemical insights provided through vibrational spectroscopy. In: SPARKS, D.L. (Ed.), **Advances in agronomy**. San Diego: Academic Press, 2014. p. 1-148.

PARLANTI, E.; MORIN, B.; VACHER, L. Combined 3D spectrofluorimetry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the characterization of dissolved organic matter in natural waters. **Organic Geochemistry**. v. 33, p. 221–236, 2002.

PARLANTI, E.; WORZ, K.; GEOFFROY, L.; LAMOTTE, M. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. **Organic Geochemistry**, v. 31, p. 1765–1781, 2000.

PEREIRA, O. J. R.; MONTES, C.R. **Mapa de solos da região do Rio Marié** - São Gabriel da Cachoeira - AM. Piracicaba: USP/CENA/NUPEGEL, 2014. Escala 1:25.000.

PIGATIN, L.B.F. **Compostos orgânicos de origem agroindustrial e urbana aplicados à produção vegetal e fertilidade do solo**. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Química Analítica), Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

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

RAHMAN, A.; CHOUDHARY, M.I. **Solving problems with NMR spectroscopy**. London: Academic Press, 1996. 430p.

RANULFI, A.C. **Utilização de técnicas espectroscópicas no estudo e caracterização de doenças em citros: HLB (greening) e cancro cítrico**. 2015. 137f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Física Aplicada), Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

ROBERTSON, G.P.; GROFFMAN, P.M. Nitrogen transformation. In: PAUL, E.A. **Soil microbiology, biochemistry and ecology**. New York: Springer, 2007. p. 341-364.

ROSCOE, R.; MACHADO, P.L.O.A. **Fracionamento físico do solo em estudos da matéria orgânica**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. 86p.

RUMPEL, C.; EUSTERHUES, K.; KÖGEL-KNABNER, I. Location and chemical composition of stabilized organic carbon in topsoil and subsoil horizons of two acid forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p. 177–190, 2004.

RYAN, M.G.; LAW, B. E. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. **Biogeochemistry**, v. 73, p. 3-27, 2005.

SAHRAWAT, K.L. Organic matter accumulation in submerged soils. **Advances in Agronomy**, v. 81, p. 169-201, 2003.

SANTÍN, C.; YAMASHITA, Y.; OTERO, X.L.; ÁLVAREZ, M.Á.; JAFFÉ, R. Characterizing humic substances from estuarine soils and sediments by excitation–emission matrix spectroscopy and parallel factor analysis. **Biogeochemistry**, v. 96, p. 131–147, 2009.

SANTOS, C.H. **Estudo da Matéria Orgânica e composição elementar de solos arenosos de regiões próximas a São Gabriel da Cachoeira no Amazonas**. 2014. 173f. Tese de doutorado. Programa de pós graduação em Química Analítica. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

SAUER, D.; SPONAGEL, H.; SOMMER, M.; GIANI, L.; JAHN, R.; STAHR, K. Podzol: Soil of the Year 2007. A review on its genesis, occurrence, and functions. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 170, p. 581–597, 2007.

SCHAHCZENSKI, J.; HILL, H. **Agriculture, climate change and carbon sequestration**. Butte: ATTRA, 2009. 16 p. (Boletim de Pesquisa).

SCHNEIDER, P.; SPERA, S.T. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: EMBRAPA-SPI, 2009. p. 43.

SCHNITZER, M. Soil organic matter-the next 75 years. **Soil Science**, v. 151, p. 41-58, 1991.

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

SCHULZE, E. D.; FREIBAUER, A. Changes in climate and land use are implicated as the main factors in the large-scale loss of carbon from soils in England and Wales over the past 25 years. **Nature**, v. 437, p. 205-206, 2005.

SENESI, N.; D’ORAZIO, V.; RICCA, G. Humic acids in the first generation of EUROSOILS. **Geoderma**, v. 116, p. 325–344, 2003.

SENESI, N.; LOFFREDO, E. The chemistry of soil organic matter. In: SPARKS, D. L. (Ed.) **Soil physical chemistry**. Boca Raton: CRC, 1999. p. 242-370.

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

SHATRUGHAN, S.; EURICO, J.; ERICK, M. S. Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) variability in Barataria Basin using excitation–emission matrix (EEM) fluorescence

and parallel factor analysis (PARAFAC). **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 3211–3222, 2010.

SIERRA, M.M.D.; GIOVANELA, M.; PARLANTI, E.; SORIANO-SIERRA, E.J. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. **Chemosphere**, v. 58, p. 715–733, 2005.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X., KIEMLE, D.J. **Spectrometric identification of organic compounds**. New York: John Wiley, 2005. 502 p.

SINGH, S.; D'SA E. J.; SWENSON, E. M. Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) variability in Barataria Basin using excitation–emission matrix (EEM) fluorescence and parallel factor analysis (PARAFAC). **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 3211–3222, 2010.

SKJEMSTAD, J.O.; WATERS, A.G.; HANNA, J.V.; OADES, J.M. Genesis of podzols on coastal dunes in southern Queensland. IV. Nature of the organic fraction as seen by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Australian Journal of Soil Research**, v. 30, p. 667–681, 1992.

SOIL SURVEY STAFF. **Soil taxonomy, a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys**. Washington: Soil Conservation Service, 1975. 754 p. (Agricultural Handbook, 436).

SOMBROEK, W.G. Amazon landforms and soils in relation to biological diversity. In: ANNUAL Report 1990. Wageningen: international soil reference and information center, 1990. p. 7–25.

SOMMER, M.; HALM, D.; GEISINGER, C.; ANDRUSCHKEWITSCH, I.; ZAREI, M.; STAHR, K. Lateral podzolization in a sandstone catchment. **Geoderma**, v. 103, p. 231–247, 2001.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. 2 ed. Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 79.

STEDMON, C.A.; BRO, R. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. **Limnology and Oceanography**, v.6, 572–579, 2008.

STEDMON, C.A.; MARKAGER, S.; BRO, R. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 82, p. 239–254, 2003.

STEDMON, C.A.; MARKAGER, S.; Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. **Limnology and Oceanography**, v. 50, p. 686–97, 2005.

STEVENSON, F.J. **Humus chemistry**: genesis, composition, reactions. 2 ed. New York: John Wiley, 1994. 496 p.

STEVENSON, F.J., GOH, K.M. Infrared spectra of humic acids and related substances. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 35, p. 471-485, 1971.

STUART, B. **Modern infrared spectroscopy**: Analytical chemistry by open learning. New York: John Willey, 1996. 179 p.

SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D.L. (Ed.) **Methods of soil analysis**: chemical methods. Wisconsin: Soil Science Society of America, 1996. Cap. 35, pte 3, p. 1018-1020.

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

TAYLOR, R. M. Proposed mechanism for the formation of soluble Si-Al and Fe(III)-Al hydroxy complexes in soils. **Geoderma**, v. 42, p. 65–77, 1988.

TREVISAN, M.G. **Aplicação de métodos quimiométricos de ordem superior e fluorescência molecular na análise em matrizes biológicas**. 2003. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

UGOLINI, F.C.; DAHLGREN, R. The mechanism of podzolisation as revealed by soil solution studies. In: RIGHI, D., CHAUVEL, A. (Eds.), **Podzols et podzolisation**. AFES-INRA, 1987. p. 195–203.

UNGER, I.M.; A.C., KENNEDY; MUZIKA, R. Flooding effects on soil microbial communities. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 1–8, 2009.

USSIRI, D.A.N.; JOHNSON, C.E. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ^{13}C NMR spectroscopy and chemical methods. **Geoderma**, v. 111, p. 123–149, 2003.

VALEUR, B. **Molecular Fluorescence: principles and applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2002, 381p.

VAN HEES, P.A.W.; LUNDSTROM, U.S. Equilibrium models of aluminium and iron complexation with different organic acids in soil solution. **Geoderma**, v. 94, p. 201–221, 2000.

VAZ, C.M.P.; NAIME, J.M.; MACEDO, A. Soil particle determined by gamma-ray attenuation. **Soil Science**, v. 164, n. 6, p. 403-410, 1999.

VAZ, C.M.P.; NAIME, J.M.; MACEDO, A. Soil particle size fractions determined by gamma-ray attenuation. **Soil Science**, v. 164, n. 6, p. 403-410, 1999.

VAZ, C.M.P.; OLIVEIRA, J.C.; REICHARDT, K.; CRESTANA, S.; CRUVINEL, P.E.; BACCHI, O.O.S. Soil mechanical analysis through gamma ray attenuation. **Soil Technology**, v.5, p.319-325, 1992.

WALKER, S. A.; AMON, R. M. W.; STEDMON, C.; DUAN, S. W.; LOUCHOUARN, P. The use of PARAFAC modeling to trace terrestrial dissolved organic matter and fingerprint water masses in coastal Canadian Arctic surface waters. **Journal of Geophysical Research**, v. 114, p. G00F06, 2009.

WILSON, M.A.; HENG, S.; GOH, K.H.; PUGMIRE, R.J.; GRANT, D.M. Studies of litter and acid-insoluble soil organic matter fractions using ^{13}C cross-polarization nuclear magnetic resonance spectroscopy with magic angle spinning. **Journal of Soil Science**, v. 34, p. 83– 97, 1983.

WOLF, B.; SNYDER, G.H. **Sustainable soils. The place of organic matter in sustaining soils and their productivity**. New York: Ed. Food Products Press, 2003, 352p.

WORKMAN, J. Practical guide for evaluating ultraviolet spectra. In: **THE HANDBOOK of organic compounds**. Waltham, MA: Argose Incorporated, 2000. Cap. 8. p. 65-67.

WORLD REFERENCE BASE FOR SOIL RESOURCES (WRB). **World Soil Resources Reports**, v. 84, Rome: FAO, ISRIC and ISSS, 1998. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/w8594e/w8594e00.HTM>>. Acesso em: 21 maio 2015.

YAMASHITA, Y.; BOYER, J.N.; JAFFÉ, R. Evaluating the distribution of terrestrial dissolved organic matter in a complex coastal ecosystem using fluorescence spectroscopy. **Continental Shelf Research**, v. 66, p. 136-144, 2013.

YAMASHITA, Y.; JAFFÉ, R.; MAIE, N.; TANOUE, E. Assessing the dynamics of dissolved organic matter (DOM) in coastal environments by excitation emission matrix fluorescence and parallel factor analysis (EEM-PARAFAC). **Limnology and Oceanography**, v. 53, p. 1900-1908, 2008.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T.M. MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v. 79, p. 117-161, 1997.

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

Apêndice

Apêndice 1 – Resultados de porcentagem de Carbono do solo intacto, para todas as amostras coletadas.

1W	1W	2W	2W	3W	3W	4W	4W	5W
Prof (cm)	% C	Prof (cm)	% C	Prof (cm)	% C	Prof (cm)	% C	Prof (cm)
0	2,815	0	17,04	0	24,555	0	7,91	0
10	0,18	15	3,045	20	5,855	25	0,84	15
40	0,025	20	1,395	35	0,575	40	0,34	25
70	0,055	50	0,15	50	0,27	60	0,325	60
		90	2,24	80	0,28	90	0,19	85
		120	2,425	110	0,585	140	2,59	95
		135	4,18	160	0,67	155	2,04	100
		145	4,18	200	0,66	170	3,265	110
		150	3,18	240	0,8	185	3,17	115
		160	2,43	280	0,925	195	2,01	135
		170	0,82	320	1,03	210	1,3	150
		175	0,56	340	1,18	230	2,1	170
		210	0,77	360	0,945	250	2,75	190
		225	0,835	390	0,865	280	2,115	225
		245	8,24	420	0,705	300	1,595	250
		250	3,58	440	0,72	330	0,775	275
		270	0,85	470	0,65	380	0,76	330
		280	1,55	485	0,635	400	0,545	340
		300	1,26			410	0,49	
		320	1,18			430	0,53	
		350	1,18			450	0,61	
		370	1,465					
		395	1,085					
		420	0,72					
		500	0,55					
5W	6W	6W	7W	7W	8W	8W	9W	9W
% C	Prof (cm)	% C	Prof (cm)	% C	Prof (cm)	% C	Prof (cm)	% C
4,625	0	10,105	0	10,445	0	15,775	0	5,18
3,62	10	2,07	10	2,335	10	2,255	20	0,43
0,155	40	0,2	35	0,475	20	0,385	50	0,075
0,07	70	0,135	70	0,155	50	1,525	75	2,745
0,64	110	0,33	85	2,795	80	2,43	100	4,07
2,41	120	1,785	95	2,875	100	1,01	115	3,23
4,03	140	2,31	115	1,66	140	0,475	120	2,28
1,27	155	5,62	145	0,335			135	1,775
1,11	180	2,88					150	0,855
1,225	200	2,22					170	0,45
0,795	245	1,31					200	0,23
0,345	270	0,27					280	0,235
0,455								
0,325								
0,5								
0,57								
0,26								
0,17								

Anexo 2 – Mapa dos diferentes tipos de solo da região próxima aos pontos de coleta.

Anexo 3 – Mineralogia dos perfis selecionados para extração das SH.

P4	Mineral	P5	Mineral
0-25	Quartzo	0-15	Quartzo
25-40	Quartzo	15-25	Quartzo
40-60	Quartzo	25-60	Quartzo
60-90	Quartzo	60-85	Quartzo
90-140	Quartzo	85-95	Quartzo
140-155	Quartzo	95-100	Quartzo
155-170	Quartzo	100-105	Quartzo - Caulinita - Gibbsita
170-185	Quartzo	105-110	N/A
185-195	Quartzo	110-115	Quartzo - Caulinita - Gibbsita
195-210	Quartzo	115-135	Quartzo - Caulinita - Gibbsita
210-230	Quartzo	135-150	Quartzo - Caulinita - Gibbsita
230-250	Quartzo	150-170	Quartzo - Caulinita - Gibbsita
250-280	Quartzo	170-190	Quartzo - Caulinita - Gibbsita
280-300	Quartzo	190-225	Quartzo - Caulinita
300-330	Quartzo	225-250	Quartzo - Caulinita
330-380	Quartzo - Caulinita?	250-275	Quartzo - Caulinita
380-400	Quartzo	275-330	Quartzo - Caulinita
400-410	Quartzo - Caulinita?	330-340	Quartzo - Caulinita
410-430	Quartzo	340-380	Quartzo - Caulinita
430-450	Quartzo	-	-
450-490	Quartzo - Caulinita?	-	-