

**UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA
CÂMPUS DE ARARAQUARA**

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE TURFAS UTILIZANDO-SE HIDRÓXIDO DE POTÁSSIO.

André Henrique Rosa

**Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-graduação do Instituto de Química
de Araraquara para obtenção do título
de Mestre em Química**

Orientador: Prof. Dr. Julio Cesar Rocha

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maysa Furlan

**ARARAQUARA
1998**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Júlio Cesar Rocha (Orientador) -
Instituto de Química de Araraquara - UNESP

Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro -
Instituto de Química de Araraquara - UNESP

Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich -
Departamento de Química - UFPR

DADOS CURRICULARES

André Henrique Rosa

1. DADOS PESSOAIS

- 1.1 Nascimento : 05/12/72
- 1.2 Nacionalidade : brasileira
- 1.3 Naturalidade : Araraquara
- 1.4 Estado civil : casado
- 1.5 Filiação : Pai : Demirço de souza Rosa
Mãe : Tercilia de Souza Rosa
- 1.6 Profissão : Bacharel em Química
- 1.7 Documento de Identidade : 20.663.220
- 1.8 Cadastro de Pessoa Física : 183219478 75
- 1.9 Endereço : Rua Trifoni Guimarães, 310
Vila Biagione - Araraquara, SP
- 1.10 Endereço Profissional : Instituto de Química de Araraquara
C.P. 355, CEP 14800 - 900
Araraquara - SP

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

- 2.1 Bacharel em Química
Curso de Graduação concluído em 09/12/95, no Instituto de Química de Araraquara, UNESP.
- 2.2 Mestrado em Química
Curso de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração: Química Analítica, no Instituto de Química de Araraquara - UNESP.

3. TRABALHOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS

ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; FURLAN, M.; Estudo dos parâmetros que influenciam na extração de substâncias húmicas de solos - Parte II. **Anais do 2º Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**. p.128, 1997.

ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; Sistema em fluxo contínuo para extração e fracionamento de substâncias húmicas de solos. **Anais do 2º Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**. p.127 , 1997.

SANTOS, A.; ROSA, A.H. ; RESENDE, M.O.O.; ROCHA, J.C. ; Distribuição de metais em materiais suspensos e sedimentos de reservatório de captação de água superficial. **Anais do 2º Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**. p. 122, 1997.

ROSA, AH, ROCHA, J.C.; FURLAN, M.; ZARA, L.F.; Oxidação das substâncias húmicas de turfa durante extração alcalina. Estudo espectroscopico na região do infravermelho e do visível. **Anais da Associação Brasileira de Química**, 1998 (aceito para publicação).

ROCHA, J.C.; ROSA, A.H.; FURLAN, M.; An Alternative methodology for extraction on humic substances from soils. **J. Braz. Chem. Soc.** 1998, (aceito para publicação).

4 . TRABALHOS CIENTÍFICOS SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO

ROSA, A.H.; ROCHA, J.C.; SARGENTINI, E.; System in continuous flow for extraction and fractionation of the humic substances from the soil. **Anal. Chim. Acta**, 1998 (submetido para publicação).

ZARA, L.F.; ROCHA, J.C.; TOSCANO, I.A.; ROSA, A.H.; Estudo do grau de condensação do ácido húmico. **Química Analítica (Barcelona-Elsevier)**, 1998 (submetido para publicação).

5.CONGRESSOS CIENTÍFICOS

5.1 ROSA, A.H. e ROCHA, J.C. Desenvolvimento de metodologia para extração e separação de materiais húmicos de solos. Caracterização analítica empregando técnicas de cromatografia gasosa, espectroscopia de absorção atômica e espectroscopia no infravermelho. In: **VI Jornada Científica - Resumos**, Araraquara-IQ -p. 12, 1994.

5.2 ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; FURLAN, M.; Metodologia de extração / purificação de materiais húmicos de solos utilizando-se hidróxido de potássio. In: **XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Resumos**, Caxambu: p. AB-014, 1995. In: **VII Jornada Científica - Resumos**, Araraquara-IQ - 1995. In: **VII Congresso de Iniciação Científica da UNESP - Resumos**, Guaratinguetá - 11/1995.

5.3 ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; FURLAN, M.; Determinação da capacidade de complexação de Cu^{+2} por ácidos húmico e fúlvico extraídos com hidróxido de potássio. In: ***IX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química***. Resumos, Araraquara-IQ: p. 53, 1995.

5.4 ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; FURLAN, MAYSA Estudos dos ácidos húmico e fúlvico obtidos por nova metodologia de extração utilizando EIV, RMN ^{13}C no estado sólido e termogravimetria. In: ***VIII Encontro Nacional de Química Analítica***. Resumos, Belo Horizonte, UFMG, p. 280, 1995.

5.5 ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; BORALE, N.; FURLAN, M.; Estudo da interação de alumínio com Substâncias Húmicas utilizando ressonância magnética nuclear. In: ***XXXVI Congresso Brasileiro de Química***. Resumos, São Paulo: p. MA-06 , 1996. In: ***VIII Jornada Científica*** - Resumos, Araraquara-IQ - 1996.

5.6 ROSA, A.H. ; SANTOS, A; ZARA, L.F.; OLIVEIRA, S.C.; Determinação de metais pesados por espectrôscopia de absorção atômica em efluente de indústria de galvanoplastia. In: ***XXXVI Congresso Brasileiro de Química***. Resumos, São Paulo: p. MA-07, 1996. In: ***VIII Jornada Científica*** - Resumos, Araraquara-IQ - 1996.

5.7 ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; FURLAN, M.; Desenvolvimento de metodologia para extração de substâncias húmicas de Turfas. Parte I - Estudo da influência do extrator e de sua concentração na extração. In: ***XX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química***. Resumos, Poços de Caldas: p. AB-014, 1997.

5.8 ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; FURLAN, M.; Estudo dos parâmetros que influenciam na extração de substâncias húmicas de solos - Parte II. In: ***IX Encontro Nacional de Química Analítica***. Resumos, São Carlos: p. 263, 1997.

5.9 ROSA, A.H. ; ROCHA, J.C. ; Sistema em fluxo contínuo para extração e fracionamento de substâncias húmicas de solos. In: ***IX Encontro Nacional de Química Analítica***. Resumos, São Carlos: p. 262, 1997.

5.10 SANTOS, A.; ROSA, A.H. ; RESENDE, M.O.O.; ROCHA, J.C. ; Distribuição de metais em materiais suspensos e sedimentos de reservatório de captação de água superficial. In: ***IX Encontro Nacional de Química Analítica***. Resumos, São Carlos: p. 257, 1997.

5.11 ROSA, A.H. ; SANTOS, A; ZARA, L.F.; ROCHA, J.C. ; FURLAN, M.; Estudo espectroscópico na região do infravermelho e visível: Oxidação das substâncias húmicas durante o processo de extração alcalina. In: ***XXXVII Congresso Brasileiro de Química***. Resumos, Natal:, 1997.

RESUMO

Substâncias Húmicas (SH), extraídas de turfa sob diferentes condições foram caracterizadas com o objetivo de se desenvolver nova metodologia de extração com elevado rendimento, baixo teor de cinzas e sem grandes alterações estruturais. Parâmetros como: tempo, temperatura, atmosfera de extração, razão solo/extrator, granulometria do solo, extrator e sua concentração foram avaliados e mostraram ter grande influência no processo. Pelos estudos feitos e resultados obtidos pode-se concluir para a amostra estudada que:

1 - a extração alcalina das substâncias húmicas utilizando-se hidróxido de potássio aumenta o rendimento e diminui o teor de contaminantes inorgânicos co-extraídos em relação ao procedimento utilizando hidróxido de sódio;

2 - a concentração do extrator influencia muito no rendimento, teor de cinzas, razão E_4/E_6 , razão AH/AF e composição elementar das substâncias húmicas extraídas;

3 - 4 horas de extração são suficientes para extrair praticamente toda matéria orgânica presente na amostra;

4 - a razão solo/extrator não exerce influência no teor de matéria orgânica extraída, entretanto, a diminuição dessa razão eleva o teor de contaminantes inorgânicos no extrato húmico;

5 - espectros na região do infravermelho e visível mostraram que o aumento da temperatura de extração causa mudanças estruturais nos ácidos húmico e fúlvico. Verificou-se também a redução do teor de ácido húmico e elevação do teor de ácido fúlvico extraído com o aumento da temperatura;

6 - a atmosfera de nitrogênio minimiza a oxidação dos ácidos húmico e fúlvico durante a extração. O aumento do tempo de extração das substâncias húmicas na ausência de nitrogênio favorece processos oxidativos;

7 - a diminuição da granulometria do solo permite a elevação do teor de matéria orgânica extraída pelo aumento da superfície de contato com o solvente extrator;

8 - as melhores condições para a extração das substâncias húmicas, ácido húmico e ácido fúlvico na amostra estudada foram:

- a) extrator: hidróxido de potássio;
- b) concentração: 0,5 mol/L;
- c) tempo de extração: 4 horas;
- d) razão solo/extrator: 1:20 (g/mL);
- e) temperatura de extração: 25 - 30 °C;

- f) atmosfera de extração: nitrogênio;
- g) granulometria do solo: 0,21 mm.

ABSTRACT

Humic Substances (HS), extracted from the peat under different conditions were characterised with the aim of developing a methodology of extraction with high yields, low contents of ashes and without big structural alterations. Parameters such as: time, temperature, extraction atmosphere, soil/extractor ratios, soil granulometry, extractor and its concentration were evaluated and showed to have great influence on the process. By the studies done and results obtained we can conclude to the studied sample that:

1. the alkaline extraction from the humic substances using potassium hydroxide increase the yields and reduce the contents of inorganic contaminator co-extracted in relation to the procedure that uses sodium hydroxide;

2. the concentration of the extractor influences very much on the yields, contents of ashes, E_4/E_6 ratios, AH/AF ratios and elementary composition of the extracted humic substances;

3. four hours of extraction are enough to extract almost all the organic material present in the sample;

4. the soil/extractor ratios does not exert any influence on the contents of the extracted organic material, however, the decrease of this ratio increases the contents of inorganic contaminator in the humic extract;

5. spectres in the region of the infrared and visible showed that the increase of temperature of extraction provokes structural changes in the humic and fulvic acids. It was also verified that the reduction of the contents of humic acid and elevation of the fulvic acid extracted with the increase of temperature;

6. the nitrogen atmosphere minimises the oxidation of the humic and fulvic acids during the extraction. The increase in time of extraction of the humic substances in the absence of nitrogen favours the oxidative processes;

7. the reduction of granulometry of the soil allows the elevation of the contents of organic extracted material by the increase of its surface of contact with the extractor solvent;

8. the best conditions to the extraction of humic substances, humic and fulvic acids in the studied sample were:

- a) extractor: potassium hydroxide;
- b) concentration: 0.5 mol/L;

- c) extraction time: 4 hours;
- d) soil/extractor ratio: 1:20 (g/mL);
- e) temperature of extraction: 25 - 30 ° C;
- f) atmosphere of extraction: nitrogen;
- g) soil granulometry: 0.21 mm.

ÍNDICE

I - INTRODUÇÃO	01
1 - DEFINIÇÕES	01
2 - ORIGEM E FORMAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	04
3 - ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	05
3.1 - Estruturas propostas	05
3.2 - Características estruturais das substâncias húmicas	09
4 - IMPORTÂNCIA DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS NO AMBIENTE	11
4.1- Propriedades físicas	11
4.2 - Propriedades químicas	11
4.2.1 - Interação substâncias húmicas - metal	11
4.2.1.1 - Capacidade complexante	12
4.2.2 - Interação substâncias húmicas - pesticidas	13
5 - EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS DE SOLOS	15
5.1 - Extração de substâncias húmicas de solos	16
5.1.1 - Extratores mais utilizados	16
5.1.1.1 - Extratores moderados	16
5.1.1.1.1 - Pirofosfato de sódio e sais neutros	17
5.1.1.1.2 - Ácido fórmico	18
5.1.1.1.3 - Agentes complexantes	18
5.1.1.1.4 - Ácidos diluídos	19
5.1.1.1.5 - Solventes orgânicos	19
5.1.1.1.6 - Outros reagentes	19
5.1.1.2 - Extratores alcalinos	20
6 - PURIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	22
6.1 - Ácido húmico	22
6.2 - Ácido fúlvico	23
7 - CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS	

SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	25
7.1 - Espectroscopia na região do infravermelho	25
8 - A MATRIZ DE ESTUDO: TURFA	28
8.1 - Introdução	28
8.2 - Composição das turfas	28
8.3 - Aplicações da turfa	30
9 - RELEVÂNCIA DO TRABALHO	33
10 - OBJETIVOS DO TRABALHO	34
II - EXPERIMENTAL	36
1 - MATERIAIS E MÉTODOS	36
1.1 - Materiais	36
1.2 - Reagentes e soluções	36
2 - PREPARO DAS SOLUÇÕES ESTOQUE	37
3 - PADRONIZAÇÃO DOS REAGENTES ALCALINOS	38
4 - ESTUDO DA MATRIZ	38
4.1 - Coleta da amostra	38
4.2 - Preparo da amostra	39
4.3 - Testes preliminares	39
4.3.1 - Determinação de carbonatos na amostra	39
4.3.2 - Determinação do teor de matéria orgânica e inorgânica	39
4.3.3 - Caracterização físico-química da amostra	39
4.3.4 - Composição elementar	39
5 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	40
5.1 - Estudo dos parâmetros que influenciam na extração das substâncias húmicas	40
5.1.1 - Concentração do extrator	40
5.1.2 - Tempo de extração	42
5.1.3 - Relação solo/extrator	43

5.1.4 - Temperatura da extração	43
5.1.5 - Atmosfera de extração	43
5.1.6 - Granulometria do material	44
5.2 - Fracionamento das substâncias húmicas e separação dos ácidos húmico e fúlvico extraídos	44
6 - PURIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	45
6.1 - Limpeza dos tubos de diálise	45
6.2 - Diálise do ácido fúlvico	45
6.3 - Lavagem do ácido húmico	46
7 - CARACTERIZAÇÕES	46
7.1 - Determinação do rendimento das extrações	46
7.2 - Determinação do teor de cinzas do material extraído	46
7.3 - Espectroscopia na região do visível	46
7.4 - Espectroscopia na região do infravermelho	47
III - RESULTADOS	48
1 - ESTUDO DA MATRIZ: TURFA	48
2 - PARÂMETROS QUE INFLUENCIAM NA EXTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	48
2.1 - Concentração do extrator	48
2.2 - Tempo de extração	62
2.3 - Relação solo/extrator	65
2.4 - Temperatura da extração	66
2.5 - Influência da extração de substâncias húmicas sob atmosfera de N ₂	74
2.6 - Influência da granulometria	80
IV - CONCLUSÕES	81
V - PROPOSTAS FUTURAS	83
VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Fracionamento do material orgânico das substâncias húmicas de solo e variação de suas propriedades (HAYES, 1978).	02
Figura 2 - Principais vias propostas para a formação das substâncias húmicas pela decomposição de resíduos animais / vegetais no solo.	04
Figura 3 - Estrutura para o ácido húmico proposta por DRAGUNOV'S e reportada por KONONOVA em 1966.	06
Figura 4 - Estrutura hipotética para o ácido húmico segundo FLAIG (1960).	06
Figura 5 - Estrutura proposta por STEVENSON (1982) para o ácido húmico, contendo grupos OH fenólico, estruturas quinônicas, grupos oxigenados na forma de carboxilas e anéis aromáticos.	07
Figura 6 - Estrutura proposta por SCHNITZER e KHAN (1972) para o ácido fúlvico.	07
Figura 7 - Modelo proposto por BUFFLE (1970) para o ácido fúlvico.	07
Figura 8 - Modelo proposto por KLEINHEMPEL'S (1970) para as substâncias húmicas.	08
Figura 9 - Estrutura proposta por SCHULTEN para o ácido húmico (1995).	08
Figura 10 - Aplicações da turfa (SILVA, 1995).	31
Figura 11 - Algumas linhas de pesquisa e aplicações das substâncias húmicas com vistas a soluções de problemas ambientais.	34
Figura 12 - Atmosfera extrator utilizado na extração das substâncias	

húmicas de solos.	41
Figura 13 - Fracionamento das substâncias húmicas em ácido húmico (fração inferior) e ácido fúlvico (fração superior) por acidificação.	44
Figura 14 - Variações no rendimento, teor de matéria orgânica e inorgânica das substâncias húmicas extraídas.	50
Figura 15 - Influência da concentração do extrator na razão ácido húmico e ácido fúlvico extraído.	54
Figura 16 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com NaOH 1,0 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	56
Figura 17 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,5 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	56
Figura 18 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,1 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	57
Figura 19 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	57
Figura 20 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	58
Figura 21 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,1 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	58
Figura 22 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com NaOH 1,0 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	59

Figura 23 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,5 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	59
Figura 24 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,1 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	60
Figura 25 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	60
Figura 26 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	61
Figura 27 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,1 mol/L , a temperatura ambiente (25-30° C), atmosfera inerte (Figura 12 - pág.41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).	61
Figura 28 - Variação do rendimento do ácido húmico em função do tempo.	64
Figura 29 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L , por 4 horas/N ₂ , a temperatura de 25° C , sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	67
Figura 30 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L , por 4 horas/N ₂ , a temperatura de 50° C , sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	67
Figura 31 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L , por 4 horas/N ₂ , a temperatura de 75° C , sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	68
Figura 32 - Espectros de ácidos húmicos (pH = 1,5) extraídos com KOH 0,5 mol/L por 4 horas, na razão 1:20 (solo:extrator), sob agitação mecânica e atmosfera de nitrogênio em diferentes temperaturas (25, 50 e 75 °C).	70
Figura 33 - Espectro de ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L , por 4 horas/N ₂ , a temperatura de 25° C , sob agitação	

mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	70
Figura 34 - Espectro de ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N ₂ , a temperatura de 50° C , sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	71
Figura 35 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N ₂ , a temperatura de 75° C , sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	71
Figura 36 - Espectros dos ácidos fúlvicos (pH = 1,5) extraídos com KOH 0.5 mol/L por 4 horas, na razão solo:extrator 1:20 (g/mL), sob agitação mecânica e atmosfera inerte em diferentes temperaturas (25, 50 e 75° C).	73
Figura 37 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), por 8 horas na presença de ar , sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	74
Figura 38 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), por 12 horas na presença de ar , sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	75
Figura 39 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), por 16 horas na presença de ar , sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	75
Figura 40 - Espectros de ácidos húmicos (pH = 1,5) extraídos com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C) em diferentes tempos de extração , na razão solo extrator 1:20 (g/mL), sob agitação mecânica e na presença e ausência de N₂ .	76
Figura 41 - Espectro de ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), por 8 horas na presença de ar , sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	77
Figura 42 - Espectro de ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), por 12 horas na presença de ar , sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	77
Figura 43 - Espectro de ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), por 16 horas na presença de ar , sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).	78

Figura 44 - Espectros de ácidos fúlvicos extraídos com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente em diferentes tempos de extração, na razão solo/extrator 1:20 (g/mL), sob agitação mecânica e na presença e ausência de N₂.

78

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Definições mais utilizadas.	03
Tabela 2 - Composição elementar encontrada de ácido húmico e ácido fúlvico de solos(CALDERONI, <i>et al.</i> 1984).	09
Tabela 3 - Conteúdo de grupos oxigenados para AH e AF extraídos de diferentes tipos de solos (adaptado de STEVENSON, 1985).	10
Tabela 4 - Métodos utilizados para extração de substâncias orgânicas de solos*.	15
Tabela 5 - Efeito da hidrólise com HCl 6,0 mol/L nas características dos ácidos húmico e fúlvico*.	25
Tabela 6 - Condições de extração das substâncias húmicas do solo.	41
Tabela 7 - Variação do tempo de extração das substâncias húmicas de solos utilizando como extratores hidróxido de sódio e hidróxido de potássio.	42
Tabela 8 - Resultados analíticos da amostra de turfa.	48
Tabela 9 - Resultados da variação da concentração de NaOH e KOH na extração das substâncias húmicas de turfa.	49
Tabela 10 - Resultados da análise da composição elementar das substâncias húmicas extraídas (valores expressos em porcentagem).	52
Tabela 11 - Características da substância húmica e do ácido húmico extraídos por NaOH e KOH em diferentes concentrações em função do tempo.	63
Tabela 12 - Influência da razão solo/extrator na extração das substâncias húmicas.	65
Tabela 13 - Influência da temperatura na extração das substâncias húmicas.	66

Tabela 14 - Influência do tempo e atmosfera de extração na razão E_4/E_6 das substâncias húmicas extraídas.	79
Tabela 15 - Influência da granulometria da turfa na extração das substâncias húmicas.	80
Tabela 16 - Propriedades termodinâmicas dos íons Na^+ e K^+ em solução aquosa	81

Agradecimentos

- ao Prof. Dr. Julio Cesar Rocha pela amizade e orientação;
- a Prof^a. Dr^a. Maysa Furlan pela orientação e simpatia demonstrada;
- a Fapesp pelas bolsas de Mestrado e de Doutorado concedidas;
- ao CNPq pelo auxílio financeiro;
- a todos funcionários do departamento de Química Analítica;
- a Fernanda técnica do departamento de Química Inorgânica pelos espectros de infravermelho;
- a todos amigos (especialmente ao Alexandre Vicente) e colegas que auxiliaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho;
- um agradecimento especial a meus pais (Demirço e Tercília) e esposa (Izabel) pelo apoio e carinho;

*“O homem é o que é sua
vida, se não modifica nada
dentro de si, se não trabalha
sobre si mesmo, está
perdendo seu tempo
miseravelmente...”*

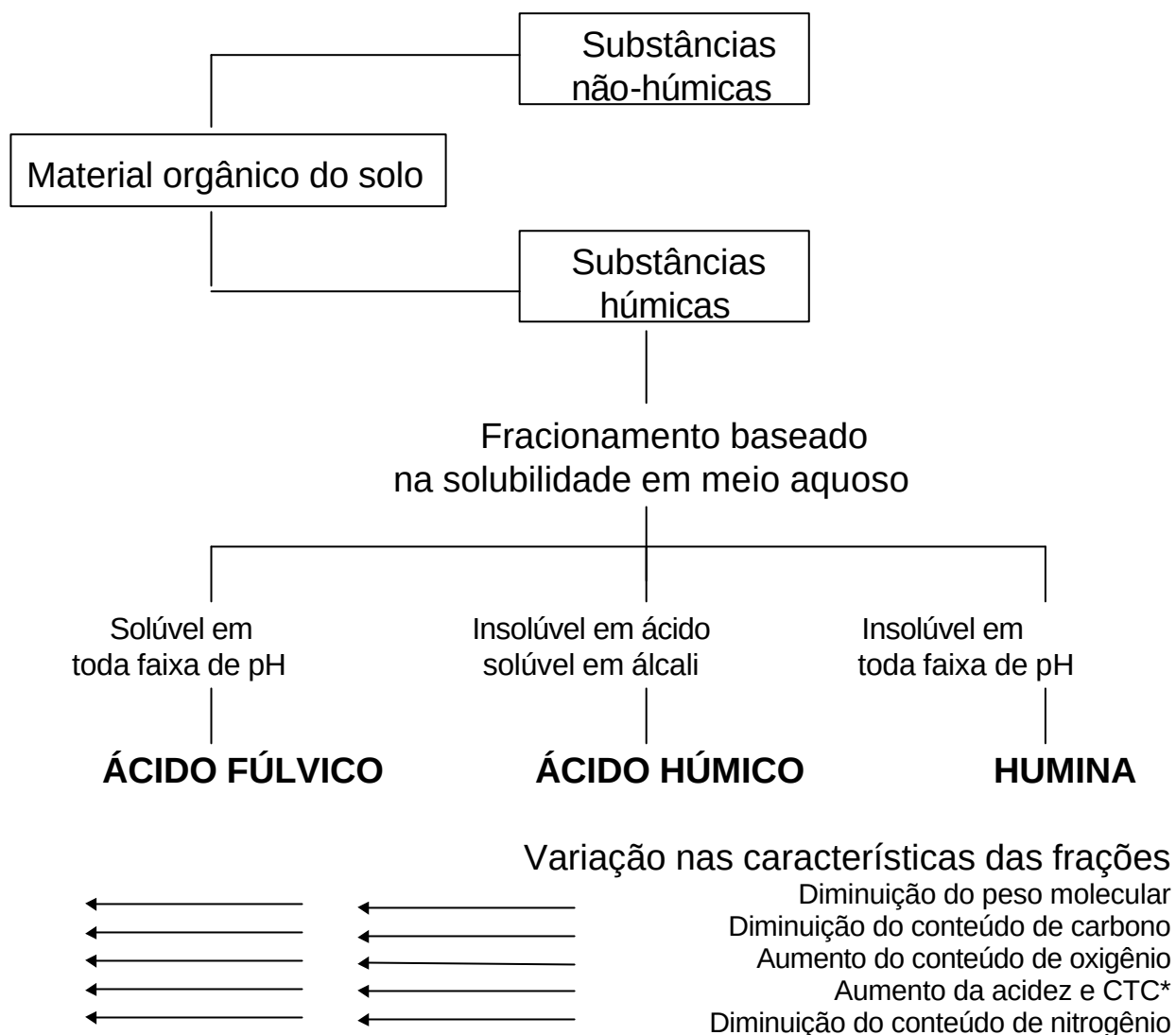
I - INTRODUÇÃO

1 - DEFINIÇÕES

A matéria orgânica presente nos solos, turfas e sedimentos consiste de uma mistura de produtos em vários estágios de decomposição. São resultantes da degradação química e biológica de resíduos vegetais e animais e da atividade sintética de microorganismos. Essa matéria orgânica é chamada de húmus ou substâncias húmicas (SH), e substância não húmica. A diferenciação é baseada no fato de que as substâncias não húmicas são de natureza definida, como por exemplo: aminoácidos, carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos. Entretanto, as substâncias húmicas são de estrutura química complexa compondo um grupo de compostos heterogêneos (STEVENSON, 1982).

As substâncias húmicas (SH) compreendem uma classe de macromoléculas com variações em suas propriedades moleculares. Por esta razão é necessário fracionar as SH de acordo com suas propriedades para obter frações distintas com propriedades similares. Geralmente as SH são fracionadas em função de sua solubilidade em 3 principais frações. Os ácidos húmicos (AH) definidos operacionalmente como a fração das SH solúvel em meio alcalino diluído e que precipita pela acidificação do extrato alcalino. Os ácidos fúlvicos (AF) permanecem em solução quando o extrato alcalino é acidificado e a humina é a fração não extraída por ácido ou álcali diluído (BARROS, et

al. 1994). As interrelações dessas três frações são mostradas no diagrama da Figura 1.



CTC* - capacidade de troca de cátions

Figura 1 - Fracionamento do material orgânico das substâncias húmicas de solo e variação de suas propriedades (HAYES, 1978).

A Figura 1 mostra que ácido húmico, ácido fúlvico e humina não são extremamente heterogêneos, mas cada fração contém formas intermediárias com características similares.

A Tabela 1 apresenta definições comumente utilizadas na química do húmus.

Tabela 1 - Definições mais utilizadas.

Termos	Definições
Substâncias húmicas (SH) / material húmico / húmus	Substâncias de coloração escura, elevado peso molecular, estrutura complexa e indefinida. Resultantes da decomposição de vegetais e animais.
Substâncias não-húmicas	Substâncias presentes no solo de composição e estrutura definida: aminoácidos, carboidratos, ceras, lipídeos, resinas, ácidos graxos, etc..
Humina	Parte do material orgânico presente no solo de coloração escura, insolúveis em alcalís e ácidos.
Ácido fúlvico (AF)	Material colorido remanescente

após separação do ácido húmico por precipitação.

Ácido húmico (AH)

Material orgânico de coloração escura. Pode ser extraído do solo por vários reagentes e insolúvel em meio ácido ($\text{pH} < 2$).

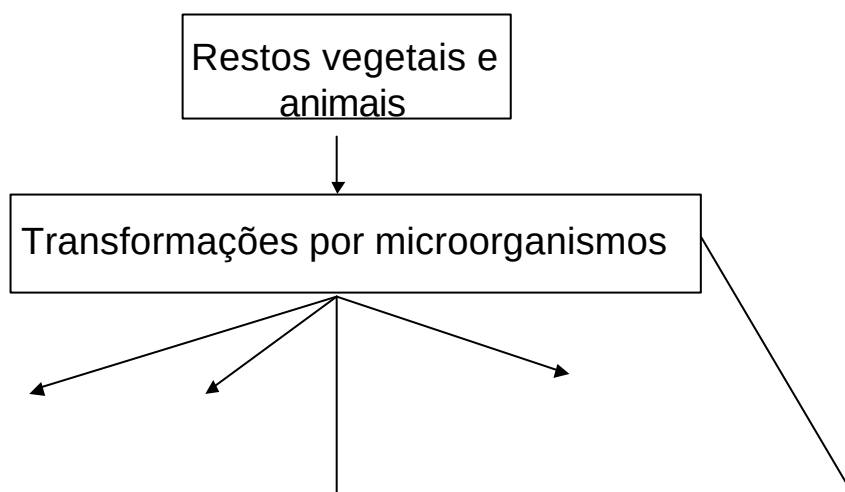
Ácido himatomelânico

Fração do ácido húmico solúvel em álcool etílico.

2 - ORIGEM E FORMAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

Apesar de vários estudos, a bioquímica da formação das SH constituem ainda hoje um dos aspectos pouco compreendidos da química do húmus. Vários trabalhos foram escritos sobre o assunto, dos quais destacam-se; KONONOVA (1966), SCHNITZER & KHAN (1978), GIESEKINGI (1975) e STEVENSON (1982).

A Figura 2 esquematiza pelo menos quatro vias principais, de formação das SH durante a decomposição de resíduos no solo. O principal processo é a oxidação de substratos hidrolisados monoméricos, para formar polímeros macromoleculares de coloração mais ou menos escura e peso molecular elevado.



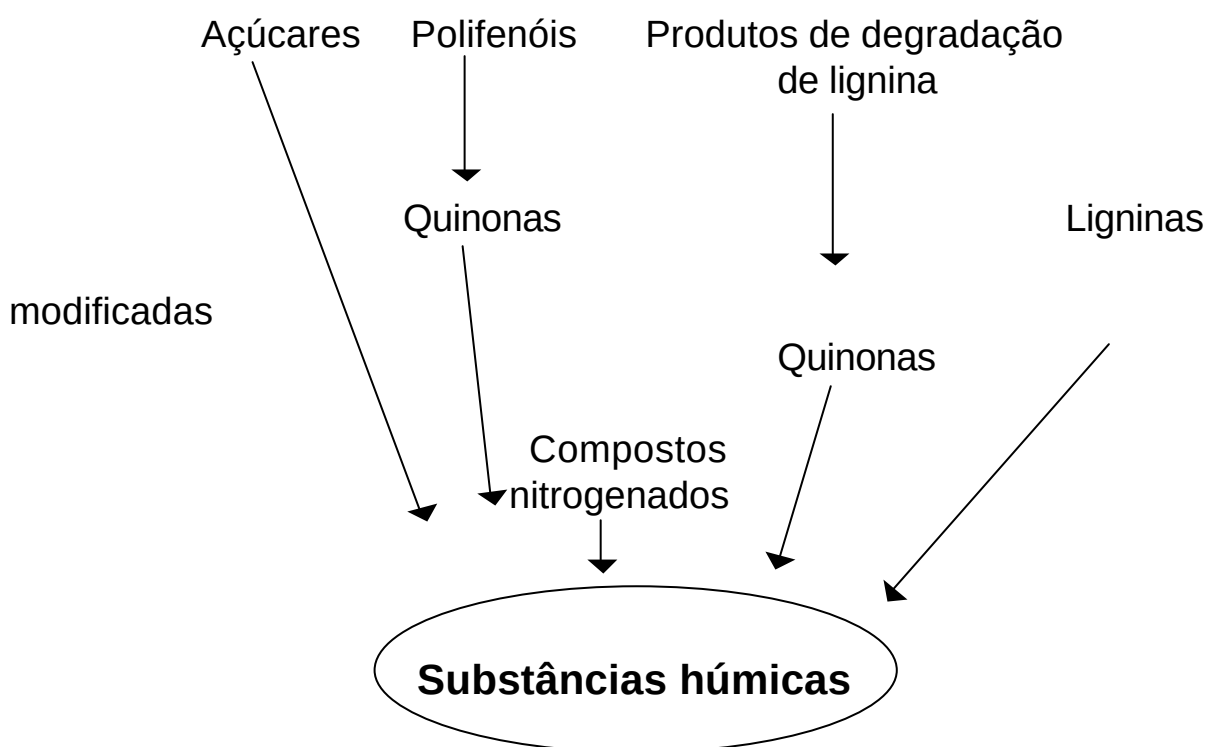


Figura 2 - Principais vias propostas para a formação das substâncias húmicas pela decomposição de resíduos animais / vegetais no solo.

As quatro vias podem ocorrer simultaneamente no solo porém, não com a mesma extensão e importância. A via da lignina pode processar predominantemente em solos mal drenados e em áreas hidromórficas, enquanto a síntese a partir de polifenóis, pode ser de considerável importância para certos solos sob florestas. Devido a rápida assimilação biológica dos açúcares, a teoria de condensação de aminoaçúcares, é válida principalmente para meios de baixa atividade biológica (CARDOSO, *et al.* 1992).

3 - ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

3.1 - Estruturas propostas

Devido a natureza heterogênea e complexa das SH, apesar de esforços de pesquisadores da área, pouco se sabe sobre sua estrutura

química (RÉ POPPI, 1992) . Na literatura há muitas propostas estruturais para as SH. Entretanto, nenhuma parece ser inteiramente satisfatória (STEVENSON. 1985). As estruturas propostas para o AH, mostradas nas Figuras 3 - 5, apresentam anéis aromáticos de di e tri-hidroxibenzeno, bem como a presença de grupos quinonas. Entretanto, as estruturas de DRAGUNOV'S (KONONOVA, 1966), Figura 3, bem como a de FLAIG'S (1960), Figura 4, contêm número insuficiente de COOH em relação ao OH fenólico, que normalmente aparecem em maiores concentrações. As três estruturas apresentam nitrogênio como componente estrutural e as Figuras 3 e 5 mostram a presença de carboidratos e resíduos de proteínas.

SCHNITZER & KHAN (1972) concluíram que o AF consiste de grupos fenólicos ligados a grupos ácidos benzenocarboxílicos por pontes de hidrogênio, formando uma estrutura polimérica com alta estabilidade (Figura 6). BUFFLE (1970) propõe um modelo para o AF (Figura 7) contendo componentes alifáticos e aromáticos extensivamente substituídos por grupos oxigenados. Ambas as estruturas apresentam abundância de grupos COOH.

Segundo KONONOVA (1966), as várias frações húmicas representam um sistema polimérico, não havendo grandes diferenças entre os grupos de ácido húmico e ácido fúlvico. A humina estaria fortemente ligada a material inorgânico, formando uma estrutura altamente condensada com elevado teor de carbono (> 60 %), sendo assim insolúvel em álcalis. Incentivado por tal conceito, KLEINHEMPEL'S (BUFFLE, 1990) propôs o modelo estrutural para as SH, mostrado na Figura 8.

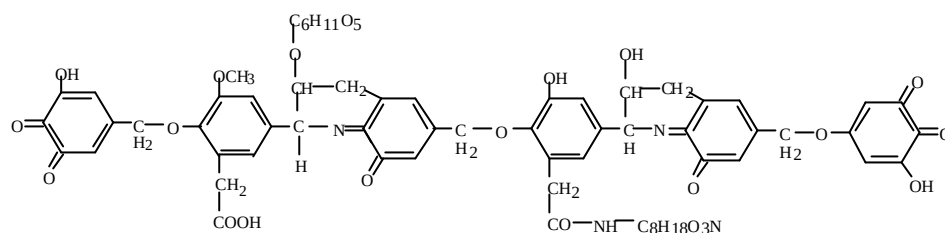


Figura 3 - Estrutura para o ácido húmico proposta por DRAGUNOV'S e reportada por KONONOVA em 1966.

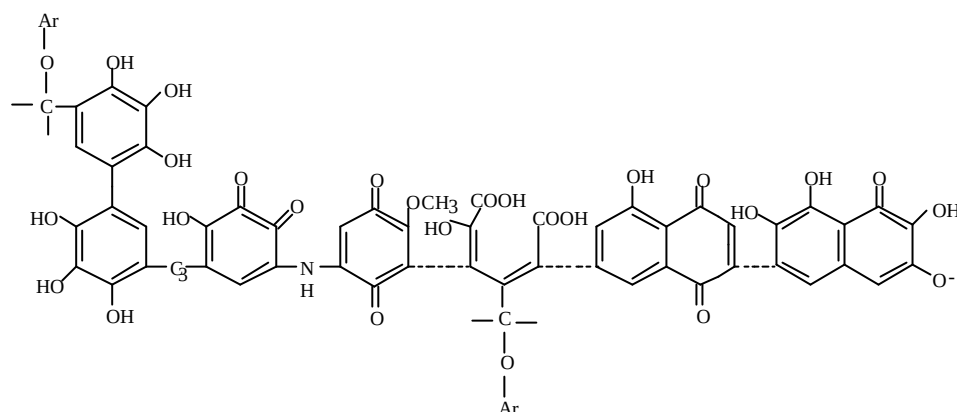


Figura 4 - Estrutura hipotética para o ácido húmico segundo FLAIG (1960).

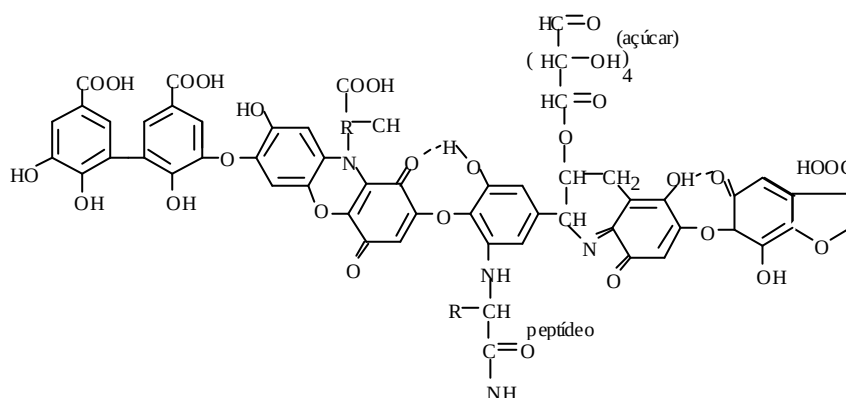


Figura 5 - Estrutura proposta por STEVENSON (1982) para o ácido húmico, contendo grupos OH fenólicos, estruturas quinônicas, grupos oxigenados na forma de carboxilas e anéis aromáticos.

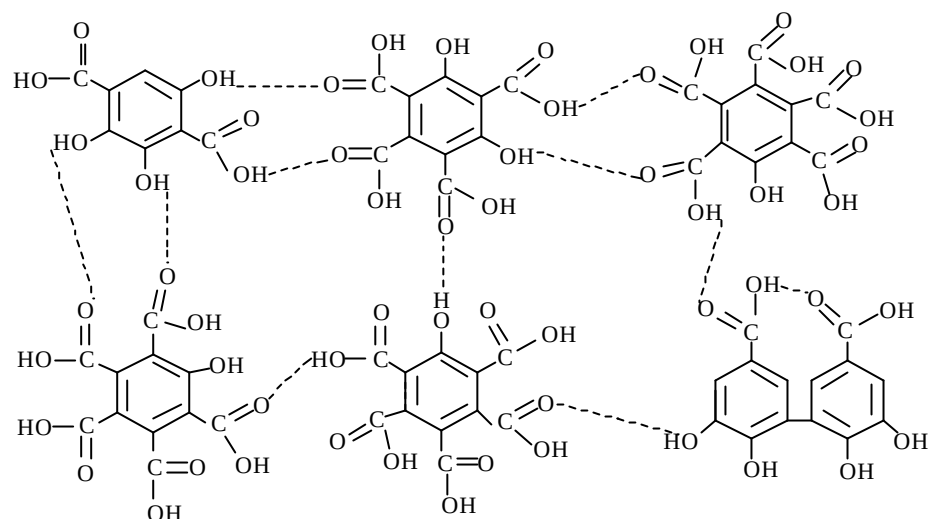


Figura 6 - Estrutura proposta por SCHNITZER & KHAN (1972) para o ácido fúlvico.

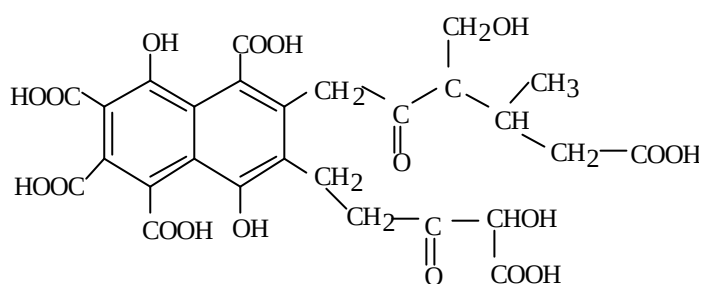


Figura 7 - Modelo proposto por BUFFLE (1970) para o ácido fúlvico.

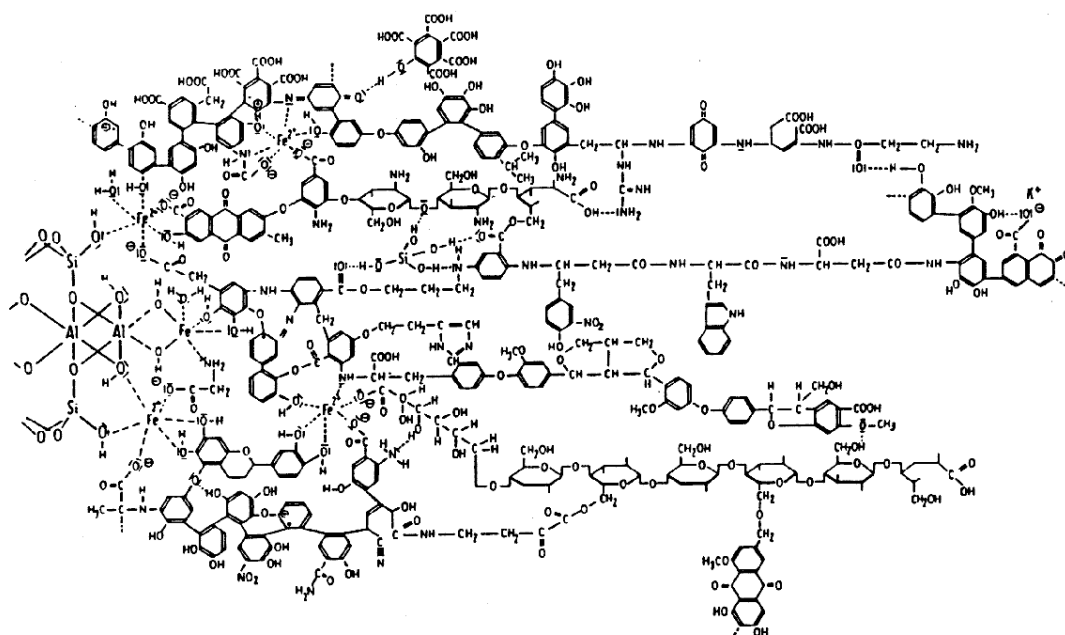


Figura 8 - Modelo proposto por KLEINHEMPEL'S (1970) para as substâncias húmicas.

A Figura 9 mostra o modelo estrutural para o ácido húmico mais recente, foi proposto por SCHULTEN (1995) a partir de estudos espectroscópicos, pirólise, degradação oxidativa e microscopia eletrônica.

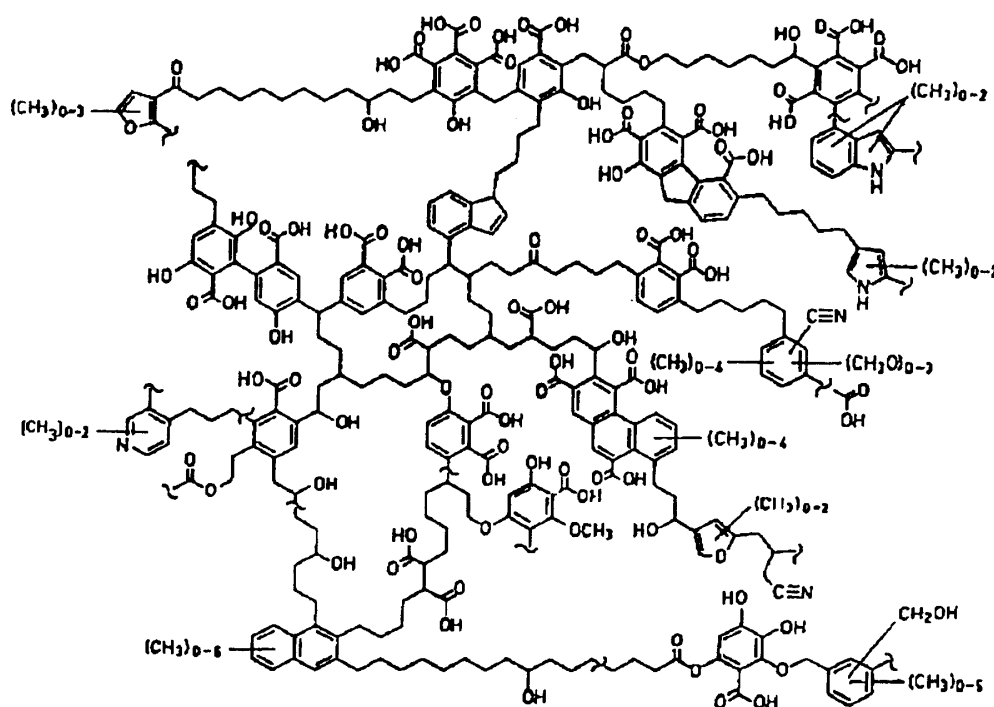


Figura 9 - Estrutura proposta para o ácido húmico por SCHULTEN (1995).

3.2 - Características estruturais das substâncias húmicas

A dificuldade para propor uma estrutura bem definida para as SH está associada, possivelmente, aos diferentes estágios de degradação do material. No entanto, muitas informações sobre as características estruturais das SH são bem conhecidas:

* as frações de ácido húmico e ácido fúlvico, apresentam-se como misturas heterogêneas de moléculas polidifusas, com intervalos de

pesos moleculares variando de algumas centenas até milhões (RÉ POPPI, *et al.* 1992; KHAN, *et al.* 1971; STEVENSON 1982);

* há uma variação da razão entre ácido húmico e ácido fúlvico em função do tipo de solo. Este fator está associado ao grau de humificação do mesmo.

* as substâncias húmicas extraídas de solos têm composição elemental média de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 - Composição elemental média de ácido húmico e ácido fúlvico de solos (CALDERONI, *et al.* 1984).

SH	Composição elemental média (%)				
	C	H	O	N	S
Ác. húmico	53,8-58,7	3,2-6,2	32,8-38,3	0,8-4,3	0,1-1,5
Ác. fúlvico	40,7-50,6	3,8-7,0	39,7-49,8	0,9-3,3	0,1-3,6

Da Tabela 2 verifica-se que o AH tem maior teor de carbono e menor teor de oxigênio que o AF. A relação C/H é menor para o AF indicando maior aromaticidade e uma estrutura mais condensada. A relação C/N, associada ao grau de decomposição do material, não apresenta grande variação para os ácidos.

* os ácidos húmico e fúlvico apresentam alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio (Tabela 3), tais como, carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas de vários tipos (JORDÃO, *et al.* 1993).

A Tabela 3 mostra a variação do conteúdo de grupos oxigenados entre AH e AF, bem como a influência do tipo de solo nas características dos ácidos. Admite-se estas diferenças em função das condições ambientais que influenciam a decomposição do material húmico.

Tabela 3 - Conteúdo de grupos oxigenados (meq/100 g) de ácido húmico e ácido fúlvico extraídos de diferentes tipos de solos (adaptada de STEVENSON, 1985).

Grupo funcional	Solo			
	Ácido	Neutro	Subtropical	Tropical
I				
Ácidos húmicos				
Acidez total	570-890	620-660	630-770	620-750
COOH	150-570	390-450	420-520	380-450
OH ácido	320-570	210-250	210-250	220-300
OH alcoólico	270-350	240-320	290	20-160
Quinona C=O / Cetona C=O	10-180	450-560	80-150	30-140
OCH ₃	40	30	30-50	60-80
Ácidos fúlvicos				
Acidez total	890-1420	-----	640-1230	820-1030
COOH	610-850	-----	520-960	720-1120
OH ácido	280-570	-----	120-270	30-570
OH alcoólico	340-460	-----	690-950	260-950
Quinona C=O / Cetona C=O	170-310	-----	120-260	120-420
OCH ₃	30-40	-----	80-90	30-120

4 - IMPORTÂNCIA DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS NO AMBIENTE

4.1- Propriedades físicas

No solo, desempenham importante papel na germinação de sementes, pois aumentam a retenção de calor devido sua coloração escura. Conservam o solo contra erosão devido à elevada capacidade de retenção de água (até vinte vezes sua massa) e cimentam as partículas do solo em agregados ao combinar-se com argilas minerais. Atuam como fertilizantes naturais cedendo nutrientes importantes para o desenvolvimento das plantas como, NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{-3} e SO_4^{-2} resultantes de sua formação e decomposição (SCHNITZER, *et al.* 1968).

4.2 - Propriedades químicas

4.2.1 - Interação substâncias húmicas - metal

A poluição ambiental é causada principalmente por despejos de restos industriais, esgotos domésticos, aplicação indevida de pesticidas / herbicidas às lavouras e remanescentes de poluentes do ar (ROCHA *et al.*, 1996). Dentre estes poluentes, os metais pesados representam um grupo especial pois não são degradados química ou biologicamente de forma natural (ALLOWAY, 1993). A presença de metais pesados no ambiente aquático em concentrações elevadas causa a mortalidade de peixes e seres fotossintetizantes (LACERDA & SALOMONS, 1997; LACERDA, 1997; JARDIM, 1988). No solo, reduzem a fertilidade e o desenvolvimento das plantas. Sua introdução no organismo humano via cadeia alimentar pode provocar inúmeras doenças, pois apresentam efeito cumulativo, podendo causar até a morte (CHAPMAN *et al.*, 1996).

Devido ao alto teor de oxigênio encontrado na estrutura das SH, elas têm excepcional capacidade para complexação de metais (ZHANG *et al.*, 1996). Esta propriedade de interagir com íons metálicos para formar complexos de diferentes estabilidades e características estruturais, tem sido objetivo de estudos de vários pesquisadores (SCHNITZER & SKINNER, 1968; BURBA *et al.*, 1993, 1994). O complexo formado tem estabilidade variada para cada metal, sendo mais elevada com metais pesados. A estabilidade do quelato metal-SH é determinada por uma série de fatores, incluindo o número de átomos que formam a ligação com o metal, a natureza e a concentração do íon metálico, concentração de SH, pH, tempo de complexação “ageing” etc. (ROCHA *et al.*, 1997a,b,c).

4.2.1.1 - Capacidade complexante

De acordo com HART (1981), em sistemas aquáticos íons metálicos podem estar presentes em diferentes formas físico-químicas. O estudo e a busca do conhecimento de como essas formas influenciam no meio é freqüentemente denominado de especiação de metais. A especiação é influenciada por diversos fatores como pH, potencial redox, tipos e concentrações de ligantes orgânicos (p.e. substâncias húmicas) e inorgânicos (p.e. hidróxidos e bicarbonatos), material particulado e coloidal. Já é sabido que a biodisponibilidade de metais é influenciada principalmente pela forma em que se encontram na natureza e não só pela concentração total como acreditava-se no passado (BERNHARD, 1986; MORRISON *et al.*, 1989).

Em águas naturais, muitos ligantes têm capacidade de reduzir os efeitos tóxicos de metais adicionados via fontes antropogênicas. Isto tem sido atribuído à complexação dos metais pelos ligantes presentes na água e geralmente esta propriedade é referida como a “capacidade complexante da água”. Vários métodos têm sido utilizados para obter informações sobre a capacidade complexante e o cobre tem sido o íon metálico mais utilizado nesses estudos devido sua característica de formar complexos estáveis com muitos ligantes de ocorrência natural na água. Dentre os métodos utilizados pode-se citar a titulação amperométrica, troca-iônica, eletrodo de íon seletivo, diálise, titulação potenciométrica, etc.. A comparação entre eles mostra que todos estão sujeitos a vantagens e desvantagens analíticas (HART 1981; LUND, 1990). Entretanto, a capacidade complexante em águas naturais parece estar muito associada com a matéria orgânica dissolvida de massa molecular entre 1000 e 10.000 dalton. A maior parte dessa matéria orgânica dissolvida tem características semelhantes às do ácido fúlvico e varia com o sistema aquático em questão.

4.2.2 - Interação substâncias húmicas - pesticidas

Os pesticidas/herbicidas, têm tempo de decomposição bastante longo em alguns casos, e quando em concentrações elevadas também provocam sérios problemas ao ecossistema.

A poluição e os processos de degradação dos pesticidas tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores, principalmente em áreas de estuários dos países banhados pelo Mediterrâneo (BARCELO, 1991; BARCELO, *et al.* 1994).

As interações das SH com compostos orgânicos antropogênicos, por exemplo, pesticidas e herbicidas estão relacionadas a efeitos de adsorção, solubilização, hidrólise, processos microbiológicos e fotossensibilizantes (LACORTE, *et al.* 1995). A superfície das SH, tais como dos AH, contêm sítios hidrofóbicos e hidrofílicos.

Os mecanismos mais comuns, relacionados com a adsorção de produtos químicos por SH, incluem atração de Van der Waals, ligações por ponte de hidrogênio, transferência de carga e troca iônica. Dois ou mais mecanismos desses podem ocorrer simultaneamente, dependendo das características do ambiente e da superfície das SH. O efeito solubilizante do material húmico sobre compostos orgânicos pode desempenhar um papel importante na dispersão, mobilidade e transporte desses produtos no ambiente aquático.

Ácidos fúlvicos, extraídos de solos, são capazes de solubilizar dialquil ftalatos. Resíduos de dicloroanilinas, enquanto ligados a matéria orgânica do solo, causam baixa ou nenhuma toxicidade aos microorganismos. Os AH retardam a fotólise de soluções aquosas de produtos como benzoantraceno, benzopireno, quinolina (CHOUDHRY, 1982) etc.

5 - EXTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS DE SOLOS

Um resumo dos métodos mais utilizados para extração de substâncias orgânicas de solos é mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Métodos utilizados para extração de substâncias orgânicas de solos*.

Substâncias orgânicas	Extrator	Material orgânico extraído % (m/m)
<i>Substâncias húmicas</i>	NaOH	80
	Na ₂ CO ₃	30
	Na ₄ P ₂ O ₇	30
	acetilacetona	30
	8-hidroxiquinolina	30
	ácido fórmico	55
	acetona-água-HCl	20
<i>Compostos hidrolizáveis</i>		
Aminoácidos/aminoaçúcares	HCl 6 mol/l	25-45
Açúcares	H ₂ SO ₄	5-25
Aminoácidos/açúcares livres	água, álcool 80%, acetato de amônio	até 1
Polissacarídeos	NaOH, água quente e HCOOH	até 5
Argilas	HF	5-50
Ceras, resinas e graxas	hexano, éter	2-6%

* (adaptada de STEVENSON, 1982)

Compostos apolares como ceras, resinas graxas etc., podem ser extraídos com solventes orgânicos (p.e. hexano, éter, tetracloreto de carbono, misturas benzênicas e outros). A hidrólise ácida tem sido muito utilizada para extração de aminoácidos e açúcares.

5.1 - Extração de substâncias húmicas de solos

5.1.1 - Extratores mais utilizados

Para a extração de substâncias húmicas de solos, são consideradas duas classes de extratores:

- 1 - extratores moderados;
- 2 - extratores alcalinos.

Para alguns pesquisadores, os extratores moderados são preferíveis. Outros preferem a extração mais completa das SH utilizando álcalis, mesmo havendo risco de alterações estruturais.

Recentemente alguns trabalhos propõem extração das SH utilizando uma sequência de extratores, onde parte do material é extraído com extratores moderados e posteriormente com solventes alcalinos. Algumas características, vantagens e desvantagens dessas duas classes de extratores, são citadas a seguir.

5.1.1.1- Extratores moderados

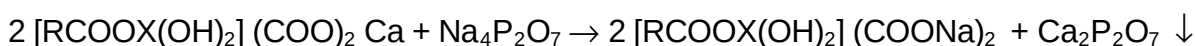
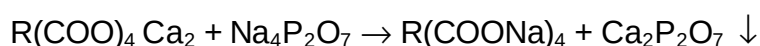
Representam uma classe de extratores mais seletivos e menos drásticos comumente utilizados na extração das SH. Os principais extratores moderados são pirofosfato de sódio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$), agentes

complexantes orgânicos em meio aquoso (acetilacetona e 8-hidroxiquinolina), ácido fórmico, misturas ácidas e solventes orgânicos de vários tipos.

Estes extratores parecem diminuir a ocorrência de alterações estruturais no material orgânico. Entretanto, são muito menos efetivos que os álcalis na extração das SH, exceto para o solo Spodosol (WHITEHEAD, *et al.* 1967).

5.1.1.1.1 - Pirofosfato de sódio e sais neutros

Em muitos solos, cálcio e outros cátions polivalentes (p.e. ferro e alumínio) são responsáveis pela forma insolúvel do material orgânico. Assim, reagentes que inativam esses cátions, formando precipitados insolúveis, liberam o material orgânico para a forma solúvel. Reagentes como oxalato de amônio e pirofosfato de sódio têm sido utilizados com esse propósito. De acordo com ALEKSANDROVA (1960) a reação de extração do material orgânico utilizando pirofosfato de sódio pode ser representada pela seguinte equação:



onde X é um cátion trivalente (p.e. Fe^{+3} ou Al^{+3}).

Os sais de sódio são considerados bons extratores de material orgânico principalmente pela possibilidade de diminuir alterações estruturais nas SH durante a extração. No entanto, poucos trabalhos

têm utilizado esse reagente isoladamente, pois seu poder de extração é até 30 % menor em relação aos extratores alcalinos. Além disso, o extrato húmico apresenta altos teores de ferro e alumínio como contaminantes.

5.1.1.1.2 - Ácido fórmico

TINSLEY *et al.* (1964) mostram que cerca de 55 % de material orgânico presente em solos minerais pode ser extraído com ácido fórmico contendo LiF, LiBr ou HBF_4 (ácido fluorbórico), pois estes rompem as interações de pontes de hidrogênio e ligações de complexos com íons metálicos.

A vantagem da utilização do ácido fórmico para extração do material orgânico, é o reagente não ter propriedades oxidantes ou hidrolíticas. Entretanto, o ácido fórmico também solubiliza compostos de natureza não húmica, principalmente polissacarídeos e grandes quantidades de Fe, Ca, Al e outros. A elevada quantidade de contaminantes co-extraídos, impossibilita sua remoção completa durante a purificação das substâncias húmicas. JONES *et al.* (1972) mostraram que o ácido fórmico é mais eficiente em solos onde o material orgânico está parcialmente humificado.

5.1.1.1.3 - Agentes complexantes

Compostos orgânicos como acetilacetona e 8-hidroxiquinolina, são capazes de formar complexos com íons metálicos polivalentes, sendo utilizados para extração de material orgânico de solos tipo Spodosol. O material orgânico destes solos ocorrem como complexos

de ferro e alumínio e a complexação destes metais por agentes quelantes libera o material orgânico para a forma solúvel. Esses agentes quelantes são pouco efetivos para extração de material orgânico de outros tipos de solos e o material húmico assim extraído ainda contém resíduos de cátions metálicos (TINSLEY *et al.* 1964). Resinas quelantes também têm sido utilizadas para extração de material orgânico de solos.

5.1.1.1.4 - Ácidos diluídos

Pequena quantidade de material orgânico pode ser extraída de solos utilizando ácido mineral diluído. Ácido fluorídrico provavelmente libera material orgânico ligado a material inorgânico por dissolução de silicatos hidratados e formação de complexos com ferro e alumínio. Conteúdo significativo de material orgânico em sedimentos ricos em argilas são extraídos com soluções ácidas contendo HF (STEVENSON, *et al.* 1967). Também verifica-se que o pré-tratamento do solo com ácidos minerais (HCl) para remoção de carbonatos e/ou silicatos (mistura HCl/HF) pode elevar o rendimento da extração alcalina.

5.1.1.1.5 - Solventes orgânicos

Formamida, N-metilformamida e solventes apróticos dipolares, N,N - dimetilformamida (DMF) e especialmente dimetilsulfóxido (DMSO) são os solventes orgânicos mais utilizados para extração das SH. Sua ação de solvatação pode ser explicada pela habilidade desses solventes em proporcionar unidades polares e não polares. Dentre os

solventes orgânicos o DMSO é o que apresenta maior eficiência na extração porém, ainda está muito abaixo da eficiência da extração alcalina.

5.1.1.1.6 - Outros reagentes

PORTER (1967) propõe a utilização de mistura de solução aquosa de HCl com solventes como, acetona, dioxano, ciclopentanona, dimetilformamida e outros. Acredita-se que o HCl facilita a separação da fração orgânica da porção mineral do solo por quebra de ponte com sais polivalentes. Após a quebra da ligação iônica, o solvente orgânico irá competir pelos sítios de ligação. Cerca de 23 % do total de carbono pode ser extraído de solos utilizando uma mistura acetona-água-HCl (PORTER, 1967), sendo a acetona mais facilmente removida em baixas temperaturas e por diálise. Entretanto, o material orgânico extraído contém alta contaminação mineral.

5.1.1.2 - Extratores alcalinos

Devido ao alto poder extrator, soluções de NaOH e /ou Na_2CO_3 de concentração entre 0,1 e 0,5 mol/l na razão solo/extrator de 1:20 (g/ml) têm sido as mais utilizadas na extração da matéria orgânica de solos.

TOLEDO *et al.* (1985), compararam a capacidade de extração de SH em vários solventes verificando que a maior capacidade para extração simultânea de AH e AF é com solução de NaOH 0,5 mol/l. Além disso, verificaram que o pré-tratamento do solo com HCl aumenta consideravelmente o poder de extração pela remoção de cálcio e outros cátions polivalentes. Entretanto, nesse tratamento cerca de 5 %

do material orgânico na forma de AF de baixo peso molecular é perdido.

Apesar de mais eficiente, o uso da solução alcalina na extração das SH tem sido muito criticada pois, nessas condições a matéria orgânica pode ser alterada por hidrólises e / ou auto-oxidação (STEVENSON, 1982).

BREMMER (1950) fez um estudo do consumo de O_2 em extrações de SH de solos distintos utilizando dois solventes diferentes. Verificou-se um aumento do O_2 consumido com a elevação do pH e o favorecimento de alterações químicas no material com o aumento do tempo de extração. Segundo SWIFT & POSNER (1972) a quebra de ligações no AH sob condições alcalinas é extremamente influenciada pela presença de O_2 . Além disso o O_2 pode elevar o estado de oxidação e a capacidade de troca de cátions do AH.

Para minimizar as mudanças químicas causadas por oxidação do material húmico, a extração pode ser feita sob atmosfera inerte utilizando nitrogênio, por exemplo.

Outras consequências indesejáveis para o estudo da natureza química são (TINSLEY, *et al.* 1961) :

1 - solução alcalina dissolve argila do substrato mineral contaminando o húmus extraído;

2 - solução alcalina dissolve matéria orgânica não húmica contida no solo. Os dois grupos, substâncias húmica e não húmicas não são facilmente separados, por que algumas destas substâncias podem se ligar covalentemente ao húmus. STEVENSON (1982), recomenda uma série de reagentes para extrair as substâncias não húmicas do solo,

antes da extração das SH. Entretanto, é difícil avaliar quais alterações esses solventes podem causar ao material ;

3 - sob condições alcalinas, a auto-oxidação de alguns constituintes orgânicos ocorre quando em contato com o ar;

4 - outras modificações podem ocorrer, incluindo condensação entre grupamentos carbonila de aldeídos ou quinonas, para formar compostos tipo húmus.

Apesar de todos os problemas da extração alcalina, esse tem sido o procedimento amplamente utilizado por pesquisadores e recomendado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas - IHSS (TOWN, *et al.* 1992) sob as seguintes condições: NaOH - 0,1 mol/l / 4 horas, razão 1:10 solo/extrator sob atmosfera de nitrogênio. O importante atualmente, talvez seja tornar a extração alcalina mais seletiva, reduzindo e/ou eliminando a contaminação do extrato húmico e minimizando a ocorrência de alterações estruturais.

6 - PURIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

Impurezas inorgânicas (sais, argilas, oxihidroxidos, etc.) e orgânicas (carboidratos, proteínas, lipídeos, etc.) geralmente estão presentes nas frações húmicas extraídas de solos e sedimentos. Para esses contaminantes não influenciarem nos resultados referentes às propriedades e características das SH necessita-se de prévia purificação do material.

6.1 - Ácido húmico

A fração de AH extraída de solos, frequentemente contém considerável quantidade de impurezas inorgânicas. Ácidos húmicos

extraídos de alguns solos podem conter até 30 % de cinzas. Redução considerável nesta quantidade pode ser obtida por repetidas etapas de dissolução-precipitação com ácido mineral, e passagem em resinas de troca iônica (DORMAAR *et al.*, 1970; JORDÃO *et al.*, 1993). Uma eficiente maneira de remover argilas é a centrifugação, a alta velocidade, após redissolver o AH em pH levemente alcalino.

OGNER *et al.* (1971), SCHNTIZER, (1974); MATSUDA *et al.* (1972) e ORTIZ DE SERRA *et al.* (1973) , têm feito o uso de HF, obtendo-se teores de cinzas inferiores a 1 %. O método consiste em tratar o AH , à temperatura ambiente, com solução diluída de HCl-HF. Após agitação por um período que varia de 12 a 48 horas, a mistura ácida é removida por filtração e o resíduo lavado com água destilada. A eficácia do método, em reduzir o conteúdo de cinzas, pode ser explicada devido sua capacidade de dissolver argilas hidratadas e formar complexos com cátions di e trivalentes. Entretanto, modificações químicas podem resultar do tratamento com HF e ainda há redução do teor de AH puro obtido (SENESI *et al.*, 1994).

Outro método de purificação muito utilizado é a diálise (TOLEDO, 1973; TOLEDO *et al.*, 1985; TOWN *et al.*, 1992). A diálise é a transferência de moléculas do soluto através de uma membrana por difusão de uma solução concentrada para uma solução diluída (PERRY, *et al.* 1984). Esta tem sido muito utilizada na separação/purificação de moléculas com base em suas diferenças de tamanho e peso molecular. Moléculas e/ou íons com dimensões maiores que o diâmetro dos poros da membrana são retidas dentro do tubo de diálise (dialisado) e, as moléculas menores atravessam e

emergem fora do tubo (difusato) (STRYER, 1988). Neste método de purificação os sais e compostos orgânicos de baixo peso molecular são facilmente removidos mas, os metais complexados ou fortemente adsorvidos não são eliminados.

De maneira geral, os íons metálicos encontram-se ligados ao AH por ligações de coordenação. A redução no conteúdo de cinzas é acompanhada de significativa perda de SH, possivelmente por liberação do ácido fúlvico de baixo peso molecular, ligado ao AH pelo metal (RÉ POPPI, 1988).

6.2 - Ácido fúlvico

Muitos estudos de caracterização da matéria orgânica do solo não levam em consideração o AF, sendo que a principal razão consiste na sua purificação. A solução de AF contém não apenas considerável quantidade de material inorgânico, dissolvido durante a extração, como também sais formados pela neutralização da base utilizada na extração e, compostos de natureza não húmica co-extraída (principalmente carboidratos).

A remoção do AF de filtrados volumosos, após a separação do AH, inclui a neutralização da solução e redução do volume, por evaporação à pressão reduzida e temperaturas que variam de 40 a 50 °C. Este processo pode causar mudanças químicas no material, devido condensações e polimerizações do AF com outros componentes orgânicos reativos (STEVENSON, 1982).

Um outro método para concentrar matéria húmica é através da precipitação com sais de Fe^{3+} e Al^{3+} , a pH 4,5. O fulvato insolúvel pode ser redissolvido com ácido forte e a matéria orgânica adsorvida em

carvão ativo. Os sais, compostos orgânicos simples e íons metálicos não complexados podem ser facilmente eliminados, por não serem adsorvidos pelo carvão (FORSYTH, 1974). O grande inconveniente desse método é a adsorção irreversível de parte das moléculas húmicas, resultando num baixo rendimento.

Cátions inorgânicos podem ser minimizados por adsorção seletiva em resinas de troca iônica e/ou por diálise (RÉ POPPI *et al.*, 1992; BARROS *et al.*, 1991; BARROS *et al.*, 1994).

Impurezas orgânicas não húmicas como, ceras, graxas e resinas (lipídeos) podem ser removidas com éter ou solução álcool-benzênicas. A separação de polissacarídeos e polipeptídeos pode ser feita por aquecimento do AH ou do AF com água (HAWORTH, 1971). Hidrólise ácida com HCl 6,0 mol/l também remove materiais não húmicos mas, há perda de até 40 % de massa e mudanças químicas podem ocorrer. Esse tratamento tem pequeno efeito no teor de C, H, O e razão E_4/E_6 do AH entretanto, drásticas mudanças podem ocorrer com o AF (Tabela 5). O teor de carbono aumenta enquanto a acidez total diminui aparentemente, devido a descarboxilação. O procedimento de hidrólise parece ser satisfatório para purificação do AH mas, não para o AF (SCHNITZER *et al.*, 1972).

Tabela 5 - Efeito da hidrólise com HCl 6,0 mol/l nas características dos ácidos húmico e fúlvico*.

Características	Ácido húmico		Ácido fúlvico	
	Antes da hidrólise	Depois da hidrólise	Antes da hidrólise	Depois da hidrólise
C (%)	57,2	58,1	49,5	53,9

H (%)	4,4	3,9	4,5	4,1
N (%)	2,4	0,7	0,8	0,1
Acidez total (meq/g)	8,1	7,0	12,4	8,9
COOH carboxila (meq/g)	4,8	4,3	9,1	4,9
OH fenólico (meq/g)	3,3	2,7	3,3	4,0
C=O cetonas (meq/g)	2,2	2,9		
C=O quinonas (meq/g)	2,1	2,2		
Razão E ₄ /E ₆	4,3	4,0	7,1	4,3
Cinzas	7,9	0,3	2,0	0

* adaptada de SCHNITZER *et al.* , 1972.

7 - CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

7.1 - Espectroscopia na região do infravermelho

A região de infravermelho (IV) do espectro eletromagnético pode fornecer valiosas informações sobre a estrutura de moléculas orgânicas. A reatividade da SH é atribuída tanto aos grupos funcionais contendo oxigênio, tais como, COOH, OH fenólico e alcóólico e C=O, como a radicais livres. Por intermédio dos espectros de IV de SH pode-se obter informações sobre natureza, reatividade e arranjo estrutural dos grupos funcionais contendo oxigênio. Além disso pode indicar a presença de substâncias inorgânicas (íons metálicos, argila).

O maior problema na aplicação da espectroscopia de IV para caracterização de SH é a possível interferência causada pela absorção de umidade, a qual produz bandas na região de 3.300 a 3.000 cm⁻¹ e de 1.720 a 1.500 cm⁻¹. Para eliminar a água absorvida, recomenda-se uma vigorosa secagem da amostra em dessecador à vácuo com P₂O₅.

ou em pistola de secagem com vapor de acetona (cerca de 60° C) (SCHNITZER, 1971).

As principais bandas de absorção presentes no espectro das SH estão na região de 3.750 - 3700 cm^{-1} (estiramento OH de silicatos), 3.400 - 3.300 cm^{-1} (estiramento OH, NH), 2.940 - 2.900 cm^{-1} (estiramento C-H de alifáticos), 1.725 - 1.700 cm^{-1} (estiramento C=O de grupos carboxílicos e carbonílicos), 1.620 - 1.600 cm^{-1} (deformação C=C de anel aromático, deformação assimétrica do grupo carboxilato, C=O de cetonas conjugadas fortemente ligadas por pontes de hidrogênio), 1.590 - 1.517 cm^{-1} (estiramento simétrico do grupo carboxilato, deformação N-H de aminoácidos e estiramento C=N), 1.400 - 1.370 cm^{-1} (deformação O-H e deformação C-H de grupos CH_2 e CH_3 , estiramento axial simétrico do COO^-), 1.280 - 1.200 cm^{-1} (estiramento CO e deformação O-H de COOH, estiramento C-O de éteres aromáticos), 1.170 - 950 cm^{-1} (estiramento C-O de álcoois e/ou fenóis e/ou carboidratos, impurezas de silicatos, Si-O).

Espectros no IV dos ácidos húmicos e fúlvicos têm fornecido informações úteis para a caracterização do material, principalmente de derivados das SH produzidos por tratamento químico, tais como, metilação e acetilação (STEVENSON, 1982).

7.2 - Espectroscopia na região do visível

A absorção de energia radiante por compostos orgânicos na região do visível, está relacionada com transferências de elétrons dos orbitais π , σ e n do estado fundamental para estados de maior energia. Compostos contendo elétrons não ligantes em átomos de O, N, S e halogênios são capazes de exibir absorções devidas a transições n - σ

π^* , enquanto sistemas contendo duplas ligações C=C, têm absorções devidas às transições $\pi - \pi^*$.

Acredita-se que várias estruturas em conjugação sejam responsáveis pela cor escura das SH, principalmente estruturas quinóides e grupos carbonilas de cetonas conjugadas, associadas polimERICAMENTE. Os espectros de absorção dos ácidos húmico e fúlvico, na região do ultravioleta e visível, são pouco característicos, porque não apresentam regiões de absorção máxima ou mínima.

A razão entre as absorbâncias a 465 e 665 nm, referida como razão E_4/E_6 , de soluções aquosas dos ácidos húmico e fúlvico, tem sido usada para fins de caracterização. De acordo com (KONONOVA, 1966) a razão E_4/E_6 está relacionada com o grau de condensações de anéis aromáticos, conteúdo de carbono, hidrogênio e oxigênio, além do peso molecular das SH (SCHNITZER, *et al.* 1972). Segundo esses autores, a diminuição da relação E_4/E_6 indica um aumento da condensação molecular, enquanto que o aumento dessa relação indica estruturas mais abertas. A condensação molecular, geralmente está associada ao teor aromático, assim, pode-se a partir da razão E_4/E_6 , obter informações quanto ao conteúdo de carbono, hidrogênio e oxigênio na molécula.

CHEN *et al.* (1974), estudaram os parâmetros que parecem controlar a razão E_4/E_6 e incluíram entre esses a concentração da SH, pH, concentração do radical livre, volume e peso molecular da partícula. Esses autores concluíram que a razão E_4/E_6 é influenciada principalmente pelo volume e peso molecular da SH, sendo que a razão E_4/E_6 é independente da concentração da SH, na faixa de concentração

de 100 a 500 mg de material húmico por litro de solução aquosa. Como parâmetros secundários, verificaram a relação existente entre a razão e o pH, o teor de O, C, CO₂H e acidez total que são funções do volume e peso da partícula.

8 - A MATRIZ DE ESTUDO: TURFA

8.1 - Introdução

Turfas representam uma pequena classe de combustível formada por decomposição inibida de resíduos vegetais de pântanos e lagoas. Caracteriza-se pelas condições na qual é formada e pelo seu grau de decomposição. Desde tempos antigos, a turfa tem sido usada como combustível, particularmente na Rússia, Finlândia, Irlanda e outros países da Europa. Tem sido intensivamente explorada na agricultura e outros. Atualmente cresceu o interesse pelo material devido ser grande fonte de hidrocarbonetos e outras matérias primas utilizadas na indústria. Por exemplo, os EUA utilizam turfa como matéria prima na produção de gás natural, óleo bruto, hulha, linhita e óleo combinado com xisto (SPEEDING, 1988).

Solos contendo turfas compreendem uma significativa porção da superfície terrestre em muitas regiões. A região de maior incidência de turfas está localizada no hemisfério norte mas, importantes reservas também têm sido encontradas no Brasil, Indonésia, Tailândia e outros países de regiões tropical e subtropical (VILLWOCK, *et al.* 1983).

8.2 - Composição das turfas

Turfa como produto natural da ação microbiana em plantas, apresenta cerca de 80 % de compostos orgânicos. O material orgânico varia em sua composição de acordo com o grau de decomposição. Sua fórmula empírica pode ser de $C_{1200} H_{813} O_{389} N_5 S$ para turfas em baixo estágio de degradação, até $C_{293} H_{489} O_{20} N_{15} S$ para turfas em alto estágio de degradação. Como as fórmulas indicam, a razão C/N diminui com o aumento da humificação (MORITA, 1980). Muitos autores associam as diferenças e similaridades dos resultados, à origem botânica e ao grau de decomposição da turfa.

Devido a variedade na origem e biogênese, um grande número de compostos estão presentes em turfas, como álcoois de cadeia longa (C_{30}), ácidos graxos (C_{26}), ésteres, parafinas (C_{31}), e outras formas de hidrocarbonetos como ceras, resinas, e betume. Hidrocarbonetos aromáticos como o perileno tem sido identificado como componente de ceras de turfas. Esses compostos originam-se principalmente dos produtos da ação microbiana.

Adicionalmente, há ainda compostos originados de plantas como, açúcares (p.e. glicose), aminoácidos (p.e. alanina), esteróides (p.e. β -sitosterol), fenólicos (p.e. ácido 4-hidroxibenzóico), triterpenos (p.e. betulin), hidrocarbonetos cíclicos, metil cetonas (C_{27}) e piridinas. Pode-se encontrar ainda substâncias como os estrogens.

Há pouco conhecimento acerca de ácidos solúveis, complexo lignina-húmus e a estrutura de polisacarídeos em turfas. Entretanto, há evidências que a decomposição da turfa diminui o conteúdo de carboidratos, e eleva o teor do complexo lignina-húmus.

A composição química de turfas pode ser determinada em análises referentes a porcentagem de material solúvel em água quente,

mistura benzeno-metanol (betume), solução 2 % (m/v) HCl (hemicelulose), solução 80 % (m/v) H_2SO_4 (celulose) e resíduo insolúvel (complexo lignina-húmico). As frações individuais obtidas são destinadas a outros métodos de análise.

A celulose é um polissacarídeo que constitui 30 a 60 % (m/m) do resíduo de vegetais. Apresenta-se na forma polimérica não ramificada da glicose, estando presente nas paredes das células das plantas superiores, algas e em alguns fungos.

As hemiceluloses e componentes pécticos são polissacarídeos formados por heteropolímeros altamente ramificados. Alguns desses polissacarídeos servem como reserva de energia e outros como o xiloglican, arabinogalactan e rhamnogalacturan formam a estrutura da parede celular dos vegetais.

A lignina é um polímero muito complexo formado por combinação de unidades fenilpropano (álcoois betaconiférico, cumárico e sinápico), arrançados em três dimensões.

8.3 - Aplicações da turfa

Vários autores (BAZIN, *et al.* 1982; DROZHALINA, 1984; LARGIN, 1983) têm publicado diferentes aspectos e aplicações da turfa. A Figura 10 (SILVA, 1995) mostra algumas dessas aplicações.

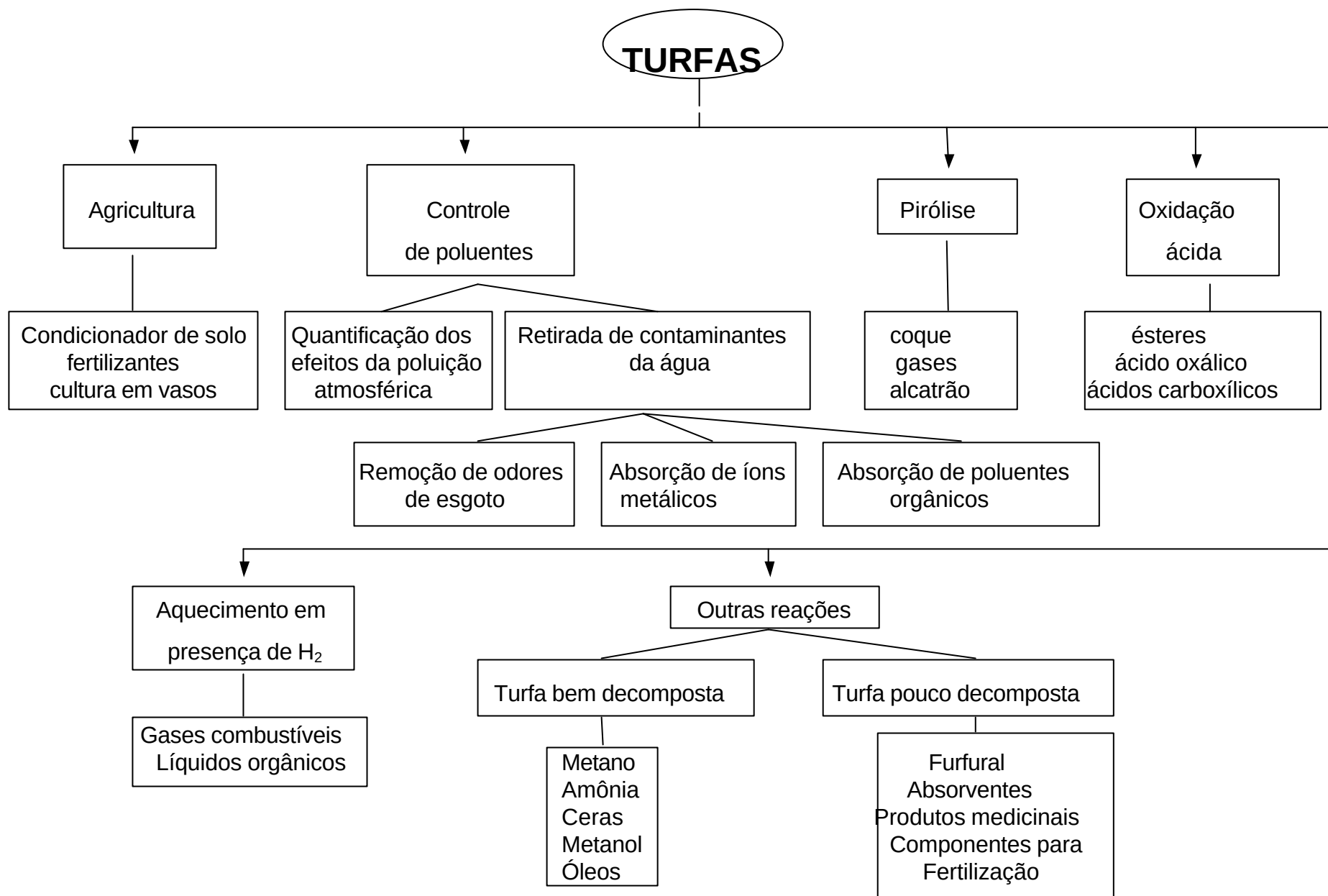


Figura 10 - Aplicações da turfa (adaptada de SILVA, 1995).

A conversão de turfas em compostos voláteis, originando produtos comerciais de grande proveito tem sido objeto de extenso estudo nos últimos tempos. Da gaseificação de turfas em condições apropriadas tem-se sintetizado gases como o dióxido e monóxido de carbono, hidrogênio, metano e nitrogênio. O gás de turfa, em comparação com o gás de hulha tem muito pouco enxofre, logo é muito utilizado na indústria de aço (IDELL, *et al.* 1926). Os componentes voláteis e o resíduo sólido da destilação destrutiva da turfa têm também grande aplicação industrial. A versatilidade dos produtos da turfa é verificada na produção de pixe, petróleo leve, gasolina, óleo lubrificante, ceras, betume, carvão etc.. Além disso, álcool metílico e etílico, sulfato de amônio, ácido acético e acetona podem também ser produzidos (HAANEL, 1925).

A presença de carboidratos incluindo celulose (cerca de 15 % - m/m), diferencia turfas de hulha, e a celulose tem sido muito utilizada na fabricação do papel (IDELL, *et al.* 1926).

Utilizações mais recentes consistem na preparação de intermediários da indústria de plásticos (p.e. poliuretanos), e na medicina com a obtenção de remédios utilizados no tratamento de doenças de pele, por exemplo, esteróides. Além do uso industrial, as turfas apresentam grande valor na agricultura. O intenso cultivo do solo na horticultura causa rápida diminuição da matéria orgânica, influenciando na qualidade e fertilidade do solo. Turfas quando utilizadas na agricultura aumentam sua produtividade e regeneram o solo para plantio atuando como adubo natural.

Na literatura há, várias citações (SCHALLINGER, 1984; GUNTHER, 1979) sobre a utilização da turfa na agricultura e horticultura. Misturas de fertilizantes com turfas têm sido utilizadas na horticultura como substituinte de adubo animal. KABAI (1981), afirma que a adição de turfa aumenta a liberação de N/P/K de fertilizantes permitindo melhor desenvolvimento das plantas pela formação de complexos metálicos (BLOOM, 1981; BOXMA, 1981). Alguns trabalhos mostram a ação biológica de humatos em turfas tem auxiliando o crescimento de plantas (PIHLAJA, *et al.* 1984).

Segundo SAARI (1983), a decomposição aeróbia de turfas melhora a eficiência desse material na agricultura pois, ocorre elevação do teor de materiais húmicos no solo. STEVENSON (1982) e outros (MARTHUR, *et al.* 1985) mostraram que as características e propriedades de turfas na agricultura e horticultura, está associada à presença de substâncias húmicas em sua estrutura.

9 - RELEVÂNCIA DO TRABALHO

Provavelmente as substâncias húmicas exercerão importante papel na redução/controle da poluição ambiental no próximo século pois, além da versatilidade na complexação de metais, tem aumentado o aproveitamento de resíduos ricos em materiais húmicos decorrentes de tratamento de efluentes e compostagem de lixo.

Várias são as linhas de pesquisa estudando substâncias húmicas como por exemplo: caracterização de estruturas parciais, determinação de constantes de equilíbrio metal-SH, labilidade relativa de metais, etc. (Figura 11). Entretanto, um dos primeiros estágios desses estudos é a extração do material húmico. Das condições experimentais utilizadas no

procedimento de extração dependerão as interpretações futuras. Assim, é de importância fundamental que se desenvolvam métodos analíticos que permitam extrair substâncias húmicas de solos, com mínimas alterações em suas estruturas originais, em tempo relativamente curto e com bom rendimento.

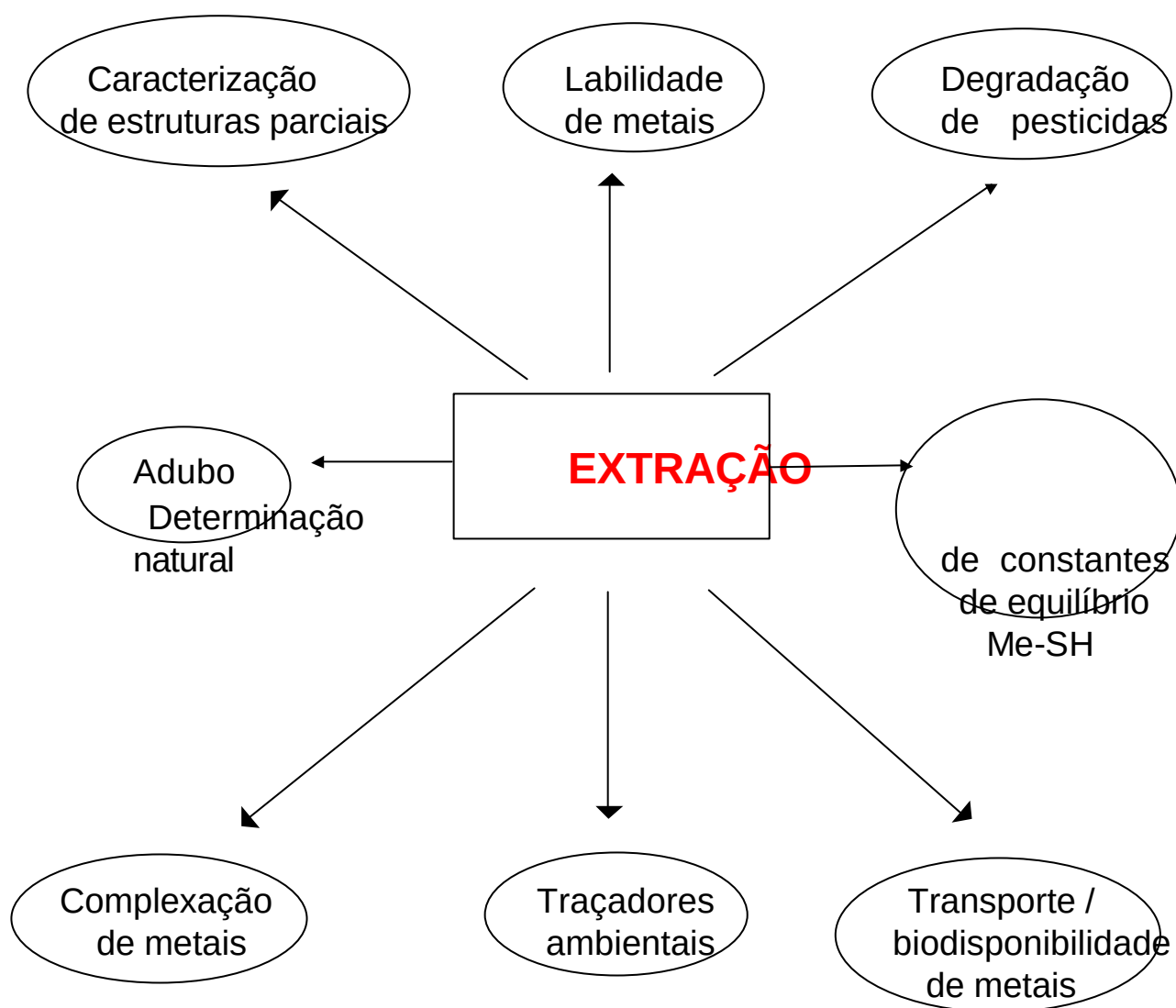


Figura 11 - Algumas linhas de pesquisa e aplicações das SH com vistas a soluções de problemas ambientais (ROCHA, 1998).

10 - OBJETIVOS DO TRABALHO

Não existe ainda uma metodologia de extração de substâncias húmicas de solos oficialmente adotada. A Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) tem recomendado um procedimento padrão baseado em 4 horas de extração com NaOH 0,1 mol/l à temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio (TOWN, *et al.* 1992). Entretanto, de acordo com PARSONS (1988), vários fatores influenciam no procedimento de extração e muitas questões ainda estão por ser respondidas.

O método de extração ideal descrito por STEVENSON (1982) seria aquele que alcançasse os seguintes objetivos:

- 1 - o método isola o material inalterado;
- 2 - as SH extraídas são livres tanto de contaminantes inorgânicos, tais como argilas e cátions metálicos, como matéria orgânica não húmica;
- 3 - a extração é completa em todo intervalo de peso molecular;
- 4 - o método é aplicável a todo tipo de solo.

Alguns métodos têm sido desenvolvidos no sentido de alcançar tais objetivos. No entanto, segundo alguns autores, tal método ideal ainda não foi e talvez nunca seja desenvolvido (RÉ POPPI, 1988), principalmente levando-se em consideração possíveis alterações estruturais nas substâncias húmicas.

Os objetivos desse trabalho foram:

- 1 - *Estudar os parâmetros que influenciam na extração das substâncias húmicas tais como, concentração e tipo de extrator (KOH e NaOH), razão solo/extrator, tempo, temperatura, atmosfera de*

extração e granulometria do solo. Avaliar a influência destes no rendimento, teor de cinzas, razão ácido húmico/ácido fúlvico, razão E_4/E_6 e grupos funcionais das substâncias húmicas extraídas;

2 - Desenvolver uma metodologia de extração com alto rendimento, baixo teor de cinzas e sem grandes alterações estruturais, utilizando-se como extrator hidróxido de potássio.

II - EXPERIMENTAL

1 - MATERIAIS E MÉTODOS

1.1 - Equipamentos

- Balança analítica Mettler H-10;
- Balança digital Denver - Série XE com capacidade máxima de 400 g;
- Banho termostático;
- Centrífuga Baby 206 com capacidade de até 3000 g;
- Equipamento para análise elementar Perkin Elmer 240-B;
- Espectrômetro HITACHI Mod. U2000;
- Espectrômetro Nicolet Mod. IMPACT 400;
- Estufa de circulação forçada Mod. 305/5;
- Medidor portátil de pH Orion para medidas de campo;
- Mesa agitadora Fanem com movimento circular horizontal;
- Mufla EDGCON 5P;
- Peneiras com abertura de 0,21, 0,59 e 1,0 mm;
- Rotavapor Büchi R-114 equipado com sistema vácuo Büchi B-169;
- Sistema purificador de água Millipore-Multi-Q;
- Termômetro;
- Tubos de diálise;
- Vidraria comum a um laboratório de Química Analítica;

1.2 - Reagentes e soluções

Toda água utilizada foi previamente destilada e purificada em sistema deionizador de água, marca Milli-Qplus até apresentar resistividade 18,2 M ohm/cm a 25 °C.

- ácido clorídrico, HCl , $d^{25^\circ} = 1,19 \text{ g/mL}$, título = 37% (m/m), $\text{MM} = 36,46 \text{ g}$;
- ftalato ácido de potássio, $\text{HOCOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$, $\text{MM} = 204,22 \text{ g}$;
- carbonato ácido de sódio, NaHCO_3 , $\text{MM} = 84,01 \text{ g}$;
- hidróxido de potássio, KOH , $\text{MM} = 56,11 \text{ g}$;
- hidróxido de sódio, NaOH , $\text{MM} = 40,00$.
- nitrato de prata, AgNO_3 , $\text{MM} = 169,87 \text{ g}$
- Na_2EDTA , $\text{MM} = 336,23 \text{ g}$;

Todos os reagentes utilizados são de grau analítico e as soluções foram preparadas por dissoluções e/ou diluições dos respectivos reagentes.

2 - PREPARO DAS SOLUÇÕES ESTOQUE

2.1 - Hidróxido de sódio - 2,0 mol/L

Dissolveu-se 40,00 g de NaOH em béquer, transferiu-se para balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água.

2.2 - Hidróxido de potássio - 2,0 mol/L

Dissolveu-se 56,11 g de KOH em béquer, transferiu-se para balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água.

2.3 - Ácido clorídrico - 6,0 mol/L

A solução foi preparada por diluição da solução concentrada de HCl .

2.4 - Carbonato ácido de sódio - 0,05 mol/L

Dissolveu-se 0,42 g de carbonato ácido de sódio em béquer, transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água.

2.5 - Solução de fenolftaleína

Em béquer, dissolveu-se 0,5 g de fenolftaleína em 50 mL de etanol e elevou o volume a 100 mL com água (BATAGLIA *et al.*, 1978).

2.6 - Solução de AgNO_3 - 0,01 mol/L

Dissolveu-se 1,70 de AgNO_3 em béquer, transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água.

2.7 - Solução de Na_2EDTA - 0,01 mol/L

Dissolveu-se 0,34g de Na_2EDTA em béquer, transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água.

O preparo das soluções de trabalho de concentrações menores foi feito por diluição das respectivas soluções estoque.

3 - PADRONIZAÇÃO DOS REAGENTES ALCALINOS

Antes da utilização, as soluções dos hidróxidos de sódio e potássio foram padronizadas por titulação convencional utilizando ftalato ácido de potássio como padrão primário, previamente seco em estufa a 120 °C por 4 horas, e solução de fenolftaleína como indicador. Após a padronização as soluções foram conservadas em frasco de polietileno.

4 - ESTUDO DA MATRIZ: TURFA

4.1 - Coleta da amostra

A amostra foi coletada a profundidade de 1 m da superfície do solo na região de Ribeirão Preto interior de São Paulo. Em seguida foi armazenada em saco de polietileno para evitar ação da luz e umidade.

4.2 - Preparo da amostra

4.2.1 - Secagem / peneiramento

A amostra foi seca ao ar por 3 dias, triturada em gral de porcelana e passada em peneira de 2 mm (70 mesh).

4.3 - Testes preliminares

4.3.1 - Determinação de carbonatos na amostra

Adicionou-se 50 mL de água deionizada a 5,0 g de amostra e deixou-se sob agitação mecânica por 24 horas. A seguir filtrou-se à vácuo em papel qualitativo e mediu-se o pH do filtrado (JACKSON, 1958).

4.3.2 - Determinação do teor de matéria orgânica e inorgânica

Alíquota de 0,5000 g de amostra foi calcinada em mufla a 750 °C por 4 horas em cadinho previamente tarado. O teor de matéria orgânica foi feito pela diferença de massa após a calcinação considerando a média entre três determinações. Considera-se o resíduo final de calcinação como matéria inorgânica (GRIFFITH, *et al.* 1975).

4.3.3 - Caracterização físico-química da amostra

Foi feita pelo laboratório de análise de solos do Instituto de Química de Araraquara. Foram determinados K, Ca, Mg, P e CTC (capacidade de troca de cátions). A metodologia empregada foi a descrita por (RAIJ, *et al.* 1987).

4.3.4 - Composição elementar

Análise elementar foi feita no laboratório de microanálise do Instituto de Química de Araraquara. Carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados em equipamento da Perkin-Elmer modelo 240-B.

5 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

5.1 - Estudo dos parâmetros que influenciam na extração das substâncias húmicas

Parâmetros como concentração do extrator, tipo de extrator, razão solo/extrator, tempo de extração, temperatura, atmosfera de extração e granulometria do solo foram estudados para avaliar a influência destes no rendimento, teor de cinzas, razão E_4/E_6 e grupos funcionais das SH extraídas.

5.1.1 - Concentração dos extratores

Foram feitas 3 extrações de substâncias húmicas para cada extrator (NaOH e KOH) com variação de suas respectivas concentrações como mostrado na Tabela 6.

Após a extração fez-se o fracionamento das SH (procedimento 5.2, pág. 44) e determinou-se o rendimento da extração (procedimento descrito em 7.1, pág. 46), teor de cinzas (procedimento descrito em 7.2, pág.46) e características estruturais utilizando espectrometria na região do visível (procedimento descrito em 7.3, pág. 46) e na região do infravermelho (procedimento descrito em 7.4, pág. 47).

Tabela 6 - Condições de extração das substâncias húmicas do solo.

Massa de solo (g)	Tipo de extrator	Volume do extrator (mL)	Conc. do extrator (mol/L)	Tempo de extração (min)
5,0	NaOH	50,0	1,00	240
5,0	NaOH	50,0	0,50	240
5,0	NaOH	50,0	0,10	240
5,0	KOH	50,0	1,00	240
5,0	KOH	50,0	0,50	240
5,0	KOH	50,0	0,10	240

Obs: Todas as extrações foram feitas em sistema inerte (mostrado na Figura 12) utilizando-se fluxo de nitrogênio de 100 mL/min, temperatura ambiente (25-30° C), na relação solo/extrator 1:10 (m/v) e sob agitação mecânica.

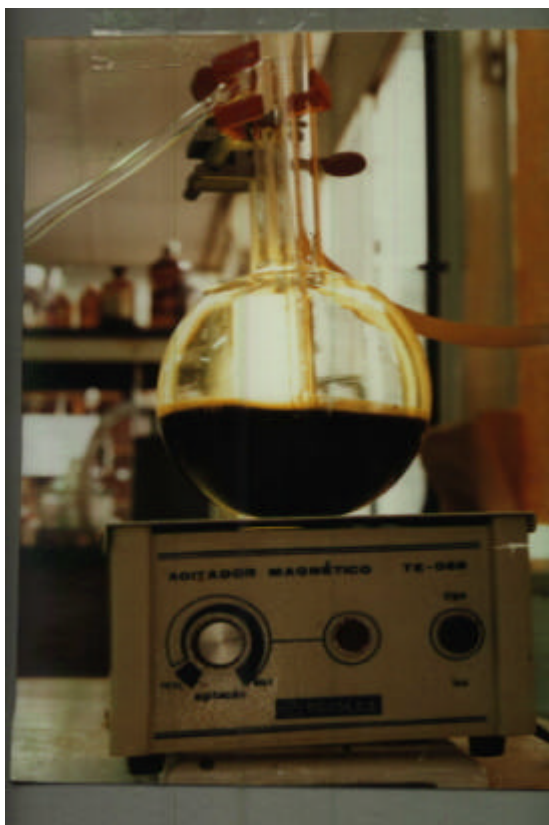


Figura 12 - Sistema extrator utilizado na extração das substâncias húmicas de solos.

5.1.2 - Tempo de extração

Foi feita a extração das substâncias húmicas em três concentrações diferentes para cada extrator variando-se o tempo de extração de 60 minutos a 8 horas como mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Variação do tempo de extração das substâncias húmicas de solos utilizando-se como extratores hidróxido de sódio e hidróxido de potássio.

NaOH		KOH	
Conc.(mol/L)	Tempo (min.)	Conc.(mol/L)	Tempo (min.)
1,0	60	1,00	60
1,0	120	1,00	120
1,0	240	1,00	240
1,0	480	1,00	480

0,5	60	0,50	60
0,5	120	0,50	120
0,5	240	0,50	240
0,5	480	0,50	480
0,1	60	0,10	60
0,1	120	0,10	120
0,1	240	0,10	240
0,1	480	0,10	480

Obs: Todas as extrações foram feitas em temperatura ambiente (25-30 °C) em atmosfera de nitrogênio (mostrado na Figura 12, pág. 41) utilizando fluxo de N₂ de 100 mL/min, sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (m/v).

Após a extração seguiu-se o procedimento 5.2 (pág. 44) para separação dos ácidos húmico e fúlvico e os procedimentos 7.1 - 7.3 (pág. 46) para avaliação da influência do tempo de extração.

5.1.3 - Relação solo/extrator

Foram feitas 6 extrações das substâncias húmicas com KOH 0,5 mol/L por 4 horas, sob agitação mecânica e atmosfera inerte (N₂) em diferentes relações solo/extrator (m/v) 1:5, 1:10, 1:20., 1:30, 1:40 e 1:50.

A determinação da influência dessa relação na extração das substâncias húmicas foi feita baseada no rendimento da extração (procedimento 7.1, pág. 46), no teor de cinzas (procedimento descrito em 7.2 pág.46) e razão E₄/E₆ (procedimento descrito em 7.3, pág. 46) do material extraído.

5.1.4 - Temperatura da extração

Foi feita a extração das substâncias húmicas com KOH 0,5 mol/L por 4 horas, sob agitação mecânica e atmosfera inerte, na razão 1:20 (m/v) em três temperaturas diferentes (25, 50 e 75 °C). Após a extração seguiu-se o procedimento 5.2 (pág. 44) para fracionamento das substâncias húmicas em ácido húmico e ácido fúlvico e os procedimentos 7.1 - 7.4 (págs. 46 e 47) para avaliação da influência da temperatura na extração das substâncias húmicas.

5.1.5 - Atmosfera de extração

Para verificar a influência da atmosfera inerte (nitrogênio) na redução da oxidação das substâncias húmicas durante a extração, foram feitas 3 extrações com KOH na concentração 1,0 mol/L, razão 1:20 (m/v) (solo/extrator), à temperatura ambiente, sob agitação mecânica e em presença de ar durante 8, 12 e 16 horas. Em seguida as substâncias húmicas foram fracionadas em ácido húmico e ácido fúlvico de acordo com procedimento 5.2 (pág. 44) e os ácidos foram submetidos a espectroscopia na região do visível e do infravermelho, segundo os procedimentos 7.3 e 7.4 (págs. 46 e 47) . Os resultados foram comparados com a extração em atmosfera de nitrogênio.

5.1.6 - Granulometria do material

Foram feitas 3 extrações das substâncias húmicas com KOH 0,5 mol/L, na razão 1:20 (m/v), sob agitação mecânica e atmosfera inerte (N₂) durante 4 horas, a partir de amostras de turfa com granulometrias diferentes (0,21, 0,59 e 1,0 mm). Em seguida o material foi estudado segundo os procedimentos 7.1 e 7.2 (pág. 46).

5.2 - Fracionamento das substâncias húmicas e separação dos ácidos húmico e fúlvico extraídos

Após extração fez-se centrifugação do extrato húmico a 2000.g por 10 minutos para separação da humina (fração insolúvel em álcalis). A seguir a substância húmica foi concentrada a 55° C em rotaevaporador até cerca de 10 mL, transferida para placas de Petri previamente taradas e levada a estufa de circulação forçada a 55°C até peso constante. Parte das SH foi separada para estudos posteriores e parte foi dissolvida em água e fracionada em AH e AF utilizando-se HCl 6,0 mol/L até pH 1,5 (Figura 13). Após decantação do AH (insolúvel a pH < 2,0), este foi separado do AF por centrifugação a 2000.g por 10 minutos.



Figura 13 - Fracionamento das substâncias húmicas em ácido húmico (fração inferior) e ácido fúlvico (fração superior) por acidificação.

O ácido húmico foi transferido para placa de Petri previamente tarada e seco a 55 °C em estufa de circulação forçada até peso constante.

O ácido fúlvico foi rotavaporado, transferido para placas de Petri previamente taradas e seco a 55 °C em estufa de circulação forçada até peso constante.

6 - PURIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

Para as caracterizações espectroscópicas dos ácidos fúlvicos fez-se diálise para a remoção de excesso de sais dissolvidos. Para o ácido húmico utilizou-se o procedimento de lavagens sucessivas com água deionizada para remoção de cloretos.

6.1 - Limpeza dos tubos de diálise

A limpeza dos tubos de diálise foi feita segundo o procedimento descrito por TOWN, *et al.*, 1992. Após tratamento por 10 minutos com soluções de NaHCO_3 2 % (m/m) e EDTANa_2 (0,01 mol/L), os tubos foram lavados com água (65 °C) e estocados a - 6 °C.

6.2 - Diálise do ácido fúlvico

Adicionou-se 2,0 g de AF no tubo de diálise e fez-se imersão em água deionizada, deixando sob agitação magnética até teste negativo para Cl^- (teste com AgNO_3 0,1 mol/L). Em seguida transferiu-se o AF para placa de Petri previamente tarada e secou em estufa a 55 °C até peso constante. Determinou-se o teor de cinzas utilizando o procedimento descrito em 7.2 (pág. 46).

6.3 - Lavagem do ácido húmico

0,5 g de AH foi lavado sucessivamente com água deionizada até teste negativo para Cl^- . Em seguida o AH foi transferido para placa de Petri previamente tarada e mantido em estufa a 55 °C até peso

constante. Determinou-se o teor de cinzas utilizando o procedimento descrito em 7.2 (pág. 46).

7 - CARACTERIZAÇÕES

7.1 - Determinação do rendimento das extrações

Calculou-se o rendimento da extração baseando-se na relação entre a massa de solo seca submetida a extração e a massa de material orgânico extraído. Para a determinação do rendimento do AH presente nas SH extraídas, fez-se a relação entre a massa de SH submetida a acidificação e a massa de matéria orgânica do resíduo seco de AH obtido. O teor de AF foi determinado pela diferença entre o teor de material orgânico presente nas substâncias húmicas e no ácido húmico.

7.2 - Determinação do teor de cinzas do material extraído

O teor de cinzas foi determinado seguindo o procedimento descrito por GRIFFITH & SCHNITZER, 1975. Neste procedimento, o material é calcinado a 750 °C por 4 horas em cadinho previamente tarado. O teor de cinzas é determinado pela relação entre massa de amostra seca submetida a calcinação e o resíduo obtido da calcinação.

7.3 - Espectroscopia na região do visível

Tomou-se 0,02 g de cada material e dissolveu-se em 10 mL de NaHCO_3 0,05 mol/L e fez-se leituras a 465 e 665 nm, obtendo-se a relação E_4/E_6 (GRIFFITH e SCHNITZER, 1975).

7.4 - Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros no IV foram obtidos de pastilhas com cerca de 200 mg de KBr, pulverizado e seco a 110 °C e 0,5 mg de cada material. As pastilhas foram obtidas submetendo a mistura (KBr/amostra) a pressão de 10 t /cm² em pastilhador de 14 mm de diâmetro.

III - RESULTADOS E DISCUSSÕES

1 - ESTUDO DA MATRIZ: TURFA

A Tabela 8 mostra os resultados referentes às características físico-químicas da amostra de turfa separada para estudo.

Tabela 8 - Resultados analíticos da amostra de turfa.

MO	MI	pH	K	Ca	Mg	CTC*	P	C/N
(%)	(%)			meQ /	dm ³		mg / g	
20,04	79,96	4,1	0,48	7,1	1,8	25,9	37,0	17,77

*CTC - capacidade de troca catiônica

A amostra em estudo apresentou cerca de 20,0 e 80,0 % de material orgânico e inorgânico, respectivamente. O material inorgânico trata-se principalmente de argilas, metais e sais inorgânicos. A acidez e a elevada relação C/N (17,77) do solo caracteriza alto grau de decomposição da matéria orgânica presente devido o processo de humificação (STEVENSON, 1982).

Segundo AIZENSHTAT *et al.* (1973), um sedimento considerado rico do ponto de vista orgânico, pode apresentar concentração de 5 -10 % dessas substâncias, justificando assim a escolha dessa matriz para estudo.

2 - PARÂMETROS QUE INFLUENCIAM NA EXTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

2.1 - Concentração do extrator

A Tabela 9 mostra os resultados referentes a rendimento, teor de material orgânico e inorgânico e razão E_4/E_6 das substâncias húmicas, ácido húmico e ácido fúlvico extraídos de uma amostra de turfa utilizando extratores (NaOH e KOH), em concentrações variadas.

Tabela 9 - Resultados médios da variação da concentração das soluções de NaOH e KOH na extração das substâncias húmicas de turfa.

Extrator (mol/L)	SH				AH				AF	
	R	MO	MI	E_4/E_6	R	MO	MI	E_4/E_6	R	E_4/E_6
										6
NaOH-1,0	36,15	17,40	82,60	5,75	21,50	41,37	58,63	4,22	78,50	4,05
NaOH-0,5	16,80	20,65	79,35	5,21	34,23	39,18	60,82	4,65	65,77	4,20
NaOH-0,1	54,71	26,95	73,05	3,75	96,37	28,11	71,88	4,72	3,63	4,63
KOH-1,0	49,06	27,80	72,20	3,14	23,08	44,62	55,38	4,20	76,92	3,67
KOH-0,5	36,74	36,95	63,05	3,55	65,67	42,71	57,29	3,94	34,33	3,02
KOH-0,1	24,05	33,13	66,87	3,58	86,56	34,91	65,09	3,80	13,44	3,26

R = rendimento do material extraído (%);

MO = material orgânico (%);

MI = material inorgânico (%);

Obs: todas as extrações foram feitas nas condições descritas no item 5.1.1 (pág. 41).

A Figura 14, construída com dados da Tabela 9, permite uma melhor visualização dos resultados referentes ao rendimento, teor de matéria orgânica e inorgânica das substâncias húmicas extraídas.

Verifica-se pelos resultados obtidos que a variação da concentração e o tipo de extrator utilizado na extração de materiais húmicos de turfas, influencia muito no processo de extração.

No intervalo de concentração estudado, observou-se para a extração utilizando-se solução de KOH, uma relação entre o aumento

da concentração do extrator e o rendimento das SH extraídas. Já na extração com solução de NaOH essa relação não foi verificada.

Comparando-se o rendimento das SH pelos dois extratores numa mesma concentração, observou-se nas maiores concentrações 1,0 e 0,5 mol/L que a solução de KOH extraiu maior quantidade de SH em relação a solução de NaOH. Entretanto, na extração em concentração 0,1 mol/L, a solução de NaOH teve maior rendimento, porém, também extraiu maior quantidade de material inorgânico.

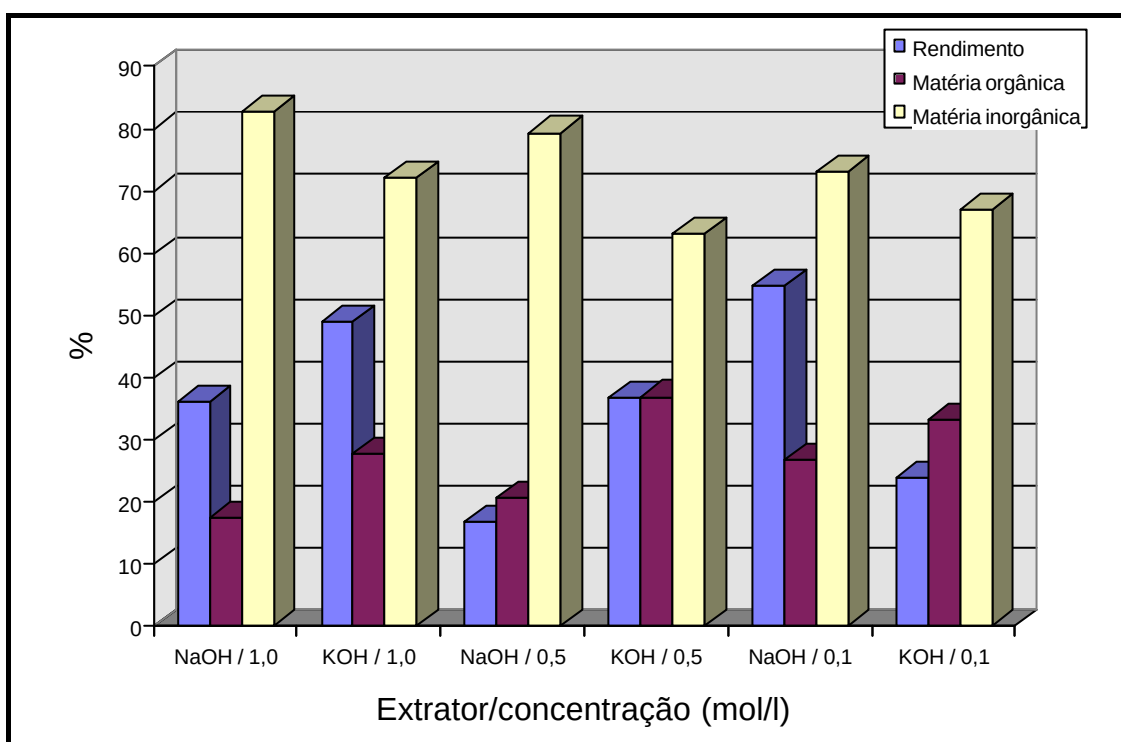


Figura 14 - Variações no rendimento, teor de matéria orgânica e inorgânica das substâncias húmicas extraídas.

Comparando-se o teor de cinzas das substâncias húmicas extraídas pelos dois extratores, verificou-se que em todas as extrações, as SH extraídas com NaOH apresentou maior teor de cinzas.

Também observou-se a influência da concentração do extrator no teor de cinzas e no tipo de contaminante co-extraído. Para extrações

utilizando álcalis mais concentrados, a extração do material inorgânico é geralmente mais elevada. Há ainda, variações nas características das cinzas obtidas do material após a calcinação. Na extração com álcalis 0,1 mol/L, o resíduo tinha cor marrom indicando a presença de silicatos. Já nas demais extrações o resíduo foi de coloração branca indicando possivelmente sais de sódio e potássio.

Álcalis mais diluídos podem favorecer a dissolução de silicatos liberando assim, material orgânico ligado a argilas (STEVENSON, 1982). A natureza das cinzas dos ácidos húmicos extraídos com álcalis mais diluídos, talvez justifique o aumento do rendimento e do teor de cinzas dos ácidos.

Os menores valores da relação E_4/E_6 das SH extraídas em relação aos encontrados na literatura (GRIFFITH, *et al.* 1975), deve-se ao maior grau de humificação da matriz, que possui assim, menor teor de carboidratos e maior teor de estruturas fenólicas, mais difíceis de sofrer degradação.

Observou-se ainda, que para todas as extrações o AF sempre possui menor relação E_4/E_6 em relação ao AH, estando associado a maior aromaticidade do ácido fúlvico e sua tendência em formar pontes de hidrogênio intra e intermolecular elevando a condensação da molécula (SHNITZER *et al.*, 1972).

Comparando-se os resultados referentes aos valores da relação E_4/E_6 para as SH, AH e AF, verifica-se que esses são sempre menores quando a extração é feita com KOH, indicando uma estrutura mais condensada devido possivelmente a sua maior aromaticidade. Preliminarmente pode-se inferir que a extração com NaOH talvez, seja

menos branda que a extração com KOH, tornando assim, a estrutura menos condensada.

Para caracterizar a maior aromaticidade das SH extraídas com KOH, pode-se conciliar a esses resultados os valores da análise elementar (CHN), pois a menor relação C/H também está associada ao aumento do teor aromático das SH (CHEN *et al.*, 1974).

Os resultados da Tabela 10 confirmam as observações de SCHNITZER *et al.* (1974) segundo o qual, de acordo com a relação E_4/E_6 pode-se tirar ainda, informações relacionadas ao teor de carbono, oxigênio e hidrogênio. O aumento dessa relação indica um maior teor de carbono e hidrogênio.

Os resultados da análise elementar também mostram a influência do tipo de extrator utilizado na extração e sua concentração nas características do material extraído. Além das diferenças da relação C/H já discutidas, verifica-se alterações no teor de nitrogênio presente nas diferentes amostras.

Tabela 10 - Resultados médios da análise da composição elementar das substâncias húmicas extraídas (valores expressos em porcentagem).

	C	H	N	C/H
SH - A	27,59	4,44	1,52	6,21
SH - B	26,88	4,73	1,43	5,68
SH - C	22,31	5,18	1,58	4,31
SH - D	26,19	5,48	0,71	4,78
SH - E	25,79	6,13	0,57	4,21
SH - F	23,06	6,35	0,49	3,63

SH - A = substâncias húmicas extraídas com NaOH 1,0 mol/L;

SH - B = substâncias húmicas extraídas com NaOH 0,5 mol/L;
SH - C = substâncias húmicas extraídas com NaOH 0,1 mol/L;
SH - D = substâncias húmicas extraídas com KOH 1,0 mol/L;
SH - E = substâncias húmicas extraídas com KOH 0,5 mol/L;
SH - F = substâncias húmicas extraídas com KOH 0,1 mol/L;

Obs: todas as extrações foram feitas nas condições descritas no item 5.1.1 (pág. 41).

A diferença entre o teor de nitrogênio das substâncias húmicas extraídas, pode indicar uma possível contaminação de substâncias de natureza não húmica como, proteínas e aminoácidos quando a extração é feita com NaOH ou sugerir uma extração incompleta do material húmico por KOH.

A determinação do rendimento do AH e do AF, permitiu verificar a influência da concentração do álcali na relação entre o AH e o AF extraído. Diminuindo a concentração do álcali a extração do AH aumenta e a extração do AF reduz (Figura 15). Essas evidências puderam ser observadas inclusive visualmente pela diferença de coloração da fração fúlvica em função da concentração do extrator utilizado. Nas concentrações de álcali 1, 0,5 e 0,1 mol/L observou-se as colorações castanho, amarelo e quase incolor, respectivamente indicando a redução do teor de AF nos extratos.

Estas observações estão de acordo com os resultados de GASCHO *et al.*, (1968). Estes autores associam essas diferenças na extração, ao aumento da concentração do álcali poder romper forças intermoleculares entre o AH e o AF, como pontes de hidrogênio e/ou ligações do tipo éster.

Segundo LUKOSHKO *et al.* (1981, 1986), as turfas mais recentes são ricas em nitrogênio e AF, enquanto as mais antigas são ricas em

AH. No entanto, como foi discutido, a concentração e o tipo de extrator influencia no teor de AH e AF extraídos, assim, a utilização desse parâmetro para estimar a idade de turfas parece ser questionável.

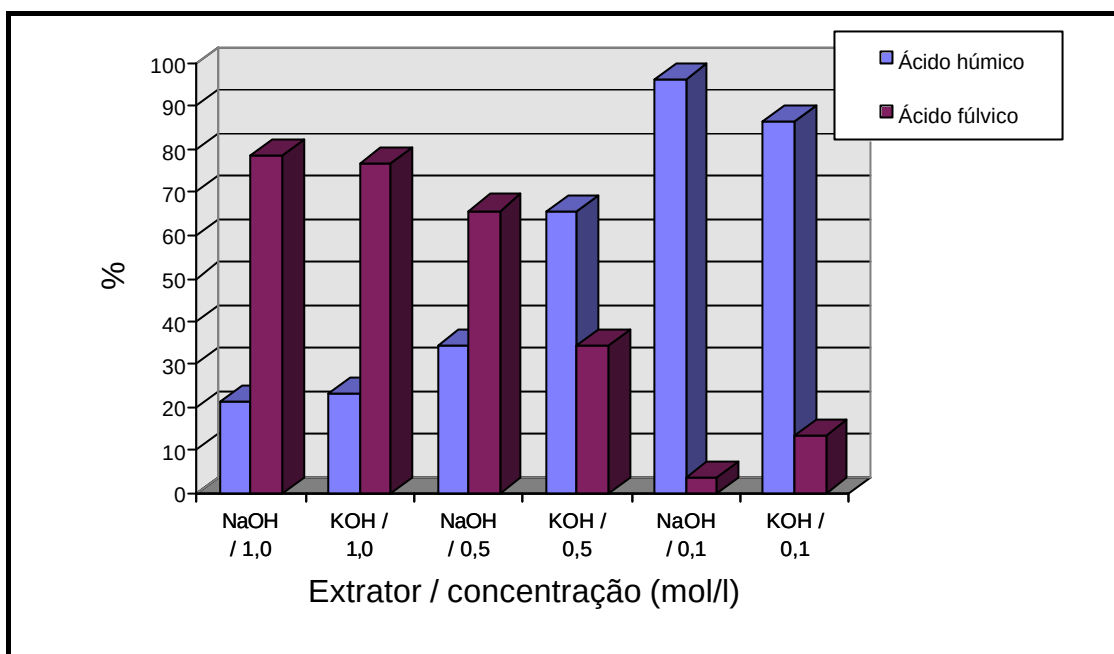


Figura 15 - Influência do extrator e de sua concentração na razão ácido húmico e ácido fúlvico extraído.

As bandas de absorção dos espectros na região do infravermelho obtidos dos ácidos húmico e fúlvico são compatíveis com os encontrados na literatura (ZUNIC *et al.*, 1992; RÉ POPPI *et al.*, 1992; GRIFFITH *et al.*, 1975).

As principais bandas de absorção que apareceram nos espectros do ácido húmico (Figuras 16 - 21) foram:

- 1 - estiramento OH de silicatos na região de 3700 cm^{-1} ;
- 2 - estiramento OH (livre e ligado por ponte de hidrogênio) de álcoois e/ou fenóis e/ou ácidos carboxílicos na região de $3500 - 3300\text{ cm}^{-1}$;

- 3 - estiramento CO de álcoois e/ou fenóis e SiO na região de ~ 1030 e 1080 cm^{-1} , indicando a presença de álcoois e impurezas de silicatos;
- 4 - a presença de anéis aromáticos pode ser verificada devido estiramento CH de alquenos e/ou aromáticos acima de 3000 cm^{-1} , forte banda na região de 1630 cm^{-1} referente ao estiramento C=C de alquenos e/ou aromáticos e bandas na região de 900 cm^{-1} referente a deformação fora do plano da ligação CH de anéis aromáticos;
- 5 - as bandas de absorção abaixo de 3000 cm^{-1} que nos espectros aparecem na região de 2930 cm^{-1} , aliada ao estiramento C-C na região de 1420 cm^{-1} indicam a presença de alifáticos;
- 6 - a forte banda que aparece na região de 1710 cm^{-1} , pode ser atribuída ao estiramento C=O de cetonas e/ou ácidos carboxílicos.

Os espectros do AF (Figuras 22 - 27) mostram praticamente as mesmas frequências de absorção, com excessão da banda cerca de 1700 cm^{-1} que encontra-se deslocada para frequências próximas de 1680 cm^{-1} podendo estar associada ao estiramento C=O de cetonas conjugadas. Estas observações aliadas aos valores da razão E_4/E_6 e da composição elementar mostram a maior condensação da estrutura do AF em relação ao AH.

Também verifica-se nos espectros do AF o desaparecimento da banda na região de 3700 cm^{-1} associada ao estiramento OH de silicatos e o pronunciamento da banda na região de 1000 cm^{-1} característica marcante de estiramento CO de carboidratos, indicando assim, ser este o contaminante principal da fração fúlvica.

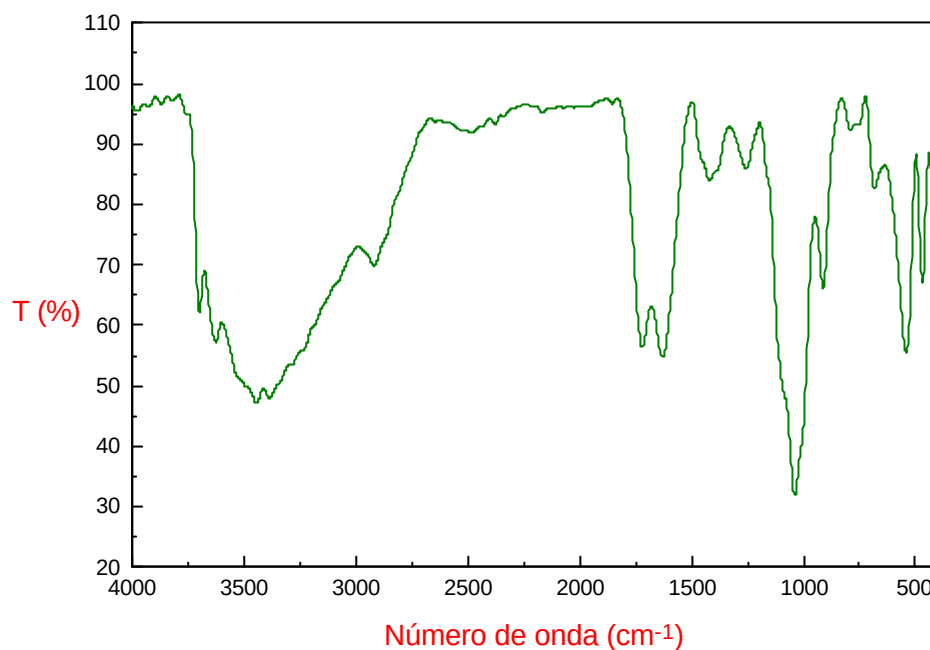


Figura 16 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com NaOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

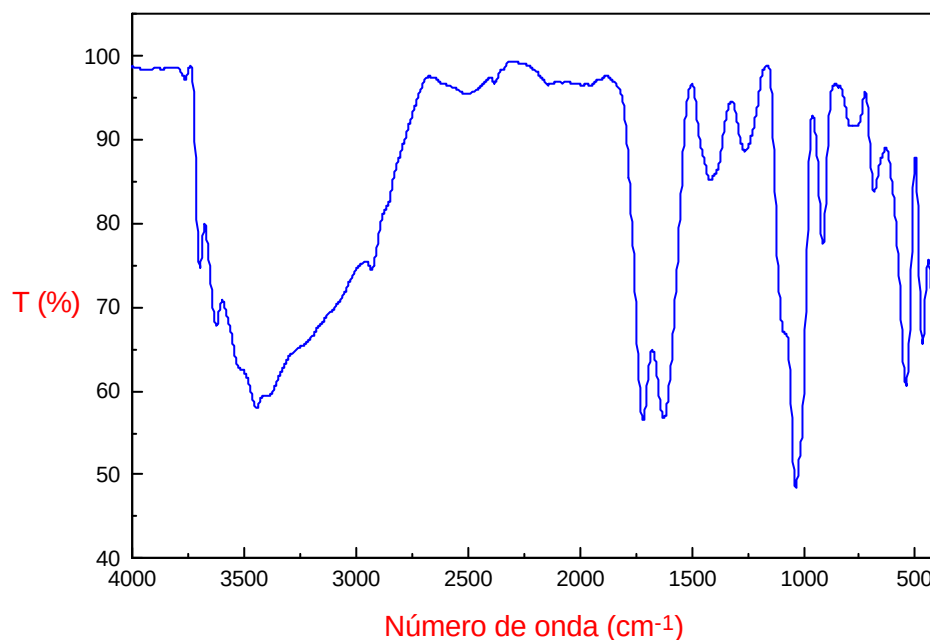


Figura 17 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,5 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

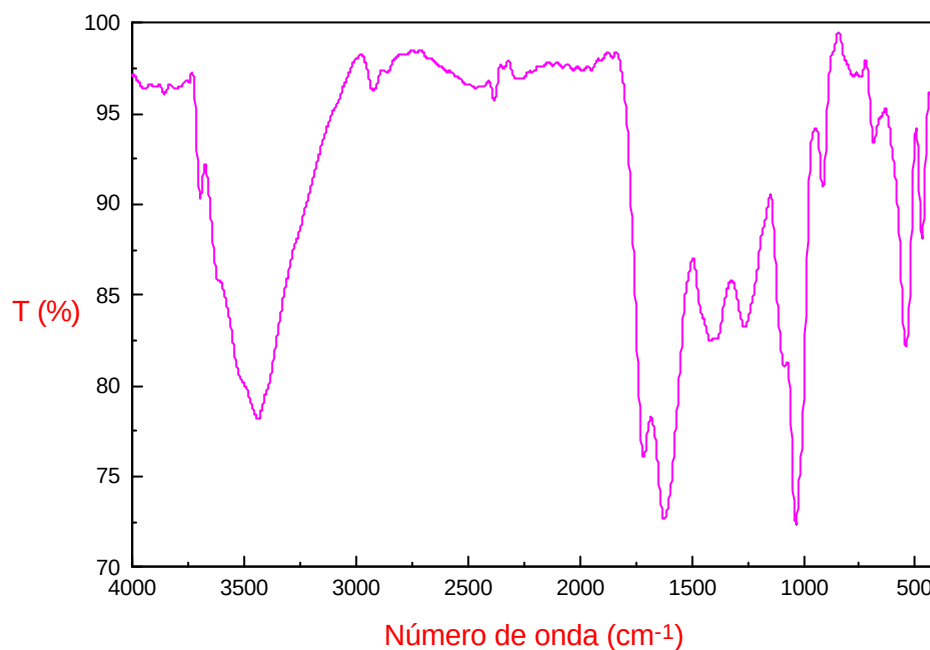


Figura 18 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,1 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

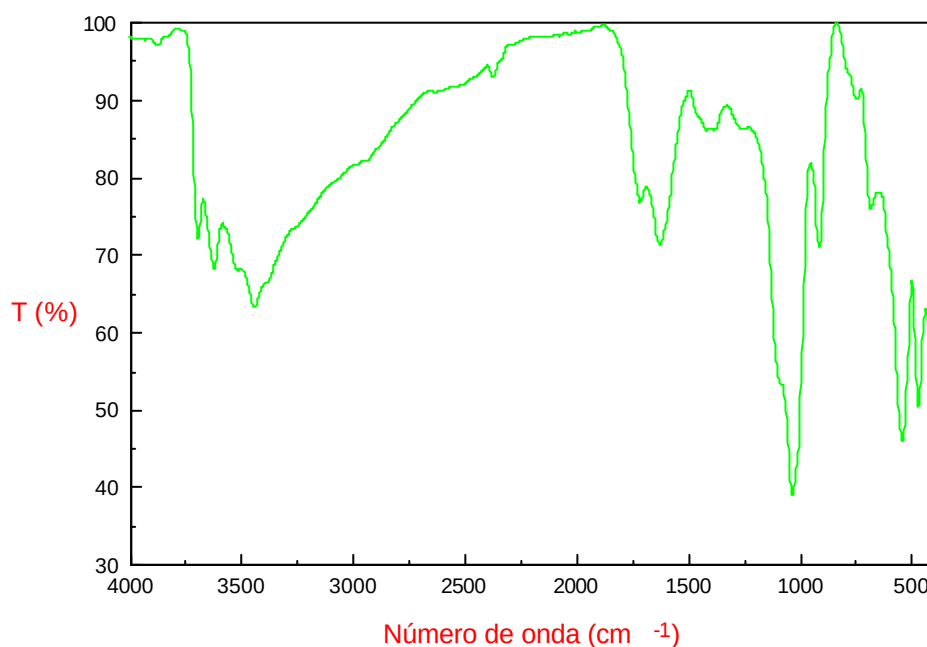


Figura 19 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

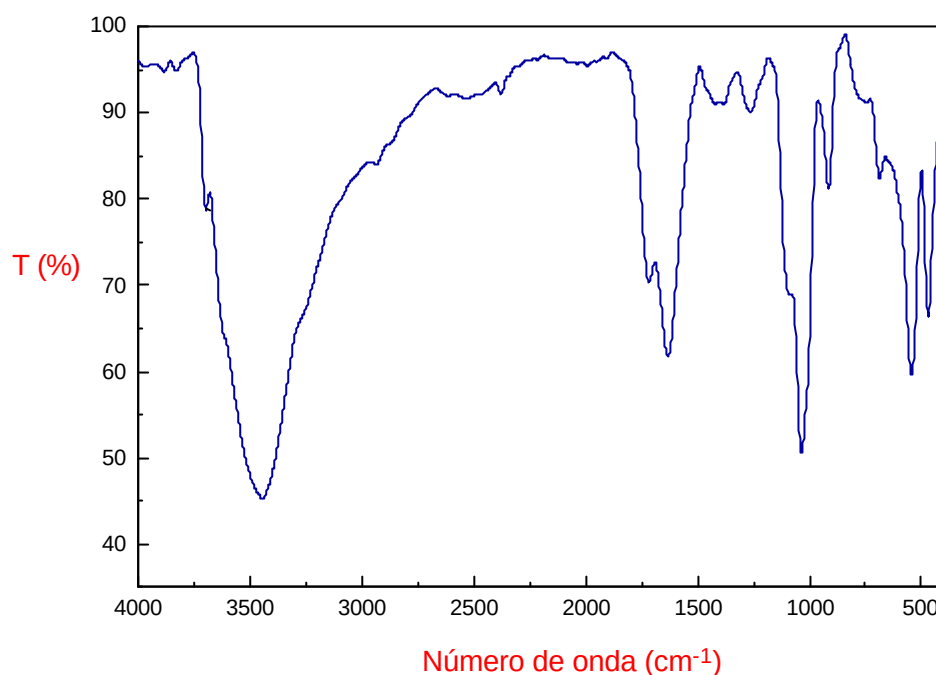


Figura 20 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

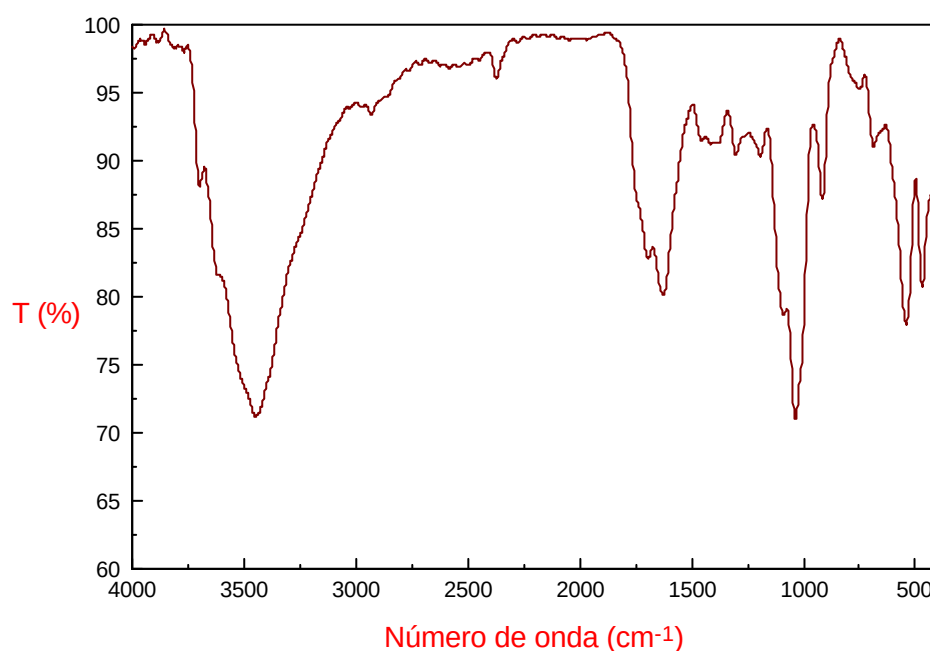


Figura 21 - Espectro do ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,1 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

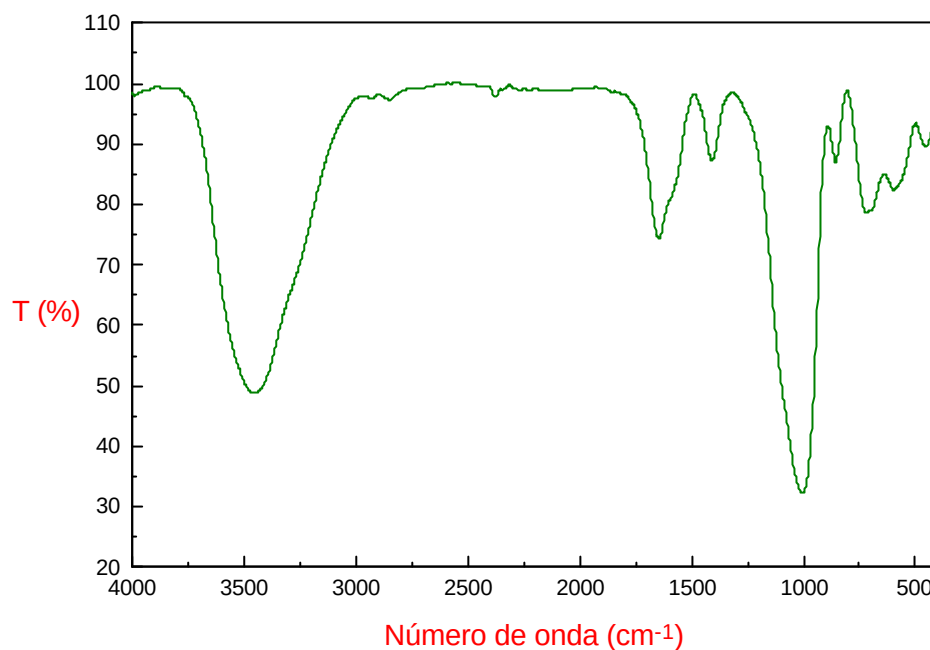


Figura 22 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com NaOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

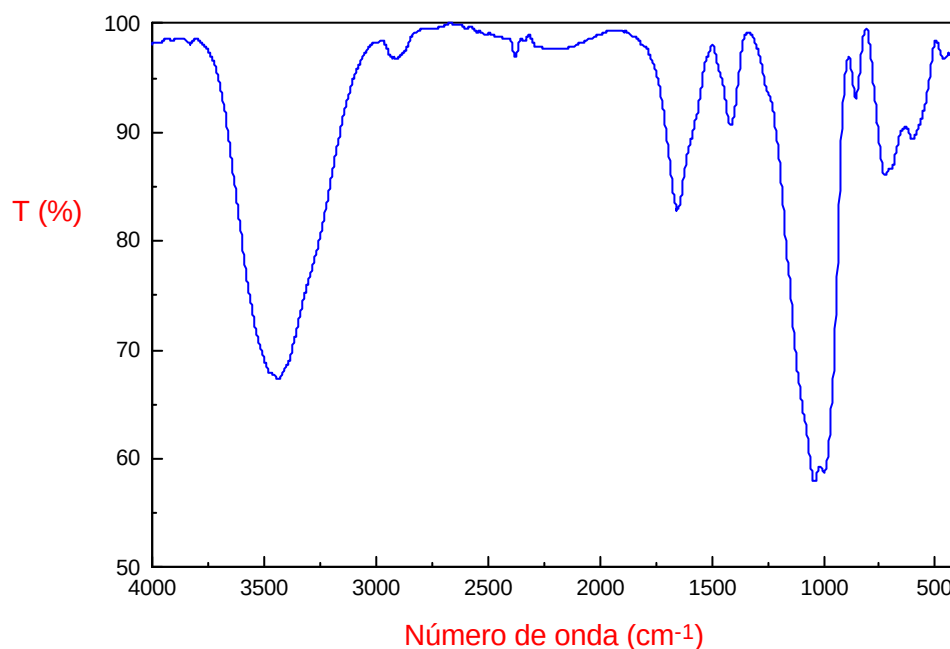


Figura 23 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,5 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

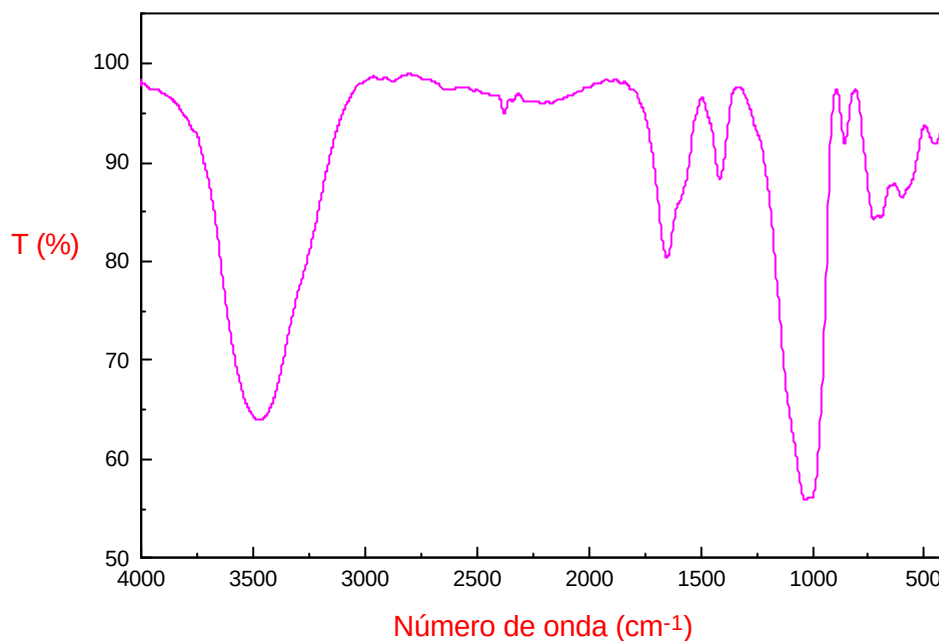


Figura 24 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com NaOH 0,1 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

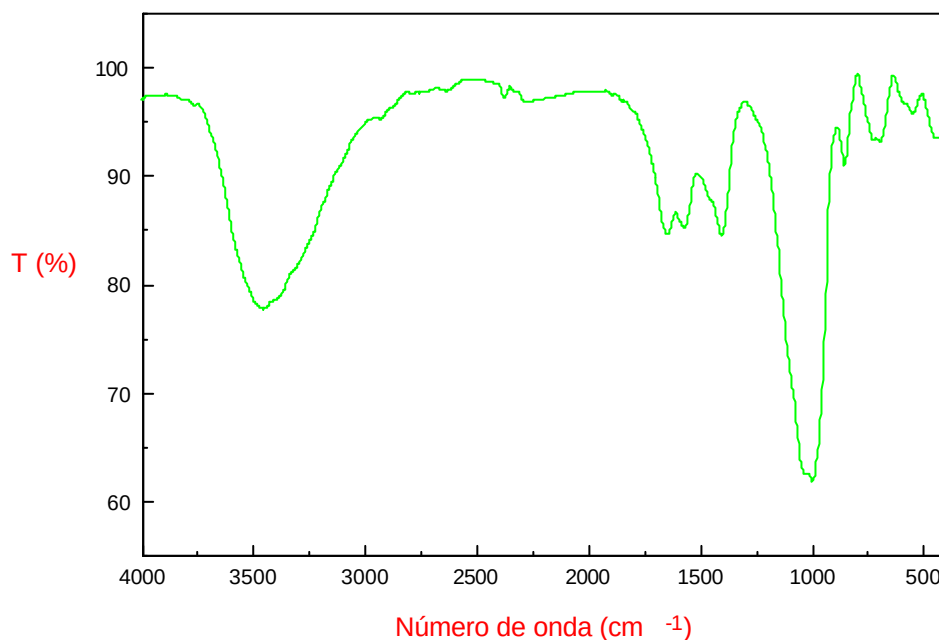


Figura 25 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

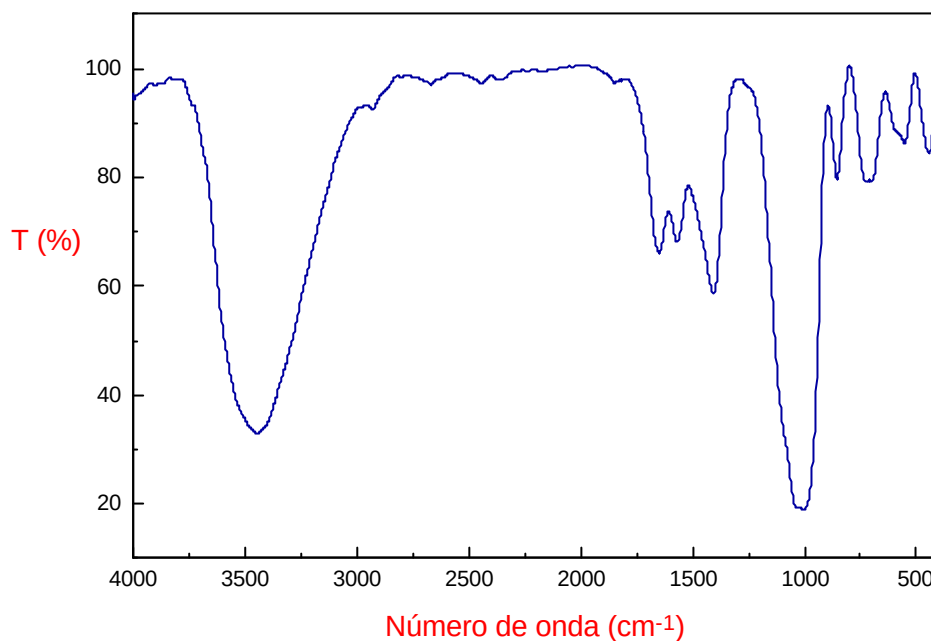


Figura 26 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

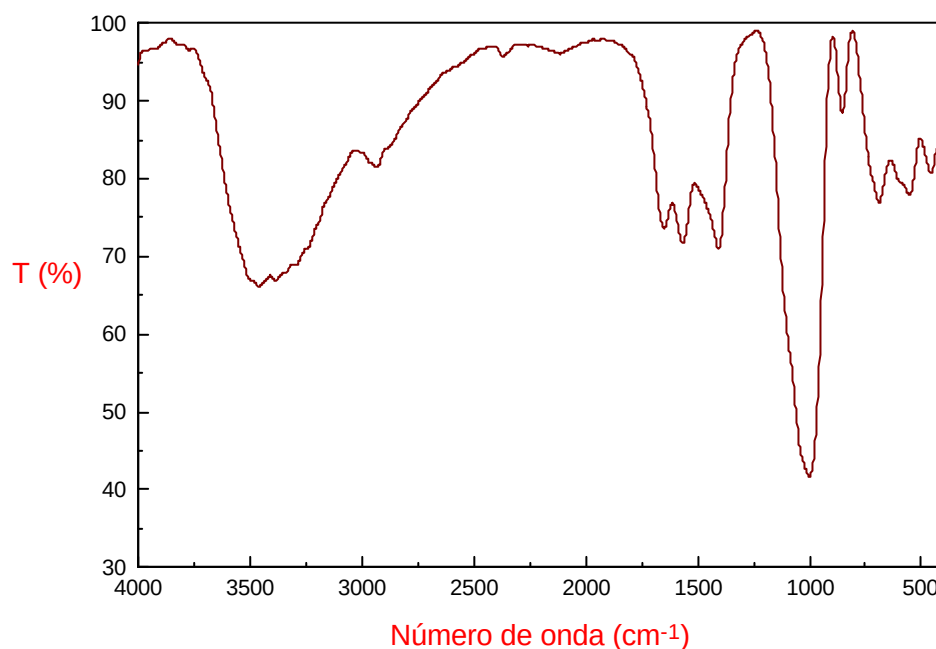


Figura 27 - Espectro do ácido fúlvico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,1 mol/L, a temperatura ambiente (25-30 °C), sistema inerte (Figura 12 - pág. 41), sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:10 (g/mL).

Comparando-se os espectros dos ácidos extraídos com KOH e NaOH em diferentes concentrações, não se observa alterações significativas quanto a natureza dos grupamentos presentes.

2.2 - Tempo de extração

A Tabela 11 mostra resultados referentes a rendimento, teor de cinzas e razão E_4/E_6 do ácido húmico e das substâncias húmicas extraídas em diferentes tempos de extração e em concentrações diferentes de hidróxido de sódio e hidróxido de potássio.

Pelos resultados obtidos do estudo da variação do tempo de extração, verifica-se que este parâmetro não exerce influência significativa na razão E_4/E_6 e no rendimento das substâncias húmicas extraídas. Essas características da extração são controladas principalmente pelo tipo e concentração do extrator.

Tabela 11 - Características das substâncias húmicas e dos ácidos húmicos extraídos por NaOH e KOH em diferentes concentrações em função do tempo de extração.

Extrator (mol/L)	Tempo (min.)	SH				AH		
		R	MO	MI	E ₄ /E ₆	R	MO	MI
NaOH - 1,0	60	34,11	13,12	86,88	5,78	24,52	36,79	63,21
	120	33,10	16,03	83,97	5,62	23,97	38,06	61,93
	240	36,15	17,40	82,60	5,75	21,50	41,37	58,63
	480	37,28	18,23	81,77	5,94	22,18	38,91	61,09
NaOH - 0,5	60	12,82	15,05	84,95	5,18	32,59	34,43	65,57
	120	16,35	18,14	81,86	5,27	33,46	37,60	62,40
	240	16,80	20,65	79,35	5,21	34,23	39,18	60,82
	480	18,71	19,32	80,68	5,32	35,68	39,41	60,59
NaOH - 0,1	60	55,31	15,10	84,90	3,68	82,09	27,92	72,08
	120	53,24	18,37	81,63	3,62	87,18	29,07	70,93
	240	54,71	26,95	73,05	3,75	96,37	28,11	71,88
	480	62,52	27,52	72,48	3,71	96,56	28,88	71,12
KOH - 1,0	60	52,16	22,48	77,52	3,12	21,06	52,80	47,20
	120	52,30	25,18	74,82	3,07	25,72	49,14	50,86
	240	49,06	27,80	72,20	3,14	23,08	44,62	55,38
	480	51,35	26,38	73,62	3,17	23,96	40,82	59,18
KOH - 0,5	60	34,71	32,18	67,82	3,56	58,64	38,68	61,34
	120	35,69	35,73	64,27	3,48	63,23	39,73	60,27
	240	36,74	36,95	63,05	3,55	65,67	42,71	57,29
	480	38,12	37,20	62,80	3,60	66,03	42,65	57,35
KOH - 0,1	60	25,04	25,34	74,66	3,64	68,92	39,15	60,85
	120	26,67	29,93	70,07	3,60	76,32	35,60	64,40
	240	24,05	33,13	66,87	3,58	86,56	34,91	65,09
	480	31,57	34,74	65,26	3,65	87,18	34,55	65,45

R = rendimento (%);

MO = material orgânico (%);

MI = material inorgânico (%);

Entretanto, o teor de AH é influenciado pelo tempo de extração. A Figura 28 mostra o rendimento de AH extraído em função do tempo de extração. (O rendimento foi calculado levando em consideração o teor de material orgânico presente na fração do ácido húmico obtido).

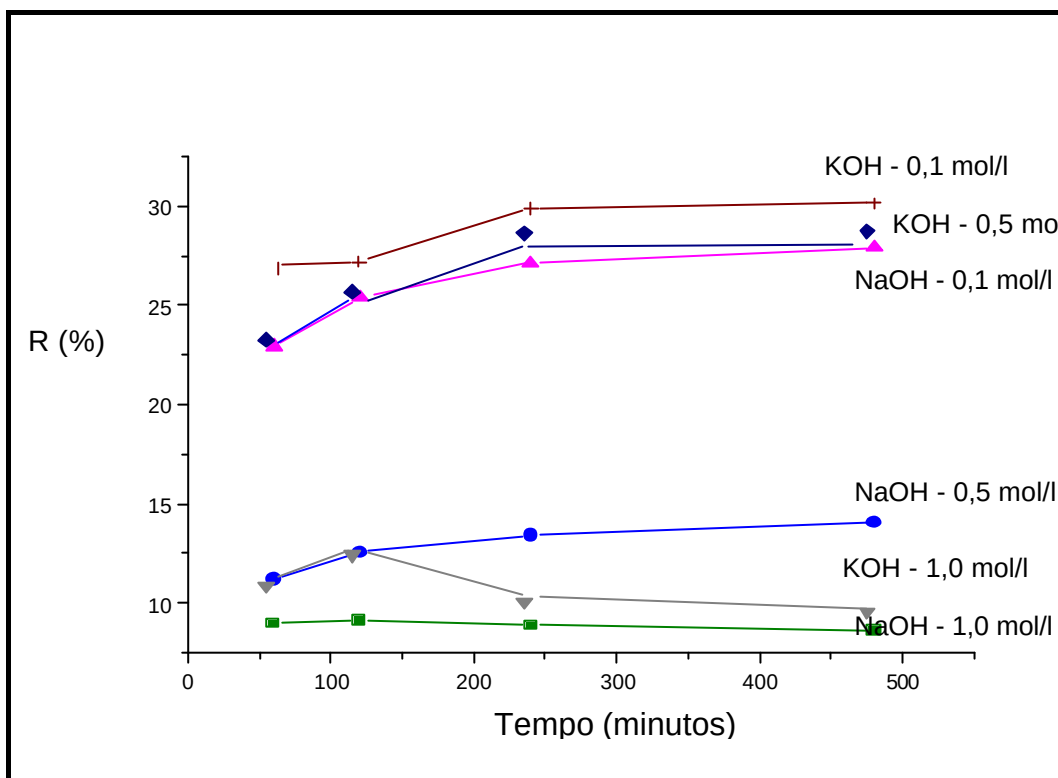


Figura 28 - Variação do rendimento do ácido húmico em função do tempo.

Observa-se que com álcalis mais diluídos há aumento do rendimento do AH extraído com o passar do tempo. Isto indica que o tempo de extração também pode influenciar no rompimento de pontes de hidrogênio e ligações do tipo éster entre o AH e o AF. Assim, conforme eleva-se o tempo de extração, favorece o rompimento dessas interações elevando o teor de AH e reduzindo o do AF.

Verifica-se que o teor de material orgânico presente na substância húmica e no ácido húmico extraído, eleva-se com o tempo de extração até 240 minutos. Após este tempo, não há aumento significativo.

2.3 - Relação solo/extrator

A Tabela 12 mostra que a diminuição da razão solo/extrator acima de 1:20 (m/v), eleva o teor de material inorgânico mas não o conteúdo de material orgânico presente nas SH extraídas. Esse aumento é devido a elevação do teor de sais decorrente do maior volume de álcali adicionado.

Tabela 12 - Influência da razão solo/extrator na extração das substâncias húmicas.

Razão solo/extrator (m/v)	Substâncias húmicas				
	R	MO	MI	R'	E ₄ /E ₆
1:5	12,28	26,48	73,52	3,25	3,80
1:10	36,74	36,95	63,05	13,57	3,94
1:20	49,67	31,43	68,57	15,61	3,87
1:30	56,18	25,15	74,85	14,13	3,89
1:40	62,26	24,36	75,64	15,16	3,92
1:50	73,70	19,09	80,91	14,07	3,83

R = rendimento (%);

R' = rendimento levando em consideração o teor de MO (%);

MO = material orgânico (%);

MI = material inorgânico (%).

Observando a razão E₄/E₆ das SH, verifica-se pequenas diferenças entre os valores. Essas diferenças devem estar associadas principalmente à variação da força iônica do meio decorrente da

concentração de sais presentes nas SH o que altera a conformação da macromolécula e não devido a diferenças estruturais.

Pelos resultados obtidos, foi utilizada a relação solo/extrator 1:20 (m/v) para dar continuidade do trabalho. Nessas condições houve considerável extração de matéria orgânica e não há excesso na quantidade de sais presentes nas SH extraídas (observar valores de R', Tabela 12).

2.4 - Temperatura da extração

Estabelecida a razão solo/extrator 1:20 (m/v) foi estudada a influência da temperatura na extração das SH. Os valores referentes ao rendimento, teor de cinzas, razão E_4/E_6 e teor de AH estão listados na Tabela 13.

Tabela 13 - Influência da temperatura na extração das substâncias húmicas.

Temperatura de extração	SH				AH		AF
	R	MO	MI	E_4/E_6	R	E_4/E_6	E_4/E_6
25 °C	49,67	31,34	68,66	3,87	22,87	3,94	3,02
50 °C	52,03	29,18	70,82	3,35	20,43	4,10	3,22
75 °C	46,22	32,04	67,96	3,62	16,18	4,56	3,35

R - rendimento (%);

MO - material orgânico (%);

MI - material inorgânico (%).

Verifica-se que o aumento da temperatura não tem grande influência no rendimento e teor de cinzas do material extraído. Entretanto, há redução do teor de AH com o aumento da temperatura

provavelmente devido ao rompimento de ligações tipo pontes de hidrogênio ou éster presentes em sua estrutura (KONONOVA, 1966).

Os espectros obtidos na região do IV dos AH extraídos em diferentes temperaturas são mostrados nas Figuras 29 - 31.

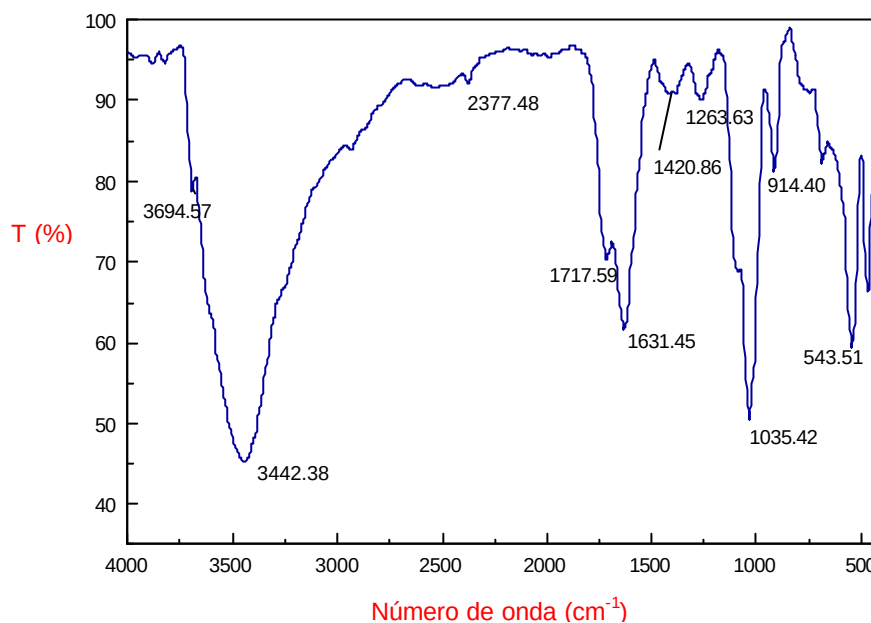


Figura 29 - Espectro de **ácido húmico** (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N₂, a **temperatura de 25° C**, sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

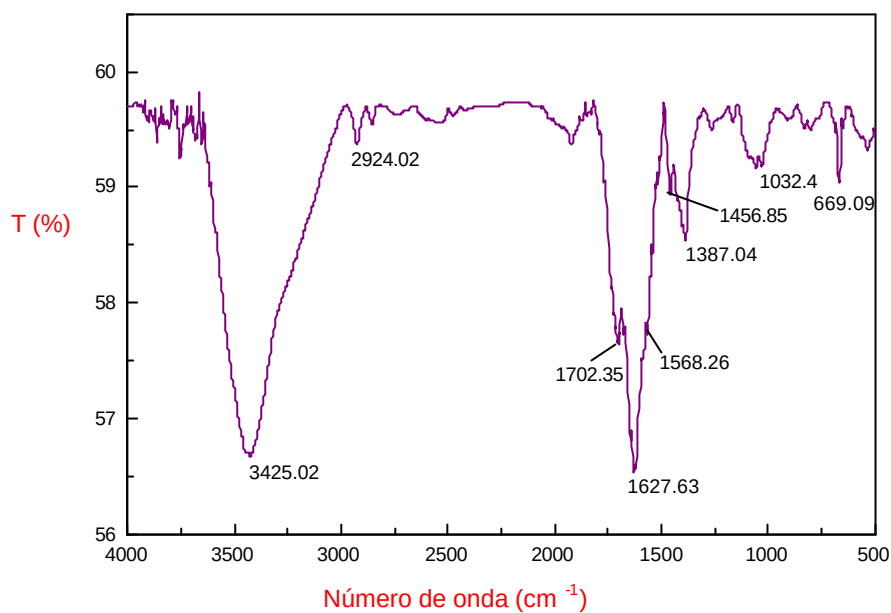


Figura 30 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N₂, a temperatura de 50° C, sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

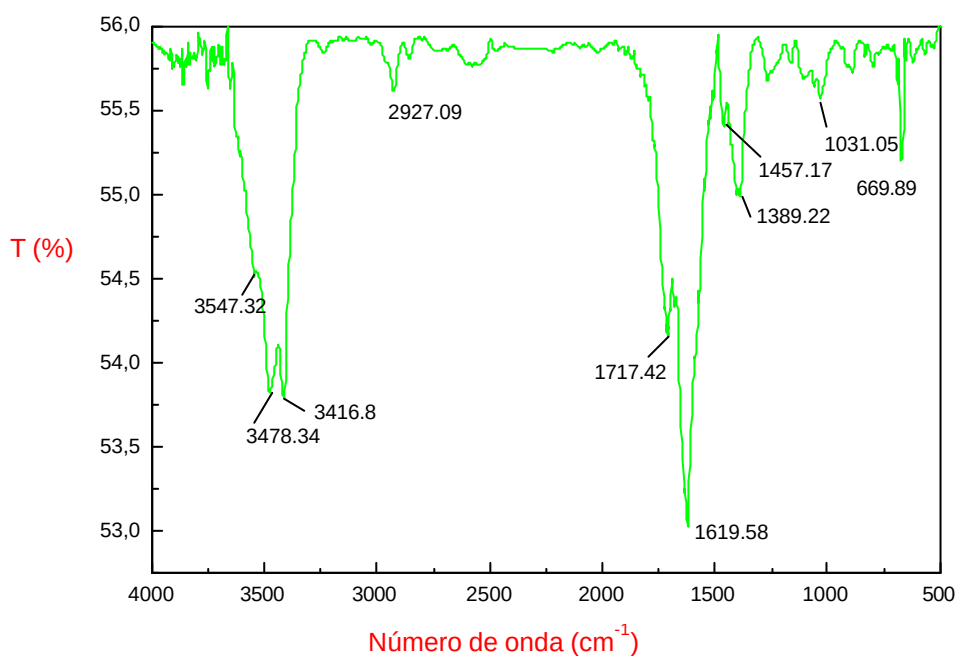


Figura 31 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N₂, a temperatura de 75° C, sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

O espectro do AH extraído a 25 °C (Figura 29) apresenta bandas características sendo compatíveis com às encontradas na literatura (GRIFFITH *et al.*, 1975; ZUNIC *et al.*, 1992; RÉ POPPI *et al.*, 1992). As principais bandas de absorção que apareceram foram :

- 1 - estiramento OH de silicatos na região de 3700 cm^{-1} ;
- 2 - estiramento OH (livre e ligado por ponte de hidrogênio) de álcoois e/ou fenóis e/ou ácidos carboxílicos na região de $3500 - 3300\text{ cm}^{-1}$;
- 3 - estiramento CO de álcoois e/ou fenóis e SiO na região de ~ 1030 e 1080 cm^{-1} , indicando a presença de álcoois e impurezas de silicatos;
- 4 - a presença de anéis aromáticos pode ser verificada devido estiramento CH de alquenos e/ou aromáticos acima de 3000 cm^{-1} , forte banda na região de 1630 cm^{-1} referente ao estiramento C=C de alquenos e/ou aromáticos e bandas na região de 900 cm^{-1} referente a deformação fora do plano da ligação CH de anéis aromáticos;
- 5 - as bandas de absorção abaixo de 3000 cm^{-1} que nos espectros aparecem na região de 2930 cm^{-1} , aliada ao estiramento C-C na região de 1420 cm^{-1} indicam a presença de alifáticos;
- 6 - a forte banda que aparece na região de 1710 cm^{-1} , pode ser atribuída ao estiramento C=O de cetonas e/ou ácidos carboxílicos.

Comparando-se os espectros de AH extraídos em diferentes temperaturas (Figura 32), verifica-se diferenças significativas. Os espectros de AH extraídos a 50 e 75 °C são diferentes do espectro do AH extraído a 25 °C devido a:

- 1 - desaparecimento da banda a 3750 cm^{-1} referente ao estiramento de OH de silicatos;

- 2 - desaparecimento da banda a 3450 cm^{-1} , referente ao estiramento OH de álcoois e/ou fenóis;
- 3 - desaparecimento da forte banda de absorção cerca de 1030 cm^{-1} associada ao estiramento CO de álcoois e/ou fenóis e SiO de impurezas de silicatos;

Essas diferenças sugerem que a elevação da temperatura de extração provoca a oxidação dos grupos alcóolicos à carbonílicos de cetonas provocando o rompimento do complexo AH-argila, havendo assim, liberação de impurezas de silicatos agregados à estrutura do complexo para a fração insolúvel (humina).

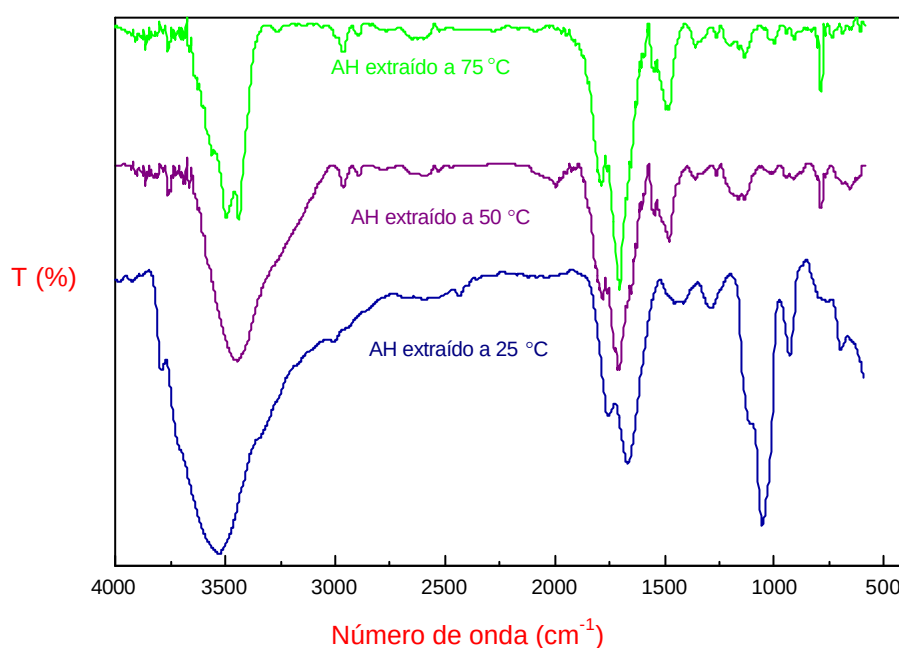


Figura 32 - Espectros de ácidos húmicos (pH = 1,5) extraídos com KOH 0,5 mol/L por 4 horas, na razão 1:20 (solo:extrator), sob agitação mecânica e atmosfera de nitrogênio em diferentes temperaturas (25, 50 e 75 °C).

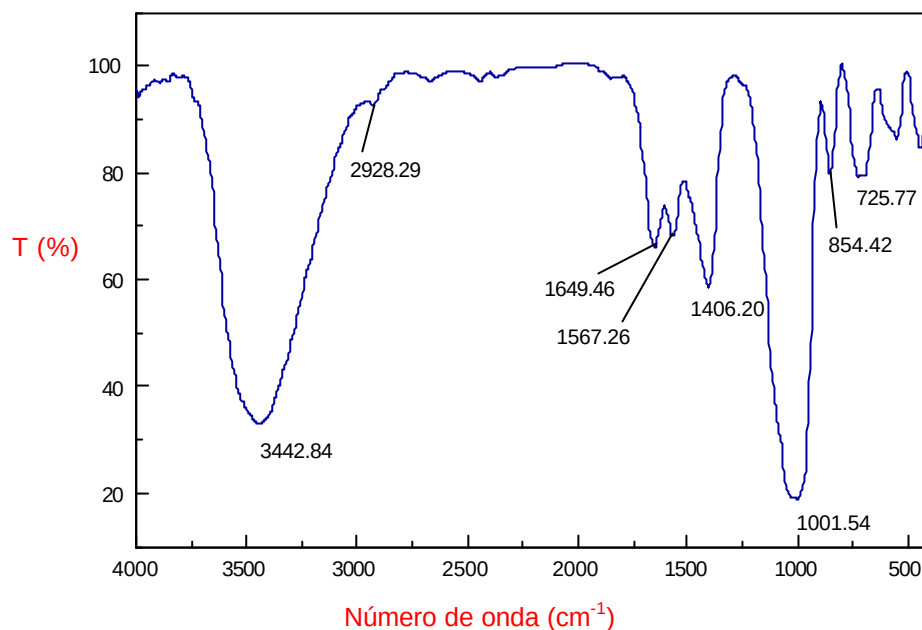


Figura 33 - Espectro de **ácido fúlvico** (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N₂, a **temperatura de 25° C**, sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

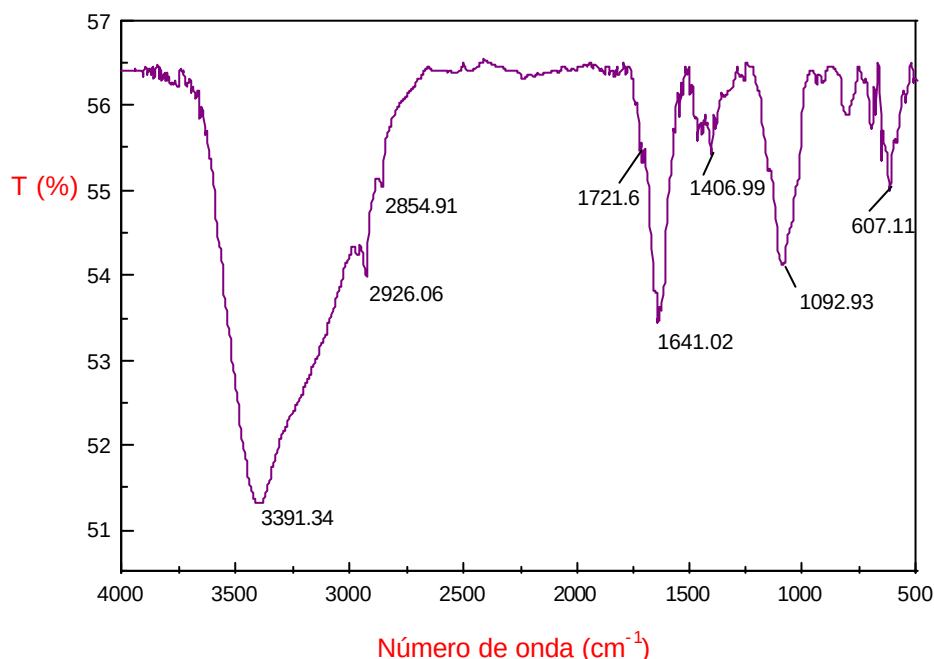


Figura 34 - Espectro de **ácido fúlvico** (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N₂, a **temperatura de 50° C**, sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

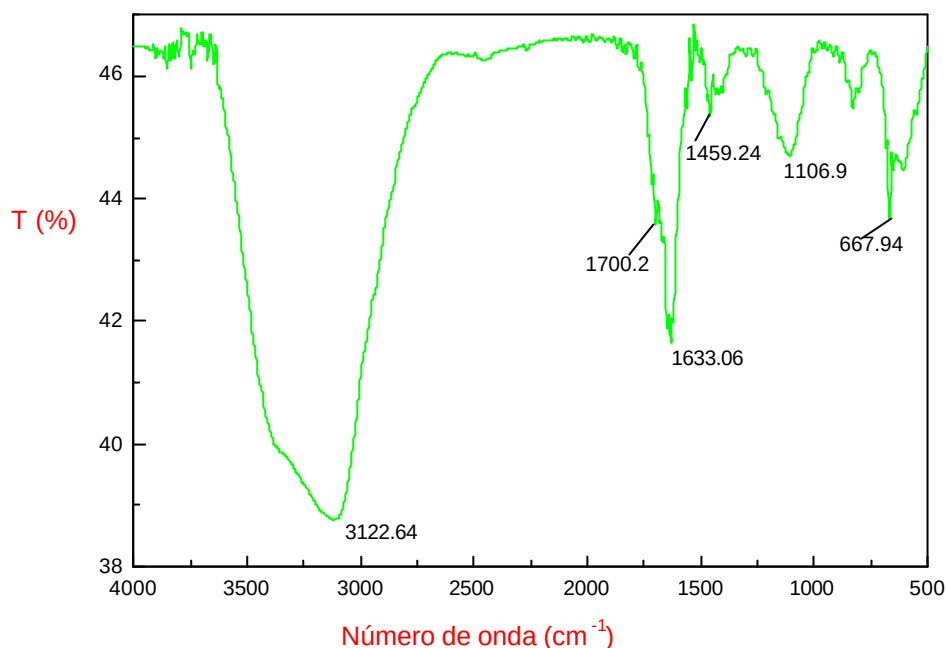


Figura 35 - Espectro de **ácido fúlvico** (pH = 1,5) extraído com KOH 0,5 mol/L, por 4 horas/N₂, a **temperatura de 75° C**, sob agitação mecânica e relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

Os espectros do AF mostram praticamente as mesmas frequências de absorção, com excessão da banda cerca de 1700 cm⁻¹ que encontra-se deslocada para frequências próximas de 1680 cm⁻¹ podendo estar associada ao estiramento C=O de cetonas conjugadas. Estas observações aliadas aos valores da razão E₄/E₆ e da composição elementar mostram a maior condensação da estrutura do AF em relação ao AH. Também verifica-se nos espectros do AF o desaparecimento da banda na região de 3700 cm⁻¹ associada ao estiramento OH de silicatos e o pronunciamento da banda na região de 1000 cm⁻¹ característica marcante de estiramento CO de carboidratos, indicando assim, ser este o contaminante principal da fração fúlvica.

As principais diferenças entre os espectros de AF extraídos em diferentes temperaturas (Figura 36) foram:

- 1 - a presença das bandas em torno de 1700 cm^{-1} que aparecem nos espectros dos AF a 50 e 75 °C mas não podem ser vistas no espectro do AF extraído a 25 °C ;
- 2 - o alargamento da banda de $3600 - 3000\text{ cm}^{-1}$.
- 3 - deslocamento e diminuição da banda referente ao estiramento C-O para região de 1100 cm^{-1} .

Essas diferenças possivelmente indicam a conversão de grupamentos alcoólicos à ácidos carboxílicos devido oxidação. Os ácidos carboxílicos apresentam como principais características uma banda larga cerca de $3600\text{ a }3000\text{ cm}^{-1}$ referente a estiramento OH e bandas em torno de $1700 - 1750$ e 1100 cm^{-1} relacionada a estiramento C=O e C-O, respectivamente.

A diminuição da banda na região de 1000 cm^{-1} referente ao estiramento C-O também pode estar associada a degradação com a elevação da temperatura de carboidratos presentes na fração fúlvica.

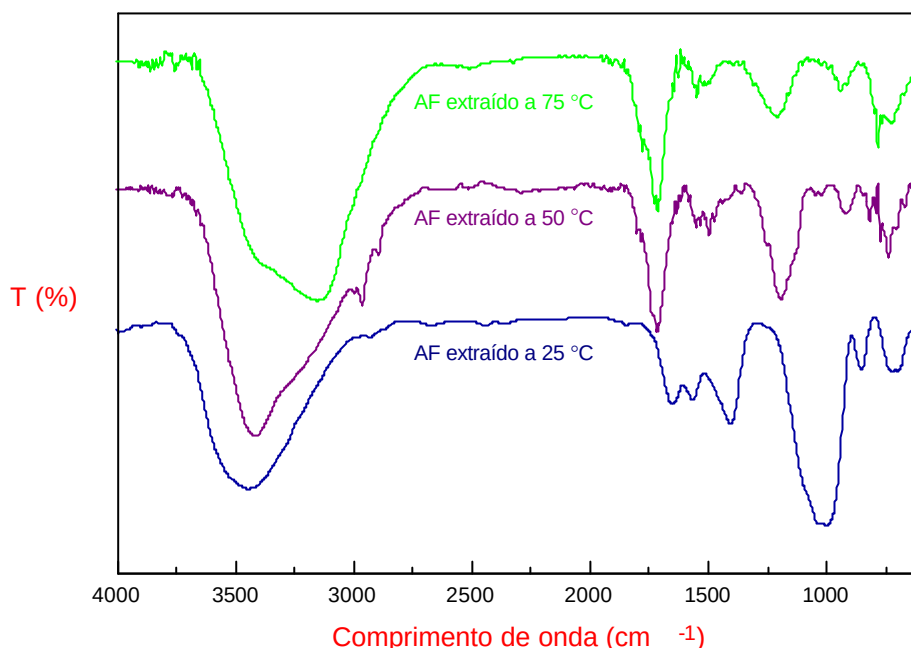


Figura 36 - Espectros de ácidos fúlvicos (pH = 1,5) extraídos com KOH 0,5 mol/L por 4 horas, na razão 1:20 (solo:extrator), sob agitação mecânica e atmosfera de nitrogênio em diferentes temperaturas (25, 50 e 75° C).

O aumento dos valores da razão E_4/E_6 (Tabela 13, pág. 65) de AH e AF também mostram diferenças que inferem a redução da condensação e do peso molecular, em função da elevação da temperatura de extração.

Assim, os valores da razão E_4/E_6 e a análise dos espectros obtidos na região do infravermelho, permitem mostrar que a elevação da temperatura da extração causa alterações estruturais tanto no AH como no AF.

O mecanismo provável dessas modificações foram discutidos baseados apenas na comparação dos espectros de infravermelho como hipóteses prováveis. Para confirmar esses prováveis mecanismos, seria necessário um estudo de quantificação dos grupos

funcionais. Isto além de serem etapas muito demoradas, fogem dos objetivos propostos para este trabalho. Entretanto, as observações quanto a influência da temperatura na extração das SH estão de acordo com PANG, *et al.* (1990). Estes autores utilizando RMN ^1H e ^{13}C verificaram que o aumento da temperatura durante a extração exerce influência nas características estruturais do material extraído, pelo favorecimento de processos oxidativos, sendo preferível que a extração seja feita a temperatura ambiente.

2.5 - Influência da extração de substâncias húmicas sob atmosfera de N_2

As Figuras 37-39 mostram os espectros na região do IV de AH extraídos na ausência de nitrogênio em meio fortemente alcalino em diferentes tempos de extração.

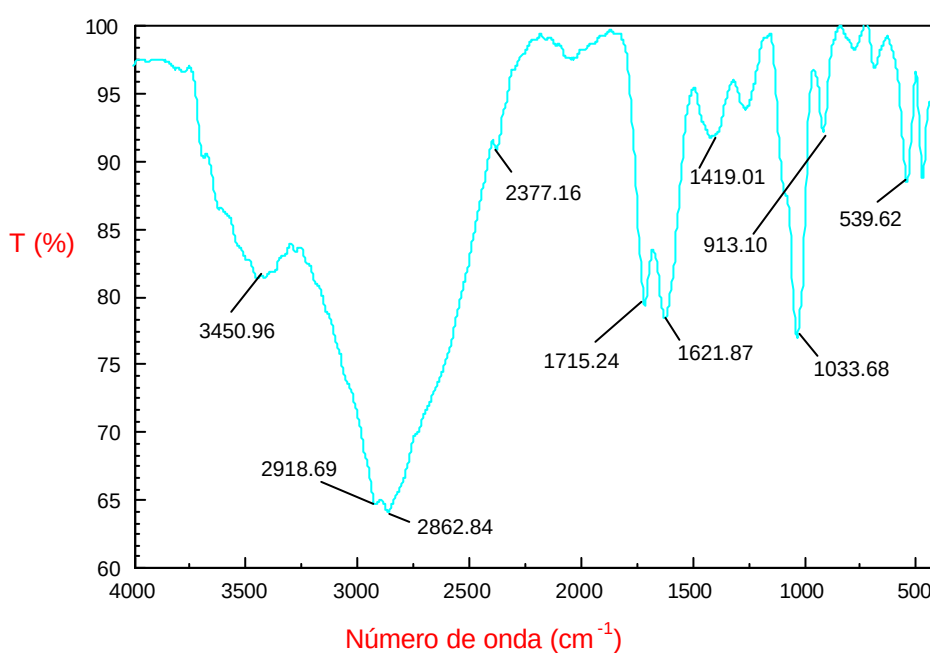


Figura 37 - Espectro de **ácido húmico** (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), **por 8 horas na presença de ar**, sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

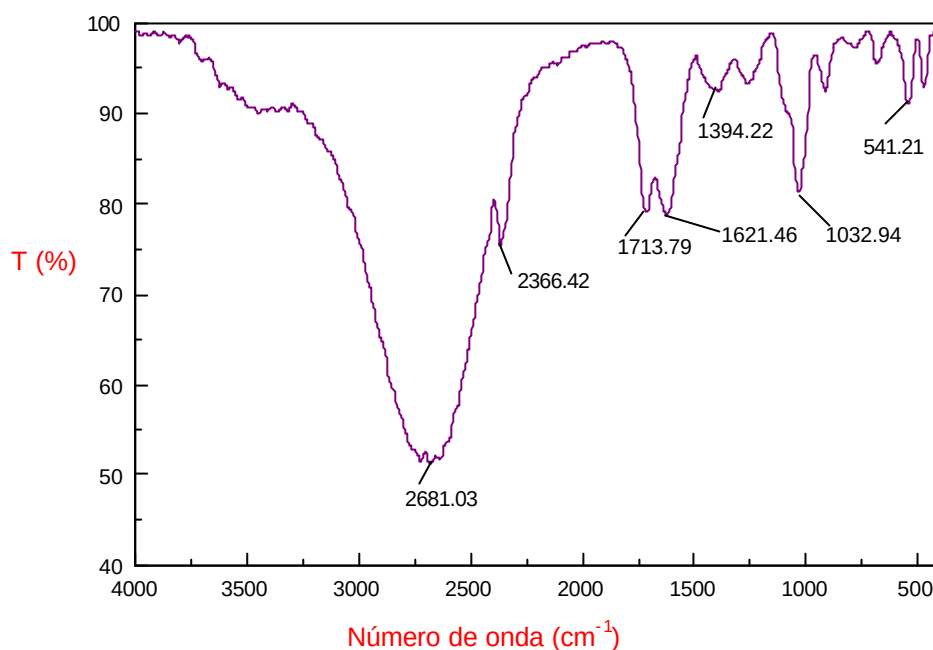


Figura 38 - Espectro de **ácido húmico** (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), **por 12 horas na presença de ar**, sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

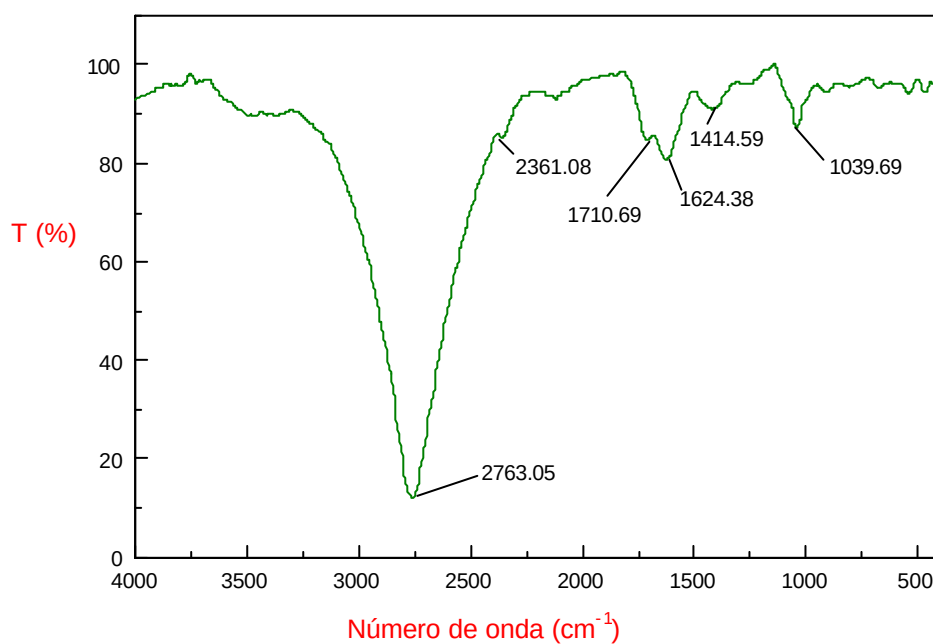


Figura 39 - Espectro de ácido húmico (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), por 16 horas na presença de ar, sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

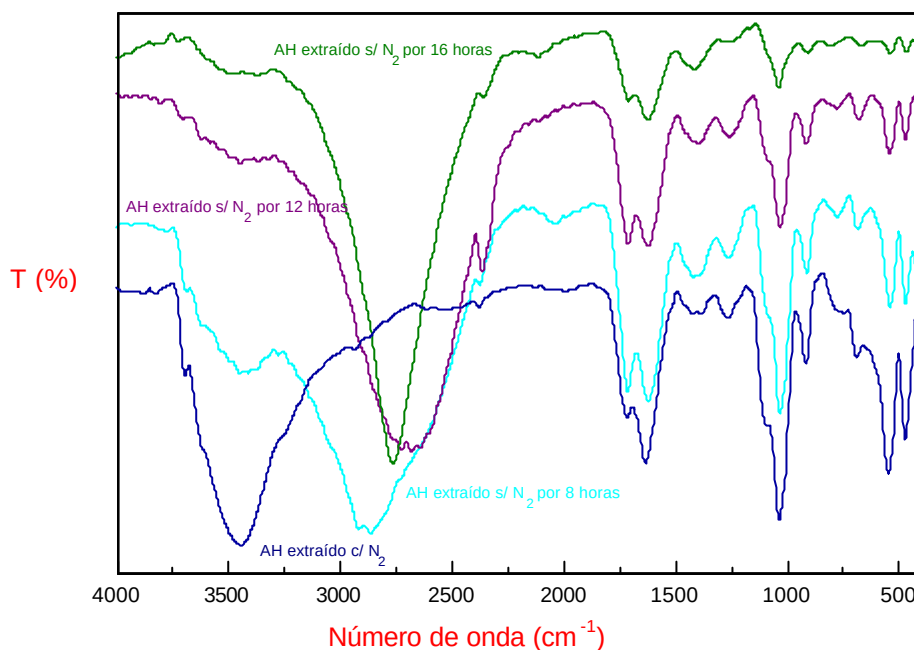


Figura 40 - Espectros de ácidos húmicos (pH = 1,5) extraídos com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), em diferentes tempos de extração, na razão solo extrator 1:20 (g/mL), sob agitação mecânica e na presença/ausência de N₂.

Comparando-se os espectros do AH extraído com e sem nitrogênio (Figura 40), verifica-se que quando a extração é feita sem nitrogênio há desaparecimento das bandas cerca de 3.400 e 1.050 cm⁻¹ referentes aos estiramentos OH e CO, respectivamente, associadas à presença de álcoois primários. Entretanto, observa-se o aparecimento de fortes bandas cerca de 2.700 cm⁻¹ que estariam associadas a estiramento CH de aldeídos. Provavelmente está ocorrendo a oxidação de grupamentos de álcoois primários a aldeídos.

Os espectros da Figura 40 mostram a influência do tempo de extração com KOH sem nitrogênio. Verificam-se fases intermediárias da oxidação com a elevação do tempo de extração (presença de

estiramento CH de aldeídos e ainda as bandas de absorção características de álcoois primários em menor intensidade), confirmando que o aumento do tempo de extração favorece a incidência de alterações estruturais (BREMNER, 1950).

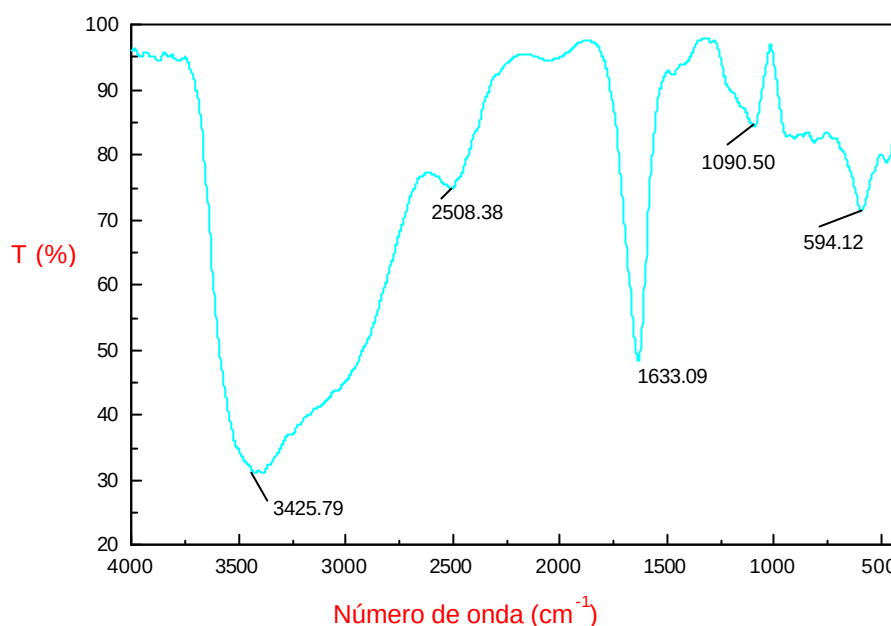


Figura 41 - Espectro de **ácido fúlvico** (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), **por 8 horas na presença de ar**, sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

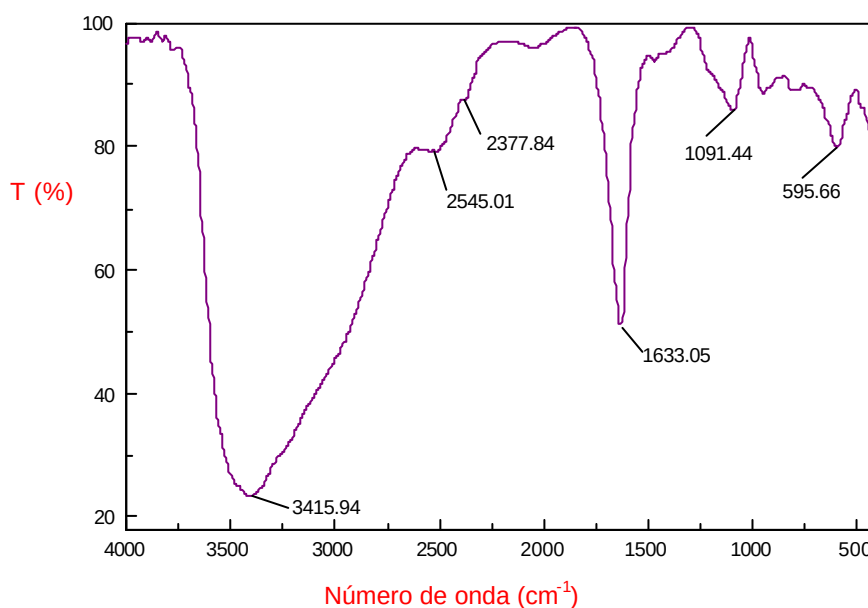


Figura 42 - Espectro de **ácido fúlvico** (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), **por 12 horas na presença de ar**, sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

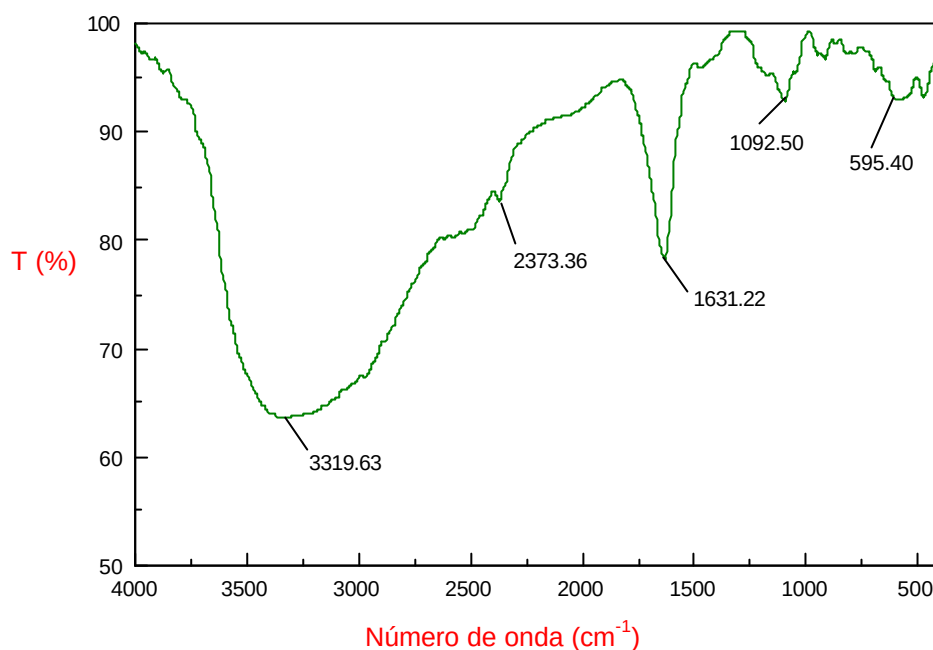


Figura 43 - Espectro de **ácido fúlvico** (pH = 1,5) extraído com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), **por 16 horas na presença de ar**, sob agitação mecânica na relação solo/extrator 1:20 (g/mL).

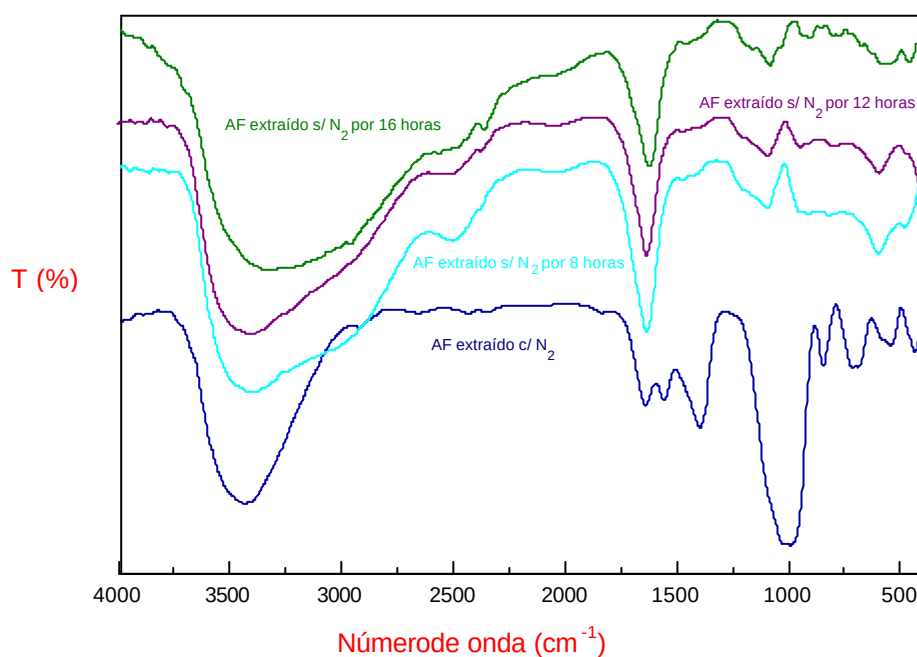


Figura 44 - Espectros de ácidos fúlvicos (pH = 1,5) extraídos com KOH 1,0 mol/L, a temperatura ambiente (25° C), em diferentes tempos de extração, na razão solo extrator 1:20 (g/mL), sob agitação mecânica e na presença/ausência de N₂.

Comparando os espectros do AF com e sem N₂ (Figura 44), verifica-se também o desaparecimento do estiramento C-O cerca de 1.050 cm⁻¹ associado a álcoois primários. Outra observação importante, é o alargamento da banda abaixo de 3.000 cm⁻¹ a qual pode estar associada a diminuição da condensação da molécula decorrente da abertura de anéis aromáticos e/ou a formação de ácidos carboxílicos. Neste caso, devido ao alargamento da banda em torno de 1630 cm⁻¹, não é possível verificar nos espectros o estiramento C=O que apareceriam em cerca de 1700 cm⁻¹.

Os valores da razão E₄/E₆ (Tabela 14) elevaram-se em função do tempo de extração sem a presença de nitrogênio indicando modificações na condensação da molécula e/ou menor peso molecular e/ou acidez.

Tabela 14 - Influência do tempo e atmosfera de extração na razão E₄/E₆ das substâncias húmicas extraídas.

Condições de extração	AH	AF
	E ₄ /E ₆	E ₄ /E ₆
Presença de N ₂ / KOH 0,5 mol/L/ 4 horas de extração	3,99	3,02
Ausência de N ₂ / KOH 1,0 mol/L / 8 horas de extração	4,18	3,18

Ausência de N ₂ / KOH 1,0 mol/L	4,21	3,42
/		
12 horas de extração		
Ausência de N ₂ / KOH 1,0 mol/L	4,20	3,67
/		
16 horas de extração		

Assim, pelos resultados obtidos pode-se concluir que o nitrogênio realmente minimiza processos oxidativos devendo ser utilizado durante as extrações alcalinas, lembrando mais uma vez que os mecanismos propostos para as alterações estruturais foram baseados somente em dados espectroscópicos nas regiões do infravermelho e do visível.

2.6 - Influência da granulometria

Pelos resultados referentes ao estudo da granulometria da turfa submetida a extração (Tabela 15), observa-se que não há aumento significativo no rendimento da extração mas, verifica-se aumento no teor de material orgânico extraído em função da diminuição da granulometria do solo. Este aumento deve-se provavelmente a elevação da superfície de contato do MO presente na amostra. Assim, o preparo da amostra pela trituração e peneiramento com peneiras de 0,21 mm favorece o processo extrator.

Tabela 15 - Influência da granulometria da turfa na extração das substâncias húmicas.

Granulometria	Substâncias húmicas
---------------	---------------------

da turfa (mm)	R (%)	MO (%)	MI (%)
0,21	49,67	31,34	68,66
0,59	52,18	28,59	71,41
1,00	50,35	25,43	74,57

R = rendimento (%);

MO = matéria orgânica (%);

MI = matéria inorgânica (%);

IV - CONCLUSÕES

Pelos estudos feitos e resultados obtidos conclui-se que:

1 - a extração alcalina das substâncias húmicas utilizando-se hidróxido de potássio possui vantagens em relação ao procedimento que utiliza hidróxido de sódio para a amostra estudada devido ao aumento do rendimento e redução de contaminantes co-extraídos. O aumento do rendimento se deve às diferenças termodinâmicas dos contra íons Na^+ e K^+ em solução aquosa. O menor raio de hidratação e maior mobilidade do K^+ (Tabela 16), facilita sua interação com as cargas intra e intermolecular presente nas substâncias húmicas e favorece a expansão da macromolécula húmica. A redução dos contaminantes inorgânicos está associada a menor solubilidade de argilominerais em hidróxido de potássio;

Tabela 16 - Propriedades termodinâmicas dos íons Na^+ e K^+ em solução aquosa.

Íon	Raio do íon hidratado (10^{-9} m) KILLAND, 1937	Mobilidade iônica $u/10^{-18}\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}\text{V}^{-1}$, 298 K ATKINS,1994
K^+	300	7,62
Na^+	450	5,19

2 - a concentração do extrator influencia muito no rendimento, teor de cinzas, razão E_4/E_6 , razão AH/AF e composição elementar das

substâncias húmicas extraídas. Entretanto, os espectros na região do infravermelho e visível mostraram não haver alterações significativas nas características estruturais dos ácidos húmico e fúlvico pela variação da concentração do extrator;

3 - o aumento do tempo de extração não exerce influência significativa na razão E_4/E_6 . Para a amostra estudada quatro horas de extração foram suficientes para extrair praticamente toda matéria orgânica;

4 - a variação da razão solo/extrator mostrou que este parâmetro não exerce influência no teor de matéria orgânica extraída. Entretanto, o diminuição dessa razão eleva o teor de contaminantes inorgânicos no extrato húmico devido ao aumento do volume de álcali adicionado;

5 - espectros na região do infravermelho e visível mostraram que o aumento da temperatura de extração causa mudanças estruturais nos ácidos húmico e fúlvico. Verificou-se também a redução do teor de ácido húmico e elevação do rendimento do ácido fúlvico com o aumento da temperatura. Isto se deve ao rompimento de ligações por pontes de hidrogênio e/ou ligações tipo éster que liga o ácido húmico ao ácido fúlvico;

6 - a atmosfera de nitrogênio minimiza a oxidação dos ácidos húmico e fúlvico durante a extração. O aumento do tempo de extração das substâncias húmicas na ausência de nitrogênio favorece os processos oxidativos;

7 - a diminuição da granulometria do solo permite a elevação do teor de matéria orgânica extraída pelo aumento de sua superfície de contato com o solvente extrator;

8 - as melhores condições para a extração das substâncias húmicas, ácido húmico e ácido fúlvico na amostra estudada foram:

- a) extrator: hidróxido de potássio;
- b) concentração: 0,5 mol/L;
- c) tempo de extração: 4 horas;
- d) razão solo/extrator: 1:20 (g/mL);
- e) temperatura de extração: 25 - 30° C;
- f) atmosfera de extração: nitrogênio;
- g) granulometria do solo: 0,21 mm.

V - PROPOSTAS FUTURAS

Pretende-se fazer um estudo comparativo entre a metodologia desenvolvida e o procedimento recomendado pela IHSS em amostras de solos com características distintas para verificar sua aplicabilidade e vantagens.

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIZENSHTAT, Z.; BAEDECKER, M.J.; KAPLAN, I.R.; Distribution and diagenesis of organic compounds in JONES sediment from Gulf of Mexico and western Atlantic. *Geochim. Cosmochim. Acta*. V.37 (8), p.1881-1898, 1973.

ALEKSANDROVA, L. N.; The use of sodium pyrophosphate for isolating free humus substances and their organomineral compounds from the soil. *Pochvovedeine*, v. 2, p.90-97, 1960.

ALLOWAY, B.J. - *Heavy metal in soils*. John Wiley & Sons, New York, 1993, p. 1-6.

ASTER, B.; BURBA, P.; BROEKAERT, J.A.C.; Analytical fractionation of aquatic humic substances and their metal species by means of multistage ultrafiltration. *Fresenius J Anal Chem*, v.354, p. 722-728, 1996.

ATKINS, P.W.; In: *Physical Chemistry*, 5^a Ed., Butler & Tanner, Oxford, 1994, p.841.

BARCELÓ, D. - Occurrence, handling and chromatographic determination of pesticides in the aquatic environment. *Analyst*, v.116, 681-689, 1991.

BARROS, A.B.; BARROS, A.M.A.; Kerfourn, M.T.M.; Lipídeos, substâncias húmicas, ligninas e metais - uma metodologia de extração a partir de uma mesma amostra de sedimento. *Química Nova*, v.14, p.17-21, 1991.

BARROS, M.C.P.; PAULA, J.R.; REZENDE, M.O.O.; Caracterização físico-química do ácido húmico de solo da ilha de cananéia e de sua interação com Fe III, Cu II e Cd II. *Química Nova*, v.17, p.376-380, 1994.

BATAGLIA, O.C.; TEIXEIRA, J.P.P.; FURLANI, A.M.C.; GALLO, J.R.; *Análise química de plantas*. Instituto agrônômico, Campinas, 1978.

BAZIN, E.T.; KOSOV, V.I.; In: *Physics and chemistry of peat*, Kalin Gos. Univ. Kalinin, 1982. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

BERZELIUS, J.J.; *Lehrbuch der chemie*, Wohler, Dresden e Leipzig, (1839). Apud STEVENSON, F.J.; "Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter". In: STEVENSON, F.J. - *Humus chemistry*, Wiley & Sons, New York, (1982), p.26-53.

BLOOM, P.R.; Metal-organic interactions in soil. *Chem. Soil. Environ.*, v.40, p.129-150, 1981.

BLOOM, P.R.; MCBRIDE, M. B.; WEAVER, R. M. - Aluminum organic matter in acid soils: buffering and solution aluminum activity. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, v. 43, p. 488-493, 1979.

BOXMA, R.; Effect of pH on the behavior of iron chelates in sphagnum (mass) peat. [Comm. Soil. Sci. Plant Anal.](#), v.12,p.755-162, 1981.

BREMNER, J.M.; Oxidation of soil organic matter in the presence of alkali. [J. Soil Sci.](#), v.1, p.198-204, 1950.

BUFFLE, J. - Characteristics of aquatic organic compounds. In: BUFFLE, J. - [Complexation reactions in aquatic systems an analytical approach](#). New York, Ellis Horwood, 1990, p.146-194.

BUFFLE, J.; Les substances humiques et leurs interactions avec les ions minéraux. In: [Conference Proceedings de la Commission d'Hydrologie Appliquee de l'Á.G.H.T.M.](#) L'Universite d'Orsay, 1970, p.3.

BURBA, P. - Labile/inert species in aquatic humic substances an ion-exchange study. [Fresenius J. Anal. Chem.](#), v. 348, p. 301-311, 1994.

BURBA, P.; ROCHA, J.C.; SCHULTE, A. - Cellulose TETPA: a chelating collector designed for multielement preconcentration in flow systems. [Fresenius J. Anal. Chem.](#), v. 346, p. 414-419, 1993.

BURBA, P.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B.Y.; On-line fractionation and characterization of aquatic humic substances by means of sequential-stage ultrafiltration. [Fresenius J Anal Chem](#), v.351, p. 74-82, 1995.

CALDERONI, G.; SCHNITZER, M. - Effects of age on the chemical structure of paleosol humic acids and fulvic acids. *Geochemistry Cosmochim. Acta.*, v. 48, p. 2045-2051, 1984.

CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. - *Microbiologia do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, (1992).

CHAPMAN, P.M.; ALLEN, H.E.; GODTFREDSEN, K.; Z`GRAGGEN, M.N. - Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals. *Enviromental Science & Technology/News*, v. 30, p. 448-452, 1996.

CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. - Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios. *Soil Sci. Coc. Am. J.*, v. 41, p. 352-358, 1977.

CHOUDHRY, G.G. - Interactions of humic substances with enviromental chemicals. In: AWTZINGER, O. - *The handbook of enviromental chemistry*. Springer-Verlag, Berlim, 1982, p.103.

CLAPP, C.E.; HAYES, M.H.B.; SWIFT, R.S.; "Isolation, fractionation, functionalities, and concepts of structure of soil organic macromolecules". In: BECK, A.J.; JONES, K.C.; HAYES, M.H.B.; MINGELGRIN, U. (Eds.) - *Organic substances in soil and water: natural constituents and their influences on contaminant behaviour*. Hartnolls, Cambridge, 1992, p.31-69.

DORMAAR, J.F.; METCHE, M.; JACQUIN, J.; Extraction and purification of humic acids from a rendzina Ah and a Bh horizon. *Soil Biol. Biochem.*, v.2, p.285-293, 1970.

DROZHALINA, D.; In: *Carbon molecular sieves based on peat*, Nanka i Tekhnika Moscow, 1984. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

FLAIG, W.; Comparative chemical investigations on natural humic compounds and their model substances. *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc.* v.4, p.149-162, 1960.

FORSYTH, W.G.C.; Studies the more soluble complexes of soil organic matter. I. A method of fractionation. *Biochem. J.*, v.41, p.176-187, 1947.

FRASER, D. C. - Organic sequestration of cooper. *Economic Geology*, v. 56, p. 1063-1078, 1961.

GASCHO, G.J.; STEVENSON, F.J.; An improved method for extracting organic matter from soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, v.32, p.117-119, 1968.

GIESEKINGI, J.E. - *Soil components. Organic components*. Springer, New York, 1975, p.534.

GRIFFITH, S.M.; SCHNITZER, M.; Analytical characteristics of humic and fulvic acids extracted from tropical volcanic soils. [Soil Sci. Amer. Proc.](#), v.39, p.861-867, 1975.

GUNTHER, J.; "The present state of peat production and use of peat in the Federal Republic of Germany", In: [Int. Symp. Recent Technol. Use Peat](#), 1979, p.11. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. [Fuel](#), v. 67, p.883-900, 1988.

HAANEL, B.F.; In: [Peat. its manufacture and uses](#), Canadá, Mines Branch, Report nº641, 1925. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. [Fuel](#), v. 67, p.883-900, 1988.

HAWORTH, R.D.; Chemical nature of humic acid. [Soil Sci.](#), v.111, p.71-79, 1971.

HAYES, M.H.B.; SWIFT, R.S.; "The chemistry of soil organic colloids". In: GREENLAND, D.J; HAYES, M.H.B. (eds.) [The chemistry of soil constituents](#), Wiley & Sons, New York, 1978, p.179-230.

IDELL, W.W.; HOOD, O.P.; In: [Possibilities for the commercial utilization of peat](#), Bulletin 253, Washington, 1926. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. [Fuel](#), v. 67, p.883-900, 1988.

JACKSON, M.L.; Soluble salt analysis for soil and waters. In: [Soil chemical analysis](#). Pretice-Hall, New York, 1958, p.260.

JARDIM, W.F. - Contaminação por mercúrio: fatos e fantasias. [Ciência Hoje](#), v. 7, p. 78-79, 1988.

JONES, M. J.; PARSONS, J.W.; Effect of soil factors on the extraction of soil organic matter by anhydrous formic acid. [J. Soil Sci.](#), v.23 (2), p.119-127, 1972.

JORDÃO, C.P.; COSTA, E.D.; BRUNE, W.; GOURLART, A.T.; Adsorção de cátions metálicos em ácidos húmicos de latossolo. [Química Nova](#), v.16, 517-520, 1993.

KABAI, D.J.; Plant-specific fertilizer briquets and granulated fertilizer with an extended effectiveness, [Ger. Pat. 3 007 089](#), 1981. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. [Fuel](#), v. 67, p.883-900, 1988.

KHAN, S.U. & SCHNITZER, M. - Chemistry of fulvic acid, a soil humic fraction. [Can. J. of Soil Science](#), v. 49, p. 2302-2309, 1971.

KIELLAND, J.; Amer. Chem. Soc., v. 59, p.1675, 1937. Apud ATKINS, P.W.; In: Physical Chemistry, 5^a Ed., Butler & Tanner, Oxford, 1994, p.841.

KONONOVA, M.M.; Soil organic matter. Pergamon Press, Oxford, 1966, p.75-156. Apud RÉ POPPI, N.; In: ["Estudos dos ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de solos, por métodos químicos e espectroscópicos - separação e identificação de seus produtos de oxidação por CG/EM"](#). Tese de mestrado, Instituto de química e física de São Carlos, São Carlos, 1988.

LACERDA, D.L. - Contaminação por mercúrio no Brasil: Fontes industriais vs garimpo de ouro. *Química Nova*, v. 20, p. 196-199, 1997.

LACERDA, D.L. ; SALOMONS, W. - *Mercury from gold and silver mining: A chemical time bomb?* Environmental Science (1997).

LACORTE, S. & BARCELÓ, D. - Rapid degradation of fenitrothion in estuarine waters. *Environ. Sci. Technol.*, v. 28, p. 1159-1163, 1994.

LARGIN, I.F.; In: *Properties and methods for the study of peat and supropel deposits*, Kalin Gos. Univ. Kalinin, 1983. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

LUKOSHKO, E.S.; BAMBALOV, N.N.; SMYCHNIK, T.P.; *Khim. Tverd. Topl.*, v.1, p.8, 1986. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

LUKOSHKO, E.S.; KHORUZHNIK, A.V.; PIGULEVSKAYA, L.V.; *Khim. Tverd. Topl.*, v.4, p.36, 1981. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

MATHUR, S.P.; FARNHAM, R.S.; In: *Humic substances in soil sediment and water* (Eds. AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L.; MCCARTHY, P.), New York, Willey, 1985, p. 53.

MATSUDA, K.; SCHNITZER, M.; Permanganate oxidation of humic acids extracted from acid soils. [Soil Sci.](#), v.114, p.185-193, 1972.

MORITA, H.; Peat and its organic chemistry. [Journal of Chemical Education](#), v.57, p.695-696, 1980.

ODEN, S.; The humic acids, studies in their chemistry, physics and soil science. [Kolloidchem. Beih.](#), v.11, p.75-260, 1919.

OGNER, C.; SCHNITZER, M.; Chemistry of fulvic acid, a soil humic fraction, and its relation to lignin. [Can. J. Chem.](#), v.49, p.1053-1063, 1971.

ORTIZ DE SERRA, M.I.; SCHNITZER, M.; Chemistry of humic and fulvic acids extracted from argentine soils. II Permanganate oxidation of methylated humic and fulvic acids. [Soil Biol. Biochem.](#), v.5, p.287-296, 1973.

PANG, L.S.K.; VASSALLO, A.M.; WILSON, M.A.; Chemistry of alkali of brown coals - I. Kinetics, characterisation and implications to coalification. [Org. Geochem.](#), v.16, p.853-864, 1990.

PARSONS, J.W. Isolation of humic substances from soils and sediments. In: [Humic substances and their role in the environment](#) (Eds. FRIMMEL, F.H. & CHRISTMAN, R.F.). Chichester, John Wiley & Sons, 1988, p. 03.

PERRY, R.H.; GREEN, D.W.; MALONEY, J.O.; *Perry's Chemical Engineers Handbook*, 6^a Ed., Kosaido Co., Japan, Cap. 17, p.18, 1984.

PIHLAJA, J.; KARUNEN, P.; WIKLUND, T.; Biologically active substances in peat, *Proc. Int. Symp. Peat Util. Bemidji State Univ. Bemidji*, (Eds. FUCHMAN, C.H.; SPIGARELLI, S.A.), p.495, 1984. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

PORTER, L.K.; Factors affecting the solubility and possible fractionation of organic colloids extracted from soil and leonardite with na acetone-water-HCl solvent. *J. Agr. Food. Chem.*, v.15, p.807-811, 1967.

RAIJ, B.; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M.E.; LOPES, A.S.; BATAGLIA, O.C.; In: *Análise química do solo para fins de fertilidade*, Fundação Cargil, Campinas, 1987.

RÉ POPPI, N.; In: "Estudos dos ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de solos, por métodos químicos e espectroscópicos - separação e identificação de seus produtos de oxidação por CG/EM". Tese de mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1988.

RÉ POPPI, N.; TALAMONI, J.; Estudo dos ácidos húmico e fúlvico, extraídos de solos, por espectroscopia de infravermelho. *Química Nova*, v.15, p.281-285, 1992.

REUTER, J.H. & PERDUE, E.M. Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, v. 41, p. 325-334, 1977.

RICKWOOD, D.; *Centrifugation: a practical approach. information retrieval*, Int. Retr., London, 1978.

ROCHA, J.C.; DE OLIVEIRA, S.C.; DOS SANTOS, A. - Recursos hídricos - Noções básicas sobre o desenvolvimento do saneamento básico. *Saneamento Ambiental*, v. 49, p. 36-43, 1996.

ROCHA, J.C.; DE SENE, J.J.; BURBA, P.; KLOCKOW, D. - Studies on interaction of mercury(II) with humic substances from the Rio Negro (Amazonas State, Brazil) by means of an ion exchange procedure. *J. Braz. Chem. Soc.* (Aceito para publicação), 1998c.

ROCHA, J.C. In: *Estudo sobre interações de íons metálicos com substâncias húmicas aquáticas*. Araraquara, 1997. Tese de Livre Docência - Instituto de Química - UNESP.

ROCHA, J.C.; TOSCANO, I.A.S.; BURBA, P. - Lability of heavy metal species in aquatic humic substances characterized by ion exchange with cellulose phosphate. *Talanta*, v. 44, p. 69-74, 1997a.

ROCHA, J.C.; TOSCANO, I.A.S.; CARDOSO, A.A. - Relative lability of trace metals complexed in aquatic humic substances using ion-exchanger cellulose-hyphan. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 8, p. 239-243, 1997b.

ROULET, N.; METHA, N.C.; DUBACH, P.; DEUEL, H.; Separation of carbohydrates and nitrogen compounds from humic substances by gel filtration and ion-exchange chromatography. *Z. Pflanzenernahr. Dueng. Bodenk.*, v.103, p.1-9, 1963.

SAARI, S.; Apparatus and method for utilization of peat, *Finn. Pat. 63 960*, 1983. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

SCHALLINGER, K.M.; In: *Proc. Int. Symp. Peat in Agriculture and Horticulture*, p.397, 1984. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

SCHNITZER, M.; Characterization of humic constituents by spectroscopy". *J. Soil Biochemistry*, v.2, p. 60 - 95, 1971.

SCHNITZER, M.; Alkaline cupric oxid oxidation of a methylated fulvic acid. *Soil Biol. Biochem.*, v.6, p.1-6, 1974.

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

SCHNITZER, M.; SKINNER, S.I.M.; Alkali versus acid extracted of soil organic matter. *Soil Sci.*, v.105, p.392-396, 1968.

SCHNITZER, M; KHAN, S.U.; *Humic substances in the enviroment*. Marcel Dekker, New York, 1972.

SCHULTEN, H.R. The three-dimensional structure of humic substances and soil organic matter studied by computational analytical chemistry. *Fresenius J Anal Chem*, v. 351, p. 62-73, 1995.

SENESI, N.; MIANO, T.M.; BRUNETTI, G.; "Methods and related problems for sampling soil and sediment organic matter. Extraction, fractionation and purification of humic substances". *Química Analítica*, v.13, p.26-33, 1994.

SILVA, W.T.L.; In: *Estudo da estabilidade de ácidos húmicos extraídos de solo e turfa, frente à radiação ionizante gama*. São Carlos 1995. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química - Universidade de São Paulo.

SPEEDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

SPRINGER, U.; The present status of humus investigation methods especialy with respect to the separation, determination and characterization of humic acid types and application to characteristics forms of humus. *Bodenk Pflanzenernahr*, v.6, p. 312-373, 1938.

STEVENSON, F.J. - Biochemistry of the formation of humic substances. In: STEVENSON, F.J. - *Humus chemistry*. Wiley & Sons, New York, 1982, p. 195-219.

STEVENSON, F.J. - Coloidal properties of humic substances. In: STEVENSON, F.J. - [Humus chemistry](#), Jonh Wiley & Sons, New York, 1982, p. 285-307.

STEVENSON, F.J.; "Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter". In: STEVENSON, F.J. - [Humus chemistry](#), Wiley & Sons, New York, 1982, p.26-53.

STEVENSON, F.J.; "Spectroscopic approaches". In: STEVENSON, F.J. - [Humus Chemistry](#). Willey & Sons, New York, 1982, p. 264 - 283.

STEVENSON, F.J.; Geochemistry of Soil Humic Substances. In: (Eds AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L.) [Humic Substances in Soil, Sediment and water](#), Wiley & Sons New York, 1985, p.13.

STRYER, L.; "Exploring Proteins". In: STRYER, L - [Biochemistry](#), 3^a Ed., Freeman and Company, New York, p.47, 1988.

SWIFT, R.S.; "Fractionation of soil humic substances". In: (Eds AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L.; MACCARTHY, P.); [Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation and characterization](#), Wiley & Sons, New York, 1985, p.387-408.

SWIFT, R.S.; POSNER, A.M.; Gel chromatography of humic acid. [J. Soil Sci.](#), v.22, p.237-249, 1971.

SWIFT, R.S.; POSNER, A.M.; Nitrogen, phosphorus, and sulfur contents of humic acids fractionated with respect to molecular weight. *J. Soil Sci.*, v.23, p.50-57, 1972.

THENG, B.K.G.; WAKE, J.R.H.; POSNER, A.M.; Fractional precipitation of soil humic acid by ammonium sulfate. *Plant and soil*, v.29, p.305-316, 1968.

TINSLEY, J.; SALAM, A.; Extraction of soil organic matter with aqueous solvents. *Soil Fert.*, v.24, p.81-84, 1961.

TINSLEY, J.; WALKER, C. H.; *Trans. 8th Intern. Congr. Soil Sci.*, 2, 149, 1964. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

TOLEDO, A.P.P.; CARVALHO, J.L.; Comparação sobre a capacidade de extração de substâncias húmicas por vários solventes. *Ciência e Cultura*, v.37, p.1174-1178, 1985.

TOLEDO, A.P.P.; In: “*Contribuição do estudo físico químico de ácido húmico extraído de sedimento*”. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1973.

TOWN, R. M.; POWELL, H. K. J.; Elimination of adsorption effects in gel permeation chromatography of humic substances. *Analytica Chimica Acta.*, v.256, p.81-86, 1992.

VILLWOCK, J.A.; DEHNHARDT, E.A.; LOSS, E.L.; HOFMEISTE, R.T.; *Acta Geol. Leohold.*, 6, 79, 1983. Apud SPEDDING, P.J.; Peat. *Fuel*, v. 67, p.883-900, 1988.

WHITEHEAD, D.C.; TINSLEY, J.; *J. Soil Sci.*, v.97, p.34, 1967.
STEVENSON, F.J.; "Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter". In: STEVENSON, F.J. - *Humus chemistry*, Wiley & Sons, New York, 1982, p.26-53.

WRIGHT, J.R.; SCHNITZER, M.; In: *Proc. 7th Int. Congr. Soil Sci.*, Madison, 1960.

ZHANG, Y.J; BRYAN, N.D.; LIVENS, F.R.; JONES, M.N. - Complexing of metal ions by humic substances. In: GAFFNEY, J.S.; MARLEY, N.A.; CLARK, S.B. (Eds.). *Humic and fulvic acids. Isolation, structure and environmental role*. ACS - Symposium series 651, Washington, 1996, p. 194-206.

ZUNIC, W.M.; DING, S.; DURIG, J.R.; COHEN, A.D.; Pyrolysis GC/FID/FT-IR, pyrolysis GC/MS, and FT-IR studies of pore water extracted derived from peat samples differing in depositional environments. *Journal of Molecular Structure*, v.267, p.371-376, 1992.