



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
E PÓS-GRADUAÇÃO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO:
MESTRADO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA**



**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA ESPECTROSCOPIA NO
INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA QUANTIFICAÇÃO DE CARBONO
EM SOLOS DO ESTADO DO ACRE**

MARIA DE JESUS MENDES RODRIGUES

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA**

**RIO BRANCO-ACRE
2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
E PÓS-GRADUAÇÃO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO:
MESTRADO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA

Avaliação do Potencial da Espectroscopia no Infravermelho
Próximo na Quantificação de Carbono em Solos do Estado do
Acre

Maria de Jesus Mendes Rodrigues

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências em Ciências.

Área de Concentração: Ciência e Inovação Tecnológica


Paulo Guilherme Salvador Wadt
Orientador


Robélio Leandro Marchão
Co-Orientador

Rio Branco-Acre
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
E PÓS-GRADUAÇÃO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA

Maria de Jesus Mendes Rodrigues

Avaliação do Potencial da Espectroscopia no Infravermelho
Próximo na Quantificação de Carbono em Solos do Estado do Acre

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 29/06/2015


Prof. Dr. Paulo Guilherme Salvador Wadt
Orientador

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Prof. Dr. Carlos Eduardo Garção de Carvalho
Universidade Federal do Acre

Prof. Dr. Rogério Antônio Sartori
Universidade Federal do Acre

Ofereço este trabalho aos meus pais Eliane e Ademar, pelo incentivo irrestrito durante toda a minha vida acadêmica.

Dedico ao meu esposo MAURÍCIO, com amor, admiração e gratidão por sua compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho ♥.

AGRADECIMENTOS

A DEUS em Primeiro lugar por permitir que os melhores profissionais me auxiliassem na a realização deste sonho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Guilherme Salvador Wadt, por acreditar ou no meu potencial e me orientar com grande dedicação. Agradeço por todos os ensinamentos, pela amizade e por todas as contribuições para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu co-orientador Dr. Robélio Leandro Marchão, pela grandiosa contribuição na realização deste trabalho.

Ao analista de solos da Embrapa Acre **Luciéllo Manoel da Silva**, pelos conhecimentos transmitidos, amizade, confiança, paciência, preocupação, dedicação.

Aos técnicos e amigos da Embrapa Acre: Sr. Gildo, e Pedrinho; pelo essencial auxílio dentro dos laboratórios, pelos almoços divertidos e pelo carinho e amizade.

Aos meus amigos da Pós-Graduação, em especial ao Leandro, pelas vezes que rimos e choramos juntos durante esses longos anos de convivência somados desde a graduação até o mestrado.

À Natália Bortoleto e o Álvaro pela ajuda essencial no Laboratório de Bromatologia.

À CAPES pela bolsa concedida.

O choro pode durar uma noite, mas a alegria vem pela manhã. Sl 30:5b

RODRIGUES, M.J.M. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA QUANTIFICAÇÃO DE CARBONO EM SOLOS DO ESTADO DO ACRE.** 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Mestrados, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2015.

RESUMO

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR - *Near-infrared spectroscopy*) vem sendo utilizada há algumas décadas com grande sucesso nas diversas áreas da ciência. Na área de ciência do solo seu emprego é recente, porém, tem permitido avaliar atributos químicos e físicos. Trata-se de uma técnica de determinação rápida, não destrutiva, além de não utilizar de reagentes químicos na determinação das análises. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da técnica NIR associada à análise multivariada, para determinar o teor de carbono orgânico em solos do estado do Acre, comparativamente a métodos convencionais. Para tanto foram utilizadas, cento e noventa amostras de solos representativos do estado. A concentração de carbono orgânico foi realizada pelos métodos Walkley & Black e técnica de análise elementar, sendo esse último considerado como o método de referência. Os modelos de calibração foram ajustados utilizando o método de regressão PLS. No modelo, os dados foram submetidos à primeira e segunda derivada com janela de 15 pontos e suavizados com *Savitz Golay*. Foram pré-processados pela correção de linha de base, centralização na média, variação normal padronizada e correção de sinal multiplicativo. O modelo foi avaliado com base nas respectivas figuras de mérito: RMSEC, RMSEP, R^2 , bias e RPD. O modelo utilizando o método de análise elementar como referência apresentou-se dentro de uma classificação boa quando se considera o valor de R^2 , porém, analisando os valores de $RMSEC < RMSEP$ e $RPD > 2$, foi considerado excelente. Em contrapartida, o modelo utilizando, Walkley & Black como referência apresentou RMSEP muito superior

ao a RMSEC, assim, de acordo com os valores de previsão e calibração, o modelo tende a superestimar a concentração em análise, porém analisando o valor de RPD= 1,4 e $R^2 = 0,76$, o modelo pode ser considerado bom e aceitável. Desta feita, verificou-se que os modelos de previsão utilizando NIR combinado a um método de calibração multivariado foi eficiente em estimar o teor de carbono orgânico nos solos acreanos e pode ser usado em substituição aos métodos tradicionais.

Palavras-Chave: Espectroscopia NIR, análise multivariada, estoque de carbono.

RODRIGUES, M.J.M. **Spectroscopy POTENTIAL ASSESSMENT IN INFRARED NEXT IN CARBON MEASUREMENT IN SOIL OF ACRE STATE**. 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado)- Departamento de Mestrados, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2015.

ABSTRACT

The near infrared spectroscopy (NIR-Near-infrared spectroscopy) has been used for decades with great success in various areas of science. In soil science field its use is recent, however, it allows us to evaluate chemical and physical attributes. This is a technique for rapidly determining, non-destructively, and does not use chemical reagents in determining the analysis. The objective of this was to evaluate the potential of NIR technique associated with multivariate analysis to determine organic carbon content in the state of Acre soils compared to conventional methods. Therefore, we used 190 samples of representative soils from across the state. The concentration of organic carbon was carried out by Walkley & Black methods, and elemental analysis and this used as a reference.

The calibration models were adjusted using the PLS regression method, and subjected to the first and second derivative with 15 points window and smoothed with Savitz Golay and pre-processed by baseline correction, centering on average, standard normal variation correction the multiplicative signal. The model was evaluated based on their figures of merit: RMSEC, RMSEP, R^2 , bias and RPD. The model using the method of elemental analysis reference is made within a good rating when considering the value of R^2 , however, analyzing the RMSEC values \langle RMSEP and RPD \rangle 2, this is therefore considered excellent. By contrast, the model using, as a reference Walkley & Black presented RMSEC \rangle RMSEP and RPD = 1.4 and $R^2 = 0.76$, so says that according to the prediction and calibration values, the model tends to overestimate the concentration in question, but analyzing the value of R^2 and the RPD, the model can be considered good and acceptable.

This time, it was possible to prove that the forecast models using combined NIR to a multivariate calibration method was efficient to analyze organic carbon in soils Acre.

Keywords: NIR spectroscopy, multivariate analysis, carbon storage.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Carbono orgânico obtido pelos métodos de referência análise elementar (CHNS/O), Walkley & Black (WB).....	32
Tabela 2 - Figuras de mérito para a avaliação do modelo de calibração.....	38
Tabela 3- Figuras de mérito para a avaliação de Previsão	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Demonstração da quimiometria dentro da ciência.....	27
Figura 2: Mapa de localização do Estado do Acre	29
Figura 3: Coeficiente de variação dos dois métodos testados. A: Método de análise elementar; B: oxidação por dicromato em meio ácido.....	33
Figura 4: Correlação entre os teores de carbono em amostras de solos do Estado do Acre determinado pelos métodos elementar e oxidação com dicromato. WB: Walkley e Black (1934).	34
Figura 5: Espectros das 190 amostras das diferentes classes de solo do Acre.....	35
Figura 6: Espectros pré-processados por: 1ª derivada de Savitzky-Golay com janela de 15 pontos e polinômio de segunda ordem, 2ª derivada de Savitzky-Golay com janela de 15 pontos e polinômio de segunda ordem.....	36
Figura 7: Gráfico “biplot” resultante da análise de componentes principais (PCA) com as coordenadas das 190 amostras indicando ainda “outliers” espectrais.....	37
Figura 8: Curvas de calibração e validação: (A e B) CHNS/O, (C e D) W&B.....	40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3.1 Características dos Solos do Acre	19
3.2 Carbono no solo.....	19
3.3 Métodos empregados na determinação do Carbono do Solo.....	21
3.3.1. Método Walkley & Black (1934) – WB.....	23
3.3.2. Análise Elementar (CHNS/O)	24
3.3.3 Espectroscopia no Infravermelho Próximo (<i>Near-infrared spectroscopy-NIR</i>).....	26
3.4 Quimiometria	27
3.5 Análise Multivariada.....	29
3.5.1 Métodos de Pré-processamento.....	30
3.5.2 Centralização na média.....	31
3.5.3 Variação normal padronizada (SNV).....	31
3.5.4 Derivadas Primeira e segunda	31
3.5.5 Método Savitzky-Golay de alisamento	32
3.5.6 Correção de Sinal Multiplicativo (MSC)	32
3.5.7 Ajuste da linha de base.....	33
3.6 Método de Classificação.....	34
3.6.1 Análise de Componentes Principais- (<i>Principal Components Analysis, PCA</i>)	34
3.6.2 Regressão por mínimos quadrados parciais (<i>Partial Least Squares regression, PLS</i>)	35
3.7 Parâmetros de Mérito.....	37
3.7.1 Erro de calibração (<i>Root Mean Squares Error of Calibration, RMSEC</i>).....	38
3.7.2 Exatidão da técnica (<i>Root Mean Squared Error of Prediction, RMSEP</i>).....	38
3.7.3 Erro Padrão de calibração (<i>Standard Error of Calibration, SEC</i>).....	39
3.7.4 Erro padrão de previsão (<i>Standard error of Prediction SEP</i>)	39
3.7.5 Teste de Bias para erros sistemáticos	39
3.7.6 Razão para o desvio de previsão (<i>Ratio of Performance to Deviation RPD</i>)	40

4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1 Caracterizações da Área de Estudo.....	41
4.2 Desenvolvimento Experimental.....	41
4.3 Análises estatística utilizadas.....	42
5. DETERMINAÇÃO DE CARBONO PELOS MÉTODOS CONVENCIONAIS.....	42
5.1 Método Walkley & Black (1934) – WB.....	43
5.2 Análise elementar (CHNS/O).....	43
6. OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)44	
6.1 Construção do Modelo de Calibração.....	44
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
7.1 Teores de carbono pelos métodos convencionais.....	45
7.2. Análise Quimiométrica.....	48
7.3 Análise exploratória.....	50
7.4 Calibração multivariada.....	51
8. CONCLUSÃO.....	55
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

1. INTRODUÇÃO

O Acre ocupa o segundo lugar entre os estados brasileiros no ranking de cobertura florestal tropical contínua com cerca de 87 % do seu território intacto. No entanto, as principais atividades econômicas do estado estão ligadas diretamente a retirada da floresta e a queima da vegetação, para o uso da terra (RODRIGUES & FERREIRA, 2012).

As modificações de matas nativas para a inserção de áreas agrícolas aceleram a modificação das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, podendo aumentar a liberação de gases de efeito estufa (GEE), principalmente gás carbônico (CO₂) e portanto, contribuindo para acelerar as causas relativas às mudanças climáticas, visto que o carbono presente na matéria orgânica do solo é particularmente sensível a alterações do uso da terra (CORSI *et al.*, 2012).

O carbono é essencial para compreender diversos processos que interagem no solo, que variam desde sua estruturação física, capacidade de retenção de água, estoque de nutrientes e outras propriedades do solo relacionadas a sua fertilidade natural, como capacidade de troca de cátions e ciclagem geoquímica dos elementos químicos. Também, o carbono no solo tem papel fundamental em todo processo do ciclo de carbono global (MILNE, 2012).

No mesmo sentido, a política brasileira tem incentivado a adoção de práticas agrícolas com baixos teores de emissões através do programa ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono), o que gera a necessidade de acompanhamento das variações de carbono no solo (ROCHA, *et al.*, 2011). Todavia, a determinação desse elemento no solo requer metodologias aferidas, rápidas e limpas de acordo com os preceitos da química verde e, ao mesmo tempo, ofereça representatividade para cada região (CARMO, 2012).

Diversas são as técnicas analíticas usadas na determinação de carbono do solo. Porém, no Brasil a grande maioria dos laboratórios ainda utilizam métodos de análises baseados na oxidação da matéria orgânica na presença de dicromato de potássio em meio intensamente ácido, com suas respectivas variações e adaptações. Entretanto, os resíduos deste tipo de análise são tóxicos e agressivos ao meio ambiente e à saúde humana, demandando tratamento adequado para o descarte, incorporando, assim, um custo adicional às análises. E mais recentemente por análise elementar que, embora menos agressiva ambientalmente, é ainda de elevado custo (SCHUMACHER, 2002).

Esses métodos, portanto, caminham no sentido contrário às tendências da Química Moderna: a chamada Química Verde, que se preocupa com o desenvolvimento de tecnologias, métodos e processos incapazes de causar poluição (PRADO, 2003).

Nestes aspectos, tem se estudado bastante a viabilidade de técnicas analíticas não destrutivas por espectroscopia difusa (DRS) para determinação de carbono no solo, e estas vêm se mostrando como grande potencial e ao mesmo tempo como uma alternativa aos métodos tradicionais demorados, caros e que usam diversos reagentes químicos (KNOX, *et al.*, 2012). Entre estas técnicas a espectroscopia por infravermelho próximo (*Near infrared spectroscopy* - NIR) tem apresentado excelentes resultados na quantificação de atributos químicos, físicos e biológicos do solo, especialmente o carbono (CEZAR, 2013).

O NIR é uma técnica rápida, de boa precisão, de baixos custo operacional, além de ser livre de resíduos indesejáveis, por não usar reagentes químicos (NETO, *et al.*, 2012).

Sato *et al.* (2013), em estudo com solos do cerrado brasileiro comprovaram que a técnica NIR, associada à quimiometria apresentou bons resultados em quantificar o carbono no solo. Jaconi, *et al.* (2011), comparando a espectroscopia NIR com métodos analíticos convencionas para determinação de carbono em

solos de plantio convencional de cana-de-açúcar em diferentes situações e manejos da colheita, concluíram que esta apresenta resultados satisfatórios.

Fernandes *et al.* (2010) e Fuentes (2012) verificando a aplicabilidade da técnica do NIRS para a determinação do conteúdo de carbono em amostras de solos concluíram que a técnica do NIR pode ser adotada como método usual de análise para carbono em solo.

Neto *et al.* (2012) afirmam que a técnica por NIR vem substituindo gradativamente os métodos analíticos por via úmida, devido a diversos aspectos: rapidez nas análises, precisão nos resultados, baixos custos, além de ser livre de resíduos indesejáveis.

Mesmo apresentado resultados bons para estimar o teor de carbono em amostras de solos de diversas regiões do Brasil e do mundo, os solos do Estado do Acre apresentam características bem diferentes sendo necessária a validação dessa técnica para as condições locais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a viabilidade da estimativa do teor de carbono em solos do Estado do Acre por meio de espectroscopia NIR combinada com calibração por análise multivariada.

2.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a possibilidade de se obter a estimativa do teor de carbono em solos acreanos por espectroscopia NIR combinada com calibração multivariada de primeira ordem;
- b) Avaliar o desempenho do método de Walkey & Black frente ao método de Análise Elementar na determinação de carbono em amostras de solos do Estado do Acre.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Características dos Solos do Acre

O território do Acre consiste de um ambiente geológico e pedológico com influência de processos de soerguimento da Cordilheira dos Andes. Seus solos são considerados geologicamente recentes, e em alguns locais, pedologicamente instáveis (ANJOS, *et al.*, 2010).

Tais características decorrem da diversidade dos materiais de origem depositados neste ambiente e do pouco tempo para atuação de processos de formação de solos, de modo que esses solos são considerados heterogêneos, tanto nos aspectos físicos, químicos e mineralógicos (AMARAL, 2000).

3.2 Carbono no solo

A matéria orgânica é um compartimento do solo, cuja composição química é dada majoritariamente por átomos de carbono (C), proveniente de raízes, plantas em decomposição, substâncias húmicas e organismos do solo (PRIMO *et al.*, 2011). Compreender a composição química da matéria orgânica e de fundamental importância, em virtude de o manejo inadequado do solo produzir a mineralização do carbono orgânico e transferir grandes quantidades de gases de efeito estufa para a atmosfera.

O maior reservatório de carbono da superfície terrestre está na Matéria Orgânica do Solo (MOS) (MACHADO, 2005), porém, devido a sua dinâmica o conteúdo de carbono pode variar em decorrência de práticas de manejo (STEVERSON, 1994; MOREIRA, 2006). Na maioria dos solos, o teor de MOS oscila de 5 a 50 g.kg⁻¹ e é constituída por carbono, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e

fósforo (C, H, O, N, S e P), com os teores 58%, 6%, 33% e os três últimos 3%, respectivamente (SANTOS, 2002).

O carbono agregado no solo apresenta-se na forma orgânica como: polissacarídeos, ácidos graxos, aminoácidos e polifenóis e na forma inorgânica como: carbonatos, bicarbonatos e dióxido de carbono (MENDONÇA & MATOS, 2005). A ciclagem rápida desses compostos afeta, sobretudo a concentração de carbono que são influenciados principalmente pela sazonalidade e práticas de manejo do solo (BARROS, 2013).

O estudo do carbono no solo tem sido utilizado, não só apenas com objetivo determinar a fertilidade do solo, mas também quanto as implicações sobre o sequestro de carbono atmosférico (CALONEGO, 2012).

Iwata *et al.* (2010) estudando a matéria orgânica concluíram que a presença do carbono orgânico (CO) no solo é essencial, para as propriedades físicas, químicas e biológicas, funcionando como fonte energética para o sistema; fixação de nutrientes; favorecimento de água à vegetação; geração e estabilidade dos agregados; melhora a resistência do solo, além de facilitar a troca catiônica.

O teor de carbono total (CT) no solo pode apresentar grande amplitude de variação em função de diferenças nos processos de formação do solo, do tipo de relevo e da vegetação, exigindo métodos analíticos acurados para a quantificação deste elemento (CONYERS *et al.*, 2011).

No estado do Acre as ordens de solo com maior abrangência são Argissolos, Luvisolos e Cambissolos, apresentando, entretanto, diferenças na mineralogia quando comparadas aos solos de mesma ordem de outras regiões tropicais ou mesmo da Amazônia. Entre essas características destacam-se elevados teores de Ca^{2+} e Mg^{2+} em associação também com altos teores de Al^{3+} (ANJOS, *et al.*, 2010).

Em relação ao conteúdo de carbono destes solos Melo (2003) verificou que o estoque de carbono varia bastante entre 3,8 e 6,6 kg C m⁻² nas profundidades de 0-30 e 0-100 cm, respectivamente.

3.3 Métodos empregados na determinação do Carbono do Solo

Existe uma grande diversidade de métodos analíticos empregados na determinação de carbono em solos. No entanto, os estudos comprovam que ocorre uma grande diferença de sensibilidade dentre eles (GATTO *et al.*, 2009; CARMO, *et al.*, 2012; SILVA, 2012; DIAS *et al.*, 2013), seja em razão das técnicas empregadas, ou devido a própria composição química dos materiais (CONYERS *et al.*, 2011).

Esses fatores têm dificultado a escolha de um método oficial para estabelecer concentração de carbono em solo, persistindo tanto na pesquisa como nas análises de rotina os métodos baseados na dicromatometria (GATO *et al.*, 2009), por apresentarem praticidade e dispensar equipamentos especializados.

Em contrapartida, (RHEINHEIMER *et al.*, 2008; GATTO *et al.*, 2009, SATO *et al.*, 2012) estudando esses métodos verificaram que de acordo com a quantidade de CO lábil disponível em cada tipo de solo, o carbono total tende a ser subestimado ou superestimado, devido a constante utilizada para transformar o teor de carbono em teor de matéria orgânica do solo.

Atualmente no Brasil os métodos mais empregados, na identificação de carbono (C) tem por base a oxidação úmida por oxidantes energéticos, dos quais o dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) foi o mais empregado, pois estes agregam fácil execução e não exigem equipamentos especializados. O uso destas técnicas apresentam, entretanto, problemas analíticos e ambientais (SEGNINI *et al.*, 2008; GATTO *et al.*, 2009; SAMPAIO *et al.*, 2012).

O método baseado na oxidação úmida, além de usar produtos químicos altamente nocivos ao meio ambiente e gerar resíduos que não pode ser descartados sem prévio tratamento, tem como limitação a subestimação do teor de carbono devido não oxidar com eficiência o carbono das frações orgânicas protegidas pela fase mineral, como os C-carbonato e C-carvão que não são atacados durante a digestão ácida (CARMO *et al.*, 2012); outras limitações são a pressuposição que todo carbono em análise possui valência zero; a reação ocorre na proporção 2:1 em que 2 mols de dicromato oxida 1 mols de carbono zero (CONYERS *et al.*, 2011).

No entanto, o método de referência atualmente mais aceito é o de combustão por via seca também denominado de Análise Elementar. Neste a amostra é submetida a temperaturas elevadas (próximo de 1000 °C), e o CO₂ liberado é quantificado (CORSI, *et al.*, 2012) e convertido em carbono. Dentre suas vantagens de uso podemos destacar: menor geração de resíduos tóxicos, possibilidade de analisar grandes números de amostras em curtos espaços de tempo. Entretanto, exige a aquisição de equipamentos caros e de elevados custos de manutenção.

Outro método que está em ascensão para o uso em análises de carbono de solo, são os métodos espectroscópicos por infravermelho próximo, estes dispensam o uso de reagentes químicos nas análises, além de não destruir as amostras, porém ainda são poucos utilizados em análises de rotina, devido a dependência de tratamentos sofisticados dos dados por meio da Quimiometria. (MCCARTY *et al.*, 2010; ROMAGNOLI *et al.*, 2013).

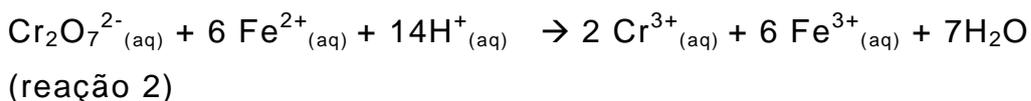
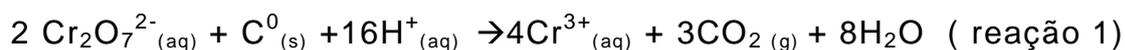
Contudo, apesar das diversas metodologias existentes para análise de carbono em solo, não existe uma definição do método mais apropriado para obtenção de resultados confiáveis e satisfatórios (CONCEIÇÃO *et al.*, 1999; SEGNINI *et al.*, 2008), principalmente para solos com altos teores de matéria orgânica MOS. Porém, é interessante que cada técnica antes que possa ser empregada, seja comparada com outros diferentes procedimentos e

ajustada com objetivo de utilizar a técnica que possui maior aferição (CARMO *et al.*, 2012).

3.3.1. Método Walkley & Black (1934) – WB

O método de digestão ácida Walkley & Black (1934), com base em oxidação úmida, é atualmente o método mais comumente usado em laboratórios de solos no Brasil, pois não exige equipamento especializado e mostra boa precisão, uma vez que oxida frações mais reativas da matéria orgânica do solo (RODRIGUES, *et al.*, 2014).

Seu princípio baseia-se na redução do dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) na presença de compostos orgânicos em meio fortemente ácido com a determinação subsequente dos íons Cr^{6+} em excesso por titulação com íons Fe^{2+} . Assume-se que a reação de oxidação tem o seguinte caminho:



O ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) é reduzido pelos compostos de carbono presente no solo (reação 1). O excesso é quantificado através da titulação de oxirredução com íons Fe^{+2} , oriundos da solução padrão de sulfato ferroso amoniacal $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ em meio fortemente acidificado com ácido sulfúrico (H_2SO_4), na presença do indicador difenilamina (reação 2). Desta forma, o carbono passa a ser determinado por diferença entre a quantidade de Fe^{+2} usado na titulação da prova em branco (Cr^{+6} total adicionado) e a quantidade usada na titulação do dicromato excedente após a reação de oxidação do carbono presente na amostra. O método assume que o carbono presente na amostra esteja em estado de oxidação zero (MENDONÇA & MATOS, 2005).

A partir dos valores de carbono encontrado é possível quantificar também o teor de matéria orgânica do solo, usando o fator de correção de Van Bemmelen (1,724), partindo-se da premissa de que 58 % da matéria orgânica seja constituída de carbono orgânico.

Apesar de ser o método mais usado em pesquisas e análises em laboratórios de rotina no Brasil, este é passível de críticas, por apresentar problemas analíticos tais como: oxidação de outros compostos facilmente oxidáveis que possam estar presentes na matéria orgânica levando a superestimação do carbono orgânico, ou a limitação em oxidar formas mais complexas do carbono o que pode acarretar em uma subestimação nos valores de carbono encontrados (GATTO *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2014).

Além dos danos ambientais e humanos, uma vez que o resíduo contendo o íon cromo Cr^{3+} é tóxico e pode causar câncer, doenças genéticas, sensibilidade na pele, além de ser muito tóxico aos organismos aquáticos (MACHADO *et al.*, 2003).

Estudo tem demonstrados que essa técnica recupera entre 60 e 86% do carbono presente no solo com média de 77%, (MENDONÇA & MATOS, 2005), pois algumas formas de carbono presentes na matéria orgânicas são bastante resistentes à oxidação o que requer a aplicação de um fator de correção, segundo Walkley & Black,(1934).

Entretanto, o fator proposto pode não ser adequado para todos os solos, havendo necessidade de se determinar o real fator de correção para condições de solos. Nesse sentido GATTO *et al.* (2009), recomenda a reavaliação deste fator, pois dependendo das quantidades de carbono lábil presente, o carbono total estaria sendo, ora, subestimado, ora superestimado, com a aplicação do fator de correção de 1,30.

3.3.2. Análise Elementar (CHNS/O)

O método de análise elementar (AE) baseia-se na combustão completa por via seca da amostra na presença de excesso de oxigênio alta pureza., produzindo CO_2 , H_2O , NO_x e SO_x , com objetivo de quantificar os elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio (C, H, N, S e O). A oxidação da amostra ocorre às temperaturas de 900 a 1200 °C e os gases formados a partir da combustão são homogeneizados rapidamente em uma câmara, despressurizados e arrastados através de uma coluna de separação, por um gás inerte de pureza elevada, normalmente o hélio ou o argônio.

Posteriormente, os gases são separados e suas concentrações medidas por um detector de condutividade térmica, e posteriormente convertido em teores percentuais de cada elemento (REZENDE, 2011). De modo que permite analisar concomitantemente carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio (C, H, N, S e O) em um grande número de amostras em pequenos intervalos de tempo, sejam elas orgânicas ou inorgânicas e em qualquer estado físico (CHATTERJEE *et al.*, 2009).

Em contrapartida o método apresenta algumas desvantagens: a aquisição destes equipamentos requer investimentos altos; não faz distinção entre carbono orgânico e carbono inorgânico (CI), determina apenas o carbono total presentes nas amostras, podendo causar superestimação do carbono orgânico. Contudo, se for utilizado um analisador de carbono TOC (*Total Organic Carbon*), é possível medir tanto o carbono total (CT) quanto o CI, é assim obter o COT, por diferença entre CT e CI (FONSECA *et al.*, 2006; PHILLIPS *et al.*, 2011). Outros fatores limitantes do método, são: necessidade de moagem extremamente fina das amostras, e a utilização de pequenas quantidades do analíto (em torno de um décimo de grama), o que pode comprometer a representatividade da amostra (CHATTERJEE *et al.*, 2009).

Apesar das limitações apresentadas, o método de análise elementar, é o único aceito no reconhecimento de créditos de carbono, sendo, portanto, considerado como referência para aferição de outros métodos. Estudos comprovam que este quando comparado a outras metodologias analíticas aparenta maior exatidão e repetitividade com baixos valores de desvio padrão (GATTO *et al.*, 2009; COSER, *et al.*, 2012).

3.3.3 Espectroscopia no Infravermelho Próximo (*Near-infrared spectroscopy-NIR*)

O setor agrícola foi o principal responsável pela ascensão da tecnologia NIR no meio científico e comercial, devido à necessidade de dados analíticos de modo ágil e precisos, na agricultura de precisão (PASQUINI, 2003). Além da grande demanda por dados e tecnologias mais rápidas, limpas, eficientes e de baixo custo, a ser utilizada tanto para controle ambiental, quanto na predição de atributos físicos-químicos e biológicos do solo (SOUZA *et al.*, 2013).

A região do infravermelho está localizada após a região do visível, e inicia-se em uma faixa conhecida mais precisamente como infravermelho próximo do inglês *Near-infrared spectroscopy- NIR*, no intervalo de 780 a 2500 nm (SOUZA, 2012). Contudo, é comum encontrar na literatura divergências para esta faixa: 770 a 3000 nm (FIDÊNCIO, 2001); 750 a 2500 nm (PASQUINI, 2003); 700 a 2500 nm (FERNADES, *et al.*, 2010), entretanto a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), estabelece como sendo a região NIR de 780 a 2500 nm (DAVIS, 1998).

A técnica consiste em incidir um feixe de luz, sobre o analito na região do NIR. A absorção da luz ocorre de acordo com a frequência vibracional intrínseca de cada molécula (ligações covalentes, combinações e regiões de sobretom das ligações) presente na amostra, e é quantificada pela diferença entre a

quantidade de luz emitida pelo infravermelho e a quantidade de luz refletida pela mesma. Por essa relação é possível prever a composição química da amostra (FERNANDES, *et al.*, 2010). Essa absorção ocorre especificamente por compostos que apresentam ligações C-H, N-H e O-H (GERZABEK, 2006; ALBRECHT, 2007). Portanto, não ocorre nesta região absorção por vibrações de moléculas homonucleares como O₂, H₂, Cl₂ (SKOOG, 2002).

McCarty *et al.* (2010) e Ge *et al.* (2013), comparando técnicas analíticas espectroscópicas para análise de carbono em solos, verificaram que a espectroscopia NIR, sobrepõe-se entre as demais. Suas características foram apresentar elevada acurácia, rapidez e multiplicidade de análises, não destrutibilidade das amostras, exigências de pouco ou nenhum preparo dos analitos, além de ser considerada ambientalmente correta atendendo os preceitos da “Química Verde”.

Estudos realizados, por Ben-Dor e Banin (1995a, 1995b), utilizando a espectroscopia NIR, na avaliação de diversos atributos dos solos como: matéria orgânica, fósforo, ferro, alumínio e outros, obtiveram excelentes correlações entre os métodos convencionais e o NIR. Fernandes *et al.* (2010); Marchão *et al.* (2011) e Filgueiras *et al.* (2012) aplicando a técnica NIR para a determinação do conteúdo de carbono em amostras de solos, em diferentes regiões do Brasil, concluíram que o método pode ser usado com confiança para prever níveis de carbono no solo.

Contudo, não existem estudos com resultados obtidos com essa técnica bem como suas correlações com outras metodologias na determinação de carbono para solos do Estado do Acre.

3.4 Quimiometria

Atualmente, a espectroscopia NIR é a técnica analítica que mais tem aplicado a quimiometria em análise de dados. A

quimiometria está fundamentada no uso de métodos matemáticos e estatísticos de análise multivariada para analisar e interpretar de modo eficaz os resultados espectrais de interesse químico (PAQUINI 2003). É, portanto, uma ciência de interface entre a Química, a Matemática e a Estatística, como ilustrado na figura 1.

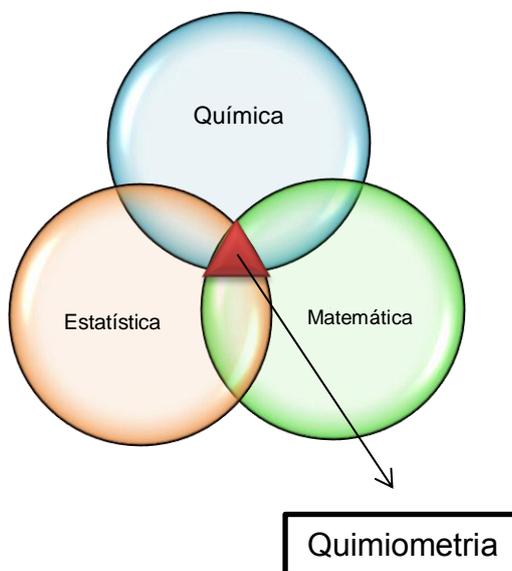


Figura 1: Demonstração da quimiometria dentro da ciência (JACONI, 2011).

A aplicação da quimiometria pode ser dividida em algumas áreas, tais como análise exploratória, a calibração multivariada (de primeira ordem, como o popular PLS; de segunda ordem, como o PARAFAC, ou ordens superiores), de reconhecimento de padrões (como HCA, SIMCA, LDA, etc.), planejamento e otimização de experimentos (BRERETON, 2003).

Dentre os métodos de calibração multivariada, destaca-se a Regressão por Componentes Principais (*PCR - Principal Component Regression*) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*PLS - Partial Least Squares*) (VALDERRAMA, 2009).

Ambos pressupõem uma relação linear entre os dados espectrais e a concentração ou qualquer outra propriedade que se deseja determinar. E são considerados técnicas padrão de calibração na espectroscopia NIR, pois permitem trabalhar com um

número de variáveis maior que o número de amostra (PASQUINI, 2003).

Diversos estudos têm sido realizados usando os diferentes modelos de calibração e estes vêm demonstrando-se robustos, alcançando bons resultados com todos os solos, sendo provável o sucesso com solos de diversas regiões do país (FARRARESI, 2010).

CHANG, *et al.*, (2001), determinando propriedades de solos dentre elas carbono total, aplicando Regressão por Componentes Principais obtiveram excelentes resultados de erro médio e afirmam que o PCR-NIR não tendem a superestimar os atributos analisados. Do mesmo modo Zornoza, (2008) aplicando o PLS-NIR, na determinação de propriedades químicas do solo encontrou resultados que foram avaliados como significativos ($r^2 > 0,90$ e erro de desvio de performance > 2) para as amostras analisadas.

3.5 Análise Multivariada

A análise dos dados é uma etapa essencial em todo experimento, seja ele univariada quando se mede uma variável sistematicamente para várias amostras. Ou quando se utiliza os modelos estatísticos de análises Multivariados, que permitem correlacionar inúmeras variáveis simultaneamente, fornecendo um maior número de informações quando comparada a análise univariada, e tem por objetivo estabelecer um modelo que faça relação de uma gama de medidas (químicas ou espectrais) realizadas em análises com uma determinada propriedade (como por exemplo, concentração) (SENA, 2000).

Quando se trabalha com métodos espectroscópicos, principalmente a espectroscopia NIR, existe a necessidade real do processamento e interpretação dos dados espectrais (FERREIRA, 1999). O perfil espectral contém milhares de informações (pontos),

difíceis de serem analisados. Para tratá-los e extrair estas informações quantitativas, é indispensável à aplicação de métodos estatísticos multivariados (NETO, 2006).

Estes métodos multivariados apresentam a vantagem de realizar determinações imediatas, permitindo a modelagem direta junto aos analitos de interesse, com objetivo de substituir a separação física das espécies pela separação quimiométrica de seus sinais. (POPPI, 2001). Nas últimas décadas diversos estudos vêm sendo publicados, empregando o uso de métodos estatísticos multivariados, (JACONI, 2011; SOUZA, *et al.*, 2012c; SATO, *et al.*, 2013; SATO, *et al.*, 2014).

3.5.1 Métodos de Pré-processamento

Uma vez estabelecidas quais amostras serão alocadas nos conjuntos de calibração, validação e predição, o próximo passo é o pré-tratamento das amostras.

Sua aplicação é justificada por dois aspectos principais:

- a) Redução das variações sistemáticas nos espectros que não são oriundas da concentração do analito em questão, como ruídos aleatórios, desvios da linha de base ou espalhamentos de luz;
- b) Reduzir a complexidade do modelo, tornando-o mais robusto contra variações inesperadas encontradas em novas amostras (ZHAO *et al.* 2010).

Neste trabalho, foram utilizados os seguintes tipos de pré-processamento: correção de linha de base, centralização na média, variação normal padronizada, correção de sinal multiplicativo e a aplicação de 1ª e 2ª derivadas.

3.5.2 Centralização na média

Este método calcula a diferença entre o *i*-ésimo elemento e a média do vetor, permitindo que as variáveis sejam centradas e os efeitos indesejados oriundos, por exemplo, de variações de intensidade devido a efeitos instrumentais (Kalivas, 2008) sejam suprimidos, conforme a equação 1:

$$X_{MC} = X_i - \bar{X} \quad (1)$$

3.5.3 Variação normal padronizada (SNV)

Este método foi proposto originalmente por Barnes *et al.* (1993), com o objetivo de reduzir os efeitos multiplicativos de espalhamento de luz. No método, cada espectro é centrado e então padronizado pelo desvio-padrão, conforme equação 2.

$$x_{i,j}novo = \frac{(x_{i,j} - \bar{x}_i)}{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^p (x_{i,j} - \bar{x}_i)^2}{p-1}}} \quad (2)$$

Onde \bar{x}_i é a absorvância média do espectro *i*, *p* é o número de variáveis ou comprimentos de onda do espectro, $x_{i,j}$ é o elemento original do espectro *i* na variável *j* e $x_{i,j}novo$ é o elemento do espectro transformado.

3.5.4 Derivadas Primeira e segunda

As derivadas 1ª e 2ª são utilizadas para a eliminação de variações no espectro, onde a 1ª elimina os desvios constantes da

linha de base do espectro e a 2ª remove a variação linear da linha de base provenientes dos espalhamentos de luz (Xiaobo *et al.*, 2010).

3.5.5 Método Savitzky-Golay de alisamento

Como apontado por Honorato (2006), a aplicação do alisamento deve ser feita antes da aplicação das derivadas 1ª e 2ª, por causa da relação sinal-ruído, que se deteriora em função da derivação.

Entre os diversos métodos matemáticos de alisamento, o mais utilizado é o Savitzky-Golay. Este método é um filtro de alisamento que usa um ajuste polinomial para reduzir o ruído instrumental, de acordo com a equação 3 (REIS *et al.*, 2009).

$$x_i^* = \frac{1}{2m+1} \sum_{j=-m}^m w_j x_{i+j} \quad (3)$$

Onde $2m+1$ é a janela móvel do algoritmo, m é um número inteiro igual ou maior do que a ordem do polinômio e w_j os pesos aplicados para a solução da regressão polinomial.

3.5.6 Correção de Sinal Multiplicativo (MSC)

Este método de pré-processamento é utilizado para corrigir os efeitos aditivos e multiplicativos na região espectral com base em diferentes tamanhos de partículas. Para isso, seu mecanismo considera duas abordagens. A primeira diz que o espectro da amostra é o resultado da adição de dois espectros, um de

espalhamento d e outro de absorvâncias das espécies químicas c , como mostra a equação (ZEAITER & RUTLEDGE, 2009).

$$x_i = d_i + c_i \quad (4)$$

Logo, o MSC pode corrigir o espectro de difusão d . A segunda abordagem diz que o coeficiente d é o mesmo para todas as amostras em todos os comprimentos de ondas; assim sendo pode ser modelado através de uma regressão linear sobre um comprimento de onda livre de efeitos químicos usando um espectro de referência \mathbf{X}_{ref} (equação 5).

$$d_i = a + m\bar{x}_j + e \quad (5)$$

Onde a é o coeficiente linear, m o coeficiente angular e e os resíduos. Com essas operações, o espectro corrigido pode ser determinado então (equação 6):

$$x_{i,j,\text{MSC}} = \frac{(x_{i,j} - a)}{m} \quad (6)$$

3.5.7 Ajuste da linha de base

O ajuste de linha de base é utilizado para referenciar o espectro, de forma que não apresente valores negativos. Sua aplicação pode ser vista na equação 7.

$$f(x) = x - \min(\mathbf{X}) \quad (7)$$

Onde x é uma variável e \mathbf{X} são todas as variáveis selecionadas para esta amostra. Ou seja, para cada amostra, o valor do menor ponto no espectro é subtraído de todas as variáveis, fazendo com que o menor valor do conjunto final seja zero e os demais valores sejam positivos (Gaydou *et al.*, 2011).

3.6 Método de Classificação

3.6.1 Análise de Componentes Principais- (*Principal Components Analysis, PCA*)

A análise de componentes principais é um método de análise de dados multivariado para exploração de dados, sendo também usado para reduzir a dimensionalidade dos dados originais em subespaços de baixa dimensionalidade definida por poucos componentes principais (FERRER-RIQUELME, 2009).

Em outras palavras, a análise de componentes principais é usada para reduzir a dimensionalidade dos dados originais de uma dada matriz X , no qual a maior parte da variabilidade dos dados é explicada por componentes principais, como mostra a equação 8:

$$X = \sum_{a=1}^A t_a p_a^T + E = TP^T + E \quad (8)$$

onde $P(K \times A)$ é a matriz contendo os vetores p_a de loadings ou componentes principais (Engelen, 2009); T é a matriz de scores que contém a localização da projeção ortogonal das observações originais em subespaço latente, t_a são os vetores da matriz de scores T que representam os novos componentes principais com variâncias dadas pelos seus respectivos autovalores (λ_a) e a matriz $E (m \times K)$ contém os resíduos, ou seja, a parte não explicada pelo modelo (Esbensen & Geladi, 2009).

A figura 2 mostra a decomposição da matriz genérica X em um conjunto de produtos externos de posto 1 (A termos, que correspondem ao posto efetivo A) em t_a scores, P_a loadings e a matriz de erros E , ilustrando a aplicação do PCA:

$$\mathbf{X} = \begin{bmatrix} \mathbf{t}_1 \\ \mathbf{p}_1^T \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \mathbf{t}_2 \\ \mathbf{p}_2^T \end{bmatrix} + \dots + \begin{bmatrix} \mathbf{t}_A \\ \mathbf{p}_A^T \end{bmatrix} + \mathbf{E}$$

Figura 2: Decomposição da matriz X pelo PCA (Extraído de Esbensen & Geladi, 2009).

Onde t_1 e p_1 são os vetores de scores e loadings, respectivamente, que juntos são denominados como primeiro componente (CP1), t_2 e p_2 correspondem ao segundo componente (CP2) e assim, t_a e p_a indicam o a-ésimo componente (CP-a).

3.6.2 Regressão por mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares regression, PLS*)

O método PLS, também denominado PLS1, é, provavelmente o método quimiométrico mais utilizado na química analítica (OLIVIERI, 2008). É um método de regressão linear no qual dois conjuntos de dados são trabalhados: X e Y , onde geralmente a matriz X , do tipo $m \times n$, contém os dados espectroscópicos (variáveis independentes) e a matriz Y , do tipo $p \times n$, contém os dados físico-químicos associados (variáveis dependentes), como mostram as equações 9 e 10, respectivamente:

$$X = TP' + E \quad (9)$$

$$Y = TQ' + F \quad (10)$$

Onde T é a matriz de scores e P e Q são as matrizes de loadings; E e F são as matrizes de resíduos de X e Y ,

respectivamente. A execução do PLS está representada através da figura 3:

Onde T é a matriz de scores e P e Q são as matrizes de loadings; E e F são as matrizes de resíduos de X e Y , respectivamente. A execução do PLS está representada através da figura 3:

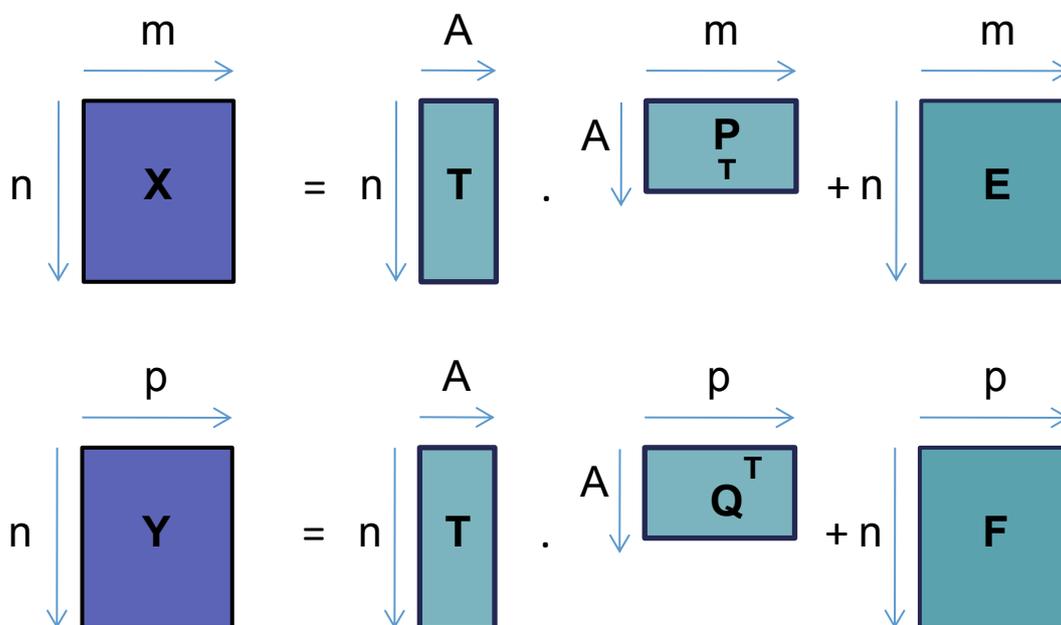


Figura 3: Decomposição da matriz de dados pelo PLS. (Extraído de Chow, Ebrahimi, Gooding, Hibbert, 2006).

PLS é empregado quando há o problema de interferência na matriz amostral. Neste caso, o uso do PLS está na chamada vantagem de primeira ordem, onde é possível quantificar analitos de interesse mesmo na presença de interferentes (OLIVIERI, 2008).

A construção do modelo PLS, normalmente é realizada em duas etapas (SENNA, 2000).

a) A etapa de calibração, quando são estimados os parâmetros, como o número de variáveis latentes, do modelo de regressão multivariada a partir da matriz de dados espectrais X e o vetor de dados físico-químicos Y ;

b) A segunda fase consiste na etapa de previsão, onde o modelo construído é aplicado sobre um novo conjunto de dados, \mathbf{X} novo, com objetivo de prever os valores da propriedade de interesse.

A otimização, do modelo PLS, é feita através da combinação entre a validação cruzada com testes de validação externa. A validação cruzada é empregada na determinação do modelo e do respectivo número de variáveis latentes, já a validação externa permite testar a performance (o desempenho) final do modelo (FERRARINI, 2004).

Neste Trabalho o algoritmo usado foi o NIPALS, para obtenção do modelo PLS. Para isto, os parâmetros do PLS são extraídos de modo iterativo um a um. E as matrizes de modelagem $\mathbf{X}(m \times n)$ e $\mathbf{Y}(m \times z)$, são decompostas conforme as equações abaixo:

$$X = TP' + E_x = \sum T_k P'_k + E_x \quad (11)$$

$$Y = UQ' + E_y = \sum u_k q'_k + E_y \quad (12)$$

3.7 Parâmetros de Mérito

O conceito de parâmetros de mérito é muito importante em calibração multivariada, em função da caracterização, comparação e desenvolvimento de novos métodos multivariados. A comparação entre uma nova metodologia e uma de referência é chamada de validação (OLIVIERI, 2009). A validação de metodologias analíticas é realizada através dos cálculos de parâmetros denominados de figuras de mérito.

As principais figuras de méritos para os métodos multivariados são: exatidão, precisão, robustez, ajuste de bias (VALDERRAMA, *et al.*, 2009). Estas métricas por sua vez foram empregadas neste trabalho e estão descritas a seguir:

3.7.1 Erro de calibração (*Root Mean Squares Error of Calibration, RMSEC*)

O RMSEC determina a concordância entre os valores estimados e os valores denominados de referência. E pode ser calculado através da Equação 13.

$$\text{RMSEC} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (13)$$

Em que N é o número de amostras, y_i o vetor de referência que contém a concentração do analíto de interesse e \hat{y}_i é o vetor que contém os valores de previsão da concentração dada pelo modelo (GUIMARÃES, 2014).

3.7.2 Exatidão da técnica (*Root Mean Squared Error of Prediction, RMSEP*)

A validação do modelo PLS, final é obtido através do teste de precisão de valores em um conjunto de amostras de testes, que não foram utilizadas na calibração. Por diferença ente os valores previstos e medidos, expressa através do valor de RMSEP estabelecido pela equação (14):

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (14)$$

Onde, n é o número de amostras do conjunto de teste, y_i o valor medido da amostra i e \hat{y}_i o valor previsto pelo modelo para a mesma amostra i . O modelo pode ser aplicado a novos dados em que y , tenham sido medidos por métodos de referência (PASQUINI, 2003).

3.7.3 Erro Padrão de *calibração* (*Standard Error of Calibration, SEC*)

O erro de calibração SEC é determinado pela equação (15). Tem a função de avaliar o quanto o modelo PLS é capaz de prever concentrações a partir dos dados utilizados na construção do modelo (KONZEN, *et al.*, 2003).

$$SEC_{Cal} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i^{estimado} - \hat{y}_i^{observado,c})^2}{n}} \quad (15)$$

Sendo y_i e \hat{y}_i são respectivamente os valores de referência e estimado para a i -ésima amostra e n o número de amostras.

3.7.4 Erro padrão de previsão (*Standard error of Prediction SEP*)

O principal objetivo da SEP é determinar um número ótimo de variáveis latentes, para serem empregadas na previsão da concentração de novos analítos (INÁCIO, 2010).

$$SEP_{prev} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i^{estimado} - \hat{y}_i^{observado,t})^2}{n}} \quad (16)$$

Em que: $\hat{y}_i^{(observado, t)}$, são os valores das concentrações verdadeiras dos analítos nas amostras de previsão, e $y_i^{(estimado)}$ são os respectivos valores de y estimados pelo modelo.

3.7.5 Teste de Bias para erros sistemáticos

De acordo com a IUPAC, Bias representa a diferença média entre os valores de predição e os medidos de y para I_t amostras do conjunto de validação:

$$bias = \frac{\sum_{i=1}^{I_t} (\hat{y} - y_{ref})}{I_t} \quad (18)$$

Uma recomendação para modelos de calibração multivariada é calcular o Bias e avaliar a significância estatística. Pode ser calculado da seguinte forma:

$$t_{bias} = \frac{|bias| * \sqrt{I_t}}{SEP} \quad (19)$$

A regra de decisão é: Se $t_{bias} >$ que o valor crítico da estatística t-Student a um dado nível de confiança e I_t-1 graus de liberdade, então há evidência de que o bias é significativo, ou seja, os erros sistemáticos do modelo não seriam significativos. Logo se Bias é pequeno, $RMSEP \approx SEP$ (BRAGA & POPPI, 2004).

3.7.6 Razão para o desvio de previsão (*Ratio of Performance to Deviation RPD*)

A avaliação do modelo pode ser dada através da razão entre o desvio padrão dos valores de referência e o erro padrão da previsão ou validação cruzada (SEP ou SECV), (WILLIAMS & SOBERING, 1993). Neste caso foi desenvolvido de acordo com a equação 20.

Segundo, Dunn *et al.* (2002) e Chang *et al.* (2001), Considerando os valores de RPD o modelo é ser classificado em três categorias:

- a) valores de RPD acima de 2,0 considerado como modelos excelentes;
- b) de 1,4 à 2,0 modelos aceitáveis;

c) e menor que 1,4 modelos não confiáveis.

$$RPD = \frac{\text{desvio-padrão}}{SEP} \quad (20)$$

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Caracterizações da Área de Estudo

O estudo foi realizado com 190 amostras coletadas de áreas representativas de todo o território do Estado do Acre (Figura 2). A seleção das amostras foi realizada aleatoriamente, mas de modo a incluir a diversidade de classes de solos, textura, mineralogia, manejo de solo e teores de nutrientes e principalmente variações no teor de carbono orgânico.

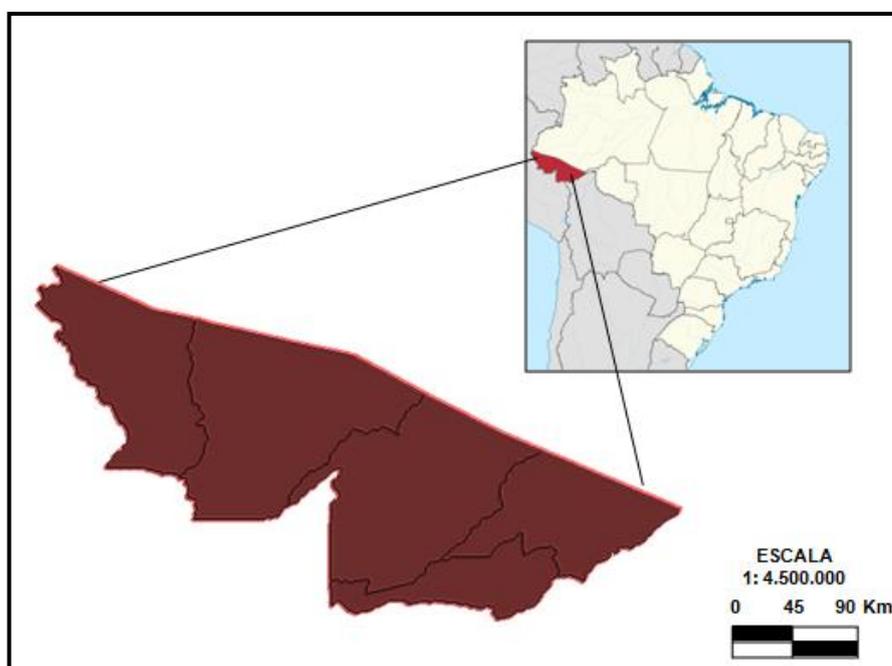


Figura 2: Mapa de localização do Estado do Acre (IBGE,2015)

4. 2 Desenvolvimento Experimental

A seleção das amostras foi realizada de modo a incluir no universo amostral materiais de solos com diferentes granulometrias, características de cor e variações no teor de carbono orgânico, verificadas após amostragem preliminar.

Por cada unidade amostral (amostra de solo armazenada na condição de terra fina seca ao ar) foram tomadas aproximadamente 50 g para análise pelos procedimentos de espectroscopia NIR. Destas mesmas amostras, subamostras de aproximadamente 5 g foram subtraídas para as análises de carbono posteriores pelos Métodos de Walkley & Black (1934)- WB e Análise Elementar (CHNS/O) e, devolvendo-se o restante do material ao sistema de armazenagem (aproximadamente 45 gramas).

4.3 Análises estatística utilizadas

Após os procedimentos laboratoriais, os resultados analíticos dos métodos convencionais foram analisados estatisticamente através da correlação de Pearson, usando o Programa SAS, considerando o teor de carbono obtido pelo método de determinação elementar como variável independente. O fator de correção do método de Walkley & Black foi calculado, levando em consideração a análise elementar como referência, conforme recomendado por Gato (2009). O fator foi obtido com base na equação (21).

$$F = Y/Y_1 \quad (21)$$

Em que f = fator de correção; Y = teor de C do solo determinado pelo método elementar; e Y_1 = teor de C do solo determinado pelo método WB.

5. DETERMINAÇÃO DE CARBONO PELOS MÉTODOS CONVENCIONAIS

Foram usados dois métodos convencionais; o método de oxidação úmida de Walkey & Black (1934) e elementar. As análises pelo primeiro método foram realizadas em triplicatas no laboratório de solos da Embrapa Acre, e pelo método elementar em duplicatas no laboratório de solos da Embrapa Solo, conforme descritos a seguir.

5.1 Método Walkley & Black (1934) – WB

Esse método consiste naquele usado em rotina nos laboratórios de fertilidade do solo que utilizam os procedimentos propostos por Walkley & Black (1934) em suas diversas variações.

Para determinação do teor de carbono pesou-se 0,5 g de solo por amostras passadas em peneira de 2,00 mm e posteriormente transferidas para um erlenmayer de 250 mL, adicionando-se 5 mL da solução de $K_2Cr_2O_7$ 0,166 mol L⁻¹ e 10 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. Posteriormente o erlenmayer foi agitado levemente com o objetivo de misturar o solo aos reagentes e deixada para resfriar em condições ambiente.

Após o resfriamento adicionou 3 mL de ácido fosfórico (H₃PO₄) concentrado e 47 mL de água destilada e 10 gotas do indicador difenilamina.

A titulação do excesso de dicromato foi realizada com sulfato ferroso amoniacal [$(NH_4)_2 Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$] a 0,2 mol L⁻¹, titulando a amostras até atingir o ponto de viragem, indicado pela passagem da coloração escura para esverdeada, significando que todo dicromato hexavalente foi reduzido a trivalente.

5.2 Análise elementar (CHNS/O)

Para cada amostra foi pesada cerca de 25 mg após macerada em almofariz de ágata. Posteriormente, as amostras foram submetidas a uma temperatura de cerca de 1000 °C no aparelho CHNS/O no laboratório de solos da Embrapa Solos. Nessa temperatura todo carbono foi convertido e dióxido de carbono que quando passa pelo detector do aparelho é convertido em porcentagem de carbono.

6. OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)

As amostras foram analisadas em uma *Small Camp* (cubeta cilíndrica) de quartzo com 50 mm de diâmetro. Os espectros de todas as amostras foram retirados em duplicatas com a média de 64 varreduras. O modo de leitura dos espectros foi dado por refletância formando um espectro de 4200 pontos com resolução espectral de 2,0 nm no intervalo de 400 a 2400nm. Posteriormente convertidos em absorvância (A), sendo $A = \log [1/R]$. Em que R= é a reflectância em cada comprimento de onda.

6.1 Construção do Modelo de Calibração

Os perfis espectrais foram adquiridos no laboratório de Bromatologia da Embrapa Acre em um espectrofotômetro de infravermelho próximo modelo Foss NIRSystems DS2500 (Hillerød, DK, Dinamarca), no intervalo de 400 nm a 2500nm. Os dados espectrais foram armazenados no Isiscan 4.5, e posteriormente transferidos e organizados em planilha eletrônica do Microsoft Excel (2010 e a seguir, importados para software Unscrambler X (CAMO, Noruega, NO), para interpretação dos espectros no laboratório de Quimiometria da Embrapa Cerrados.

No laboratório, os espectros foram tratados com transformação centradas na média, com objetivo de eliminar as variações e os efeitos instrumentais. Depois, foram pré-tratados por diferentes métodos de calibração multivariados (variação normal padronizada (SNV) e dentred correlation, derivadas primeira e segunda, método *Savitzky-Golay* de alisamento, correção de Sinal multiplicativo (MSC) e ajuste da linha de base). Estes testes tiveram como objetivo tanto ressaltar as características dos espectros, como verificar e comparar os melhores resultados, para classificação por análise de componentes principais (PCA), visando encontrar similaridade entre as amostras e detectar amostras anômalas (*outliers*). Finalmente, foi utilizada PLS para detectar tendências nos dados (VALDERRAMA, *et al.*, 2009). A validação dos modelos foi dada a partir do RMSEC, RMSEP, BIAS, R^2 , e RPD (JACONI, 2011).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Teores de carbono pelos métodos convencionais

Os teores de carbono pelo método de WB variou de 0,33 a 26,28 g kg¹ com média de 5,93 g kg⁻¹ (Tabela 1). O coeficiente de variação médio foi 6,35 %. No método de análise elementar o teor de carbono médio foi de 9,29, variando de 1,6 a 48,90. Para esse método o coeficiente de variação médio foi 4,92 % (Tabela 1).

Tabela 1- Carbono orgânico obtido pelos métodos de referência análise elementar (CHNS/O), Walkley & Black (WB).

Métodos	Valor	Valor	Média	DP
	Máximo	Mínimo		
$C_{CHNS/O}$	48,90	1,60	9,29	8.84
C_{WB}	26,28	0,33	5,93	5.50

Em ambos os métodos os valores dos coeficientes de variação médios foram abaixo de 10 %, mantendo-se praticamente constante independente do teor de carbono (Figura 3).

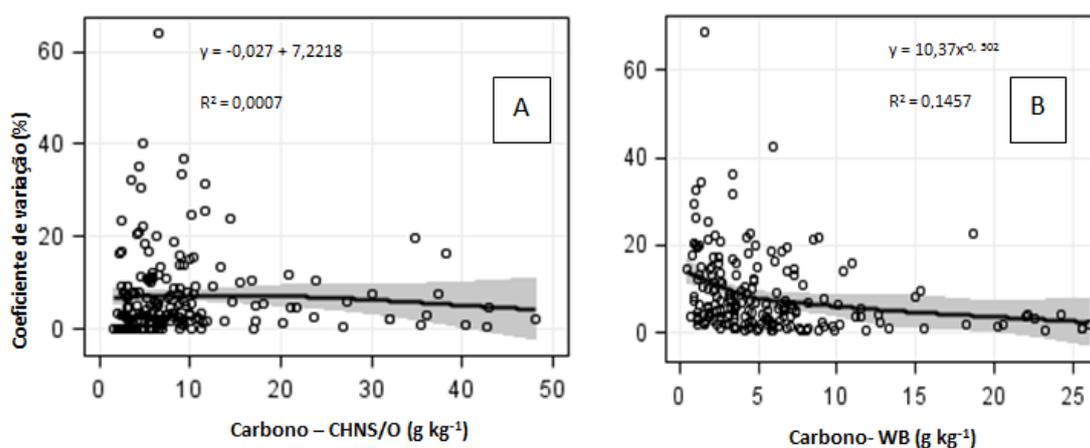


Figura 3: Coeficiente de variação dos dois métodos testados. A: Método de análise elementar; B: oxidação por dicromato em meio ácido.

Quando os teores de carbono foram comparados entre os dois métodos e considerando o método analisador elementar como sendo o método que determina 100 % do carbono no solo, verificou-se que o método WB determinou, em média, apenas 64 % do carbono existente no solo.

Essa determinação parcial do carbono existente no solo pode ser devido ao fato de que o método de WB oxida parcialmente as formas de carbono no solo, não sendo eficiente em oxidar o carbono presente, principalmente, nos carvões e nos carbonados (Conyers *et al.* (2011).

Entretanto, o valor de recuperação de carbono pelo método de WB usado no presente trabalho está de acordo com os dados da literatura, onde essa recuperação variar de 60 a 86%.

Adotando-se a metodologia proposta por Gatto *et al.*, (2009) que considera o método elementar como referência, o fator de correção para os solos do Acre quando a análise for realizada por WB deve ser de 1,59.

Vale ressaltar que no laboratório de solos da Embrapa Acre, responsável por grande parte das análises do estado, adota-se o método de WB, atribuindo um fator de correção de 1,32, cujo valor foi o proposto pelos próprios autores do método de WB para compensar a oxidação parcial do carbono.

Assim, para que se possam corrigir os valores a fim de comparação de resultados entre o método adotado no referido laboratório e o método de referência faz-se necessário a aplicação do fator adicional de 1,20 nos resultados obtidos até o momento, para que se possa efetivamente ter uma estimativa mais precisa do carbono presente nos solos.

Pela análise de correlação observa-se que houve alta correlação entre os métodos, apresentando R^2 de 0,90 (Figura 4), indicando que o método do WB pode ser utilizado para determinar o carbono no solo, aplicando-se o fator de correção de 1,59.

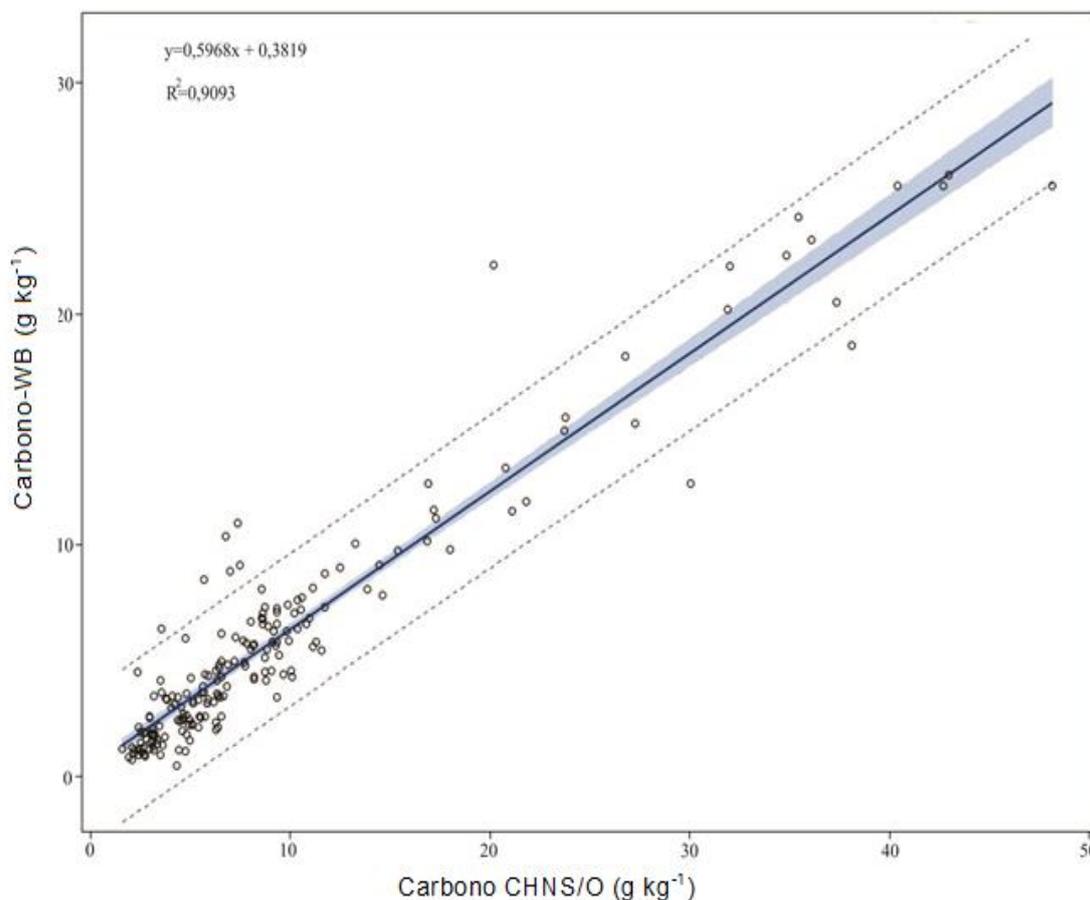


Figura 4: Correlação entre os teores de carbono em amostras de solos do Estado do Acre determinado pelos métodos elementar e oxidação com dicromato. WB: Walkley e Black (1934).

7.2. Análise Quimiométrica

Os espectros das 190 amostras (Figura 5) foram automaticamente convertidos a $\log(1/R)$ sendo R a refletância. Isto permite assumir que R possui variação mínima e conseqüentemente atende a Lei de Beer, dado o comportamento linear dos analitos. Todavia, os grupos OH, CH, NH e CO presentes na matéria orgânica são responsáveis pelas vibrações ou estiramento das ligações químicas presentes nos espectros (MARCHÃO *et al.*, 2011).

Assim, os picos de absorção a 1.400 nm originam-se em virtude tanto das vibrações das moléculas de água como de

hidroxilas (OH), os da faixa de 1.900 nm são oriundos da presença de água (MARCHÃO, *et al.* 2011). Os picos mais intensos da faixa de 2.200 nm a 2.300 nm são característicos da mineralogia do solo, principalmente de caulinita em 2.200 nm (DIAS, *et al.* 2014) e de gibbsite na faixa de 2. 265 nm (OLIVEIRA, *et al.* 2011).

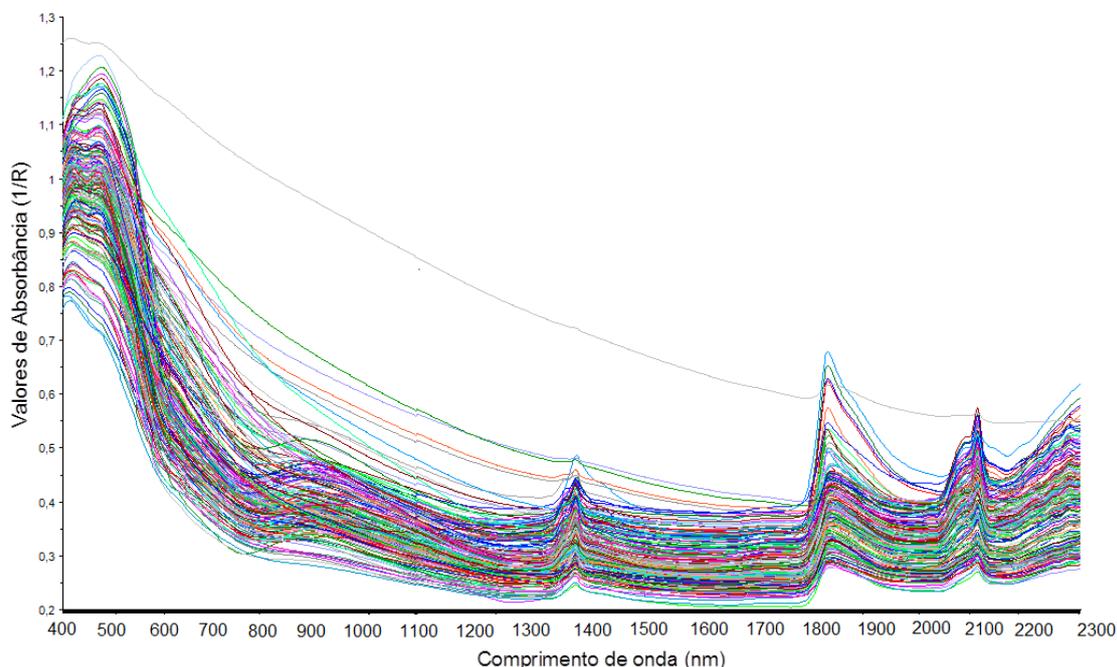


Figura 5: Espectros das 190 amostras das diferentes classes de solo do Acre

Os dados espectrais foram pré-tratados inicialmente utilizando o método *Savitzky e Golay* com o objetivo de reduzir o ruído instrumental (Figura 6). Posteriormente os espectros foram todos centrados na média, submetidos a 1ª e 2ª derivadas, para eliminar possíveis variações indesejadas, onde a primeira eliminou os desvios constantes das linhas de base e a segunda removeu a variação linear da linha de base oriundas dos espalhamentos de luz.

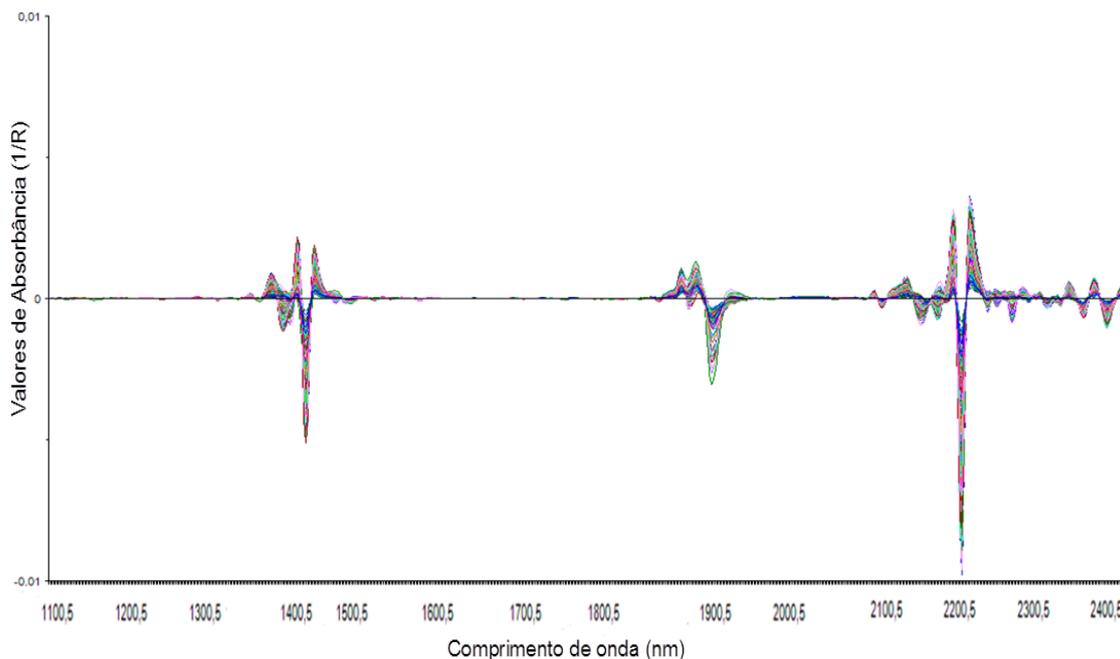


Figura 6: Espectros pré-processados por: 1ª 2ª e derivada de Savitzky-Golay com janela de 15 pontos e polinômio de segunda ordem

7.3 Análise exploratória

A análise exploratória dos dados foi realizada através do método de Análise de Componentes Principais (PCA), considerando o critério da elipse de Hotelling a 5%, dezesseis amostras, foram identificadas pelo software a margem do padrão da população, estas por sua vez foram eliminadas do modelo de calibração por serem consideradas “*outliers*” (Figura 7). Aplicando a PCA, foi possível esclarecer através de ambas as componentes (PC1 e PC2), 87% da variabilidade total dos solos analisados.

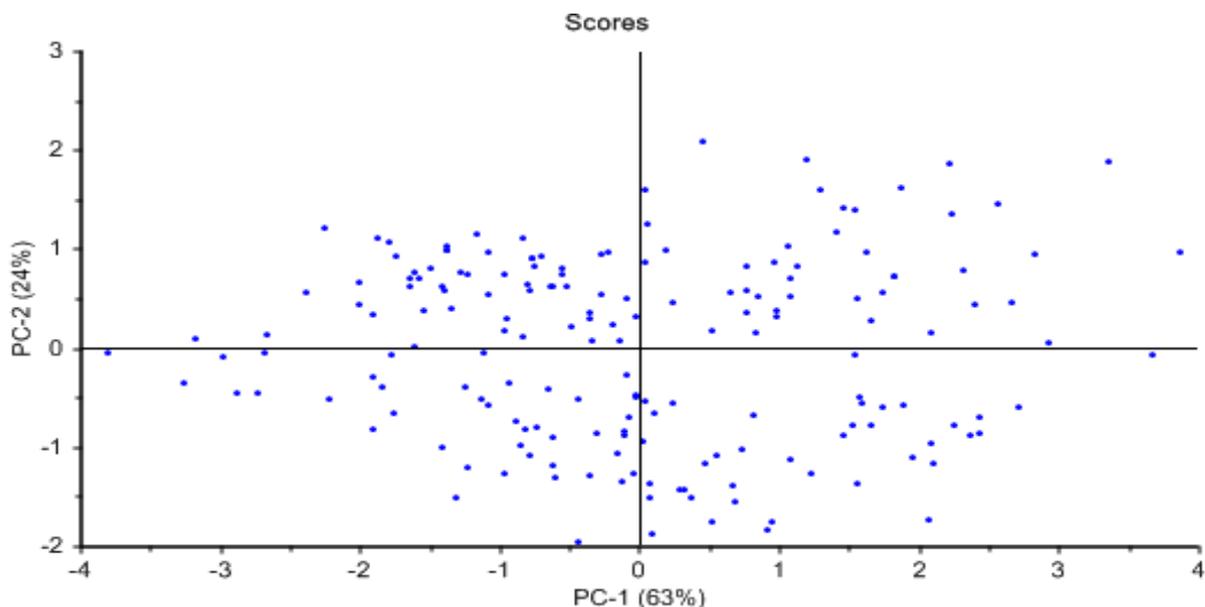


Figura 7: Gráfico “biplot” resultante da análise de componentes principais (PCA) com as coordenadas das 190 amostras indicando ainda “outliers” espectrais.

7.4 Calibração multivariada

Realizada a PCA, a construção da regressão por mínimos quadrados parcial (PLS) foi desenvolvida para avaliar o teor de carbono do solo. O modelo mais preciso para estimar os resultados de carbono foi o SNV combinado com Polinômio de segunda ordem, uma vez que este apresentou menores valores de RMSEC, e RMSEP, além dos coeficientes de determinação de calibração e validação (R^2) mais elevados em relação aos demais (Tabelas 2 e 3).

Este por sua vez, proporcionou erros padrões de calibração (SEC) para os modelos de $3,61 \text{ g kg}^{-1}$ para análise elementar, $1,18 \text{ g kg}^{-1}$ para Walkley & Black, e coeficientes de determinação para calibração de (R^2 cal) 0,81 e 0,94 respectivamente.

Com base nos valores de RPD (Tabela 3), o modelo de calibração utilizando a análise elementar como método de referência mostrou-se ser um modelo excelente para análise de solos acreanos

de acordo com os critérios de Dunn *et al.* (2002) e Chang *et al.* (2001).

O método Walkley e Black, forneceu um erro menor na calibração e maior coeficiente de regressão (Tabela 2). Estes resultados podem ser atribuídos, a quantidades de solos utilizados no WB serem bem maiores, portanto não tende a comprometer a representatividade de cada amostra, diferentemente do método CHNS/O, que utiliza quantidades muito pequenas do analito o que possivelmente pode ter comprometido a representabilidade amostral.

Contudo, o modelo utilizando o método Walkley & Black como referência apresentou, um RPD, igual a 1,4 considerado, portanto um modelo com falha, porém aceitável de acordo com Chang *et al.* (2001), o que leva a considerar uma nova calibração, com um número maior e mais diversificados de amostras.

Tabela 2 - Figuras de mérito para a avaliação do modelo de calibração

Metodologias	Calibração				
	n	RMSEC	SEC	R ² _{cal}	BIAS
NIR x CHNS/O	142	3,59	3,61	0,81	0,02
NIR x W&B	133	1,18	1,18	0,94	0,04

Legenda: n = número de amostras de cada conjunto; RMSEC = erro quadrático médio de calibração; SEC = erro padrão de calibração; R²_{cal} = coeficiente de determinação de calibração; Bias = erros sistemáticos do modelo.

Porém, os valores de R²_{val} externa (Tabela 3) encontrados para Walkley & Black e análise elemental, foram considerados dentro do limite de valores aceitáveis e bons, respectivamente, segundo Sayes *et al.* (2005):

- a) Valores de R² entre 0,50 e 0,65 indicam a possibilidade de discriminação de altas e baixas concentrações no modelo;
- b) Para valores de R² de 0,66 a 0,80 indicam modelos aceitáveis;

- c) De 0,81 a 0,90 indicam modelos bons, e por fim, valores maiores que 0,9 indicam excelentes modelos de predição.

Tabela 3- Figuras de mérito para a avaliação de Previsão

Metodologias	Validação externa				
	n	RMSEP	R ² _{val}	SEP	RPD
NIR x CHNS/O	39	4,10	0,85	4,14	2,13
NIR x W&B	47	3,69	0,76	3,71	1,4

Legenda: n = número de amostras de cada conjunto; RMSEP = Erro quadrático médio de previsão; SEP = erro padrão de previsão; R²_{val} = coeficiente de determinação de validação; RPD = erro de desvio de performance (DP/SEP ou SECV).

Analisando ainda a ocorrência de “bias”, nota-se que os valores de RMSEP e SEP se aproximam (Tabela 3). Isso indica que os erros sistemáticos presentes nos modelos são insignificantes estatisticamente falando, de modo que podem ser desprezados. E ambos os modelos possuem ausência de tendências sistemáticas nos resultados.

Analisando os valores de RMSEC, em relação à RMSEP além de menor e possui pequena diferença quando se utiliza o método de análise elementar como referência (Figura 8), o que caracteriza uma coerência ao modelo, uma vez que os modelos não podem fazer previsões maiores que a calibração. Além de caracterizar um modelo com boa exatidão (GUIMARÃES, 2014).

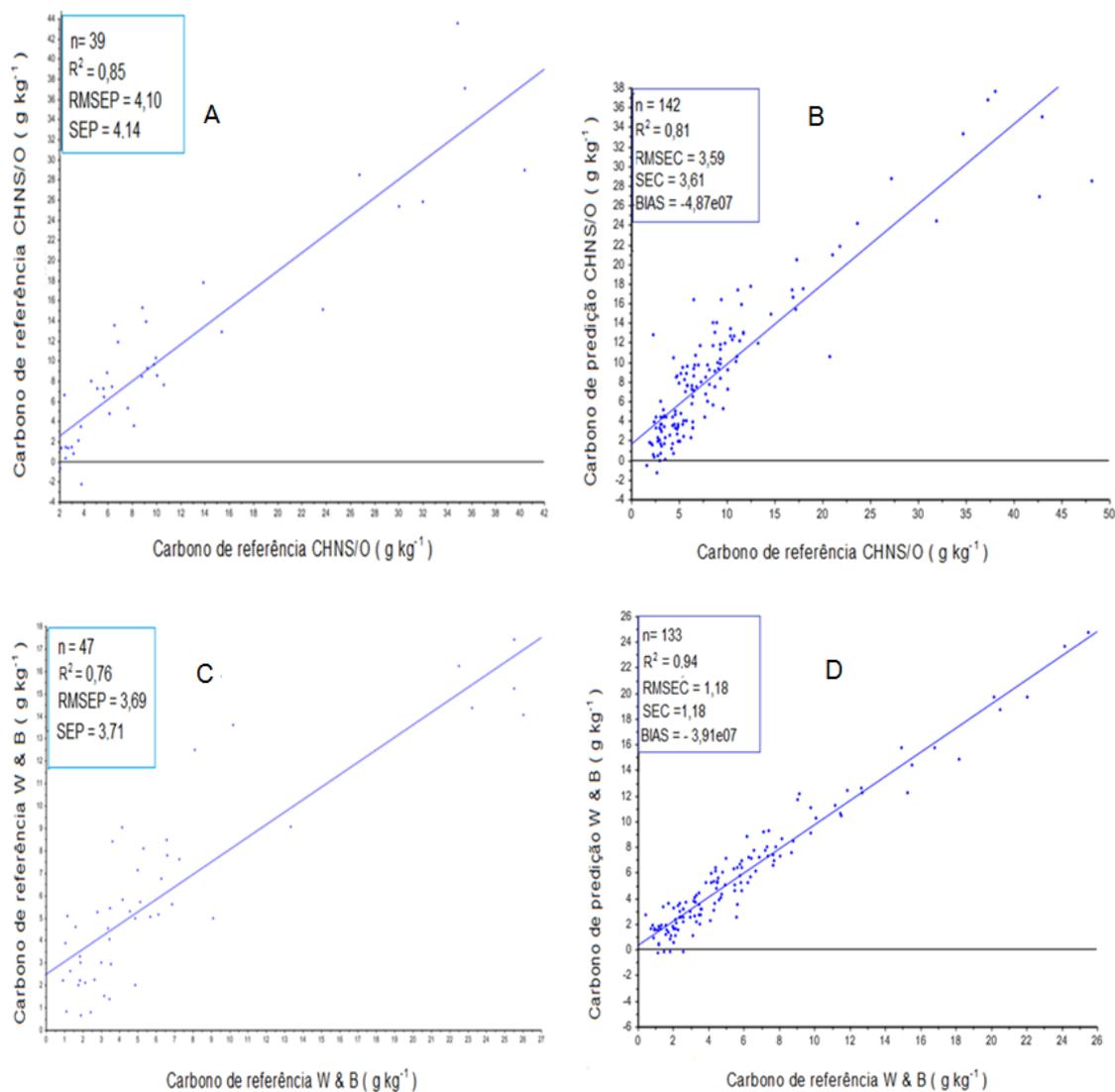


Figura 8: Curvas de calibração e validação: (A e B) CHNS/O, (C e D) W&B.

Em contrapartida, quando comparamos as curvas de calibração e validação para a determinação dos teores de carbono pelo método Walkley & Black, quando previsto pela espectroscopia NIR e PLS, este por sua vez apresenta valores de RMSEP (erro de previsão), muito superior a RMSEC (erro de calibração), (Figuras 8C e 8D), estes resultados revelam que o modelo global tende a superestimar os resultados (PARISOTTO, 2009).

8. CONCLUSÃO

- a) O modelo desenvolvido para análise de carbono de solos acreanos por espectroscopia NIR, associada à análise multivariada por PLS utilizando o método de análise elementar como referência apresentou-se dentro de uma classificação boa, de acordo com os valores de R^2 , e com base nos valores de RMSEC e RMSEP e RPD, o modelo demonstrou excelente.
- b) O modelo utilizando, Walkley & Black como referência apresentou RMSEC e RMSEP, indicando tendência em superestimar a concentração de carbono, porém, ainda aceitável com base nos valores de R^2 e RPD.
- c) Com relação aos valores de bias apresentados; ambos os modelos não apresentam erros sistemáticos significantes.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, R. A.; JOFFRE, R.; GROS, R.; PETIT, J.L.; TERROM,G.; PÉRISOL, C. Efficiency of near-infrared reflectance spectroscopy to assess and predict the stage of transformation of organic matter in the composting process. **Bioresource Technology**. Essex. 99: 448-455.2007.

AMARAL, E. F. Caracterização pedológica das unidades regionais do estado do Acre. **Embrapa Acre. Circular Técnica**, 2000.

ANJOS, L. H. C; SILVA, L. M.; WADT, P.G.S. Guia de Campo da IX Reunião Brasileira de Classificação e Correlação de Solos. Rio Branco, AC: SBCS, 2010.

BARROS, J. D. D. S. Contribuições da Matéria Orgânica do Solo para Mitigar as Emissões Agrícolas se Gases de Efeito Estufa. **POLÊM! CA**, 12: 341-35, 2013.

BELLON-MAUREL, V.; FERNANDEZ-AHUMADA, E.; PALAGOS, B.; ROGER, J.M.; MCBRATNEY, A. Cistal review of chemometric indicador commonly used for assessing the quality of prediction of soil attributes by NIR Spectroscopy. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, 29:1073-1081, 2010.

BEN-DOR, E.; BANIN, A. Near infrared analysis (NIRA) as a method to simultaneously Evaluate spectral featureless constituents in soils. **Soil Science**, Baltimore, 159:259-270, 1995b.

BEN-DOR, E.; BANIN, A. Near infrared analysis as a rapid Method to Simultaneously Evaluate Several Soil Properties. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, 59:364-372, 1995a.

BRAGA, J. W. ; POPPI, R. J. Validação de modelos de calibração multivariada: uma aplicação na determinação de pureza polimórfica de carbamazepina por espectroscopia no infravermelho próximo. **Química Nova**, 27: 1004-1011, 2004.

BRERETON, R. G. Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. West Sussex: John Wiley & Sons, 2003.

CALONEGO, J. C.; SANTOS, C. H.; TIRITAN, C. S.; JÚNIOR, J. R. C. Estoques de carbono e propriedades físicas de solos submetidos a diferentes sistemas de manejo. **Revista Caatinga**, 25: 128-135, 2012.

CARMO, D. L.; SILVA, C. A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. *Revista Brasileira de Ciência Solo*, 36: 1211-1220, 2012.

CEZAR, E. ; NANNI, M. R.; DEMATTÊ, J.A. M.; CHICAT, M. L.; OLIVEIRA, R. B. Estimativa de atributos do solo por meio de espectrorradiometria difusa. 37:858-868, 2013.

CHANG, C. W.; LAIRD, D. A.; MAUSBACH, M. J.; HURBURGH, C. R..Near-infrared reflectance spectroscopy–principal components regression analyses of soil properties. **Soil Science Society of America Journal**. 65:480-490, 2001.

CHATTERJEE, A.; LAL R.; WIELOPOLSKI, L.; MARTIN, M.Z.; EBINGER, M.H. Evaluation of different soil carbon determination methods. **Critical Reviews in Plant Science**, 28 :164-178, 2009.

CHIG, L. A.; COUTO, E. G.; NOVAES, F. J. P.; RODRIGUES, L. C. M.; JOHNSON, M. S.; WEBER, O. D. S. Distribuição espacial da granulometria, cor e carbono orgânico do solo ao longo de um transecto em microbacias na Amazônia meridional. **Acta Amazônica, Manaus, AM**, 38: 715-722, 2008.

Comportamento espectral de solos d região de Piracicaba com base em amostras naturais e preparadas em laboratório. In: **Universidade Federal de Alfenas em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE GEOGRAFIA, I., 2014,. Minas Gerais. Anais... Alfenas: INPE, 2014, 2014.

CONCEIÇÃO, M.; MANZATTO, C.V.; ARAÚJO, W.S.; MARTIN NETO, L.; SAAB, S.C.; CUNHA, T.J.F.; FREIXO, A.A. Estudo comparativo de métodos de determinação do teor de matéria orgânica em solos orgânicos do estado do Rio de Janeiro. Comunicado Técnico, Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. Disponível em:<http://ww.cnpes.embrapa.br/publicações/pdfs/pesquandamen03_1999.pdf> Acesso em: 21 jan. 2015.

CONYERS, M. K.; POILE, G. J.; OATES, A. A.; WATERS, D.; CHAN, K. Y. Comparison of three carbon determination methods on naturally occurring substrates and the implication for the quantification of soil carbon. **Soil Research**, 49:27-33, 2011.

CORSI, S.; FRIEDRICH, T.; KASSAM, A.; PISANTE, M.; SÀ, J.M. Soil organic carbon accumulation and carbon budget in conservation agriculture: a literature review. *Integrated Crop Management*, 16:1-41, 2012.

COSER, T. R.; FIGUEIREDO, C. C.; RAMOS, M. L. G.; JANNUZZI, H.; MARCHÃO, R. L. Carbon Recovery Obtained By Three Methods In Organic Matter Fractions of Latosol Under Maize-Grass Intercropping In The Cerrado. **Bioscience Journal**, 28:91-97 2012.

DAVIS, T The History of Near Infrared Spectroscopy Analysis: Past, Present and Future-from Sleeping Technique to the Morning Star of Spectroscopy. **Analisis Magazine**, [S.1], 26:17-18,1998.

DUNN, B.W.; BEECHER, H.G.; BATTEN, G.D.; CIAVARELLA, S. The potential of near-infrared reflectance spectroscopy for soil analysis — a case study from the Riverine Plain of south-eastern Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, 42:607-614. 2002.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

FERNANDES, F.A.; FERNANDES, A.H.B.M.; BUENO SOBRINHO, A.A.; MONTEIRO, H. de C.; SILVA, A.C.G. Uso de espectrometria de refletância no infravermelho próximo (NIRS) na análise de carbono de Neossolos do Pantanal. **Comunicado Técnico**, ISSN 1981-7231, dezembro 2010. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/COT86.pdf>> Acesso em: 17 fev. 2015.

FERRARESI, T. M. **Espectroscopias de infravermelho próximo e médio na quantificação de atributos do solo, com ênfase na matéria orgânica e na biomassa microbiana**. 2010. 121f. (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

FIDÊNCIO, P.H. **Análise de Solos por Espectroscopia no Infravermelho Próximo e Aplicação de Métodos Quimiométricos**. 2001. 138f. Tese (Doutorado em Química Analítica). UNICAMP-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

FILGUEIRAS, P. R.; SOUZA, A. M., POPPI, R.; COELHO, M.; PARÉS, J.; CUNHA, T.; DART, R. D. O. Avaliação de modelos de calibração PLS e SVM na determinação do carbono orgânico do solo por espectroscopia NIR. In: **Embrapa Solos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 35, Águas de Lindóia, SP, 2012. Águas de Lindóia: SBQ, 2012.

FONSECA, J. C. L.; SILVA, M. R. A.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P.; MARCHI, M. R. R. Avaliação da confiabilidade analítica das determinações de carbono orgânico total (COT). **Eclética Química**, 31: 47-52, 2006.

FUENTES, Mariela et al. NIR spectroscopy: An alternative for soil analysis. **Communications in soil science and plant analysis**, 43: 346-356, 2012.

GATTO, A.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; SILVA, I.R.; SÁ MENDONÇA, E.; VILLANI, E.M.A. Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos cultivados com eucalipto. *Revista Brasileira Ciências do Solo*, 33:735-740, 2009.

Ge Y.; MORGAN, C. L.S.; GRUNWALD, S.; BROWN, D. J.; SARKHOT, D.V. Comparison of soil reflectance spectra and calibration models obtained using multiple spectrometers. *Geoderma*, 161:202–211, 2011.

GERZABEK, M. H. ANTIL, R. S.; KOGEL-KNABNER, I.; KNICKER, H.; KIRCHMANN, H. HABERHAUER, G. How are soil use and management reflected by soil organic matter characteristics: a spectroscopic approach. *European Journal of Soil Science*. 57:485-494, 2006.

GRUNWALD, S. Soil total carbon analysis in Hawaiian soils with visible, near-infrared and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Geoderma*, 190:312-320, 2012.

GUIMARÃES, E. **Aplicação de espectroscopia no infravermelho médio e calibração multivariada para quantificação de adulterantes em biodieséis de óleo de soja e residual e suas misturas com diesel**. 2014. 72f. (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://mapas.ibge.gov.br/tematicos/solos> > Acesso em: 26 jun. 2015

INÁCIO, M.R.C. **Ferramentas quimiométricas aplicadas a classificação de amostras de leite em pó e quantificação de proteínas**. 2010. 119f. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

IWATA, B. de F.; LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. F.; BRASIL, E. L.; COSTA, C. do N.; CAMPOS, L. P.; SANTOS, F. S. R. dos. Carbono

total e carbono microbiano de um Latossolo Vermelho-Amarelo sob sistemas agroflorestais e agricultura de corte e queima no cerrado piauiense.. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 18, 2010, Teresina. **Anais...** Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 2010. CDRom.

JACONI, A. **O uso da espectroscopia no infravermelho próximo na quantificação de carbono em solos sob cultivo de cana-de-açúcar.** 2011. 52f. Dissertação (Mestrado em Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

KNOX, N. M.; McDOWELL, M. L. ; BRULAND, G. L. ; DEENIK, J. L.

KONZEN, P. H. D. A.; FURTADO, J. C.; CARVALHO, C. W.; FERRÃO, M. F.; MOLZ, R. F.; BASSANI, I. A.; HÜNING, S. L. Otimização de métodos de controle de qualidade de fármacos usando algoritmo genético e busca tabu. **Pesquisa operacional**, 23: 189-207 2003.

MACHADO, P. L. O. A. Carbono do solo e a mitigação da mudança climática global. **Química Nova**, 28: 329-334,2005.

MACHADO, P. L.O.; CAMPOS, A.C.; SANTOS, F. S. Métodos de Preparo de Amostras e de Determinação de Carbono em Solos Tropicais. Circular Técnica- Embrapa Solos, Rio de Janeiro, 2003.

MARCHÃO, R.L.; BECQUER, T.; BRUNET, D. **Predição dos teores de carbono e nitrogênio do solo utilizando espectroscopia de infravermelho próximo.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011, 21 p. — (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Cerrados. ISSN 1676-918X, ISSN online 2176-509X; 304).

MCCARTY, G.W.; REEVES III, J.B.; YOST, R.; DORAISWAMY, P.C.; DOUMBIA, M. Evaluation of methods for measuring soil organic carbon in West African soils. **African Journal of Agricultural Research**, 5:2169-2177, 2010.

MCCARTY, G.W.; REEVES III, J.B.; YOST, R.; DORAISWAMY, P.C.; DOUMBIA, M. Evaluation of methods for measuring soil organic carbon in West African soils. **African Journal of Agricultural Research**, 5:2169-2177, 2010.

MELO, A. W. F. Avaliação do estoque e composição isotópica do carbono do solo no Acre. 2003. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

MENDONÇA, E. S. MATOS, E.S. **Matéria Orgânica do Solo: Matéria Orgânica do Solo Método de Análises-** Viçosa- MG: Editora D&M, 2005.107p.

MILNE, E. Soil organic carbon. In The encyclopedia of earth. Disponível em: <<http://www.eoearth.org/view/article/156087/>>, Acesso em: 25 jun.2014.

MOREIRA, F.M.S. SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2ª ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

NETO, M. M. G.; SIMEONE, M. L. F.; GUIMARÃES C. C.; ANDRADE, H. M.; QUEIROZ, L. R. SIMÃO, E. P. Predição do Teor de Carbono Total em Solos de Áreas Experimentais de integração de lavouras-Pecuária por Meio da Espectroscopia NIR. Minas Gerais. **Comunicado Técnico**, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo,2012.Disponível em:<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/953275/1/ct201.pdf>> Acesso em 25 jun.2014..

OLIVEIRA, C. F.; DE JESUS, T. B.; BORGES, E. F.; CUNHA, T. J. F. Comportamento espectral do solo da Caatinga em diferentes tipos de manejos. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 15., 2011, Curitiba. Anais... São José dos Campos: INPE, 2011., 2011.

OLIVEIRA, C. F.; DE JESUS, T. B.; BORGES, E. F.; CUNHA, T. J. F. Comportamento espectral do solo da Caatinga em diferentes tipos de manejos. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 15., 2011, Curitiba. Anais... São José dos Campos: INPE, 2011., 2011.

PARISOTTO, G. MARQUES, M.; HERMES, A. L.; FLORES, E. M. M.; FERRÃO, M. Desenvolvimento de metodologias no infravermelho aplicadas para a quantificação de cloridrato de metformina em formulações farmacêuticas. **Orbital**. 1:38-48, 2009.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 14:198–219, 2003.

PEREIRA; M. G. (editores). Guia de Campo da IX Reunião Brasileira de Classificação e Correlação de Solos. Rio Branco: SBCS, 2010.

PHILLIPS, S. C.; JOHNSON, J. E.; MIRANDA, E.; DISENHOF, C. Improving CHN measurements in carbonate-rich marine sediments. **Limnology and Oceanography: Methods**, 9:194-203, 2011.

PRADO, A. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, 26: 738–744, 2003.

PRIMO, D. C.; MENEZES, R. S. C; SILVA, T. O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. *Scientia Plena*, 7:1-13, 2011.

REZENDE, V. M. **Certificação de Beta-N-Metil-amino-anina: um modelo para produção de materiais de referência de substâncias orgânicas obtidas *in-house***. 2011. 105f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análise Toxicológicas)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2011.

RHEINHEIMER, D.S.; CAMPOS, B.H.C.; GIACOMINI, S.J.; CONCEIÇÃO, P.C.; BORTOLUZZI, E.C. Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32: 435-440, 2008.

ROCHA, G. C.; LI H.; HANG, X. Caracterização e Compartimentos do Carbono Orgânico em Latossolos da Região de Juiz de Fora, **Revista de Geografia**, 1:1-6, 2011.

RODRIGUES, J.S.C.; VASCONCELOS, S. S.; PEREIRA; M. E.; SOUZA, C.M.A.I. Methods for the determination of carbon in Ultisol in eastern Amazon. **Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, 56: 95-100, 2014.

RODRIGUES, M. A.; FERREIRA, M. C. Zoneamento ecológico-econômico, ordenamento territorial e dinâmica espacial do desmatamento da Amazônia brasileira entre 1999 e 2010: análise dos efeitos de instrumentos de política pública de meio ambiente no estado do Acre. In: 14^a ENCUENTRO DE GEÓGRAFOS DA AMÉRICA LATINA. Lima, 2013. Anais. Disponível em <http://www.egal2013.pe/wp-content/uploads/2013/07/Tra_Marco-Marcos.pdf> Acesso em 27 jun. 2014.

ROMAGNOLI, F.; NANNI, M. R.; NEIRO, E. S.; OLIVEIRA, R. B., CHICATI, M. L., CEZAR, E.; DEMATTÊ, J. A. M. Predição do Carbono Orgânico do solo por meio do Sensoriamento Remoto e duas técnicas de Análise multivariada. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO. Foz do Iguaçu, 2013. **Anais...** Disponível em: < <http://www.dsr.inpe.br/sbsr2013/files/p1486.pdf>> Acesso em 19 jan. 2015.

SAMPAIO, T. F.; FERNANDES, D. M.; GUERRINI, I. A.; BOGIANI, J. C.; BACKES, C. Comparação entre métodos para determinação de carbono orgânico em amostras de solo mensuradas por volume ou massa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 36:517-523 2012.

SANTOS, A. A. do E.; LIMA, J.S.; CARVALHO, G.C. de. Técnicas de aplicação de composto orgânico, proveniente de resíduos urbanos

domésticos, no desenvolvimento vegetal. VI Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental 2002.

SATO, J. H.; C. C. D., Marchão, R. L.; Madari, B. E., Benedito, L. E. C.; Busato, J. G.; Souza, D. M. D. Methods of soil organic carbon determination in Brazilian savannah soils. **Scientia Agricola**. 71: 302-308, 2014.

SATO, J.H. FIGUEIREDO, C. C.; MARCHÃO, R. L.; BENEDITO, L. E. C. Métodos de Determinação de Carbono Orgânico em Solos Cultivados e sob Vegetação Nativa de Cerrado. In: Embrapa Cerrados-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 30.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 14.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 12.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 9.; SIMPÓSIO SOBRE SELÊNIO NO BRASIL, 1., 2012, Maceió. A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola: anais. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2012, 2012.

SATO, M. V.; Franceschini¹, M. H. D.; Demattê, J. A. M.; Vicente, L. E. Aplicação de espectroscopia de reflectância VNIR-SWIR na quantificação de atributos do solo através de estatística multivariada. In: **Embrapa Monitoramento por Satélite-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 16. 2013.Foz do Iguaçu. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2013.

SAYES, W.; MOUAZEN, A.M.; RAMON, H. Potencial for onsite and online analysis of pig manure using visible and near infrared reflectance spectroscopy. **Biosystems Engineering, Cambridge**, 91:393-402, 2005.

SCHUMACHER, B.A. Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments. United States - Environmental Protection Agency, 2002. Disponível em:

<<http://www.epa.gov/esd/cmb/research/papers/bs116.pdf>> Acesso em: 26 jun. 2014..

SEGNINI, A.; SANTOS, L.M.; SILVA, W.T.L.; MARTIN-NETO, L.; BORATO, C.E.; MELO, W.J. & BOLONHEZI, D. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latosolos). *Química Nova*. 31:94-97, 2008.

SKOOG, D.A; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. Ed. São Paulo: Bookman, 2002.

SOUZA A, M.; COELH, M. R.; FILGUEIRAS, P. R.; COSTA, L. A. A.; NOVOTNY, E. H.; POPPI, R. J. Determinação atributos físicos do solo por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por quadrados mínimos parciais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34. 2013, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, SC: Sociedade Brasileira do Solo, 2013.

SOUZA, A. M.; COELHO, M. R.; FIGUEIRAS, P.; AFFONSO, T.; CUNHA, F.; DART, R.O. PARÉS, J. G.; SIMON, P.L.; Cruz, B.G. C.; Poppi, R. J.; SANTOS, M.L.M.; BERBARA, R. L. L.. Proposta de tutorial de Quimiometria utilizando técnicas modernas para a análise de solos. In: VI Simpósio Brasileiro de Educação em Solos, 2012, Sobral-CE. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2012.

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

VALDERRAMA, P.; BRAGA, JEZ W.B; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**. 32:1278-1287, 2009.

WADT, P.G.S.; ANJOS, L.; SANTOS, H. G., JACOMINE, P.; COSTA, F. D. S. Desafios da IX RCC: objetivos, metas e as expectativas de usuários do SIBCS. In: **Embrapa Solos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE CLASSIFICAÇÃO E CORREÇÃO DE SOLOS, 9., Rio Branco, AC.

Solos sedimentares em sistemas amazônicos: potencialidades e demandas de pesquisa: anais. Rio Branco, AC: SBCS, 2010.

WALKLEY, A. & BLACK, I. A. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid tritration method. **Soil Science**, 37:29-38, 1934.

WILLIAMS, P. C.; SOBERING, D. C. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, 1: 25-33, 1993.

ZORNOZA, R.; GUERRERO, C.; MATAIX-SOLERA, J.; SCOW, K. M.; ARCENEGUI, V.; MATAIX-BENEYTO, J. Near infrared spectroscopy for determination of various physical, chemical and biochemical properties in Mediterranean soils. **Soil Biology and Biochemistry**. 40:1923-1930, 2008.