



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS

***ESTUDO DA ESPECIAÇÃO E DO FRACIONAMENTO
ISOTÓPICO DO FERRO NAS ÁGUAS DO RIO
AMAZONAS E DE SEUS AFLUENTES***

DANIEL SANTOS MULHOLLAND

Tese de Doutorado nº 112

Brasília - DF

2013

**ESTUDO DA ESPECIAÇÃO E DO FRACIONAMENTO
ISOTÓPICO DO FERRO NAS ÁGUAS DO RIO
AMAZONAS E DE SEUS AFLUENTES**

DANIEL SANTOS MULHOLLAND

*Tese realizada em co-tutela com a Univesitè de Toulouse III
(Universitè Paul Sabatier) e apresentada ao curso de Pós-
Graduação em Geologia da Universidade de Basília como
requisito parcial para obtenção do grau de Doutor*

Geraldo Resende Boaventura (orientador, UnB, Brasil)

Franck Poitrasson (co-orientador, GET/CNRS, França)

Marcio Pimentel (examinador interno, UnB - Brasil)

Marc Benedetti (examinador externo, UPD, França)

Marly Babinski (examidora externa, USP, Brasil)

Sambasiva Rao Patchineelam (examidor externo, UFF, Brasil)

Jerome Viers (examidor externo, UPS, França)

Brasília, 23 de outubro de 2013

Aos meus pais, pelo incentivo e confiança.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho somente foi possível graças ao incentivo e suporte de diversos professores e pesquisadores da Universidade de Brasília e da *Université de Toulouse III (Paul Sabatier)*. Inicialmente, gostaria de agradecer as seguintes pessoas:

Professor Geraldo Resende Boaventura e Franck Poitrasson pela paciência, competência e dedicação a este trabalho e por terem concedido a oportunidade de ingressar em um projeto de extrema relevância sobre isótopos estáveis não tradicionais.

Patrick Seyler do *Institute de Recherche pour le Développement* pela maneira sincera e descontraída de conduzir o projeto e pelo constante suporte às atividades de campo, viagens à Toulouse, análises de amostras e discussão dos resultados.

Professora Lucieth Cruz Vieira da Universidade de Brasília pela dedicação e apoio durante as infindáveis sessões de análises isotópicas de ferro no Laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília.

Thierry Allard do *Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés da Université Pierre-et-Marie-Curie (Paris)* pelo suporte às atividades de campo, pela oportunidade de realizar as análises de EPR e FT-IR nos laboratórios da instituição em que trabalha e pelo auxílio na discussão dos resultados e elaboração do manuscrito.

Oleg Pokrovsky do *Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse* pela oportunidade de trabalhar nos experimentos envolvendo a adsorção do Fe na superfície celular de fitoplâncton e pela agilidade e disponibilidade para discutir os resultados.

Bárbara Alcantra e Luis Mancini, técnicos do Laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília, Miller Sousa, técnico do Laboratório de Geoquímica da Universidade de Brasília, Jonathan Prunier, técnico do *Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse*, e Jérôme Chmeleff, engenheiro do *Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse*, pelo auxílio durante os procedimentos laboratoriais e suporte durante as análises das amostras.

Daniel Ferreira Araújo, Tristan Rousseau, Beatriz Lamback, Cristina Arantes, Alisson Akerman, Raul Espinosa e Eudes Bomfim, colegas de pós-graduação, pela amizade e parceria durante as análises, trabalhos de campo, viagens, redação da tese e artigos e discussão dos resultados.

Marcio Martins Pimentel, Roberto Ventura Santos, Elton Luiz Dantas e Jérémie Garnier (professores da Universidade de Brasília) e Marie-Paule Bonnet e Francis Sondag (pesquisadores do *Institute de Recherche pour le Développement*) pelo suporte às atividades de campo, análises laboratoriais, discussão dos resultados e execução do projeto.

Diversas instituições exerceram papéis imprescindíveis à execução deste trabalho. Agradeço ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de estudos e taxa de bancada, ao IRD (*Institute de Recherche pour le Développement*), CNRS (*Centre National de la Recherche Scientifique*), ANA (Agência Nacional de Águas), ATUPS e ao programa de cooperação CAPES-COFECUB pelo suporte financeiro e logístico oferecido ao projeto.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Relevância do Ferro aos ciclos globais	1
1.2 Isótopos de Ferro aplicados à identificação de processos biogeoquímicos	3
1.3 Fracionamento isotópico do Ferro nas águas da bacia Amazônica	5
1.4 Objetivo	6
1.5.Referência Bibliográfica	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Principais processos biogeoquímicos do Ferro	12
2.1.1 Reações de oxidação e redução	12
2.1.2 Adsorção e complexação	15
2.1.3 Dissolução	19
2.2 Mecanismo de fracionamento isotópico do Ferro	20
2.2.1 Isótopos estáveis	20
2.2.2 Isótopos de Ferro	24
2.3 Referência Bibliográfica	31
3. BACIA AMAZÔNICA	37
3.1 Aspectos fisiográficos	37
3.2 Hidroquímica	42
3.2.1 Classificação das águas Amazônicas	42
3.2.2 Frações e características dos sólidos suspensos e dissolvidos	44
3.3 Referências Bibliográficas	48
4. MATERIAL E MÉTODOS	50
4.1 Coleta e filtração de amostras	50
4.2 Parâmetros físico-químicos	54
4.3 Especiação do Ferro	55
4.4 Espécies paramagnéticas e grupos orgânicos	56
4.5 Isótopos de O e H	57
4.6 Digestão de amostras	58
4.7 Cromatografia e purificação do Ferro	59

4.8 Isótopos de Ferro	60
4.9 Referências Bibliográficas	67
5. IRON ISOTOPIC FRACTIONATION THROUGH ADSORPTION ON CYANOBACTERIA CELLS	69
5.1 Introduction	69
5.2 Material and Methods	71
5.3 Results	72
5.4 Discussion	75
5.5 References	79
6. EFFECTS OF WATER STORAGE ON THE DISSOLVED IRON CONCENTRATION AND ISOTOPIC COMPOSITION OF CHEMICALLY CONTRASTED WATERS FROM THE AMAZON BASIN	82
6.1 Introduction	82
6.2 Material and Methods	84
6.3 Results and Discussion	88
6.4 References	96
7. INSIGHTS ON IRON SOURCES AND PATHWAYS IN THE AMAZON RIVER PROVIDED BY ISOTOPIC AND SPECTROSCOPIC STUDIES	100
7.1 Introduction	101
7.2 Material and Methods	103
7.3 Results	108
7.4 Discussion	118
7.5 Conclusion	125
7.6 References	127
8. CONCLUSÕES	132

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Diagrama de Eh-pH da água demonstrando diversas características do meio (esquerda). Diagrama Eh-pH de parte do sistema Fe-O-H assumindo Fe(OH)₃ como a fase estável do Fe(III) (direita)</i>	13
Figura 2	<i>Modelo de oxidação de matéria orgânica complexada com Fe³⁺ servindo de receptor de elétron com exemplos de organismos capazes de catalisar as várias reações</i>	15
Figura 3	<i>Exemplos da geometria de diferentes complexos de Fe</i>	16
Figura 4	<i>Comparação dos fracionamentos isotópicos produzidos pelos processos de fracionamento de equilíbrio em sistema fechado e Rayleigh</i>	23
Figura 5	<i>Mapa localização da bacia hidrográfica do rio Amazonas, seus principais rios e unidades geomorfológicas</i>	38
Figura 6	<i>Classificação da geologia sotoposto à bacia Amazônica de acordo com as idades geológicas máximas</i>	39
Figura 7	<i>Mapa da distribuição espacial dos solos sotopostos à floresta tropical localizada na bacia Amazônica</i>	40
Figura 8	<i>Encontro do rio Negro (águas pretas) e rio Solimões (águas brancas) demonstrando águas de características visualmente distintas dos rios da bacia Amazônica</i>	43
Figura 9 -	<i>Tamanhos aproximados de componentes físicos e biológicos das águas naturais</i>	44
Figura 10	<i>Pontos de coleta de amostras nos anos de 2009,2010 e 2011</i>	52
Figura 11	<i>Sistemas de filtração e medição de parâmetros físico-químico a bordo</i>	54
Figura 12	<i>Digitalização de massa (mass scan) realizada no Neptune com fendas de entrada em media resolução mostrando todos os isótopos de Fe e suas respectivas interferências</i>	62
Figura 13	<i>Etapas da digitalização de massa (mass scan) realizada no Neptune</i>	63
Figura 14	<i>Logaritmo natural das razões isotópicas ⁵⁶Fe/⁵⁴Fe vs ⁵⁷Fe/⁵⁴Fe obtidas durante uma sessão analítica de ~18h das amostras de referência (IRMM-14) e demais amostras</i>	65
Figura 15	<i>Logaritmo natural das razões isotópicas ⁵⁷Fe/⁵⁴Fe vs ⁶¹Ni/⁶⁰Ni obtidas durante uma sessão analítica de ~18h das amostras de referência (IRMM-14) (a) e demais amostras (b.).</i>	66
Figura 16	<i>Fe isotopic composition for solid (squares) and final solution (diamonds) pools obtained from independent experiments using two distinct aqueous Fe valence states and three different species of phytoplanktonic bacteria</i>	73
Figura 17	<i>Measured $\delta^{57}\text{Fe}$ values versus the fraction of Fe adsorbed onto bacterial phytoplanktonic cell surface.</i>	76
Figura 18	<i>Study area and sampling sites localization</i>	86

Figura 19	<i>Evolution of dissolved Fe concentration and $\delta^{57}\text{Fe}$ values according to the different storage procedures of samples from (a) Solimões, (b) Amazon, and (c) Negro Rivers</i>	92
Figura 20	<i>Comparison between Fe concentration and $\delta^{57}\text{Fe}$ values of chemically contrasted rivers formed over soils with different features</i>	93
Figura 21	<i>Localization of the study area and sampling sites in the Negro and Solimões mixing zone</i>	104
Figura 22	<i>Relationship between δD and $\delta^{18}\text{O}$ (left) and electrical conductivity and δD (right) for surface water samples</i>	110
Figura 23	<i>Iron concentration conservative behavior at the start of the rivers confluence (a.) and Fe non-conservative behavior further down the whole mixing zone of the dissolved (b.), colloidal (c.) and truly dissolved (d) Fe fractions</i>	110
Figura 24	<i>Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectra of colloidal fraction of the Solimões and Negro River mixing zone</i>	114
Figura 25	<i>Full range X-band EPR demonstrating paramagnetic species in the colloidal fraction from Solimões and Negro Rivers mixing zone: Fe^{3+} complexed to organic matter (Fe^{3+}-OM), divalent manganese, and organic free radicals</i>	115
Figura 26	<i>Distribution of colloidal, coarse colloidal and particulate Fe species throughout Negro and Solimões mixing zone</i>	116
Figura 27	<i>Fe isotopic composition of Negro and Solimões Rivers mixing zone at the start of the Amazon River in different water fractions</i>	119
Figura 28	<i>Correspondence between Fe isotopic composition and $[\text{Fe}^{3+}\text{-OM}]$ of the colloidal suspended matter in the Negro and Solimões Rivers mixing zone</i>	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	<i>Descrição dos pontos amostrados nos anos 2009, 2010 e 2011</i>	51
Tabela 2	<i>Configuração dos Faradays Cups para determinação de Fe utilizado no Neptune do Laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília e no Geoscience Environment Toulouse</i>	63
Tabela 3	<i>Iron isotope composition of the final cell and solution from independent experiments of three phytoplanktonic bacteria</i>	74
Tabela 4	<i>Description of the different storage treatments performed on the river water samples and their respective identification codes</i>	85
Tabela 5	<i>Physical-chemical data, dissolved Fe concentration and isotopic composition of different storage procedures</i>	89
Tabela 6	<i>Selected physical-chemical data, dissolved Fe concentration and isotopic composition of different water-types of the Amazon Basin</i>	93
Tabela 7	<i>Sampling sites information and samples physical-chemical properties</i>	109
Tabela 8	<i>Iron concentration and distribution in the different water fractions separated by frontal and tangential-flow ultrafiltration</i>	113
Tabela 9	<i>Fe isotopic composition of Negro and Solimões Rivers different water fractions and their mixing zone at the start of the Amazon River</i>	118

RESUMO

O estudo pioneiro da composição isotópica do Fe nas fases particuladas e dissolvidas das águas do rio Amazonas reporta grande fracionamento isotópico entre as diferentes frações no rio Negro e nenhum fracionamento no rio Solimões. Embora as distintas composições isotópicas tenham sido relacionadas às características químicas das águas e à natureza dos solos, os resultados são parciais e não possibilitam a total compreensão da sistemática do fracionamento isotópico do Fe na escala da bacia Amazônica. Para determinar, com melhor precisão, os principais processos biogeoquímicos responsáveis pelas diferentes composições isotópicas anteriormente observadas, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da especiação do Fe na composição isotópica deste elemento em águas com características químicas contrastantes da bacia Amazônica. Primeiramente, foi avaliado o fracionamento isotópico causado pelo processo de adsorção do Fe na superfície celular de bactérias fitoplanctônicas em experimentos laboratoriais, uma vez que este processo jamais foi investigado e pode ter influência significativa no fracionamento isotópico do Fe em águas com elevada produtividade primária. Em seguida, foi avaliado o efeito do armazenamento e filtração de amostras na composição isotópica do Fe dissolvido, necessário à definição dos métodos de amostragem, armazenamento e filtração utilizados neste projeto. Com base nestas informações preliminares foi determinada a composição isotópica da fração dissolvida, coloidal e particulada dos diferentes tipos de águas encontradas na bacia Amazônica, associando as razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ encontradas aos processos pedogenéticos e de intemperismo mineral. Por fim, foram avaliados os principais mecanismos geoquímicos que envolvem a perda do Fe na zona de mistura dos rios Negro e Solimões. As razões dos isótopos de Fe foram determinadas utilizando um Thermo Finnigan Neptune MC-ICP-MS (Multicollector – Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) de alta resolução.

O projeto demonstrou, pela primeira vez, que o processo de adsorção do Fe na superfície celular do fitoplâncton pode causar variações significativas nas razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ através da adsorção preferencial de isótopos pesados de Fe. O fator de fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{cel-sol}}$) foi de $\sim 2.5\text{‰}$ para soluções iniciais contendo espécies de Fe^{2+} e de $\sim 1.0\text{‰}$ para soluções iniciais contendo espécies de Fe^{3+} . A acumulação preferencial de isótopos pesados na superfície celular foi associada, principalmente, aos diferentes tipos de ligações encontradas no Fe coordenado à água e no Fe complexado aos ligantes orgânicos presentes na parede celular do fitoplâncton. O Fe adsorvido apresenta ligações tipo Fe-O-C, consideradas mais curtas e rígidas, quando comparadas com as ligações tipo O-Fe-O encontrada nos aquocomplexos de Fe. Estes resultados demonstraram claramente que o mecanismo de adsorção do Fe na superfície celular do fitoplâncton pode causar o fracionamento isotópico deste elemento em ambientes naturais, principalmente, em rios com elevada produtividade primária como, por exemplo, os rios de águas brancas e as regiões de várzeas e lagos encontrados na planície de inundação Amazônica.

Também foi demonstrado que a estocagem de amostras de água bruta pode causar variações na composição isotópica do Fe dissolvido, principalmente, nas águas com elevadas concentrações de matéria orgânica armazenadas a temperatura ambiente. A comparação entre diferentes procedimentos de armazenamento demonstram que as amostras devem ser mantidas congeladas, sempre que não for possível filtrá-las no campo imediatamente após a coleta, para minimizar alterações isotópicas na fração dissolvida. Os resultados também demonstraram que os dados isotópicos são menos susceptíveis à variação entre os diferentes procedimentos de armazenamento quando comparados as suas concentrações nas frações dissolvidas.

Os valores $\delta^{57}\text{Fe}$ das diferentes frações da água forneceram informações precisas sobre as fontes e os processos biogeoquímicos que ocorrem nos solos a montante e provaram ser um indicador confiável dos mecanismos que envolvem a perda e a transferência de Fe na zona de mistura do rio Negro e Solimões. A fração dissolvida e coloidal das águas ácidas, ricas em Fe complexado às substâncias húmicas apresentaram Fe enriquecido em isótopos pesados para amostras coletadas nas águas altas de 2009 e águas baixas de 2010. Este processo está associado aos mecanismos de oxidação e complexação do Fe na interface entre os *Podzols* e as redes fluviais. A fração particulada apresentou composição isotópica leve relacionada à exportação contínua de resíduos vegetais e matéria orgânica associada às partículas minerais dos horizontes dos *Podzols* com características redutoras. Na seca excepcional de 2010, as águas ricas em partículas minerais do rio Solimões apresentaram frações dissolvidas e coloidais com composição isotópica de Fe leve, atribuída à cinética de dissolução de oxihidróxidos de Fe e ao fracionamento causado pelos processos de adsorção e especiação. Por outro lado, nas águas altas de 2009 a composição isotópica da fração dissolvida foi semelhante à média da crosta terrestre, evidenciando um intenso processo de intemperismo mecânico e o transporte de oxihidróxidos de Fe coloidais. Para ambos os períodos hidrológicos, as frações particuladas das águas do rio Solimões apresentaram valores $\delta^{57}\text{Fe}$ próximos aos da média da crosta continental, atribuídas ao forte desgaste mecânico na Cordilheira dos Andes e nos solos a montante. As distintas assinaturas isotópicas do Fe observadas nos períodos de águas altas de 2009 e baixas de 2010 podem trazer informações sobre a influência de variações climáticas sazonais e interanuais nos processos de intemperismo do Fe em uma bacia de escala continental como a bacia Amazônica.

Os resultados apresentados também demonstraram que o Fe dissolvido e coloidal na zona de mistura dos rios Solimões e Negro tem caráter não conservativo. Os valores $\delta^{57}\text{Fe}$, juntamente com as espécies paramagnéticas, mostraram-se bons indicadores dos processos envolvendo os mecanismos de perda do Fe na zona de mistura do rio Negro e Solimões. A perda massiva deste elemento está relacionada, principalmente, a evolução das condições físico-químicas (pH e força iônica) durante a mistura dos rios que influencia a estabilidade dos complexos organometálicos e dos oxihidróxidos de Fe. Os principais processos que controlam a transferência do Fe na zona de mistura observados através dos resultados obtidos são (a) dissociação dos complexos de Fe^{3+} -matéria orgânica e a subsequente formação de oxihidróxidos de Fe^{3+} e radicais livres semiquinonas e (b) desestabilização dos oxihidróxidos de Fe e coloides húmicos contendo Fe complexado. Os processos de mistura não causaram variação significativa na composição isotópica do Fe total nas águas do início do rio Amazonas. Esses dados demonstram que um rio intertropical que drena latossolos em sua maior extensão irá exportar aos oceanos águas com valores $\delta^{57}\text{Fe}$ próximos aos da crosta terrestre, uma vez que as regiões estuarinas não causam fracionamento isotópico significativo durante a confluência dos rios e com o oceano.

RÉSUMÉ

Une étude pionnière de la composition isotopique du Fe dissous et particulière du bassin de l'Amazone a montré un grand fractionnement isotopique entre ces différentes fractions dans les eaux du fleuve Negro et le fractionnement négligeable dans les eaux de la rivière Solimões. Bien que ces compositions isotopiques distinctes aient été attribuées à des caractéristiques chimiques de l'eau et de la nature des sols différentes, ces résultats restent préliminaires et ne permettent pas pour autant une compréhension précise de la systématique du fractionnement isotopique du fer à l'échelle du bassin de l'Amazone. Pour mieux comprendre les principaux processus biogéochimiques responsables des différentes compositions isotopiques observées, ce travail vise à évaluer l'influence de la spéciation du Fe et de sa composition isotopique dans les eaux ayant des caractéristiques chimiques contrastées. En premier lieu, le fractionnement isotopique causé par l'adsorption du Fe sur la surface cellulaire des bactéries planctoniques a été étudiée pour la première fois par des expériences en système fermé, car ce processus peut avoir une influence significative sur le fractionnement isotopique du Fe dans les eaux à forte productivité primaire. Ensuite, les effets du stockage des échantillons d'eau et de filtration sur la composition isotopique du Fe dissous ont été évaluées, car il était impératif de définir des méthodes d'échantillonnage, de stockage et de filtration utilisables dans ce projet. Sur la base de ces informations, la composition isotopique du Fe dissous, colloïdal et particulière des différents types d'eau du bassin de l'Amazone a été étudiée, en tenant compte des processus pédogénétiques et d'altération des minéraux. Enfin, les principaux processus géochimiques qui impliquent la perte de Fe dans la zone de mélange des rivières Negro et Solimões ont été étudiés. Les rapports isotopiques du Fe ont été déterminés en utilisant un MC-ICP-MS (multicollecteur - plasma à couplage inductif - spectromètre de masse) à haute résolution de masse.

Cette étude montre pour la première fois que le Fe adsorbé sur les parois des cellules de phytoplancton présente une accumulation préférentielle des isotopes lourds. Le fractionnement isotopique observée ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell-solution}}$) était d'environ 2,5‰ pour les solutions initiales contenant des espèces aqueuses Fe^{2+} , et $\sim 1,0\text{‰}$ pour les solutions initiales contenant des espèces aqueuses de Fe^{3+} . L'accumulation préférentielle en isotopes lourds du Fe adsorbé sur les parois des cellules est due à des liaisons Fe-O-C, connues pour être plus rigide et plus courtes que les liaisons O-Fe-O qui se trouvent dans la solution aqueuse. Ces résultats montrent que le mécanisme d'adsorption du Fe sur la surface des cellules de phytoplancton peut causer un fractionnement isotopique significatif dans les milieux naturels, en particulier dans les rivières à forte productivité primaire, comme la rivière d'eaux blanches, les plaines inondables et les lacs rencontrés en Amazonie.

Ce travail montre également que le stockage des échantillons d'eau à température ambiante peut causer des variations de la composition isotopique du Fe dissous, en particulier dans les eaux à forte concentration de matières organiques. La comparaison entre des procédures de stockage différentes montre que les échantillons doivent être conservés congelés, quand il n'est pas possible de les filtrer sur le terrain, immédiatement après la collecte pour minimiser les artefacts isotopiques. Les résultats montrent également que les rapports isotopiques du fer sont moins sensibles aux variations entre les différentes procédures de stockage par rapport à leur concentration dans les fractions dissoutes.

La composition isotopique du Fe des différentes fractions de taille des pores a fourni des informations précises sur les sources et les processus biogéochimiques se produisant dans les sols des zones sources et s'est avéré être un bon indicateur des mécanismes impliquant la perte de Fe et son transfert dans la zone de mélange entre le Solimões et le

Negro. Les eaux acides et riches en fer complexé à la matière organique de la rivière Negro montrent des fractions dissoutes et colloïdales enrichies en isotopes lourds du fer sur des échantillons prélevés en période de hautes eaux (2009) et de basses eaux (2010). Ce comportement est associé à l'oxydation du Fe et à des mécanismes de complexation à l'interface entre les podzols gorgés d'eau et les réseaux alimentant les rivières. Les fractions particulaires ont donné des compositions isotopiques légères liées à l'exportation continue de débris végétaux et de matière organique associée à des particules minérales provenant de la réduction des horizons de podzols. Lors de la période de basse eaux de 2010, les particules minérales de la rivière Solimões se sont partiellement dissoutes et les fractions colloïdales ont une composition isotopique légère attribuée à la cinétique de dissolution des minéraux ferrifères et à la spéciation des eaux de la rivière. Inversement, en période de hautes eaux de 2009, la composition isotopique du Fe dissous était semblable à la moyenne de la croûte terrestre continentale, ce qui suggère des processus d'érosion mécaniques extrêmes et le transport d'oxyhydroxydes de Fe colloïdaux. Pour les deux saisons hydrologiques, les fractions particulaires ont donné des valeurs de $\delta^{57}\text{Fe}$ proches de celle de la croûte continentale, inhérents à une forte érosion mécanique dans la Cordillère des Andes et les sols des hautes terres. Les signatures isotopiques distinctes de Fe observés pendant les hautes eaux de 2009 et de basses eaux de 2010 suggèrent que les isotopes du Fe peuvent fournir des informations sur l'influence des variations climatiques saisonnières et interannuelles sur des processus d'érosion dans un bassin intertropical d'échelle continentale comme l'Amazonie.

Les données montrent également que le comportement du Fe dissout et colloïdal dans la zone de mélange des eaux chimiquement contrastés des rivières Negro et Solimões est non-conservative en accord avec de précédentes études. La composition isotopique du fer et des espèces paramagnétiques se sont avérés être de bons indicateurs des mécanismes impliquant le Fe lors de mélange d'eaux de rivières contrastées. La perte massive du Fe est principalement associée à l'évolution de la composition physique et chimique de l'eau (i.e., le pH et la force ionique) lors du mélange, qui influe sur la stabilité des complexes organo- Fe^{3+} et d'oxyhydroxydes de Fe^{3+} . La présente étude décrit deux processus majeurs qui contrôlent la perte et le transfert de Fe, à savoir: (a) la dissociation des complexes organo-Fe et la formation subséquente d'un solide d'oxyhydroxydes de Fe^{3+} et des radicaux libres semiquinone, et (b) la déstabilisation et la floculation d'oxyhydroxydes de Fe^{3+} et colloïdes humiques contenant du Fe. Les procédés de mélange ne causent pas de variation significative de la composition isotopique du Fe total des eaux qui proviennent du fleuve Amazone. Cette découverte suggère qu'une rivière intertropicale qui draine majoritairement des sols ferrallitiques délivrera aux océans une eau ayant une valeurs de $\delta^{57}\text{Fe}$ proche la valeur de la croûte continentale, étant donné que d'autre études ont montré que les régions estuariennes produisaient également des variations négligeables sur la composition isotopique du fer des eaux totales. Une telle conclusion est d'intérêt pour les études visant à l'influence des grands fleuves tropicaux sur le cycle géochimique du fer dans les océans. La composition des isotopes Fe des eaux de rivière transporte principalement la signature des principales sources et des processus biogéochimiques se produisant dans les sols, il peut aussi être un outil prometteur pour étudier les effets de la modification de l'utilisation des terres et des changements climatiques sur l'altération continentale.

ABSTRACT

A previous study of the dissolved and particulate Fe isotopic composition from the Amazon Basin reports large isotopic fractionation between these different fractions in the Negro River waters and negligible fractionation in the Solimões River waters. Although distinct isotopic compositions have been related to the chemical features of water and the nature of soils, these results do not provided a full understanding of Fe isotopic fractionation systematics on the scale of the Amazon basin. To better understand the main biogeochemical processes responsible for the different isotopic compositions mentioned above, this work aimed to evaluate the influence of Fe speciation on its isotopic composition in waters with contrasted chemical features. First, the isotopic fractionation caused by Fe adsorption on phytoplanktonic bacteria cell surface was investigated through closed system experiments, since this process has not been explored until now and can have significant influence on Fe isotopic fractionation in waters with high primary productivity. Then, the effects of water sample storage and filtration on dissolved Fe isotopic composition was evaluated, since it is imperative to define the sampling, storage and filtration methods to be used in this project. Based on this preliminary information, the dissolved, colloidal and particulate Fe isotopic composition of the different water types of the Amazon basin was investigated, and linked with pedogenetic processes and mineral weathering. Finally, the main geochemical processes that involve Fe loss in the Negro and Solimões Rivers mixing zone was investigated. Iron isotope ratios were determined using a Thermo Finnigan Neptune MC-ICP-MS (Multicollector - Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometer) with medium or high resolution entry collectors slits, according to the Fe concentration of the samples and the sensitivity of the equipment.

The present study shows, for the first time, that Fe adsorption on the phytoplankton cell walls can cause significant isotopic fractionation with preferential accumulation of heavy isotopes on the solid interface. The observed Fe isotopic fractionation ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell-solution}}$) was $\sim 2.5\%$ for initial solutions containing aqueous Fe^{2+} species, and $\sim 1.0\%$ for initial solutions containing aqueous Fe^{3+} species. The preferential accumulation of heavy Fe isotopes was mainly linked with the different types of Fe bonds found on the Fe aquocomplexes compared with Fe coordinated with the organic ligands on the phytoplankton cell surface. The Fe adsorbed on the cell walls has Fe-O-C bonds, known to be stiffer and shorter when compared with O-Fe-O bonds found on the Fe aquocomplexes. These results shows that the mechanism of Fe adsorption on the phytoplankton cell surface can cause significant isotopic fractionation in natural environments, especially in rivers with high primary productivity, such as the white river waters, floodplains and lakes encountered in the Amazon trough.

This work also shows that bulk water sample storage can cause variations in the dissolved Fe isotopic composition, especially in waters with high concentrations of organic matter stored at room temperature. The comparison between different storage procedures demonstrates that the samples must be kept frozen, whenever it is not possible to filter them in the field immediately after collection to minimize isotopic artifacts. The results also show that the isotopic data are less susceptible to variation among different storage procedures when compared to their concentrations in the dissolved fractions.

The Fe isotopic composition of the different pore-sized fractions provided precise information about the sources and biogeochemical processes occurring in the upland soils and proved to be good proxies of the mechanisms involving Fe loss and transfer in the mixing zone. The acidic and organo-Fe-rich waters of the Negro River displayed dissolved and colloidal fractions enriched in heavy isotopes on samples collected in the 2009 high waters and the 2010 low waters. This behavior is associated with Fe oxidation and complexation

mechanisms at the interface between waterlogged podzols and river networks. The particulate fractions yielded light isotopic compositions linked with the continuous exportation of isotopically light plant debris and organic matter associated with mineral particles from the reduced horizons of podzols. In the exceptional drought of 2010, the mineral particulate-rich waters of the Solimões River had dissolved and colloidal fractions with light isotopic composition attributed to the dissolution kinetic of Fe-bearing minerals and to the speciation and adsorption fractionation in the river waters. Conversely, in the high waters of 2009 the dissolved Fe isotopic composition was similar to the continental earth crust mean, suggesting extreme mechanical weathering processes and the transport of colloidal Fe oxyhydroxides. For both hydrological seasons, the particulate fractions yielded $\delta^{57}\text{Fe}$ values close to that of the continental crust, inherent to strong mechanical weathering in the Andean Cordillera and upland soils. The distinct Fe isotopic signatures observed during the high waters of 2009 and low waters of 2010 suggests that Fe isotopes can provide information about the influence of seasonal and interannual climate variation on weathering processes in a intertropical basin with a continental scale as the Amazon.

The data also demonstrate that the dissolved and colloidal Fe behavior in the mixing zone of the chemically contrasted waters from Negro and Solimões Rivers is non-conservative. Iron isotopic composition and paramagnetic species proved to be good proxies of the mechanisms involving Fe during rivers mixture. Massive Fe loss is associated mainly with the evolution of the water physical and chemical composition (i.e., pH and ionic strength) during mixing, which influences organo-Fe³⁺ and Fe³⁺-oxyhydroxides stability. The present study described two major processes that control Fe loss and transfer, i.e.: (a) dissociation of organo-Fe complexes and the subsequent formation of solid Fe³⁺-oxyhydroxides and semiquinone free radicals; and (b) destabilization and flocculation of Fe³⁺-oxyhydroxides and humic colloids containing bound Fe. The mixing processes do not cause significant variation of the total Fe isotopic composition of the waters that originate the Amazon River. This finding suggests that an intertropical river that drains mostly ferralitic-type soils will deliver to oceans water with $\delta^{57}\text{Fe}$ values close to the Earth's continental crust mean, considering that estuarine regions also produces negligible variations on the overall isotopic composition. Such a conclusion is of interest for studies aiming at the influences of major tropical rivers on the iron geochemical cycling in oceans. Considering that the Fe isotopes composition carries the records of the main sources and biogeochemical processes in soils, it can also be a promising tool to investigate the effects of land use modification and climate changes on continental weathering.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 RELÂNCIA DO FERRO AOS CICLOS GLOBAIS

O ferro (Fe) é o quarto elemento de maior abundância na crosta terrestre (Taylor et al., 1983; Wedepohl, 1995) e exerce um papel-chave em diversos processos biogeoquímicos globais (Cornell e Schwertmann, 1996; Lovley, 1997; Nealson e Saffarini, 1994; Thamdruo, 2000). É um elemento maior nos latossolos que cobrem um terço da crosta terrestre e são drenados pela metade das águas continentais (Tardy, 1997). É amplamente distribuído na natureza e é um dos elementos mais importantes nos sistemas ambientais por ser utilizado por, praticamente, todos os organismos vivos (Langmuir, 1996; Crichton, 2001). Sua eficácia nesses sistemas depende de suas propriedades químicas como valência, solubilidade e grau de formação de complexos.

Biologicamente, as propriedades de oxi-redução do Fe o tornaram ideal para catalisar reações de transferência de elétrons que, no curso da evolução da Terra, têm sido exploradas pelos microrganismos para a fotossíntese, função respiratória e fixação de nitrogênio (Ehrenreich e Widel, 1994; Awramik et al., 1983, Konhauser et al., 2002, Morel et al., 2008). Em muitos sistemas aquáticos, o Fe é considerado um nutriente limitante para a produtividade primária (Nightingale et al., 1996, Martin et al., 1994), devido sua baixa solubilidade em água de pH circumneutro. A importância do Fe na produtividade primária foi evidenciada em regiões do oceano com elevadas concentrações de nutrientes, porém, baixa clorofila, conhecidas como *High Nutrient Low Chlorophyll regions* (HNLC) através do enriquecimento artificial de Fe nos oceanos Antártico, Pacífico Equatorial e Pacífico Sub-Ártico (Martin e Fitzwater, 1988; Martin, 1990, Martin et al. 1990; Martin et al. 1994; Coale et al. 1996; Hutchins e Bruland 1998; Boyd et al. 2000; Boyd et al. 2004; Coale et al. 2004). Entre estes se destaca o estudo desenvolvido por Martin et al. (1994) que conduziram um experimento em larga escala de enriquecimento de Fe ao sul das Ilhas Galápagos, no oceano Pacífico Equatorial. Como resultado os autores detectaram um aumento da produtividade primária com um fator de 2 a 4 vezes no fragmento de oceano fertilizado com Fe. Dessa forma, o Fe também desempenha um papel importante no ciclo do carbono global, uma vez que as comunidades fitoplanctônicas são responsáveis pela fixação de até metade do dióxido de carbono do mundo (Field et al., 1998).

As concentrações médias de Fe dissolvido em águas continentais e marinhas mostram claramente uma maior solubilidade em águas doces do que em águas salinas. Enquanto a concentração do Fe dissolvido no oceano aberto geralmente varia entre 0.56 ng/L e 56 ng/L (Wu et al., 2001; Johnson et al., 1997; Lacan et al., 2008), as águas continentais apresentam concentrações médias de 66 µg/L (Gaillardet et al. 2003). As baixas concentrações de Fe dissolvido no oceano podem ter explicação nos processos de mistura entre rios de químicas contrastantes durante seu transporte nos continentes (Aucour et al., 2002) e, principalmente, nas áreas de mistura estuarinas (Eckert e Sholkovitz, 1976; Sholkovitz, 1976, 1978; Boyle et al., 1977; Mayer, 1982; Hunter, 1990). Nas águas continentais, o Fe dissolvido está normalmente presente na forma de oxihidróxidos de Fe^{3+} , estabilizado na fase coloidal por ácidos húmicos de elevado peso molecular. Com o aumento da salinidade nos estuários e, conseqüentemente, com o aumento das forças iônicas, a fase coloidal torna-se eletrostaticamente e quimicamente desestabilizada, resultando na coagulação e floculação destes colóides. Assim, o Fe é transferido da fração coloidal/dissolvida reativa para a particulada, podendo incorporar, subseqüentemente, os sedimentos de fundo (Haese, 2006). O comportamento não conservativo deste elemento nos estuários pode causar a perda de até 90% do Fe que seria transportado aos oceanos em sua forma dissolvida/coloidal (Boyle et al., 1974; Holliday e Liss, 1976; Sholokovitz, 1976; Boyle et al., 1977).

Os rios são considerados como uma das principais fontes de Fe no oceano, juntamente com os aportes eólicos, glaciais, hidrotermais e a água intersticial da plataforma continental (Poulton e Raiswell 2002; Wells et al., 1995; Elderfield and Schultz, 1996; Elrod et al., 2004; Jickells et al., 2005; Bennett et al., 2008). Entre os rios do mundo, o Amazonas ocupa o primeiro lugar em termos de área de drenagem ($5,96 \times 10^6 \text{ km}^2$) e descarga de água ($206\,000 \text{ m}^3/\text{s}$) (Callede et al., 2010), o que corresponde a, aproximadamente, 17% do escoamento superficial de águas continentais mundiais ao oceano. Uma grande bacia hidrográfica como esta representa uma unidade natural que permite investigar os processos de intemperismo, erosão e transporte de metais em uma escala continental, pois engloba uma ampla variabilidade de unidades geológicas, geomorfológicas, pedológicas e fitofisionômicas (Lewis et al, 1995 e Quesada et al., 2011). Dessa forma, diversos estudos foram realizados para quantificar os fluxos de sedimentos suspensos, metais e compostos orgânicos transportados ao longo da bacia Amazônica (e.g., Meade, 1985; Richey et al., 1986; Devol et

al., 1995; Gaillardet et al., 1997; Aucour et al., 2003; Benedetti et al., 2003; Seyler e Boaventura, 2003). Apesar de várias décadas de pesquisa nesse contexto, algumas questões importantes relativas ao ciclo do Fe em superfícies continentais ainda necessitam melhor compreensão. Por exemplo, o papel dos produtos da decomposição da matéria orgânica na transferência de Fe dos solos para as redes de drenagem (do Nascimento et al., 2004; do Nascimento et al., 2008; Fritsch et al., 2009), os processos envolvendo o comportamento não conservativo de metais e substâncias orgânicas durante a mistura de rios com características químicas distintas (Aucour et al., 2003; Moreira-turcq et al., 2003; McKnight 1992) e a importância do fitoplâncton no transporte e deposição de metais em rios e lagos (Konhauser et al., 1993).

Diante do exposto fica nítido que os mecanismos de transferência do Fe do continente ao oceano desempenham um papel significativo no clima global, através da ação direta sobre a produção primária e, indireta sobre o ciclo do carbono. Diversos projetos foram elaborados com o intuito de incluir o elemento Fe em modelos relacionados ao CO₂ atmosférico e as mudanças climáticas (e.g., Lefevre e Watson, 1999; Parekh et al., 2004). Entretanto, para se introduzir este metal em modelos globais ainda faz-se necessário entender e quantificar os processos que controlam o transporte do Fe nos continentes e a sua transferência ao oceano, que, ainda, não foram suficientemente esclarecidos.

1.2 ISÓTOPOS DE FERRO APLICADOS À IDENTIFICAÇÃO DE PROCESSOS BIOGEOQUÍMICOS

Nos últimos anos, estudos experimentais mostraram que os sistemas de isótopos estáveis podem fornecer informações precisas sobre os processos biogeoquímicos envolvendo metais e provaram ser bons indicadores das fontes e dos ciclos do Fe em ambientes naturais. Graças aos recentes desenvolvimentos na área de espectrometria de massa com fonte plasma, principalmente, o advento do Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado e Multi-Coletores (MC-ICP-MS), foi possível melhorar de forma muito significativa a precisão das medições das razões isotópicas e resolver as possíveis interferências isobáricas. O Fe tem quatro isótopos estáveis (⁵⁴Fe, ⁵⁶Fe, ⁵⁷Fe, e ⁵⁸Fe), conhecidos por fracionar durante processos abióticos e bióticos em ambientes de baixa temperatura (e.g., Bullen et al., 2001; Anbar, 2004; Beard et al 2010). Entre estes, podemos

destacar, por exemplo, o fracionamento isotópico do Fe causado por sua adsorção em óxidos e hidróxidos (Crosby et al., 2005; Teutsch et al., 2005), complexação com substâncias orgânicas (Dideriksen et al., 2008), mudanças de estados de oxi-redução causadas por processos bióticos e abióticos (e.g., Johnson et al., 2002; Crosby et al., 2005). Outros estudos se concentraram no desenvolvimento de modelos teóricos baseados em teorias quânticas e de espectroscopia vibracional com objetivo de inferir a direção e a magnitude do fracionamento isotópico (Polyakov, 1997; Criss, 1999; Polyakov e Mineev, 2001; Schauble et al., 2001; Anbar, 2005; Polyakov et al., 2007; Blanchard et al., 2009). De maneira geral, estes estudos concluíram que os isótopos de Fe mais pesados tendem a serem concentrados nas espécies que apresentarem ligações mais rígidas, com elevado estado de oxidação e ligações coordenadas com caráter covalente.

Dentro do contexto de uma bacia hidrográfica, diversos trabalhos foram realizados para definir, não somente as composições isotópicas de compartimentos ambientais (e.g., solos, rios, vegetação e rochas), como também os mecanismos responsáveis pelo fracionamento isotópico do Fe nestes sistemas. Alguns processos pedogenéticos foram relatados como o principal fator responsável pela alteração da composição isotópica do Fe no solo. Como exemplo, a dissolução de oxihidróxidos de Fe frente às mudanças redox e às interações com quelatos derivados da matéria orgânica. As amostras que apresentaram assinaturas isotópicas mais leves foram atribuídas a horizontes ricos em compostos orgânicos, como os encontrados em podzols (von Blanckenburg, 2000; Fantle e DePaolo, 2004; Emmanuel et al. 2005; Wiederhold et al., 2007). Diferentemente do que foi observado em solos hidromórficos ricos em matéria orgânica, os solos lateríticos não apresentaram variação isotópica quando comparada com a média da crosta terrestre, apesar do longo período de intemperismo (Poitrasson et al., 2008).

Tendo em vista que a composição química dos corpos hídricos é determinada, principalmente, pelos processos de intemperismo e erosão dos solos e rochas à montante, espera-se que as análises isotópicas das águas continentais possam carregar informações sobre as fontes e processos biogeoquímicos que ocorrem nestas regiões. Estudos recentes têm determinado assinaturas isotópicas de rios em diferentes locais do mundo e, em muitos casos, associado a variabilidade isotópica com a natureza dos solos e os processos de intemperismo específicos de cada região (Fantle e DePaolo, 2004; Bergquist e Boyle, 2006; Poitrasson et al, 2008; Escoube et al, 2009, Iliina et al. 2013). Muitos destes estudos também

demonstraram que a composição isotópica do Fe na água pode variar de acordo com a fração analisada, ou seja, dissolvida, coloidal e particulada, demonstrando que, em muitos casos, a avaliação de mais de uma fração pode trazer informações mais completas sobre as fontes e os mecanismos de intemperismo e erosão dos solos a montante (Ingri et al., 2006; Iliina et al., 2013).

1.3 FRACIONAMENTO ISOTÓPICO DO FERRO NAS ÁGUAS DA BACIA AMAZÔNICA

O estudo preliminar da composição isotópica do Fe nas fases particuladas e dissolvidas do rio Amazonas reporta grande fracionamento isotópico entre as diferentes frações no rio Negro, porém, nenhum fracionamento no rio Solimões (Bergquist e Boyle, 2006). Isto indica assinaturas isotópicas contrastantes e variáveis conforme a química das águas do rio e a natureza dos solos e da vegetação drenadas pelos diversos afluentes do Amazonas. Entretanto, os resultados são parciais para que se possa ter uma total compreensão da sistemática do fracionamento isotópico do Fe na escala da bacia Amazônica. Para solucionar este problema faz-se necessário dar continuidade aos estudos, de uma forma mais abrangente, dos mecanismos que controlam o fracionamento isotópico do Fe nas águas, solos, sedimentos e demais compartimentos ambientais da bacia. Embora os trabalhos de dos Santos Pinheiro et al. (2013) tenham detalhado sistematicamente a assinatura isotópica espacial do Fe na fração particulada da bacia Amazônica, ainda é necessário investigar os processos responsáveis pelo fracionamento isotópico nas interfaces água-solo como, por exemplo, a especiação do Fe nas diferentes frações da água, o papel dos microrganismos na adsorção e assimilação de metais, os efeitos da decomposição da matéria orgânica na formação de complexos organometálicos e o transporte dos metais ao longo da bacia, principalmente, na conservatividade do Fe coloidal/dissolvido em regiões de mistura de águas com composições químicas distintas.

Tendo em vista que os mecanismos de oxi-redução e de complexação do Fe com ligantes orgânicos são considerados os principais responsáveis pelo fracionamento isotópico do Fe em ambientes de baixa temperatura (Schauble et al., 2001) é de se esperar que os rios de diferentes composições químicas tenham composições isotópicas contrastantes associadas, principalmente, aos diferentes processos de intemperismo e transferência do Fe nos solos (e.g., latossolos vs podsolos). Após a exportação deste elemento para as águas

superficiais, o transporte a jusante e a contínua confluência entre rios com químicas distintas podem causar o subsequente fracionamento isotópico proveniente dos processos de mistura. Estudos anteriores demonstraram que os processos geoquímicos oriundos da confluência de rios com características químicas distintas podem causar a transferência de metais e matéria orgânica entre as frações da água, assim como, a perda destes elementos durante a mistura (Aucour et al., 2003; Moreira-Turq et al. 2003). Estudos experimentais e de campo demonstram que a mistura entre rios e o oceano não causam fracionamento isotópico (Bergquist e Boyle, 2006; de Jong et al. 1997; Escoube et al. 2009), entretanto, a influência dos processos de mistura de rios quimicamente contrastantes ainda é desconhecida. Outro importante fator responsável pelo controle da mobilidade dos metais nas águas são os microrganismos presentes nos diversos compartimentos dos sistemas aquáticos devido às suas capacidades de adsorver e assimilar Fe (Yee et al., 2004). Konhauser et al. (1993) demonstraram que bactérias epifíticas e episêmicas são capazes de adsorver e, subsequentemente, precipitar Fe em rios com elevadas concentrações de íons livres dissolvidos como o Solimões, sendo assim, um proeminente compartimento capaz de atuar na mobilidade, dispersão, transporte e fracionamento isotópico do Fe .

1.4 OBJETIVOS

Para determinar, com melhor precisão, os principais processos biogeoquímicos responsáveis pelas diferentes composições encontradas nas águas da bacia Amazônica, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da especiação do Fe em sua composição isotópica nas águas com características químicas contrastantes da bacia Amazônica. Primeiramente, foi avaliado o fracionamento isotópico causado pelo processo de adsorção do Fe na superfície celular de bactérias fitoplanctônicas em experimentos em sistemas fechados, uma vez que este processo não foi investigado até então e pode ter influencia significativa no fracionamento isotópico do Fe em águas com elevada produtividade primária. Em seguida, foi avaliado o efeito do armazenamento e filtração de amostras na composição isotópica do Fe dissolvido, necessário à definição dos métodos de amostragem, armazenamento e filtração utilizados neste projeto. Com base nestas informações preliminares foi determinada a composição isotópica da fração dissolvida, coloidal e particulada dos diferentes tipos de águas encontradas na bacia Amazônica (ricas em partículas minerais, ricas em matéria

orgânica e com elevada produtividade primária) associando as assinaturas isotópicas encontradas aos processos pedogenéticos e de intemperismo mineral. Por fim, foram determinados os principais processos geoquímicos que envolvem a perda do Fe na zona de mistura dos rios Negro e Solimões e seus efeitos na composição isotópica do Fe no início do rio Amazonas.

Para reportar e discutir os resultados, o projeto foi dividido em cinco partes. A primeira parte consiste na Introdução (este capítulo), seguida de sete capítulos. O segundo capítulo descreve os principais processos biogeoquímicos abordados no presente trabalho (e.g., processos de oxi-redução, adsorção, complexação e dissolução) e os principais mecanismos de fracionamento isotópico do Fe em ambientes superficiais, servindo como referencial teórico que embasará as discussões nos capítulos seguintes. O terceiro capítulo consiste na descrição da área de estudo (i.e., a bacia Amazônica), onde serão descritos os principais aspectos fisiográficos da bacia Amazônica (localização, geomorfologia, clima, geologia, pedologia e hidroquímica). O quarto capítulo descreve os pontos de amostragem e detalha a metodologia de coleta e filtração de amostras, assim como os métodos espectroscópicos e isotópicos utilizados no presente trabalho. O quinto capítulo investigou o efeito isotópico durante a interação do Fe aquoso com a superfície celular de bactérias fitoplanctônicas (i.e., *Gloeocapsa sp.*, *Synechococcus sp.*, e *Planthothrix sp.*), realizado em seis experimentos independentes, utilizando duas valências de Fe distintas (Fe^{2+} e Fe^{3+}). Procurou-se testar a hipótese de que, à semelhança de outros metais, a adsorção do Fe na superfície celular do fitoplâncton pode causar fracionamento isotópico significativo com a adsorção preferencial de isótopos mais pesados, em relação à fase sólida. O sexto capítulo avaliou a influência dos processos de armazenamento de amostra na concentração e assinatura isotópica do Fe nas águas com características químicas distintas e reporta, com um caráter preliminar, a composição isotópica do Fe nos diferentes tipos de água da bacia Amazônica (i.e., Negro, Jaú, Amazonas, Madeira, Solimões e Lago Janauacá). O sétimo capítulo investigou a natureza, distribuição e composição isotópica do Fe em diferentes frações da água dos rios Negro e Solimões, a fim de caracterizar os principais processos de intemperismo e os mecanismos de transporte que controlam a transferência de Fe dos solos às águas a jusante da bacia. Uma ênfase especial foi colocada sobre a zona de mistura dos rios Negro e Solimões visando melhorar a compreensão do processo não conservativo do Fe durante a

mistura destes rios. Por fim, o oitavo capítulo apresenta as principais conclusões levantadas dos dados obtidos e discutidos neste projeto.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anbar, A. D. (2004). Iron stable isotopes: beyond biosignatures. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 217(3-4): 223–236.
- Anbar, A. D., Jarzecki, A. A., Spjro, T. (2005). Theoretical investigation of iron isotope fractionation between Fe (H₂O) 3+ 6 and Fe (H₂O) 2+ 6: implications for iron stable isotope geochemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(4): 825-837.
- Aucour, A., Tao, F., Moreira-turcq, P., Seyler, P. (2003). The Amazon River: behavior of metals (Fe , Al, Mn) and dissolved organic matter in the initial mixing at the confluence Rio Negro / Solimoes. *Chemical Geology*, 197: 271– 285.
- Awramik S. M., Schopf J. W., Walter, M.R. (1983). Filamentous fossil bacteria from the Archean of Western Australia. *Precambrian Res*, 20:357-374
- Beard B. L., Johnson, C. M., Cox L., Sun H., Neelson K. H., Aguilar C. (2010). Iron Isotope Biosignatures. *Sci.* 1889(1999): 1889-1892.
- Bennett S. A., Achterberg E. P., Connelly D. P., Statham P. J., Fones G. R., German C. R. (2008) The distribution and stabilisation of dissolved Fe in deep-sea hydrothermal plumes. *Earth Planet. Sci. Lett.* 270: 157–167.
- Benedetti M. F., Mounier S., Filizola N., Benaim J., Seyler, P. (2003). Carbon and metal concentrations, size distributions and fluxes in major rivers of the Amazon basin. *Hydrol. Process.* 17(7): 1363–1377.
- Bergquist B., Boyle E. (2006). Iron isotopes in the Amazon River system: Weathering and transport signatures. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 248(1-2), 39–53; doi:10.1016/j.epsl.2006.05.004
- Blanchard M., Poitrasson F., Meheut M., Lazzeri M., Mauri F., Balan, E. (2009). Iron isotope fractionation between pyrite (FeS₂), hematite (Fe₂O₃) and siderite (FeCO₃): A first-principles density functional theory study. *Geochimica et cosmochimica acta.* 73(21): 6565-6578.
- Boyd P. W., Watson A. J., Law C. S., Abraham E. R., Trull T., Murdoch R., Bakker, D. C. E., Bowie A. R., Busseler K. O., Chang H., Charette M., Croot P. (2000) A mesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization. *Nature.* 407, 695-702
- Boyd P. W., Law C. S., Wong C. S., Nojiri Y., Tsuda A., Levasseur M., Yoshimura T. (2004). The decline and fate of an iron-induced subarctic phytoplankton bloom. *Nature.* 428(6982): 549-553.
- Boyle E., Collier R., Dengler A. T., Edmond J. M., Ng, A. C., Stallard R. F. (1974). On the chemical mass-balance in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 38(11): 1719-1728.
- Boyle E. A., Edmond J. M., Sholkovitz E. R. (1977). The mechanism of iron removal in estuaries. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 41:1313–1324.
- Boyle E. A., Bergquist B. A., Kayser R. A., Mahowald N. (2005). Iron, manganese, and lead at Hawaii Ocean Time-series station ALOHA: temporal variability and an intermediate water hydrothermal plume. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 69: 933–952.
- Bullen T. D., White A. F., Childs C. W., Vivit D. V., Schulz M. S. (2001). Demonstration of significant abiotic iron isotope fractionation in nature. *Geol.* 29: 699–702.
- Callede J., Cochonneau G., Ronchail J., Alves V., Guyot J., Guimaraes V., de Oliveira E. (2010). Les apports en eau de l'Amazone a l'Ocean Atlantique. *Rev. Sci. l'Eau.* 23: 247–273.
- Coale K. H., Johnson K. S., Chavez F. P., Buesseler K. O., Barber R. T., Brzezinski M. A., Johnson Z. I. (2004). Southern Ocean iron enrichment experiment: carbon cycling in high-and low-Si waters. *Science.* 304(5669): 408-414.
- Cornell R.M., Schwertmann U. (1996) *The Iron Oxides – Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses.* VCH, Weinheim.
- Crichton R. (2001). *Inorganic biochemistry of iron metabolism: From molecular mechanism to clinical consequences.* John Wiley & Sons, Chichester.
- Criss R.E. (1999). *Principles of Stable Isotope Distribution.* Oxford University Press, Oxford

- Crosby H. A., Johnson C. M., Roden E. E., Beard, B. L. (2005). Coupled Fe (II)-Fe (III) electron and atom exchange as a mechanism for Fe isotope fractionation during dissimilatory iron oxide reduction. *Environmental science & technology*. 39(17): 6698-6704.
- de Jong J., Schoemann V., Tison J.L., Becquevort S., Masson F., Lannuzel D., Petit J., Chou L., Weis D., Mattielli N. (2007) Precise measurement of Fe isotopes in marine samples by multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS). *Anal. Chim. Acta*. 589(1): 105–119.
- Devol A. H., Forsberg B. R., Richey J. E., Pimentel T. P. (1995). Seasonal variation in chemical distributions in the Amazon (Solimoes) River: a multiyear time series. *Global Biogeochem. Cycles*. 9(3): 307-328.
- do Nascimento N. R., Fritsch E., Bueno G. T., Bardy M., Grimaldi C., Melfi A. J. (2008). Podzolisation as a deferralization process: dynamics and chemistry of ground and surface waters in a Acrisol–Podzol sequence of the upper Amazon Basin. *Eur. J. Soil Sci.* 59: 911–924
- do Nascimento N. R., Bueno G. T., Fritsch E., Herbillon A.J., Allard, T., Melfi A.J., Astolfo R. (2004). Podzolization as a deferralization process: a study of an Acrisol-Podzol sequence derived from Palaeozoic sandstones in the northern upper Amazon Basin. *European Journal of Soil Science*. 55(3): 523–538. doi:10.1111/j.1365-2389.2004.00616.x
- dos Santos Pinheiro G. M., Poitrasson F., Sondag F., Vieira L. C., Pimentel M. M. (2013). Iron isotope composition of the suspended matter along depth and lateral profiles in the Amazon River and its tributaries. *J. S. Am. Earth Sci.* 44: 35-44.
- Eckert J., Sholkovitz E. R. (1976). The flocculation of iron, aluminum and humates from river water by electrolytes. *Geochim. Cosmochim. Acta* 40: 847–848.
- Ehrenreich A., Widdel F. (1994). Phototrophic oxidation of ferrous minerals—a new aspect in the redox microbiology of iron. In: *Microbial Mats*. Springer Berlin Heidelberg, p. 393-402..
- Elderfield H. and Schultz A. (1996) Mid-ocean ridge hydrothermal fluxes and the chemical composition of the ocean. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 24, 191–224.
- Elrod V. A., Berelson W. M., Coale K. H. and Johnson K. S. (2004) The flux of iron from continental shelf sediments: a missing source for global budgets. *Geophys. Res. Lett.* 31
- Emmanuel S., Erel Y., Matthews A., Teutsch N. (2005). A preliminary mixing model for Fe isotopes in soils. *Chem. Geol.* 222(1–2): 23–34
- Escoube R., Rouxel O. J., Sholkovitz E., Donard O.F.X. (2009). Iron isotope systematics in estuaries: The case of North River, Massachusetts (USA). *Geochim. Cosmochim. Acta*. 73(14): 4045–4059.
- Fantle M. S., DePaolo D. J. (2004) Iron isotopic fractionation during continental weathering. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 228(3-4):547–562;
- Field C. B., Behrenfeld M. J., Randerson J. T., Falkowski, P. (1998). Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*. 281(5374): 237-240.
- Fritsch E., Allard T., Benedetti M. F., Bardy M., do Nascimento, N. R., Li Y., Calas G. (2009). Organic complexation and translocation of ferric iron in podzols of the Negro River watershed. Separation of secondary Fe species from Al species. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 73(7): 1813–1825.
- Gaillardet J., Dupre B., Allegre C. J., Négrel P. (1997). Chemical and physical denudation in the Amazon River Basin. *Chem. Geol.* 142(3): 141-173.
- Gaillardet J., Viers J., Dupré B. (2003). Trace elements in river waters. *Treatise on geochemistry*. 5: 225-272.
- Haese RR. (2006). The biogeochemistry of iron. In: Schulz H.D., Zabel M (eds) *Maritime Geochemistry*. 2nd edn. pp 241-270
- Holliday L. M., Liss P. S. (1976). The behaviour of dissolved iron, manganese and zinc in the Beaulieu Estuary, S. England. *Estuarine and Coastal Marine Science*. 4(3):349-353.
- Hunter K. A. (1990). Kinetics and mechanisms of iron colloid aggregation in estuaries. In *Surface and Colloid Chemistry in Natural Waters and Water Treatment* (ed. R. Beckett). Plenum Press, New York.
- Hutchins D. A., Bruland K. W. (1998). Iron-limited diatom growth and Si: N uptake ratios in a coastal upwelling regime. *Nature*. 393(6685): 561-564.
- Icopini G. A., Anbar A. D., Ruebush S.S., Tien M., Brantley S. L. (2004). Iron isotope fractionation during microbial reduction of iron: The importance of adsorption. *Geol.* 32(3):205.

- Ilina S. M., Poitrasson F., Lapitskiy S. A., Alekhin Y. V., Viers J., Pokrovsky O. S. (2013). Extreme iron isotope fractionation between colloids and particles of boreal and temperate organic-rich waters. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 101:96-111
- Ingri J., Malinovsky D., Rodushkin I., Baxter D. C., Widerlund A., Andersson P., Gustafsson Ö. (2006). Iron isotope fractionation in river colloidal matter. *Earth and Planetary Science Letters.* 245(3-4):792-798.
- Johnson K. S., Gordon R. M., Coale K. H. (1997). What controls dissolved iron concentrations in the world ocean? *Mar. Chem.* 57:137-161.
- Jickells T. D., An Z. S., Andersen K. K., Baker A. R., Bergametti G., Brooks N., Cao J. J., Boyd P. W., Duce R. A., Hunter K. A., Kawahata H., Kubilay N., laRoche J., Liss P. S., Mahowald N., Prospero J. M., Ridgwell A. J., Tegen I., Torres R. (2005). Global iron connections between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. *Science.* 308:67-71.
- Johnson C. M., Skulan J. L., Beard B. L., Sun H., Neelson K. H., Braterman P. S. (2002). Isotopic fractionation between Fe(III) and Fe(II) in aqueous solutions. *Earth and Planetary Science Letters.* 195(1-2): 141-153.
- Konhauser K. O., Fyfe W. S., Ferris F. G., and Beveridge T. J. (1993) Metal sorption and mineral precipitation by bacteria in two Amazonian river systems: Rio Solimoes and Rio Negro, Brazil. *Geology* 21, 1103-1106.
- Konhauser, K. O., Hamade, T., Raiswell, R., Morris, R. C., Grant Ferris, F., Southam, G., Canfield, D. E. (2002). Could bacteria have formed the Precambrian banded iron formations? *Geology.* 30(12):1079.
- Lacan F., Radic A., Jeandel C., Poitrasson F., Sarthou G., Pradoux C., Freydisier R. (2008). Measurement of the isotopic composition of dissolved iron in the open ocean. *Geophysical Research Letters.* 35(24):1-5.
- Langmuir D. (1996). *Aqueous environmental geochemistry.* Prentice-Hall, Upper Saddle River, 600 pp.
- Lefèvre N., Watson A. J. (1999). Modeling the geochemical cycle of iron in the oceans and its impact on atmospheric CO₂ concentrations. *Global Biogeochemical Cycles.* 13(3):727-736.
- Lewis W. M. J., Hamilton S. K., Saunders J. F. (1995). Rivers of Northern South America. *River and Stream Ecosystems* In: Cushing, C.E. Elsevier, pp 219-256.
- Lovley D.R. (1997) Microbial Fe(III) reduction in subsurface environments. *FEMS Microbiol. Rev.* 20:305-313.
- Martin J. H., Fitzwater S. E. (1988). Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east Pacific subarctic. *Nature.* 331:341- 343.
- Martin, J. H. (1990). Glacial-interglacial CO₂ change: The iron hypothesis. *Paleoceanography,* 5(1), 1-13.
- Martin, J. H., Fitzwater, S. E., Gordon, R. M. (1990). Iron deficiency limits phytoplankton growth in Antarctic waters. *Global Biogeochemical Cycles,*4(1), 5-12.
- Martin JH, Coale KH, Johnson KS; Fitzwater SE. (1994). Testing the iron hypothesis in ecosystems of the equatorial Pacific Ocean. *Nature.* 371:123-129.
- Matthews A., Zhu X. K., O'Nions K. (2001). Kinetic iron stable isotope fractionation between iron (-II) and (-III) complexes in solution. *Earth and Planetary Science Letters.* 192(1):81-92.
- Mayer L. M. (1982) Retention of riverine iron in estuaries. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 46:1003-1009.
- McKnight DM, Bencala KE, Zellweger GW, Aiken GR, Feder GL, Thorn KA. (1992) Sorption of dissolved organic carbon by hydrous aluminum and iron oxides occurring at the confluence of Deer Creek with the Snake River, Summit County, Colorado *Environ. Sci. Technol.* 26(7):1388-139
- Meade R.H. (1985). Suspended sediment in the Amazon river and its tributaries in Brazil during 1982-1984. *U.S. Geol. Surv. Open-File Rep.* 85(492):1-40.
- Moreira-turcq P. F., Seyler P., Guyot J. L., Etcheber H. (2003). Characteristics of organic matter in the mixing zone of the Rio Negro and Rio Solimões of the Amazon River. *Hydrological Processes,* 1404:1393- 1404.
- Morel F. M., Kustka A. B., Shaked Y. (2008). The role of unchelated Fe in the iron nutrition of phytoplankton. *Limnology and Oceanography.* 53(1): 400.
- Neelson K.H., Saffarini D. (1994) Iron and manganese in anaerobic respiration. *Annu. Rev. Microbiol.* 48:311-343.
- Nelson N., Ben-Shem A. (2004). The complex architecture of oxygenic photosynthesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 5(12):971-982.

- Nightingale P., Cooper D., Cochlan W. P., Landry M. R. (1996). A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in the equatorial Pacific Ocean. *Nature*. 383:10.
- Parekh P., Follows M. J., Boyle E. (2004). Modeling the global ocean iron cycle. *Global Biogeochemical Cycles*: 18:(1).
- Poitras F., Viers J., Martin F., Braun J. (2008) Limited iron isotope variations in recent lateritic soils from Nsimi, Cameroon: Implications for the global Fe geochemical cycle. *Chem. Geol.* 253(1-2):54–63.
- Polyakov V. B. (1997) Equilibrium fractionation of the iron isotopes: Estimation from Mössbauer spectroscopy data. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 61:4213–4217.
- Polyakov V. B., Mineev S. D. (2000). The use of Mössbauer spectroscopy in stable isotope geochemistry. *Geochim Cosmochim Acta.* 64:849–865
- Polyakov V. B., Clayton R. N., Horita J., Mineev S.D. (2007). Equilibrium iron isotope fractionation factors of minerals: reevaluation from the data of nuclear inelastic resonant X-ray scattering and Mössbauer spectroscopy. *Geochimica et cosmochimica acta.* 71(15):3833-3846.
- Poulton S.W., Raiswell R. (2002). The low temperature geochemical cycle of iron: from continental fluxes to marine sediment deposition. *American Journal of Science.* 302:774-805.
- Quesada C. A., Lloyd J., Anderson L. O., Fyllas N. M., Schwarz M., Czimczik C. I. (2011). Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. *Biogeosciences.* 8(6):1415–1440.
- Richey J. E., Meade R. H., Salati E., Devol A. H., Nordin C. F., Santos U. D. (1986) Water discharge and suspended sediment concentrations in the Amazon River: 1982–1984. *Water Resour. Res.* 22(5):756-764.
- Schauble E. A., Rossman G. R., Taylor H. P. (2001). Theoretical estimates of equilibrium Fe-isotope fractionations from vibrational spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 65(15): 2487-2497.
- Seyler P., Boaventura G. R. (2003). Distribution and partition of trace metals in the Amazon basin. *Hydrological Processes.* 17(7):1345–1361.
- Sholkovitz E. R. (1976) Flocculation of dissolved organic and inorganic matter during the mixing of river water and seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 40:831–845.
- Taylor S. R., McLennan S. M. and McCulloch M. T. (1983) Geochemistry of loess, continental crustal composition and crustal model ages. *Geochim. Cosmochim. Acta* 47, 1897–1905.
- Tardy Y. (1997). *Petrology of Laterites and Tropical Soils.* Balkema, Rotterdam. 408 pp
- Teutsch N., vonGunten U.; Porcelli D.; Cirpka O. A.; Halliday A. N. (2005). Adsorption as a cause for Iron Isotope fractionation in reduced groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 17:4175–4185
- Thamdrup B. (2000). Bacterial manganese and iron reduction in aquatic sediments. In: *Advances in microbial ecology.* Springer US, p. 41-84.
- von Blanckenburg F. (2000). Iron Isotope Fractionation in Soils, Goldschmidt Conference. Cambridge Publications, Oxford, p 1057.
- Wells M. L., Price N. M., Bruland K. W. (1995). Iron chemistry in seawater and its relationship to phytoplankton: a workshop report. *Mar. Chem.* 48:157–182.
- Wiederhold J. G., Teutsch N., Kraemer S. M., Halliday A. N., Kretzschmar R. (2007) Iron isotope fractionation in oxic soils by mineral weathering and podzolization. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 71: 5821–5833.
- Wiederhold J., Teutsch N., Kraemer S., Halliday A., Kretzschmar R. (2007) Iron isotope fractionation in oxic soils by mineral weathering and podzolization. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 71(23):5821–5833.
- Wilkinson K. J., Nègre J., Buffie J. (1997). Coagulation of colloidal material in surface waters: the role of natural organic matter, *J. Contam. Hydrol.* 26:229–243
- Wu J., Boyle E., Sunda W., Wen L.S. (2001). Soluble and colloidal iron in the Oligotrophic North Atlantic and North Pacific. *Science* 293:847–849.
- Yee N., Benning L. G., Phoenix V. R., Ferris F. G. (2004). Characterization of metal-cyanobacteria sorption reactions: a combined macroscopic and infrared spectroscopic investigation. *Environmental science & technology.* 38(3):775-782.

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRINCIPAIS PROCESSOS BIOGEOQUÍMICOS DO FERRO

2.1.1 Reações de oxidação e redução

Nos ambientes de superfície o Fe está presente em dois estados de oxidação distintos de acordo com sua valência: ferro férrico oxidado (Fe^{3+}) e ferro ferroso reduzido (Fe^{2+}). Quando exposta à superfície oxidante a crosta terrestre, composta por rochas ígneas e metamórficas de alta temperatura, entra em desequilíbrio relacionado aos estados redox e, através dos processos de intemperismo, o Fe^{2+} é oxidado podendo formar óxidos e hidróxidos de Fe^{3+} insolúveis (Stumm e Sulzberg, 1992). De acordo com o pH, Eh e as reações de oxirredução, pode ocorrer a dissolução ou precipitação de minerais de Fe, além da adsorção ou dessorção e co-precipitação ou liberação de diversos compostos adsorvidos na superfícies dos minerais, como, por exemplo, os metais traços (Hem, 1977; Haese, 2006).

Os diagramas de Eh-pH são amplamente utilizados na geoquímica por fornecerem importantes informações relacionadas à distribuição de espécies de diferentes elementos e minerais em diferentes sistemas. Tais diagramas são limitados, tendo em vista que assumem processos em equilíbrio que, em alguns casos não ocorrem em processos naturais, principalmente, em ambientes de baixa temperatura (Lindberg e Runnells 1984). Entretanto, são extremamente úteis para a geoquímica na determinação da paragenese mineral, servindo como base para melhorar a compreensão do comportamento de metais em diversos sistemas. Baas Becking et al. (1960) plotaram dados de águas naturais em função do pH e Eh, ilustrado na Figura 1, que demonstra duas regiões de Eh-pH no espaço. A primeira destas é a região entre espécies redutoras e oxidantes de enxofre. Os limites entre estas regiões separam as condições quimicamente redutoras das mediamente oxidantes. A Figura 1 mostra a relação entre as fases de um sistema simples Fe-O-H, assumindo o $\text{Fe}(\text{OH})_3$ como fase estável para a precipitação de Fe^{3+} . Este diagrama é caracterizado por um enorme campo de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e Fe^{2+} e, em uma condição redutora de pH básico, por um campo de $\text{Fe}(\text{OH})_2$ (Brookings, 1988). Devido as razões termodinâmicas, as concentrações de Fe livre dissolvido são extremamente baixas em ambientes oxidantes de pH neutro.

A reação do Fe^{2+} com oxigênio é rápida e, segundo Millero et al. (1987), é inversamente proporcional à concentração de prótons H^+ na solução, demonstrando a

importância do pH. Ou seja, quanto mais baixo o pH da solução, menor é a taxa de oxidação do Fe. Sendo assim, em uma solução de ferro ferroso com um baixo pH, a reação de oxidação é tão lenta que, sob o ar atmosférico, pode demorar semanas. Em condições de pH neutro a reação de oxidação do Fe^{2+} é tão rápida que se a água permanecer aerada, em 10 minutos ou menos, o Fe será totalmente removido da solução na forma de oxihidróxidos. A cinética dessas reações é descrita de acordo com Equação 1 descrita a seguir (Millero et al., 1987; Singer e Stumm, 1970; Stumm e Lee, 1961):

$$-d[\text{Fe}^{2+}]/dt = k [\text{Fe}^{2+}] [\text{O}_2] [\text{OH}^-]^2 \text{ (Eq.1)}$$

onde, $k = \log k_0 - 3.29 \times I^{0.5} + 1.52 \times I$, $\log k_0 = 21.56 - 1545/T$, I é a força iônica e T é a temperatura em graus Kelvin. Através desta equação, pode-se observar que a taxa de oxidação acelera com o aumento da concentração de Fe^{2+} , O_2 e pH.

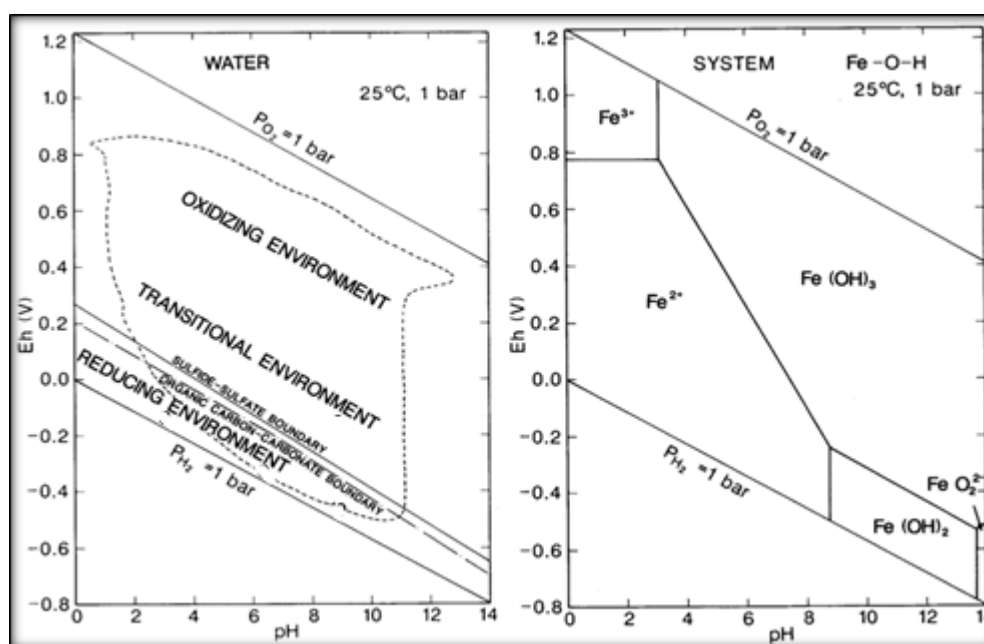
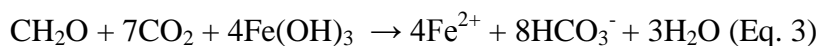


Figura 1 – Diagrama de Eh-pH da água demonstrando diversas características do meio (esquerda, após Baas Becking et al., 1960). Diagrama Eh-pH de parte do sistema Fe-O-H assumindo $\text{Fe}(\text{OH})_3$ como a fase estável do Fe(III) (direita, Brookings, 1988).

As fases de Fe precipitadas de soluções são denominadas de oxihidróxidos de Fe. Do ponto de vista da interpretação mineralógica (e.g., difração de raio-X, infravermelho e espectroscopia Mössbauer) o precipitado de Fe pode ser completamente amorfo, na forma de gel férrico, ou fracamente cristalizado, como por exemplo os hidretos de Fe (hidróxido de Fe^{3+}

amorfo). Os óxidos de Fe mais abundantes são a goethita (α -FeOOH) e hematita (α -Fe₂O₃) e, geralmente, seu comportamento e ocorrência estão associados. Em proporções menos abundantes destacam-se a lepidocrocita (γ -FeOOH), e magnetita (Fe²⁺Fe₂³⁺O₄).

Em regiões com significativo aporte de matéria orgânica proveniente da vegetação, como, por exemplo, os solos orgânicos, diversas reações entre a matéria orgânica, o oxigênio, o dióxido de carbono e o Fe podem causar a redução do Fe estabilizado na forma de oxihidróxidos ou complexado com a matéria orgânica (Lovley, 1997; Chen et al., 2003; Ronden; 2003). Os mecanismos de oxidação da matéria orgânica podem ser realizados através de processos químicos e biológicos. As Equações 2 e 3 demonstram os processos de oxidação dos oxihidróxidos de Fe. A matéria orgânica, neste caso, representada na forma de carboidrato (CH₂O), interage com o oxigênio, produzindo dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O). Em seguida, os oxihidróxidos de Fe estabilizados nos solos na forma Fe(OH)₃ são reduzidos através da oxidação da matéria orgânica, liberando o Fe em sua forma reduzida (Fe²⁺), bicarbonato (HCO₃⁻) e água (H₂O). Esse processo é responsável pela transformação do Fe sólido estabilizado Fe(OH)₃ em Fe ferroso, que apresenta grande mobilidade.



Os processos de oxidação da matéria orgânica citados acima contribuem com a formação de um ambiente tipicamente anóxico. Em tais condições, um mecanismo considerado de extrema importância geoquímica na mobilidade do Fe em solos, sedimentos aquáticos e demais ambientes subsuperficiais é a redução dissimilatória do Fe (Lovley, 2004). Neste processo os microrganismos oxidam compostos orgânicos (*e.g.*, processo fermentação) através da transferência de elétrons ao ferro férrico externo, reduzindo-o a sua forma ferrosa, sem que ocorra sua assimilação, porém com a geração de energia para o organismo. Entre as diversas formas de Fe capazes reduzir por tais processos destacam-se a hematita, os óxidos de Fe amorfos ou fracamente cristalizados e o Fe complexado a ligantes orgânicos. A Figura 2 demonstra o processo onde a matéria orgânica é oxidada e o Fe age como receptor de elétrons. Primeiramente, a matéria orgânica é hidrolisada em componentes menores como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, e compostos aromáticos através da

atividade de enzimas hidrolíticas que são produzidas por uma grande variedade de microrganismos. Subsequentemente, estes produtos intermediários podem ser utilizados para a redução dissimilatória do Fe férrico (Lovley, 1991). De maneira geral, a redução dissimilatória do Fe mediada por microrganismos pode ser expressa pela Equação 4 (Rainswell e Canfield, 2012).

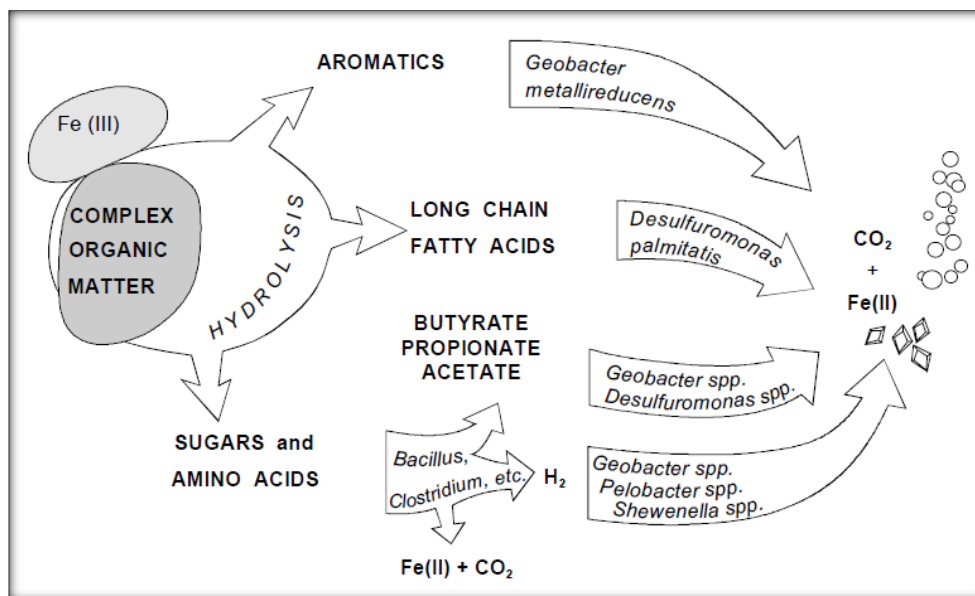
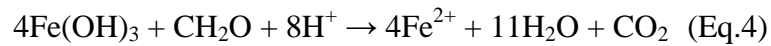


Figura 2 – Modelo de oxidação de matéria orgânica complexada com Fe^{3+} servindo de receptor de elétron com exemplos de organismos capazes de catalisar as várias reações (Lovley, 1991).

2.1.2 Adsorção e complexação

O processo de adsorção é um fenômeno de superfície onde ocorre a adesão de átomos, íons ou moléculas na camada externa de um sólido. Difere-se da absorção, definida como a permeação de uma solução no interior de um sólido. A natureza das ligações depende das espécies envolvidas e, geralmente, ocorre através da adsorção física (e.g., van der Waals forces), adsorção química (complexação e quelação) e atrações eletrostáticas. Nos ambientes de superfície, os principais sólidos responsáveis pela adsorção de cátions, ânions e moléculas orgânicas são os oxihidróxidos de Fe e Mn, os argilominerais e a superfície celular de microrganismos. Entre os mecanismos de adsorção, a complexação e a quelação se destacam, pois geram substâncias mais estáveis em comparação com os processos

físicos e eletrostáticos e são os principais processos que controlam a mobilidade e dispersão de metais em sistemas ambientais.

A complexação ocorre quando um íon metálico ou uma substância se combina com um grupo doador de par de elétrons (ligante monodentado). O composto resultante é chamado de complexo ou composto de coordenação (Figura 3). Em outras palavras, complexo é o produto de uma reação entre um ácido de Lewis e uma base de Lewis. A base de Lewis possui um par de elétrons disponível que é doado para o ácido de Lewis (Lee et al., 1999). No produto resultante, o par de elétrons fica compartilhado por ambas as espécies químicas. Quando um cátion metálico se liga a uma substância que possui dois ou mais grupos doadores de pares de elétrons (ligantes polidentados), de maneira a formar uma ou mais estruturas em anel de esfera interna, o composto resultante é chamado de quelato e a substância doadora de elétrons é denominada de agente quelante. Nos complexos de esfera externa, o metal é adsorvido apenas por atração eletrostática, mantendo-se solvatado às moléculas de água, $[M(H_2O)_6]^{n+}$. Como essa interação é relativamente fraca, o metal complexado pode ser facilmente trocado por outros cátions não específicos (Tipping, 2002).

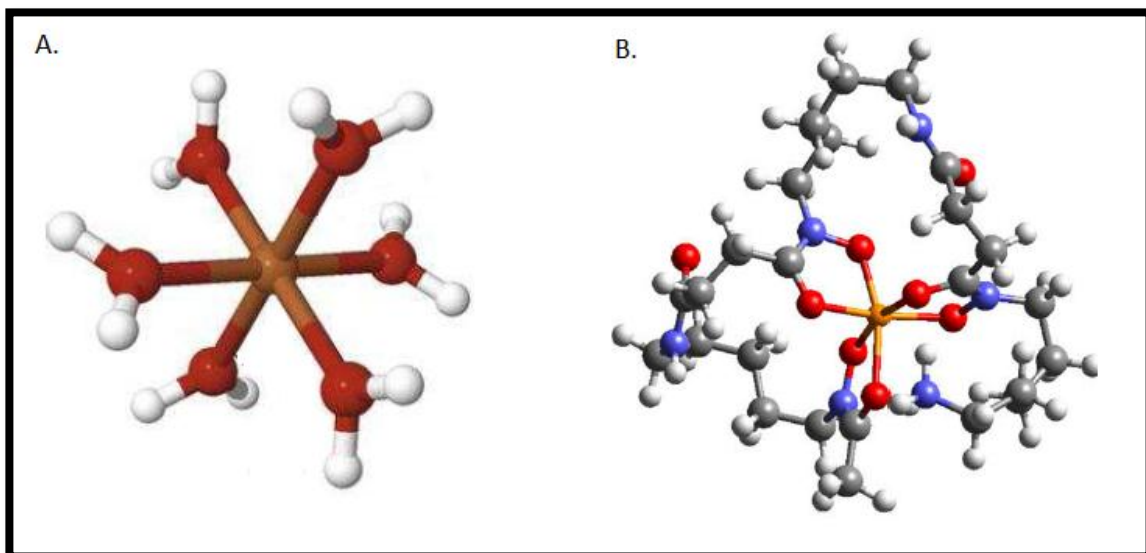


Figura 3 – Exemplos da geometria de diferentes complexos de Fe (a.) aquocomplexo de Fe. (Hill e Schauble, 2008) e (b) Fe complexado a exsudato biológico, i.e, sideróforos (Domagal-Goldman et al., 2009). Descrição: marrom/laranja = Fe; vermelho = O; branco = H; e azul = N.

A adsorção de cátions e ânions nas superfícies dos óxidos de Fe é causada pela hidroxilação da superfície do mineral (S-OH) (Stumm, 1992). Dependendo do pH do

ambiente, a protonação ou deprotonação da superfície do sólido irá ocorrer. Dessa forma, a carga e o potencial da superfície irão variar de acordo com a concentração de íons H^+ na solução. Uma carga excessivamente positiva ou negativa na superfície do sólido será balanceada por uma quantidade equivalente de ânions ou cátions adsorvidos. Em pH baixo, ocorrerá a adsorção preferencial de ânions orgânicos e inorgânicos (e.g., H_2PO_4 e oxalato), enquanto em pH elevado ocorrerá a adsorção de cátions. (Stumm e Morgan 1996). Como os oxihidróxidos de Fe têm alta afinidade na adsorção de cátions e ânions em condições naturais eles têm grande influência na mobilidade de metais traços, fosfatos e ácidos orgânicos em ambientes superficiais.

A adsorção pode influenciar também a acumulação de metais na superfície de microrganismos devido às propriedades da parede celular, como a carga e a orientação dos grupos funcionais que a compõem, além das características físico-químicas da solução em que se encontra (e.g., Konhauser et al., 1993; Yee et al., 2004). Microrganismos possuem alguns grupos funcionais na superfície celular que sofrem deprotonação sob condições normais de crescimento. Como resultado, podem sequestrar uma ampla variedade de metais. Os grupos funcionais de maior interesse para as bactérias fitoplanctônicas são os carboxílicos associados aos ácidos urônicos em alginatos, pois apresentam espaçamento apropriado para ligar e neutralizar metais multivalentes.

Uma das principais características de diversos grupos funcionais orgânicos é sua propriedade anfotérica, ou seja, eles podem tanto ligar-se a ou liberar-se de prótons da solução dependendo do pH (Ledin, 1997). Com a queda do pH de uma determinada solução, os grupos funcionais tornam-se protonados, perdendo a capacidade de ligar-se a metais. Ao contrário, em solução com o pH aproximadamente neutro, os grupos funcionais são deprotonados dando início às interações eletrostáticas, demonstrando que metais e prótons competem pelos mesmos sítios da superfície celular (Ledin, 2000). O processo de deprotonação, que descreve o comportamento de vários grupos funcionais associados às paredes celulares dos microrganismos (e.g., hidroxila, carboxila, sulfidril e fosfatos), leva a formação de um ânion orgânico, ou ligante, através da liberação de H^+ em solução (Kotrba et al., 2011).

As forças iônicas são eletrostáticas e ocorrem no início da atração entre metais e os ligantes orgânicos. Subsequentemente, as ligações covalentes ocorrem devido ao compartilhamento de elétrons em torno da ligação entre cátion e ligante orgânico. Os

principais fatores que influenciam as ligações entre metais e células são o potencial iônico, o espaçamento entre ligantes, o tipo de ligante e formação de ligações covalentes (Stone, 1997). De maneira geral, a maioria dos cátions monovalentes e divalentes permanecem desidratados ou formam aquoanions, sendo que a afinidade de um cátion metálico por um ligante orgânico aumenta de M^+ para um M^{3+} . Os metais também são complexados por diferentes tipos de ligantes. Átomos de oxigênio tem afinidade por metais alcalinos e alcalinos terrosos e alguns metais de transição (e.g., Fe^{3+}), enquanto os átomos de nitrogênio e o enxofre ligam-se, preferencialmente, a diversos metais de transição (e.g., Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} e Fe^{2+}) (Konhauser, 2007).

Os outros importantes ligantes orgânicos encontrados nos sistemas ambientais são provenientes da decomposição da matéria orgânica (e.g., oxalato e ácidos húmicos) ou da liberação de exsudatos microbiológicos. As substâncias húmicas são formadas através da decomposição e mineralização lenta e incompleta da matéria orgânica, formando macromoléculas orgânicas policondensadas (Stevenson, 1994; Tipping, 2002). De acordo com Aiken et al. (1985), as substâncias húmicas são compostos orgânicos heterogêneos de elevado peso molecular, de origem natural e biogênica caracterizadas pela coloração amarela escura. A capacidade das substâncias húmicas de complexar cátions metálicos provém da enorme superfície específica composta, principalmente, por grupos carboxílicos e fenólicos (Piccolo e Stevenson, 1982). Estes compostos tem grande influência na mobilidade de metais (e.g., Fe e Al) nos sistemas ambientais, controlando, por exemplo, a translocação de metais nos solos e o transporte de complexos organo-metálicos coloidais nas águas dos rios (e.g., Fritsch et al., 2009; Allard et al., 2011).

Em ambientes oxidados onde o Fe^{2+} e o Fe^{3+} são escassos, alguns microrganismos são capazes de produzir ligantes orgânicos de baixa massa molecular denominados de sideróforos, que estabilizam o Fe^{3+} em solução. Subsequentemente, o complexo organometálico é assimilado pelo organismo (Morgan et al. 2010). Os grupos funcionais nos sideróforos incluem α -hidroxicarboxilato, hidroxamato, catecolato, carboxilato e amina (Kraemer, 2004). Exercem papel importante na mobilidade do Fe atuando também na dissolução de minerais (Kalinowski et al., 2000; Cheah, 2003).

2.1.3 Dissolução

As reações de dissolução de minerais nos solos são processos superficiais controlados por fatores termodinâmicos e cinéticos na interface sólido-solução. (Stumm, 1992). Este mecanismo consiste na transferência de átomos de Fe coordenados octaedricamente na superfície dos oxihidróxidos para a solução (Casey e Ludwig, 1996). Os diferentes tipos de óxidos de Fe exibem cinéticas de dissolução intrínsecas as suas características mineralógicas, como a estabilidade cristalográfica e superfície específica (Larsen e Postma, 2001; Roden, 2004).

A dissolução promovida por soluções ácidas, denominada em inglês “*proton-promoted dissolution*”, é controlada pela reação de prótons com os átomos de oxigênio e grupos hidroxílicos na superfície do mineral. Como resultado da adsorção de prótons aos átomos de oxigênio, as ligações Fe-O são enfraquecidas, provavelmente, através da polarização, promovendo a liberação de Fe da superfície mineral para a solução (Cornell e Schwertmann, 2003). Entretanto, esse processo desempenha um papel secundário na mobilização do Fe na natureza, com exceção de ambientes muito ácidos.

A presença de moléculas orgânicas capazes de formar complexos estáveis com o Fe^{3+} pode intensificar a dissolução dos óxidos de Fe (Kraemer, 1997). Estes ligantes incluem ácidos orgânicos como o oxalato, o citrato e moléculas específicas capazes de complexar o Fe como os sideróforos. Os ligantes orgânicos são, primeiramente, adsorvidos nos óxidos de Fe, formando complexos de superfície que são subsequentemente separados do mineral, liberando os complexos orgânicos de Fe^{3+} . O processo de dissolução promovida por ligantes orgânicos exerce influencia nos ciclos do Fe em solos ricos em matéria orgânica.

O processo de maior importância na dissolução de minerais está relacionado com a transferência de elétrons do meio aos oxihidróxidos de Fe^{3+} localizados na superfície mineral, formando Fe^{2+} aquoso de elevada mobilidade. Este processo é denominado em inglês de “*reductive-promoted dissolution*”, ou seja, dissolução causada pela redução dos óxidos de Fe^{3+} presentes na superfície mineral. Este processo pode ocorrer tanto por processos bióticos como abióticos (Stumm, 1995). Conforme demonstrado anteriormente na Eq. 4, a bactéria que causa a redução dissimilatória do Fe promove a oxidação da matéria orgânica utilizando o Fe^{3+} como receptor terminal de elétrons (Lovley, 2004).

2.2 MECANISMOS DE FRACIONAMENTO ISOTÓPICO DO FERRO

2.2.1 Isótopos Estáveis

O termo isótopos é definido pelos átomos cujos núcleos têm o mesmo número de prótons, mas um diferente número de nêutrons. De origem grega, significa “espaços iguais” e indica que diferentes massas ocupam a mesma posição na tabela periódica, ou seja, pertencem ao mesmo elemento. Os isótopos podem ser divididos em dois grupos fundamentais: espécies estáveis e instáveis (radioativas). Até o momento foram descobertos 300 isótopos estáveis e 1700 isótopos instáveis (Clark e Fritz, 1997). Destes, apenas 21 elementos são considerados puros no sentido de terem somente um isótopo estável. Todos os outros elementos são misturas de, pelo menos, dois isótopos. Na maioria dos casos, um isótopo é predominante, sendo os demais presentes em pequenas porcentagens (Hoefs, 1997). Dos oitenta e três elementos que ocorrem naturalmente, que não são radioativos ou que tem meia-vida longa o suficiente para serem considerados estáveis ($>10^9$ anos), aproximadamente, três quartos têm dois ou mais isótopos. O número de isótopos estáveis cresce com o aumento do número atômico, em um máximo de 10 para o Sn. Elementos com baixos números atômicos tendem a ter um menor número de isótopos como no caso do C, H, B e N (Johnson e Beard, 2004).

O estudo das variações isotópicas de elementos tradicionais como H, C, N, O e S deu início às pesquisas da geoquímica dos isótopos estáveis. Estes trabalhos forneceram importantes informações sobre suas fontes em rochas, minerais e fluidos, evolução da crosta e do manto, mudanças climáticas, evolução da vida e a gênese de recursos naturais (e.g., Ohmoto, 1972; Peterson 1987; Gat, 1996; Talbot, 2002; Farquhar e Wing, 2003). Entretanto, muito menos atenção foi dada aos demais isótopos estáveis de metais e halogênios devido às restrições analíticas da época. Os recentes avanços tecnológicos aplicados à determinação isotópica, como o MC-ICP-MS, aceleraram o desenvolvimento de novas áreas de pesquisas relacionadas à análise isotópica aplicada às geociências. O interesse na determinação de isótopos estáveis não tradicionais, como os metais de transição (e.g., Fe, Cu e Zn), tem crescido nos últimos anos nas Geo e CosmoCiências. As diferenças relativas de massas de diversos isótopos de mesmos elementos são muito pequenas, resultando em fracionamento isotópico tipicamente na casa de poucos por mil. A determinação destes pequenos

fracionamentos isotópicos naturais requerem métodos analíticos precisos e confiáveis para distinguir as variações isotópicas naturais daquelas introduzidas pela técnica analítica *per se*.

Para a maioria dos elementos, nas condições terrestres típicas de temperatura e pressão, o fracionamento isotópico está relacionado a grande diferença relativa de massa entre os isótopos estáveis; as fortes ligações covalentes; e aos múltiplos estados de oxidação (O'Neil, 1986). Entretanto, muitos isótopos estáveis não tradicionais não apresentam essas características. São elementos pesados (Fe, Mo e Cd), não apresentam grande diferença de massa entre os isótopos estáveis mensuráveis (Cr), formam, predominantemente, ligações iônicas (Li, Mg, Ca) ou, geralmente, têm somente um estado de oxidação na natureza (Li, Mg, Si, Ca) (Schauble, 2004). As principais regras que controlam o fracionamento isotópico estável em equilíbrio foram descritas por Bigeleisen e Mayer (1947), sendo elas:

1. O fracionamento decresce à medida que a temperatura aumenta em uma proporção de, aproximadamente, $1/T^2$ para a maioria das substâncias;
2. O fracionamento é maior para elementos leves e para isótopos com maior diferença entre isótopo pesado e leve;
3. O isótopo pesado de um elemento tenderá a ser concentrado onde o elemento forma ligações mais rígidas, estando relacionados com: (a) elevado estado de oxidação; (b) ligações envolvendo elementos no topo da tabela periódica; (c) ligações covalentes entre átomos com eletro negatividade semelhante e (d) baixo número de coordenação.

A grande maioria dos dados isotópicos é expressa na notação delta, onde a composição isotópica é relativa ao desvio de uma razão isotópica comparada com a mesma razão de uma amostra de referência (Johnson e Beard, 2004):

$$\delta^i Ex = \left(\frac{Rx^{i/j}}{Rstd^{i/j}} - 1 \right) 10^3 \quad (\text{Eq.5})$$

onde i e j são os isótopos específicos usados na razão R do elemento E; x é a amostra de interesse e std é o material de referência padrão. É tradicional utilizar o isótopo i na notação δ , sendo importante perceber a notação específica da razão $R^{i/j}$ que está sendo empregada. A unidade comumente utilizada para expressar esta notação é parte por mil ou *per mil* (‰).

O material referência padrão utilizado para reportar a composição isotópica ainda não foi bem definido para muitos casos, requerendo atenção na comparação dos valores δ^iE . Alguns grupos escolheram um componente geológico padrão como água oceânica ou média da crosta terrestre. Outros optaram por utilizar padrões de controle interno, dificultando a calibração entre os laboratórios. Os dados devem ser reportados utilizando padrões com disponibilidade internacional sempre que possível para que os valores δ possam ser comparados, utilizando materiais de referência compatíveis.

Os dados discutidos neste projeto são reportados em valores de $\delta^{56}\text{Fe}$ e $\delta^{57}\text{Fe}$, em unidades de per mil (‰), relativa ao IRMM-14, distribuído pelo *Institute for Reference Materials and Measurements of the European Commission*. A abundância isotópica ($\text{‰} \pm 2\sigma$) deste material é de 5.845 ± 0.023 para ^{54}Fe ; 91.754 ± 0.024 para ^{56}Fe ; 2.1192 ± 0.0065 para ^{57}Fe e 0.2818 ± 0.0027 para ^{58}Fe (Taylor et al., 1992). Uma comparação realizada entre duas amostras deste padrão de diferentes lotes demonstrou que IRMM-14 tem uma composição isotópica homogênea com variação de 0.024‰/amu (Dauphas et al., 2004).

Seguindo a prática padrão, o fracionamento isotópico entre dois componentes A e B é descrito pelo fator de fracionamento isotópico α_{A-B} , através da Equação 6 (e.g., O'Neil, 1986).

$$\alpha_{A-B} = (R^{i/j})_A / (R^{i/j})_B \quad (\text{Eq.6})$$

Para sistemas isotópicos em que os fracionamentos são na ordem de poucos por mil (como no caso do Fe), pode-se empregar a seguinte aproximação:

$$10^3 \ln \alpha_{A-B} \sim \delta^i E_A - \delta^i E_B = \Delta_{A-B} \quad (\text{Eq.7})$$

O fracionamento isotópico em processos químicos, físicos e biológicos ocorre através de reações de equilíbrio ou reações cinéticas (Kendall e Doctor, 2003). Nas reações de equilíbrio isotópico os componentes envolvidos permanecem abertos para trocas isotópicas ao longo da reação. Neste processo os isótopos pesados serão preferencialmente concentrados nas substâncias onde forma ligações mais rígidas. A magnitude do fracionamento será proporcional à diferença entre as forças de ligação dos elementos nas duas fases. De acordo com Criss (1999), o fracionamento isotópico em equilíbrio em sistema fechado pode ser expresso através da Equação 8.

$$\delta^i E_B = \delta^i E_{\text{sys}} + f(\alpha_{B-A} - 1)10^3 \quad (\text{Eq.8})$$

onde α é o fator de fracionamento entre dois componentes (B-A); $\delta^i E_{\text{sys}}$ é o valor de $\delta^i E$ para todo o sistema, e f é a fração restante do componente A. Esta equação formará linhas retas e paralelas para ambos os componentes em função da fração do composto A remanescente (Figura 4).

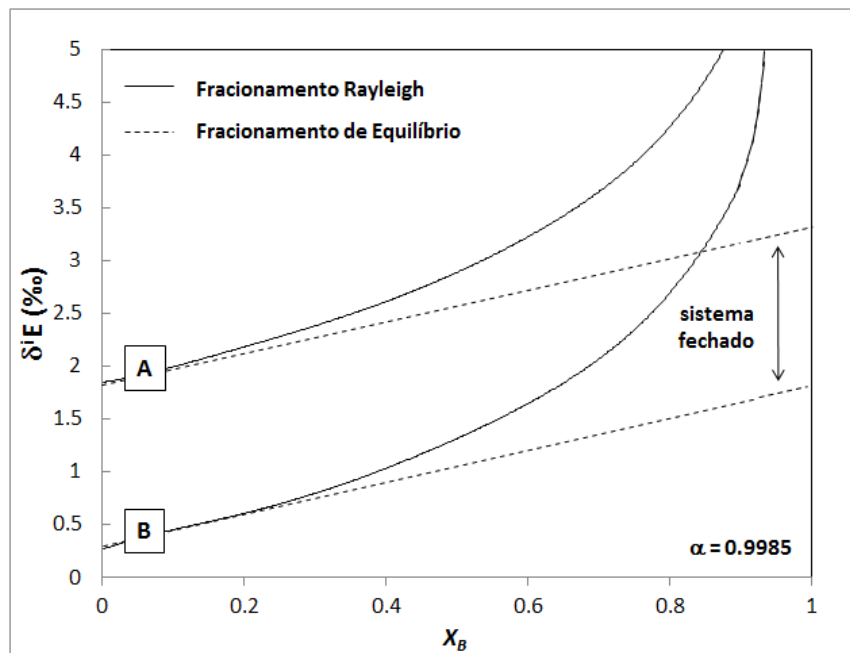


Figura 4 – Comparação dos fracionamentos isotópicos produzidos pelos processos de fracionamento de equilíbrio em sistema fechado e Rayleigh, onde A reagiu para formar a fase B, em função da proporção de B (X_B).

No fracionamento isotópico em sistemas abertos, como o *Rayleigh* (Figura 4), o componente B é isolado para trocas isotópicas com o componente A, imediatamente após sua formação, produzindo variações isotópicas mais extremas em comparação aos sistema de equilíbrio em sistemas fechados (Johnson e Beard, 2004). Em outras palavras, este processo ocorre em sistemas abertos com elevada mistura e fator de fracionamento constante, onde o reagente é finito e não interage novamente com o produto (Clark e Fritz, 1997). De acordo com Allegre (2008) este processo é descrito através da Equação 9.

$$\delta^i E_B = \delta^i_0 + 10^3 (\alpha_{(B-A)} - 1) \ln f \quad (\text{Eq.9})$$

onde α é o fator de fracionamento entre dois componentes (B-A); $\delta^i E_B$ é a composição isotópica do produto; $\delta^i E_0$ é a composição isotópica inicial; e f é a fração restante do componente A.

Embora os processos termodinâmicos sejam reversíveis, as reações de fracionamento isotópico cinético são unidirecionais e incompletas, onde produto mantém-se isolado para trocas isotópicas após sua formação. Como regra geral, as ligações entre os isótopos mais leves são quebradas mais facilmente quando comparadas com as ligações envolvendo isótopos pesados. Assim, os isótopos leves reagem mais rapidamente e tornam-se concentrados no produto, fazendo com que os reagentes residuais sejam enriquecidos nos isótopos pesados. A magnitude de um fracionamento isotópico cinético depende do mecanismo e velocidade da reação e das energias das ligações rompidas ou formadas durante a reação. Nos processos de fracionamento cinéticos unidirecionais, os fatores de fracionamento geralmente são maiores quando comparados com o fracionamento em equilíbrio para a maioria dos ambientes de baixa temperatura (Kendall e McDonnell, 1998; Kendall e Doctor, 2003).

2.2.2 Isótopos de Ferro

O elemento Fe apresenta treze isótopos diferentes com massa atômicas variando entre 49 e 62 (Goodman, 1988). Entre estes apenas quatro isótopos são estáveis (^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe e ^{58}Fe). Os demais isótopos são instáveis e decaem através de processos radioativos. Este projeto estudou somente o fracionamento de isótopos estáveis, entretanto, a seguir serão feitas algumas considerações sobre os isótopos instáveis do Fe.

Os isótopos radioativos do Fe mais utilizados como traçadores são o ^{55}Fe e o ^{59}Fe , que apresentam respectivamente meia-vida de 2.7 anos e 44.6 dias. Aplicações destes métodos abrangeram o estudo da aplicabilidade do ^{55}Fe como traçador dos processos de redução microbiana do Fe em sedimentos aquáticos (Roden e Lovley, 1992); a avaliação da liberação de ^{55}Fe em sistemas aquáticos através do lançamento de efluentes provenientes de usinas de energia nuclear (Warwick et al. 2001); a investigação das transformações das superfícies dos óxidos de Fe (Reichard et al. 2005; Pedersen et al., 2005); a determinação da absorção e translocação do Fe em plantas (Alam et al. 2005); e a investigação da especiação do Fe em água marinhas (Fischer et al., 2006). O isótopo radioativo do Fe que apresenta

maior meia-vida é o ^{60}Fe (1.49 Ma), sendo relevante em estudos de cosmoquímica (Quitté et al., 2006). É um radio-nuclídeo extinto no sistema solar, mas pode ser gerado dentro das supernovas.

O Fe apresenta, naturalmente, quatro isótopos estáveis ^{54}Fe (5.84%), ^{56}Fe (91.76%), ^{57}Fe (2.12%) e ^{58}Fe (0.28%). A variação natural é dependente de massa da composição isotópica do Fe é pequena, com magnitude de $\sim 7.5\text{‰}$ em razões $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ e $\sim 11\text{‰}$ em razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ (Rouxel et al., 2008; Illina et al., 2013). Dessa forma, os avanços nos métodos de espectrometria de massa têm sido essenciais à emergência da geoquímica dos isótopos estáveis de Fe (Taylor et al., 1992). Algumas dezenas de laboratórios distribuídos no mundo estão desenvolvendo pesquisas relacionadas a estes isótopos em uma ampla variedade de tópicos. As aplicações das análises isotópicas são numerosas como, por exemplo, o estudo dos processos planetários (e.g., Poitrasson et al., 2005; Hezel et al. 2010), a diferenciação do manto (e.g., Schoenberg e von Blanckenburg, 2006; Poitrasson et al., 2009), a identificação dos processos hidrotermais (e.g., Croal et al 2004; Heimann et al., 2010), a identificação de processos geoquímicos no oceano (Levasseur et al., 2004; Lacan et al., 2008); os ciclos de oxi-redução no planeta Terra (Rouxel et al., 2005), e, assim como neste trabalho, o estudo das assinaturas isotópicas nos distintos componentes dos sistemas aquáticos continentais (e.g., Bergquist e Boyle, 2006; Illina et al. 2013).

A utilização dos isótopos estáveis de Fe como indicadores de processos biológicos que ocorreram ao longo do curso da evolução da Terra foi a principal justificativa para dar início aos estudos envolvendo a determinação da composição isotópica deste elemento (Beard et al. 1999). Entretanto, estudos posteriores demonstraram que o fracionamento isotópico do Fe também pode ser causado por processos abióticos em ambientes superficiais e de baixa temperatura (e.g., Anbar, 2004). Embora as variações das razões isotópicas do Fe não possam ser avaliadas e utilizadas simplesmente como indicadores de processos biológicos, elas oferecerem importantes informações sobre os processos biogeoquímicos em ambientes superficiais.

Modelos teóricos baseados em teorias quânticas e de espectroscopia vibracional foram desenvolvidos com objetivo de inferir a direção e a magnitude do fracionamento isotópico. De maneira geral, estes estudos concluíram que os isótopos de Fe mais pesados são concentrados nas espécies que apresentarem ligações mais rígidas, com elevado estado de oxidação e ligações coordenadas com caráter covalente. A validade destes modelos

teóricos foi então avaliada através de diversos estudos experimentais de escala laboratorial, assim como, da análise de amostras provenientes dos sistemas naturais.

Os efeitos das mudanças nos estados de oxi-redução através de processos bióticos e abióticos foram avaliados por diversos autores. Bullen et al. (2001) demonstraram que a oxidação abiótica de Fe^{2+} causa fracionamento isotópico significativo. Os hidretos de ferro analisados apresentaram razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ relativamente pesadas quando comparados com o material inicial. O fator de fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{Fe(III)-oxidos-Fe(II)aq}}$) observado foi, aproximadamente, 1.3‰. Johnson et al. (2002) e Welch et al. (2003) investigaram a cinética das trocas isotópicas entre $\text{Fe}^{2+}_{\text{aq}}$ e $\text{Fe}^{3+}_{\text{aq}}$ através da mistura de soluções de ferro férrico e ferroso dissolvidos e da adição de spikes isotópicos. Ambos os autores inferiram que $\text{Fe}^{2+}_{\text{aq}}$ e $\text{Fe}^{3+}_{\text{aq}}$ permanecem em equilíbrio isotópico. Welch et al. (2003) demonstraram que, em condições de equilíbrio, o $\text{Fe}^{3+}_{\text{aq}}$ é enriquecido em isótopos pesados quando comparados com o $\text{Fe}^{2+}_{\text{aq}}$. O fator de fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{Fe(III)aq-Fe(II)aq}}$) reportado neste estudo foi de, aproximadamente, 4.3‰.

Croal et al. (2004) investigou o fracionamento isotópico no processo de oxidação do Fe^{2+} causado por bactéria fotoautotrófica em condições anaeróbicas. O precipitado de hidreto de ferro apresentou valores de $\delta^{57}\text{Fe}$ mais pesados que o Fe^{2+} inicial, com fator de fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{Fe(III)-oxidos-Fe(II)aq}}$) de 2.2‰. Crosby et al. (2007) reportaram que a redução dissimilatória de um substrato sólido composto de oxihidróxidos de Fe^{3+} causa fracionamento isotópico de, aproximadamente, 2.2‰ (valor em $\delta^{57}\text{Fe}$), com espécies de Fe^{2+} enriquecidas preferencialmente em isótopos leves. Beard et al. (1999) e Johnson et al. (2005) reportaram que o $\text{Fe}^{2+}_{\text{aq}}$, produzido pela redução dissimilatória apresentou razão $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ mais leve quando comparada ao composto de hidretos de Fe inicial. Os fatores de fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{Fe(III)-oxidos-Fe(II)aq}}$) reportados nestes estudos variaram entre 1.9 e 4‰.

Os efeitos dos processos de adsorção e complexação do Fe em superfícies sólidas e ligantes orgânicos também foram avaliados por alguns estudos. Adsorção de Fe^{2+} na goetita causa fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{Fe(II)ad-Fe(II)aq}}$) de 3.1‰ (Icopini et al. 2004). Crosby et al. (2005) investigaram a adsorção de Fe^{2+} em substratos compostos de óxidos de Fe através de experimentos de redução dissimilatória de Fe por microrganismos. Os autores reportaram fatores de fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{Fe(II)ad-Fe(II)aq}}$) variando entre de 0.6 e 1.3‰ para substratos de

hematita e goethita. O fracionamento causado pela adsorção de Fe^{2+} em oxihidróxidos de Fe^{2+} foi detectado por Teutsch et al. (2005), obtendo $\Delta^{57}_{\text{Fe(II)ad-Fe(II)aq}}$ de 1.2‰.

O primeiro estudo que avaliou o fracionamento isotópico em equilíbrio entre $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ e complexos orgânicos sideróforos (DFOB, desferrioxamina B) reportou fator de fracionamento ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{DFOB-inorg}}$) de 0.90 ± 0.22 ‰ (valor em $\delta^{57}\text{Fe}$) (Dideriksen et al., 2008). No entanto, modelos de teoria orbital molecular aplicados a esta questão determinaram um efeito isotópico de 0.3‰ em direção oposta a observada anteriormente, com enriquecimento de isótopos leves nos complexos Fe^{3+} -DFBO (Domagal-Goldman et al., 2009). A discrepância entre estes resultados demonstra a necessidade de novos estudos teóricos e experimentais para melhor o entendimento dos mecanismos que controlam estas reações. Atualmente são conhecidos aproximadamente quinhentos tipos de sideróforos e outras numerosas moléculas capazes de complexar o Fe nos ambientes naturais (Morgan et al., 2010).

O estudo pioneiro de Beard e Johnson (1999) demonstrou, pela primeira vez, que a assinatura isotópica das rochas ígneas é relativamente homogênea, com variações de, aproximadamente, ± 0.3 ‰ (1 SD), idêntica à precisão analítica disponível naquela época utilizando TIMS. Os avanços analíticos possibilitaram a realização de análises com maiores precisões e, dessa forma, a variação da composição isotópica do Fe da crosta continental foi reduzida para ± 0.05 ‰ (1 SD) (Beard e Johnson, 2004; Poitrasson et al., 2004). Entretanto, estudos realizados por Williams et al. (2004), Weyer et al. (2005) e Williams et al. (2005) demonstraram existir pequenas diferenças entre as distintas fases minerais e entre os diferentes tipos de rochas. Poitrasson e Freydier (2005) reportaram composições isotópicas de granitos mais pesadas em relação à referência continental e associaram este fato às baixas concentrações de Mg e as elevadas concentrações de SiO_2 . Essa abordagem foi, em seguida, impugnada por Beard e Johnson (2006) e a discussão em relação à homogeneidade da crosta terrestre permanece aberta (Poitrasson et al., 2006). Neste trabalho será utilizada a composição isotópica da crosta terrestre definida por Poitrasson et al., 2006 (*i.e.*, $\sim 0.1 \pm 0.03$ ‰).

O desgaste superficial das litologias crustais sob atmosfera oxidante é capaz de alterar as razões isotópicas dos produtos do intemperismo. Embora o fracionamento isotópico do Fe ocorra através das mudanças do estado de oxidação, a variação das razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ somente serão significativas caso ocorra a mobilização e separação de ampla quantidade de

Fe. O $\text{Fe}^{2+}_{\text{aq}}$ é a espécie que apresenta maior mobilidade em sistemas ambientais, e apresenta baixas razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ quando comparado com Fe^{3+} associado aos minerais. Dessa forma, Fante e DePaolo (2004) inferiram que o intemperismo continental irá mobilizar preferencialmente pequenas quantidades de Fe com assinaturas isotópicas relativamente leves. Com base nestas informações, Johnson et al. (2008) concluíram que as frações dissolvidas e coloidais dos rios teriam valores $\delta^{57}\text{Fe}$ relativamente leves, refletindo componentes de elevada mobilidade lixiviados dos solos, como os óxidos coloidais e o Fe complexado à matéria orgânica (Brantley et al. 2001, 2004; Fante e DePaolo 2004; Emmanuel et al. 2005), que seriam continuamente exportados para os oceanos. Entretanto, Poitrasson et al. (2008) demonstraram variações isotópicas limitadas em latossolos localizados em Nsimi (Cameron) e entenderam que a água drenada neste tipo de solo deverá apresentar composição isotópica similar a da crosta terrestre (*i.e.*, $\sim 0.1 \pm 0.03\text{‰}$), semelhante, ao argumento anteriormente apresentado por Beard et al. (2003), que estimou a composição do Fe dos rios com baixas concentrações de carbono orgânico e elevadas quantidades de materiais detríticos entre 0.1 e 0.2‰.

Estes estudos definiram que o intemperismo continental irá transportar para a rede fluvial Fe com composição isotópica apresentando pequenas variações quando comparadas com a média da crosta terrestre (*i.e.*, $\sim 0.1 \pm 0.03\text{‰}$). Entretanto, diversos trabalhos demonstraram que as assinaturas isotópicas do Fe nas águas dos rios podem apresentar variações de suas assinaturas causadas pelos processos de intemperismo e transporte de metais em regiões com características fisiográficas diferentes. Ingri et al. (2006) mediram a influência das variações climáticas anuais na composição isotópica de Fe nos sólidos suspensos do rio Kalix, situado em região de clima boreal. Os autores reportaram valores de $\delta^{57}\text{Fe}$ variando entre -0.19 e 0.46‰. Os colóides orgânicos obtiveram valores negativos de $\delta^{57}\text{Fe}$, enquanto os colóides compostos por oxihidróxidos de Fe eram enriquecidos em ^{57}Fe . O principal mecanismo responsável pelas composições isotópicas nas águas distintas foi associado aos diferentes processos de exportação de oxihidróxidos e complexos orgânicos de Fe nas estações do ano. Os autores inferiram que os colóides orgânicos são exportados para os rios através do escoamento superficial, quando as seções superiores do perfil do solo são inundadas, enquanto os oxihidróxidos de Fe são formados nos rios pela entrada e subsequente oxidação das águas subterrâneas.

Baseado neste estudo, Ilna et al. (2013) testaram a hipótese de que os oxihidróxidos de Fe^{3+} são enriquecidos em isótopos pesados em relação aos complexos orgânicos através da análise das razões isotópicas do Fe em rios de regiões de clima temperado e boreal. Amostras de água foram filtradas progressivamente utilizando membranas com diâmetro de poro variando entre 100 μm e 1 kDa. Em todos os rios estudados foi observado o aumento dos valores de $\delta^{57}\text{Fe}$ em frente ao decréscimo do diâmetro de poro da membrana. Os resultados obtidos para os rios das regiões subárticas foram de $0.4 \pm 0.18\text{‰}$ na fração 100 μm e $4.2 \pm 0.1\text{‰}$ na fração de 10kDa, enquanto os rios da região temperada variaram entre $0.024 \pm 0.2\text{‰}$ na fração 100 μm e 1.2 ± 0.3 na fração 10 kDa. As razões isotópicas mais pesadas foram atribuídas aos complexos orgânicos de baixa massa molecular, enquanto as mais leves foram associadas aos oxihidróxidos de Fe coloidais, sendo, dessa forma, de composição inversa aos anteriormente observados por Ingri et al. (2006). Os autores inferiram que as assinaturas isotópicas mais pesadas estão relacionadas às ligações mais rígidas entre o Fe e a matéria orgânica (ligação tipo Fe-O-C) quando comparada com o as ligações entre Fe e oxigênio presente nos oxihidróxidos (ligações tipo O-Fe-O).

Song et al. (2011) realizaram estudo multi-temporal da composição isotópica do Fe no material particulado suspenso no lago Aha (Guizhou, China) e de seus tributários. Valores de $\delta^{57}\text{Fe}$ apresentaram assinaturas isotópicas relativamente leves. As amostras do lago variaram de -2.0 a -0.15 ‰ no verão e de -0.53 a -0.05 ‰ no inverno. Os autores relacionaram os isótopos mais leves no verão à mudança na fonte do material particulado, uma vez que maiores quantidades de Fe particulado são lixiviadas do solo e produzidas pelo intemperismo da pirita presente nos estratos geológicos contendo carvão.

Bergquist e Boyle (2006) estudaram preliminarmente os isótopos de Fe nos sistemas aquáticos da bacia Amazônica. O Fe dissolvido e dos sedimentos suspensos do rio Solimões são isotopicamente idênticos com valores $\delta^{57}\text{Fe}$ variando entre -0.15 e -0.45 ‰ . De acordo com os autores, a similaridade das assinaturas isotópicas do Fe dissolvido e particulado sugere que estas frações são compostas por materiais semelhantes (*i.e.*, oxihidróxidos de Fe e argilominerais). As assinaturas isotópicas leves foram relacionadas aos processos de intemperismo que preferencialmente mobiliza e transporta Fe com assinaturas isotópicas mais leves. Estes valores também foram atribuídos aos processos de dissolução, precipitação e adsorção do Fe que contribuem com a presença de isótopos leves em solução. Em

contraste, o rio Negro apresentou assinaturas inversas às anteriormente citadas, com frações dissolvidas relativamente pesadas (0.45‰) e os sólidos suspensos relativamente leves (-1.3‰). Os autores atribuíram estes valores as diferentes espécies de Fe presentes nas fases dissolvida e particulada ou ao fracionamento de equilíbrio entre as fases orgânicas.

Os exemplos anteriormente descritos demonstram claramente que as assinaturas isotópicas do Fe nos rios podem trazer informações relevantes sobre os mecanismos de intemperismo e de desgaste mineral que ocorrem nos solos a montante, podendo ser utilizadas como traçadoras de fontes e processos biogeoquímicos que ocorrem em uma bacia hidrográfica. Diversos autores exploraram a influencia dos processos pedogenéticos e de alteração mineral na variação das assinaturas isotópicas de Fe em solos. A maioria dos estudos utilizou procedimentos de extração sequencial seletiva para definir as razões isotópicas do Fe em diferentes compartimentos no solo.

Fantle e DePaolo (2004) estudaram a assinatura isotópica do Fe em quatro horizontes de um perfil de solo, usando extratos lixiviados em água e em HCl 0.5M e descobriram variações de, aproximadamente, 1.0‰ (valores em $\delta^{57}\text{Fe}$) entre amostras totais de solo em diferentes profundidades. Wiederhold et al. (2007) mostraram que diferentes compartimentos de Fe (óxidos e hidróxidos mal cristalizados, óxidos cristalinos e Fe associado a silicatos) de diferentes tipos de solos (*Podzols*, *Cambisols* e solo com características redutoras) têm assinaturas isotópicas distintas e a podzolização tende a translocar, preferencialmente, os isótopos leves para perfis mais profundos do solo. Brantley et al. (2001) reportaram forte enriquecimento de isótopos leves na fração do Fe trocável, comparado com o domínio dos óxidos de Fe em amostra do horizonte B de solo contendo hornblenda. Schuth et al. (2009) estudaram a composição isotópica dos horizontes de um gleisolo da Alemanha, obtendo valores de $\delta^{57}\text{Fe}$ variando de +0.3 a -0.2‰ nos diferentes horizontes. Poitrasson et al. (2008) estudaram dois perfis de solos lateríticos e descobriram uma limitada variação nas composições isotópicas de Fe, com valores de $\delta^{57}\text{Fe}$ variando de 0.06 ‰ no saprolito para 0.27 ‰ em horizontes argilosos.

A assimilação do Fe contido nos solos por diferentes tipos de espécies vegetais foi investigada por Guelke e von Blanckenburg (2007). Como as plantas têm diferentes maneiras de mobilizar e incorporar Fe não é surpreendente que plantas de estratégia I e II apresentem assinaturas isotópicas distintas. Os autores determinaram que o Fe contido em plantas

vasculares tem composição isotópica distinta dos solos em que se desenvolvem. O fracionamento isotópico do Fe é específico e varia em função do mecanismo de assimilação utilizado pela planta. Plantas estrategistas I (plantas vasculares), que reduzem o ferro antes da sua absorção, assimilam o Fe leve. Os autores demonstram que a redução de Fe^{3+} por plantas de estratégia I causa o decréscimo da assinatura isotópica do Fe contido nas plantas em até 2.4‰ (valores em $\delta^{57}\text{Fe}$), quando comparado com amostras de solos totais. As plantas estrategistas II (gramíneas) incorporam o Fe férrico complexado à sideróforos e não apresentam fracionamento isotópico significativo. A complexação de Fe em sideróforos por plantas estrategistas II causa o aumento dos valores $\delta^{57}\text{Fe}$ de 0.2‰, quando comparada com a assinatura isotópica do solo.

Muitos trabalhos já foram realizados para documentar as variações isotópicas em sistemas naturais e em experimentos laboratoriais controlados para determinar os mecanismos de fracionamento isotópico do Fe em ambientes superficiais. Através da descrição de alguns estudos pode-se evidenciar o potencial das análises das variações dos isótopos de Fe para identificar fontes e processos biogeoquímicos em diferentes sistemas naturais. Muitos estudos experimentais ainda são necessários para compreender melhor os diversos mecanismos de fracionamento isotópico. As análises das assinaturas isotópicas de distintos compartimentos naturais podem nortear a definição de novos temas a serem investigados através de experimentos laboratoriais controlados.

2.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alam S., Kamei S., Kawai S. (2005). Effectiveness of phytosiderophore in absorption and translocation of ^{59}Fe in barley in the presence of plant-borne, synthetic, and microbial chelators. *J. Plant Nutr.* 28:1709-1722
- Allard T., Weber T., Bellot C., Damblans C., Bardy M., Bueno G., Nascimento N. R. (2011). Tracing source and evolution of suspended particles in the Rio Negro Basin (Brazil) using chemical species of iron. *Chemical Geology.* 280(1-2):79–88.
- Allègre C.J. (2008) Stable isotope geochemistry. In: Allègre, C. J. *Isotope geology.* Cambridge: Cambridge University Press. pp. 358-432
- Anbar AD. 2004. Iron stable isotopes: Beyond biosignatures. *Earth Planet Sci Lett.* 217:223–236.
- Baas Becking L.G.M., Kaplan I.R., Moore D. (1960). Limits of the natural environment in terms of pH and oxidation-reduction potentials. *Journal of Geology.* 68(3):243-284.
- Beard BL, Johnson CM. (1999). High precision iron isotope measurements of terrestrial and lunar materials. *Geochim Cosmochim. Acta.* 63:1653– 1660.
- Beard B.L., Johnson C.M., Skulan J.L., Neelson K.H., Cox L., Sun H. (2003). Application of Fe isotopes to tracing the geochemical and biological cycling of Fe. *Chem. Geol.* 195:87–117
- Beard B.L., Johnson C.M. (2004). Fe isotope variations in the modern and ancient Earth and other planetary bodies. *Rev. Mineral. Geochem.* 55:319-357.

- Beard B.L., Johnson C.M. (2006). Comment on “Heavy iron isotope composition of granites determined by high resolution MC-ICP-MS”, by F. Poitrasson and R. Freyrier [Chem. Geol. 222 132–147]. Chem. Geol. 235:201-204
- Beard B. L., Johnson C. M., Cox L., Sun H., Nealon K. H., Aguilar C. (2010). Iron Isotope Biosignatures. Sci., 1889(1999):1889-1892.
- Beard B. L., Handler R. M., Scherer M. M., Wu L., Czaja A. D., Heimann A., Johnson C. M. (2010). Iron isotope fractionation between aqueous ferrous iron and goethite. Earth Planet. Sci. Lett. 295(1-2): 241-250.
- Bergquist B., Boyle E. (2006). Iron isotopes in the Amazon River system: Weathering and transport signatures. Earth. Planet. Sci. Lett. 248(1-2):39–53.
- Bigeleisen J., Mayer M.G. (1947). Calculation of equilibrium constants for isotopic exchanges reactions. J Phys Chem 13:261-267
- Brantley S.L., Liermann L., Bullen T.D. (2001). Fractionation of Fe isotopes by soil microbes and organic acids. Geology 29:535–38.
- Brantley S.L., Liermann L.J., Guynn R.L., Anbar A., Icopini G.A., Barling J. (2004). Fe isotopic fractionation during mineral dissolution with and without bacteria. Geochim. Cosmochim. Acta. 68:3189–204
- Brookings D.G. (1988). Eh-pH diagrams for geochemistry. Springer-Verlog: Berlin 75p.
- Bullen T. D., White A. F., Childs C. W., Vivit D. V., Schulz M. S. (2001). Demonstration of significant abiotic iron isotope fractionation in nature. Geology. 29:699-702.
- Casey W.H., Ludwig C. (1996) The mechanism of dissolution of oxide minerals. Nature 381:506-509.
- Cheah S.F., Kraemer S.M., Cervini-Silva J., Sposito G (2003). Steady-state dissolution kinetics of goethite in the presence of desferrioxamine B and oxalate ligands: implications for the microbial acquisition of iron. Chem. Geol. 198:63–75.
- Chen J., Gu B., Royer R. A., Burgos W. D. (2003). The roles of natural organic matter in chemical and microbial reduction of ferric iron. Science of the total environment. 307(1):167-178.
- Clark I.D., Fritz P. (1997). Environmental Isotopes in Hydrogeology, CRC Press, 328 p.
- Cornell R.M., Schwertmann U. (2003) The iron oxides – structure, properties, reactions, occurrence and uses. Second edition. VCH, Weinheim, Germany.
- Criss R.E. (1999). Principles of Stable Isotope Distribution. Oxford University Press, Oxford.
- Croal L. R., Johnson C. M., Beard B. L., Newman D. K. (2004). Iron isotope fractionation by Fe (II)-oxidizing photoautotrophic bacteria. Geochimica et Cosmochimica Acta. 68(6):1227-1242.
- Crosby H.A., Johnson C.M., Roden E.E., Beard B.L. (2005). Coupled Fe(II)-Fe(III) electron and atom exchange as a mechanism for Fe isotope fractionation during dissimilatory iron oxide reduction. Environ Sci Technol. 39:6698–6704.
- Crosby H. A., Roden E. E., Johnson C. M., Beard B. L. (2007). The mechanisms of iron isotope fractionation produced during dissimilatory Fe (III) reduction by *Shewanella putrefaciens* and *Geobacter sulfurreducens*. Geobiology. 5(2):169-189.
- Dauphas N., Janney P. E., Mendybaev R. A., Wadhwa M., Richter F. M., Davis A. M., Foley C. N. (2004). Chromatographic separation and multicollecion-ICPMS analysis of iron. Investigating mass-dependent and-independent isotope effects. Analytical Chemistry. 76(19):5855-5863.
- Dideriksen K., Baker J. A., Stipp S. L. S. (2008). Equilibrium Fe isotope fractionation between inorganic aqueous Fe(III) and the siderophore complex, Fe(III)-desferrioxamine B. Earth and Planetary Science Letters. 269(1-2):280–290.
- Domagal-Goldman S. D., Paul K. W., Sparks D. L., Kubicki J. D. (2009). Quantum chemical study of the Fe(III)-desferrioxamine B siderophore complex—Electronic structure, vibrational frequencies, and equilibrium Fe-isotope fractionation. Geochimica et Cosmochimica Acta. 73(1):1–12.
- do Nascimento N. R., Bueno G. T., Fritsch E., Herbillon A. J., Allard T., Melfi A. J., Astolfo R. (2004). Podzolization as a deferralitization process: a study of an Acrisol-Podzol sequence derived from Palaeozoic sandstones in the northern upper Amazon Basin. European Journal of Soil Science. 55(3):523–538.
- do Nascimento N. R., Fritsch E., Bueno G. T., Bardy M., Grimaldi C., Melfi A. J. (2008). Podzolization as a deferralitization process: dynamics and chemistry of ground and surface waters in an Acrisol–Podzol sequence of the upper Amazon Basin. European Journal of Soil Science. 59(5):911-924.

- Emmanuel S., Erel Y., Matthews A., Teutsch N. (2005). A preliminary mixing model for Fe isotopes in soils. *Chem. Geol.* 222:23–34
- Fantle M. S., DePaolo D. J. (2004). Iron isotopic fractionation during continental weathering. *Earth and Planetary Science Letters*. 228(3-4):547–562.
- Farquhar J., Wing B. A. (2003). Multiple sulfur isotopes and the evolution of the atmosphere. *Earth and Planetary Science Letters*. 213(1):1-13.
- Fischer A.C., Wolterbeek H.T., Kroon J.J., Gerringa L.J.A., Timmennans K.R., van Elteren J.T., Teunissen T. (2006) On the use of iron radio-isotopes to study iron speciation kinetics in seawater: A column separation and off-line counting approach. *Sci. Tot. Environ.* 362:242-258.
- Fritsch E., Allard T., Benedetti M. F., Bardy M., Nascimento N. R., Li Y., Calas G. (2009). Organic complexation and translocation of ferric iron in podzols of the Negro River watershed . Separation of secondary Fe species from Al species. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 73(7): 1813–1825.
- Gat J. R. (1996). Oxygen and hydrogen isotopes in the hydrologic cycle. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences.* 24(1):225-262.
- Goodman B.A. (1988) An introduction to physical and chemical principles. p. 19-36. In Stucki JW, Goodman BA, Schwertmann U (eds.) *Iron in soils and clay minerals*. D. Reidel, Dordrecht, The Netherlands.
- Guelke M., Von Blanckenburg F. (2007). Fractionation of stable iron isotopes in higher plants. *Environmental science & technology.* 41(6):1896–901.
- Haese R.R. (2006). The biogeochemistry of iron. In: Schulz HD & Zabel M (eds) *Maritime Geochemistry*. 2nd edn. pp 241-270.
- Heimann A., Johnson C. M., Beard B., Valley J. W., Roden E. E., Spicuzza M. J., Beukes N. J. (2010) Fe, C, and O isotope compositions of banded iron formation carbonates demonstrate a major role for dissimilatory iron reduction in ~2.5 Ga marine environments. *Earth and Planetary Science Letters* 294, 8-18.
- Hem J.D. (1977). Reactions of metal ions at surfaces of hydrous iron oxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 41(4):527-538.
- Hezel D. C., Needham A. W., Armytage R., Georg B., Abel R. L., Kurahashi E., Russell, S. S. (2010). A nebula setting as the origin for bulk chondrule Fe isotope variations in CV chondrites. *Earth and Planetary Science Letters.* 296(3):423-433.
- Hill P. S., Schauble E. A. (2008) Modeling the effects of bond environment on equilibrium iron isotope fractionation in ferric aquo-chloro complexes. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 72:1939-1958.
- Hoefs J. 1997. *Stable isotope geochemistry*. 4. ed. Berlin: Springer, 201 p.
- Icopini G. A., Anbar A. D., Ruebush S. S., Tien M., Brantley S. L. (2004) Iron isotope fractionation during microbial reduction of iron: The importance of adsorption. *Geology.* 32(3):205.
- Ilna S. M., Poitrasson F., Lapitskiy S. A., Alekhin Y. V., Viers J., Pokrovsky O. S. (2013). Extreme iron isotope fractionation between colloids and particles of boreal and temperate organic-rich waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 101:96–111.
- Johnson C.M., Beard B.L. (1999). Correction of instrumentally produced mass fractionation during isotopic analysis of Fe by thermal ionization mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* 193:87-99.
- Ingri J., Malinovsky D., Rodushkin I., Baxter D. C., Widerlund A., Andersson P., Gustafsson Ö. (2006). Iron isotope fractionation in river colloidal matter. *Earth and Planetary Science Letters.* 245(3-4):792–798.
- Johnson C. M., Skulan J. L., Beard B. L., Sun H., Neelson K. H., Braterman P. S. (2002). Isotopic fractionation between Fe(III) and Fe(II) in aqueous solutions. *Earth and Planetary Science Letters.* 195(1-2):141–153.
- Johnson C.M., Beard B.L., Beukes N.J., Klein C., O'Leary J.M. (2003). Ancient geochemical cycling in the Earth as inferred from Fe isotope studies of banded iron formations from the Transvaal Craton, *Contrib. Mineral. Petrol.* 144:523-547.
- Johnson C.M., Beard B.L. (2004). Overview and General Concepts. In: Johnson. C.M., Beard. B.L., Albarède. F. (eds). *Geochemistry of non traditional stable isotopes. Reviews in Mineralogy & Geochemistry.* 55(1):1-24.
- Johnson C.M., Roden E.E., Welch S.A., Beard B.L. (2005). Experimental constraints on Fe isotope fractionation during magnetite and Fe carbonate formation coupled to dissimilatory hydrous ferric oxide reduction. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 69:963– 93

- Johnson C.M., Beard B.L., Roden E.E. (2008). The Iron Isotope Fingerprints of Redox and Biogeochemical Cycling in Modern and Ancient Earth. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. 36(1):457-493.
- Kalinowski B.E., Liermann L.J., Brantley S.L., Barnes A., Pantano C.G. (2000). X-ray photoelectron evidence for bacteria-enhanced dissolution of hornblende. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 64:1331–1343.
- Kendall C., MacDonnell J. J. (Eds.). (1998). *Isotope tracers in catchment hydrology*. Elsevier, Oxford
- Kendall C., Doctor D. H. (2003). Stable isotope applications in hydrologic studies. *Treatise on geochemistry*. 5:319-364.
- Konhauser K. O., Fyfe W. S., Ferris F. G., Beveridge T. J. (1993). Metal sorption and mineral precipitation by bacteria in two Amazonian river systems: Rio Solimoes and Rio Negro, Brazil. *Geology*. 21:1103–1106.
- Konhauser K. O. (2007). *Introduction to geomicrobiology*. Blackwell, Oxford, 425pp.
- Kotrba P., Mackova M., Macek T. (Eds.). (2011). *Microbial biosorption of metals*. Springer.
- Kraemer S.M. (1997) Ligand controlled weathering kinetics of aluminum oxide and goethite. Dissertation, Technical University Darmstadt, Darmstadt, Germany.
- Kraemer S.M. (2004) Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores. *Aquat. Sci.* 66, 3-18.
- Larsen O., Postma D. (2001) Kinetics of reductive bulk dissolution of lepidocrocite, ferrihydrite, and goethite. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 65:1367-1379.
- Ledin M., Pedersen K., Allard B. (1997). Effects of pH and ionic strength on the adsorption of Cs, Sr, Eu, Zn, Cd and Hg by *Pseudomonas putida*. *Water, air, and soil pollution*, 93(1-4):367-381.
- Ledin M. (2000). Accumulation of metals by microorganisms—processes and importance for soil systems. *Earth-Science Reviews*. 51(1):1-31.
- Lee J. D., Toma H. E., Araki K., Rocha R. C. (1999). *Química Inorgânica não tão concisa*. Edgard Blucher.
- Lindberg J.W., Runnels D.D. (1984). Ground water reactions. An analysis of equilibrium state applied to Eh measurements and geochemical modeling. *Science*. 225:925-927
- Lovley D. R. (1991). Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) Reduction. *Microbiology*. 55(2):259–287.
- Lovley D. R. (1997). Microbial Fe (III) reduction in subsurface environments. *FEMS Microbiology Reviews*, 20(3-4), 305-313.
- Lovley D.R., Holmes D.E., Nevin K.P. (2004) Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Adv. Microb. Physiol.* 49: 219-286.
- Malcolm R.L. (1985). Geochemistry of stream fulvic and humic substances. In: Aiken G.R.(eds). *Humic substances in soil, sediment, and water*.–Wiley, New York, 181-209.
- Millero FJ, Sotolongo S; Izaguirre M. (1987). The oxidation kinetic of Fe(II) in seawater. *Geochimica Cosmochimica Acta*. 51:793-801.
- Morgan J. L., Wasylenki L. E., Nuester J. (2010). Fe Isotope Fractionation during Equilibration of Fe-Organic Complexes. *Environmental Science & Technology*. 44(16):6095–6101.
- Ohmoto H. (1972). Systematics of sulfur and carbon isotopes in hydrothermal ore deposits. *Economic Geology*. 67(5):551-578.
- O’Neil JR. (1986). Appendix: Terminology and Standards. *Rev. Mineral* 16:1-40
- Pedersen H.D., Postma D., Jakobsen R., Larsen O. (2005) Fast transformation of iron oxyhydroxides by the catalytic action of aqueous Fe(II). *Geochim. Cosmochim. Acta*. 69:3967-3977.
- Peterson B. J., Fry B. (1987). Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual review of ecology and systematics*. 18: 293-320.
- Piccolo A., Stevenson F.J. (1982). Infrared spectra of Cu²⁺, Pb²⁺, and Ca²⁺ complexes of soil humic substances. *Geoderma*. 27:195-208.
- Poitrasson F., Halliday A.N., Lee D.C., Levasseur S., Teutsch N. (2004). Iron isotope differences between Earth, Moon, Mars and Vesta as possible records of contrasted accretion mechanisms. *Earth Planet. Sci. Lett.* 223:253-266.
- Poitrasson F., Freydisier R. (2005) Heavy iron isotope composition of granites determined by high resolution MC-ICP-MS. *Chemical Geology*. 222:132-147

- Poitrasson F., Levasseur S., Teutsch N. (2005). Significance of iron isotope mineral fractionation in pallasites and iron meteorites for the core–mantle differentiation of terrestrial planets. *Earth and Planetary Science Letters*. 234(1):151-164.
- Poitrasson F. (2006). On the iron isotope homogeneity level of the continental crust. *Chem. Geol.* 235:195-200
- Poitrasson F., Viers J., Martin F., Braun J. (2008). Limited iron isotope variations in recent lateritic soils from Nsimi, Cameroon: Implications for the global Fe geochemical cycle. *Chemical Geology*. 253(1-2):54–63.
- Poitrasson F., Roskosz M., Corgne A. (2009) No iron isotope fractionation between molten alloys and silicate melt to 2000°C and 7.7 GPa: Experimental evidence and implications for planetary differentiation and accretion. *Earth and Planetary Science Letters*. 278:376-385.
- Quitté G., Meier M., Latkoczy C., Halliday A.N., Gunther D. (2006) Nickel isotopes in iron meteorites-nucleosynthetic anomalies in sulphides with no effects in metals and no trace of ⁶⁰Fe. *Earth Planet. Sci. Lett.* 242:16-25
- Raiswell, R., Canfield, D. E. (2012). The iron biogeochemical cycle past and present. *Geochem. Perspect.* 1(1):1-232.
- Reichard P.U., Kraemer S.M., Frazier S., Kretschmar R. (2005). Goethite dissolution in the presence of phytosiderophores: rates, mechanisms, and the synergistic effect of oxalate. *Plant Soil*. 276:115-132.
- Richey J. E., Meade R. H., Salati E., Devol A. H., Nordin C. F., Santos U. D. (1986) Water discharge and suspended sediment concentrations in the Amazon River: 1982–1984. *Water Resour. Res.* 22(5):756-764.
- Roden E.E., Lovley D.R. (1992) Evaluation of ⁵⁵Fe as a tracer of Fe(III) reduction in aquatic sediments. *Geomicrobiol. J.* 11:49-56.
- Roden E. E. (2003). Fe (III) oxide reactivity toward biological versus chemical reduction. *Environmental Science & Technology*. 37(7):1319-1324.
- Roden E.E. (2004) Analysis of long-term bacterial vs. chemical Fe(III) oxide reduction kinetics. *Geochim. Cosmochim. Acta* 68:3205-3216.
- Rouxel O., Sholkovitz E., Charette M., Edwards K. (2008). Iron isotope fractionation in subterranean estuaries. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 72(14):3413–3430.
- Schauble E.A. (2004). Applying Stable Isotope Fractionation Theory to New Systems. In: Johnson. C.M., Beard. B.L., Albarède. F. (eds). *Geochemistry of non traditional stable isotopes*. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry*. 55(1), 65-111
- Schoenberg R., von Blanckenburg F. (2006). Models of planetary-scale Fe isotope fractionation. *Earth and Planetary Science Letters*. 252(3):342-359
- Singer P.C., Stumm W. (1970) Acid mine drainage: the rate determining step. *Science* 167:1121-1123.
- Song L, Liu C.Q., Wang Z.L., Zhu X., Teng Y., Liang L., Tang S. (2011). Iron isotope fractionation during biogeochemical cycle: Information from suspended particulate matter (SPM) in Aha Lake and its tributaries, Guizhou, China. *Chemical Geology*. 280(1-2):170-179.
- Stevenson, F. J. (1994). *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. John Wiley & Sons.
- Stone A. T. (1997). Reactions of extracellular organic ligands with dissolved metal ions and mineral surfaces. *Reviews in mineralogy and Geochemistry*. 35(1):309-344.
- Stumm W., Lee G.F. (1961) Oxygenation of ferrous iron. *Industrial and Engineering Chemistry* 53:143-146.
- Stumm W. (1992) *Chemistry of the solid-water interface: processes at the mineral water and particle-water interface in natural systems*. Wiley, New York, US.
- Stumm W., Sulzberger B. (1992). The cycling of iron in natural environments: considerations based on laboratory studies of heterogeneous redox processes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 56(8): 3233-3257.
- Stumm, W. (1995). The Inner-Sphere Surface Complex. *Advances*, 1–32.
- Stumm W., Morgan J.J. (1996). *Aquatic chemistry*, 3rd edition, Wiley & Sons, London, 1022 pp.
- Talbot M. R. (2002). Nitrogen isotopes in palaeolimnology. In: *Tracking environmental change using lake sediments*. Springer Netherlands, p. 401-439.
- Taylor P.D.P., Maeck R., De Bievre P. (1992). Determination of the absolute isotopic composition and atomic weight of a reference sample of natural iron. *Int J Mass Spectrom Ion Processes*. 121:111–125.

- Teutsch N., von Gunten U., Porcelli D., Cirpka O.A., Halliday A.N. (2005). Adsorption as a cause for iron isotope fractionation in reduced groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 69:4175–85
- Tipping E. (2002). Cation binding by humic substances. Cambridge University Press.
- Warwick P.E., Cundy A.B., Croudace I.W., Bains M.E.D., Dale A.A. (2001) The uptake of iron-55 by marine sediment, macroalgae, and biota following discharge from a nuclear power station. *Environ. Sci. Technol.* 35:2171-2177.
- Welch S. A., Beard B. L., Johnson C. M., Braterman P. S. (2003). Kinetic and equilibrium Fe isotope fractionation between aqueous Fe (II) and Fe (III). *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 67(22):4231-4250.
- Weyer S., Anbar A.D., Brey G.P., Munker C., Mezger K., Woodland A.B. (2005) Iron isotope fractionation during planetary differentiation. *Earth Planet. Sci. Lett.* 240:251-264.
- Wiederhold J., Teutsch N., Kraemer S., Halliday A., Kretzschmar R. (2007). Iron isotope fractionation in oxic soils by mineral weathering and podzolization. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 71(23):5821–5833;
- Williams H.M., McCammon C.A., Peslier A.H., Halliday A.N., Teutsch N., Levasseur S., Burg J.P. (2004) Iron isotope fractionation and the oxygen fugacity of the mantle. *Science.* 304:1656-1659.
- Williams H.M., Peslier A.H., McCammon C., Halliday A.N., Levasseur S., Teutsch N., Burg J.P. (2005) Systematic iron isotope variations in mantle rocks and minerals: The effects of partial melting and oxygen fugacity. *Earth Planet. Sci. Lett.* 235:435-452.
- Yee N., Benning L. G., Phoenix V. R., Ferris F. G. (2004). Characterization of metal-cyanobacteria sorption reactions: a combined macroscopic and infrared spectroscopic investigation. *Environmental science & technology.* 38(3):775-782.

3. BACIA AMAZÔNICA

3.1 ASPECTOS FISIAGRÁFICOS

A bacia Amazônica apresenta quatro importantes regiões geomorfológicas (Figura 5). De acordo com Stallard e Edmond (1983), as principais unidades morfoestruturais são: (1) Escudo da Guiana ao norte e Escudo Brasileiro ao sul; (2) Planície Amazônica ou planícies aluviais temporariamente inundadas (várzeas), orientadas oeste-leste e localizadas na área central da bacia e nas margens dos canais principais; (3) Cordilheira Andina; e (4) Região Sub-Andina, ou sopé dos Andes localizados a oeste. As altitudes variam desde o nível do mar (foz do rio Amazonas no Oceano Atlântico) até, aproximadamente, 7.000 m (Cordilheira Andina).

Os divisores de águas da bacia são delimitados a oeste e sudoeste pelas elevadas montanhas dos Andes, onde as mais altas nascentes alimentam o rio Apurimac, no monte Huagra, a 3.380 m de altura (Schreider e Schreider, 1970). Nas margens norte e sul, os tributários surgem nas antigas formações geológicas dos maciços da Guiana e do Brasil Central, respectivamente, onde os grandes divisores de águas da América do Sul estão situados. Entre estes maciços encontram-se áreas planas de baixas altitudes abertas a leste, onde o rio Amazonas deságua no oceano Atlântico com uma foz de, aproximadamente, 300 km de largura, tendo a ilha de Marajó em seu centro (Sioli, 1984).

A orogênese dos Andes e o conseqüente transporte de sedimentos em direção à planície Amazônica transformou-a em um diversificado mosaico edáfico. Os antigos escudos Pré-Cambrianos do Brasil e das Guianas apresentam uma série de rochas ígneas e metamórficas, localizadas ao sul e ao norte da planície (Fittkau, 1971). Estas superfícies expostas são as mais antigas da América do Sul, com idades geológicas variando de 1500 a 3600 milhões de anos (Figura 6, Schobbenhaus e Bellizzia, 2001). Apesar de serem antigas, a maioria dos solos foram formados *in situ* pelo intemperismo de rochas cristalinas. Entre estes escudos, na planície amazônica, ocorrem, principalmente, sedimentos do Paleozoico (Irion, 1978; Hoorn et al., 2010). À oeste encontram-se sedimentos pré-andinos do Cretáceo-Terciário, erguidos no Plioceno, com idades variando entre 1 e 2 milhões de anos, além de solos mais recentes (<5000 anos), estimados do Pleistoceno e do Holoceno antigo (Irion, 1978).

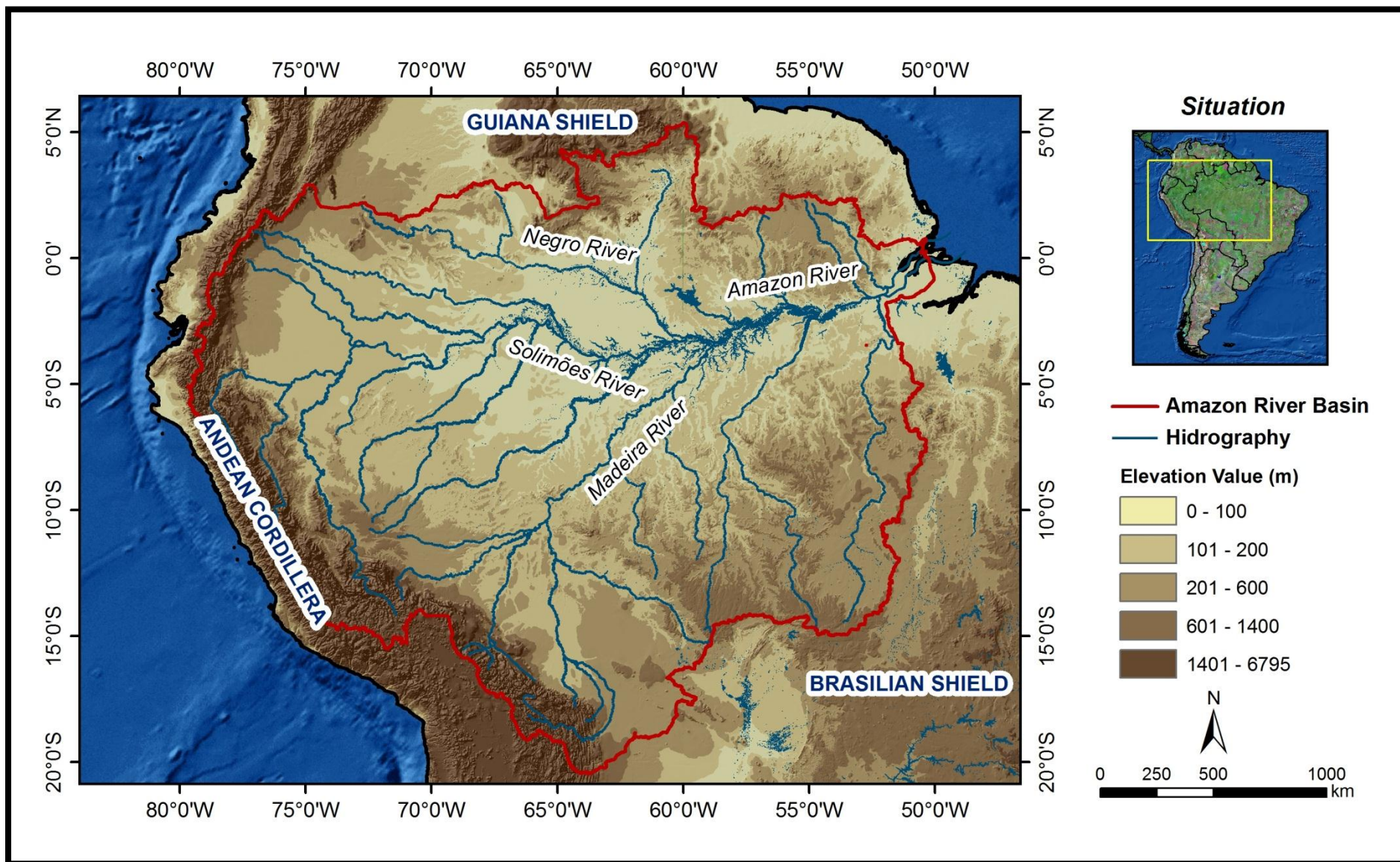


Figura 5 – Mapa localização da bacia hidrográfica do rio Amazonas, seus principais rios e unidades geomorfológicas.

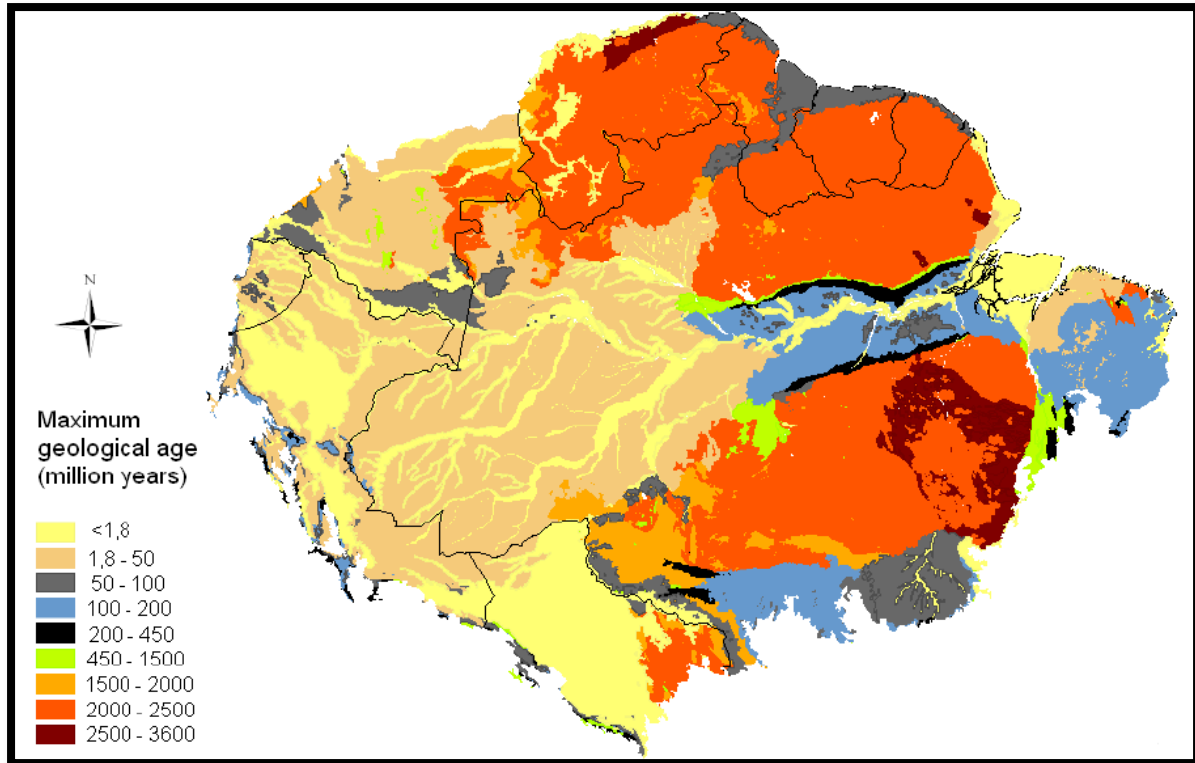


Figura 6 – Classificação da geologia sotoposta a Floresta Amazônica de acordo com as idades geológicas máximas (Schobbenhaus e Bellizzia, 2001)

A parte andina da bacia do rio Solimões tem embasamento Pré-Cambriano, onde destacam-se evaporitos e carbonatos fraturados do Mesozoico. Em seu baixo curso, ocorrem sedimentos flúvio-lacustres do Terciário (Formação Içá) (Gaillardet et al., 1997; Hoorn et al., 2010). Na parte Andina do rio Madeira, as principais rochas sedimentares são do Paleozoico e ocorrem associadas aos xistos e evaporitos escassos do pré-cambriano (Gaillardet et al., 1997).

A distribuição geográfica dos solos na bacia Amazônica está associada, principalmente, às características geomorfológicas da região. A distribuição espacial dos solos, ilustrados na Figura 7 e discutidos no presente trabalho, compreendem somente aqueles sotopostos à floresta tropical Amazônica, conforme proposto por Quesada et al. (2011). Nesta sessão serão apresentados, com maiores detalhes, somente os solos de ampla abrangência territorial ou os que influenciam de maneira significativa na composição química das águas.

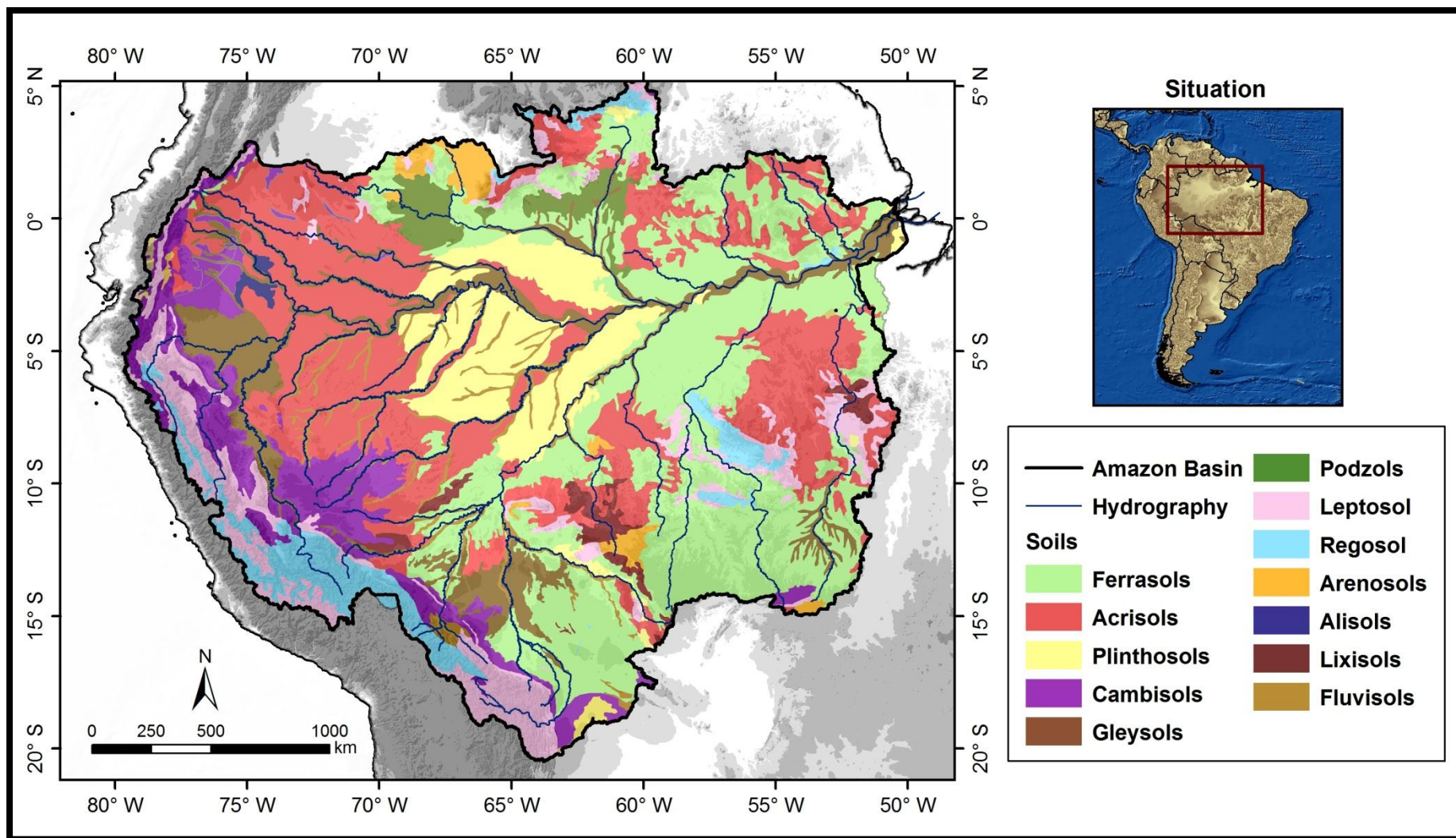


Figura 7 – Mapa da distribuição espacial dos solos sotopostos à floresta tropical localizada na bacia Amazônica. Mapa baseado na base de dados de solos SOTERLAC (versão 2.0, escala 1:5 milhões; ISRIC, 2005) e na base de dados de vegetação proposto por Saatchi et al. (2008) para a América do Sul.

Os solos de maior ocorrência são os *Ferrasols* e os *Acrisols*, que compreendem cerca de 60% da área da bacia. Estes solos ocorrem, principalmente, ao longo dos maciços Brasileiro e Guiano e em regiões sedimentares ao longo das partes central e leste do curso principal do rio Amazonas. Os *Acrisols* também são encontrados no oeste e sudoeste da bacia, principalmente, sobre depósitos flúvio-lacustres do Terciário e em outras formações sedimentares desta região. Os *Plinthosols*, *Gleysols* e *Cambisols* correspondem juntos a, aproximadamente, 25% da área da bacia. Os *Plinthosols* estão localizados ao longo dos maciços Brasileiro e Guiano e em áreas sedimentares próximas aos rios Juruá, Purus, Solimões e Madeira. Nas planícies de inundação, em trechos ao longo do curso dos principais rios e no alto curso dos tributários do rio Amazonas encontram-se os *Fluvisols* e *Gleysols*. Os *Cambisols* localizam-se na base da cordilheira andina e em áreas sedimentares adjacentes. Entre os solos de menor ocorrência destacam-se os *Arenosols*, *Lixisols*, *Nitisols* e *Podzols* que encontram-se nas proximidades dos maciços Brasileiro e Guiano. Pacotes de *Podzols* estão localizados, principalmente, em áreas da bacia hidrográfica do rio Negro, na região noroeste da bacia. *Regosols* e *Leptosols* ocorrem ao longo dos maciços, sendo mais comuns nas proximidades da cordilheira andina.

A distribuição das chuvas na bacia Amazônica apresenta grande variabilidade espacial. As regiões mais chuvosas (>3.000 mm/ano) estão localizadas no noroeste da bacia e na foz do rio Amazonas, próximas ao Oceano Atlântico e expostas à Zona de Convergência Intertropical. Chuvas abundantes também estão localizadas na Zona de Convergência do Atlântico Sul (ZCAS), do noroeste da Amazônia ao Atlântico Sul Sub-tropical (Espinoza Villar et al. 2009). As chuvas ocorrem em menores proporções nas planícies Peruanas e Bolivianas e em regiões do norte brasileiro protegidas das correntes oceânicas pelo Escudo das Guianas. A média das chuvas ao longo da bacia é de aproximadamente 2.130 mm/ano, sendo que, em algumas regiões a nordeste, as chuvas anuais podem exceder 4.000mm (Costa e Foley, 1998). Nas últimas décadas, a bacia Amazônica presenciou alguns eventos climáticos extremos, atribuídos à elevada temperatura da superfície do Oceano Atlântico Norte (Marengo et al., 2008; Zeng et al., 2008) ou à variação extrema da temperatura da superfície do Pacífico Equatorial, coincidindo com os eventos El Niño e La Niña (Richey et al., 1989; Marengo, 1992; Marengo et al., 1998). Em 1997 e 1998, o El Niño mais intenso da história recente causou a pior seca das, até então, últimas três décadas (Chen et al., 2010). De maneira similar, as regiões central e

sudeste foram acometidas em 2005 por uma seca excepcional, associada ao El Niño prolongado no Pacífico Tropical e pelo aquecimento anormal do Atlântico Norte (Zeng et al, 2008).

A área da bacia de drenagem é de aproximadamente 6×10^6 km² com precipitação média de 2130 mm, resultando na vazão média anual de 206.000 m³/s (Callede, 2010) considerada, aproximadamente, 17% do fluxo global de água doce dos continentes para o oceano (Molinier et al., 1997). O rio Amazonas nasce no Lago Lauri ou Lauricocha, no Peru e, ao longo do seu percurso recebe os nomes Tunguragua, Marañon, Apurimca e Ucayali. Ao entrar no Brasil é conhecido como rio Solimões e, somente após a confluência com o rio Negro, é denominado Amazonas. Em sua totalidade, o rio Amazonas apresenta comprimento estimado em 6.868 km (considerando como principal tributário o rio Ucayali), sendo que 3.165 km estão dentro do território brasileiro. Transporta um valor anual de 500 a 1200 milhões de toneladas de sedimento (Meade et al., 1979; Dunne et al., 1998; Maurice-Bourgoin et al., 2007; Filizola and Guyot, 2009) e 2.9×10^8 toneladas de materiais dissolvidos. Tem largura que pode variar de 2 km em Iquitos a 5 km no baixo Amazonas, com profundidade variando de 40 a 50 m. Apresenta baixa declividade. Em Iquitos (localizado a 3660 km do Atlântico) encontra-se a 100 m acima do nível do mar, enquanto na foz do rio Negro (localizado a 1500km do mar) encontra-se a apenas 15m de altitude. O gradiente do baixo Amazonas é de 1 cm/km na época seca e 2 cm/km durante a cheia (Sioli, 1984).

Entre os principais rios formadores do Amazonas, destacam-se o Solimões que representa ~56% da vazão total do Amazonas em sua foz, o rio Negro (~16%), o rio Madeira (~17%), Tapajós, Trombetas e Xingu (~11%) (Molinier et al., 1993). Os rios Solimões e Madeira têm origem, principalmente, nos Andes com vazão média de 103.000 m³/s e 31.200 m³/s respectivamente. O rio Negro nasce na Colômbia, drena regiões do Escudo das Guianas e tem vazão média de 28.000 m³/s, o rio Trombetas (2.56 m³/s) provém do Escudo das Guianas, o rio Tapajós (13.500 m³/s) provém do Planalto de Mato Grosso, e o rio Xingú (9.700 m³/s) provem da parte oriental do Escudo Brasileiro (Callède, et al., 2004).

3.2 HIDROQUÍMICA

3.2.1 Classificação das águas Amazônicas

Os tributários do rio Amazonas apresentam características distintas que variam em sua morfologia, curso e nos aspectos físicos e químicos das águas (Figura 8). Baseado nestes fatores a tipologia de suas águas foi, primeiramente, estabelecida por Sioli (1950), que as classificou em três tipos principais (*i.e.*, águas brancas, limpas e pretas), baseado principalmente em critérios visuais. O autor denominou águas brancas aquelas com elevada concentração de sólidos suspensos, águas pretas aquelas ricas em substâncias húmicas que naturalmente apresentam coloração escura, e águas limpas aquelas que apresentam baixa turbidez e baixa quantidade de matéria húmica. Estas diferenças marcantes foram então associadas às características geológicas, geoquímicas e petroquímicas da região de origem das águas (*e.g.*, Gibbs, 1967; Fittkau 1971; Stallard e Edmond, 1983).



Figura 8 - Encontro do rio Negro (águas pretas) e rio Solimões (águas brancas) demonstrando águas de características visualmente distintas dos rios da bacia Amazônica

As águas brancas (*e.g.*, rio Solimões) são típicas dos rios com origem na cordilheira Andina. Tem elevadas concentrações de cátions dissolvidos, pH neutro, transparência (disco de secchi, Cialdi e Secchi, 1865) de 0.10-0.50m e elevada turbidez. A grande quantidade de sólidos suspensos é atribuída ao intenso intemperismo mecânico de rochas ígneas e sedimentares da região Andina e de solos residuais (*e.g.*, *Acrisols* e *Ferrasols*) e aluviões encontrados na região subandina e na planície Amazônica. Já a elevada carga eletrolítica destas águas está associada ao intemperismo de rochas sedimentares geologicamente recentes, geralmente associadas ao Paleozoico e Mesozoico situados na Cordilheira Andina.

As águas pretas (e.g., rio Negro) são encontradas, principalmente, no noroeste da bacia e estão associadas às áreas planas que suportam a floresta tropical e a fitofisionomia savânica, denominada campinarana. A coloração marrom-oliva e marrom-café destas águas está intrinsecamente relacionada aos imensos pacotes de *Podzols* que ocorrem na região. A lenta decomposição da matéria orgânica nos *Podzols* dá origem a ácidos húmicos e fúlvicos, compostos, principalmente, de grupos carboxílicos e fenólicos que tendem a formar complexos organometálicos. Quando transferidos para a rede de drenagem, os metais complexados a matéria húmica permanecem estabilizados em suspensão, principalmente, na fração coloidal. A baixa carga eletrolítica destas águas está relacionada com a geoquímica dos solos formados sobre os escudos do Pré-Cambriano e os depósitos flúvio-lacustres, ambos altamente intemperizados. Sendo assim, estas águas são caracterizadas por pH ácido (4.5 – 5), elevadas concentrações de carbono orgânico e Fe complexado à matéria orgânica, baixas concentrações de cátions dissolvidos e material particulado, com transparência (disco de secchi) de 1.30-2.90m.

As águas claras (e.g., rios Tapajós e Xingu) geralmente têm alta transparência (1.10-4.30m) devido ao baixo conteúdo de sólidos suspensos e substâncias húmicas. Apresentam coloração verde, verde-oliva e concentrações de íons dissolvidos inferiores ao rio Solimões, porém superiores ao rio Negro. Os rios com este tipo de água apresentam amplos valores de pH, que podem variar desde alcalino à ácido. Todos estes fatores contribuem com o aumento da produtividade primária, sendo esta, uma característica marcante destas águas.

3.2.2 Frações e características dos sólidos suspensos e dissolvidos

O tamanho das partículas contidas nas águas naturais, exemplificado na Figura 9, é de extrema relevância, pois controla o comportamento físico-químico dos sólidos suspensos e dissolvidos, além da reatividade da partícula: quanto menor a granulometria de um sólido, mais reativo ele é por unidade de massa. Partículas finas podem ser divididas em argila (diâmetro menor que 2 μ m), silte (2-60 μ m) e areia (60 μ m-2mm). Usualmente, nas pesquisas relacionadas às águas naturais, os materiais dissolvidos são aqueles considerados com diâmetro menor que 0.45 μ m ou 0.22 μ m. Entretanto, estas frações incluem, em muitos casos, pequenos colóides insolúveis que, sob certas circunstâncias, são responsáveis pela maior quantidade de um elemento ou espécie química desta fração (Tipping, 2002).

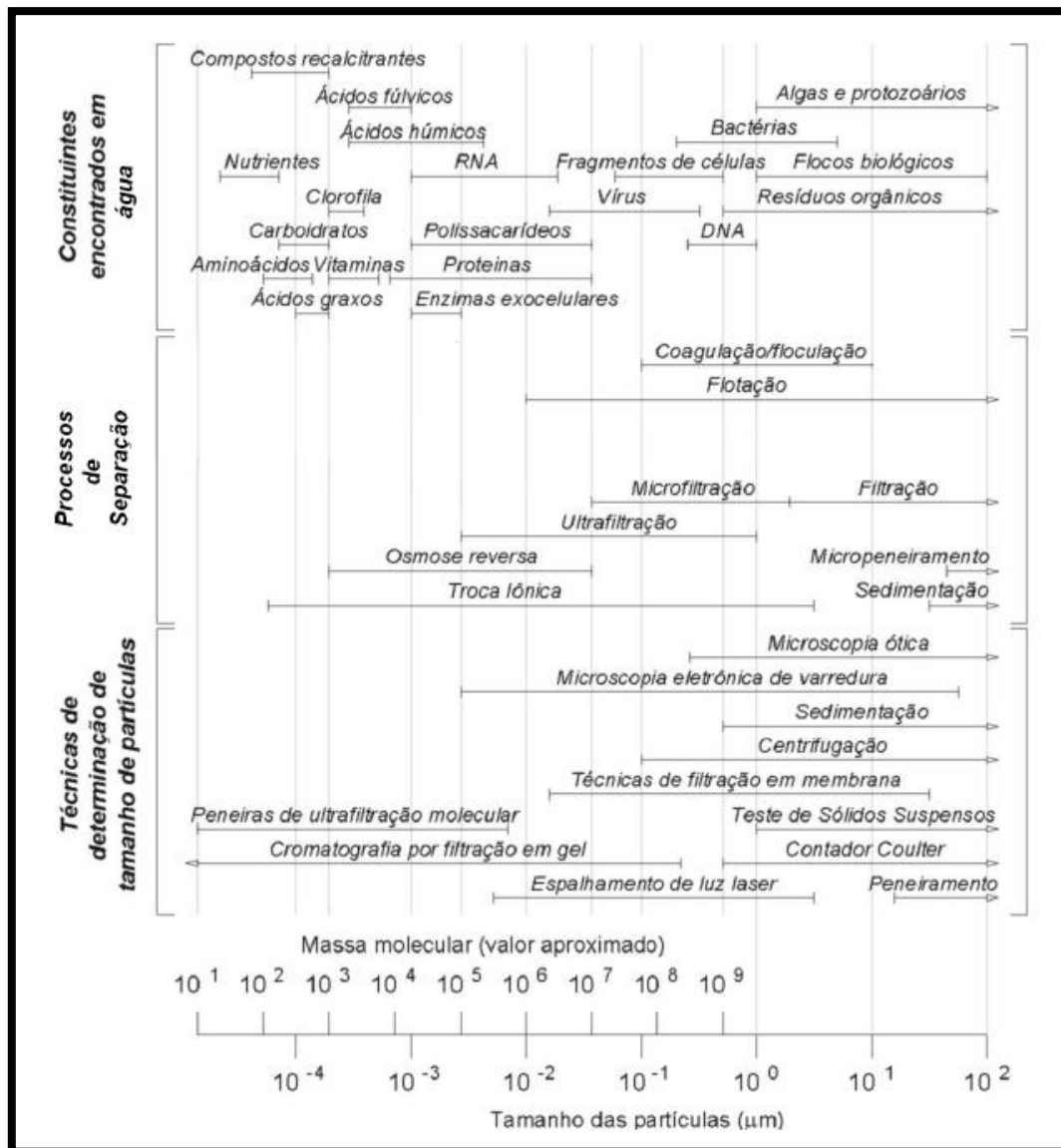


Figura 9 – Tamanhos aproximados de componentes físicos e biológicos das águas naturais. Relação dos constituintes encontrados em cada fração, processos de separação e a técnica de determinação (Moreira-Turcq, 2008).

Colóides são materiais com dimensões entre 1nm e 1μm com grandes áreas superficiais. A dispersão coloidal na água é considerada como sendo tanto hidrofóbica (material insolúvel finamente dividido) ou hidrofílico (macromoléculas dissolvidas). As propriedades dos colóides desempenham um papel chave no comportamento dos metais traços, uma vez que são estáveis em solução e são transportados por longas distâncias onde a coagulação e floculação podem facilitar sua eliminação através da sedimentação (Buffle et al., 1998). Em sistemas complexos como as águas naturais, a coagulação de colóides ocorre devido aos inúmeros tipos de sítios reativos. Os colóides inorgânicos encontrados em águas oxidantes são aluminossilicatos (argilas), sílica e oxihidróxidos de Fe. Em águas naturais oxigenadas, as

formas de Fe consistem, basicamente, em complexos orgânicos de Fe e fases nanométricas de Fe como oxihidróxidos ou fosfatos (Davison e De Vitre, 1992).

Para a separação dos sólidos suspensos nas águas superficiais, os estudos anteriores realizados na bacia Amazônica têm utilizado, principalmente, duas técnicas de filtração, sendo elas: (a) filtração frontal a vácuo, com membrana de 0.45 μm ou 0.22 μm para a separação de fração particulada e dissolvida, e (b) ultrafiltração tangencial para a separação das frações particulada ($P > 0.22\mu\text{m}$), coloidal ($5\text{KD} < C < 0.22\mu\text{m}$) e totalmente dissolvida ($\text{TD} < 5\text{KD}$). A ultrafiltração tangencial apresenta vantagens sobre a filtração frontal (a) permite concentrar uma grande quantidade de sólidos suspensos na membrana sem que haja o entupimento dos poros; (b) a membrana pode ser reutilizada; e (c) os sólidos retidos não são concentrados na superfície da membrana, facilitando a utilização do material nos procedimentos de preparação de amostras para análises.

Através destas técnicas de separação dos materiais contidos nas águas diversos estudos foram realizados para melhorar o entendimento da mineralogia e geoquímica dos rios da bacia Amazônica, dentre eles, podemos destacar importantes publicações sobre água, sedimento e elementos bioativos (e.g., Meade, 1985; Richey et al., 1986; Devol et al., 1995; Gaillardet et al., 1997; Allard et al., 2002; Aucour et al., 2003; Benedetti et al., 2003; Seyler e Boaventura, 2003). Nestes estudos foram determinados não somente as concentrações de elementos maiores, traços, terras-raras e carbono orgânico, mas também a natureza, especiação e distribuição destes compostos nas diversas frações da água, permitindo, assim, uma melhor compreensão da dinâmica rocha-solo-água, e seus efeitos na composição química e no transporte de compostos orgânico e inorgânicos nas águas destes rios. Neste trabalho será dada preferência à discussão dos rios de águas brancas (Solimões e Amazonas) e de águas pretas (rio Negro).

De maneira geral, na fração particulada das águas pretas do rio Negro predominam o quartzo, a gibbsita e traços de mica/illita, com significativas contribuições de material orgânico particulado. Nas águas brancas dos rios Amazonas e Solimões prevalecem o quartzo e dos filossilicatos (esmectita, mica/illita, caolinita e clorita), com uma menor contribuição de feldspatos. A semelhante composição dos materiais suspensos entre o rio Amazonas e o Solimões indica que a contribuição do rio Negro não é muito significativa ao Amazonas, devido a menor vazão e carga de materiais. A contribuição dos materiais suspensos do Solimões é 30

vezes maior que a do rio Negro. A reatividade dos sólidos particulados do rio Solimões e Amazonas está relacionada, principalmente, aos sítios de adsorção (dependentes do pH do meio) de argilas, como a caulinita, enquanto a do rio Negro está relacionada às substâncias húmicas. A concentração média do material suspenso dos rios diferencia os rios de águas brancas com elevadas concentrações de materiais suspensos dos rios de águas pretas com materiais suspensos relativamente baixos.

Na fração coloidal, os diferentes tipos de águas apresentam reatividade relacionada às substâncias húmicas, embora apresentem origens distintas (*Podzols vs Ferrasols*). No Amazonas e Solimões o carbono coloidal é do tipo fúlvico, devido a predominância de grupos carboxílicos. No rio Negro, é do tipo húmico com maiores conteúdos de grupos fenólicos (Allard 2002 e Malcolm, 1985). Espectros de EPR (*Electro Paramagnetic Resonance*) mostram que nos rios Amazonas e Solimões há a presença de Fe^{3+} diluído, associado à argilas como impurezas, ou na forma de oxihidróxidos que são, naturalmente, associados a argilas como minerais livres, inclusões ou revestimento. Para as bacias do noroeste foi determinado Fe^{3+} estrutural e Fe^{3+} associado a grupos orgânicos como complexos de esfera interna. Análises das concentrações (% sólidos secos) de $[Fe^{3+}-OM]$ na fração coloidal demonstram que o rio Negro apresenta até 4.8% de $Fe^{3+}-OM$, o rio Branco de 0.6% e o rio Amazonas, aproximadamente, 0.2% (Allard et al., 2004, 2011). Estes resultados demonstram a importância dos complexos orgânicos no transporte do Fe, principalmente, no rio Negro. Além da elevada $[Fe^{3+}-OM]$, o rio Negro apresenta Mn^{2+} associado à matéria orgânica como complexos de esfera externa. De acordo com estudo de Allard et al. (2004), os valores de $[Fe^{3+}-OM]$ estão correlacionados com o pH, com *end members*, representados por amostras do Negro e do Amazonas. À medida que o pH decresce, a contribuição de grupos fenólicos na ligação com o Fe aumenta de 33 para 85%, enquanto nos grupos carboxílicos decrescem de 67 para 15% (Allard et al., 2004). Além dos complexos orgânicos, óxidos nanométricos de Fe são encontrados em associação com o material particulado orgânico, sendo consistente com a carga relativa superficial destes compostos: a carga superficial de hidretos de Fe aumenta com a queda do pH enquanto as carga superficiais das substâncias húmicas são negativas na amplitude do pH natural (Buffle et al., 1998).

3.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allard T., Ponthieu M., Weber T., Filizola N., Guyot J. L., Benedetti M. (2002) Nature and properties of suspended solids in the Amazon Basin. *Bulletin de la Societe Geologique de France*. 173(1):67-75.
- Allard T., Menguy N., Salomon J., Calligaro T., Weber T., Calas G., Benedetti M. F. (2004). Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil)1. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 68(14): 3079–3094.
- Aucour A., Tao F.X., Moreira-Turcq P., Seyler P., Sheppard S., Benedetti M.F. (2003) The Amazon River: behavior of metals (Fe , Al , Mn) and dissolved organic matter in the initial mixing at their confluence Rio Negro / Solimoes. *Chem. Geol.* 197:271–285.
- Benedetti M. F., Mounier S., Filizola N., Benaim J., Seyler, P. (2003) Carbon and metal concentrations, size distributions and fluxes in major rivers of the Amazon basin. *Hydrol. Process.* 17(7):1363–1377.
- Buffle J., Wilkinson K. J., Stoll S., Filella M., Zhang J. (1998). A Generalized Description of Aquatic Colloidal Interactions: The Three-colloidal Component Approach. *Environmental Science & Technology*. 32(19):2887–2899.
- Callède J., Guyot J. L., Ronchail J., L'Hôte Y., Niel H., de Oliveira E. (2004). Evolution du débit de l'Amazone à Óbidos de 1903 à 1999/Evolution of the River Amazon's discharge at Óbidos from 1903 to 1999. *Hydrological Sciences Journal*. 49(1):85-97.
- Callède J., Cochonneau G., Ronchail J., Alves V., Guyot J., Guimaraes V., de Oliveira, E. (2010) Les apports en eau de l'Amazone a l'Océan Atlantique. *Rev. Sci. l'Eau*. 23:247–273.
- Chen J. L., Wilson C. R., Tapley B. D. (2010). The 2009 exceptional Amazon flood and interannual terrestrial water storage change observed by GRACE. *Water Resources Research*. 46(12):1–10.
- Cialdi M., Secchi P. A. (1865). Sur la Transparence de la Mer. *Comptes Rendu de l'Academie des Sciences*. 61: 100–104.
- Costa M. H., Foley J. A. (1998). A comparison of precipitation data- sets for the Amazon Basin, *Geophys. Res. Lett.* 25(2):155–158.
- Davison W., DeVitre, R. (1992). Iron particles in freshwater. In: Buffle, J., van Leeuwen, H.P. (Eds.), *Environmental Particles. Environmental Analytical and Physical Chemistry Series*. Lewis Publishers, pp. 315–355.
- Devol A. H., Forsberg B. R., Richey J. E., Pimentel T. P. (1995). Seasonal variation in chemical distributions in the Amazon (Solimoes) River: a multiyear time series. *Global Biogeochem. Cycles*. 9(3):307-328.
- Dunne T., Mertes L.A.K., Meade R.H., Richey J.E., Forsberg B.R. (1998). Exchanges of sediment between the flood plain and channel of the Amazon River in Brazil. *Geol. Soc. Am. Bull.* 110(4):450-467.
- Espinoza Villar J. C., Guyot J. L., Ronchail J., Cochonneau G., Filizola N., Fraizy P., Vauchel P. (2009). Contrasting regional discharge evolutions in the Amazon basin (1974–2004). *Journal of Hydrology*. 375(3):297-311.
- Filizola N.P., Guyot J.L. (2009). Suspended sediment yields in the Amazon basin: an assessment using the Brazilian national data set. *Hydrol. Processes*. 23 (22):3207-3215.
- Fittkau E. J. (1969). Esboço de uma divisão ecológica da região amazônica, *Proc. Symp. Biol. Trop. Amaz., Florencia y Leticia*. , 363–372.
- Fittkau, E. J. (1971). Distribution and ecology of Amazonian chironomids (Diptera). *The Canadian Entomologist*. 103(03):407-413.
- Gaillardet J., Dupre B., Allegre C. J., Négrel P. (1997). Chemical and physical denudation in the Amazon River Basin. *Chemical Geology*. 142(3):141-173.
- Gibbs R. J. (1967). The geochemistry of the Amazon River system: Part I. The factors that control the salinity and the composition and concentration of the suspended solids. *Geological Society of America Bulletin*. 78(10):1203-1232.
- Gibbs R.J. (1972). Water chemistry of the Amazon River. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 36: 1061-1066.
- Hoorn C., Wesselingh F. P., Ter Steege H., Bermudez M. A., Mora A., Sevink J., Antonelli A. (2010). Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330(6006):927-931.
- Irion G. (1978). Soil infertility in the Amazonian rain forest, *Naturwissenschaften*, 65, 515–519.
- ISRIC, 2005. Development of a soil and terrain database for Latin America and the Caribbean (SOTERLAC). Disponível em: <http://www.isric.org/projects/soter-latin-america-and-caribbean-soterlac>.

- Marengo J. (1992). Interannual variability of surface climate in the Amazon basin. *International Journal of Climatology* 12:853–863.
- Marengo J., Tomasella J., Uvo C. (1998). Long-term stream flow and rainfall fluctuation in tropical South America: Amazonia, eastern Brazil, and northwest Peru. *Journal of Geophysical Research* 103:1775–1783.
- Marengo J., Nobre C., Tomasella J., Oyama M., de Oliveira G., de Oliveira R., Camargo H., Alves L. (2008). The drought in Amazonia in 2005. *Journal of Climate* 21:495–516.
- Maurice-Bourgoin L., Quemarais B., Moreira-Turcq P., Seyler P. (2007). Transport, distribution and speciation of mercury in the Amazon River at the confluence of black and whitewaters of the Negro and Solimões Rivers. *Hydrol. Processes*. 17:1405-1417.
- Meade R.H., Nordin C.F., Curtis W.J. (1979). Sediment in Rio Amazonas and some of its principals tributaries during the high-water season of 1976 and 1977. *An. Simp. Bras. Hidrologia* 2:472-485
- Meade R.H. (1985) Suspended sediment in the Amazon river and its tributaries in Brazil during 1982-1984. *U.S. Geol. Surv. Open-File Rep.* 85(492):1-40.
- Molinier M., Guyot J. L., De Oliveira E., Guimaraes V., Chaves A. (1993) Hydrologie de Bassin de l'Amazonie. In: Grands Bassins Fluviaux Paratlantiques. Proceedings of the PEGI- INSU-CNRS-ORSTOM Symposium. Orstom Editions, Paris, pp. 335-345.
- Molinier M., Guyot J. L., Oliveira E., Guimarães V. (1997) Les regimes hydrologiques de l'Amazonie et de ses affluents. In L'hydrologie tropicale: geoscience et outil pour le d'veloppement, Chevallier P, Pouyaud B (eds). *AIHS* 238: 209–222.
- Moreira-Turcq, P.F.M. (2008). Biogeoquímica da Várzea do Lago Grande de Curuaí, Rio Amazonas, Pará, Brasil: Caracterização, origem, ciclagem e destino do material orgânico e inorgânico. Niterói: UFF. Programa de Pós-Graduação em Geociências UFF
- Quesada C. A., Lloyd J., Anderson L. O., Fyllas N. M., Schwarz M., Czimczik C. I. (2011). Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. *Biogeosciences*. 8(6):1415–1440.
- Richey J., Nobre C., Deser C. (1989). Amazon River discharge and climate variability. *Science*. 246:101–103.
- Schobbenhaus C., Bellizzia A. (coord.): Geological Map of South America, 1:5,000,000,CGMW-CPRM-DNPM-UNESCO, Paris, 2001.
- Schreider H., Schreider F. (1970). Exploring the Amazon. National Geographic Society.
- Seyler P., Boaventura G. R. (2003) Distribution and partition of trace metals in the Amazon basin. *Hydrological Processes* 17(7), 1345–1361.
- Sioli H. (1950). Das Wasser im Amazonasgebiet. *Forsch. Fortchr.* 26: 274-280p.
- Sioli H., (1984). The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin. In: *Monographiae Biologicae*, vol. 56. Dr.W. Junk Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster, 762 pp.
- Stallard R. F., Edmond J. M., (1983). Geochemistry of the Amazon, 2. The influence of geology and weathering environment on the dissolved load. *J. Geophys. Res.* 88:9671-9688.
- Tipping E. (2002). Cation binding by humic substances. Cambridge University Press.
- Zeng N., Yoon J., Marengo J., Subramaniam A., Nobre C., Mariotti A., Neelin J., (2008). Causes and impact of the 2005 Amazon drought. *Environmental Research Letters*. 3:99.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA E FILTRAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras analisadas no presente trabalho foram coletadas no rio Amazonas e em alguns dos seus principais tributários, abrangendo, dessa forma, rios com águas quimicamente contrastantes. Os pontos coletados, assim como suas coordenadas, estão descritos na Tabela 1 e ilustrados na Figura 10. As amostras de água foram coletadas em Maio de 2009, ano caracterizado pela maior cheia do último século, em Outubro de 2010, período de seca excepcional, e em 2011, novamente, no período de águas altas. Os períodos hidrológicos de águas altas de 2009 e de águas baixas de 2010 foram definidos como os eventos hidrológicos mais extremos dos últimos cem anos.

As amostras de água obtidas em 2009 foram coletadas nos rios Negro, Solimões, Madeira e Amazonas em profundidade situada, aproximadamente, no nível médio entre o leito do rio e a superfície. As amostras foram armazenadas em frascos de HDPE (*High Density Polietilene*), previamente lavados com HCl (1M) e água de-ionizada (MilliQ, 18mΩ). As amostras obtidas neste trabalho de campo foram coletadas para determinar a razão isotópica do Fe dos rios com características químicas distintas e investigar como o procedimento de armazenamento de amostra poderá influenciar na composição isotópica do Fe dissolvido. Para isto as amostras foram armazenadas e processadas em três diferentes maneiras, sendo elas: (a) amostra de água filtrada no campo imediatamente após a coleta e armazenada congelada; (b) amostra de água bruta (sem filtração) armazenada a temperatura ambiente e filtrada posteriormente no laboratório; (c) amostra bruta congelada no campo e, posteriormente, descongelada para filtração no laboratório; e (d) amostra de água filtrada e congelada imediatamente após a coleta, posteriormente, descongelada no laboratório e filtrada novamente. Através destes experimentos espera-se causar o maior estresse possível nas amostras, para então, determinar qual a maior influencia que os procedimentos de estocagem e filtração poderão causar nas concentrações e assinaturas isotópicas do Fe. Todas as amostras foram filtradas utilizando um sistema Millipore (Polysulfone), equipado com membranas de acetato de celulose de 0.45µm de poro. Os sistemas de filtração e as membranas foram condicionadas com 250ml do respectivo ponto de coleta antes da filtração da alíquota para análise.

Tabela 1– Descrição dos pontos amostrados nos anos 2009, 2010 e 2011. Coordenadas Geográficas (hddd°mm.mmm', WGS84).

Amostra	Data	Prof. (m)	Longitude/Latitude		Local	Amostra	Data	Prof. (m)	Longitude/Latitude		Local
			S	W					S	W	
MAN10L01	24/09/10	0.5	3°20.058	60°33.136	Solimões	ManCF	26/05/09	p.m.	3°19.391	60°33.297	Solimões
MAN10L02	24/09/10	0.5	3°19.784	60°33.122	Solimões	ItaCF	30/05/09	p.m.	3°10.414	58°24.263	Amazon
MAN10L03	24/09/10	0.5	3°19.526	60°33.146	Solimões	LF03	21/09/10	0.5	3°23.388	60°18.959	Janauacá
MAN10L04	24/09/10	0.5	3°19.246	60°33.206	Solimões	Mad0901	30/05/09	p.m.	3°25.080	58°47.160	Madeira
MAN10L05	24/09/10	0.5	3°18.975	60°33.212	Solimões	PACF	26/05/09	p.m.	3°04.320	60°15.665	Negro
MAN10P02	24/09/10	5	3°19.526	60°33.146	Solimões	ENC1001	29/09/10	0.5	3°07.683	59°53.828	Enc. Águas
MAN10P03	24/09/10	10	3°19.526	60°33.146	Solimões	ENC1002	29/09/10	0.5	3°06.671	59°52.661	Enc. Águas
MAN10P04	24/09/10	15	3°19.526	60°33.146	Solimões	ENC1003	29/09/10	0.5	3°02.997	59°45.224	Enc. Águas
MAN10P05	24/09/10	20	3°19.526	60°33.146	Solimões	ENC1004	29/09/10	0.5	3°03.385	59°40.553	Enc. Águas
MAN11L03	21/06/11	0.5	3°19.602	60°33.162	Solimões	ENC1005	29/09/10	0.5	3°07.231	59°34.864	Enc. Águas
PA10L01	28/09/10	0.5	3°03.759	60°15.696	Negro	ENC1006	29/09/10	0.5	3°06.453	59°33.689	Enc. Águas
PA10L02	28/09/10	0.5	3°03.919	60°15.531	Negro	ENC1007	29/09/10	0.5	3°06.333	59°33.112	Enc. Águas
PA10L03	28/09/10	0.5	3°04.052	60°15.444	Negro	ENC1008	30/09/10	0.5	3°13.068	59°13.564	Enc. Águas
PA10L04	28/09/10	0.5	3°04.238	60°15.338	Negro	ENC1009	30/09/10	0.5	3°14.968	59°12.872	Enc. Águas
PA10L05	28/09/10	0.5	3°04.416	60°15.251	Negro	ENC1010	30/09/10	0.5	3°13.699	59°12.674	Enc. Águas
PA10P02	28/09/10	6	3°04.052	60°15.444	Negro	ENC1011	30/09/10	0.5	3°20.079	58°48.119	Enc. Águas
PA10P03	28/09/10	12	3°04.052	60°15.444	Negro	ENC1012	30/09/10	0.5	3°19.91	58°47.784	Enc. Águas
PA10P04	28/09/10	20	3°04.052	60°15.444	Negro	ENC1013	01/10/10	0.5	3°07.683	59°53.828	Enc. Águas
PA10P05	28/09/10	30	3°04.052	60°15.444	Negro	ENC1101.1	20/06/11	0.5	3°07.431	59°53.687	Enc. Águas
PA11L03	20/06/11	0.5	3°04.052	60°15.439	Negro	ENC1101.2	20/06/11	0.5	3°07.431	59°53.687	Enc. Águas
Jau1001	27/09/10	0.5	1°52.105	61°32.551	Jaú	ENC1101.3	20/06/11	0.5	59°53.687	59°53.687	Enc. Águas

p.m. = profundidade média

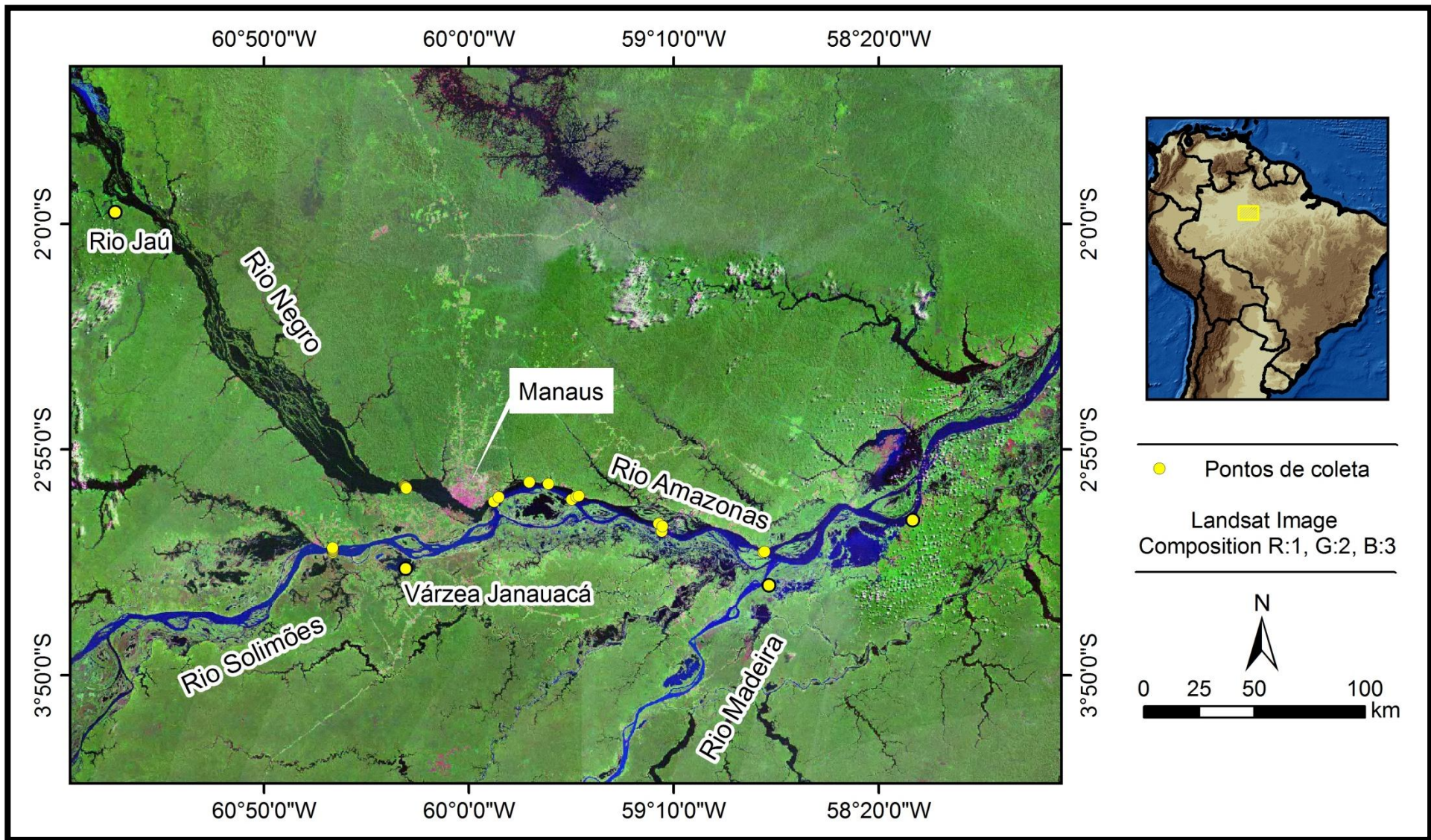


Figura 10 - Pontos de coleta de amostras nos anos de 2009,2010 e 2011

Em setembro de 2010 foi realizada a Missão “Encontro das Águas” para coletar amostras na zona de mistura dos rios Negro e Solimões. Também foram coletadas amostras de águas ricas em matéria orgânica no rio Jaú e águas com elevada produtividade primária na Várzea de Janauacá. As amostras desta expedição foram utilizadas para determinar a especiação do Fe; a composição isotópica do Fe, H, e O; os parâmetros físico-químicos e os elementos maiores. Amostras de água foram filtradas em três frações distintas (0.45 μ m, 0.22 μ m e 5KD) para separação de material particulado, coloidal e dissolvido. Medições de vazões ao longo da sessão transversal dos rios Negro, Solimões e Amazonas foram realizadas por ADCP (*Acoustic Doppler Current Profiler*), de acordo com o método proposto por Filizola e Guyot (2004). O período das águas baixas de 2010 foi ideal para investigar os processos de mistura entre os rios Negro e Solimões, por minimizar as influências externas de canais e demais afluentes.

Amostras de água foram coletadas no rio Negro (estação de amostragem de Paricatuba), no rio Solimões (estação de amostragem de Manacapuru) e em trinta pontos distribuídos nos 110km da zona de mistura, antes da confluência dos rios Amazonas e Madeira (Figura 10). Os rios Negro e Solimões têm distintas condutividades elétricas. Sendo assim, este parâmetro foi utilizado no campo para estimar as proporções de mistura dos rios em um determinado ponto, auxiliando na escolha dos locais a serem amostrados. No período de águas altas de 2011 foi realizada uma campanha adicional para amostrar novamente o início da zona de mistura. Em ambas as campanhas, as amostras foram coletadas a 50 cm abaixo da superfície. No trabalho de campo realizado nas águas baixas de 2010 foram realizados perfis laterais e de profundidade nos rios Negro e Solimões. Os perfis laterais foram coletados em cinco pontos distribuídos regularmente entre as margens dos rios. Os pontos de coleta nos perfis de profundidade foram definidos de acordo com a profundidade mais elevada, através de medidas utilizando ADCP. No rio Negro, as amostras foram coletadas em 0.5, 6, 12, 20 e 30m de profundidade, enquanto, no rio Solimões, em 0.5, 5, 10, 15 e 20m. Amostras de água foram armazenadas em frascos de HDPE previamente lavados com HCl (1M) e água de-ionizada (MilliQ, 18m Ω). As amostras foram filtradas no interior de uma *glove box* imediatamente após a coleta, utilizando um sistema de filtração fontral a vácuo Millipore (Polysulfone), equipado com membranas de acetato de celulose com 0.45 μ m de poro (Figura 11). O sistema de filtração e as membranas foram condicionadas com 250ml de água do próprio ponto de coleta antes da filtração da alíquota para análise. Após a coleta, as

membranas foram secas a temperatura ambiente no interior da *glove box* e armazenadas em *Petri slides*.

Para separação das frações particuladas ($>0.22\mu\text{m}$), coloidal ($5\text{KD} < C < 0.22\mu\text{m}$) e verdadeiramente dissolvidas ($<5\text{KD}$) foram coletados, de cada ponto, 50L de água que, subsequentemente, foi filtrada utilizando sistema de ultra-filtração tangencial (Pelicon, Millipore) com membranas de terminação final em $0.2\mu\text{m}$ (Durapore) e 5KD (polyethersulfone) (para maiores detalhes consultar Allard et al., 2004). Partículas residuais nas membranas foram removidas, aplicando-se fluxo reverso de água. Foram filtrados aproximadamente 50L de amostra. O material retido foi armazenado em frascos de polietileno e o filtrado em frascos de HDPE, ambos previamente lavados com HCl (1M). (Figura 11c).

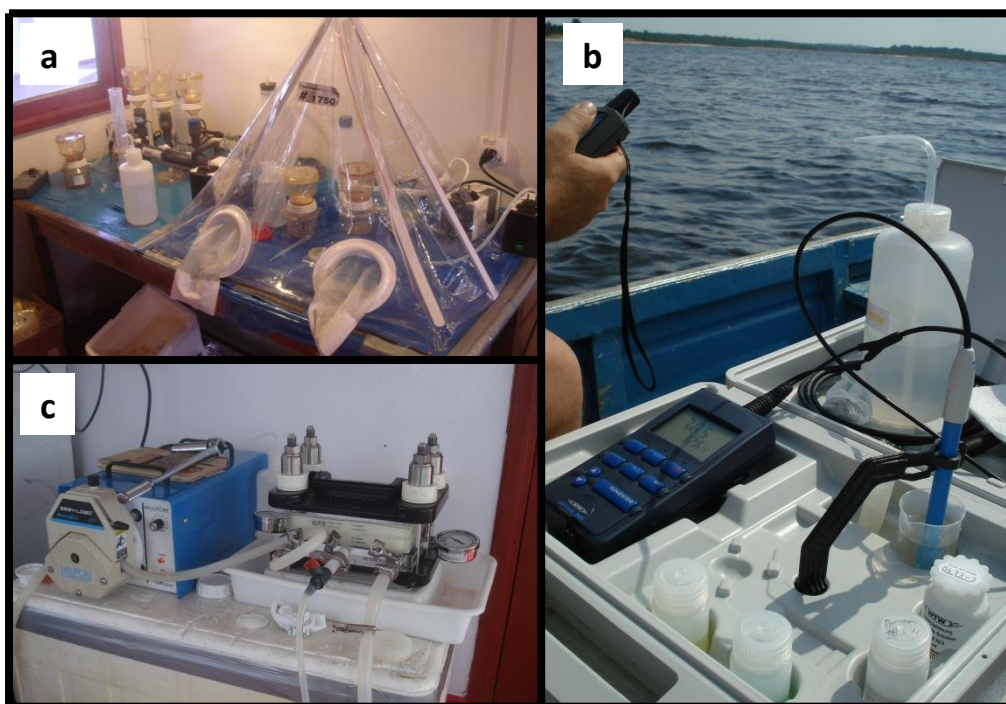


Figura 11- Sistemas de filtração e medição de parâmetros físico-químico a bordo. (a.) Sistema de filtração Millipore dentro da *glove box*. (b.) Multi-parâmetro WTW e (c.) Sistema de ultra-filtração tangencial Millipore

4.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

No campo foram realizadas medições de pH, Eh, condutividade elétrica e temperatura utilizando multi-parâmetro WTW 340i (Figura 11b), calibrado com padrões da WTW. Os

valores de Eh foram realizados utilizando uma sonda ORP (*oxi-redox potential*). As medidas foram certificadas utilizando solução YSI 3682 Zobell's com precisão de aproximadamente $\pm 10\text{mV}$, corrigidas para valores do eletrodo padrão de hidrogênio, conforme descrito pela APHA (1998). As incertezas das medidas de pH foram estimadas em ± 0.2 , enquanto as de condutividade em $\pm 1\%$.

4.3 ESPECIAÇÃO DO FERRO

Nas últimas décadas, centenas de compostos contendo ferroína foram sintetizados, sendo a maioria capaz de complexar o íon ferroso. Entretanto, a maioria destes complexos forma cores fracas, são instáveis em condições físicas normais ou são formados em uma faixa restrita de pH. Alguns destes compostos formam espécies com o íon ferroso de cores intensas e estáveis, utilizáveis para a determinação quantitativa do Fe. Alguns exemplos destes complexos são: 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline, 2,2'-bipyridine, 2,6-bis(2-pyridyl)-pyridine, 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine e phenyl 2-pyridyl ketoxime. A ferrozine é encontrada no *dissodium salt* de 3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phenylsulfonic acid)-1,2,4-triazine. Este composto reage com o ferro divalente, formando um complexo estável de coloração magenta, muito solúvel em água, podendo ser utilizado para a determinação direta de ferro através de técnicas colorimétricas. O espectro de absorção visível do complexo ferroso da ferrozine exibe um único pico com máxima absorção em 562nm, determinado em pH entre 4 e 9 e temperatura entre 10 e 45° C com absorbância molar de 27900 L/cm/mol (Stookey, 1970).

Murray e Gill (1978) demonstram que em uma solução de Fe^{3+} contendo a ferrozine ocorre o aumento gradativo da intensidade da cor de acordo com o tempo, devido a redução do Fe^{3+} para Fe^{2+} pela própria ferrozine, sugerindo que a absorbância deve ser medida em menos de 1 min após a adição do complexante. Luther et al. (1996) argumentaram que um problema potencial do método de ferrozina é a redução incompleta de complexos orgânicos de Fe^{3+} . Estes autores também atribuíram uma baixa recuperação do Fe total devido a precipitação de Fe^{3+} e de complexos húmicos de Fe^{2+} devido à acidificação causada pela adição de hidroxilamina. Entretanto, Viollier et al. (2000) testaram a confiabilidade do método na presença de complexos orgânicos de Fe^{3+} demonstrando, que a ferrozina pode ser

utilizada na determinação sem interferências de razões Fe^{2+}/Fe^{3+} em amostras com altos teores de material orgânico.

A determinação das concentrações de Fe^{2+} , Fe^{3+} e Fe_{total} foram realizadas utilizando metodologia adaptada de Viollier et al. (2000) e as seguintes soluções:

A – Ferrozina 10^{-2} M em CH_3COONH_4 10^{-1} M (complexante com Fe^{2+})

B – Hydroxylamina (H_2NOH HCl) 1.4 M em HCl 2M (reduzidor)

C – Acetato de ammonia (CH_3COONH_4) 10M e pH 9.5 ajustado com NH_4OH (tampão)

D – A curva de calibração de 0, 5, 10, 15, 20 μM utilizou solução estoque de $800\mu M$ preparada com $FeCl_2$.

A determinação das concentrações foi realizada em alíquotas das amostras previamente filtradas em membranas de $0.45\mu m$ de poro. Primeiramente, foi adicionado 0.2ml de ferrozine (solução A) em 2ml de amostra filtrada e, subsequente, a absorbância foi mensurada em 562nm para a determinação de Fe^{2+} . Subsequentemente, em 1.8ml desta solução foram adicionados 0.2ml de hidroxilamina (solução B), que permaneceu em repouso por 10min para garantir a completa redução do Fe. Em seguida, 0.1ml da solução tampão (solução C) foi adicionada para ajustar o pH e a concentração de Fe_{total} foi determinada em 562nm. A concentração de Fe^{3+} foi calculada através da diferença entre Fe_{total} e Fe^{2+} .

As amostras foram analisadas no campo, a bordo do barco, logo após filtração em membrana de $0.45\mu m$, com absorbância medida em espectrofotômetro T-60 UV-VIS PG INSTRUMENTS. Para controle analítico dos resultados foi utilizada a amostra de referência geoquímica SLRS-4, do NCR (*National Council of Canada*) com 103 ppb de Fe_{total} . Em todas as sessões analíticas a amostra de referência analítica foi analisada repetitivamente, obtendo valores com média de 104.3 ± 1.95 ($n=25$) com erro relativo $< 2\%$ em relação às concentrações certificadas para a amostra de referência. O limite de detecção do método aqui utilizado foi calculado de acordo Miler e Miler (2010), e foi definido em $5.12 \mu g/L$.

4.4 ESPÉCIES PARAMAGNÉTICAS E GRUPOS ORGÂNICOS

As espécies paramagnéticas e os principais grupos orgânicos que constituem os materiais particulados ($P > 0.22\mu m$) e coloidais ($5KD < C < 0.22\mu m$) foram investigados utilizando EPR (*Electron Paramagnetic Resonance*) e FT-IR (*Fourier Transformed Infrared*)

Spectroscopy). Estas frações foram separadas no campo através da ultrafiltração tangencial e, posteriormente, secas no laboratório a 40° C.

A determinação das espécies paramagnéticas foi realizada utilizando espectrômetro X-band Bruker ESP300E. As análises das amostras foram conduzidas em frequência de 9.42 Ghz, potência de micro-ondas de 40mW, amplitude de modulação de 3 a 5 Gauss e fator de preenchimento da cavidade ressonante normalizado (*normalized filling factor of the resonant cavity*). Dados foram normalizados de acordo com o ganho e a massa da amostra. Valores efetivos do fator g foram calculados de acordo com Allard et al. (2011). Os dados obtidos nestas análises foram realizados para determinar as principais espécies de Fe contidas nos materiais em suspensão, assim como para calcular a concentração do Fe³⁺ complexado com a matéria orgânica ([Fe³⁺-OM]). A calibração foi realizada com padrão de Fe dopado com ácido húmico com concentração de 2.85 wt %, de acordo com o estudo anterior de Allard et al. (2011). A concentração dos óxidos de Fe coloidais será expressa em unidades arbitrárias, devido a ausência de um padrão apropriado. As concentrações de Fe³⁺-OM e dos óxidos de Fe foram determinadas na ressonância principal de cada espécie de Fe utilizando a relação simplificada obtida da primeira derivada do espectro, através da fórmula:

$$A = k * H^2 * I \quad (\text{Eq. 10})$$

que fornece uma estimativa da área integrada do pico (A), onde k é uma constante, H e I são a largura e a amplitude do pico, respectivamente (Calas, 1988).

Os principais grupos orgânicos presentes nos materiais em suspensão dos rios investigados foram determinados utilizando espectros de FT-IR (*Fourier Transformed Infrared Spectrometer*). Primeiramente as amostras foram pulverizadas e misturadas com 300mg de KBr e pressionadas a ~8 tons/cm² para formar discos com 13mm de largura. Os espectros foram registrados em espectrômetro Nicolet, Magna 560 em modo de transmissão obtidos em número de onda variando entre 4000-250 cm⁻¹ e com resolução de 2 cm⁻¹.

4.5 ISÓTOPOS OXIGÊNIO E HIDROGÊNIO

As análises dos isótopos de oxigênio e hidrogênio foram realizadas em amostras brutas (sem filtração), utilizando o espectrômetro de massa Delta V Plus. As razões isotópicas foram reportadas utilizando as notações δ¹⁸O e δD, expressas em por mil (‰). As medidas

de δD foram realizadas utilizando um sistema de introdução de amostras HDevice, após a reação com CrO_3 a $850^\circ C$. As análises de $\delta^{18}O$ foram realizadas utilizando sistema de introdução de amostras Gas Bench II, através do equilíbrio entre as amostras de água e uma mistura $He-CO_2$. Durante as sessões analíticas, os materiais de referência internacional certificados VSMOW, GISP e SLAP da IAEA (*International Atomic Energy Agency*) foram analisados repetidamente, obtendo valores com diferenças máximas de $\sim 1\%$ para δD e $\sim 0.2\%$ para $\delta^{18}O$ quando comparados aos valores certificados.

4.6 DIGESTÃO DE AMOSTRAS

A dissolução de amostras foi realizada em sala limpa classe 10000 utilizando ácidos bi-destilados (HNO_3 e HF concentrados e HCl 6M), H_2O_2 (Merck SupraPur, 30%), água deionizada (MilliQ, 18 m Ω) e recipientes de Teflon (Savillex). Foram utilizados três procedimentos padrões para abertura de amostras de diferentes matrizes que serão descritos a seguir.

O material particulado separado através da filtração frontal a vácuo foi dissolvido, conjuntamente com a membrana de acetato de celulose, em 8 ml de HNO_3 e 1 ml de H_2O_2 , e deixados em placa aquecedora em $80^\circ C$ durante a noite e, em seguida, foram evaporados. Subsequentemente, 0.2 ml de HNO_3 , 1 ml de HF e 0.6 ml de HCl 6M foram adicionados aos recipientes de Teflon e foram deixados em placa aquecedora a $80^\circ C$ durante a noite. Em seguida, as amostras foram evaporadas à $80^\circ C$. Os resíduos da digestão foram solubilizados em 5 ml de 6M HCl , sendo que, somente 1 ml foi separado para centrifugação e purificação do Fe através da cromatografia.

As soluções retidas e permeadas obtidas através da ultrafiltração tangencial foram primeiramente evaporadas em recipientes de Teflon com volume de amostra variando entre 1ml a 1.3L, de acordo com a concentração medida ou determinada em estudos anteriores (e.g., Benedetti et al., 2003; Seyler e Boaventura, 2003; Aucour et al., 2003). Os resíduos da evaporação foram adicionados a 1 ml de H_2O_2 dentro de recipientes de Teflon, que permaneceram fechados durante a noite, a temperatura ambiente. Subsequentemente, 1 ml de HNO_3 foi adicionado as soluções anteriores. As amostras reagiram durante a noite em placa aquecedora a $80^\circ C$ e, em seguida, foram evaporados a mesma temperatura. As amostras foram então dissolvidas em 1.2 ml de HF e 1.2 mL de HNO_3 e deixadas à noite em

placa aquecedora a 80°C e evaporadas em seguida. Os resíduos de evaporação foram dissolvidos em 2ml de 6M HCl e novamente evaporados após solubilização. Por fim, os resíduos da digestão foram solubilizados em 0.5 - 1ml de HCl 6M, antes da centrifugação da amostra e da cromatografia.

As amostras analisadas provenientes dos experimentos de adsorção do Fe na superfície celular do fitoplâncton consistem de sais ou soluções estoque de Fe, assim como em biomassa e soluções finais coletadas após a realização do experimento. As amostras de biomassa e as soluções finais foram dissolvidas em procedimento semelhante ao descrito anteriormente. Os sais e as soluções estoque de Fe foram solubilizados através da digestão ácida realizada em duas etapas consecutivas de dissolução utilizando 2 mL de HCl 6M com reação durante a noite em placa aquecedora a 80°C e, subsequente, evaporação. Após a completa evaporação a amostra foi solubilizada em 0.5ml de HCl 6M.

4.7 - CROMATOGRAFIA E PURIFICAÇÃO DO FERRO

Anteriormente às análises isotópicas, o Fe é separado de elementos que causam interferências isobáricas e de elementos matriz que influenciam o *mass bias* do espectrômetro. Uma das maneiras de separar o Fe de compostos que podem causar interferências durante as análises é a cromatográfica de troca aniônica em meio HCl (Dauphas e Rouxel, 2006). A adsorção do Fe³⁺ nas resinas de troca aniônica aumentam nas soluções de HCl com elevada molaridade, enquanto o Cr, Ni e diversos outros elementos não são quantitativamente retidos (Strelow, 1980). Diversos métodos de purificação do Fe foram desenvolvidos baseados no mesmo conceito, sendo o protocolo estabelecido por Poitrasson et al. (2004) utilizado neste projeto.

Após o processo de digestão, o Fe é purificado através do processo de troca aniônica em meio HCl (Strelow, 1980) utilizando 0.5ml da resina Bio Rad AG1 X4, 200–400 mesh introduzidas nas colunas termo retráteis de Teflon com diâmetro interno de 4mm. As colunas e as resinas são previamente lavadas com 5 ml de HCl 6M e 5ml de HCl 0.05M e, posteriormente acondicionadas com 1ml de HCl 6M. Em seguida, de 0.5 a 1ml de amostra, anteriormente solubilizadas em HCl 6M, é introduzida na coluna. Os elementos matrizes são eluídos com 2.5 ml de HCl 6M, enquanto o Fe é eluído com 2 ml de 0.05M HCl. As soluções

purificadas de Fe são então evaporadas e novamente dissolvidas em HCl 0.05M para posterior determinação isotópica.

Embora a cromatografia de troca aniônica possa causar o fracionamento do Fe durante sua eluição, Anbar et al. (2000) e Roe et al.(2003) reportaram que o fracionamento isotópico do Fe em cromatografia de troca aniônica é insignificante se for utilizado HCl com molaridade inferior a 1M. Neste trabalho o Fe foi eluído com HCl 0.05M suprimindo o fracionamento destes isótopos na coluna. A diferença relativa entre as concentrações de Fe medidas antes e depois da cromatografia foi <10%, abaixo das incertezas produzidas pelos métodos utilizados.

4.8 ISÓTOPOS DE FERRO

Os esforços para realizar as análises dos isótopos de Fe datam de, no máximo, trinta anos. A espectrometria de Massa de Ionização Térmica (TIMS - *Thermal Ionization Mass Spectrometry*) foi primeiramente aplicada a este problema nas décadas de 1980 e 90 por diversos grupos de pesquisadores. O TIMS é extremamente preciso em estudos de radioisótopos, entretanto, os isótopos estáveis são mais quelantes e necessitam a correção da discriminação de massa (*mass bias*), sem mascarar o fracionamento natural pré-existente. Em princípio, esse efeito pode ser caracterizado precisamente através da análise de padrões (*sample standard bracketing method*), gerando uma função de correção que pode ser aplicada para a análise de amostras nas condições operacionais idênticas. Contudo, na prática, o método TIMS apresenta uma reprodutibilidade de apenas 1-3‰, sendo insuficiente para detectar confiavelmente pequenos fracionamentos naturais de massas. As análises de Fe utilizando o TIMS também são dificultadas pela baixa eficiência de ionização. O fracionamento de massa produzido no filamento utilizado no TIMS é relativamente de pequena magnitude quando comparado com o *mass bias* produzido por fonte de ICP. Entretanto, é dependente do tempo e de difícil controle, sendo uma técnica de Double Spike necessária para alcançar uma precisão de 0.2-0.3‰.

A fonte de ICP é caracterizada por elevada eficiência de ionização para a maioria dos elementos, incluindo o Fe. O *mass bias* pode ser mantido constante em aproximadamente 0.1‰ em um curto período de tempo, possibilitando a determinação de pequenas diferenças isotópicas entre a amostra e o padrão através do *sample standard bracketing method*. A maior desvantagem desta técnica está relacionada a elementos com massa entre 20 e 80 que

sofrem interferência de massa de íons poliatômicos isobáricos, que podem limitar a precisão e acurácia na determinação de razões. Os principais interferentes poliatômicos do Fe formados no plasma do MC-ICP-MS são: $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}$ no ^{54}Fe , $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ no ^{56}Fe , $^{40}\text{Ar}^{18}\text{OH}^+$ no ^{57}Fe e $^{40}\text{Ar}^{18}\text{O}^+$ no ^{58}Fe . Outras interferências podem ser introduzidas pela matriz da amostra como $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{OH}^+$ ou $^{44}\text{Ca}^{12}\text{C}^+$, mas estes são eliminados através da cromatografia de troca aniônica (Weyer e Schwieters, 2003).

Os problemas mais significantes envolvendo a análise isotópica do Fe utilizando o MC-IPC-MS estão relacionados às interferências isobáricas nas massas 54, 56 e 57 com o $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ e $^{40}\text{Ar}^{16}\text{OH}^+$. Atualmente, existem diversas soluções para este problema, incluindo desolvedores, células de colisão e, mais recentemente, multi-coletores de alta resolução de massa (Dauphas e Rouxel, 2006).

Neste trabalho, as determinações das razões isotópicas do Fe foram realizadas utilizando um Thermo Finnigan Neptune MC-ICP-MS utilizando dois sistemas de introdução de amostras distintos. (*i.e.*, SIS – *Stable Introduction System* e ESI-APEX-Q). O SIS consiste em uma câmara de nebulização de quartzo ciclônica acoplada a um nebulizador PFA de fluxo baixo (~50 a 80 $\mu\text{l}/\text{min}$) que permite a obtenção de sinal estável e limpeza rápida (3 min). O sistema de introdução de amostras ESI-APEX-Q é composto por uma câmara de spray aquecida feita de quartzo e um condensador *Peltier-Cooled multipass* acoplado com um nebulizador PFA. Foi utilizado para aumentar a sensibilidade do equipamento e a estabilidade do sinal para permitir a análise de amostras com baixas concentrações de Fe.

A supressão das interferências isobáricas poliatômicas foram realizadas através do ajuste da resolução de massa. O Neptune MC-ICP-MS apresenta três resoluções de massa distintas reguladas através da abertura das fendas de entrada. Para a completa supressão das interferências a análise isotópica do Fe deve ser realizada utilizando fendas de 30 μm (média resolução) e 16 μm (alta resolução). Fendas estreitas resultam em elevada resolução de massa, porém baixo sinal, enquanto fendas mais largas resultam em menor resolução de massa, porém maior sinal. A escolha da resolução deve ser feita com base na concentração de Fe na amostra e na sensibilidade do aparelho no dia da análise.

Uma vez definida a largura das fendas dos coletores, as determinações isotópicas de Fe sem interferências podem ser realizadas através do ajuste correto dos *Faraday cups* e de parâmetros internos do Neptune. Para avaliar se as interferências foram totalmente

eliminadas, a resolução de massa do equipamento é calculada utilizando o gráfico obtido através da digitalização de massa (Figura 12) e a Equação 11, demonstrada abaixo:

$$\text{Resolução de Massa (5, 95\%)} = m / [\Delta m = m(5\%) - m(95\%)] \quad (\text{Eq. 11})$$

onde $m(5\%)$ a massa em 5% da altura do pico, $m(95\%)$ a massa em 95% da altura do pico e m é a massa do plato.

A Figura 13 ilustra como o platô do Fe é formado durante a digitalização de massa. O Fe tem uma massa menor comparada com as interferências+Fe e, dessa forma, entram primeiro no detector formando o platô da esquerda. O amplo platô do centro é formado pelas interferências poliatômicas adicionadas aos isótopos de Fe, enquanto o da direita corresponde às interferências. As razões dos isótopos de Fe são medidas sem interferências no platô da esquerda, ajustando o *central cup* do Neptune com a massa correspondente ao centro do platô da esquerda determinado no *scan* de massa.

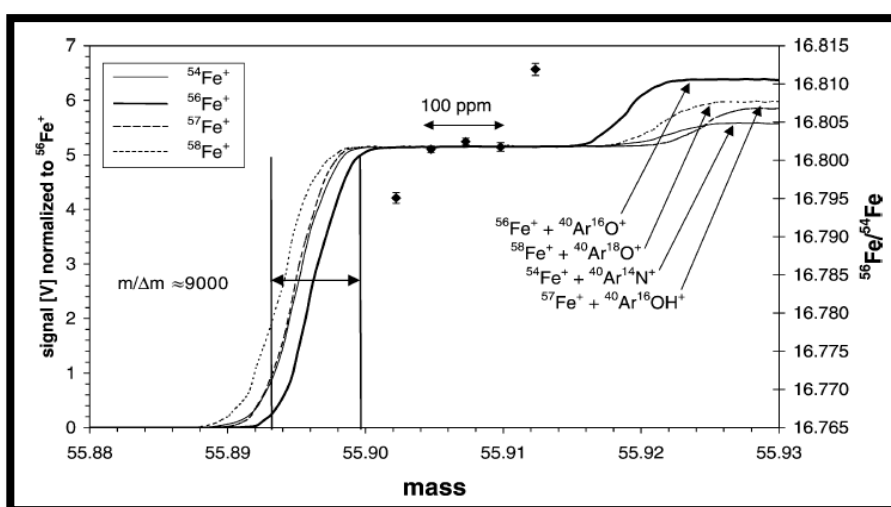


Figura 12 - Digitalização de massa (*mass scan*) realizada no Neptune com fendas de entrada em média resolução mostrando todos os isótopos de Fe e suas respectivas interferências. Todos os sinais de Fe estão normalizados em relação ao sinal de ^{56}Fe . A digitalização foi realizada em uma solução de 1ppm de Fe, utilizando SIS (*wet plasma*) e cones H (*padrões*) (Weyer e Schwieters, 2003).

Este método permite a determinação de isótopos de Fe, livre de interferências, com resolução de massa ($m/\Delta m$) maior que 7000 e com platôs variando de 150 -200 ppm, permitindo, pelo menos, uma região de 100 ppm para medidas de alta precisão. Os multicoletores e o *zoom optics* do Neptune permitem coletar, simultaneamente, as quatro massas de Fe com os *Farraday cups*. Na Tabela 2 encontra-se a configuração dos coletores,

onde a massa 53 foi utilizada para assegurar que Cr foi eliminado da solução através da cromatografia e para fazer correções, se necessário. As massas 60 e 61 foram utilizadas para correção do *mass bias* através do *Ni doping*.

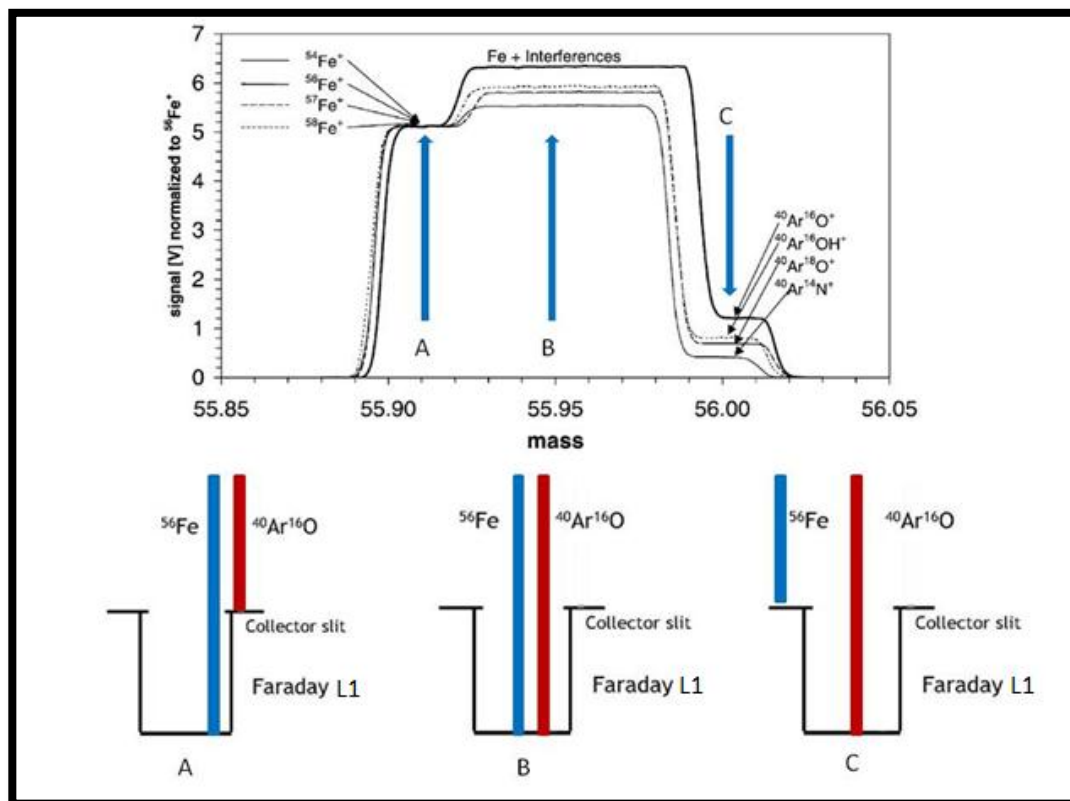


Figura 13 - Etapas da digitalização de massa (mass scan) realizada no Neptune. A – Somente os isótopos de Fe alcançam o detector formando o platô da esquerda, onde as razões isotópicas de Fe são determinadas; B – interferências e isótopos de Fe alcançam a detector formando um platô de maior sinal no centro; C – Somente interferência alcançam a detector formando o platô da direita de menor sinal (adaptado de Weyer & Schwieters, 2003)

Tabela 2 – Configuração dos Faradays Cups para determinação de Fe utilizado no Neptune do Laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília e no Laboratório Geoscience Environnement Toulouse do CNRS

Massa	53	54	56	57	60	61
Elemento medido		Fe (5.8%)	Fe (91.7%)	Fe (2.2%)		
Interferência	Cr (9.5%)	Cr (2.37%)				
Correção de mass bias					Ni (26.2%)	Ni (1.14%)
Faraday cup	L4	L2	L1	H1	H2	H4

As amostras foram ajustadas a uma determinada concentração que permita a obtenção de um sinal com no mínimo 600 mV para o ^{57}Fe e 300 mV para o ^{61}Ni . A sequência

de análises foi realizada utilizando um autosampler Cetac ASX-100 com medições de hematitas (padrão interno) a cada 6 amostras e medições de IRMM-14 entre cada amostra sob as mesmas condições analíticas, permitindo a correção do *mass bias* por *standard bracketing* ou *Ni doping*.

Os resultados isotópicos de Fe foram reportados utilizando a notação delta relativa ao IRMM-14, expressa em ‰ para as razões de $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ e $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ conforme descrito abaixo:

$$\delta^{56}\text{Fe} = \left(\frac{^{56}\text{Fe} / ^{54}\text{Fe}_{\text{sample}}}{^{56}\text{Fe} / ^{54}\text{Fe}_{\text{IRMM-14}}} - 1 \right) 10^3 \quad (\text{Eq. 12})$$

$$\delta^{57}\text{Fe} = \left(\frac{^{57}\text{Fe} / ^{54}\text{Fe}_{\text{sample}}}{^{57}\text{Fe} / ^{54}\text{Fe}_{\text{IRMM-14}}} - 1 \right) 10^3 \quad (\text{Eq. 13})$$

Utilizando com exemplo os resultados de uma sessão analítica obtidos neste projeto, a variação do fracionamento de massa instrumental durante as sessões analíticas foi avaliada através da Figura 14 onde estão reportadas as razões $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ e $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ obtidas nas análises do IRMM-14, hematita e demais amostras. A regressão linear obtida para estas razões apresentam inclinação de 0.665, semelhante ao valor esperado para inclinação teórica ($ts = 0.672$) que corresponde a razão das diferenças entre as massas $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ e $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ de acordo com a Equação 14 (Albarede et al., 2004).

$$ts = \frac{\ln(M^{56}\text{Fe}/M^{54}\text{Fe})}{\ln(M^{57}\text{Fe}/M^{54}\text{Fe})} \quad (\text{Eq. 14})$$

A Figura 15 compara o logaritmo natural das razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ com a $^{61}\text{Ni}/^{60}\text{Ni}$ obtidas nas análises das amostras IRMM-14, hematitas e demais amostras. As amostras naturais recaem em uma linha diferente quando comparado com IRMM-14, indicando que apresentam composição isotópica de Fe distintas, embora tenham sido acrescidas de Ni com mesma composição isotópica. Entretanto, as inclinações das retas observadas são diferentes dos valores preditos através da lei exponencial ($ts = 0.672$), indicando que o fator de mass bias instrumental ocorre de maneira dissimilar entre o Fe e Ni.

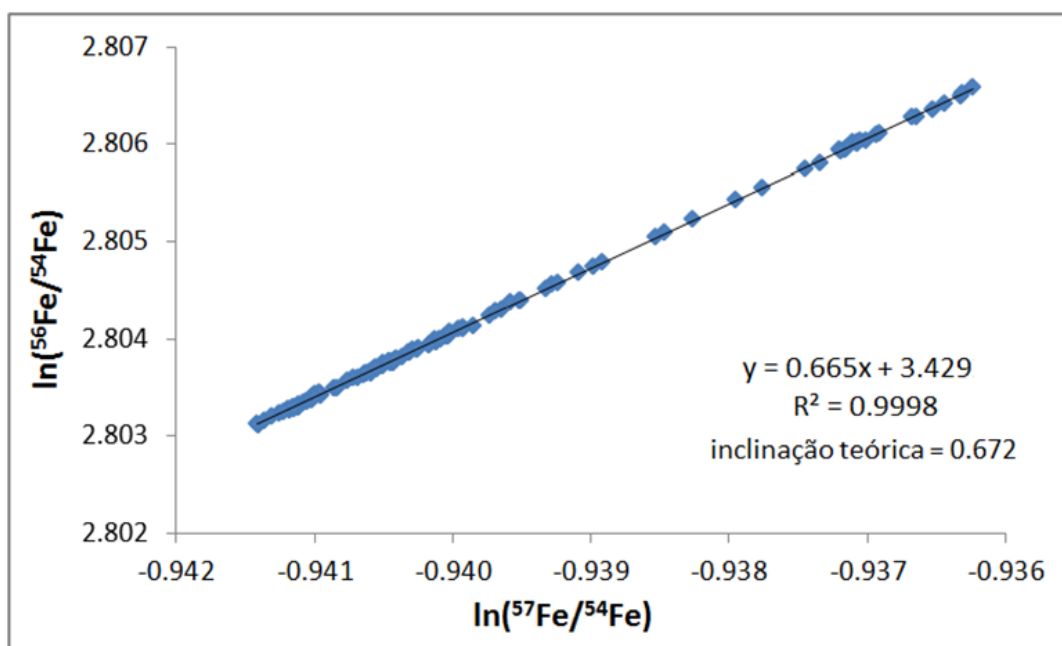


Figura 14- Logaritmo natural das razões isotópicas $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ vs $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ obtidas durante uma sessão analítica de ~18h das amostras de referência (IRMM-14) e demais amostras. A inclinação da reta de correlação obtida na correlação é similar a inclinação teórica de acordo com a lei do fracionamento de massa exponencial.

Marechal et al. (1999) demonstraram diversos métodos que podem ser utilizados para correção do *mass bias* instrumental. Alguns destes modelos foram avaliados posteriormente por Poitrasson e Freydier (2005) para correção do *mass bias* instrumental produzido durante a análise isotópica do Fe utilizando MC-ICP-MS com fendas dos coletores em alta resolução. As diferenças entre as médias obtidas para os métodos de correção avaliados foram inferiores a 0.03%. Entretanto, os diferentes métodos apresentaram reprodutibilidades distintas. Os autores concluíram que para melhorar a incerteza analítica necessária para resolver as variações naturais dos isótopos de Fe o método de correção utilizando as correlações entre Fe e Ni obtidas em sessão diárias de análise é o mais indicado.

Esse método foi utilizado neste projeto. Basicamente ele utiliza a regressão $\ln^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ vs. $\ln^{61}\text{Ni}/^{60}\text{Ni}$ de cada sessão analítica para eliminar o *mass bias* instrumental das razões isotópicas das análises. Para cada amostra com valores desconhecidos, os valores corrigidos de $\delta^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ em relação ao IRMM-14 foram calculados de acordo com a Equação 16.

$$\delta \frac{^{57}\text{Fe}}{^{54}\text{Fe}} = 10^3 \times \left(\frac{\exp \left(\left(\ln \left(\frac{^{57}\text{Fe}}{^{54}\text{Fe}} \right)_{\text{rIRMM-014}} + \ln \left(\frac{^{57}\text{Fe}}{^{54}\text{Fe}} \right)_s - ms \times \ln \left(\frac{^{61}\text{Ni}}{^{60}\text{Ni}} \right)_s \right) - \left(\ln \left(\frac{^{57}\text{Fe}}{^{54}\text{Fe}} \right)_{\text{mIRMM-014}} - ms \times \ln \left(\frac{^{61}\text{Ni}}{^{60}\text{Ni}} \right)_{\text{mIRMM-014}} \right)}{\left(\frac{^{57}\text{Fe}}{^{54}\text{Fe}} \right)_{\text{rIRMM-014}}} - 1 \right) \quad (\text{Eq. 16})$$

onde ms é a inclinação medida obtida em uma regressão de uma sessão no IRMM-14 em um gráfico $\ln^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ vs. $\ln^{61}\text{Ni}/^{60}\text{Ni}$; s e rIRMM-14 denotam, respectivamente, os valores medidos na amostra e recomendado para o IRMM-14 (Taylor et al., 1992); mIRMM-14 representa a razão isotópica média para os quatro soluções IRMM-14 analisados antes e depois da amostra de interesse.

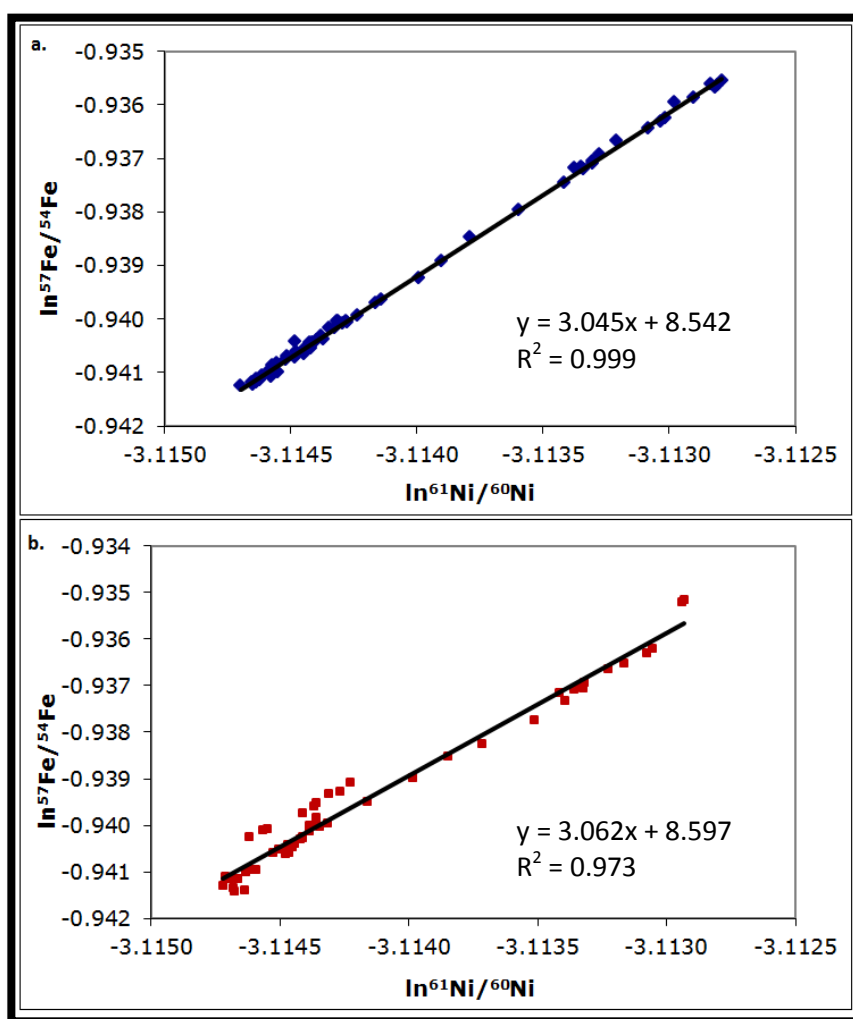


Figura 15 - Logaritmo natural das razões isotópicas $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ vs $^{61}\text{Ni}/^{60}\text{Ni}$ obtidas durante uma sessão analítica de ~18h das amostras de referência (IRMM-14) (a) e demais amostras (b.).

Considerando que as análises pertencem a mesma população, o limite de confiança atribuído a uma média de um limitado número de replicatas pode ser estimado utilizando o erro padrão (SD, *standard error*). Neste projeto, cada amostra foi analisada de três a seis vezes e, de acordo com Platzner (1997), para um número de replicatas inferior a quinze, o erro padrão (SE) deverá ser corrigido utilizando o fator *Student t*, conforme a Equação 17, demonstrada abaixo:

$$SE = t \times \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (\text{Eq. 17})$$

A avaliação da acurácia e da reprodutibilidade externa das análises executadas neste projeto foi realizada através de repetidas análises da amostra de referência secundária “hematita Milhas, Pyrénées”, também denominada em estudos anteriores de ETH hematite. Diversos trabalhos reportaram a composição isotópica desta amostra de referência secundária utilizando diferentes espectrômetros de massa. Poitrasson e Freyrier (2005) reportaram valores $\delta^{57}\text{Fe}$ de $0.744 \pm 0.040\text{‰}$ (2SD, N=55;) utilizando Neptune MC-ICP-MS. Teutsch et al. (2005) analisou esta amostra 148 vezes utilizando um Nu Plasma MC-ICP-MS e obteve valores $0.83 \pm 0.14\text{‰}$ (2SD, N= 148). Com resultados similares Dideriksen et al. (2006) reportaram valores $\delta^{57}\text{Fe}$ de $0.87 \pm 0.08\text{‰}$ (2SD, n=8) utilizando um VG Axiom MC-ICP-MS.

Neste projeto, esta amostra foi analisada em todas as sessões analíticas intercaladas entre seis amostras de composições isotópicas desconhecidas. No total, a amostra de referência secundária “hematita Milhas Pyrénées” foi analisada 132 vezes nos Laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília e no Geoscience Environnement Toulouse, utilizando em ambos os laboratórios um ThermoFinnigan Neptune MC-ICP-MS entre o anos 2009 e 2010. No presente trabalho esta amostra de referência secundária obteve valores $\delta^{57}\text{Fe}$ de 0.78 ± 0.07 , condizente com estudos anteriores citados.

4.9 REFERÊNCIAS

- Albarede F., Telouk P., Blichert-Toft J., Boyet M., Agraniér A., Nelson B. (2004). Precise and accurate isotopic measurements using multiple-collector ICPMS. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 68(12):2725-2744.
- Allard T., Enguy N. M., Alomon J. S., Alligaro T. C., Eber T. W., Alas G. C., Enedetti M. F. B. (2004). Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil). *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 68(14):3079 –3094.

- Allard T., Weber T., Bellot C., Damblans C., Bardy M., Bueno G., Nascimento N. R. (2011). Tracing source and evolution of suspended particles in the Rio Negro Basin (Brazil) using chemical species of iron. *Chemical Geology*. 280(1-2):79–88.
- Anbar, A.D., Roe, J.E., Neelson, K.H. (2000). Nonbiological fractionation of iron isotopes. *Science* 288 (5463):126-128.
- Aucour A., Tao F., Moreira-turcq P., Seyler P. (2003). The Amazon River : behaviour of metals (Fe , Al , Mn) and dissolved organic matter in the initial mixing at the Rio Negro / Solimões confluence. *Chemical Geology*. 197:271-285.
- Benedetti M.F., Mounier S., Filizola N., Benaim J., Seyler P. (2003). Carbon and metal concentrations, size distributions and fluxes in major rivers of the Amazon basin. *Hydrological Processes*. 17(7):1363-1377.
- Calas G. (1988) Electron paramagnetic resonance. In *Spectroscopic Methods in Mineralogy and Geology*, ed. F. C. Hawthorne, Vol. 18, pp. 513±571. Mineralogical Society of America, Washington, DC.
- Dauphas N; Rouxel O. (2006). Mass spectrometry and natural variations of iron isotopes. *Mass spectrometry reviews*. 25(4):515-50.
- Dideriksen K., Baker J. A., Stipp S. L. S. (2008) Equilibrium Fe isotope fractionation between inorganic aqueous Fe(III) and the siderophore complex, Fe(III)- desferrioxamine B. *Earth Planet. Sci. Lett.* 269:280- 290.
- Filizola N., Guyot J. L. (2004) The use of Doppler technology for suspended sediment discharge determination in the River Amazon/L'utilisation des techniques Doppler pour la détermination du transport solide de l'Amazone. *Hydrolog. Sci. J.* 49(1):143-153.
- Luther G. W., Shellenbarger P., Brendel P. J. (1996). Dissolved organic Fe (III) and Fe (II) complexes in salt marsh porewaters. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 60(6):951-960.
- Maréchal C. N., Télouk P., Albarède F. (1999). Precise analysis of copper and zinc isotopic compositions by plasma-source mass spectrometry. *Chemical Geology*. 156(1):251-273.
- Murray JW, Gill G. (1978). The geochemistry of iron in Puget sound. *Geochim. Cosmochim Acta*. 42:9-19
- Platzner I.T. *Modern isotope ratio mass spectrometry*. John Wiley & sons: Chichester, 1997
- Poitrasson F., Halliday A.N., Lee D.C., Levasseur S., Teutsch N. (2004). Iron isotope differences between Earth, Moon, Mars and Vesta as possible records of contrasted accretion mechanisms. *Earth Planet. Sci. Lett.* 223:253–66
- Poitrasson F.; Freydier R. (2005). Heavy iron isotope composition of granites determined by high resolution MC-ICP-MS. *Chemical Geology*. 222(1-2):132-147.
- Roe J., Anbar A.D., Barling J. (2003). Nonbiological fractionation of Fe isotopes: evidence of an equilibrium isotope effect. *Chem. Geol.* 195 (1-4):69-85.
- Seyler P., Boaventura G. R. (2003) Distribution and partition of trace metals in the Amazon basin. *Hydrological Processes* 17(7):1345–1361.
- Stookey L. L. (1970). Ferrozine - A new spectrophotometric reagent for iron. *Analytical Chemistry*. 42(7):779–781.
- Strelow F.E.W. (1980). Improved separation of iron from copper and other elements by anion-exchange chromatography on a 4% cross-linked resin with high concentrations of hydrochloric acid. *Talanta*. 27:727–732.
- Taylor P.D.P., Maeck R, De Bièvre P. (1992). Determination of the absolute isotopic composition and atomic weight of a reference sample of natural iron. *Int J Mass Spectrom Ion Processes*. 121:111–125.
- Teutsch N., von Gunten U., Porcelli D., Cirpka O.A.; Halliday A.N. (2005). Adsorption as a cause for iron isotope fractionation in reduced groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 69:4175–85
- Viollier E. (2000). The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters. *Applied Geochemistry*. 15(6), 785–790.
- Weyer S. (2003). High precision Fe isotope measurements with high mass resolution MC-ICPMS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 226(3):355–368.

5 IRON ISOTOPIC FRACTIONATION THROUGH ADSORPTION ON CYANOBACTERIA CELLS

Daniel S. Mulholland^{1,2}, Franck Poitrasson^{1,2}, Liudmila S. Shirokova^{2,3}, Aridane González⁴,
Oleg S. Pokrovsky², Geraldo R. Boaventura¹, Lucieth Cruz Vieira¹

1 - Instituto de Geociências, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília (UnB), CEP 70910-900, Brasília, DF – Brazil.

2 – Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse, Institut de Recherches pour le Développement – Centre National de la Recherche Scientifique – Université de Toulouse, 14-16, avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France.

3 – Laboratory of Aquatic Ecosystems, Institute of Ecological Problems of the North, Russian Academy of Science Ural Branch Russian Academy of Science, Arkhangelsk, Russia

4 – Departamento de Química, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Campus de Tafira, 35017 Las Palmas, Spain

Abstract

The present study aimed to test the hypothesis that, similarly to other metals, Fe adsorption on bacterial phytoplankton cells likely cause significant isotopic fractionation with preferential adsorption of relative heavier isotopes in the solid phase. We investigated the isotopic effect during the interaction of aqueous Fe with bacterial phytoplanktonic biomass (*Gloeocapsa sp.*, *Synechococcus sp.*, and *Planthothrix sp.*) conducted in six independent experiments using two distinct Fe valence states (Fe^{2+} and Fe^{3+}). Isotopic analyses established that the aqueous Fe adsorption on planktonic cells yields a clear enrichment of heavy isotopes on the cell surfaces, resulting in final solutions with isotopically light $\delta^{57}\text{Fe}$ values. The adsorption experiments with Fe^{2+} as initial solution yielded $\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell-solution}}$ ranging from $2.38 \pm 0.64\text{‰}$ to $2.91 \pm 0.12\text{‰}$, whereas the adsorption experiments with Fe^{3+} as initial solution led $\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{(cell-solution)}}$ ranging from 0.92 ± 0.07 to $1.03 \pm 0.20\text{‰}$. Although these data fit on the equilibrium isotopic fractionation model, these experiments do not provide a time series measurements to clearly state a equilibrium isotopic fractionation and, therefore, the mechanism observed herein is attributed to a steady state isotopic fractionation, linked with the short-termed reversible Fe adsorption on cells. The preferential enrichment of heavy Fe isotopes on the cell surfaces is attributed to the stronger covalent metal-ligand bonding (Fe-O-C) of Fe octahedrally coordinated with phosphoryl or carboxyl groups on the cell walls when compared with the Fe aquacomplexes (O-Fe-O) in solution. These findings suggest that Fe adsorption on microorganism cell surfaces can have profound implication on Fe isotopic fractionation in solute-rich river waters and might have been instrumental in Fe isotopic fractionation in sedimentary deposition environments undergoing active diagenesis in the course of the Earth's evolution.

5.1 INTRODUCTION

Iron is the fourth most abundant element in the earth crust and is essential for almost all living organisms, since it is involved in many metabolic processes (Cornell and Schwert, 1996; Thamdrup, 2000; Lovley, 1997; Nealson and Saffarini, 1997). The redox properties of

Fe make it ideally suited to catalyze electron transfer reactions and in the course of evolution it has been exploited by microorganisms for photosynthesis, respiratory functions, and reduction of inorganic nitrogen species and nitrogen gas. (Ehrenreich and Widel, 1994; Awramik et al., 1983; Konhauser et al., 2002; Morel et al., 2008). In many aquatic systems, Fe is considered a limiting nutrient for primary productivity (Nightingale et al., 1996; Martin et al., 1994) due to its low solubility in circumneutral pH waters. Therefore Fe also plays a significant role in the Earth's carbon cycle, since the phytoplanktonic communities are responsible for up to half of the world's fixation of carbon dioxide (Field et al., 1998).

The phytoplanktonic bacteria, historically termed blue-green algae or cyanobacteria, are photosynthetic prokaryotes comprising numerous morphological groups of single-cell and filament species (Stanier and Baziner, 1977; Ripka et al., 1979), which have played a significant role in carbon, nitrogen, and metals redox cycles over the Earth's history (Martin et al., 1994, Berman-Frank et al., 2003; Knoll, 2008). They are primary producers, N-fixers, and the only organism ever to involve coupled photosystems that harvest electrons from water and produce oxygen as a consequence (Nelson and Ben-Shem, 2004). In recent surface environments cyanobacteria are encountered in a high diversity of pools, such as saline and freshwaters, soils, and thermal springs. Their strong affinity for scavenging aqueous metal species through intracellular assimilation or adsorption on cell walls makes them an important reservoir of metals in aquatic environments (Morel et al., 1991; Konhauser et al., 1993; Yee et al., 2004). The binding affinity of metals on cyanobacteria cell walls and exopolymer sheaths comes from proton-active surface functional groups (e.g., carboxyl, hydroxyl, sulfudryl, phosphoryl and amine functional groups) that undergo deprotonation and bind metal ions to form stable ligand-metal surface complexes (Daughney et al. 1998; Fein et al. 1997; Yee et al, 2004). This process is considered one important step in metal uptake by biota and it is crucial for understanding the influence of aquatic organisms on the fate and transport of metals in natural systems (Hudson and Morel, 1990; Gelabert et al, 2006).

In recent years, experimental studies have shown that stable isotope systems can provide precise information on metals biogeochemical processes, and proved to be good proxies of Fe sources and cycling in natural environments. Iron has four stable isotopes (^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe , and ^{58}Fe), known to fractionate during abiotic and bacterially mediated processes in low temperature environments (e.g., Bullen et al. 2001; Anbar, 2004; Beard et al. 2010). Many studies were performed to investigate the isotopic effects during Fe interactions in aqueous

and solids interfaces. Laboratory experiments reported that heavy Fe is preferentially adsorbed onto solid surfaces, during equilibrium isotope fractionation processes (Crosby et al., 2005; Teutsch et al., 2005; Dideriksen et al., 2008). Some studies also documented the isotopic fractionation of other metals with either the enrichment of Zn and Cu heavy isotopes in organic and inorganic solid interfaces (Gélabert et al., 2006; Pokrovsky et al., 2008) or, conversely, the accumulation of light Mo isotopes on the Mn oxides surfaces (Barling and Anbar, 2004).

The present study investigated the isotopic effect during the interaction of aqueous Fe with bacterial phytoplanktonic biomass (*Gloeocapsa sp.*, *Synechococcus sp.*, and *Planthothrix sp.*) conducted in six independent experiments using two distinct Fe valence states (Fe^{2+} and Fe^{3+}). We aimed to test the hypothesis that, similarly to other metals, Fe adsorption on bacterial phytoplankton is suitable to cause significant isotopic fractionation with preferential adsorption of relative heavier isotopes in the solid phase, *i.e.* the biomass.

5.2 MATERIAL AND METHODS

5.2.1 Adsorption experiments

The adsorption experiments were performed using three species of phytoplankton (*Gloeocapsa sp.*, *Synechococcus sp.*, and *Planthothrix sp.*) cultivated under two different experimental conditions. The typical culture conditions, carried out at GET (*Géoscience Environnement Toulouse*), were the following: light intensity of $30 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperature of 23-25°C, and stationary growth phase achieved after 1-2 weeks. Divalent iron was added to cultures thoroughly rinsed and maintained in 0.1 M NaNO_3 at neutral pH under continuous nitrogen bubbling and stirring. Trivalent iron was added to the cultures maintained at pH 3. The interaction time varied between 30min and 3hrs.

5.2.2 Iron isotopic measurements

For all experiments performed in the present study, the initial salts, used to prepare the initial solutions, and the final filtered solutions and biomasses were processed and analyzed. The filtered solutions were previously evaporated at 80° C prior to their digestion. The initial salts were digested and dissolved through a double-step addition of 2 ml of bidistilled 6M HCl with overnight reaction on a hotplate at 80°C. The biomasses, the evaporated experimental solutions and, the experimental analytical blanks were processed using a multi-step acid

procedure with Merck Suprapur H₂O₂ (30%), bidistilled 6M HCl, conc. HF, conc. HNO₃, and de-ionized water (MiliQ, 18 mΩ). Subsequently, the digested samples were centrifuged to avoid any undesirable solid residue. Iron purification was processed through anionic exchange chromatography in HCl medium using 0.5 ml of Bio Rad AG1 X4 resin, 200–400 mesh (Strelow, 1980) to remove all matrix elements. Iron was purified using thermoretractable Teflon columns with internal diameter of 4 mm, as described by Poitrasson et al. (2004). The resins were conditioned using 6M HCl prior to the sample loading in 0.5 ml of 6M HCl. The matrix species were eluted in 3 ml of the same acid and, subsequently, Fe was eluted with 2 ml of 0.05M HCl. The purified Fe solution was evaporated at 80° C and re-diluted in 1 to 5 ml of 0.05M HCl before samples analyses.

Iron isotope measurements were performed using a Thermo Electron Neptune MC-ICPMS (Multi-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) as described by Poitrasson and Freydier (2005), which allow mass correction by Ni-doping and sample-standard-bracketing. Depending on amountable Fe and the MC-ICPMS sensitivity, the samples were analyzed using medium or high resolution collector slits and with two different inlet systems. The SIS (Stable Introduction System) consists of a tandem quartz glass spray chamber (cyclone + standard Scott double pass) coupled with a low flow PFA nebulizer. The ESI-APEX-Q inlet system involves a heated cyclonic spray chamber and a Peltier-Cooled multipass condenser coupled with a PFA nebulizer. It was used to increase machine sensitivity, high signal stability and, thereby, the measurement of samples with low Fe concentrations. The iron isotope results are reported using the delta notation relative to the IRMM-14 iron isotopic reference material, expressed in ‰ (per thousand) for ⁵⁶Fe/⁵⁴Fe and ⁵⁷Fe /⁵⁴Fe ratios as: $\delta^{56}\text{Fe} = \left(\frac{{}^{56}\text{Fe}/{}^{54}\text{Fe}_{\text{sample}}}{{}^{56}\text{Fe}/{}^{54}\text{Fe}_{\text{IRMM14}}} - 1 \right) 10^3$ and $\delta^{57}\text{Fe} = \left(\frac{{}^{57}\text{Fe}/{}^{54}\text{Fe}_{\text{sample}}}{{}^{57}\text{Fe}/{}^{54}\text{Fe}_{\text{IRMM14}}} - 1 \right) 10^3$, respectively. The validation of the analyses was performed comparing measurements of the in-house hematite standard Milhas, Pyrénées (reported in other studies as ETH – Eidgenössische Technische Hochschule Zurich standard). The $\delta^{57}\text{Fe}$ value obtained at the present study was $0.782 \pm 0.081\text{‰}$ (n= 27, 2SD), consistent with previous studies (Teutsch et al., 2005; Poitrasson and Freydier, 2005; Dideriksen et al., 2008; Fehr et al., 2008).

5.3 RESULTS

5.3.1 Stable isotopic fractionation

Isotopic analyses of digested cells and solutions from six independent series of cyanobacteria culturing experiments in the presence of Fe in different valence states established that the interaction of aqueous Fe with bacterial planktonic biomass is suitable to

produce significant isotopic shifts between the two pools, when compared with experimental uncertainties, c.a. $\pm 0.1\text{‰}$ (Table 3 and Figure 16). A clear enrichment of heavy isotopes ($\delta^{57}\text{Fe}$ ranging from 0.26 to 1.43 ‰) was observed at the cell surfaces, with final solutions yielding isotopically light $\delta^{57}\text{Fe}$ values ranging from -1.60 to -0.56 ‰ (Figure 16). The amount of adsorbed Fe, calculated by the difference between the Fe concentration in the initial and final solutions ranged from 52 to 92% (i.e., 0.52 to 0.92 expressed as $f(\text{Fe})_{\text{ad}}$). The initial solutions yielded $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $0.27\pm 0.09\text{‰}$ for $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, $0.188\pm 0.03\text{‰}$ for $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, and $0.001\pm 0.098\text{‰}$ for FeCl_2 .

Mass-balance was calculated using the isotopic composition of the solid phase ($\delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell}}$), the isotopic composition of the final aqueous phase ($\delta^{57}\text{Fe}_{\text{final}}$), the amount of metal adsorbed (A%), and the isotopic composition of the initial solution ($\delta^{57}\text{Fe}_{\text{initial}}$). The mass balance equation used was: $\delta^{57}\text{Fe}_{\text{initial}} = \delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell}} \times A + (100 - A) \times \delta^{57}\text{Fe}_{\text{final}}$, applying the values reported in Table 3. The computed $\delta^{57}\text{Fe}_{\text{initial}}$ values agree within uncertainties with the measured Fe isotope value of the starting solutions from each independent series of cyanobacteria culturing experiments in the presence of Fe^{2+} and Fe^{3+} .

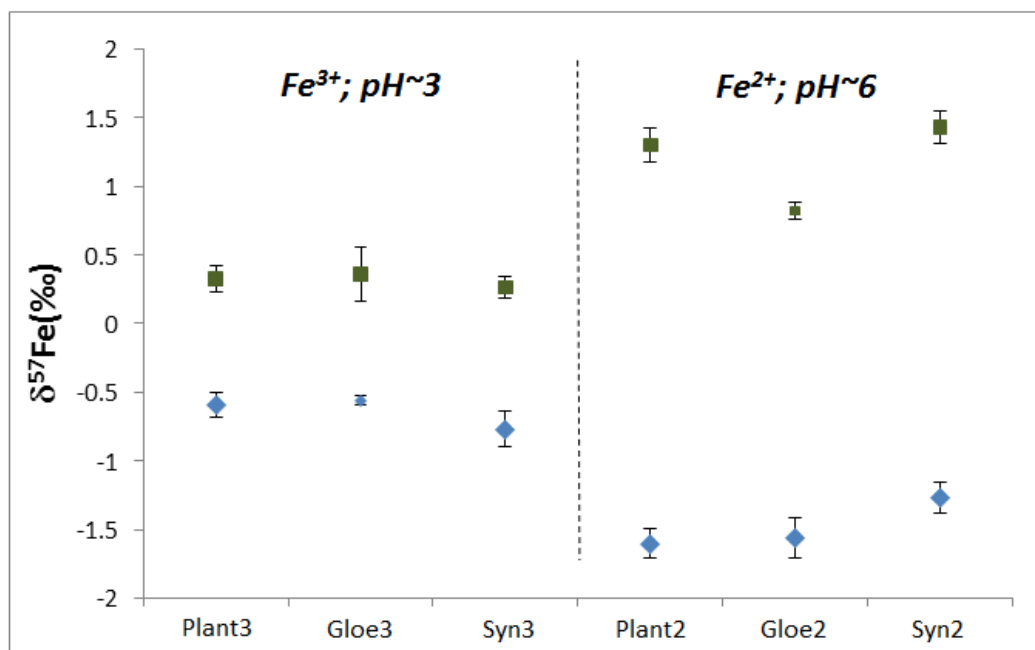


Figure 16 – Fe isotopic composition for solid (squares) and final solution (diamonds) pools obtained from independent experiments using two distinct aqueous Fe valence states and three different species of phytoplanktonic bacteria. Data from Table 1.

Table 3 – Iron isotope composition of the final cell and solution from independent experiments of three phytoplanktonic bacteria

Sample	$\delta^{57}\text{Fe}$	2SE ^a	$\delta^{56}\text{Fe}$	2SE ^a	<i>n</i>	[Fe] initial (mg/L)	[Fe]final (mg/L)	Fe adsorbed (%)	$\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell-solution}}$ (‰)
<i>Planthothrix sp.</i> , initial salt: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, pH~3									
Plant3 _{solution}	-0.59	0.198	-0.063	0.07	3	3.27	0.25	92.4	0.92
Plant3 _{cell}	0.33	0.130	0.222	0.07	3				
<i>Planthothrix sp.</i> , initial salt: $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, pH~6									
Plant2 _{solution}	-1.60	0.057	-1.089	0.043	6	11	4.53	58.8	2.91
Plant2 _{cell}	1.30	0.109	0.882	0.080	3				
<i>Gloeocapsa sp.</i> , initial salt: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, pH~3									
Gloe3 _{solution}	-0.56	0.084	-0.375	0.055	3	3.3	0.53	83.9	0.96
Gloe3 _{cell}	0.36	0.107	0.215	0.055	6				
<i>Gloeocapsa sp.</i> , initial salt: FeCl_2 , pH~6									
Gloe2 _{solution}	-1.56	0.114	-1.09	0.059	6	1.95	0.71	63.6	2.38
Gloe2 _{cell}	0.82	0.133	0.545	0.068	6				
<i>Synechococcus sp.</i> , initial salt: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, pH~3									
Syn3 _{solution}	-0.77	0.121	-0.537	0.08	6	3.3	0.3	90.9	1.03
Syn3 _{cell}	0.264	0.144	0.182	0.052	3				
<i>Synechococcus sp.</i> , initial salt: $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, pH~6									
Syn2 _{solution}	-1.27	0.059	-0.886	0.048	3	11	5.26	52.2	2.70
Syn2 _{cell}	1.43	0.087	0.951	0.057	3				
<i>Initial salts and stock solutions</i>									
Fe(NO₃)₃	0.270	0.086	0.178	0.052	6				
FeCl₂	0.001	0.098	-0.024	0.041	6				
Fe(NH₄SO₄)₂	0.188	0.034	0.004	0.009	3				

a – Two standard error uncertainties (SE) calculated based on the number of analyses using the Student t-correcting factor (Platzner, 1997)

b – $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the initial solution calculated by the mass balance between cell and solution Fe concentrations and isotopic composition

5.3.2 Steady state isotopic fractionation

The fractionation factors ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell-solution}}$), calculated as the difference between $\delta^{57}\text{Fe}$ of the final biomass and $\delta^{57}\text{Fe}$ of final solutions are shown in Table 3. The adsorption experiments with Fe^{2+} , final pH~6 and 30min of Fe-biomass contact yielded $\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{cell-solution}}$ of $2.38\pm 0.64\text{‰}$, $2.91\pm 0.12\text{‰}$ and $2.70\pm 0.08\text{‰}$ for *Gloeocapsa* sp., *Planthothrix* sp., and *Synechococcus* sp., respectively. The adsorption experiments with Fe^{3+} , final pH~3 and 3hrs of Fe-biomass contact yielded $\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{(cell-solution)}}$ equal to $0.96\pm 0.17\text{‰}$, 0.92 ± 0.07 and $1.03\pm 0.20\text{‰}$, for *Gloeocapsa* sp., *Planthothrix* sp and *Synechococcus* sp., respectively.

To test if the $\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{(cell-solution)}}$ calculated for the six independent experiments of Fe^{2+} and Fe^{3+} solutions fits a close-system equilibrium (where the reaction components remain open to isotopic exchange throughout the duration of the reaction) or Rayleigh isotopic fractionation (where the reaction product is isolated from further isotopic exchange with the system after formation) the data obtained herein were compared to the trends that would be expected for both models, as previously demonstrated by Criss (1999) and Allegre (2008). As shown in Figure 17, the interaction between Fe in different valence states fits an equilibrium isotopic fractionation model with $\alpha = 1.0027$ for initial solutions containing Fe^{2+} and $\alpha = 1.0010$ for solutions containing Fe^{3+} . However, these experiments did not provide a time series measurements to clearly state a equilibrium isotopic fractionation and, therefore, the mechanism observed herein will be defined as a steady state isotopic fractionation, linked with the short-termed reversible Fe adsorption on cells, as reported for others studies involving transition metals fractionation through their adsorption on phytoplanktonic bacterial cells (Gélabert et al., 2006; Pokrovsky et al., 2008).

5.4 DISCUSSION

5.4.1 Factors controlling the isotopic fractionation

The results noticeably show that measurable and strong short-termed reversible fractionations of the stable Fe isotopes occur between Fe^{2+} or Fe^{3+} species and the phytoplanktonic bacteria cell surfaces through different mechanisms. Upon adsorption on these bacteria in neutral solution, Fe^{2+} undergoes oxidation to Fe^{3+} and remains in the form of isolated octahedral Fe-O_6 linked to surface carboxylate or phosphoryl groups, as

demonstrated by recent EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structures) studies (Gonzalez et al., 2009, 2010). In the presence of surface organic ligands, the oxidation of divalent Fe occurs. However, the polymerization of Fe^{3+} oxyhydroxides is completely inhibited and adsorbed Fe is present in the form of individual Fe atoms attached to organic moieties. Ehrenreich and Widdel (1994) proposed that oxidation of Fe^{2+} at the cell surface occurs through a phototrophic reaction within the cytoplasmic membrane via a periplasmic transport system. However, the mechanism studied herein is likely associated with the direct interaction of Fe with surface organic ligands, without gain of energy by the microorganisms (Emerson, 2000). Under acidic conditions, adsorbed Fe^{3+} is also present in the form of individual octahedral Fe-O_6 linked to the phosphoryl or carboxyl groups of the cell wall (Gonzalez et al., 2010). Although the experimental conditions were conducted with different pH values and Fe redox states, no difference on the structural chemistry of adsorbed Fe was observed in the cell surface.

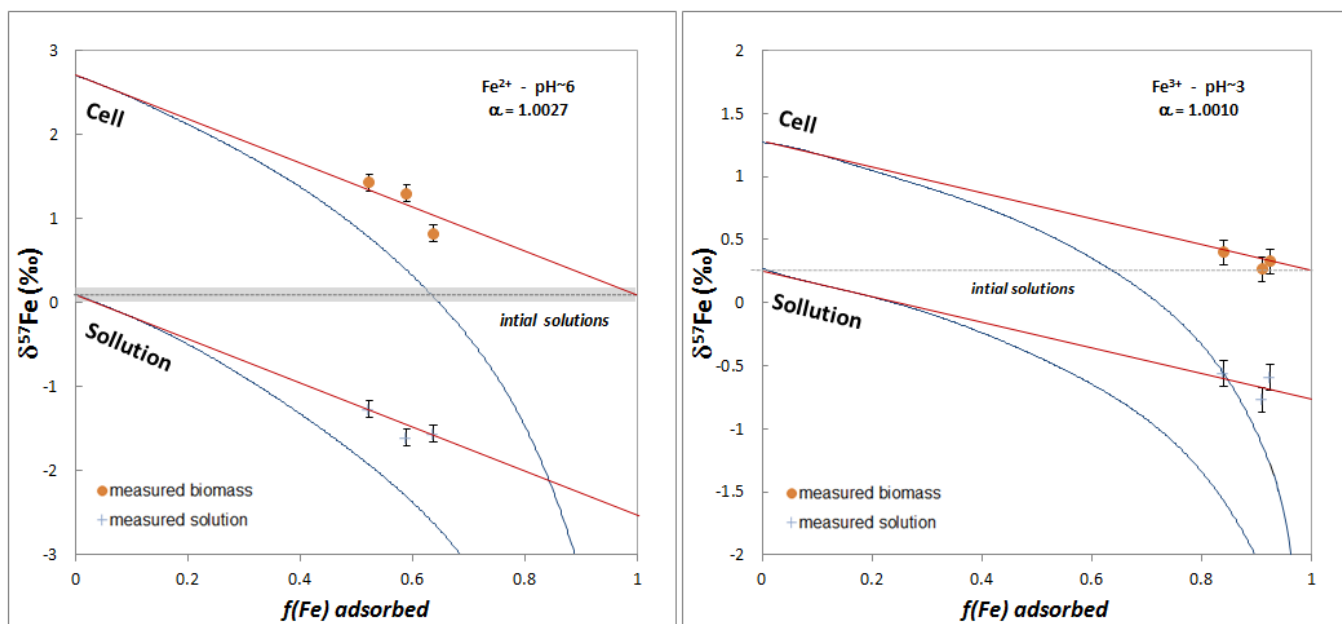


Figure 17 - Measured $\delta^{57}\text{Fe}$ values versus the fraction of Fe adsorbed onto bacterial phytoplanktonic cell surface. Comparison of data with trends predicted for closed system equilibrium (straight red lines) and Rayleigh fractionation (curved blue lines) models calculated using the experimentally determined $\alpha_{\text{cell-sol}}$. Data from Table 1.

The results obtained from the different experimental conditions showed greater isotopic fractionation factors for experiments with initial solution containing Fe^{2+} compared with those containing Fe^{3+} . These findings imply that the higher fractionation factors from Fe^{2+} initial solution are likely caused by combined Fe adsorption and subsequent oxidation mechanisms on the cell surface. A study conducted by Croal et al. (2004) investigated isotopic fractionation

in the oxidation process of Fe^{2+} caused by photoautotrophic bacteria in anaerobic conditions, with the precipitated ferrihydrite enriched approximately 2.3‰ higher compared with the initial Fe^{2+} . Welch et al. (2003) demonstrated that under equilibrium conditions, $\text{Fe}^{3+}_{\text{aq}}$ is enriched in heavy isotopes compared with $\text{Fe}^{2+}_{\text{aq}}$ with a fractionation factor ($\Delta^{57}\text{Fe}_{\text{Fe(II)aq-Fe(III)aq}}$) of approximately 4.3‰. These findings suggest that Fe adsorption and oxidation on the phytoplanktonic bacteria is responsible for the different $\Delta^{57}\text{Fe}_{(\text{cell-solution})}$ values obtained for the experiments. The Fe isotope fractionation due to isotopic exchange between ferrous and ferric species also gives large Fe isotope fractionation shifts (Polyakov and Mineev, 2000; Schauble et al., 2001, Johnson et al., 2002; Welch et al., 2003).

At present, the mechanisms of stable isotope fractionation between solid and aqueous pools remain poorly known. Considering the results of quantum mechanical calculations, the heavier isotope should concentrate in the species in which it is most stiffly bound (Criss, 1999). During reversible isotopic fractionation between aqueous Fe and the Fe complexed with organic ligands on the bacteria cell surface, bonds involving the lighter ^{54}Fe isotopes are more easily broken compared with those heavy ^{57}Fe isotopes. Schauble et al. (2001) established that measurable fractionation is predicted to occur between coexisting species in equilibrium, with magnitude and direction of fractionation being determined primarily by ligand binding strength, the oxidation state of Fe, and the coordination number of Fe. Gélabert et al. (2006) argued that the enrichment of heavy Zn isotopes on cell surfaces are linked with shorter Zn-O bonds tetrahedrally coordinated with carboxylate or silanol complexes compared with octahedral metal coordination in solution.

In the present study, the aqueous Fe displays octahedral coordination as $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ in Fe^{3+} -containing solution and $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ in Fe^{2+} -containing solution. Such coordination chemistry is similar to the found in Fe adsorbed on the cell surface (i.e., Fe-O_6 bond with carboxylic and phosphoryl groups). Thus, one can not assume that the enrichment of cell surfaces with heavier isotopes is preferentially linked with the decrease of the coordination number of the adsorbed Fe. Hence, the adsorption of isotopically heavy Fe on cell surfaces is likely caused by the larger values of d-orbital splitting (Δ_0) of metal-ligand bonds (Fe-O-C) present on the cell surface compared with the aqueous Fe. Schauble et al (2001) displayed that Fe isotopic fractionation increases toward large Δ_0 values, which indicates stronger covalent metal-ligand bonding and shorter metal-ligand distances.

5.4.2 Comparison with other systems

The reversible isotopic fractionation shown in the present study is in agreement with Fe interaction with other solid interfaces (Dideriksen et al., 2008; Barling & Anbar, 2004) and confirms that the fractionation observed herein is mainly associated with Fe reversible adsorption in a closed-system. Usually, metals (e.g., Cu and Zn) uptake by microorganisms is mainly linked with irreversible kinetic isotopic effects (Gélabert et al., 2006; Pokrovsky et al., 2008).

The fractionation factors obtained herein are greater than those found in other studies involving other transition metal adsorption on oxyhydroxides and cell surfaces. Short-term Zn sorption on freshwater cells and diatoms frustules displayed $\Delta^{66}\text{Zn}_{\text{Zn(II)}_{\text{ad-Zn(aq)}}$ ranging from $0.43 \pm 0.1\text{‰}$ to $0.27 \pm 0.1\text{‰}$, whereas its adsorption on oxyhydroxides had $\Delta^{66}\text{Zn}_{\text{Zn(II)}_{\text{ad-Zn(aq)}}$ ranging from $0.2 \pm 0.03\text{‰}$ to $-0.61 \pm 0.1\text{‰}$. By the same token, Pokrovsky et al. (2008) showed that Cu adsorption onto bacteria cell surface is capable of inducing significant Cu isotopic fractionation only in acidic conditions ($1.8 < \text{pH} < 3.3$), with a isotopic shift ($\Delta^{65}\text{Cu}_{\text{solid-solution}}$) ranging from 0.6 to $1.8 \pm 0.05\text{‰}$.

5.4.3 Implications

It has been largely established that cell-surface carboxyl and phosphoryl groups interact passively with available aqueous Fe through metal sorption (Beveridge and Murray, 1980; Ferris and Beveridge, 1985) and work as nucleation sites for the formation and growth of mineral phases with subsequent encrustation and precipitation of Fe hydroxides (Konhauser, 2002). Therefore, chemical exchanges between microorganisms and their aqueous environment are an important and determinant factor controlling Fe species at aquatic environments.

Whenever aqueous Fe adsorption onto cell surfaces is favored, the present study shows that phytoplanktonic bacteria are a prominent pool for the scavenging of heavy Fe isotopes from dissolved fraction. This way, in solute-rich waters, the phytoplanktonic bacteria may have profound implications for the Fe fate and isotopic fractionation in the water column and on the transfer of isotopically heavy Fe from contrasted water fractions. As the planktonic bacteria cells lyse and sink, the adsorbed heavy Fe isotopes may incorporate the river bottom

sediment where they can be recycled to the overlying water column or become stabilized as mineral phases forming deposits of Fe through diagenesis. For example, Konhauser et al. (1993) showed that the cell surfaces of epiphytic and episammic bacteria from Rio Solimões river waters, Brazil, work as major sites for aqueous Fe adsorption and deposition, serving as nucleation sites for the formation of authigenic amorphous and crystalline Fe mineral phases.

From a geological standpoint, the mechanisms of Fe adsorption on microbial cells surfaces and its subsequent deposition may have been instrumental in Fe isotopic fractionation in sedimentary deposition environments undergoing active diagenesis in the course of the Earth's evolution. For example, Late Archean to Early Proterozoic Banded Iron Formations (BIF) have isotopic composition ranging from -3.5‰ in pyrites to 1.1‰ in Fe oxides attributed mainly to redox cycles and photosynthetic Fe²⁺ oxidation (Johnson et al. 2003; Rouxel et al., 2005). The fractionation factors showed herein suggests that Fe adsorption on microorganism cells can have profound implications on the scavenging and deposition of isotopically heavy Fe, leading the ocean waters with light Fe isotopic composition, as recorded in pyrite.

5.5 REFERENCES

- Anbar, A. D. (2004). Iron stable isotopes: beyond biosignatures. *Earth and Planetary Science Letters*, 217(3), 223-236.
- Allègre, C. J. (2008) *Stable isotope geochemistry*. In: Allègre, C. J. *Isotope geology*. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 358-432
- Awramik SM, Schopf JW and Walter MR (1983) Filamentous fossil bacteria from the Archean of Western Australia. *Precambrian Res* 20:357-374
- Barling, J., Anbar, A. D. (2004). Molybdenum isotope fractionation during adsorption by manganese oxides. *Earth and Planetary Science Letters*, 217(3), 315-329.
- Beard, B. L., Johnson, C. M., Cox, L., Sun, H., Neilson, K. H., & Aguilar, C. (1999). Iron isotope biosignatures. *Science*, 285(5435), 1889-1892.
- Berman-Frank, I., Lundgren, P., Falkowski, P. (2003). Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution in cyanobacteria. *Research in Microbiology*, 154(3), 157-164.
- Brantley, S. L., York, N. (2004). Iron isotope fractionation during microbial reduction of iron: The importance of adsorption. *Society*, (3), 205–208. doi:10.1130/G20184.1
- Bullen TD, White AF, Childs CW, Vivit DV & Schulz MS. 2001. Demonstration of significant abiotic iron isotope fractionation in nature, *Geology* 29:699-702.
- Cornell, R.M. and Schwertmann, U. (1996) *The Iron Oxides – Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses*. VCH, Weinheim.
- Criss R.E. (1999) *Principles of Stable Isotope Distribution*. Oxford University Press, Oxford.
- Crosby H. A., Johnson C. M., Roden E. E., and Beard B. L. (2005) Coupled Fe(II)-Fe(III) electron and atom exchange as a mechanism for Fe isotope fractionation during dissimilatory iron oxide reduction. *Environ. Sci. Technol.* 39:6698–6704.
- Croal, L. R., Johnson, C. M., Beard, B. L., & Newman, D. K. (2004). Iron isotope fractionation by Fe (II)-oxidizing photoautotrophic bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68(6), 1227-1242.

- Daughney, C. J., Fein, J. B., & Yee, N. (1998). A comparison of the thermodynamics of metal adsorption onto two common bacteria. *Chemical Geology*, 144(3), 161-176.
- Dideriksen K., Baker J. A., Stipp S. L. S. (2008) Equilibrium Fe isotope fractionation between inorganic aqueous Fe(III) and the siderophore complex, Fe(III)- desferrioxamine B. *Earth Planet. Sci. Lett.* 269, 280- 290.
- Emerson, D. (2000). Microbial oxidation of Fe(II) and Mn(II) at circumneutral pH. In Lovley, D.R. (ed.) *Environmental Microbe-metal interaction*. ASM Press, Washington DC pp. 31-52
- Ehremreich, A. and Widdel, F. (1994). Anaerobic oxidation of ferrous iron by purple bacteria, a new type of phototrophic. *Applied and Environmental Microbiology*. 60:427-483
- Fein, J. B., Daughney, C. J., Yee, N., & Davis, T. A. (1997). A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(16), 3319-3328.
- Fehr, M. A.; Andersson, P. S.; Halenius, U.; Morth, C.-M. Iron isotope variations in Holocene sediments of the Gotland Deep, Baltic Sea. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 2008, 72: 807-826.
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T., & Falkowski, P. (1998). Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281(5374), 237-240.
- Gaillardet, J. (1997). Chemical and physical denudation in the Amazon River Basin. *Chemical Geology*, 142(3-4), 141–173. doi:10.1016/S0009-2541(97)00074-0
- Gélabert, A., Pokrovsky, O. S., Viers, J., Schott, J., Boudou, A., Feurtet-mazel, A., & Ge, A. (2006). Interaction between zinc and freshwater and marine diatom species: Surface complexation and Zn isotope fractionation. *Cell*, 70, 839–857. doi:10.1016/j.gca.2005.10.026
- Gonzalez A., Pokrovsky O. S., Shirokova L. S., Pokrovski G. S., Jimenez-Villacorta F., González-Dávila M., Santana-Casiano J. M and Emnova E. E. (2009) Speciation of Fe adsorbed on and incorporated into soil and aquatic bacteria: XAS structural study. Proceedings of 19th Annual V.M. Goldschmidt Conference, Davos, Switzerland, 21-26 juin 2009. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 73, No 13, Suppl. S, p. A453
- Gonzalez A. G, Pokrovsky O. S, Shirokova L. S, Pokrovski G. S, Jimenez-Villacorta F., Santana-Sasiano J. M, Gonzalez-Davila M., and Emnova E. E. (2010) Speciation of Fe adsorbed onto and assimilated by bacteria: XAS structural analysis. *Geophysical Research Abstracts*, EGU General Assembly 2010, Vol. 12, EGU2010-11822.
- Hudson, R. J., Morel, F. M.M, (1990). Iron transport in marine phytoplankton: Kinetics of cellular and medium coordination reactions. *Limnol. Oceanogr*, 35(5), 1002-1020.
- Icopini G. A., Anbar, A. D., Ruebush S. S., Tien M., and Brantley S. L. (2004) Iron isotope fractionation during microbial reduction of iron: The importance of adsorption. *Geology*, 32(3), 205. doi:10.1130/G20184.1
- Johnson, C. M., Skulan, J. L., Beard, B. L., Sun, H., Nealson, K. H., & Braterman, P. S. (2002). Isotopic fractionation between Fe (III) and Fe (II) in aqueous solutions. *Earth and Planetary Science Letters*, 195(1), 141-153.
- Johnson C. M., Beard B. L., Beukes N. J., Klein C., and O'Leary J. M. (2003) Ancient geochemical cycling in the Earth as inferred from Fe isotope studies of banded iron formations from the Transvaal Craton. *Contrib. Mineral. Petrol.* 144, 523-547.
- Knoll, A.K. (2008). *Cyanobacteria and Earth History*. In: Flores, F. G. *The cyanobacteria: molecular biology, genomics, and evolution*. Horizon Scientific Press.
- Konhauser, K. O., Fyfe, W. S., Ferris, F. G., & Beveridge, T. J. (1993). Metal sorption and mineral precipitation by bacteria in two Amazonian river systems: Rio Solimoes and Rio Negro, Brazil. *Geology*, 21, 1103–1106.
- Konhauser, K. O., Hamade, T., Raiswell, R., Morris, R. C., Grant Ferris, F., Southam, G., & Canfield, D. E. (2002). Could bacteria have formed the Precambrian banded iron formations? *Geology*, 30(12), 1079. doi:10.1130/0091-7613(2002)030<1079:CBHFTP>2.0.CO;2
- Lovley, D.R. (1997) Microbial Fe(III) reduction in subsurface environments. *FEMS Microbiol. Rev.* 20, 305–313.
- Martin JH, Coale KH, Johnson KS & Fitzwater SE. 1994. Testing the iron hypothesis in ecosystems of the equatorial Pacific Ocean. *Nature*. 371: 123-129.
- Matthews, A., Zhu, X. K., & O'Nions, K. (2001). Kinetic iron stable isotope fractionation between iron (-II) and (-III) complexes in solution. *Earth and Planetary Science Letters*, 192(1), 81-92.
- Morel, F. M., Kustka, A. B., Shaked, Y. (2008). The role of unchelated Fe in the iron nutrition of phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 53(1), 400.
- Nealson, K.H., Saffarini, D. (1994) Iron and manganese in anaerobic respiration. *Annu. Rev. Microbiol.* 48, 311–343.

- Nelson, N., & Ben-Shem, A. (2004). The complex architecture of oxygenic photosynthesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(12), 971-982.
- Nightingale, P., Cooper, D., Cochlan, W. P., & Landry, M. R. (1996). A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in the equatorial Pacific Ocean. *Nature*, 383, 10.
- Platzner, I.T. *Modern isotope ratio mass spectrometry*. John Wiley & sons: Chichester, 1997
- Poitrasson F., Halliday A.N., Lee D.C., Levasseur S., and Teutsch, N. (2004) Iron isotope differences between Earth, Moon, Mars and Vesta as possible records of contrasted accretion mechanisms. *Earth Planet. Sci. Lett.* 223, 253–266.
- Poitrasson F., and Freyrier, R. (2005) Heavy iron isotope composition of granites determined by high resolution MC-ICP-MS. *Chem. Geol.* 222(1-2), 132–147. doi:10.1016/j.chemgeo.2005.07.005
- Pokrovsky, O., Viers, J., Emnova, E., Kompantseva, E., & Freyrier, R. (2008). Copper isotope fractionation during its interaction with soil and aquatic microorganisms and metal oxy(hydr)oxides: Possible structural control. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(7), 1742–1757. doi:10.1016/j.gca.2008.01.018
- Polyakov, V. B., & Mineev, S. D. (2000). The use of Mössbauer spectroscopy in stable isotope geochemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(5), 849-865.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., & Stanier, R. Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 111(1), 1-61.
- Rouxel, O. J., Bekker, A., & Edwards, K. J. (2005). Iron isotope constraints on the Archean and Paleoproterozoic ocean redox state. *Science (New York, N.Y.)*, 307(5712), 1088–91. doi:10.1126/science.1105692
- Schauble, E. A., Rossman, G. R., & Taylor, H. P. (2001). Theoretical estimates of equilibrium Fe-isotope fractionations from vibrational spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65(15), 2487-2497.
- Schwertmann, U. and Fitzpatrick, R.W. (1992) Iron minerals in surface environments. In: *Biom mineralization Processes of Iron and Manganese* (Skinner, H.C.W. and Fitzpatrick, R.W., Eds Brantley, S. L., & York, N. (2004). Iron isotope fractionation during microbial reduction of iron: The importance of adsorption. *Society*, (3), 205–208. doi:10.1130/G20184.1
- Stanier, R. Y., & Bazine, G. C. (1977). Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 31(1), 225-274.
- Strelow F.W.E. (1980) Improved separation of iron from copper and other elements by anion- exchange chromatography on a 4% cross-linked resin with high concentrations of hydrochloric acid. *Talanta* 27, 727-732.
- Teutsch N., vonGunten U., Porcelli D., Cirpka O. A., and Halliday A. N. (2005) Adsorption as a cause for Iron Isotope fractionation in reduced groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta* 17,4175–4185.
- Thamdrup, B. (2000) Bacterial manganese and iron reduction in aquatic sediments. In: *Adv. Microb. Ecol.*, Vol. 16 (Schink, B., Ed.), pp. 41–84. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Welch, S. A., Beard, B. L., Johnson, C. M., & Braterman, P. S. (2003). Kinetic and equilibrium Fe isotope fractionation between aqueous Fe (II) and Fe (III). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(22), 4231-4250.
- Yee, N., Benning, L. G., Phoenix, V. R., Ferris, F. G. (2004). Characterization of metal-cyanobacteria sorption reactions: a combined macroscopic and infrared spectroscopic investigation. *Environmental science & technology*, 38(3), 775-782.

6 EFFECTS OF WATER STORAGE ON THE DISSOLVED IRON CONCENTRATION AND ISOTOPIC COMPOSITION OF CHEMICALLY CONTRASTED WATERS FROM THE AMAZON RIVER BASIN

Daniel S. Mulholland^{1,2}, Franck Poitrasson^{1,2}, Geraldo R. Boaventura¹, Lucieth Cruz Vieira¹

1 - Instituto de Geociências, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília (UnB), CEP 70910-900, Brasília, DF – Brazil.

2 – Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse, Institut de Recherches pour le Développement – Centre National de la Recherche Scientifique – Université de Toulouse, 14-16, avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France.

Abstract

The present study investigates for the first time the possible biases of water storage under different conditions on the dissolved Fe concentration and isotopic composition of chemically contrasted waters. The storage methods evaluated in this work included filtered and bulk water stored either at room temperature or frozen at -18°C. Our data reveal that bulk water storage at room temperature without filtration produces minor changes in the dissolved Fe isotopic composition of mineral particulate-rich waters, but significant isotopic changes in organic-rich waters. In both cases, the impact of the different procedures on the Fe concentrations was strong. On the other hand, the bulk water stored frozen without filtration produced more limited changes in the dissolved Fe concentration and isotopic composition relative to the sample filtered in the field. The largest effect being again observed for the organic-rich waters. These findings suggest that the time-lag between water collection and filtration may cause isotopic exchanges between the dissolved and particulate Fe fractions. When it is not possible to filter the samples in the field immediately after collection, the less detrimental approach is to freeze the bulk water sample until filtration, to reduce isotopic artifacts.

6.1 INTRODUCTION

Iron (Fe) has four stable isotopes (⁵⁴Fe, ⁵⁶Fe, ⁵⁷Fe, and ⁵⁸Fe), with a natural variability of ~11‰ in $\delta^{57}\text{Fe}$ values,^{1,2} caused by either abiotic or biotic mechanisms.^{3,4} In recent years, several studies explored the effects of biogeochemical processes on Fe isotope fractionation (e.g., Fe adsorption, complexation, precipitation, redox changes, microbial reduction, and photosynthetic oxidation) to better understand Fe cycling and the distinct isotopic composition encountered in low temperature natural systems. Therefore, many investigations were performed to measure the Fe isotopic composition of dissolved, colloidal and particulate phases of continental and oceanic natural waters.^{2,5-11} In the meantime, few efforts were made

to investigate if water sample storage and the separation of particulate, colloidal, and dissolved phases through filtration can cause any artifacts on Fe isotopic composition.

During storage and filtration, samples may undergo a variety of chemical and physical changes caused by metals and organic compounds interactions with suspended matter, the storage containers, and the filtration apparatus. External agents such as light, the atmosphere, oxygen and carbon dioxide may also induce pH and Eh variations and Fe redox changes.¹² The components of natural water evolve through time and processes including the adsorption and desorption of exchangeable phases, the aggregation/disaggregation of organic and mineral colloids, and the degradation of particulate matter may occur, resulting in the transfer of associated compounds from the dissolved to the particulate fraction, or *vice versa*.¹³ It has been demonstrated that some of these processes can cause considerable Fe isotopic fractionation, notably when associated with redox changes.^{4,14-17} Consequently, the ideal conditions for sample storage will differ depending on the sample nature and must be investigated whenever a new analytical task is undertaken, such as the use of natural variation of Fe isotopes in waters.

Previous studies outlined that filtration problems caused by filter clogging may change the effective pore size of the membrane.¹⁸⁻²¹ Although these previous studies were mostly focused on the dissolved trace element content of natural waters, it can be hypothesized that such filtration artifact may also cause isotopic composition variations in the permeate fraction. Effects of long-term filtration on Fe concentration and isotopic composition were investigated by Bergquist & Boyle⁶ using the mineral particulate-rich water of Solimões River. The authors showed that, besides the extreme variation of dissolved Fe concentration, negligible changes occurred in Fe isotopic composition. Moreover, Ilina et al.² demonstrated that direct and cascade ultrafiltration to 1kD on organic-rich boreal waters lead to the same values of $\delta^{57}\text{Fe}$ within analytical uncertainty (1.77 ± 0.06 and $1.77\pm 0.07\%$, respectively) and, therefore, concluded that insignificant isotopic fractionation artifacts occurred during filtration.

Prior to the correct determination and comparison of Fe isotopic data in the dissolved phase of different studies, it is clear that artifacts due to sample storage and filtration should also be addressed. The waters of the Amazon basin differ in their physical-chemical features, organic carbon content, dissolved and suspended solids,²²⁻²⁵ making them a prominent example to study the effects of sample filtration and storage in different water types (*i.e.*,

organic rich and particulate rich). This study evaluated the artifacts caused by different storage procedures on dissolved Fe isotopic composition obtained through frontal vacuum filtration of contrasting water types of the Negro, Solimões, and Amazon Rivers. In addition, this study also reports preliminary data on the dissolved Fe isotopic composition of Fe-organic-rich rivers (Negro and Jaú), Fe-organic-poor rivers (Solimões, Amazon and, Madeira) and a lake with high primary production at Janauacá, also in the Brazilian Amazonia. Iron isotopic data from tropical rivers have been little documented so far and it is essential to study these for a complete overview on the Fe biogeochemical cycling and transport.

6.2 MATERIAL AND METHODS

6.2.1 Study area

The Amazon basin is the largest drainage basin in the world, with a total area of $5.96 \times 10^6 \text{ km}^2$ and water discharge of $206\,000 \text{ m}^3/\text{s}$, which represents $\sim 17\%$ of the total world runoff,²⁶ with major contributions from Solimões, Negro and Madeira tributaries.²⁷ The Amazon Basin have waters with contrasting physical and chemical compositions, classified as white, clear, and black waters.²⁸⁻³⁰ Schematically, whitewater rivers (e.g. Solimões and Madeira Rivers) generally flow from the Andean Cordillera with high concentration of cations, circumneutral pH and strong sediment loads inherited from mechanical erosion. The blackwater rivers (e.g. Negro and Jaú River) are relatively acidic (pH \sim 5), rich in dissolved organic carbon and dissolved Fe, with low concentrations of cations and suspended solids, mainly related to chemical erosion at the podzol regions of the northern side of the central Amazon, covered by tropical rainforest.²²⁻²⁵ Janauacá is a shallow lake, connected to the Solimões River through a channel, with low concentration of nutrients, large phytoplankton content (*i.e.*, $53 \mu\text{g/l}$ of chlorophyll α), and high primary productivity ($2.2 \text{ g C} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$).³¹ Previous studies of Berquist and Boyle⁶ and dos Santos Pinheiro et al.³² showed contrasting dissolved and particulate Fe isotopic composition between the Negro and Solimões Rivers, likely associated with the soils and vegetation of different pedoclimatic regions.

6.2.2 Sampling and experimental settings

The data displayed herein report the physical-chemical parameters, the Fe concentration and isotopic composition of surface water samples (~0.5m deep) collected in two field campaigns (detailed on Figure 18). The first occurred on May 2009, during the high waters, and involved the sampling of the Solimões River (Mancapuru gauging station), the Negro River (Paricatuba gauging station), the Amazon River (near Itacoatiara city, Brazil) and the Madeira River, before the confluence with the Amazon. The second took place at the low waters of October, 2010 and collected samples from the Jaú River and Janauacá Lake. Water samples were collected using HDPE (High Density Polyethylene) bottles previously cleaned with HCl (1M) and MilliQ water. Physical-chemical parameters such pH and electrical conductivity were measured in the field and in the laboratory, after the sample storage and filtration treatment, to evaluate the stability of these parameters. Measurements were performed using a WTW 340i multiparameter instrument calibrated against WTW standards. The physical-chemical measurements uncertainties were estimated as $\pm 1\%$ for electrical conductivity and ± 0.2 for pH values. All samples were vacuum filtered using a Millipore Polysulfone system, equipped with cellulose acetate membranes with 0.45 μm pore size. The filtration system and the membranes were conditioned with 250ml of the respective sampled water before the filtration of the aliquot to be analyzed.

Prior to the evaluation of storage (during ~1 year) and related filtration artifacts, the samples were treated with different procedures (Table 4) as: (1) Water sample immediately filtered in the field and stored frozen; (2) Bulk natural water sample stored at room temperature and filtered later in the laboratory; (3) Bulk natural water immediately frozen in the field and thawed later in the laboratory prior to its filtration; and (4) Water sample immediately filtered and frozen in the field and thawed later at the laboratory prior to a second filtration step.

Table 4 – Description of the different storage treatments performed on the river water samples and their respective identification codes

Code	Sample Treatment	
	Field (05/2009)	Laboratory (06/2010)
CF	Filtered and frozen	Thawed
HF	Storage at room temperature	Filtered
CBF	Frozen	Thawed and filtered
CFF	Filtered and frozen	Thawed and filtered

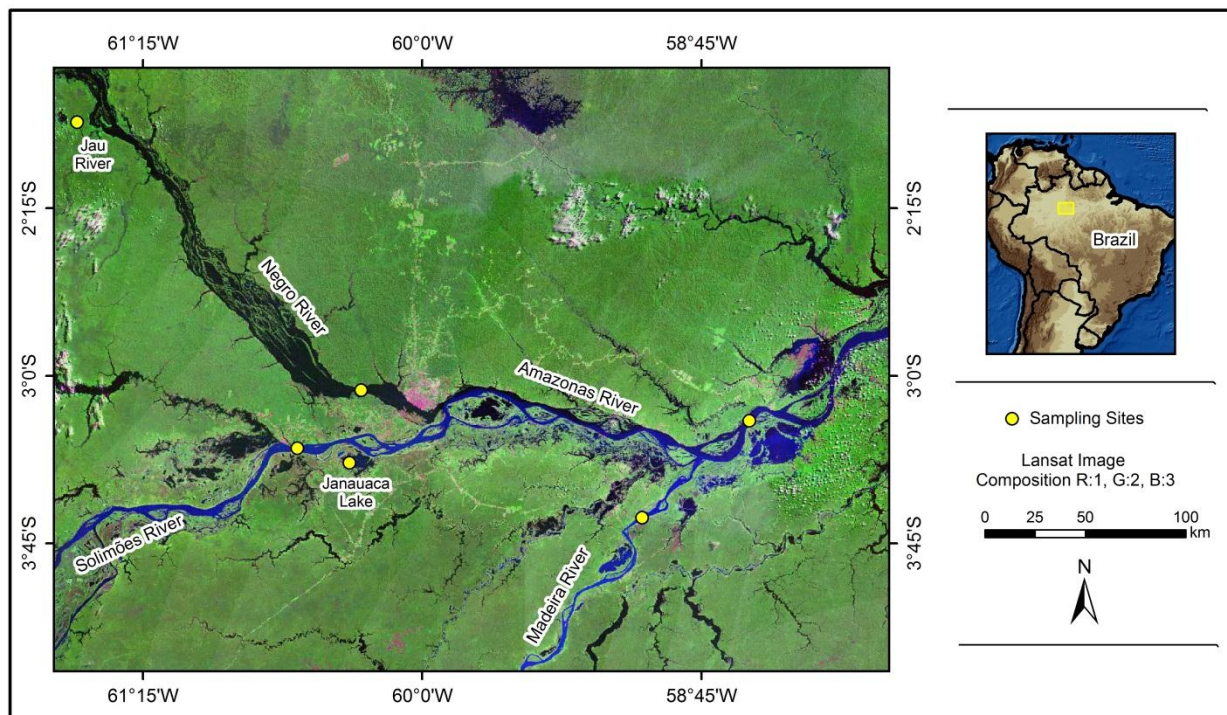


Figure 18 – Study area and sampling sites localization

6.2.3 Iron isotopic measurements

Aliquots of the filtered waters (~60 to 250ml) were evaporated at 80° C in Teflon vessels. Subsequently, a multi-step sample dissolution procedure took place according to the following sequence: 1) 1ml of H₂O₂; 2) 1 ml of conc. HNO₃; 3) 0.6 ml of 6M HCl and 0.3 ml of conc. HNO₃; 4) 1.2 ml of conc. HF and 1.2 ml of conc. HNO₃; 5) 2ml of 6M HCl. Between each of these steps, the closed Teflon vessels were left overnight on a hot plate at 80°C and then taken to dryness. The final residues were solubilized in 0.5 ml of 6M HCl before Fe purification. Samples dissolution was performed using analytical grade MilliQ water (18 mΩ), bidistilled acids and Merck Suprapur H₂O₂ (30%).

Iron was separated from the matrix elements by anion exchange chromatography in a HCl medium,³³ as described by Poitrasson et al.³⁴ Thermoretractable Teflon columns with internal diameters of 4 mm were filled with 0.5 ml of Bio Rad AG1 X4, 200–400 mesh. The columns and the resins were first cleaned with 5ml of 6M HCl and then 7ml of 0.05M HCl and preconditioned with 1ml of 6M HCl. Subsequently, 0.5 ml of the sample, which was previously dissolved in 6M HCl, was added. The matrix species were eluted with 2.5 ml of 6M HCl and the purified Fe was eluted with 2 ml of 0.05M HCl. The final solutions were dried and re-dissolved in 0.05M HCl before Fe isotopic determination.

Iron isotope measurements were performed at the Geochronology Laboratory from UnB (University of Brasilia) and at *Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse* (GET) using a Thermo Electron Neptune MC-ICPMS (Multicollector – Inducted Coupled Plasma Mass Spectrometer). The method used herein was first described by Poitrasson & Freyrier³⁵, which allows correcting the mass bias by either sample standard bracketing and Ni doping. Analyses were performed using two different inlet systems, i.e., a wet Stable Introduction System (SIS) or ESI-APEX-Q (without desolvation membrane), the latter being used to improve signal sensitivity and allow lower Fe quantities to be analyzed. Isotopic ratios were measured using medium or high resolution slits, with samples concentrations ranging from 0.25 to 6 mg/l, depending on the sample introduction system and instrument sensitivity. Although the $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ and $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ ratios were measured, this work will only report $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ ratios, since both ratios lies on a mass-dependent fractionation line. The Fe isotopic data are reported using delta notation relative to the IRMM-14 iron isotopic reference material, expressed in ‰ (per thousand), as $\delta^{57}\text{Fe} = \left(\frac{^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}_{\text{sample}}}{^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}_{\text{IRMM14}}} - 1 \right) 10^3$. Measurements of the in-house hematite standard from Milhas, Pyénées, (referred sometimes in previous studies as ETH - Eidgenossische Technische Hochschule Zurich hematite), were performed regularly in each analytical session for data validation in terms of accuracy and reproducibility. The hematite standard has a known $\delta^{57}\text{Fe}$ value of $0.744 \pm 0.04\%$ (2 SD, $n = 55$), as reported by Poitrasson and Freyrier³⁵. In this study, this secondary reference material was analyzed after every six samples. We obtained an Fe isotopic composition of $0.80 \pm 0.06\%$ (in $\delta^{57}\text{Fe}$ values, $n = 30$), consistent with previous studies.^{16,35-37} Procedural blanks processed through sample digestion and Fe purification yielded Fe quantities of <1% relative to the analyzed samples.

Dissolved Fe concentration was measured in the field and in the laboratory using the Ferrozine colorimetric method^{38,39} with a Spectrophotometer T-60 UV-VIS PG Instruments and 1cm cells, recorded on 562nm wavelength. To check the validity and reproducibility of the measurement, the international geostandard SLRS-4 (Riverine Water Reference Material for Trace Metals, certified by the National Research Council of Canada) was analyzed and yielded relative differences <5% compared with certified value ($n=5$). Iron concentrations were also measured after Fe chromatographic purification during the preparation of the analytical sequence on the MC-ICPMS. The relative Fe concentration differences between

measurements performed after and before the chromatography were <10%, below the uncertainties inherent from the methods applied.

6.3 RESULTS AND DISCUSSION

6.3.1 Effects of sample storage on Fe isotopic composition

The physical-chemical data, Fe concentration, and $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the dissolved fraction from the Negro, Solimões and Amazon River waters in samples that underwent different storage procedures are reported in Table 5. Modifications of electrical conductivity and pH values between measurements performed in the field and later in the laboratory can be considered negligible for the Negro and Amazon waters, but more pronounced variations in pH values are observed for Solimões waters, especially in "HF" samples stored at room temperature and filtered later in the laboratory (see Table 5). However, the most conspicuous effect is the large shift on dissolved Fe concentrations found on all three river waters investigated, depending on the storage method. After the different storage procedures and subsequent filtration, the dissolved Fe concentrations ranged from 45 to 167 $\mu\text{g/l}$ for the Negro River, 22 to 115 $\mu\text{g/l}$ for the Amazon River, and 25 to 203 $\mu\text{g/l}$ at the Solimões. Significant changes between the samples treatment can also be observed in the $\delta^{57}\text{Fe}$ values with variation amplitudes of 0.74, 0.12, and 0.43‰ for the Negro, Amazon and Solimões Rivers, respectively.

The waters with higher content of particulate matter (*i.e.*, Solimões and Amazon Rivers) show similar trends when comparing Fe concentrations of samples filtered in the field with those filtered later in the laboratory. As can be seen in Figure 19 and Table 5, there is a marked increase in the Fe concentration of the samples stored unfiltered at room temperature (HF) when compared with the samples filtered in the field (CF) and subsequently stored frozen. This latter methodology is taken as the reference relative to other procedures since it is the one that is inferred to generate fewer biases, as pointed by the following discussion.

It is likely that the particulate fraction has a significant influence in enhancing dissolved Fe content of the unfiltered samples during protracted storage at room temperature, since it represents >95% of the Fe budget in the Solimões and Amazon waters^{6,23} and the Fe species are composed mostly of Fe oxides and oxyhydroxides associated with clays as free minerals,

inclusions, or coatings.⁴¹ During bulk samples storage many process may take place in the bottles, such as (a) Fe desorption/adsorption reactions; (b) mineral dissolution promoted by redox changes due to organic matter oxidation; (c) Fe scavenging from mineral surfaces by colloidal and dissolved organic ligands; and (d) disaggregation of stabilized Fe oxyhydroxides and organic and mineral complexes. Some of these processes could explain the drastic rise of the dissolved Fe concentration of the samples stored without filtration at ambient temperature (HF) in the mineral particulate-rich waters. On the other hand, despite the great variations in Fe concentration as a result of the interactions between the particulate and dissolved fractions that may take place, insignificant isotope variation among different storage procedures is seen for the Solimões and Amazon waters in most cases. However, there is a hint towards lighter Fe isotope composition for water samples stored at ambient temperature and filtered subsequently in the laboratory, notably for the Solimoes (ManHF).

Table 5 – Physical-chemical data, dissolved Fe concentration and isotopic composition of different storage procedures

Sample	Physical-chemical data				[Fe] µg/l	$\delta^{57}\text{Fe}$ (‰)	n	2SE ^b
	Field		Laboratory					
	pH	EC ^a	pH	EC ^a				
Negro River								
PaHF	5.4	11	5.5	9	45	1.58	3	0.10
PaCF	5.4	11	5.5	8	167	0.84	3	0.04
PaCBF	5.4	11	5.5	8	142	1.13	3	0.07
PaCFF	5.4	11	5.5	8	127	1.00	3	0.07
Amazon River								
ItaHF	6.6	55	7.1	49	115	0.14	3	0.04
ItaCF	6.6	55	7.2	52	47	0.25	3	0.05
ItaCBF	6.6	55	6.9	50	28	0.13	6	0.09
ItaCFF	6.6	55	6.8	50	22	0.16	6	0.04
Solimões River								
ManHF	8.0	75	6.8	70	203	-0.18	6	0.10
ManCF	8.0	75	7.7	70	52	0.02	3	0.11
ManCBF	8.0	75	7.2	70	29	0.27	3	0.11
ManCFF	8.0	75	7.7	70	25	0.25	3	0.06

^a – Electrical Conductivity (µS/cm). ^b – Two standard error uncertainties (2SE) calculated by the Student t-correcting factor.⁴⁰

The Solimões Rivers had $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $-0.18 \pm 0.10\text{‰}$ for "HF" and $0.02 \pm 0.11\text{‰}$ for "CF" and, similarly, the Amazon River had $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $0.14 \pm 0.04\text{‰}$ for "HF" and $0.25 \pm 0.05\text{‰}$ for "CF". These findings suggest that upon enhanced particulate dissolution of the "HF" Solimoes and Amazon water samples, iron is slightly lighter than the initial dissolved Fe measured with the "CF" samples. This may result from a non-congruent or kinetic effect favoring the release of isotopically light Fe, however, since dos Santos Pinheiro et al.³² found that the particulate phases of the Solimões and Amazon Rivers yield $\delta^{57}\text{Fe}$ values on average undistinguishable from the continental crust values (*i.e.*, $\sim 0.1\text{‰}$ ⁴²) and therefore similar to our dissolved Fe isotope compositions from "CF" Solimoes and Amazon water samples (Table 5 and Figure 19).

The organic-rich water of the Negro River shows lower Fe concentrations in the sample stored at ambient temperature without filtration (HF) compared with that filtered in the field (CF). The Fe species of the suspended particles of the Negro River are mainly controlled by Fe^{3+} linked with colloidal humic-like organic matter as inner-sphere complexes.⁴² The adsorption of small units of colloidal natural organic matter on mineral surfaces changes the interfacial potential and charges, and consequently the electrostatic interactions between particles are altered. The proposed mechanisms by which natural organic matter adsorb onto mineral surfaces encompass: (a) ligand exchange-surface complexation; (b) anion exchange (electrostatic interaction), (c) hydrophobic interaction, (d) hydrogen bonding, and (e) cation bridging.⁴³⁻⁴⁵ Some of these processes lead to the formation of larger heteroaggregates,^{46,47} that can be removed from the dissolved phase during filtration and cause the reduction of Fe concentration in the filtrates of bulk water samples stored at air temperature without filtration (HF). The strong decrease of the Fe isotopic composition from HF to CF storage procedures (Table 5 and Figure 19) suggests that the newly-formed heteroaggregates removed through filtration might display relatively light isotopic signatures. Since the dissolved Fe can represent up to 50% of the total Fe budget of the organic-rich Negro River,⁶ one can assume that storage procedures may also cause isotopic artifacts in the particulate fractions of organic-rich waters.

The bulk water samples frozen without filtration (CBF) and subsequently thawed and filtered in the laboratory resulted in the reduction of Fe concentration compared with the samples filtered in the field (CF) for all rivers studied, though the magnitude of Fe

concentration change is much more reduced compared to the waters stored at room temperature (Figure 19). This demonstrates a possible aggregation of mineral and organic colloids during freezing, which are further removed by filtration. The freeze-thaw procedure is known to strongly coagulate fine suspended particles during freezing, which do not disaggregate after thawing.⁴⁸ To summarize, the coagulation mechanism can be described as suspended solids collision followed by attachment.⁴⁹ Such heteroaggregates are removed during sample filtration which draws down the Fe concentration in dissolved fractions. However, small isotopic variations were found for the particulate rich waters, as show in Figure 19 and Table 5. These findings are in agreement with previous natural and experimental observation of colloids destabilization and Fe removal from dissolved water phases from estuarine regions and mixing zones of rivers with contrasted chemistry, which are known to produce minor isotopic fractionation.^{6,50,51} Lastly, the samples processed through a double filtration step with a long frozen stage in between (CFF) demonstrated that the continuous removal of small colloidal units through the freeze-thaw coagulation mechanism causes further Fe concentration decreases for all water types but small changes in the Fe isotopic composition of the remaining dissolved fraction (Figure 19).

The comparison between different storage procedures suggests that samples should be preferentially stored frozen, whenever it is not possible to filter them directly in the field to minimize isotopic artifacts. Considering that the data reported herein display a first evaluation of isotopic artifacts caused by storage procedures, we suggests that further studies should be performed to determine standard methods for sample storage and filtration prior to a more precise evaluation of the riverine dissolved Fe isotopic data between multiple studies.

6.3.2 Dissolved Fe distribution and isotopic composition of different types of water

Selected physical-chemical data, Fe concentrations, and isotopic composition of all sample sites are summarized at Table 6. The Negro and Jaú Rivers water, where podzol occurs, displayed similar features with relatively acidic pH (5.4 to 6.6), low electrical conductivity (11 to 31 μ S/cm) and high dissolved Fe concentrations (120 to 181 μ g/l). By contrast, the Solimões, Amazon and Madeira Rivers, located mainly in ferrasol and acrisol regions, showed similar physical and chemical composition with circumneutral pH (6.6 to 8.0),

high electrical conductivity (55 to 75 $\mu\text{S}/\text{cm}$), and low dissolved Fe concentration (40 to 50 $\mu\text{g}/\text{l}$). Different from all rivers mentioned above, the waters of Janauacá Lake yield high pH (9.3), low dissolved Fe concentration (34 $\mu\text{g}/\text{l}$) and intermediate electrical conductivity (48 $\mu\text{S}/\text{cm}$).

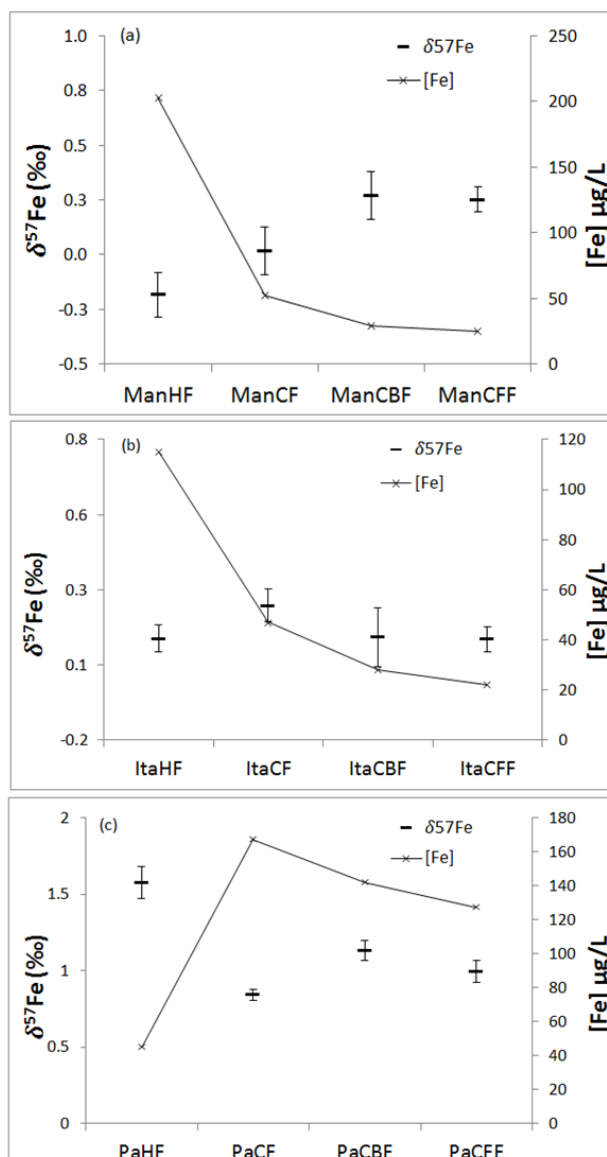


Figure 19 – Evolution of dissolved Fe concentration and $\delta^{57}\text{Fe}$ values according to the different storage procedures of samples from (a) Solimões, (b) Amazon, and (c) Negro Rivers. Data from Table 2.

The present study also reveals contrasting dissolved Fe isotopic composition for water bodies drained over soils with distinct features, with values ranging from -0.06 to 1.20‰, in $\delta^{57}\text{Fe}$ values. The rivers formed over ferrasol and Acrisol regions yield lighter Fe isotopic composition (-0.06 to 0.33‰, in $\delta^{57}\text{Fe}$ values) when compared with rivers located in podzolic

regions (0.84 to 1.20‰), as shown at Figure 20 and Table 6. These differences reveal distinct Fe cycling and weathering processes occurring in the contrasted soils of the Amazon Basin (*i.e.*, between ferrasols and podzols).

Some pedogenetic processes had already been reported to be the main factor in Fe isotopic changes within the soil, *e.g.*, Fe reductive-dissolution due to redox changes and ligand-promoted Fe dissolution caused by interaction with chelates derived from organic matter, were most ⁵⁷Fe-depleted bulk samples were attributed to horizons rich in organic compounds like those found in podzols.⁵²⁻⁵⁵ In contrast to what is expected for organic-rich and waterlogged soils, no significant isotope variation could be found in lateritic soils, despite a long time-integrated weathering processes.⁵⁶ Thus, it should be expected that the waters drained in such contrasting environments are also isotopically distinct.

Table 6 – Selected physical-chemical data, dissolved Fe concentration and isotopic composition of different water-types of the Amazon Basin

Sample	Site	Date	pH	EC (μS/cm)	[Fe] (μg/l)	δ ⁵⁷ Fe (‰)	2SE	n
PaCF	Negro	26/05/2009	5.4	11	167	0.84	0.04	3
Jau1001	Jaú	27/09/2010	6.12	31	119	1.20	0.07	3
ManCF	Solimões	26/05/2009	8	75	52	0.02	0.11	3
ItaCF	Amazon	30/05/2009	6.6	55	47	0.25	0.05	3
LF03	Janauacá	21/09/2010	9.3	48	38	-0.06	0.04	3
Mad0901	Madeira	30/05/2009	6.3	43	45	0.33	0.10	3

a – Two standard error uncertainties (SE) calculated based on the number of analyses using the Student t-correcting factor.⁴⁰

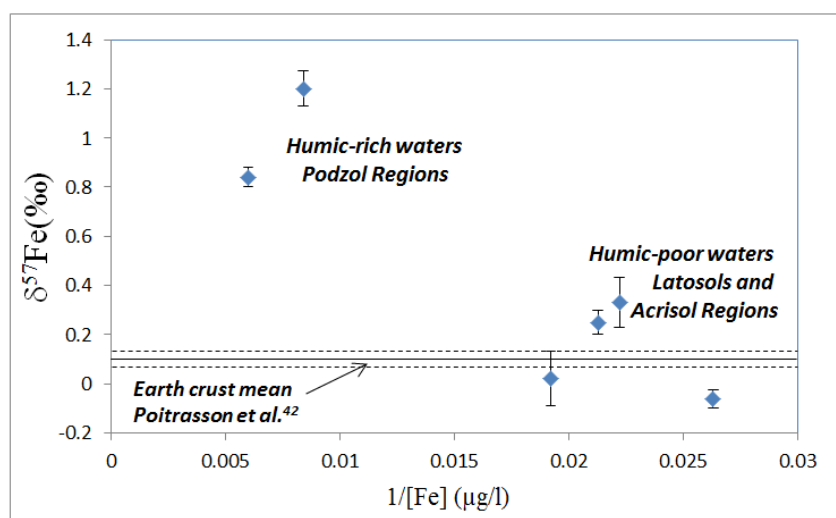


Figure 20 – Comparison between Fe concentration and δ⁵⁷Fe values of chemically contrasted rivers formed over soils with different features. Data from Table 3.

6.3.3 Dissolved Fe sources and biogeochemical processes

The isotopic data outlined for the rivers formed mainly over ferrasol and Acrisols are consistent with what was first expected for the continental weathering of well-expressed lateritic-type soils. Poitrasson et al.⁵⁶ showed limited isotopic variation in recent lateritic soils of Nsimi (Cameron) and inferred that the drained water should have Fe without considerable differences from the mean continental crust values. In addition, such a value is also consistent with the previous global estimation of Beard et al.⁵, which suggested that riverine Fe composition should range from 0.1 to 0.2‰. However, Fantle and DePaolo⁵³ argued that the dissolved Fe delivered to rivers from continental weathering developed under oxidizing conditions might be depleted in heavy isotopes compared with the continental earth crust, due to the continuous supply of small amounts of isotopically light Fe²⁺ species. Assuming that lateritic soils yield $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $\sim 0.1\text{‰}$,⁵⁶ we can infer that the Fe species of the permeate fraction ($<0.45\mu\text{m}$) reported herein for the Solimões River ($0.02\pm 0.11\text{‰}$, in $\delta^{57}\text{Fe}$ values) might be controlled mostly by colloidal submicron sized Fe oxyhydroxides inherent to mechanical weathering, as previously outlined by Allard et al.^{57,58}. The well-drained ferrasols and Acrisols formed in an oxidizing environment are liable to preferentially form solid colloidal and particulate Fe oxyhydroxides. Therefore, small amounts of exchangeable and isotopically light Fe²⁺ are lost, leading to similar isotopic compositions between the dissolved and particulate phases, compared with upland soils. This observation is supported by the $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the particulate fraction reported by dos Santos Pinheiro et al.³² that are also undistinguishable from the continental crust value ($\sim 0.1\text{‰}$ ⁴²).

The Fe isotopic composition of organic-rich waters of the Negro and Jaú Rivers show an opposite pattern compared with the mineral particulate-rich waters of Solimões and Madeira Rivers (Figure 20). In the blackwater rivers such as Negro and Jaú, the gradual oxidation of Fe²⁺, caused by redox changes in waterlogged podzol^{59,60} and the binding affinity of Fe³⁺ with polycondensed humic substances⁶¹⁻⁶² will increase the formation of Fe³⁺OM complexes. The strong bounds of Fe with organic ligands, as strong inner-sphere complexes, were extensively reported in black river waters^{39,57,58,62-65} and podzolic soils⁶⁰. They are linked with Fe³⁺ great affinity with carboxylic and phenolic functional groups present in the humic-like organic matter.³⁹ According to previous studies, Fe³⁺ displays heavier isotopic composition than Fe²⁺^{4,10,14,51} and the complexation of aqueous Fe³⁺ with strong organic chelates enriches

the Fe-organic complexes in heavy isotopes.³⁶ This explains why the dissolved fraction of Negro and Jaú Rivers will display signatures enriched in ⁵⁷Fe compared with ⁵⁴Fe. The Fe isotopic composition showed herein for the humic-rich rivers are in agreement with the isotopic data reported for a depth profile at the Negro River ranging from 0.9 to 1.1‰ (dos Santos Pinheiro³²).

The Amazon River water sample analyzed in this study was collected near Itacoatiara city, located downstream the Madeira River and approximately 150km from the Solimões and Negro confluence which account together for ~85% of the Amazon River total discharge at its mouth.²⁷ Aucour et al.⁶⁶ studied the initial stage (first 25km) of the Negro and Solimões mixing zone and argued that dissolved and particulate Fe behaved non conservatively due to the preferential removal of Fe bound to N-rich organic matter and oxyhydroxides. However, no study had demonstrated since then the Fe isotopic effects of the mixing processes of chemically contrasted rivers. The datum displayed herein for the dissolved Fe of the Amazon River (*i.e.* 0.25±0.05‰, in $\delta^{57}\text{Fe}$ values) suggest that the sequential mixing processes among the three end-members (*i.e.* Negro, Solimões and Madeira) do not produce significant isotopic fractionation in the riverine Fe isotopic composition, with $\delta^{57}\text{Fe}$ values close to the continental earth crust mean (*i.e.* 0.1±0.03‰, in $\delta^{57}\text{Fe}$ values) and to the lateritic soils (*i.e.* ~0.1‰). This finding suggests that dissolved Fe isotopic composition delivered to the ocean by a tropical basin might be similar to the continental earth crust mean, since Fe flocculation in estuaries generates negligible isotopic effects.^{6,50,51}

Comparing the dissolved Fe isotopic composition of the high waters of May 2009, obtained in this study with those outlined by Berquist and Boyle⁶ at the high water of April, 2002, a similar behavior can be seen between the organic-rich and mineral particulate-rich waters (*i.e.* heavier isotopes in the organic-rich rivers such as Negro, and lighter isotopes on organic-poor rivers such as Amazon and Solimões) although the results reported herein display a shift of ~0.5‰ for all rivers studied. The evolution of dissolved Fe isotopic composition may arise from different water sample storage durations, filtration techniques, and digestions methods employed or, more likely, from seasonal and interannual precipitation variations. So far, investigation of Fe isotopic fractionation through filtration showed no significant variations comparing different filtration methods² and during long-term filtration.⁶ The isotopic data outlined herein were obtained in exceptional flood of 2009, which began in

early 2009 and reached its maximum in May, 2009, when the field campaign took place. On the other hand, 2002 and 2003 were marked by very dry seasons. Chen et al.⁶⁷ argued that the 2002-2003 dry season was clearly tied to the El Niño, and the 2009 flood to the recent La Niña Event. Interannual variations in the Fe isotopic composition of the Negro River water particulate fraction were also found by dos Santos Pinheiro et al.³², when comparing the years of 2002 (data from Bergquist & Boyle⁶) and 2009/2010. The authors attributed the shift in the isotopic composition to variations of the sediment transport regime of the Amazon River, caused by stronger erosion processes linked with extreme climate events or changes in the soil coverage, e.g., deforestation (Martinez et al.⁶⁸). Differences in the organic carbon and Fe distribution among the particulate, colloidal, and dissolved phases, as demonstrated by Benedetti et al.²³ over the years of 1995 and 1996, likely produce distinct isotopic signatures caused by variation in organic and inorganic compounds during interannual flood and drought regimes.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Alisson Akerman, Bárbara Lima, Beatriz Lamback, Daniel Ferreira Araujo, Giana Marcia, Marie Paule Bonnet, Jérôme Chmeleff, Jonathan Prunier, and Patrick Seyler for their support during field activities, samples analysis and data discussion. This work was funded by IRD, CNRS, CNPq, ATUPS and co-tutelle PhD support from Université Paul Sabatier, ANA, CAPES-COFECUB exchange program and partially by an EC2CO grant to FP.

6.4 REFERENCES

- (1) Rouxel, O.; Sholkovitz, E.; Charette, M.; Edwards, K.. Iron isotope fractionation in subterranean estuaries. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2008, 72(14), 3413–3430. doi:10.1016/j.gca.2008.05.001
- (2) Ilina S. M.; Poitrasson, F.; Lapitskiy, S. A.; Yuriy, V.; Alekhin, Y. V.; Viers, J.; Pokrovsky, O. S. Extreme iron isotope fractionation between colloids and particles of boreal and temperate organic-rich waters. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2013, 101:96–111, doi: 10.1016/j.gca.2012.10.023
- (3) Anbar, A. D. Iron stable isotopes: beyond biosignatures. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 2004, 217(3-4), 223–236. doi:10.1016/S0012-821X(03)00572-7
- (4) Beard, B. L.; Johnson, C. M.; Cox, L.; Sun, H.; Nealson, K. H.; Aguilar, C. Iron Isotope Biosignatures. *Sci.* 2010, 1889(1999): 1889-1892. doi:10.1126/science.285.5435.1889
- (5) Beard, B. L.; Johnson, C. M.; Von Damm, K. L.; Poulson, R. L. Iron isotope constraints on Fe cycling and mass balance in oxygenated Earth oceans. *Geol.* 2003, 31: 629-632.
- (6) Bergquist, B.; Boyle, E. Iron isotopes in the Amazon River system: Weathering and transport signatures. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 2006, 248(1-2), 39–53; doi:10.1016/j.epsl.2006.05.004

- (7) Ingri, J.; Malinovsky, D.; Rodushkin, I.; Baxter, D. C.; Widerlund, A.; Andersson, P.; Gustafsson, Ö.; Forsling, W.; Öhlander, B. Iron isotope fractionation in river colloidal matter. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 2006, 245(3-4), 792–798; doi:10.1016/j.epsl.2006.03.031
- (8) Egal, M.; Elbazpouliche, F.; Casiot, C.; Motelicaheino, M.; Negrel, P.; Bruneel, O.; Sarmiento, A.M.; Nieto, J. M. Iron isotopes in acid mine waters and iron-rich solids from the Tinto–Odiel Basin (Iberian Pyrite Belt, Southwest Spain). *Chem. Geol.* 2008, 253(3-4): 162–171; doi:10.1016/j.chemgeo.2008.05.006
- (9) Lacan, F.; Radic, A.; Jeandel, C.; Poitrasson, F.; Sarthou, G.; Pradoux, C.; Freydier, R. Measurement of the isotopic composition of dissolved iron in the open ocean. *Geophys. Res. Lett.* 2008, 35(24): 1–5; doi:10.1029/2008GL035841
- (10) Teutsch, N.; Schmid, M.; Müller, B.; Halliday, A. N.; Bürgmann, H.; Wehrli, B.. Large iron isotope fractionation at the oxic–anoxic boundary in Lake Nyos. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 2009, 285(1-2): 52–60; doi:10.1016/j.epsl.2009.05.044
- (11) Song, L.; Liu, C.-Q.; Wang, Z.-L.; Zhu, X.; Teng, Y.; Liang, L.; Tang, S., Li, J. Iron isotope fractionation during biogeochemical cycle: Information from suspended particulate matter (SPM) in Aha Lake and its tributaries, Guizhou, China. *Chem. Geol.* 2011, 280(1-2): 170–179; doi:10.1016/j.chemgeo.2010.11.006
- (12) Mester, Z.; Sturgeon, R. Sample preparation for trace element analysis; Elsevier: Amsterdam; Boston, 2003.
- (13) Wilkinson, K. J.; Nègre, J.; Buffie, J. Coagulation of colloidal material in surface waters: the role of natural organic matter, *J. Contam. Hydrol.* 1997, 26: 229–243
- (14) Bullen, T. D.; White, A. F.; Childs, C. W.; Vivit, D. V.; Schulz, M. S. Demonstration of significant abiotic iron isotope fractionation in nature: *Geol.* 2001, 29: 699–702.
- (15) Icopini, G. A.; Anbar, A. D.; Ruebush, S. S.; Tien, M.; Brantley, S. L.. Iron isotope fractionation during microbial reduction of iron: The importance of adsorption. *Geol.* 2004, 32(3): 205; doi:10.1130/G20184.1
- (16) Teutsch, N.; vonGunten U.; Porcelli D.; Cirpka O. A.; Halliday, A. N. Adsorption as a cause for Iron Isotope fractionation in reduced groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2005, 17: 4175–4185
- (17) Crosby, H. A, Johnson, C. M.; Roden, E.E.; Beard, B.L. Coupled Fe(II)-Fe(III) electron and atom exchange as a mechanism for Fe isotope fractionation during dissimilatory iron oxide reduction. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39:6698–6704.
- (18) Viers, J.; Dupre, B.; Polve, M.; Dandurand, J.; Braun, J. Chemical weathering in the drainage basin of a tropical watershed (Nsimi-Zoetele site, Cameroon): comparison between organic-poor and organic-rich waters. *Chem. Geol.* 1997, 140:181–206.
- (19) Burba, P.; Aster, B.; Nifant'eva, T., Shkinev, V.; Spivakov, B. Y. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. *Talanta.* 1998, 45(5): 977–988.
- (20) Benoit, G.; Rozan, T. F. The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. *Geochim. Cosmochim. Acta* 1999, 63(1): 113–127.
- (21) Dupré, B.; Viers, J.; Dandurand, J.-L.; Polve, M.; Bénézeth, P.; Vervier, Ph; Braun, J.-J. Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: ultrafiltration of natural and spiked solutions. *Chem. Geol.* 1999, 160(1–2): 63– 981
- (22) Gaillardet, J.; Dupr, B.; Allbgre, C. J.; Ngrel, P. Chemical and physical denudation in the Amazon River Basin. *Chem. Geol.* 1997, 142: 142-173.
- (23) Benedetti, M. F.; Mounier, S.; Filizola, N.; Benaim, J.; Seyler, P. Carbon and metal concentrations, size distributions and fluxes in major rivers of the Amazon basin. 2003, 17(7): 1363–1377; doi:10.1002/hyp.1289
- (24) Seyler, P.; Boaventura, G. R. Distribution and partition of trace metals in the Amazon basin. *Hydrol. Processes.* 2003, 17(7): 1345–1361; doi:10.1002/hyp.1288
- (25) Guyot, J. L.; Jouanneau, J. M.; Soares, L.; Boaventura, G. R.; Maillet, N.; Lagane, C. Clay mineral composition of river sediments in the Amazon Basin. *Catena.* 2007, 71 (2): 340-356
- (26) Callede, J. ; Cochonneau, G.; Ronchail, J. ; Alves, V. ; Guyot, J. ; Guimaraes, V.; de Oliveira, E. Les apports en eau de l'Amazonie a l'Océan Atlantique. *Rev. Sci. l'Eau.* 2010, 23 :247–273.
- (27) Molinier, M.; Guyot, J. L.; de Oliveira, E.; Guimaraes, V.; Chaves, A.. Hydrologie de Bassin de l'Amazonie. In *Grands Bassins Fluviaux Periatlantiques. Proceedings of the PEGI- INSU-CNRS-ORSTOM Symposium.* Orstom Editions, Paris. 1993, 335-345.
- (28) Gibbs, R. J. Water chemistry of the Amazon River. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 1972, 36: 1061-1066.

- (29) Sioli, H. The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin. In: *Monographiae Biologicae*, Dr.W. Junk Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster, 762 pp. 1984
- (30) Lewis, W. M. J.; Hamilton, S. K.; Saunders, J. F.. Rivers of Northern South America. River and Stream Ecosystems In: Cushing, C.E. Elsevier 1995, pp 219-256.
- (31) Fischer, T. R; Parsley, P. E. Amazon lakes: Water storage and nutrient stripping by algae. *Limnol. oceanogr.* 1979, 24(3): 547-553
- (32) dos Santos Pinheiro, G. M.; Poitrasson, F.; Sondag, F.; Vieira, L. C.; Pimentel, M. M.. Iron isotope composition of the suspended matter along depth and lateral profiles in the Amazon River and its tributaries. *J. S. Am. Earth Sci.* 2013, 44: 35-44.
- (33) Strelow, F. W. E. Improved separation of iron from copper and other elements by anion- exchange chromatography on a 4% cross-linked resin with high concentrations of hydrochloric acid. *Talanta* 1980, 27:727-732.
- (34) Poitrasson, F.; Halliday, A. N.; Lee, D.-C.; Levasseur, S.; Teutsch, N.. Iron isotope differences between Earth, Moon, Mars and Vesta as possible records of contrasted accretion mechanisms. *Earth Planet. Sci. Lett.* 2004, 22(3-4): 253-266
- (35) Poitrasson, F.; Freyrier, R Heavy iron isotope composition of granites determined by high resolution MC-ICP-MS. *Chem. Geol.* 2005, 222(1-2): 132–147; doi:10.1016/j.chemgeo.2005.07.005
- (36) Dideriksen, K.; Baker, J. A.; Stipp, S. L. S Equilibrium Fe isotope fractionation between inorganic aqueous Fe(III) and the siderophore complex, Fe(III)-desferrioxamine B. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 2008, 269: 280–290; doi:10.1016/j.epsl.2008.02.022
- (37) Fehr, M. A.; Andersson, P. S.; Halenius, U.; Morth, C.-M. Iron isotope variations in Holocene sediments of the Gotland Deep, Baltic Sea. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2008, 72: 807-826.
- (38) Stookey, L. L. Ferrozine - a new spectrophotometric reagent for iron. *Anal. Chem.* 1970, 42(7): 779–781; doi:10.1021/ac60289a016
- (39) Viollier, E.; Inglett, P. W.; Hunter, K.; Roychoudhury, A. N.; Van Cappellen, P.. The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters. *Appl. Geochem.* 2000, 15(6): 785–790; doi:10.1016/S0883-2927(99)00097-9
- (40) Platzner, I.T. Modern isotope ratio mass spectrometry. John Wiley & sons: Chichester, 1997
- (41) Allard, T.; Menguy, N.; Salomon, J.; Calligaro, T.; Weber, T.; Calas, G.; Benedetti, M. F.. Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil)1. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2004, 68(14): 3079–3094; doi:10.1016/j.gca.2004.01.014
- (42) Poitrasson, F. On the iron isotope homogeneity level of the continental crust. *Chem. Geol.* 2006, 235: 195-200.
- (43) Arnarson, T. S.; Keil, R. G.. Mechanisms of pore water organic matter adsorption to montmorillonite. *Mar. Chem.* 2000, 71(3-4): 309-320.
- (44) Tombácz, E.; Libor, Z.; Illés, E.; Majzik, A.; Klumpp, E.; . The role of reactive surface sites and complexation by humic acids in the interaction of clay mineral and iron oxide particles. *Org. Geochem.* 2004, 35(3): 257-267.
- (45) Feng, X.; Simpson, A. J.; Simpson, M. J. Chemical and mineralogical controls on humic acid sorption to clay mineral surfaces. *Org. Geochem.* 2005, 36 (11): 1553-1566.
- (46) Davis, J. A.; Gloor, R Adsorption of dissolved organics in lake water by aluminum oxide. Effect of molecular weight. *Environ. Sci. Technol.* 1981, 15: 1223-1229
- (47) Buffle, J.; Wilkinson, K. J.; Stoll, S.; Filella, M.; Zhang, J. A Generalized Description of Aquatic Colloidal Interactions: The Three-colloidal Component Approach. *Environ. Sci. Technol.* 1998, 32(19): 2887–2899; doi:10.1021/es980217h
- (48) Nakamura, A.; Okada, R. The coagulation of particles in suspension by freezing-thawing IV . Prevention of coagulation by network or eutectic formation. *Colloid & Polymer Sci.* 1977, 255:362–367.
- (49) O'Melia, C. R. Particle-particle Interactions. *Aquatic Surface Chemistry*. Stumm,W. (ed.) John Wiley&Sons, New York. 1987.
- (50) de Jong, J.; Schoemann, V.; Tison, J. L.; Becquevort, S.; Masson, F.; Lannuzel, D.; Petit, J.; Chou, L., Weis, D.; Mattielli, N. Precise measurement of Fe isotopes in marine samples by multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS). *Anal. Chim. Acta.* 2007, 589 (1): 105–119.

- (51) Escoube, R.; Rouxel, O. J.; Sholkovitz, E.; Donard, O. F. X. Iron isotope systematics in estuaries: The case of North River, Massachusetts (USA). *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2009, 73(14): 4045–4059; doi:10.1016/j.gca.2009.04.026
- (52) von Blanckenburg, F., Iron Isotope Fractionation in Soils, Goldschmidt Conference. Cambridge Publications, Oxford, 2000. p 1057.
- (53) Fantle, M. S.; DePaolo, D. J.. Iron isotopic fractionation during continental weathering. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 2004, 228(3-4): 547–562; doi:10.1016/j.epsl.2004.10.013
- (54) Emmanuel, S.; Erel, Y.; Matthews, A.; Teutsch, N.. A preliminary mixing model for Fe isotopes in soils. *Chem. Geol.* 2005, 222 (1–2): 23–34
- (55) Wiederhold, J., Teutsch, N., Kraemer, S., Halliday, a, & Kretzschmar, R. Iron isotope fractionation in oxic soils by mineral weathering and podzolization. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2007, 71(23): 5821–5833; doi:10.1016/j.gca.2007.07.023
- (56) Poitrasson, F.; Viers, J.; Martin, F.; Braun, J. Limited iron isotope variations in recent lateritic soils from Nsimi, Cameroon: Implications for the global Fe geochemical cycle. *Chem. Geol.* 2008, 253(1-2):54–63; doi:10.1016/j.chemgeo.2008.04.011
- (57) Allard, T.. Nature and properties of suspended solids in the Amazon Basin. *Bulletin de la Societe Geologique de France.* 2002, 173(1):67–75; doi:10.2113/173.1.67
- (58) Allard, T.; Webe, T.; Bellot, C.; Damblans, C.; Bardy, M.; Bueno, G.; Nascimento, N. R.; Fritsch, E.; Benedetti, M. F.. Tracing source and evolution of suspended particles in the Rio Negro Basin (Brazil) using chemical species of iron. *Chem. Geol.* 2011, 280: 79-88.
- (59) Nascimento, N. R.; Fritsch, E.; Bueno, G. T.; Bardy, M.; Grimaldi, C; Melfi, A. JPodzolisation as a deferralization process: dynamics and chemistry of ground and surface waters in a Acrisol–Podzol sequence of the upper Amazon Basin. *Eur. J. Soil Sci.* 2008, 59:911–924.
- (60) Fritsch, E.; Allard, T.; Benedetti, M. F.; Bardy, M.; Nascimento, N. R.; Li, Y.; Calas, G. Organic complexation and translocation of ferric iron in podzols of the Negro River watershed . Separation of secondary Fe species from Al species. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2009, 73(7):1813–1825; doi:10.1016/j.gca.2009.01.008
- (61) Hiemstra, T.; van Riemsdijk, W. Biogeochemical speciation of Fe in ocean water. *Mar. Chem.* 2006, 102:181–197
- (62) Weber, T.; Allard, T.; Tipping, E.; Benedetti, M. F. Modeling iron binding to organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40:7488–7493.
- (63) van Schaik, J. W. J.; Persson, I.; Berggren Kleja, D.; Gustafsson, J. P.. EXAFS study on the reactions between iron and fulvic acid in acid aqueous solutions. *Environ. Sci. Technol.* 2008, 42 (7): 2367–2373.
- (64) Olivie-Lauquet, G.; Allard, T.; Benedetti, M.; Muller, J.-P.. Chemical distribution of trivalent iron in riverine material from a tropical ecosystem: a quantitative EPR study. *Water Res.* 1999, 33: 2726–2734.
- (65) Eyrolle, F., Benedetti, M. F., Benaim, J. Y., Fevrier, D. The distribution of colloidal and dissolved organic carbon, major elements, and trace elements in small tropical catchments. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 1996, 60:3643–3656.
- (66) Aucour, A. ; Tao, F.; Moreira-turcq, P. ; Seyler, P The Amazon River: behaviour of metals (Fe, Al, Mn) and dissolved organic matter in the initial mixing at their confluence Rio Negro / Solimo. *Chem. Geol.* 2003, 197:271-285; doi:10.1016/S0009-2541(02)00398-4
- (67) Chen, J. L; Wilson, C. R.; Tapley, B. D. The 2009 exceptional Amazon flood and interannual terrestrial water storage change observed by GRACE. *Water Resour. Res.* 2010, 46(12):1-10; doi:10.1029/2010WR009383
- (68) Martinez, J. M.; Guyot, J. L.; Filizola, N.; Sondag, F.. Increase in suspended sediment discharge of the Amazon River assessed by monitoring network and satellite data. *Catena.* 2009, 79(3):257-264.

7. Insights on iron sources and pathways in the Amazon River provided by isotopic and spectroscopic studies

Daniel Santos Mulholland^{a,b}, Franck Poitrasson^{a,b}, Geraldo Resende Boaventura^a, Thierry Allard^c,
Lucieth Cruz Vieira^a, Roberto Ventura dos Santos^a, Luiz Mancini^a, Patrick Seyler^{a,b}

^a Instituto de Geociências, Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília, Brazil.

^b Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse, Institut de Recherches pour le Développement – Centre National de la Recherche Scientifique – Université de Toulouse, 14-16, avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France.

^c Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, UMR CNRS 7590, UPMC & UDD, IPGP, IRD, 4, place Jussieu, 75252, Paris cedex 05, France.

(Manuscript accepted to be published at *Geochimica et Cosmochimica Acta*)

Abstract

The present study investigated the weathering and transport mechanisms of Fe in the Amazon River. A particular emphasis was placed on Fe partitioning, speciation, and isotopic fractionation of Solimões and Negro Rivers contrasted waters and their mixing zone at the start of the Amazon River. Samples collected in the end-members rivers and thirteen sites distributed throughout the mixing zone were processed through frontal vacuum filtration and tangential-flow ultrafiltration to separate the different suspended solids fractions, *i.e.*, particulates ($P > 0.45\mu\text{m}$ and $P > 0.22\mu\text{m}$), colloidal ($0.22\mu\text{m} > C > 5\text{KD}$) and truly dissolved elements ($\text{TD} < 5\text{KD}$). The Fe isotopic composition and paramagnetic species of the different pore-sized fractions provided precise information about the sources and biogeochemical processes occurring in the upland soils and proved to be good proxies of the mechanisms involving Fe loss and transfer in the mixing zone. The acidic and organo-Fe-rich waters of the Negro River displayed dissolved and colloidal fractions enriched in heavy isotopes ($\sim 1.2\text{‰}$, in $\delta^{57}\text{Fe}$ values), associated with Fe oxidation and complexation mechanisms at the interface between waterlogged podzols and river networks. The particulate fractions yielded light isotopic compositions of -0.344‰ for $P > 0.22\mu\text{m}$ and -0.104‰ for $P > 0.45\mu\text{m}$ fractions). These values are linked with the continuous exportation of isotopically light plant debris and organic matter associated with mineral particles from the reduced horizons of podzols. The mineral particulate-rich waters of the Solimões River had dissolved and colloidal fractions with light isotopic composition (-0.532 and -0.176‰ , respectively) attributed to the dissolution kinetic of Fe-bearing minerals and to the speciation and adsorption fractionation in the river waters. Conversely, the particulate fractions yielded $\delta^{57}\text{Fe}$ values close to that of the continental crust (*i.e.*, -0.029 for $P > 0.22\mu\text{m}$ and 0.028‰ for $P > 0.45\mu\text{m}$), inherent to strong mechanical weathering in the Andean Cordillera and upland soils. One kilometer downstream from the Negro and Solimões junction, the concentration of colloidal and dissolved Fe species along the different mixing proportions begins to deviate markedly from conservative mixing, with a maximum Fe loss of $43\mu\text{g/L}$ (*i.e.*, 50% of the dissolved and colloidal Fe) located 110km downstream the rivers junction. The massive dissolved and colloidal Fe removal is associated with the evolution of the physical and chemical composition of the waters (*i.e.*, pH and ionic strength) during mixing, which influences organo-Fe³⁺ and Fe³⁺-oxyhydroxides stability and likely promotes the: (a) dissociation of organo-Fe

complexes and the subsequent formation of solid Fe³⁺-oxyhydroxides and semiquinone free radicals; (b) destabilization and flocculation of Fe³⁺-oxyhydroxides and humic colloids containing bound Fe; and (c) adsorption of organo-Fe complexes onto particulate suspended solids. As in estuarine regions, the mechanisms involving Fe transfer and loss in the mixing zone cause a minor impact on the overall Fe isotopic composition suggesting that a tropical basin such as the Amazon delivers to the oceans waters with Fe isotopic composition similar to the Earth's continental crust mean.

7.1 INTRODUCTION

The geochemical investigation of the Amazon River waters provides a global scale overview of the transport pathways of weathering products from continents to oceans in tropical regions. Among the world's major rivers, the Amazon ranks first in terms of drainage area (5.96 x10⁶ km²), and water discharge (206 000m³/s) (Callede et al., 2010), which corresponds approximately to 17% of the global fresh water runoff. The Amazon River is formed by the confluence of the Solimões and Negro Rivers that account, respectively, for 56% and 16% of the total discharge of the Amazon at its mouth (Molinier et al. 1993, 1997). These rivers drain different pedoclimatic regions (Lewis et al., 1995 and Quesada et al., 2011) and as a result exhibit contrasting physical and chemical water properties (Gibbs, 1972; Sioli, 1984; Stallard and Edmond, 1983). Therefore their confluence plays a key role in the transport dynamics of metals and organic compounds in the Amazon Basin.

The composition of the dissolved ions and suspended solids of the Negro and Solimões Rivers have been extensively outlined by previous studies (e.g., Meade, 1985; Richey et al., 1986; Devol et al., 1995; Gaillardet et al., 1997; Aucour et al., 2003; Benedetti et al., 2003 ; Seyler and Boaventura, 2003). Basically, the Negro River waters are relatively acid (pH~4.5), rich in colloidal Fe and organic carbon, with low concentrations of dissolved cations and suspended solids (mainly kaolinite). These black waters drain regions covered by podzols, ferrasols and acrisols, located on the northern side of the Central Amazon Basin that supports the rain forest. Conversely, the Solimões River waters are rich in dissolved cations with circumneutral pH, contain a large amount of suspended solids (smectites, illite and minor amount of kaolinites; Guyot et al., 2007), and are depleted in dissolved and colloidal Fe. These white waters drain the Andean Cordillera and regions covered mainly by acrisols, ferrasols and plinthosols. A preliminary study comparing the Fe isotopic composition between the dissolved and particulate phases of the Amazon Basin reported a large isotopic fractionation between

these phases for the Negro River, and a negligible isotopic fractionation for the Solimões and Amazon River (Bergquist and Boyle, 2006). These contrasting isotopic signatures are likely linked to the different water chemistry of the rivers, and the nature of the soils and vegetation drained by these tributaries of the Amazon River.

Given the marked differences between the Negro and Solimões Rivers, their water mixing processes must be well understood to correctly identify the controlling geochemical mechanisms of metals transport throughout the Amazon Basin. Previous studies reported that within the first 25 km downstream from the Negro and Solimões mixing zone, the dissolved and particulate Fe fractions behaved non-conservatively due to the preferential removal of Fe bound to N-rich organic matter and Fe oxyhydroxides (Aucour et al., 2003), with considerable particulate and dissolved organic carbon loss (Moreira-turcq et al., 2003). In addition, McKnight et al. (1992) reported that the confluence of an acidic, metal-rich stream with an organic and metal-poor river led to a 40% removal from solution of dissolved organic carbon by sorption with the particulate hydrous Fe and Al oxides, which were precipitated in the mixing zone. Although mixing of river and ocean waters is known to produce a minor influence on the overall Fe isotopic composition (Bergquist and Boyle, 2006; de Jong et al., 2007; Escube et al., 2009), the Fe isotopic effect during the mixture of two large rivers with markedly distinct chemistries, as the Negro and Solimões, has never been addressed thus far.

The present study investigates the nature, distribution, and isotopic composition of Fe from different pore-sized water fractions of the Amazon Basin Rivers in order to describe the main weathering and transport mechanisms controlling Fe transfer from land to downstream riverine waters in a tropical basin. A particular emphasis was placed on the Negro and Solimões Rivers and their mixing zone to improve our comprehension of the processes underlying Fe non-conservativeness during the mixture of rivers with contrasted chemistries. Our data revealed that although the non-conservative mixing of Fe from contrasted waters has a minor impact on the overall Fe isotopic signature, the combined Fe isotopic and paramagnetic evaluation provides precise information on the nature of the soils located in the headwater zone feeding the river basin, and yielded insights on the biogeochemical processes occurring in the catchment area and in the Amazon River mixing zone.

7.2 MATERIAL AND METHODS

7.2.1. Sampling and filtration

The sampling campaign took place in September during the exceptional drought of 2010, when the Solimões and Negro Rivers had minimum and similar water discharges, and in July 2011, during the flood season. The Acoustic Doppler Current Profiler - ADCP method (Filizola and Guyot, 2004) was used to measure the water discharge across rivers transects. Water samples were collected from the Solimões River (Manacapuru gauging station), the Negro River (Paricatuba gauging station) and from thirteen sites distributed 110 km downstream along rivers mixing zone, before its confluence with the Madeira River (Figure 21). Considering that the Negro and Solimões waters have distinct electrical conductivities, this parameter was used in the field in every sampling site to estimate the mixing proportion of each Amazon River tributaries end-members at a given site. In both campaigns, water samples were collected ~0.5m below the water surface. For the field mission occurring during the low waters of 2010, lateral and depth profiles were performed in the end-members Solimoes and Negro Rivers. The lateral profile samples were collected in five different locations, evenly distributed in between the rivers banks. The depth profile samples were selected according to the deepest level, measured by ADCP. In the Negro River, samples were collected at 0.5, 6, 12, 20 and 30m deep, and in the Solimões River at 0.5, 5, 10, 15 and 20m.

Electrical conductivity, pH, Eh, and temperature were measured in bulk water samples during or immediately after sampling using a WTW 340i multiparameter instrument, calibrated against WTW standards. Eh measurements were performed using an ORP probe. The measured values were certified using an YSI 3682 Zobell's solution with an accuracy of $\pm 10\text{mV}$ and corrected for the standard hydrogen electrode (SHE) as described by APHA (1998).

Water samples were collected in HDPE (High Density Polyethylene) bottles previously cleaned with commercial HCl (1M) and de-ionized water (MilliQ, $18\text{m}\Omega$). The samples were vacuum filtered on board in a glove box using a frontal filtration Millipore® Polysulfone system, equipped with cellulose acetate membranes with $0.45\mu\text{m}$ pore size. The filtration system and the membranes were previously conditioned with 250mL of water from the sampling site prior to filtration of the aliquot for analysis. After filtration, the membranes were dried at room

temperature inside a glove box and stored in Petri slides. Particulate ($P > 0.22\mu\text{m}$), colloidal ($5\text{KD} < C < 0.22\mu\text{m}$), and truly dissolved ($\text{TD} < 5\text{KD}$) fractions from each site were separated on the boat immediately after sampling from 50L of water by tangential-flow ultrafiltration (Pelicon, Millipore®). Membranes with final cutoff of $0.2\mu\text{m}$ (Durapore®) and 5KD (polyethersulfone) were used. Residual particles in the membranes were removed by applying reverse water flow. All permeates and retentates were stored in HDPE bottles, previously cleaned with HCl (1M) and MilliQ water.

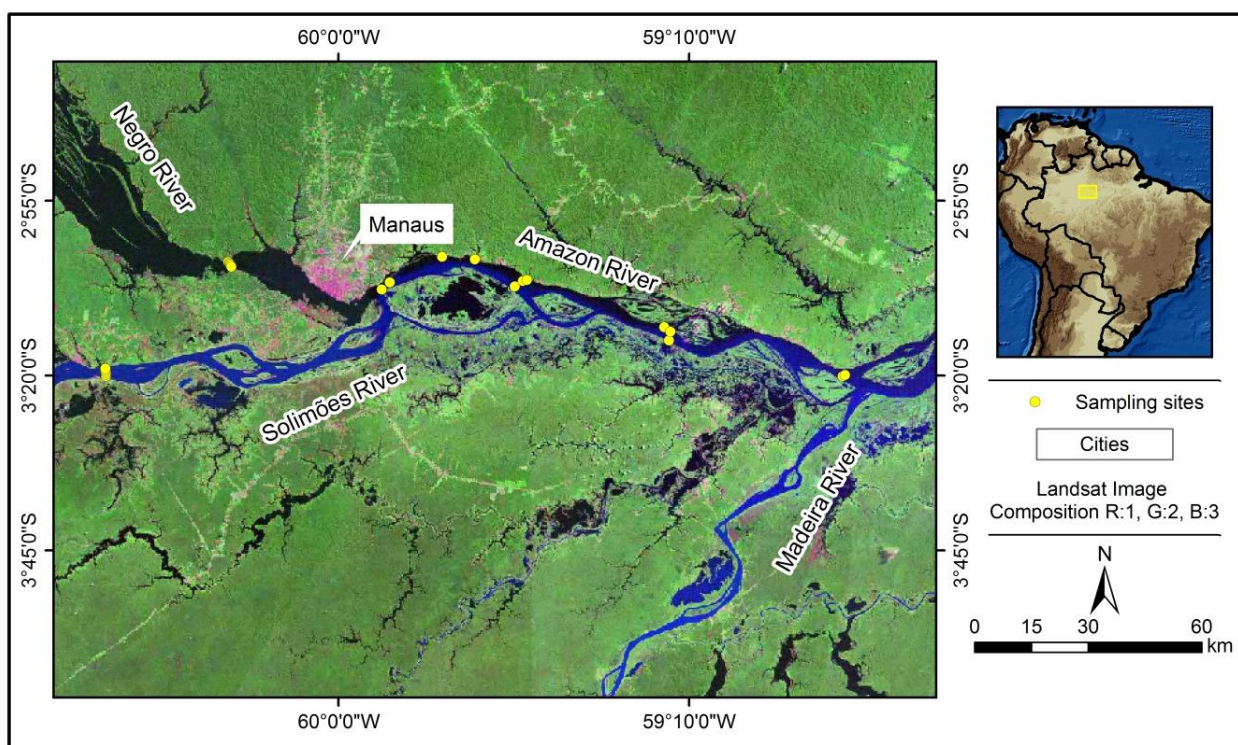


Figure 21– Localization of the study area and sampling sites in the Negro and Solimões mixing zone

7.2.2. Sample dissolution

Sample dissolutions were performed in a class 10000 clean room, using bi-distilled acids, Merck SupraPur H_2O_2 (30%), de-ionized water (MiliQ, 18 $\text{m}\Omega$) and Teflon vessels. The particulate matter (fraction $>0.45\mu\text{m}$) were dissolved, together with the membranes, in 8 ml of HNO_3 and 1 ml of H_2O_2 , left overnight on a hot plate at 80°C and then taken to dryness. Subsequently, 0.2 ml of HNO_3 , 1 ml of HF, and 0.6 ml of 6M HCl were added. The Teflon vessels were left overnight on a hot plate at 80°C before evaporation. The digestion residues

were solubilized in 5 ml of 6M HCl and a 1 ml aliquot was separated for centrifugation and iron purification by ion chromatography.

The ultrafiltration retentates and permeates solutions were firstly evaporated in Teflon vessels with volumes ranging from 1 ml to 1.3 L, according to Fe concentration measured and outlined in previous studies (e.g., Benedetti et al., 2003; Seyler and Boaventura, 2003; Aucour et al., 2003). The evaporated samples were taken up in 1 mL of H₂O₂ and left overnight at room temperature. Subsequently, 1 ml of HNO₃ was added to the previous solution, left overnight on a hot plate at 80°C, and then taken to dryness. The samples were then dissolved overnight in 1.2 ml of HF and 1.2 mL of HNO₃ at 80°C before evaporation. The next step consisted in the sample digestion with 0.6 mL of 6M HCl and 0.3 mL of HNO₃. The Teflon vessels were left overnight on the hot plate at 80°C and then the solutions were again taken to dryness. Evaporation residues were dissolved in 2ml of 6M HCl overnight at 80°C and evaporated. The digestion residues were then solubilized in 0.5 to 1 ml of 6M HCl before Fe purification.

7.2.3 Fe speciation and concentration measurements

Iron concentration and speciation of the permeate water fractions were determined using the FerroZine[®] colorimetric method developed by Stookey (1970), modified by Viollier et al. (2000). The absorbance was recorded in a Spectrophotometer T-60 UV-VIS PG Instruments, with a wavelength of 562 nm, in 1 cm cells. The Fe²⁺ and Fe³⁺ concentrations were measured in the fraction < 0.45µm, on board, immediately after sample filtration, within ~1h of sample collection. The filtration membranes and ultrafiltration retentates were analyzed using a ICP-OES, Horiba Jobin Yvon Ultima2, after sample digestion. The concentrations of Fe in the retentate fractions (P > 0.22µm and 5KD < C < 0.22µm) of the ultrafiltration samples were calculated by correcting their concentrations for the permeate concentration (for details see Hoffmann et al., 1981; Olivie-Lauquet et al., 1999). The international geostandard SLRS-4 (Riverine Water Reference Material for Trace Metals, certified by the National Research Council of Canada) was used to check the validity and reproducibility of each analysis. Replicated measurements of SLRS-4 yielded a relative difference < 5% (n = 13) compared with the certified value.

7.2.4 Isotopic measurements

After sample dissolution, Fe was purified using 0.5 ml of Bio Rad AG1 X4, 200–400 mesh anion exchange chromatography in HCl medium (Strelow, 1980), loaded in thermoretractable Teflon columns (internal diameter of 4 mm), and cleaned with 5ml of 6M HCl and 7ml of 0.05M HCl. As described by Poitrasson et al. (2004), the cleaned resins were preconditioned with 1ml of 6M HCl prior to the introduction of 0.5 to 1.0 ml of the sample previously dissolved in 6M HCl. The matrix species were eluted with 2.5 ml of 6M HCl, while the purified Fe was eluted with 2 ml of 0.05M HCl. The solutions were then dried and re-dissolved in 0.05M HCl for Fe isotopic determination.

Iron isotope measurements were performed using a Thermo Electron Neptune MC-ICPMS (Multicollector – Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) as described by Poitrasson and Freydier (2005). Measurements were performed using medium or high resolution entry slits to resolve polyatomic interferences. Two different types of sample introduction systems were used during the analytical sessions. The SIS inlet (Stable Introduction System) was used to analyze the particulate and colloidal fractions, while the ESI-APEX-Q inlet system (without membrane desolvation) was used to increase the signal sensitivity and allow the analyses of samples with low concentration of Fe (*i.e.*, the permeate fractions <0.22 μ m and <5KD). Sample solutions were measured with concentrations ranging from 0.25 to 3.5 ppm. For data validation, each analysis session includes measurements of the in-house standard (hematite from Milhas, Pyrénées), also known as the ETH hematite standard (Eidgenossische Technische Hochschule Zurich), with accepted $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $0.744 \pm 0.040\text{‰}$ (2 SD, $n = 55$ pooled analyses), reported by Poitrasson and Freydier (2005). In the present study, the ETH hematite standard was analyzed between groups of five samples and yielded $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $0.755 \pm 0.082\text{‰}$ (2 SD, $n = 17$). Both $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ and $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ ratios were measured in the analytical sessions for quality control, but given that samples plot on a single mass fractionation line, only $\delta^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ values are reported and discussed herein. All the procedural blanks processed through digestion and purification chemistries, including the frontal filtration membranes, were <1% of the analyzed sample. Iron isotopic results are reported using the delta notation relative to the IRMM-14 iron isotopic reference material, expressed in permil (‰), as described below:

$$\delta^{57}Fe \text{ (‰)} = \left(\frac{{}^{57}Fe / {}^{54}Fe_{sample}}{{}^{57}Fe / {}^{54}Fe_{IRMM-14}} - 1 \right) \times 10^3 \text{ (Eq. 18)}$$

Oxygen and hydrogen isotopic measurements were performed on unfiltered waters, using a mass spectrometer Delta V Plus. The isotopic ratios are reported using the δD and $\delta^{18}O$ notations relative to SMOW reference material, expressed in permil (‰). The δD measurements used a HDevice inlet system after reaction with CrO_3 at $850^\circ C$, while the $\delta^{18}O$ measurements were performed with a Gas Bench II inlet system by equilibrating aliquots of the water samples with He- CO_2 mixture. During the analytical sessions, replicate measurements of the international certified reference materials VSMOW, GISP and SLAP from IAEA (International Atomic Energy Agency) yielded differences of up to $\sim 1\%$ for δD and $\sim 0.2\%$ for $\delta^{18}O$ compared to the certified values.

7.2.5 Paramagnetic species and organic groups

The paramagnetic species and the major organic groups were investigated by EPR (Electron Paramagnetic Resonance) and FT-IR (Fourier Transformed Infrared Spectroscopy) on the colloidal and particulate retentates (fraction $5KD < C < 0.22\mu m$ and $P > 0.22\mu m$), previously separated by tangential-flow ultrafiltration in the field, and dried at $40^\circ C$. The FT-IR spectra were recorded in transmission mode with a Nicolet, Magna 560 spectrometer, in the $4000-250 \text{ cm}^{-1}$ range, with a 2 cm^{-1} resolution. The samples were previously ground, mixed with 300mg of KBr, and pressed at 8 tons/cm^2 to form 13mm wide pellets.

The EPR measurements were performed at 9.42 Ghz (X-band) frequency with a Bruker ESP300E. Sample analyses were conducted using a microwave power of 40 mW, modulation amplitude of 3 to 5 Gauss and normalized filling factor of the resonant cavity. Data were normalized according to gain and sample mass. Effective values of spectroscopic factor g were detailed by Allard et al. (2004). The EPR data were used to estimate the concentration of Fe^{3+} bound to organic matter ($[Fe^{3+}\text{-OM}]$) using a calibration performed from a Fe-doped humic acid standard with 2.85 wt % Fe according to a previous study (Allard et al., 2011). The concentration of colloidal oxides is expressed in arbitrary units, for lack of appropriate standard. Concentrations of $Fe^{3+}\text{-OM}$ and Fe oxides were determined from the main EPR resonance of each Fe specie using the simplified relation applied to the derivative spectrum described by Calas (1988): $A = k \cdot H_2 \cdot I$, which provides an estimate of the area of integrated peak (A),

where k is a constant, H and I are the peak-to-peak line width and amplitude, respectively. It is expressed herein in Fe weight percent of dried solid (Fe^{3+} -OM wt%d.s.) for the organic-rich colloidal fraction.

7.3 RESULTS

7.3.1 *The end-members and the mixing zone*

Physical-chemical results of the waters sampled in missions conducted during the low waters and flood season are shown in Table 7. For both seasons, the waters of the Solimões River had neutral pH with values along the depth and lateral cross-section extending from 6.6 during the flood season to 7.3 during the low water season. Electrical conductivity was also uniform in the lateral and depth profiles, with a lower value being observed during the high waters. The waters of the Negro River were more acidic, with pH ranging from 4.9 to 5.3, without significant variation between the different sampled seasons and along cross-sections. Electrical conductivity showed a slight variation along the lateral profile. There does not appear to have variations with seasons or toward lower depths. Measured water discharges in the low water season was of $30260 \pm 300 \text{ m}^3/\text{s}$ for the Negro, and amounted to $39560 \pm 400 \text{ m}^3/\text{s}$ for the Solimões, which produced a measured water discharge of $70210 \pm 700 \text{ m}^3/\text{s}$ for the Amazon River (Table 7). Hence, relative contributions were of 56% from the Solimões and 44% from the Negro. Electrical conductivity measurements and field observations showed that mixing between waters from the two rivers was very inefficient, even at 110 km from their confluence, since a homogenous trend along the river cross-section was not observed.

As reported in Table 7, the δD and $\delta^{18}\text{O}$ values showed no significant variations along the depth and lateral profiles of the Solimões and Negro rivers, demonstrating homogeneity along their cross section. The Solimões River had lighter isotopic values for both δD (-30.8‰ to -29.5‰) and $\delta^{18}\text{O}$ (-5.2‰ to -4.9‰) when compared to those of the Negro River (δD ranging from -25.1‰ to -22.7‰ ; and $\delta^{18}\text{O}$ from -4.2‰ to -3.9‰). The data reported herein are consistent with those from Aucour et al. (2003), which showed a conservative behavior for oxygen and hydrogen isotopes within the rivers mixing zone (Figure 22).

Table 7 – Sampling sites information and samples physical-chemical properties

Sample	Date	Depths (m)	Distance (km) ^a	Q (m ³ /s) ^b	E.C. (µS/cm)	pH	Eh (mV)	T (°C)	[Fe] (µg/L) ^c	SPM (mg/L) ^d	f ^e	δD ‰	δ ¹⁸ O ‰
MAN10L01	24/09/10	0.5	--		110	7.2	302	33.7	8	51	1	-30.2	-5.2
MAN10L02	24/09/10	0.5	--		112	7.2	302	32.2	12	45	1	-30.8	-5.0
MAN10L03	24/09/10	0.5	--	39560	114	7.2	301	31.8	10	54	1	-30.5	-4.9
MAN10L04	24/09/10	0.5	--		117	7.3	300	31.9	12	46	1	-29.5	-5.0
MAN10L05	24/09/10	0.5	--		108	7.2	304	32.9	9	62	1	--	--
MAN10P02	24/09/10	5	--		118	7.2	329	31.1	9	39	1	-30.5	-5.2
MAN10P03	24/09/10	10	--		120	7.3	349	30.6	11	39	1	-30.4	-5.0
MAN10P04	24/09/10	15	--		117	7.2	389	30.7	12	40	1	-30.3	-5.1
MAN10P05	24/09/10	20	--		119	7.2	419	30.9	82	34	1	-30.3	-4.9
MAN11L03	21/06/11	0.5	--		74	6.6	334	30.2	61	67	1	--	--
PA10L01	28/09/10	0.5	--		14	5.3	464	31.9	151	6	0	-25.1	-4.2
PA10L02	28/09/10	0.5	--		15	4.9	431	32.0	143	7	0	-24.9	-4.1
PA10L03	28/09/10	0.5	--	30260	15	5.0	399	32.8	136	7	0	-24.6	-3.8
PA10L04	28/09/10	0.5	--		9	5.1	413	32.6	143	7	0	-24.1	-4.2
PA10L05	28/09/10	0.5	--		9	5.2	409	33.0	154	7	0	-24.2	-4.1
PA10P02	28/09/10	6	--		10	5.1	436	32.7	138	6	0	-24.2	-4.0
PA10P03	28/09/10	12	--		9	5.5	434	32.5	144	11	0	-23.8	-4.0
PA10P04	28/09/10	20	--		9	5.6	472	31.7	140	10	0	-23.6	-3.9
PA10P05	28/09/10	30	--		10	5.7	489	31.4	158	17	0	-22.7	-4.1
PA11L03	20/06/11	0.5	--		18	4.9	385	29.0	174	25	0	--	--
ENC1001	29/09/10	0.5	0		69	7.0	321	31.4	89	18	0.63	-27.8	-4.5
ENC1002	29/09/10	0.5	1		29	6.6	329	31.1	80	14	0.12	-24.8	-4.2
ENC1003	29/09/10	0.5	10		40	6.9	353	30.7	71	23	0.22	-25.4	-4.3
ENC1004	29/09/10	0.5	20		23	6.7	355	31.9	95	13	0.03	-24.3	-4.2
ENC1005	29/09/10	0.5	30		85	7.2	316	31.9	30	49	0.73	-28.4	-4.1
ENC1006	29/09/10	0.5	30		53	6.8	367	32.5	51	30	0.37	-26.3	-4.2
ENC1007	29/09/10	0.5	30		25	6.5	365	32.3	88	23	0.07	-24.5	-3.9
ENC1008	30/09/10	0.5	70		22	6.4	322	31.7	100	15	0.05	-24.4	-4.1
ENC1009	30/09/10	0.5	70	69024	91	7.1	323	32.2	27	41	0.63	-27.8	-4.7
ENC1010	30/09/10	0.5	70		49	6.8	324	33.0	54	18	0.22	-25.4	-4.0
ENC1011	30/09/10	0.5	110		70	7.0	349	31.4	37	21	0.44	-26.7	-4.4
ENC1012	30/09/10	0.5	110	70210	56	7.1	381	31.7	43	19	0.27	-25.7	-4.3
ENC1013	01/10/10	0.5	110		69	7.0	368	29.2	47	29	0.37	-26.3	-4.22
ENC1101.1	20/06/11	0.5	0		48	6.2	319	30.3	96	31	0.62	--	--
ENC1101.2	20/06/11	0.5	0		58	6.3	334	29.6	88	34	0.73	--	--
ENC1101.3	20/06/11	0.5	0		43	6.3	334	30.2	105	35	0.53	--	--

a - Distance (km) from Negro and Solimões confluence;

b - Discharge mean value of the whole cross-section measured by ADCP;

c – Dissolved Fe concentration measured by the Ferrozine method, on board after sample filtration

d – Suspended particulate matter separated using 0.45µm membranes

e – Fraction of the Solimões River water end member in the mixing zone

MAN: Manacapuru Station (Solimões River); PA: Paricatuba Station (Negro River); ENC: mixing zone; L: Lateral Profile; P: depth profile;

E.C.: electrical conductivity; --: no data.

Since hydrogen isotopes display more contrasting values compared to oxygen isotopes, they were used to define the contribution (f) of both rivers in the mixing zone through the mass balance equation:

$$C_m = C_s \times f + C_n \times (1-f) \text{ (Eq. 19)}$$

where C_m is the δD value of the water sample in the mixing zone, and C_n and C_s are the δD values of the water in the Negro and Solimões Rivers, respectively (adapted from McKnight et al., 1992).

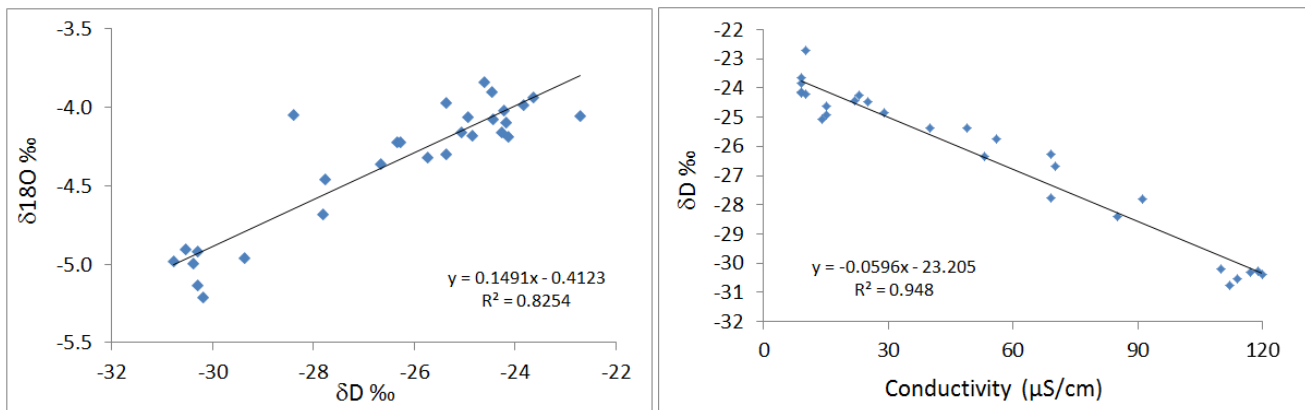


Figure 22 – Relationship between δD and $\delta^{18}O$ (left) and electrical conductivity and δD (right) for surface water samples, showing that these parameters behave conservatively within the mixing processes

Figure 23 plots Fe concentrations in different water fractions against the f values in order to evaluate the conservative or non-conservative behavior of Fe in these fractions. Away from the immediate confluence, the data do not define a mixing line between the end-members downstream, demonstrating the non-conservative behavior of Fe during the rivers mixture. A straight line corresponds to a conservative mixture and is only observed at the Negro and Solimoes Rivers junction.

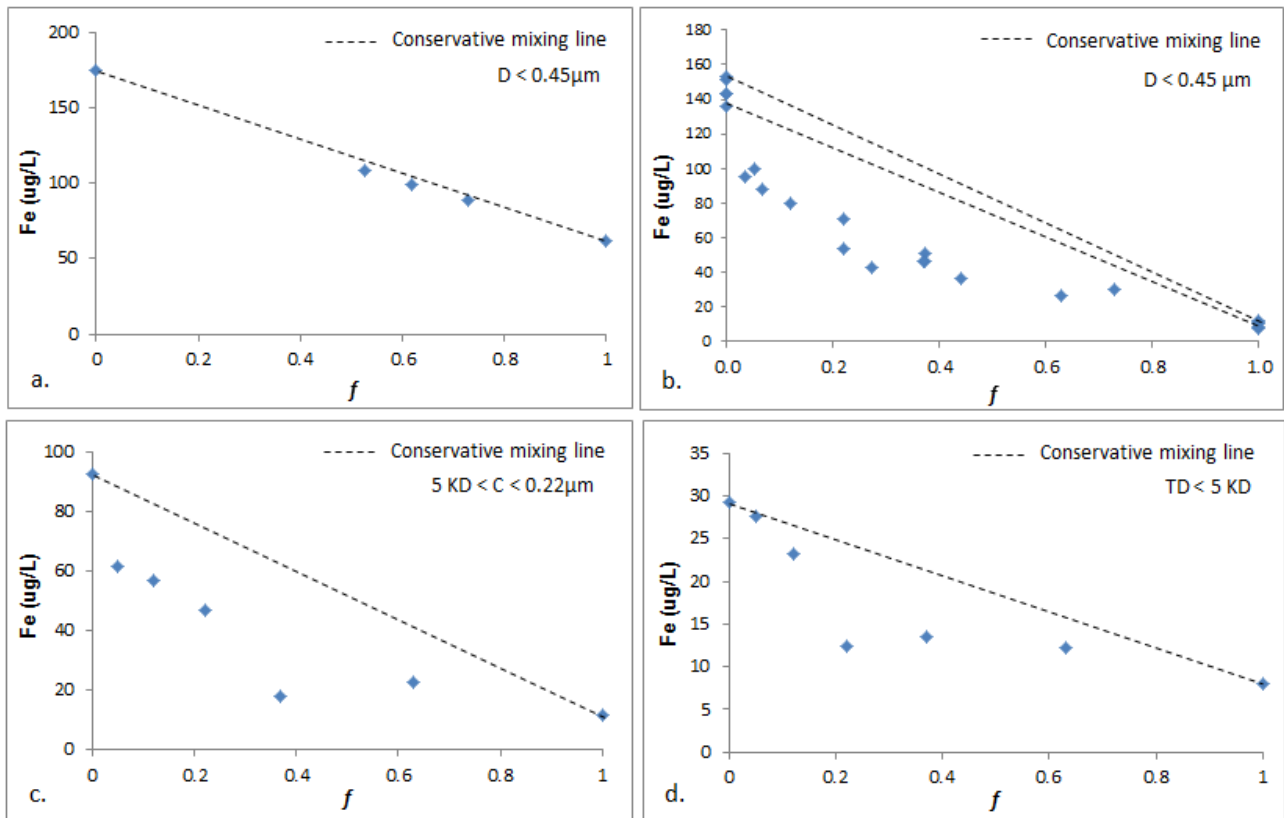


Figure 23 – Iron concentration conservative behavior at the start of the rivers confluence (a.) and Fe non-conservative behavior further down the whole mixing zone of the dissolved (b.), colloidal (c.) and truly dissolved (d) Fe fractions. f = fraction of Solimões River in the mixing zone

7.3.2 Iron partitioning and distribution

The dissolved Fe concentration of surface waters sampled during the low waters of 2010 (<0.45µm fraction) ranged from 8 to 12 µg/L in the Solimões River and from 136 to 154 µg/L in the Negro River (Table 7). In the latter, a decrease of the Fe concentration in the center of the river cross section was observed. In contrast to the lateral profiles, however, there were significant variations in Fe concentration with depth. In the Solimões River, Fe concentration increased to 82 µg/L at the river bottom (20m deep), while in the Negro River it increased to 158 µg/L at 30m deep. This behavior is associated with variations in Fe speciation measured in the field by the FerroZine® method. For instance, while all surface waters samples had Fe^{3+}/Fe_{total} ratio of 1, showing that Fe was present mainly in its oxidized form, at deeper waters the Fe^{3+}/Fe_{total} ratio shifted down to 0.46 for the Solimões and to 0.96 for the Negro. The greater mobility of Fe^{2+} compared to Fe^{3+} might explain the increase of total Fe concentration in deeper waters shown in Table 7. Marked differences were also found when compared to the Fe concentration of surface waters between different seasons. For example, during the flood

season of 2011, the Fe content in the Solimões showed a six fold increase to reach 61µg/L while in the Negro River, a more modest 30% increase lead to concentrations of 174µg/L. This implies an important variation of Fe weathering, mobility, and transport between seasons, particularly for the white waters. As can be seen in Figure 23a, the samples collected in different water mixing proportions at the rivers junction showed conservative behavior for Fe concentrations with samples lying on the theoretical mixing line. On the other hand, samples located further downstream in the mixing zone showed non-conservative behavior, with values below the theoretical mixing line, indicating Fe removal during mixture (Figure 23b). In other words, this finding shows that dissolved Fe loss started to occur beyond 1km downstream from the end-members confluence (sample ENC1002, Table 7). However, a better characterization of the kinetics of the process would require a more detailed sampling than that of the present study. The Fe concentration of the particulate fraction >0.45µm (Table 8) ranged from 0.31 in the Negro River to 2.59 mg/L in the Solimões, which represent up to 5.1w.t.% of the particulate suspended matter. This fraction ranged from 70 to >99% of total Fe in the bulk water sample.

The Fe partitioning was assessed using the data obtained from the ultrafiltration samples reported in Table 8. Iron distribution is shown as a percentage of the sum of mass related to the different fractions. The particulate fraction >0.22µm, ranged from 0.4 mg/L to 3.1mg/L, which represents 77% and >99% of the total Fe in the bulk water sample of the Negro and Solimões Rivers, respectively. The permeate fraction <0.22 µm yielded Fe concentrations of 122µg/L for the Negro River and 22µg/L for the Solimões River. Below 0.22 µm, the colloidal fraction accounts for ~75% of the Fe concentration in the Negro River and ~50% in the Solimões River. In the mixing zone, the colloidal and dissolved Fe content varied between the end-members, with values below the theoretical mixing line, also indicating a non-conservative trend of Fe during the rivers mixture (Figure 23c, d). Below 0.22 µm, the colloidal fraction contributed with 66 to 97% of the total amount of Fe loss during rivers mixture. The Fe concentrations and distribution in the different water fractions of the end-members are consistent with previous studies (e.g., Gaillardet et al., 1997; Seyler and Boaventura, 2003; Benedetti et al., 2003; Berquist and Boyle, 2006).

Table 8 – Iron concentration and distribution in the different water fractions separated by frontal and tangential-flow ultrafiltration

Samples	P > 0.45µm		P > 0.22µm	D < 0.22µm	5 KD < C < 0.22µm	TD < 5 KD
	[Fe] wt.%	[Fe] mg/L	[Fe] mg/L	[Fe] µg/L	[Fe] % ^a	[Fe] % ^a
Pa10L03	4.2	0.31	0.4	122	76	24
Enc1013	4.6	1.58	1.83	30	55	45
Enc1010	4.7	1.08	0.89	58	81	19
Enc1009	5	2.02	2.2	35	65	35
Enc1008	3.9	0.79	0.9	89	69	31
Enc1002	5.1	0.88	0.75	80	71	29
Man10L03	4.8	2.59	3.1	22	53	47

a – Fe distribution below the fraction 0.22µm

P: particulate, D; dissolved, C: colloidal and TD: truly dissolved

7.3.3 Evidence of non conservativeness from Fe-bearing colloids

Fourier Transform InfraRed spectra of the colloidal fractions are given in Figure 24. The Negro River had a major contribution of the doublet at about 1600 and 1400 cm⁻¹ that is assigned to carboxylate functional groups bound with metal ions (-COOMe). A small shoulder located around 1710 cm⁻¹ in the Negro River spectrum is related to a contribution of protonated carboxylic groups (-COOH), consistent with lower pH waters, supported by previous experimental studies (e.g., Piccolo and Stevenson, 1982 and Senesi, 1992a). A broad band in the 3400-3200 cm⁻¹ region arises from OH of organic groups (e.g., phenolic, alcoholic, carboxylic groups) and occurs in combination with the H₂O stretching band. The weak triplet at 2850-2960 cm⁻¹ is characteristic of CH₂ and CH₃ carbohydrate stretching, arising mainly in the Solimões River colloids. The band around 1000 cm⁻¹ results from small contributions of colloidal quartz and kaolinite, mainly in the Solimões River colloids. In all samples, organic matter appears as the major colloidal species.

The EPR spectra of the colloidal fractions are given in Figure 25. All the analyzed colloids present a rhombic signal at 1500 Gauss (g=4.3) characteristic of high spin and magnetically diluted Fe³⁺ ions associated with organic groups (Fe³⁺-OM) as inner sphere complexes (Senesi, 1992a). The presence of a six-line signal centered at g = 2 in the Negro River colloids is assigned to the hyperfine structure of Mn²⁺ ions. These data are indicative of tumbling and weakly bound manganese ions associated with organic matter as outer-sphere complexes (McBride, 1982). A strong and broad resonance centered around 3500 Gauss is indicative of Fe-rich phases, caused mainly by colloidal Fe oxides and oxyhydroxides, likely

associated with organic matter, as observed in organic rich waters from the Nyong River basin, South Cameroon (Olivié-Lauquet et al., 1999) and the Amazon River Basin (Allard et al. 2004). The mixing zone samples are distinguished through an additional sharp resonance located at $g = 2$ which is assigned to semiquinone free radicals (Senesi, 1990, 1992b).

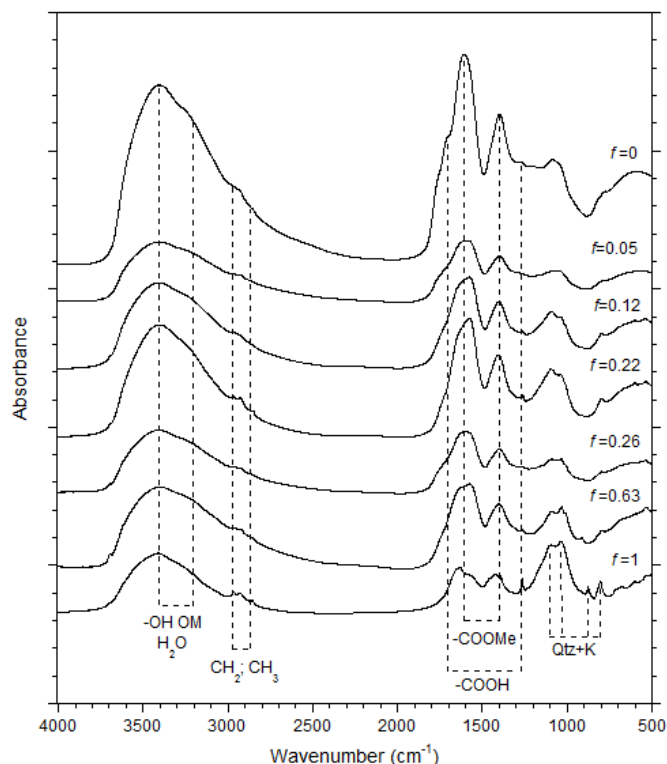


Figure 24 - Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectra of colloidal fraction of the Solimões and Negro River mixing zone, demonstrating carboxylate functional groups bound with metal ions (-COOMe), protonated carboxylate groups (-COOH), carbohydrate stretching (CH₂ and CH₃), other organic groups in combination with H₂O stretching (-OH OM and H₂O), quartz (Qtz) and kaolinite (K), f = fraction of Solimões River in the mixing zone

In summary, all the studied colloidal fractions are dominantly organic in nature and present very similar FT-IR signatures despite the contrasting mineralogy and geochemistry of the rivers. However, the Negro River colloids are more organic-rich in nature than the Solimões River colloids, as supported by the smaller absorption bands of OH from minerals. The Negro River corresponding EPR and FT-IR signatures of organic matter are typical of “humic like” colloids (Stevenson and Goh, 1971; Weber et al., 2006a) as extensively outlined by Allard et al. (2002, 2004) and Olivié-Lauquet et al. (1999, 2000) in the Amazon and Nyong Rivers suspended solids, and by Fritsch et al. (2009) at the podzols of the Negro River watershed.

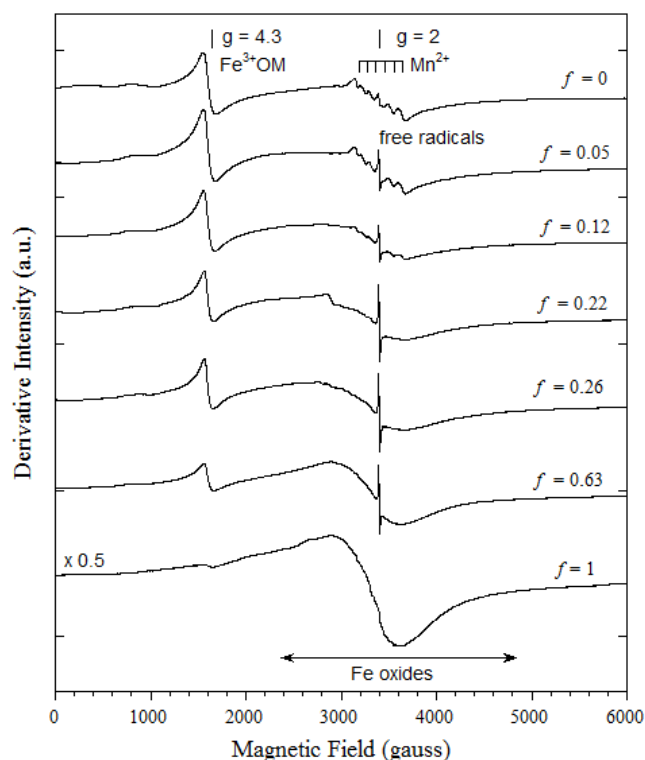


Figure 25 – Full range X-band EPR demonstrating paramagnetic species in the colloidal fraction from Solimões and Negro Rivers mixing zone: Fe^{3+} complexed to organic matter (Fe^{3+} -OM), divalent manganese, and organic free radicals, f = fraction of Solimões River in the mixing zone

The estimated concentration of Fe^{3+} -OM ranged from 0.17 to 4.8% of the colloidal suspended matter, with higher values in the Negro River than the Solimões River (Figure 6a). The $[\text{Fe}^{3+}\text{-OM}]$ reported herein is in agreement with the previous study of Allard et al. (2011) in the Amazon Basin organic-rich waters. As shown at Figure 26, there is direct involvement of organic complexation in Fe behavior in the mixing zone, indicating non conservativeness with selective and preferential removal of Fe^{3+} from colloidal organic matter. By contrast, the concentration of colloidal Fe oxides measured by EPR is located above the theoretical mixing line (Figure 26b), indicating also a non-conservative behavior but with preferential gain of Fe oxides in the colloidal fraction during mixing. Consequently, organo- Fe^{3+} complexes and Fe oxides exhibit opposite behaviors with a common non conservative regime. While colloidal matter yields a clear signal, the Fe oxides from the particulate fraction exhibit quite scattered pattern that hinders the clear recognition of a mechanism (Figure 26c, d).

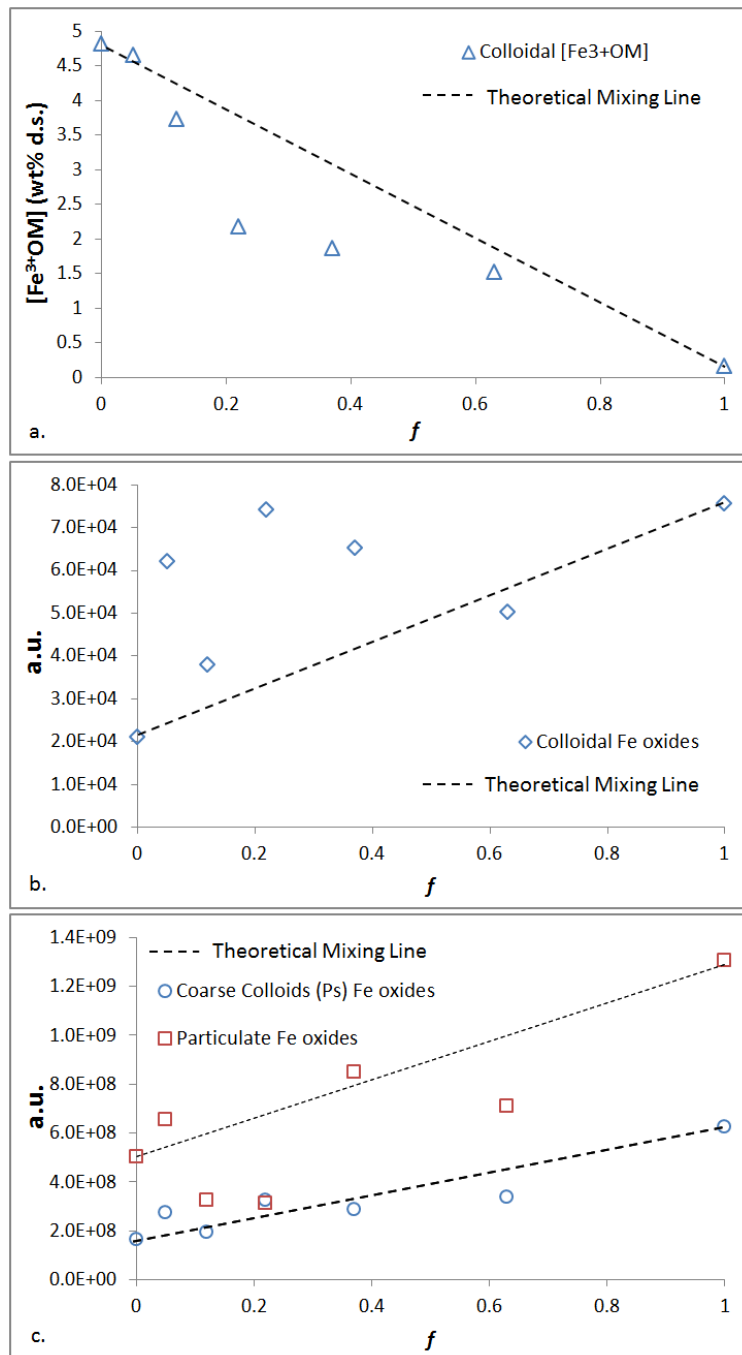


Figure 26 – Distribution of colloidal, coarse colloidal (Ps) and particulate Fe species throughout Negro and Solimões mixing zone (a) concentration of colloidal Fe³⁺ complexed to organic matter ([Fe³⁺-OM]); (b) colloidal Fe oxides concentration; and (c) coarse colloids (for details see Allard et al., 2004) and particulate Fe oxides concentration. a.u. = arbitrary units; f = fraction of Solimões River in the mixing zone

7.3.4 Isotopic Artifacts due sample filtration

Problems due to filters membrane clogging, that modify their effective pore size were addressed by many authors (Viers et al., 1997; Burba et al., 1998; Benoit and Rozan, 1999; Dupré et al., 1999) and may induce Fe isotopic changes. Bergquist and Boyle (2006) studied the effect of filtration during several hours on the concentration and isotopic composition of Fe

in samples from the Solimões River. No isotopic fractionation was observed on the $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $-0.31 \pm 0.06\text{‰}$ (2SD, $n = 13$), even considering the significant variation in Fe concentration. In boreal organic-rich waters, Ilna et al. (2013) compared $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the 1KD fraction from direct and cascade ultrafiltration to evaluate a possible filtration artifact. The authors demonstrated that both filtration methods produce the same values of $\delta^{57}\text{Fe}$ within analytical uncertainty (1.77 ± 0.06 and $1.77 \pm 0.07\text{‰}$, respectively).

In this study, filtration artifacts on Fe isotopic composition were addressed by comparing filtrates collected at the beginning and at the end of the ultrafiltration procedure (*i.e.*, the first and last liters). This approach made it possible to evaluate a putative evolution of Fe isotopic composition through the membranes and the effects of possible membrane clogging and Fe adsorption on filtration apparatus during filtration. The $\delta^{57}\text{Fe}$ values in the different filtration stages obtained from the <5KD filtrates for the Enc1008 sample show negligible variation, considering the uncertainties, with $\delta^{57}\text{Fe}$ values of $0.987 \pm 0.038\text{‰}$ and $0.996 \pm 0.014\text{‰}$, respectively. Furthermore, the absence of isotopic fractionation related to filtration is also supported by the similarity between the calculated value for Enc 1010 bulk sample ($\delta^{57}\text{Fe}$ of $0.048 \pm 0.113\text{‰}$, Table 9), based on mass balance of the different Fe fractions, and the bulk water measurement ($0.060 \pm 0.086\text{‰}$) reported by Poitrasson et al. (2013).

7.3.5 Iron Isotopic Composition

The isotopic values obtained for each water fraction are given in Table 9 and Figure 27. Despite the $P > 0.22\mu\text{m}$ fraction, all water fractions analyzed exhibit contrasting Fe isotopic composition between the endmembers. The $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the permeate fraction $< 0.22\mu\text{m}$ are $-0.325 \pm 0.057\text{‰}$ for the Solimões River and $1.201 \pm 0.066\text{‰}$ for the Negro River. In the colloidal fraction ($5\text{KD} < C < 0.22\mu\text{m}$), the Negro River also yielded a heavy isotopic value of $1.190 \pm 0.095\text{‰}$, whereas for the Solimões River we obtained a $\delta^{57}\text{Fe}$ value of $-0.176 \pm 0.086\text{‰}$. In the same way, the truly dissolved fraction $< 5\text{KD}$ presents heavy Fe isotopic composition of $1.116 \pm 0.040\text{‰}$ in the Negro River and a light isotopic composition in the Solimões River of $-0.532 \pm 0.094\text{‰}$. The $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the particulate fractions ($> 0.22\mu\text{m}$ and $> 0.45\mu\text{m}$) also differentiate the end-members, in spite of the smaller isotopic difference if compared to the dissolved fraction. There is an enrichment of light isotopes in particulate fraction from the Negro River (*i.e.*, $-0.104 \pm 0.015\text{‰}$, for $> 0.22\mu\text{m}$; and $-0.344 \pm 0.088\text{‰}$, for $> 0.45\mu\text{m}$) if compared to

the $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the Solimões River ($-0.029 \pm 0.054\text{‰}$, for $>0.22\mu\text{m}$; and $0.028 \pm 0.054\text{‰}$, for $>0.45\mu\text{m}$), which present values closer to the Earth crust mean (*i.e.* $\delta^{57}\text{Fe} \sim 0.1 \pm 0.03\text{‰}$, Poitrasson et al., 2006). Although the isotopic behavior of Fe of both rivers falls within what was first outlined by Bergquist and Boyle (2006), the shift of the results between both studies could arise from the different filtration methods or more likely from seasonal variations over the years. The Bergquist and Boyle (2006) samples were collected in March, 2002, before the flood season, whereas the samples reported herein were collected in September, during the exceptional low waters of 2010. At the mixing zone, the $\delta^{57}\text{Fe}$ values significantly varied between the end-members for most of the water fractions analyzed, despite the $\text{P}>0.22\mu\text{m}$ fraction, as reported in Figure 27.

Table 9 – Fe isotopic composition of Negro and Solimões Rivers different water fractions and their mixing zone at the start of the Amazon River

Sample	P > 0.45 μm			P > 0.22 μm			5KD < C < 0.22 μm			D < 0.22 μm			TD < 5KD			Bulk ^b	
	$\delta^{57}\text{Fe}$	n	2SE ^a	$\delta^{57}\text{Fe}$	n	2SE ^a	$\delta^{57}\text{Fe}$	n	2SE ^a	$\delta^{57}\text{Fe}$	n	2SE ^a	$\delta^{57}\text{Fe}$	n	2SE ^a	$\delta^{57}\text{Fe}$	2SE ^a
Pa10L03	-0.344	3	0.088	-0.104	6	0.015	1.190	3	0.095	1.201	3	0.066	1.116	3	0.040	0.190	0.068
Enc1013	0.017	3	0.058	0.021	6	0.073	0.367	6	0.066	0.134	3	0.026	n.m.			0.023	0.077
Enc1010	0.045	6	0.062	0.026	6	0.073	0.335	3	0.108	0.345	3	0.086	1.062	3	0.060	0.048	0.113
ENC1009	0.060	3	0.113	0.083	6	0.060	-0.045	6	0.061	n.m.			0.501	6	0.078	n.m.	
Enc1008	-0.257	3	0.009	0.034	3	0.045	0.710	3	0.086	0.870	3	0.050	0.996	3	0.014	0.109	0.067
Enc1002	-0.053	3	0.063	-0.075	3	0.080	0.681	3	0.026	0.891	3	0.062	n.m.			0.048	0.101
Man10L03	0.028	3	0.054	-0.029	3	0.093	-0.176	6	0.086	-0.325	3	0.057	-0.532	3	0.094	-0.031	0.109

a – Two standard error uncertainties (SE) calculated based on the number of analyses using the Student t-correcting factor (Platzner, 1997).

b – values calculated by the mass balance between the dissolved and particulate fraction at 0.22 μm

n.m. – not measured, P: particulate, D; dissolved, C: colloidal and TD: truly dissolved

7.4 DISCUSSION

7.4.1 Weathering mechanisms and Fe transport

The contrasting Fe concentrations and isotopic composition of the Solimões and Negro Rivers reveal different weathering mechanisms affecting Fe mobilization and transport in different pedoclimatic regions (ferralitic vs. podzolic). The heavy isotopic composition in the dissolved and colloidal phases of the Negro River is related to Fe behavior on the laterites-podzols transition zone located on the northern side of the Central Amazon Basin that support the rain forest. The Fe pathway to the Negro River initiates from the dissolution and mobilization

of iron oxides in the upslope Acrisols and waterlogged compartment of laterites, and moves laterally through the podzols, where it is exported to surficial soil horizons and to the river network (do Nascimento et al. 2008; Allard et al. 2011). Gradual cyclic redox changes will partially decrease the dissolved Fe^{2+} pool and increase the Fe^{3+} complexation with organic matter in the waterlogged podzol (Fritsch et al., 2009).

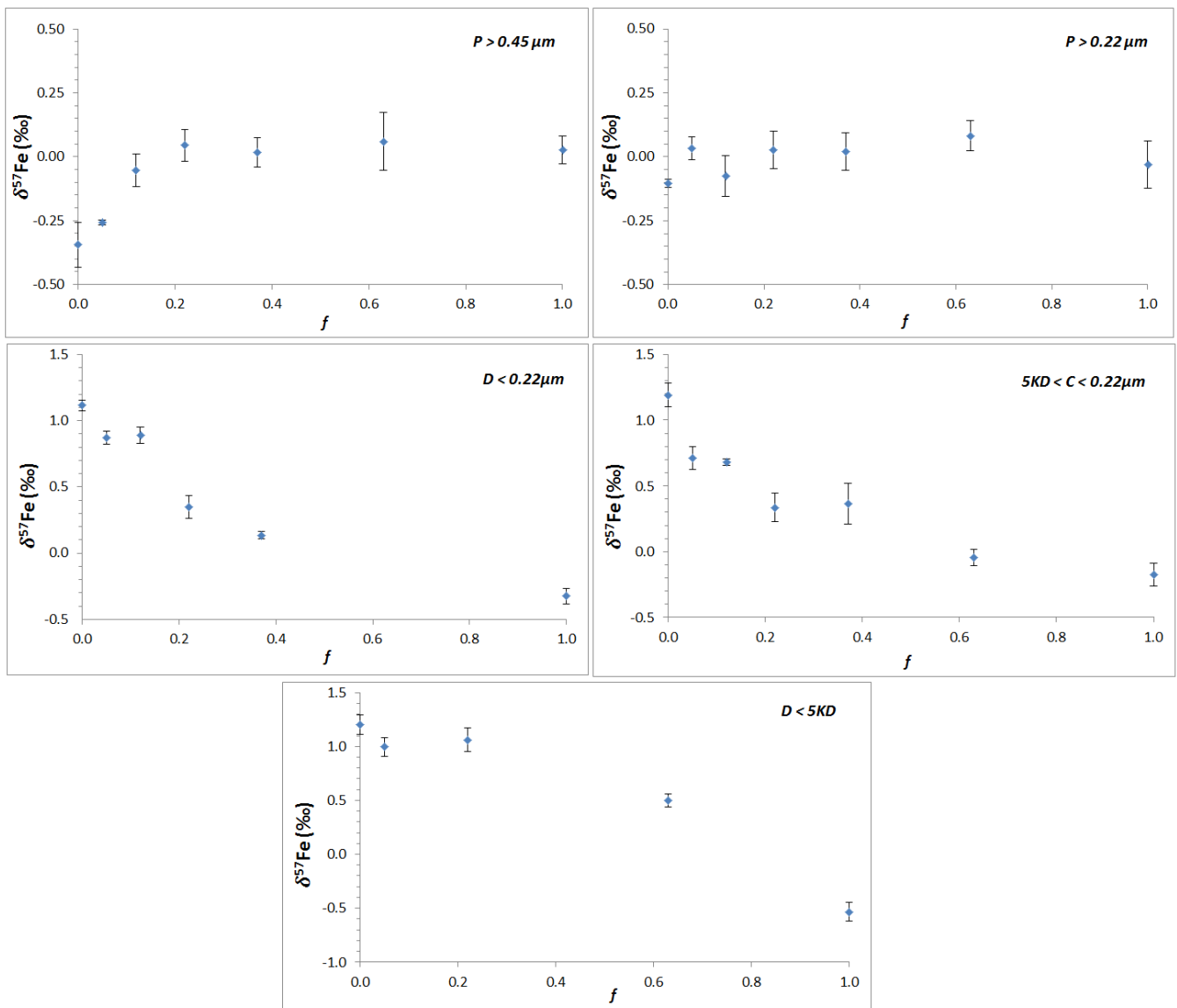


Figure 27 – Fe isotopic composition of Negro and Solimões Rivers mixing zone at the start of the Amazon River in different water fractions

Sorption of Fe^{3+} onto organic compounds is more efficient than Fe^{2+} (Hiemstra and van Riemsdijk, 2006; Weber et al., 2006b and van Schaik et al., 2008). According to previous theoretical and experimental studies (Bullen et al. 2001; Beard et al, 2010) and natural

observations (Escoubé et al., 2009 and Teutsch et al., 2009), Fe^{3+} species are more linked to heavier isotopes than Fe^{2+} and, therefore, the Fe^{3+} -OM-rich colloids will yield heavy Fe isotopic signatures (Figure 28). Hence, the preferential complexation of heavy Fe isotopes due to their stronger bond strength with carboxylic and phenolic functional groups may also explain the higher isotopic composition of the Negro River colloidal organic matter. These observations are also consistent with the FT-IR and EPR data shown herein (Figure 24 and 25). Although the type of functional group involved in trivalent Fe binding is not differentiated by EPR, Allard et al. (2004) argued that the two major reactive groups involving metal binding are the carboxylic and phenolic types, based on NICA-Donnan model calculations and potentiometric titration measurements. Quantum mechanical calculations suggested that the heavier isotope concentrates in the species that has the stiffer bond, *i.e.* linked with the high oxidation state of Fe, and that presents coordinated covalent bonds between Fe and carboxyl and phenol moieties, as inner sphere complexes (Senesi, 1992a; Criss, 1999; Allard et al., 2002; Schauble, 2004; Domagal-Goldman et al., 2009). Recent experimental studies of isotopic fractionation caused by Fe^{3+} complexation with organic ligands are consistent with this hypothesis. For example, the isotopic composition of Fe^{3+} associated with organic ligands such as desferrioxamine-B (DFO-B) is enriched by $0.90 \pm 0.23\%$ relative to the aqueous Fe^{3+} species at $\sim 25^\circ \text{C}$ (Dideriksen et al., 2008). In the same way, the adsorption of aqueous Fe on phytoplankton cell surface, present in the form of individual Fe-O_6 octahedra linked to carboxyl or phosphoryl groups (Gonzalez et al., 2009, 2010), is enriched in the heavy Fe isotope by 2.4 ± 0.6 to $2.9 \pm 0.1\%$ relative to aqueous Fe^{2+} (at $\text{pH} \sim 6$ and $\sim 25^\circ \text{C}$), and by 0.4 ± 0.2 to $1.0 \pm 0.2\%$ relative to aqueous Fe^{3+} (at $\text{pH} \sim 3$ and $\sim 25^\circ \text{C}$; Mulholland et al., 2010). However, there have been only few experimental and theoretical studies of Fe isotope fractionation during interaction with organic ligands and therefore, a systematic understanding of Fe fractionation during ligand binding is still necessary (Morgan, et al., 2010 and Domagal-Goldman and Kubicki, 2008). The numerous possible types of organic Fe complexes, their different binding capacities and isotopic effects can explain the dissimilar Fe isotopic behavior in different organic-rich rivers. For example, Ingri et al. (2006) outlined the isotopic composition of a riverine water from a Boreal river in Sweden with Fe^{3+} -humic-rich colloids depleted on ^{57}Fe relative to ^{54}Fe isotopes, while Fe hydroxides waters yielded higher $\delta^{57}\text{Fe}$ values. Since the riverine Fe of the organic-rich waters from Negro River partially originates from the gradual oxidation and

complexation of Fe delivered by the dissolution of Fe oxides in the waterlogged ferrasols (do Nascimento et al. 2008; Fritsch et al., 2009), one can also infer that these soils yield Fe isotopic composition different from the Earth's continental crust mean ($\delta^{57}\text{Fe} \sim 0.1 \pm 0.03\%$; Poitrasson et al., 2006) and the well-expressed ferrasols studied by Poitrasson et al. (2008) in Cameroon.

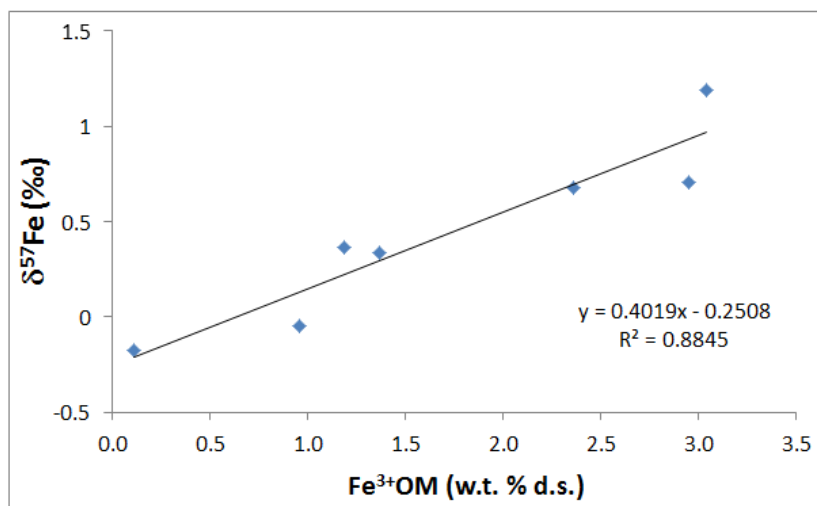


Figure 28 – Correspondence between Fe isotopic composition and $[\text{Fe}^{3+}\text{-OM}]$ of the colloidal suspended matter in the Negro and Solimões Rivers mixing zone

The contrasting isotopic signature between the Negro and Solimões Rivers also reveals different types and sources of particulate matter. The lighter isotopic values of the Negro River particulate coarse fraction ($>0.45\mu\text{m}$) (Table 9 and Figure 27a) can be linked to the reduced and isotopically light Fe pool in the waterlogged shallow podzol horizons due to the high content of organic matter arising from vegetation biochemical activity and litter. Accordingly, Wiederhold et al. (2007) outlined the enrichment of light Fe isotopes in the organic surface layers in topsoil A and subsoil Bh horizons of two well-drained podzols with preferential translocation of light isotopes from A to Bh horizons promoted by organic ligands dissolution kinetics of Fe oxides. The accumulation of light Fe isotopes in the bulk soil horizons A and Bh of podzols can also be linked to a preferential exportation of isotopically heavier $\text{Fe}^{3+}\text{-OM}$ complexes in the dissolved and colloidal fraction to surface river waters (Fritsch et al., 2009). The light isotopic values in the Negro River particulate fraction (Table 9 and Figure 27a) is also likely linked with the source of the particulate organic carbon that consist mainly of plant debris and degraded soil organic matter associated with mineral particles, as indicated by Hedges et al. (1986). Guelke and von Blanckenburg (2007) showed that leaves of strategy I higher plants (trees found in the Amazon forest) yield an isotopic composition depleted in ^{56}Fe relative to ^{54}Fe . Thus, one can infer that

the coarse particulate fraction (*i.e.*, $>0.45\mu\text{m}$) of Negro River is linked with the continuous exportation of isotopically light plant debris and organic compounds associated with mineral fractions from reduced horizons of podzols to the river network. The isotopically heavier values obtained for the $0.22\mu\text{m}$ compared with the $0.45\mu\text{m}$ particulate fraction (Table 9 and Figure 27a, b) are related to larger proportions of aggregated, small colloidal units, as shown by Ranville et al. (2000).

The lower Fe isotopic composition of dissolved and colloidal fractions of the Solimões River (Table 9 and Figure 27c, d, e) relative to the continental crust mean (*i.e.* $\delta^{57}\text{Fe} \sim -0.1 \pm 0.03\text{‰}$, Poitrasson et al., 2006) are consistent with previous studies (Fantle and DePaolo, 2004) which infers that under oxidizing conditions at the Earth's surface, exchangeable Fe with light isotopic values will be preferentially delivered to riverine water and, therefore, transported from the continent to the ocean. Since oxidizing environments prevail at the soils of Solimões watershed, the dissolved and colloidal Fe isotopic composition is mainly associated with the dissolution kinetics of Fe-bearing minerals, which causes an enrichment of light Fe isotopes in early dissolved fractions (Wiedrehold et al., 2006). The riverine colloidal and dissolved phases becomes further depleted in heavy isotopes due to the preferential precipitation of isotopically heavy Fe oxyhydroxides under neutral pH and oxidizing environment. The Fe^{2+} would preferentially oxidize and form isotopically heavy Fe^{3+} solid oxyhydroxides, leaving the remaining solution enriched in light isotopes. Adsorption processes also yield the preferential scavenging of heavier isotopes in the solid phases, leaving the solution isotopically lighter than the residual material (Icopini et al., 2004; Teutsch et al., 2005; Crosby et al., 2005). These observations indicate that the dissolved Fe supplied to organic-poor rivers from parental rock weathering might be depleted in heavy isotopes compared with the soils and suspended matter phases, mainly caused by the dissolution kinetic and speciation and adsorption fractionation. However, this fraction has a small contribution to the total riverine Fe budget, *i.e.* $<1\%$ (Table 8).

The particulate fractions of the Solimões River have values (Table 9 and Figure 27a, b) closer to the continental crust mean (*i.e.*, $\delta^{57}\text{Fe} \sim -0.1 \pm 0.03\text{‰}$; Poitrasson et al., 2006) linked with Fe oxides and structural Fe^{3+} of clays that are the main species of Fe, as reported by Allard et al. (2002). These observations suggest that particulate Fe originates primarily from the mechanical erosion and subsequent weathering in the Andean Cordillera and the well-developed soils (ferralsols and acrisols) that are the main soil types drained by the Solimões

River. Similarly, Fantle and De Paolo (2004) reported that rivers with high contents of suspended matter (e.g. Yukon and Susitna Rivers, Alaska) yield heavier isotopic values in the particulate fraction compared with rivers depleted in suspended matter (e.g. Klamath and Eel Rivers, California).

The ubiquity of microorganisms in tropical environments and their ability to fractionate the isotope compositions of metals (Gélabert et al., 2006; John et al., 2007; Pokrovsky et al., 2008; Jouvin et al. 2009; Mulholland et al., 2010) make them prominent candidates for Fe isotopic fractionation in the Amazon Basin waters and soils. In the waters of the Solimões River and its feeding floodplains and lakes, the abundant supply of dissolved major cations in solution promotes the development of great planktonic bacterial biomass contents (Wissmar et al., 1981), which provide major sites for Fe binding, accumulation, and deposition in the Amazonian white waters (Konhauser et al., 1993). On the other hand, in the Negro River, known to have low content of dissolved major cations and high concentration of stabilized colloidal Fe³⁺-OM (Figure 25), microorganisms can scavenge metals only to fulfill their physiological requirements (Konhauser et al., 1993), and therefore, negligible fractionation should be expected through cell-solution interactions in such black waters. Thus, bacteria mediated isotopic fractionation in the Negro Basin should be mostly linked with microorganism activities in soils (e.g., organo-Fe complexes degradation), which isotopic effects are still unknown. In the Solimões watershed, the bacteria mediated isotopic fractionation should occur mainly in waters from floodplains and lakes through uptake and adsorption by phytoplanktonic bacterial.

7.4.2 Iron behavior in the mixing zone

The riverine distribution of colloidal and dissolved Fe along the different mixture proportions shows that at the end-members junction negligible Fe loss was found (Figure 23a) while beyond 1 km downstream from end-members junction, Fe began to deviate markedly from conservative mixing (Figure 23b), with Fe loss ranging from 15 to 43 µg/L, i.e., 30 to 50% of the dissolved and colloidal Fe. Although metal behavior during rivers mixing had been poorly documented, this phenomenon has long been recognized to occur in most estuarine zones due to the coagulation of Fe-rich colloids caused by seawater concentrated salts. The estimated Fe removal in estuaries ranged from 54 to 96% (Boyle et al. 1977; Escoube et al., 2009).

The Negro and Solimões Rivers are characterized by contrasting physical and chemical features (e.g., pH, temperature, and dissolved ions and organic carbon content) known to control the interaction and stability of organo-metallic compounds in natural waters (Senesi, 1990, 1992b; Benedetti, 1995; Jerzykiewicz et al., 2002). While these rivers mix, the evolution of physical and chemical features from the acidic, and dissolved major cations-poor waters of Negro River to the dissolved major cations-rich and neutral waters of the Solimões River will influence the Fe^{3+} organic complexes and oxyhydroxides stability. The effects of water mixing on the stability of organo-Fe complexes is clear on Figure 26a and b, where significant amounts of Fe^{3+} are lost from organic matter with an opposite gain of solid Fe^{3+} -oxyhydroxides. The rise of free radicals in the mixing zone samples (shown in Figure 25) points to variations in the quinone–semiquinone–hydroquinone equilibria in the macromolecular matrix of humic acids known to be sensitive to various chemical factors such as pH, ionic strength, and redox reactions (Senesi, 1990, 1992b). In addition, the concentration of free radicals increases with lower amounts of metals ions complexed with humic acids (Jerzykiewicz et al., 2002). Previous studies investigated the effects of pH and electrolyte concentration on the equilibrium of trace metals complexed with humic and fulvic acids and showed that the dissociation of organo-metallic complexes increases toward higher ionic strength and lower pH values (Phoenix and Cabaniss, 1990; Rate et al., 1993, Rey et al. 1998). Thus, the data reported herein suggest that the gradual increase of electrolyte concentration and pH from the Negro to Solimões waters during their mixture contributes to organo-Fe complexes dissociation, which will release Fe^{3+} from organic moieties and, consequently, increase the semiquinone free radical concentrations in the macromolecular matrix of the humic acids and the formation of solid Fe^{3+} oxyhydroxides at circa neutral pH waters.

The second mechanism is linked to the destabilization of high-molecular-weight humic acids and Fe^{3+} -oxyhydroxides through electrostatic interactions. The gradual evolution of electrolyte concentrations from the Negro River to the Solimões River increases the ionic strength causing the chemical destabilization of the colloidal dispersion (*i.e.*, adsorption of counter ions on the colloid's surface or particle electrical double layer repression) and the cation-induced coagulation of negatively-charged humic colloids containing bound iron and Fe^{3+} -oxyhydroxides (Ong and Bisquer, 1968; Eckert and Sholkovitz, 1976; Ledin et al., 1993). Flocculation of humic acids with mineral suspended solids was also reported by Leenher and Menezes Santos (1980) at the confluence of the Negro and Branco Rivers. The removal of the

dissolved and colloidal total Fe (irrespective of its speciation) points to the flocculation and precipitation of organic complexes containing bound Fe and possibly a fraction of the newly-formed Fe³⁺-oxyhydroxides, which will incorporate the riverbed sediment downstream. The irreversible removal of Fe from the colloidal fraction suggests a Rayleigh isotopic fractionation (where the product is isolated from further isotopic exchange) with preferential removal of isotopically heavy isotopes from colloidal fraction (Figure 27c, d), since the organo-Fe colloids of Negro River and the Fe³⁺-oxyhydroxides are preferentially enriched in heavy isotopes.

A third mechanism that should not be neglected is the removal of dissolved Fe bound to high aromatic, N-rich and fulvic-type organic matter through adsorption onto particulate suspended solids, as reported by Aucour et al. (2003) for the initial stage of the Negro and Solimões mixing zone. Experiments involving dissolved organic matter and alumina particles performed by Moreira-turcq et al. (2003) showed that adsorption onto particulate minerals is one of the principal removal mechanisms of dissolved organic carbon downstream from the Negro and Solimões River junction, which may also contribute with the transference of isotopically heavy organo-Fe complexes from colloidal to particulate fraction. Ertel et al. (1986) and Hedges et al. (1986) also suggested that sorption of humic substances of Negro River onto clay minerals of Solimões River occurs during these rivers mixture. A similar process was also reported by McKnight et al. (1992) at the confluence of Deer Creek with the Snake River (Colorado).

Despite all processes involving Fe transfer and loss in the mixing zone, the estimated $\delta^{57}\text{Fe}$ values of the mixing zone bulk water samples, calculated by the mass balance between the permeate and retentate (fraction 0.22 μm), yielded an isotopic composition ranging from $-0.031 \pm 0.109\text{‰}$ to $0.190 \pm 0.068\text{‰}$ (Table 9). Considering that the Negro and Solimões Rivers represent ~70% of the Amazon River discharge at its mouth and that the Amazon entry in the Atlantic Ocean produces a minor effect on the overall isotopic composition (Bergquist and Boyle, 2006), it can be concluded that an intertropical river as the Amazon Basin delivers to the ocean $\delta^{57}\text{Fe}$ values without significant difference from the continental earth crust mean values (i.e. $\square^{57}\text{Fe} \sim 0.1 \pm 0.03\text{‰}$, Poitrasson et al., 2006), in agreement with previous inferences (Poitrasson et al., 2008).

7.5 CONCLUSIONS

This work extensively investigated the chemistry of Fe in the two main tributaries of the Amazon River and their mixing zone using combined isotopic and spectroscopic techniques. The Fe isotopic composition and paramagnetic species of the riverine waters provided precise information about the sources and biogeochemical processes of soils drained throughout an intertropical basin. The distinct weathering mechanisms occurring in the podzolic and ferrallitic soils deliver to rivers different types of water with contrasting Fe species distribution and isotopic composition for various filter pore size fractions. Our findings agree with previous theoretical predictions of Fe isotopic fractionation based on quantum mechanics and vibrational spectroscopy where dissolved and colloidal Fe³⁺ linked with organic ligands (Fe-O-C bounds) yield isotopically heavier isotopes in the humic-rich waters of Negro River compared with the isotopically lighter Fe³⁺-oxyhydroxides (O-Fe-O bounds) from the Solimões River.

At the waterlogged podzols and headwater rivers interface, the gradual Fe oxidation and its preferential complexation with moieties present in humic type organic matter export to the river network Fe with heavy isotopes in the colloidal and dissolved phases. Conversely, organic-poor riverine waters yield dissolved and colloidal phases with low Fe concentration and relatively light signatures associated with dissolution kinetic of Fe-bearing minerals and speciation and adsorption fractionation occurring in the upland soils. The particulate fractions also present different isotopic signatures and provide additional information about the soils located in the headwater zones. The mineral particulate-rich waters essentially show an isotopic composition linked with Fe³⁺ oxyhydroxides inherited from intense mechanical erosion in the Andean Cordillera, whereas in particulate-poor and organic-rich rivers the isotopic composition is associated with the reduced horizons of podzols caused by the large amounts of organic matter, mainly originating from higher plants.

The data also demonstrate that the dissolved and colloidal Fe behavior in the mixing zone of the chemically contrasted Negro and Solimões Rivers is non-conservative. Iron isotopic composition and paramagnetic species proved to be good proxies of the mechanisms involving Fe during rivers mixture. Massive Fe loss is associated mainly with the evolution of the physical and chemical composition (*i.e.*, pH and ionic strength) during mixing, which influences organo-Fe³⁺ and Fe³⁺-oxyhydroxides stability. The present study described three major processes that control Fe loss and transfer, *i.e.*: (a) dissociation of organo-Fe complexes and the subsequent formation of solid Fe³⁺-oxyhydroxides and semiquinone free radicals; and (b) destabilization and flocculation of Fe³⁺-oxyhydroxides and humic colloids containing bound Fe. In addition, the

adsorption of organo-Fe complexes onto particulate suspended solids should not be overlooked since this process has been evidenced by previous studies.

The mixing processes do not cause significant variation of the total Fe isotopic composition of the waters that originate the Amazon River. This finding suggests that an intertropical river that drains mostly ferralitic-type soils will deliver to oceans water with $\delta^{57}\text{Fe}$ values close to the Earth's continental crust mean, considering that estuarine regions also produces negligible variations on the overall isotopic composition. Such a conclusion is of interest for studies aiming at the influences of major tropical rivers on the iron geochemical cycling in oceans. Considering that the Fe isotopes composition carries the records of the main sources and biogeochemical processes in soils, it can also be a promising tool to investigate the effects of land use modification and climate changes on continental weathering.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thanks Barbara Alcantra, Beatriz Lamback, Jérôme Chmeleff, Jonathan Prunier, Marie Paule Bonnet, and Myller Sousa for technical and analytical support. DM was sponsored by a doctoral scholarship and a scientific grant from CNPq. This project was funded by IRD, CNRS, CNPq, ANA, ATUPS and co-tutelle PhD support from Université Paul Sabatier, CAPES-COFECUB exchange program and partially by an EC2CO grant to FP.

7.6 REFERENCES

- Allard T., Ponthieu M., Weber T., Filizola N., Guyot J. L., and Benedetti M. (2002) Nature and properties of suspended solids in the Amazon Basin. *Bulletin de la Societe Geologique de France*, 173(1), 67-75.
- Allard T., Enguy N. M., Alomon J. S., Alligaro T. C., Eber T. W., Alas G. C., and Benedetti M. F. B. (2004) Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil). *Geochim. Cosmochim. Acta*, 68(14), 3079–3094. doi:10.1016/j.gca.2004.01.014
- Allard T., Weber T., Bellot C., Damblans C., Bardy M., Bueno G., do Nascimento N.R., Fritsch E., and Benedetti M.F. (2011) Tracing source and evolution of suspended particles in the Rio Negro Basin (Brazil) using chemical species of iron. *Chem. Geol.* 280, 79-88.
- APHA (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association. J. Water Pollut. Control Fed. 20 Ed. Washington
- Aucour A., Tao F.X., Moreira-Turcq P., Seyler P., Sheppard S., and Benedetti M.F. (2003) The Amazon River: behavior of metals (Fe , Al , Mn) and dissolved organic matter in the initial mixing at their confluence Rio Negro / Solimoes. *Chem. Geol.* 197, 271–285. doi:10.1016/S0009-2541(02)00398-4
- Balan E., Allard T., Boizot B., Morin G., and Muller J. P. (1999) Structural Fe³⁺ in natural kaolinites: new insights from electron paramagnetic resonance spectra fitting at X and Q-band frequencies. *Clay. Clay Miner.* 47, 605–616.
- Beard B.L., Johnson C.M., Von Damm K.L., and Poulson R.L. (2003) Iron isotope constraints on Fe cycling and mass balance in oxygenated Earth oceans. *Geology* 31, 629-632.
- Beard B. L., Handler R. M., Scherer M. M., Wu L., Czaja A. D., Heimann A., and Johnson C. M. (2010) Iron isotope fractionation between aqueous ferrous iron and goethite. *Earth Planet. Sci. Lett.* 295(1-2), 241-250.

- Benedetti M. F., Mounier S., Filizola N., Benaim J., and Seyler, P. (2003) Carbon and metal concentrations, size distributions and fluxes in major rivers of the Amazon basin. *Hydrol. Process.* 17(7), 1363–1377. doi:10.1002/hyp.1289
- Benedetti M.F., Milne C.J., Kinniburgh D.G., Van Riemsdijk W.H. and Koopal L.K. (1995) Metal Ion Binding to Humic Substances: Application of the Non-Ideal Competitive Adsorption Model. *Environ. Sci. Technol.* 29(2), 446-45
- Benoit G., and Rozan T. F. (1999) The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63(1), 113–127.
- Bergquist B., and Boyle E. (2006). Iron isotopes in the Amazon River system: Weathering and transport signatures. *Earth Planet. Sci. Lett.* 248(1-2), 39–53. doi:10.1016/j.epsl.2006.05.004
- Boyle E. A., Edmond J. M., and Sholkovitz E. R. (1977) The mechanism of iron removal in estuaries. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41, 1313-1324.
- Bullen T.D., White A.F., Childs C.W., Vivit D.V., and Schulz, M.S. (2001) Demonstration of significant abiotic iron isotope fractionation in nature: *Geology* 29, 699–702.
- Burba P., Aster B., Nifant'eva T., Shkinev V., Spivakov B. Y. (1998) Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. *Talanta* 45(5), 977–988.
- Calas G. (1988) Electron paramagnetic resonance. In *Spectroscopic Methods in Mineralogy and Geology*, ed. F. C. Hawthorne, Vol. 18, pp. 513±571. Mineralogical Society of America, Washington, DC.
- Callede J., Cochonneau G., Ronchail J., Alves V., Guyot J., Guimaraes V., and de Oliveira, E. (2010) Les apports en eau de l'Amazone a l'Océan Atlantique, *Rev. Sci. l'Eau* 23, 247–273.
- Criss R.E. (1999) *Principles of Stable Isotope Distribution*. Oxford University Press, Oxford.
- Crosby H. A., Johnson C. M., Roden E. E., and Beard B. L. (2005) Coupled Fe(II)-Fe(III) electron and atom exchange as a mechanism for Fe isotope fractionation during dissimilatory iron oxide reduction. *Environ. Sci. Technol.* 39:6698–6704.
- Devol A. H., Forsberg B. R., Richey J. E., and Pimentel T. P. (1995). Seasonal variation in chemical distributions in the Amazon (Solimoes) River: a multiyear time series. *Global Biogeochem. Cycles* 9(3), 307-328.
- Dideriksen K., Baker J. A., Stipp S. L. S. (2008) Equilibrium Fe isotope fractionation between inorganic aqueous Fe(III) and the siderophore complex, Fe(III)- desferrioxamine B. *Earth Planet. Sci. Lett.* 269, 280- 290.
- Domagal-Goldman S. D. and Kubicki J. D. (2008) Density functional theory predictions of equilibrium isotope fractionation of iron redox changes and organic complexation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, 5201–5216.
- Domagal-Goldman, S. D., Paul, K. W., Sparks, D. L., and Kubicki, J. D. (2009) Quantum chemical study of the Fe(III)-desferrioxamine B siderophore complex—Electronic structure, vibrational frequencies, and equilibrium Fe-isotope fractionation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 73(1), 1–12. doi:10.1016/j.gca.2008.09.031
- Dupré B., Viers J., Dandurand J. L., Polve M., Bénézeth P., Vervier P., and Braun J. J. (1999) Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: ultrafiltration of natural and spiked solutions. *Chem. Geol.* 160(1), 63-80.
- Eckert J.M. and Sholkovitz E. R. (1976) The flocculation of iron, aluminium and humates from river water by electrolytes, *Geochim. Cosmochim. Acta* 40(7):847-848
- Ertel J. R., Hedges J. I., Devol A. H., Richey J. E., and Ribeiro, M. N. (2006) Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnol. Oceanogr.* 31(4), 739–754.
- Escoube R., Rouxel O. J., Sholkovitz E., and Donard, O. F. X. (2009) Iron isotope systematics in estuaries: The case of North River, Massachusetts (USA). *Geochim. Cosmochim. Acta* 73(14), 4045–4059. doi:10.1016/j.gca.2009.04.026
- Eyrolle F., Benedetti M. F., Benaim J. Y., and Février D. (1996) The distribution of colloidal and dissolved organic carbon, major elements, and trace elements in small tropical catchments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 60, 3643–3656.
- Fantle M. S., and DePaolo D. J. (2004) Iron isotopic fractionation during continental weathering. *Earth Planet. Sci. Lett.* 228(3-4), 547–562. doi:10.1016/j.epsl.2004.10.013
- Filizola N., and Guyot J. L. (2004) The use of Doppler technology for suspended sediment discharge determination in the River Amazon/L'utilisation des techniques Doppler pour la détermination du transport solide de l'Amazone. *Hydrolog. Sci. J.* 49(1), 143-153.
- Fritsch E., Allard T., Benedetti M. F., Bardy M., do Nascimento, N. R., Li Y., and Calas G. (2009) Organic complexation and translocation of ferric iron in podzols of the Negro River watershed . Separation of secondary Fe species from Al species. *Geochim. Cosmochim. Acta* 73(7), 1813–1825. doi:10.1016/j.gca.2009.01.008
- Gaillardet J., Dupre B., Allegre C. J., and Négrel P. (1997) Chemical and physical denudation in the Amazon River Basin. *Chem. Geol.* 142(3), 141-173.

- Gélabert A., Pokrovsky O. S., Viers J., Schott J., Boudou A., and Feurtet-Mazel A. (2006) Interaction between zinc and freshwater and marine diatom species: surface complexation and Zn isotope fractionation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70(4), 839-857.
- Gibbs R.J. (1972). Water chemistry of the Amazon River. *Geochim. Cosmochim. Acta* 36, 1061-1066.
- Gonzalez A., Pokrovsky O. S., Shirokova L. S., Pokrovski G. S., Jimenez-Villacorta F., González-Dávila M., Santana-Casiano J. M and Emnova E. E. (2009) Speciation of Fe adsorbed on and incorporated into soil and aquatic bacteria: XAS structural study. Proceedings of 19th Annual V.M. Goldschmidt Conference, Davos, Switzerland, 21-26 juin 2009. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 73, No 13, Suppl. S, p. A453
- Gonzalez A. G, Pokrovsky O. S, Shirokova L. S, Pokrovski G. S, Jimenez-Villacorta F., Santana-Sasiano J. M, Gonzalez-Davila M., and Emnova E. E. (2010) Speciation of Fe adsorbed onto and assimilated by bacteria: XAS structural analysis. *Geophysical Research Abstracts*, EGU General Assembly 2010, Vol. 12, EGU2010-11822.
- Guelke M., von Blanckenburg F., Schoenberg R., Staubwasser M., and Stuetzel, H. (2010) Determining the stable Fe isotope signature of plant-available iron in soils. *Chem. Geol.* 277(3-4), 269–280. doi:10.1016/j.chemgeo.2010.08.010
- Guelke M., and von Blanckenburg F. (2007) Fractionation of stable iron isotopes in higher plants. *Environ. Sci. Technol.* 41(6), 1896-1901.
- Guyot J. L., Jouanneau J. M., Soares L., Boaventura G. R., Maillet N., and Lagane C. (2007) Clay mineral composition of river sediments in the Amazon Basin. *Catena* 71(2), 340-356
- Hedges J. I, Clark W. A, Quay P. D, Richey J. E, Devol A., and Santos U. (1986) Composition and fluxes of particulates organic material in the Amazon River. *Limnol. Oceanogr.* 31, 717–738
- Hiemstra T., and van Riemsdijk W. (2006). Biogeochemical speciation of Fe in ocean water. *Mar. Chem.* 102, 181–197
- Hoffmann M. R., Yost E. C., Eisenreich S. J., and Maier W. L. (1981) Characterization of soluble and colloidal-phase complexes in river water by ultrafiltration. A mass balance approach. *Environ. Sci. Technol.* 15, 655–661.
- Icopini G. A., Anbar, A. D., Ruebush S. S., Tien M., and Brantley S. L. (2004) Iron isotope fractionation during microbial reduction of iron: The importance of adsorption. *Geology* 32(3), 205. doi:10.1130/G20184.1
- Ilina S. M., Poitrasson F., Lapitskiy S. A., Alekhin Y. V., Viers J., and Pokrovsky O. S. (2012) Extreme iron isotope fractionation between colloids and particles of boreal and temperate organic-rich waters. *Geochim. Cosmochim. Acta* 101, 96-111
- Ingri J., Malinovsky D., Rodushkin I., Baxter D. C., Widerlund A., Andersson, P., ... Öhlander B. (2006) Iron isotope fractionation in river colloidal matter. *Earth Planet. Sci. Lett.* 245(3), 792-798.
- de Jong J., Schoemann V., Tison J.L., Becquevort S., Masson F., Lannuzel D., Petit J., Chou L., Weis D., and Mattielli N. (2007) Precise measurement of Fe isotopes in marine samples by multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS). *Anal. Chim. Acta* 589(1), 105–119.
- Jerzykiewicz M., Jezierski A., Czechowski F., and Drozd J. (2002) Influence of metal ions binding on free radical concentration in humic acids. A quantitative electron paramagnetic resonance study. *Org. Geochem.* 33(3), 265–268. doi:10.1016/S0146-6380(01)00158-9
- John S. G., Geis R.W., Saito M.A., and Boyle E.A. (2007) Zinc isotope fractionation during high-affinity and low-affinity zinc transport by the marine diatom *Thalassiosira oceanica*. *Limnol. Oceanogr.* 52(6), 2710–2714.
- Jouvin D., Louvat P., Juillot F., Marechal C. N., and Benedetti, M. F. (2009). Zinc isotopic fractionation: why organic matters. *Environ. Sci. Technol.* 43(15), 5747–5754.
- Konhauser K. O., Fyfe W. S. Ferris F. G., and Beveridge T. J. (1993) Metal sorption and mineral precipitation by bacteria in two Amazonian river systems: Rio Solimoes and Rio Negro, Brazil. *Geology* 21, 1103–1106.
- Ledin A., Karlsson S., and Allard, B. (1993). Effects of pH, ionic strength and a fulvic acid on size distribution and surface charge of colloidal quartz and hematite. *Appl. Geochem.* 8(4), 409–414. doi:10.1016/0883-2927(93)90009-6
- Leenher J. A., and Santos, U. M. (1980) Considerações sobre os processos de sedimentação na água preta ácida do rio Negro (Amazônia Central). *Acta Amazônica* 10(2), 343-355
- Lewis W. M., Hamilton S. K., and Saunders J. F. (1995) Rivers of northern South America. *Ecosystems of the world*, 219-219.
- Meade R.H. (1985) Suspended sediment in the Amazon river and its tributaries in Brazil during 1982-1984. U.S. Geol. Surv. Open-File Rep. 85(492), 1-40.
- McBride M. (1982). Electron spin resonance investigation of Mn²⁺ complexation in natural and synthetic organics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 1137-1142.
- McKnight DM, Bencala KE, Zellweger GW, Aiken GR, Feder GL, and Thorn KA. (1992) Sorption of dissolved organic carbon by hydrous aluminum and iron oxides occurring at the confluence of Deer Creek with the Snake River, Summit County, Colorado *Environ. Sci. Technol.* 26(7), 1388-1396

- Molinier M., Guyot J.L., De Oliveira E., Guimaraes V., Chaves A. (1993) Hydrologie de Bassin de l'Amazone. In: Grands Bassins Fluviaux Paratlantiques. Proceedings of the PEGI- INSU-CNRS-ORSTOM Symposium. Orstom Editions, Paris, pp. 335-345.
- Molinier M., Guyot J. L., Oliveira E., and Guimarães V. (1997) Les regimes hydrologiques de l'Amazone et de ses affluents. In L'hydrologie tropicale: geoscience et outil pour le d'veloppement, Chevallier P, Pouyau B (eds). AIHS 238: 209–222.
- Moreira-turcq P. F., Seyler P., Guyot J. L., Etcheber H. (2003) Characteristics of organic matter in the mixing zone of the Rio Negro and Rio Solimões of the Amazon River. *Hydrological Processes*, 1404(January 2002), 1393– 1404. doi:10.1002/hyp.1291
- Morgan J. L., Wasylenki L. E., and Nuester J. (2010) Fe Isotope Fractionation during Equilibration of Fe-Organic Complexes. *Environ. Sci. Technol.* 44(16), 6095–6101.
- Mulholland D., Poitrasson F., Shirokova L. S., González A., Pokrovsky O.S., Boaventura G. and Vieira L. (2010) First data on Fe isotopic fractionation during its adsorption on phytoplankton biomass. In: South American Symposium on Isotope Geology, 2010, Brasília. VII-SSAGI, 2010.
- do Nascimento N. R., Fritsch E., Bueno G. T., Bardy M., Grimaldi C., and Melfi A. J. (2008) Podzolisation as a deferralization process: dynamics and chemistry of ground and surface waters in a Acrisol–Podzol sequence of the upper Amazon Basin. *Eur. J. Soil Sci.* 59, 911–924.
- Olivié-Lauquet G., Allard T., Benedetti M., and Muller J.-P. (1999) Chemical distribution of trivalent iron in riverine material from a tropical ecosystem: a quantitative EPR study. *Water Res.* 33, 2726–2734.
- Olivié-Lauquet G., Allard T., Bertaux J., and Muller J-P (2000) Crystal-chemistry of suspended matter in tropical hydrosystems : catchment of Nyong (Cameroon). *Chem. Geol.* 170, 113-131.
- Ong H. L., and Bisque R. E. (1968) Coagulation of humic colloids by metal ions. *Soil Sci.* 106, 220-224.
- Piccolo A., and Stevenson F. J. (1982) Infrared spectra of Cu²⁺, Pb²⁺, and Ca²⁺ complexes of soil humic substances. *Geoderma* 27, 195-208
- Phoenix, M. G., and Cabaniss, S. E. (1990) pH and Ionic Strength Effects on Nickel-Fulvic Acid Dissociation Kinetics. *Environ. Sci. Technol.* 24(4), 583–588
- Poitrasson F., Halliday A.N., Lee D.C., Levasseur S., and Teutsch, N. (2004) Iron isotope differences between Earth, Moon, Mars and Vesta as possible records of contrasted accretion mechanisms. *Earth Planet. Sci. Lett.* 223, 253–266.
- Poitrasson F., and Freyrier, R. (2005) Heavy iron isotope composition of granites determined by high resolution MC-ICP-MS. *Chem. Geol.* 222(1-2), 132–147. doi:10.1016/j.chemgeo.2005.07.005
- Poitrasson F. (2006). On the iron isotope homogeneity level of the continental crust. *Chem. Geol.* 235, 195-200.
- Poitrasson F., Viers J., Martin F., and Braun J. J. (2008) Limited iron isotope variations in recent lateritic soils from Nsimi, Cameroon: implications for the global Fe geochemical cycle. *Chem. Geol.* 253, 54-63.
- Pokrovsky O., Viers J., Emnova E., Kompantseva E., and Freyrier R. (2008) Copper isotope fractionation during its interaction with soil and aquatic microorganisms and metal oxy(hydr)oxides: Possible structural control. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72(7), 1742–1757. doi:10.1016/j.gca.2008.01.018
- Quesada C. A., Lloyd J., Anderson L. O., Fyllas N. M., Schwarz M., and Czimczik C. I. (2011) Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. *Biogeosci.* 8(6), 1415–1440. doi:10.5194/bg-8-1415-2011
- Rate A. W., McLaren R. G., Swm R. S., Division C., and Osmond G. (1993) Response of Copper (II) -Humic Acid Dissociation Kinetics to Factors Influencing Complex Stability and Macromolecular Conformation. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1408–1414.
- Rey F., Calle E., and Casado J. (1998) Study of the Effects of Concentration and pH on the Dissociation Kinetics of Fe (II) - Fulvic Acid Complexes. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 30, 63–67.
- Ranville J. F., Pinheiro J. P., and Benedetti M. F. (2000) Field flow fractionation characterization and binding properties of colloidal organic matter isolated by tangential-flow filtration from the Amazon and Rio Negro rivers. – IHSS 10 Proceedings, vol.1, 143-146.
- Richey J. E., Meade R. H., Salati E., Devol A. H., Nordin C. F., and Santos U. D. (1986) Water discharge and suspended sediment concentrations in the Amazon River: 1982–1984. *Water Resour. Res.* 22(5), 756-764.
- van Schaik J. W. J., Persson I., Berggren Kleja D., and Gustafsson J.P. (2008) EXAFS study on the reactions between iron and fulvic acid in acid aqueous solutions. *Environ. Sci. Technol.* 42(7), 2367–2373.
- Schauble E. A. (2004) Applying stable isotope fractionation theory to new systems. In: Johnson C.M.; Beard, B.L. and Albarède, F. *Geochemistry of non-traditional stable isotopes. Reviews in Mineralogy & Geochemistry.* 55. 65-111p
- Senesi N. (1990). Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acids and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part I. The electron spin resonance approach. *Anal. Chim. Acta* 232, 51–75.

- Senesi N. (1992a). Metal-humic substance complexes in the environment. Molecular and mechanistic aspects by multiple spectroscopic approach. In : D.C. Adriano, Ed. *Biogeochemistry of trace metals*, p. 429-496. –Lewis Publishers.
- Senesi N. (1992b) Application of electron spin resonance and fluorescence spectroscopies to the study of humic substances. In: Kubat, J. (Ed.) *Humus, its Structure and Role in Agriculture and Environment*. Elsevier Science B.V, pp. 11–26.
- Seyler P., and Boaventura G. R. (2003) Distribution and partition of trace metals in the Amazon basin. *Hydrological Processes* 17(7), 1345–1361. doi:10.1002/hyp.1288
- Sioli H. (1984) The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: Sioli, H. (Ed.), *The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin*. Dordrecht, pp. 127–165.
- Stallard R. F., and Edmond J.M. (1983) Geochemistry of the Amazon .2. The Influence of Geology and Weathering Environment on the Dissolved-Load. *Journal of Geophysical Research-Oceans and Atmospheres* 88, 9671-9688.
- Stevenson F. J., and Goh K.M. (1971) Infrared spectra of humic acids and related substances. *Geochim. Cosmochim. Acta* 35, 471-485.
- Stookey L. L. (1970) Ferrozine - a new spectrophotometric reagent for iron. *Anal. Chim.* 42(7), 779–781. doi:10.1021/ac60289a016
- Strelow F.W.E. (1980) Improved separation of iron from copper and other elements by anion- exchange chromatography on a 4% cross-linked resin with high concentrations of hydrochloric acid. *Talanta* 27, 727-732.
- Swift R. S. (1996) Organic matter characterization. In *Methods of Soil Analysis, Part 3-Chemical Methods* (ed. J. M. Bartels and J. M. Bigham), pp. 1011-1069, SSSA Book Series n°5.
- Teutsch N., vonGunten U., Porcelli D., Cirpka O. A., and Halliday A. N. (2005) Adsorption as a cause for Iron Isotope fractionation in reduced groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta* 17,4175–4185.
- Teutsch N., Schmid M., Müller B., Halliday A. N., Bürgmann H., and Wehrli B. (2009) Large iron isotope fractionation at the oxic–anoxic boundary in Lake Nyos. *Earth. Planet. Sci. Lett.* 285(1-2), 52–60. doi:10.1016/j.epsl.2009.05.044
- Viers J., Dupre B., Polve M., Dandurand J. and Braun J. (1997) Chemical weathering in the drainage basin of a tropical watershed (Nsimi-Zoetele site, Cameroon): comparison between organic-poor and organic-rich waters. *Chem. Geol.* 140, 181–206.
- Viollier E., Inglett P. W., Hunter K., Roychoudhury A. N., and Van Cappellen P. (2000) The ferrozine method revisited: Fe (II)/Fe (III) determination in natural waters. *Appl. Geochem.* 15(6), 785-790.
- Weber T., Allard T., and Benedetti M. F. (2006a) Iron speciation in interaction with organic matter : Modelling and experimental approach. *J. Geochem. Explor.* 88, 166 – 171. doi:10.1016/j.gexplo.2005.08.030
- Weber T., Allard T., Tipping E. and Benedetti M. F. (2006b) Modeling iron binding to organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7488–7493.
- Wiederhold J. G., Kraemer S. M., Teutsch N., Borer P. M., Halliday A. N., and Kretzschmar R. (2006) Iron isotope fractionation during proton-promoted, ligand-controlled, and reductive dissolution of goethite. *Environ. Sci. Technol.* 40(12), 3787-3793.
- Wiederhold J., Teutsch N., Kraemer S., Halliday A., and Kretzschmar R. (2007) Iron isotope fractionation in oxic soils by mineral weathering and podzolization. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71(23), 5821–5833. doi:10.1016/j.gca.2007.07.023
- Wissmar R.C., Richey J. E., Stallard R. F., and Edmond J. M. (1981) Plankton Metabolism and Carbon Processes in the Amazon River, Its Tributaries, and Floodplain Waters, Peru-Brazil, May-June 1977. *Ecology*, 62(6): 1622-1633

8. CONCLUSÃO

Os resultados deste projeto demonstraram claramente que as mudanças da especiação do Fe causadas pelos mecanismos de intemperismo e desgaste mineral dos solos causa fracionamento isotópico do Fe exportado às águas superficiais de uma bacia tropical de escala continental, como a Amazônica. O intemperismo químico que envolve, principalmente, processos de oxi-redução e complexação com ligantes orgânicos causou variações nas razões dos isótopos do Fe significativamente maiores daquelas observadas em rochas ígneas e similares às observadas em ambientes de baixa temperatura, onde ocorre a transferência do Fe entre diferentes compartimentos. Em contrapartida, os processos de intemperismo mecânico não demonstraram causar variações expressivas nas razões isotópicas, pois exportam preferencialmente os minerais contidos nos solos aos sistemas fluviais. As águas dos rios que drenam solos altamente oxidados e com baixas concentrações de matéria orgânica apresentaram composições isotópicas similares às da crosta terrestre.

As águas dos rios drenados em regiões de solos ricos em matéria orgânica apresentaram fracionamento isotópico entre as fases dissolvidas/coloidais e as particuladas. Estas diferenças demonstraram que o Fe contido nas águas tem origem de processos biogeoquímicos distintos. Os valores $\delta^{57}\text{Fe}$ enriquecidos preferencialmente em isótopos pesados observados nas frações coloidais e dissolvidas das águas com elevada concentração de matéria orgânica foram associados aos mecanismos de oxidação e complexação do Fe aos grupos carboxílicos e fenólicos situados nas superfícies de macromoléculas húmicas. Por outro lado, as razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ isotopicamente leves observadas na fração particulada foram atribuídas ao Fe presente na matéria orgânica provenientes de resíduos vegetais parcialmente decomposto nos solos e possivelmente, aos solos com características tipicamente redutoras destas regiões. Entretanto, para definir precisamente os processos responsáveis pelo fracionamento isotópico observado ainda são necessários estudos relacionados à influência da decomposição da matéria orgânica e da formação dos compostos organometálicos nos solos nas assinaturas isotópicas encontradas nestes ambientes.

Os resultados obtidos nesta tese também demonstram que o processo de adsorção do Fe na superfície celular do fitoplâncton pode causar variações significativas nas razões $^{57}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$ através da adsorção preferencial de isótopos pesados de Fe. A acumulação preferencial de isótopos pesados na superfície celular foi associada, principalmente, aos

diferentes tipos de ligações encontradas no Fe coordenado à água e no Fe complexado aos ligantes orgânicos presentes na parede celular do fitoplâncton. Estas observações demonstram que os microrganismos aquáticos podem ter influência significativa no fracionamento dos isótopos de Fe em rios, várzeas e lagos de elevada produtividade primária, como os situados na planície de inundação Amazônica, entretando, ainda faz-se necessário uma avaliação sistemática do comportamento dos isótopos de Fe nestes ambientes. A determinação dos efeitos isotópicos causados pela assimilação do Fe, também são de extrema relevância para a correta avaliação deste fenômeno.

A investigação dos processos de mistura entre os rios com composições químicas contrastantes demonstrou que a evolução das condições físico-químicas da água (*i.e.*, pH e carga eletrolítica) pode desestabilizar os oxihidróxidos e os organo-complexos de Fe. Os principais processos responsáveis pela perda do Fe foram associados a dois processos (a) dissociação dos complexos de Fe-matéria orgânica e subsequente formação de oxihidróxidos de Fe e radicais livres e (b) desestabilização dos oxihidróxidos de Fe e coloides húmicos contendo Fe associado. A remoção irreversível do Fe através destes processos sugere um fracionamento isotópico Rayleigh através da remoção preferencial de isótopos pesados. Embora as composições isotópicas do Fe coloidal e dissolvido apresentem variação limitada durante a mistura, a razão isotópica do Fe-total não variou significativamente. Sabendo que a confluência dos rios com o oceano não alteram a composição isotópica do Fe, pode-se concluir que uma bacia tropical de escala continental transportará para o oceano Fe com valores $\delta^{57}\text{Fe}$ similares aos da crosta terrestre, atribuído intenso intemperismo mecânico dos solos a montante.

Embora a determinação dos mecanismos reguladores da distribuição dos isótopos de Fe em sistemas naturais ainda apresente elevada complexidade, a mensuração de suas razões isotópicas forneceu informações precisas sobre as fontes e os processos envolvendo o intemperismo e o transporte do Fe na bacia do rio Amazonas. As distintas razões isotópicas do Fe dissolvido observadas nos períodos de águas altas de 2009 e baixas de 2010 sugerem que o Fe também pode ser utilizado com traçador isotópico dos efeitos das variações climáticas sazonais e interanuais nos processos de intemperismo dos solos. Por trazer registros das principais fontes e dos principais processos envolvendo o Fe, a análise das razões de isótopos de Fe são uma promissora ferramenta para avaliar os efeitos das modificações do uso do solo e das mudanças climáticas no intemperismo continental.