



## **HCA e PCA de espectros IV-TF e UV-Vis de ácidos húmicos de Terra Preta de Índio<sup>1</sup>**

João Vitor Silva de Loureiro<sup>2</sup>, Erasmo Sérgio Ferreira Pessoa Junior<sup>3</sup>, Ivoneide de Carvalho Lopes Barros<sup>4</sup>, Genilson Pereira Santana<sup>5,\*</sup>

*Submetido 20/08/2015 – Aceito 14/03/2015 – Publicado on-line 01/05/2016*

### **Resumo**

Os solos de Terra Preta de Índio (TPI) são considerados férteis devido as elevadas quantidades de substâncias húmicas, proveniente da decomposição de restos de alimentos descartados por povos antigos da região Amazônica. Os ácidos húmicos (AH) são os componentes majoritários das substâncias húmicas, e responsáveis pela manutenção da fertilidade da TPI. A análise exploratória de espectros de substâncias químicas tem se tornado ferramenta importante no processo de classificação de diversos produtos, tais como, biodiesel e vinhos. Entretanto, não foram encontrados registros na literatura que utilizassem os espectros de AH de solos antrópicos ou similares, obtidos por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), para classificar à similaridade entre sítios de TPI. Nesse sentido, foi proposto o uso da análise exploratória, baseada na análise hierárquica (HCA) e dos componentes principais (PCA) de espectros de FT-IR de AH, obtidos de oito sítios de TPI do baixo e médio Amazonas. A extração e purificação do AH, de amostras de solo de granulometria < 2,0 mm, foi realizada segundo a Internacional Humic Substances Society. A sua caracterização foi realizada por FT-IR, na faixa de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, com resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup>. A análises de HCA e PCA foram realizadas no software estatístico R, pacote ChemoSpec. Neste estudo foi possível mostrar que é plausível distinguir os sítios de TPI em termos de diferenças da estrutura química dos AH. Outro aspecto interessante obtido dos espectros de FT-IR é que os grupamentos C=O e OH são as funções que diferenciam as substâncias AH.

**Palavra-Chaves:** Software R, Pacote ChemoSpec, Amazonas

**HCA and PCA SPECTRA FT-IR and UV-VIS ACIDS HUMIC archaeological black earth.** The Indian Black Earth soils (IBE) are considered fertile due to high amounts of humic substances from the decomposition of food scraps discarded by ancient peoples of the Amazon region. Humic acids (HA) are the major components of humic substances, and responsible for maintaining the fertility of the IBE. Exploratory analysis of chemical spectra has become an important tool in the classification process of various products such as biodiesel and wines. However, no reports in the literature have been found describing the use of HA spectra anthropogenic soils or the like, obtained by infrared spectroscopy Fourier transform (FT-IR), to classify the similarity between IBE sites. It was proposed the use of exploratory analysis based on hierarchical analysis (HCA) and principal components (PCA) FT- IR spectra of HA obtained from eight low IBE sites and middle Amazon. The extraction and purification of the HA, particle size soil samples <2.0 mm, was performed according to the International Humic Substances Society. Its characterization was carried out by FT-IR, in the range 4000-400 cm<sup>-1</sup>, with a spectral resolution of 4 cm<sup>-1</sup>. The analysis of HCA and PCA were performed in statistical software R, ChemoSpec package. In this study, we show that it is reasonable to distinguish the IBE sites in

<sup>1</sup> Parte do trabalho de dissertação do Primeiro autor no Curso de Pós-graduação em Química da UFAM.

<sup>2</sup> Mestre em Química pela UFAM,

<sup>3</sup> Aluno de doutorado do Curso de Pós-graduação em Química / UFAM

<sup>4</sup> Professora adjunto da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, R. Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, 52171-900, Recife-PE, Brasil. Email iclbarros@gmail.com

<sup>5</sup> Professor Associado do Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas ICE, Av. Gal. Rodrigo Octávio, 3.000, Coroado II, Manaus, Amazonas. Autor correspondência: e-mail: gsantana2005@gmail.com.



terms of differences in chemical structure of the AH. Another interesting aspect of the obtained FT-IR spectra is that the groups C = O and OH are the functions that differentiate AH substances.

**Key-word:** Software R, Package ChemoSpec, Amazon

## 1. Introdução

As substâncias húmicas (SH) são consideradas os ligantes naturais mais amplamente distribuídos na natureza. A sua presença ocorre desde a mais simples classe de solo até mesmo no continente Antártico (SPARKS, 2003). As SH podem ser classificadas em ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e humina, sendo AF e AH, os componentes mais ativos das SH, além de serem considerados os mais importantes. Isto porque melhoram a estrutura de solos; auxiliam a transferência de micronutrientes do solo para plantas; aumentam a retenção de água, as taxas de germinação, além de estimularem o desenvolvimento da microflora do solo (SOUZA; SANTANA, 2014).

Os AH e AF são diferenciados de acordo com a solubilidade em meio básico e ácido. Ou seja, AH são solúveis em meio básico e insolúveis em meio ácido, enquanto AF são solúveis em meio ácido e básico. Essa diferenciação operacional gera muitas dúvidas na literatura sobre a verdadeira estrutura de AH e AF (SUTTON; SPOSITO, 2005). Nesse sentido, a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e a espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-VIS) se destacam como técnicas físicas relevantes bastante utilizadas para a identificação dos grupos funcionais presentes em AH e AF. Essas técnicas permitiram um consenso sobre as estruturas de AH e AF, no que diz respeito à presença de grupos alcoólicos, fenólicos, amins e amidas (HE; SHI; LIN, 2008).

Na prática, FTIR e UV-VIS são utilizados qualitativamente na identificação da presença de grupamentos orgânicos nas estruturas de AH e AF. A distinção estrutural de determinado AH ou AF ainda não foi usada para diferenciar um tipo de AH ou AF de outro. Por exemplo, uma questão que intriga os cientistas, é o processo de formação das TPI. Esses Antroposol estão distribuídos por toda a bacia Amazônica,

devido ao processo de ocupação de antigos povos da região (LIMA et al., 2002; SCHMIDT et al., 2014).

A teoria mais aceita atualmente é que o processo de formação da TPI se deve à deposição de restos de alimentos e cerâmicas produzidos por esses povos antigos. Como resultado dessa deposição ocorreu um processo de humificação cujo resultado foi a formação de Antrosol ricos em matéria orgânica, potássio e fósforo. Por se tratar de povos nômades, acredita-se que os fragmentos de TPI deixados pelos povos antigos passaram por intervalos diferentes de formação do solo (LATHRAP, 1970; MASLIN; BURNS, 2000; GERMAN, 2003; PESSOA JUNIOR et al., 2012)

Por causa dessa característica, espera-se que os AH, por exemplo, tenham estruturas químicas diferentes. Entretanto, esse aspecto não pode ser observado somente usando análise qualitativa. Por outro lado, a análise exploratória dos espectros de FT-IR e UV-VIS poderia fornecer informações importantes. Dentre as questões que a poderiam ser respondidas seria está a classificações das TPI de acordo com segundo suas similaridades. Nesse contexto, foi proposto um estudo baseado na Análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamentos (HCA) dos espectros de AH com a finalidade de proporcionar responder a hipótese da similaridade entre os sítios de TPI (HOPKE, 2003; GELADI, 2003; MUTIHAC; MUTIHAC, 2008; MECOZZI et al., 2015).

O uso de HCA e PCA em análises de espectros de FT-IR UV-VIS é utilizado geralmente para verificar a classificação de diversas situações. Por exemplo, o estudo de perfil como fonte de informação. Podem ser citados a classificação de vinhos (SAURINA, 2010); na seleção de grão de qualidade de café (PAULA; FRANCA; OLIVEIRA, 2012); na análise forense para a classificação de pinturas (MUEHLETHALER; MASSONNET;

ESSEIVA, 2011) e cocaína (ORTIZ, 2015), aplicações farmacêuticas (ROGGO et al., 2007), entre outras.

No presente estudo, oito sítios de TPI da região amazônica tiveram os espectros FTIR e UV-VIS de AH submetidos à análise exploratória usando o software R para obtenção HCA e PCA. A hipótese aplicada ao estudo foi agrupar os AH segundo os sítios de TPI onde foram coletados.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Local de coleta



Figura 1 - Localização dos pontos de coletas de TPI. Fonte: Google Earth

### 4.2. Amostragem

As amostras de solo foram coletadas entre os meses de julho e setembro do ano de 2010. A coleta foi feita em ziguezague, sendo retiradas 15 amostras simples na profundidade de 0-20 cm com auxílio de uma pá, em uma área de aproximadamente 1 ha. As amostras de cada ponto de coleta foram retiradas desprezando as bordas da fatia; sendo transferidas para um balde de polietileno limpo, e secas ao ar por uma semana a temperatura ambiente no Laboratório. Ficando então, desagregadas manualmente com auxílio de um rolo de madeira e peneiradas em malha 2,0 mm. As frações maiores que 2,0 mm foram descartadas e as menores utilizadas para a extração de AH.

A amostragem de TPI foi realizada na região do médio e baixo Amazonas - AM (Figura 1). Os sítios selecionados estão localizados nos municípios de Barreirinha, Itacoatiara, Manaus e Parintins. Na Tabela 1 estão listadas a localização e descrição dos sítios de TP amostrados. A grande maioria dos sítios de TP encontram-se em terra firme, sendo usadas na agricultura (Tpa e Tpi), pastagem (Tpp e Tpm), ocupação urbana (Tpl) e preservados (Tph, Tpg e Tpnc).

### 4.4. Extração e Purificação dos AH

A extração e purificação dos ácidos húmicos foi realizada conforme descrito pela *Internacional Humic Substances Society* (IHSS), que é um método aceito pela comunidade científica. Inicialmente, as raízes foram removidas das amostras de solo seco antes de serem peneiradas em malha de 2,0 mm.

Cerca de 20 g de solo peneirado foi misturado com 200 mL de HCl (10:1), sendo em seguida agitada por uma hora em mesa agitadora. Após separar a parte sólida por centrifugação a 1000 rpm durante uma hora, foi adicionado ao resíduo, NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> até o valor de pH aproximado de 7,0, sendo então agitada novamente em mesa agitadora por 4 h, sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Neste ponto, o AH foi obtido pela precipitação com HCl a 6 mol L<sup>-1</sup> e pH em torno de 1,0.

Para a purificação do AH, o resíduo foi separado por centrifugação a 5000 rpm, seguida de lavagem com água deionizada. Ao resíduo tratado foi adicionado 15 mL de HCl (0,1 mol L<sup>-1</sup>)/HF (0,3 mol L<sup>-1</sup>) em um

recipiente de plástico submetido à agitação por 12 horas em mesa agitadora. Depois de centrifugado o resíduo foi lavado com água até que não fosse observada a formação de AgCl, em teste com solução de AgNO<sub>3</sub>

Tabela 1 - Localização e descrição das características dos sítios de TPI

Município	Sítio	Sigla	Coordenadas Geográficas		Área (ha)	Perfil (cm)	Localização
			S	O			
Manaus	Nova Cidade	Tpnc	02°59'34.24"	59°58'48.60"	1,0	30	Terra firme
	São José do Amatarí	Tpa	03°16'15.32"	58°53'16.79"	2,0	100	Terra firme
Itacoatiara	São Pedro de Iracema	Tpi	03°18'56.11"	58°48'57.45"	1,0	40	Várzea
	Terra Preta do Limão	Tpl	02°47'40.61"	57°10'09.80"	4,0	130	Terra firme
Parintins	Hospital Jofre Cohem	Tph	02°37'14.94"	56°43'36.57"	1,0	40	Terra firme
	Parananema	Tpp	02°40'29.66"	56°46'57.73"	1,5	40	Terra firme
	Gregoste	Tpg	02°59'14.09"	56°49'01.12"	1,0	20	Terra firme
	Marajó	Tpm	02°54'16.73"	56°47'37.13"	4,0	80	Terra firme

#### 4.5. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

As amostras de AH foram caracterizadas por FT-IR. As amostras de ácidos húmicos foram caracterizadas sob a forma de discos prensados com KBr. Os discos foram preparados pela mistura pulverizada em gral de ágata, com cerca de 1,0 mg de amostra com 100,0 mg de KBr. Os espectros foram obtidos em um aparelho Perkin Elmer FTIR Spectrum 2000. Em média foram efetuadas 20 varreduras na faixa de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, com resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup>.

#### 4.7. Análises exploratória dos dados

A análise de PCA e HCA foram realizadas no R, um software estatístico de domínio público bastante utilizado. A principal característica desse software é o grande número de pacotes, existentes para todas as áreas. No caso específico do PCA e HCA foi utilizado o pacote do R, ChemoSpec. Esse

pacote foi elaborado para analisar espectros de UV-Vis, RMN, IR, cromatogramas, etc.). A sua abordagem é inteiramente exploratória e não supervisionada.

Antes das análises de HCA e PCA, os espectros foram normalizados para reduzir as diferenças existentes nos dados de cada espectro. No ChemoSpec a normalização espectral é realizada pela divisão de cada frequência pela soma de todos os pontos contidos no espectro. Outro pré-processamento realizado foi o "binning" ou "bucketing", em que grupos de frequências foram recolhidos em um valor de frequência, e as intensidades correspondentes somadas. Dessa forma, os dados foram compactados e os picos mais estreitos compensados em cada espectro. Depois do pré-processamento foram obtidos os dendrogramas dos espectros normalizados e os seguintes gráficos: PC-loading, distância ortogonal, possível

outliers, autovalor, Scores, variância explicada, loading em termos de espectros, PC1 versus PC2 e covariância versus correlação.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 mostra os espectros de FT-IR do AH. As principais características são bandas de absorção nas regiões 3700, 3650, 3620, 1098, 1035, 1009, 938, 914, 792, 747, 690, 540, 470 e 432  $\text{cm}^{-1}$ . De modo geral os AH das TPI apresentaram bandas típicas daquelas encontradas para ácidos húmicos da região Amazônica, conforme mostrado na Tabela 2 (WESTIN et al., 1968; MAFRA et al., 2007; FREITAS; SANTANA, 2010). Embora tenham sido observadas bandas de absorção típicas dos AH, estas possuem intensidades que variam conforme o local amostrado. Outro aspecto observado nos espectros de FT-IR, é a existência de deslocamentos de algumas bandas associadas principalmente, aos grupamentos O-H. Essa característica pode indicar que os AH de TPI apresentam graus de humificação diferentes e quantidades de hidrocarbonetos diferenciadas

(TIMOFEEVNA SHIRSHOVA; GHABBOUR; DAVIES, 2006; SMIDT; MEISSL, 2007).

Essa afirmação é sustentada pelo trabalho de Júnior et al. (2001) que conseguiu mostrar que AH da região Amazônica podem ser fracionados por tamanhos moleculares diferentes. Logo, as estruturas dos AH, podem até ter as mesmas bandas de absorção, muito embora, os detalhes observados nos espectros de FT-IR os diferenciam qualitativamente por causa da distribuição de tamanhos moleculares diferentes (SHIN; MONSALLIER; CHOPPIN, 1999).

Outra característica dos espectros de FT-IR que deve ser levada em consideração é que alguns grupos C=O de ácidos carboxílicos ligados por ligações de hidrogênio absorvem em comprimento de onda de 1620  $\text{cm}^{-1}$ , indicando que na estrutura dos AH podem ainda está ocorrendo metilações de grupamentos ésteres. As próprias ligações de hidrogênio causam alargamento de bandas dependendo da quantidade existente na estrutura do ácido húmico (SENESI; D'ORAZIO; RICCA, 2003).

Tabela 2 – Principais bandas de absorção encontradas em AH das TPI

nº de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição
3450 e 3200	Estiramento OH ligado por ponte de hidrogênio de fenóis, estiramento N-H, contribuição OH alcoólico
2900 e 2800	Estiramento assimétrico C-H de alifáticos
1720 e 1700	Estiramento C=O de grupos carboxílicos e derivados
1650	Estiramento C=O de amida I
1630 e 1600	Estiramento C=C de anel aromático, estiramento C=O de cetonas conjugadas (-CO-CH <sub>2</sub> -CO) ou (-CO-C=C-OH), estiramento assimétrico de íons COO <sup>-</sup>
1400 e 1375	Deformação angular OH e estiramento C-O de fenóis, deformação angular C-H de grupos CH <sub>2</sub> , e CH <sub>3</sub> e estiramento simétrico de íons COO <sup>-</sup>
1375 e 1300	Estiramento C-N de grupamento amida e/ou amina, também pode ser atribuída a estiramento simétrico de COO <sup>-</sup>
1250 e 1200	Estiramento C-O
548	A grupamentos de C=C de aromáticos e/ou C-H de aminas secundárias

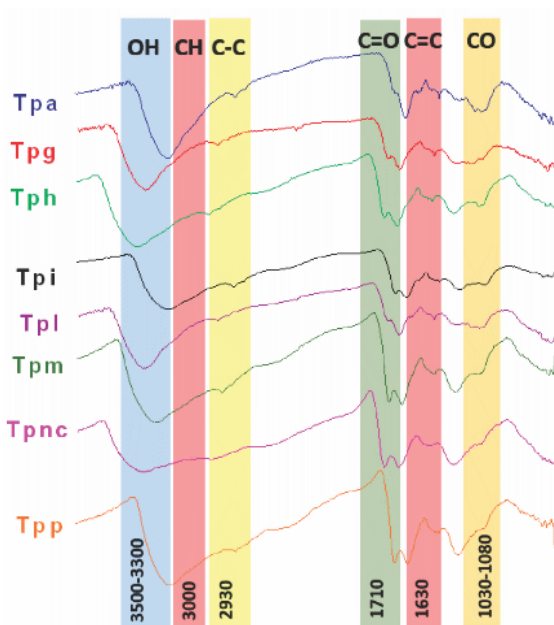


Figura 2 – FT-IR dos AH extraídos das TPI.

### 5.3. HCA e PCA obtidos dos espectros FT-IR

A Figura 3 mostra os gráficos usados para validar o uso de duas componentes principais. Os gráficos referentes à percentagem e *Score* mostra que as componentes principais podem ser reduzidas em PC1 e PC2 com uma

percentagem de 81% dos dados. Pode ser observado que as componentes PC1 e PC2 não apresentam *outliers*, portanto, todos os espectros correspondem à mesma substância. Neste caso, todos os espectros deste trabalho correspondem aos AH presentes nos sítios de TPI. Apesar de apresentarem algumas alterações em algumas regiões, as modificações não foram suficientes para comprometerem a análise exploratória dos espectros de FT-IR. O interessante nesse resultado é que o AH formado nas TPI, apesar de passar por processos antrópicos em sua gênese, apresentam grupamentos químicos semelhantes.

Evidentemente, essa semelhança se deve também ao próprio processo de separação e purificação dos AH. Como ele é baseado pura e simplesmente em mudanças de valores de pH. Nesse processo de separação não há possibilidade de se ter uma seletividade capaz de obter apenas uma substância. Em princípio a solubilização e precipitação não ocorrem somente para uma determinada substância e sim para misturas de moléculas com os mesmos produtos de solubilidade.

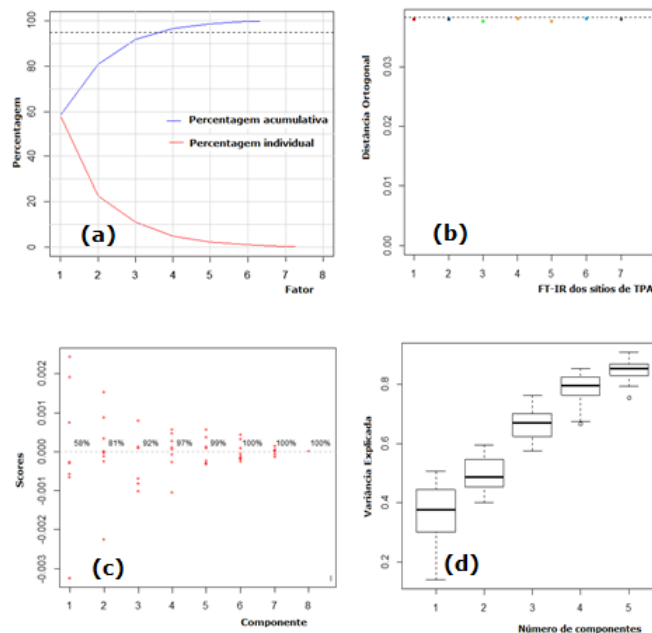


Figura 3 - (a) Decomposição individual e efeito acumulativos, (b) efeito dos *outliers* baseado na ortogonalidade, (c) Percentagem da decomposição das componentes principais, (d) Análise de Bootstrap para o número de componentes.

A Figura 4 corrobora para o fato de que os grupos funcionais O-H, C=O e -C=C- desempenham papel importante na estrutura dos AH. Os três grupos fazem parte da PC1, explicando 58% dos espectros de FT-IR dos AH. Nota-se também que em PC2 esses grupamentos apresentam uma percentagem de 23%. A existência desses grupamentos nas duas componentes principais pode ser explicada pelo fato de existir não somente uma estrutura para os AH e sim uma mistura composta por ácidos carboxílicos com diversos tamanhos moleculares. A literatura também atribui a esses grupamentos a capacidade de complexação e troca catiônica dos AH. A efetividade das propriedades físicas e químicas dos AH está intimamente ligada a esses grupos. Neste contexto, o grau

de humificação influencia diretamente a capacidade dos AH em realizar a troca catiônica ou de complexação de íons metálicos. Essa diferenciação estrutural pode ser usada para explicar o PC-loading, bem como dendrograma dos sítios TPI (Figura 5). Como esperado, o processo de humificação é determinante na estrutura dos AH, quando se pensa em região Amazônica, cujas variações climáticas extremas contribuem intensivamente para a oxidação da matéria orgânica. Nessa linha de pensamento entender a classificação proposta no dendrograma bem como o PC-loading implica necessariamente na ideia de que a classificação apresentada depende do grau de humificação dos AH.

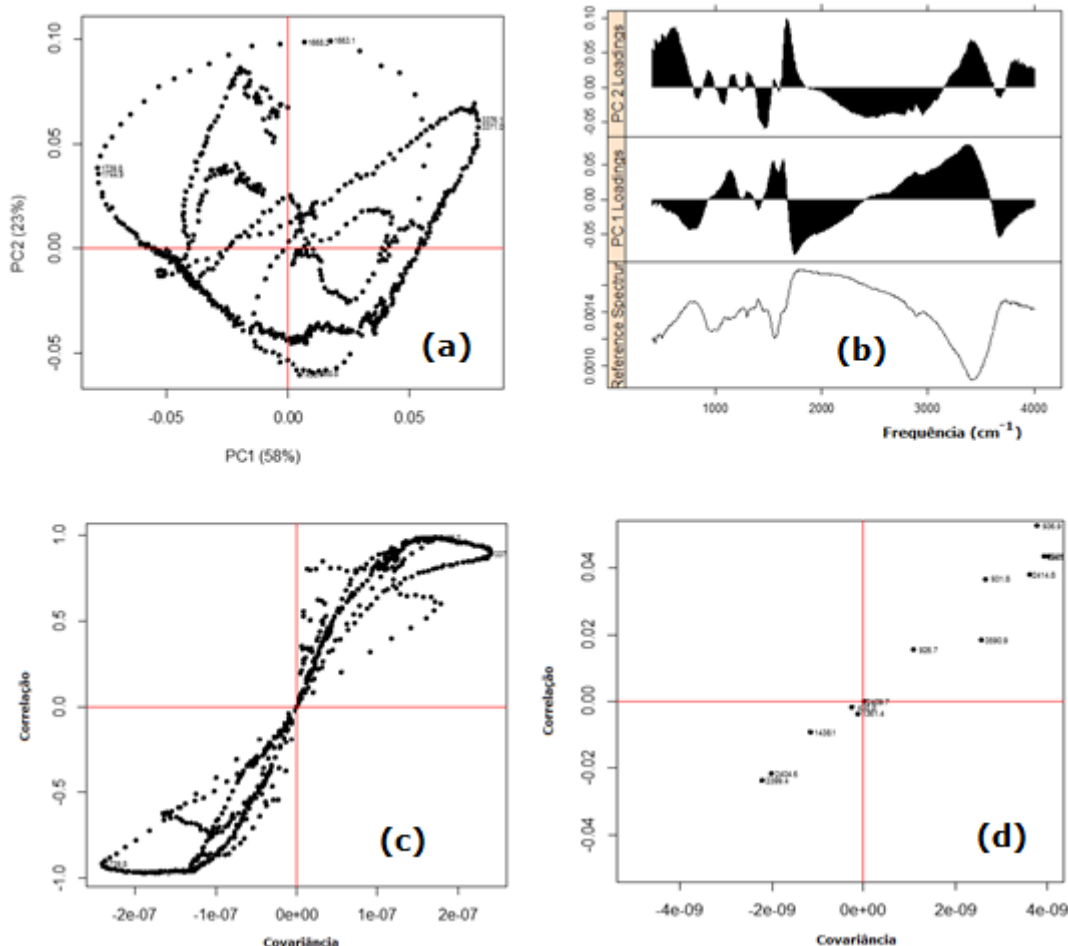


Figura 4 – (a) Loading de PC1 versus PC2, (b) gráfico *loading* mostrando as contribuições de PC1 e PC2, (c) e (d) identificação das principais frequências

Essa diferenciação pode estar relacionada à exploração atual ou mesmo no

processo de gênese dos sítios de TPI estudados. Com certeza A análise

exploratória usada neste trabalho aponta que apesar dos AH mostrarem estruturas com os mesmos grupamentos orgânicos é possível diferenciá-los. Dessa forma, uma simples aplicação de HCA e PCA nos espectros de FT-IR permitiu comparar os oitos sítios e classificá-los segundo similaridades dos espectros.

Outro aspecto importante é o papel de grupamento susceptível à oxidação. Por ter grupos funcionais C=O e O-H a modificação estrutural ocorre por causa da humificação. Apesar dessa afirmação ser consensual na literatura, a aplicação do HCA e PCA possibilita uma nova base para o estudo das TPI. Ademais, a classificação obtida por essa técnica estatística pode consubstanciar e sistematizar estudos sobre os AH.

Especificamente para as TPI os resultados obtidos neste trabalho é uma ferramenta que permite a classificação dos diversos sítios. O dendrograma mostrado na Figura 5 mostra a formação de quatro grupos. O primeiro é formado pelo sítio TPP (área de pastagem); segundo por Tpg (área preservada) e Tpi (área urbana); o terceiro por Tpa (área de agricultura) e o quatro formado por Tpi (área de agricultura), área de pastagem (tpm), Tph e tpnc (área preservada). Esses mesmos grupos podem ser observados nos PC-loading (Figura 5). Os agrupamentos formados sugerem que as estruturas dos AH não obedecem a maneira como as TPI foram exploradas. Evidentemente, que a formação de AH está relacionada ao tipo de matéria orgânica que foi depositado no solo. No caso das TPI, tem-se adicionalmente, a questão do processo de ocupação dos solos pelos antigos povos da região amazônica.

O estudo sugere também que a diferenciação obtida nos espectros do FT-IR quando usada para um número maior de amostras o que permitiria uma melhor classificação dos sítios de TPI.

## 6. CONCLUSÕES

Em termos gerais este trabalho contribuiu para o estudo de substâncias húmicas, principalmente para o HA. As análises de espectros de FT-IR possibilitou

mostrar que pode ser ter resultados além da identificação de grupos funcionais. Por exemplo, ao agrupar os sítios de TPI significa entender por exemplo o processo de migração dos antigos povos do Amazonas. Além disso, a análise exploratória dos espectros de FT-IR pode ser aplicada classificação das substâncias húmicas sugerindo novas interpretação e consequentemente novos conhecimentos dos AH e AF.

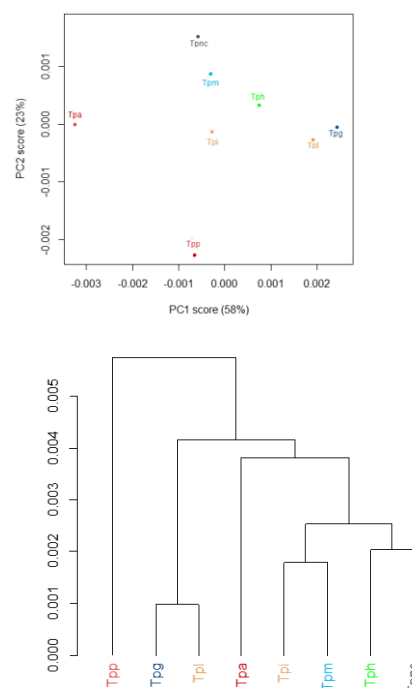


Figura 5 – PC-loading e dendrograma relativo aos dados de TPI.

## REFERÊNCIAS

FREITAS, J. C.; SANTANA, G. P. Mineralogia e Caracterização dos Ácidos Húmicos e Fúlvicos uma Topossequência da Reserva Adolpho Ducke (Manaus - AM). **Igapó**, v. 4, n. 1, p. 84–91, 2010.

GELADI, P. Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 58, n. 5, p. 767–782, maio 2003.

GERMAN, L. A. Historical contingencies in the coevolution of environment and livelihood: Contributions to the debate on





Amazonian Black Earth. **Geoderma**, v. 111, n. 3-4, p. 307–331, 2003.

HE, M.; SHI, Y.; LIN, C. Characterization of humic acids extracted from the sediments of the various rivers and lakes in China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 11, p. 1294–1299, 2008.

HOPKE, P. The evolution of chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 500, n. 1-2, p. 365–377, dez. 2003.

JÚNIOR, É. S. et al. Substâncias Húmicas Aquáticas: Fracionamento Molecular e Caracterização de Rearranjos Internos após Complexação com íons metálicos. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 339–344, 2001.

LATHRAP, D. W. **The Upper Amazon**. London: Thames & Hudson, 1970.

LIMA, H. N. et al. Pedogenesis and pre-Colombian land use of “Terra Preta Anthrosols” (“Indian black earth”) of Western Amazonia. **Geoderma**, v. 110, n. 1-2, p. 1–17, nov. 2002.

MAFRA, A. L. et al. Humic acids from hydromorphic soils of the upper Negro river basin, Amazonas: Chemical and spectroscopic characterisation. **Geoderma**, v. 138, n. 1-2, p. 170–176, 2007.

MASLIN, M. A; BURNS, S. J. Reconstruction of the Amazon Basin effective moisture availability over the past 14,000 years. **Science (New York, N.Y.)**, v. 290, n. 5500, p. 2285–7, dez. 2000.

MECOZZI, M. et al. Uncommon multivariate statistical methods for environmental studies: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 6-7, p. 31–38, 2015.

MUEHLETHALER, C.; MASSONNET, G.; ESSEIVA, P. The application of chemometrics on Infrared and Raman spectra as a tool for the forensic analysis of paints. **Forensic Science International**, v. 209, p. 173–182, 2011.

MUTIHAC, L.; MUTIHAC, R. Mining in chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 612, p. 1–18, 2008.

ORTIZ, R. S. Profiling cocaine by ATR – FTIR. **Forensic Science International**, v. 246, p. 65–71, 2015.

PAULA, A.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Evaluation of the potential of FTIR and chemometrics for separation between defective and non-defective coffees. **Food Chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1368–1374, 2012.

PESSOA JUNIOR, E. S. F. et al. Terra preta de índio na região amazônica. **Scientia Amazonia**, v. 1, n. 1, p. 1–8, 2012.

ROGGO, Y. et al. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 44, p. 683–700, 2007.

SAURINA, J. Characterization of wines using compositional profiles and chemometrics. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 234–245, 2010.

SCHMIDT, M. J. et al. Dark earths and the human built landscape in Amazonia: a widespread pattern of anthrosol formation. **Journal of Archaeological Science**, v. 42, p. 152–165, fev. 2014.

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

SHIN, H. S.; MONSALLIER, J. M.; CHOPPIN, G. R. Spectroscopic and chemical characterizations of molecular size fractionated humic acid. **Talanta**, v. 50, n. 3, p. 641–647, 1999.

SMIDT, E.; MEISSL, K. The applicability of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. **Waste Management**, v. 27, n. 2, p. 268–276, 2007.

SOUZA, W. .; SANTANA, G. P. Substâncias húmicas: Importância, estruturas químicas e interação com mercúrio. **Scientia Amazonia**, v. 3, n. 3, p. 80–88, 2014.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. 2a. ed. Amsterdam: Academic Press, 2003.

SUTTON, R.; SPOSITO, G. Molecular structure in soil humic substances: the new view. **Environmental science & technology**, v. 39, n. 23, p. 9009–9015, 2005.

TIMOFEEVNA SHIRSHOVA, L.; GHABBOUR,



E. A.; DAVIES, G. Spectroscopic characterization of humic acid fractions isolated from soil using different extraction procedures. **Geoderma**, v. 133, n. 3-4, p. 204–216, 2006.

WESTIN, F. C. et al. Characteristics of Some Venezuelan Soils. **Soil Science**, v. 105, n. 2, p. 92–102, 1968.