

IVAN ALENCAR DE LIMA FRANCO

UFV	BIBLIOTECA	BBT	OBRA	RG000089071
	CLASSIFICAÇÃO T 631.417 / F825a			
TÍTULO Extracção e caracterização de uma nova frac				
				
100193 BBT				

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA NOVA FRAÇÃO HÚMICA DA
MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

BIBLIOTECA CENTRAL - U F V -
100.193
14.11.91

Tese Apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como Parte das Exigências do Curso de Solos e Nutrição de Plantas, para Obtenção do Título de "Magister Scientiae".

T
631.417
F 825a
1991
ca.l.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
DEZEMBRO - 1991

DOAÇÃO

Ficha catalográfica preparada pela Área de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da UFV

T Franco, Ivan Alencar de Lima.
F825e Extração e caracterização de uma nova
1991 fração húmica da matéria orgânica do solo.
1991.
60p.

Tese (M.S.) - UFV

1. Solos - Matéria orgânica. 2. Solos - Metodologia de extração. 3. Humus. 4. Solos - Mecanismos geoquímicos. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

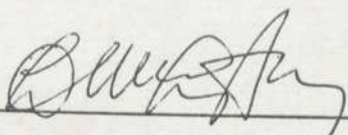
CDD - 18.ed. : 631.417
CDD - 19.ed. : 631.417

IVAN ALENCAR DE LIMA FRANCO

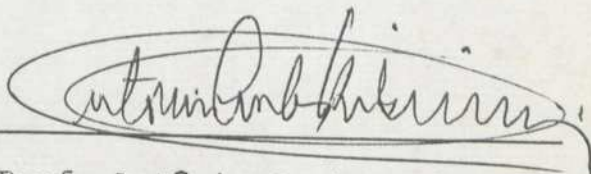
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA NOVA FRAÇÃO HÚMICA DA
MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

Tese Apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como Parte das
Exigências do Curso de Solos e
Nutrição de Plantas, para
Obtenção do Título de "Magister
Scientiae".

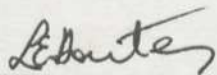
APROVADA: 14 de maio de 1991



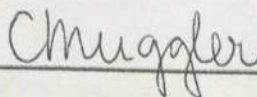
Prof. Liovando M. da Costa
(Conselheiro)



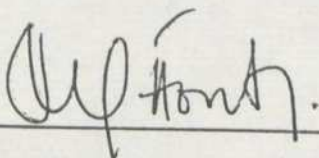
Prof. Antônio Carlos Ribeiro
(Conselheiro)



Prof. Luiz Eduardo F. Fontes



Profª Cristine Carole Muggler



Prof. Maurício Paulo Ferreira Fontes
(Orientador)

A todo homem de fé,
que acredita na realização de uma obra.

Ao Professor Antônio Carlos Ribeiro, pela amizade e pelos ensinamentos.

Aos Professores Ripari Matsuda, Murilo Carvalho de Carvalho e Reginaldo da Silva Ribeiro, e à técnica Cláudia Vanetti, pela ajuda instrumental.

Aos membros da banca examinadora, pela revisão crítica, com sugestões para o aperfeiçoamento do trabalho.

Aos meus pais, **AGRADECIMENTOS**, pela dedicação e compreensão.

A Dona Maria Sabele Lourenço (CNPq), pelas análises realizadas.

A necessidade impele o homem ao trabalho. As dificuldades o induz à busca de alternativas. Não existe uma única obra realizada pelo homem que não o induza à união, e através da união de esforços ele encontra as alternativas para conclusão de seu trabalho. A todos que, de alguma forma, uniram esforços na minha caminhada, o meu agradecimento. Em especial:

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização deste curso, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida.

Aos Professores Maurício Paulo Ferreira Fontes e Liovando Marciano da Costa, pelos ensinamentos, pela orientação precisa e, sobretudo, pela constante amizade, dedicação e estímulo.

Ao Professor José de Almeida Filho, pelo empenho e pela boa vontade.

Ao Professor Antônio Carlos Ribeiro, pela amizade e pelos ensinamentos.

Aos Professores Kioshi Matsuoka, Murilo Geraldo de Carvalho e Reginaldo da Silva Romeiro, e à técnica Cláudia Vanetti, pela ajuda instrumental.

Aos membros da Banca Examinadora, pela revisão crítica, com sugestões para o aperfeiçoamento do trabalho.

Aos meus pais, avós e irmãos, pela dedicação e compreensão.

À Rosa Maria Rabelo Junqueira (CETEC), pelas análises realizadas.

Aos laboratoristas Jorge Luíz, da Química, e Miguel Arcanjo, da Gênese, pela ajuda prestada.

À Maristella Dalla Pria, pelo carinho, pela dedicação e pelo empenho.

Aos colegas de curso, pelos bons momentos de convívio.

BIOGRAFIA

IVAN ALENCAR DE LIMA FRANCO, filho de Ivan de Lima Franco e de Flora Eleonora Alencar Franco, nasceu em 21 de novembro de 1965, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Em 1988, concluiu o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, iniciando, nesse mesmo ano, o curso de pós-graduação, na área de Solos e Nutrição de Plantas, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

1.6. Difração de Raios-X 25

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 27

4.1. Princípios Básicos da Intelectologia Proposta 27

4.2. Caracterização dos Ácidos Húmicos Extratidos 29

4.3. Propriedade de Mobilidade de Migração, Migração e Sedimentação de Colóides Húmicos 30

5. RESUMO E CONCLUSÃO 34

BIBLIOGRAFIA 35

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Caracterização e Processo de Extração de Colóides Orgânicos do Solo	3
2.2. Interações Geoquímicas entre os Pigmentos Quinona e a Fração Mineral	10
2.3. Mecanismos de Migração e Sedimentação de Colóides Húmicos	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Obtenção dos Ácidos Húmicos e Fúlvicos	21
3.2. Obtenção da Nova Fração Húmica	23
3.3. Análise por Espectrografia Ótica de Emissão .	24
3.4. Análise em Infravermelho	24
3.5. Análise Térmica Diferencial (ATD)	25
3.6. Microscópio Eletrônico de Varredura	25
3.7. Dispersão de Raios-X	26

3.8. Difração de Raios-X	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. Princípios Básicos da Metodologia Proposta ...	27
4.2. Caracterização das Frações Húmicas Extraídas .	29
4.3. Proposição de Mecanismos de Remoção, Migração e Sedimentação para a Nova Fração Húmica	50
5. RESUMO E CONCLUSÕES	53
BIBLIOGRAFIA	55

BRASCO, Ivan Antônio de Lima, M.S., Universidade Federal de São Carlos, dezembro de 1991. - Extração e Caracterização de uma Nova Fração Húmica de Matéria Orgânica do Solo. Professores Orientadores: Maurício Pedro Petrálio Fontes, Professores Consoelheiros: Leonardo Bergiano de Castro e Antônio Carlos Ribeiro.

Com o objetivo de se buscar um melhor entendimento dos componentes húmicos do solo, desenvolveu-se uma metodologia que permitiria extrair uma nova fração húmica. Procedeu-se ao fracionamento, por via ácida, de uma amostra de solo com três coberturas vegetais distintas (cana-de-açúcar, milho e sorgo).

Das três coberturas vegetais, foi possível extrair uma nova fração húmica do solo, sendo que suas características físico-químicas são distintas das demais frações húmicas estabelecidas na literatura, com exceção da fração húmica ácida. Parte integrante da nova fração é mineral, o que é caracterizado com um complexo orgânico-mineral.

EXTRATO

FRANCO, Ivan Alencar de Lima, M.S., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 1991. *Extração e Caracterização de Uma Nova Fração Húmica da Matéria Orgânica do Solo*. Professor Orientador: Maurício Paulo Ferreira Fontes. Professores Conselheiros: Liovando Marciano da Costa e Antônio Carlos Ribeiro.

Com o objetivo de se buscar um melhor entendimento dos componentes húmicos do solo, desenvolveu-se uma metodologia que permitiu extrair uma nova fração húmica. Trabalhou-se, no fracionamento, com uma única classe de solo, sob três diferentes coberturas vegetais (mata, pastagem e eucalipto).

Sob as três coberturas vegetais, foi possível extrair uma nova fração húmica do solo, sendo as suas características morfológicas bem distintas das demais frações classicamente estabelecidas na literatura, como ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina. Parte integrante da nova fração é mineral, o que a caracterizou como um complexo argilo-húmico.

Observou-se a presença de um núcleo muito resistente, formado por um complexo entre pigmentos quinona e a caulinita, constituindo parte dessa nova fração.

Foram propostos possíveis mecanismos geoquímicos de remoção, de migração e de sedimentação da nova fração, buscando uma melhor compreensão da importância ambiental das substâncias húmicas.

1. INTRODUÇÃO

Diferentes aspectos das substâncias têm sido estudados extensivamente por muitos cientistas, durante muitos anos, e esses trabalhos não têm levado a um entendimento fundamental da natureza, da origem e do papel geoquímico dessas substâncias. Grande número de informações vem se acumulando durante os anos; entretanto, esses dados ainda estão por ser integrados dentro de uma estrutura clara, sendo que, até o presente, toda discussão relativa às substâncias húmicas tem estado encoberta por um considerável grau de imprecisão (AIKEN *et alii*, 1985).

A metodologia clássica de extração de substâncias húmicas utiliza solventes alcalinos, e permite subdividi-las em três principais frações:

- Ácidos fúlvicos são as substâncias de menor peso molecular, menor teor de carbono e nitrogênio, maior teor de oxigênio e acidez, maior CTC, e se caracterizam por ser tanto solúveis em pH alcalino como em pH ácido.

- Humina é o resíduo orgânico insolúvel do solo, apresentando alto peso molecular, o maior teor de carbono e menor CTC.

- Ácidos húmicos apresentam características intermediárias às dos ácidos fúlvicos e da humina, e se caracterizam por serem solúveis em pH alcalino e insolúveis em meio ácido.

A tentativa de se relacionar essas frações com diversos mecanismos geoquímicos não tem sido, em geral, muito consistente. Uma lacuna nos conhecimentos com relação ao melhor entendimento dos mecanismos geoquímicos de remoção, de migração e de sedimentação de componentes orgânicos e minerais no ambiente tem persistido quando se faz essa relação. Poucos têm sido os trabalhos que buscam alternativas metodológicas que possam trazer inovações nessa classificação, e que conseguem um entendimento mais profundo da importância geoquímica que envolvem as substâncias húmicas.

Assim sendo, o presente trabalho teve os seguintes objetivos:

- Testar a hipótese de que utilizando-se uma metodologia diferente da classicamente usada, extrai-se uma fração húmica diferente da matéria orgânica do solo.

- Caracterizar a fração húmica extraída.

- Sugerir possíveis mecanismos de remoção, de migração e de sedimentação para essa fração.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Caracterização e Processo de Extração de Colóides Orgânicos do Solo

As substâncias húmicas do solo encontram-se associadas umas às outras, por meio de cátions neutralizadores de cargas, além de outros componentes orgânicos não húmicos e colóides minerais do solo.

EMERSON (1959) definiu a formação de agregados no solo como sendo constituídos de unidades de argila, de silte e de quartzo, cimentados por polímeros orgânicos e estabilizados por forças eletrostáticas. Existem evidências de que cátions divalentes e trivalentes formam pontes entre substâncias húmicas polianiónicas e colóides inorgânicos negativamente carregados. As ligações de hidrogênio e as forças de Van der Waals (HARRIS *et alii*, 1966) também são importantes no processo de estabilização de colóides orgânicos do solo.

A estabilização de agregados por polímeros orgânicos envolve a interligação das partículas do solo pela formação de ligações entre grupamentos funcionais dos polímeros e sítios ativos das partículas. A efetivação dessas ligações necessita que o polímero seja suficientemente extenso, para formar ligações entre duas ou mais partículas do solo. EMERSON (1960) efetuou um estudo de lixiviação de agregados do solo por cloreto de sódio e pirofosfato de sódio, observando que embora os ácidos húmicos possam manter partículas de argila unidas, esses são removidos muito facilmente, para serem considerados substâncias orgânicas importantes na estabilização de agregados do solo.

Segundo HAYES (1985), Ca^{+2} , Mg^{+2} e H^{+} são os principais cátions neutralizadores de cargas em substâncias húmicas polieletrólíticas no solo. Em determinadas condições, os íons K^{+} , Na^{+} , Al^{+} e $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ podem contribuir significativamente para o conteúdo de cátions trocáveis.

Um polieletrólito caracteriza-se por ser uma substância de alto peso molecular, que se comporta simultaneamente como um eletrólito contendo um número de grupos ionizáveis ao longo da cadeia do polímero. Para polímeros neutros, a cadeia apresenta-se contraída em solução, e a extensão do encolhimento não é apreciavelmente afetada pela diluição. Já para um polieletrólito em uma alta diluição, quase todos grupamentos ionizáveis serão dissociados, e a cadeia será completamente carregada eletricamente. Sob essas condições, uma repulsão caulômbica entre grupos carregados similarmente na cadeia será máxima, e esta assumirá uma condição de máxima distensão, com uma

grande separação entre centros de mesmas cargas (MUKHERJEE e LAHIRI, 1956).

Em solos apresentando baixos valores de pH (em torno de 4), as substâncias húmicas saturadas com hidrogênio apresentam muitas das propriedades de polímeros neutros, tendo grande quantidade de ligações de hidrogênio. Com o aumento do pH, os grupamentos ácidos das substâncias húmicas dissociam-se, e as macromoléculas orgânicas assumem as propriedades dos polieletrólitos (HAYES, 1985).

O estudo da coagulação de colóides húmicos por íons neutralizadores de carga tem demonstrado que a efetividade em coagular decresce dos cátions trivalentes para os monovalentes, sendo o fenômeno baseado na regra de "Schulze-Hardy". A tentativa de se explicar o processo de coagulação de substâncias húmicas tem-se fundamentado na teoria da dupla camada difusa, que se explica somente para interações eletrostáticas de colóides hidrofóbicos. ONG e BISQUE (1968) e ECKERT e SHOLKOVITZ (1976) observaram que, apesar das substâncias húmicas apresentarem a característica hidrofílica (polieletrólito) em suspensão, a adição de um eletrólito faz com que essas se transformem em colóides hidrofóbicos, obedecendo assim a teoria da dupla camada difusa. A repulsão intramolecular caulômbica, que faz com que as moléculas apresentem um estado de distensão, passa a não existir, fazendo com que a água de hidratação que envolvia os colóides seja expulsa, passando, então, para um estado de retração.

O aumento da densidade de cargas de um polieletrólito faz com que seja maior a repulsão entre as mesmas, tornando

maior a capacidade de hidratação. Espécies iônicas carregadas eletricamente hidratam rapidamente; por conseguinte elas se ligam ao solvente ou às moléculas de água, devido à grande interações do tipo monopolo-dipolo. Íons de pequeno tamanho apresentam maior campo elétrico em sua periferia, fazendo com que esses se liguem mais fortemente às moléculas de solvente. Richards, citado por HAYES (1985), apresentou uma descrição da atmosfera de um íon para um polieletrólito em solução. O autor apresentou uma clara interpretação do efeito da dupla camada elétrica e o mecanismo pelo qual a presença de excesso de sais pode reprimir o potencial elétrico, fazendo com que poliânions altamente carregados apresentem muitas das propriedades físico-químicas de uma molécula hidrofóbica.

A agitação de agregados de solo com solução alcalina de Na^{+2} tem sido considerada de grande importância no processo de enfraquecimento das ligações que envolvem a união de minerais de argila com colóides orgânicos, por meio da substituição de íons polivalentes pelo sódio, sendo esse aspecto de vital importância no processo de extração de substâncias húmicas, segundo Bremer, citado por STEVENSON (1985). O sódio, por ser um cátion monovalente muito hidratado, dissocia-se mais facilmente das bases conjugadas dos grupamentos ácidos das estruturas húmicas, conseqüentemente ocorre uma repelência entre cargas negativas da molécula, originando uma estrutura favorável à dispersão. Os solos, onde o sódio ou outros cátions monovalentes muito hidratados predominam como espécies trocáveis, perdem suas substâncias húmicas por meio da água

de drenagem. Entretanto, quando íons H^+ estão associados com as bases conjugadas, os grupamentos ácidos tornam-se envolvidos em ligações inter e intramoleculares de hidrogênio; nessa circunstância a água de hidratação é excluída da matriz da molécula, ocorrendo assim a floculação.

Para ocorrer a solubilização de um polieletrólito em água, é de vital importância que cátions polivalentes e hidrogênios neutralizadores de carga sejam removidos, devido ao fato de tais íons não serem dissociáveis, ou somente fracamente dissociados dos grupos funcionais aniônicos. WHITEHEAD e TINSLEY (1964) propuseram que, para a solubilização de substâncias húmicas, o solvente deve apresentar as seguintes características: a) alta polaridade e alta constante dielétrica, para facilitar a dispersão de moléculas carregadas; b) pequeno tamanho, para penetrar na estrutura húmica; c) habilidade para romper ligações de hidrogênio existentes e fornecer grupamentos alternativos para formarem ligações de hidrogênio entre o solvente e a substância húmica e d) habilidade para imobilizar cátions metálicos.

A extração de substâncias húmicas com hidróxido de sódio permite que os grupamentos ácidos das macromoléculas sejam dissociados, devido à repulsão de carga proporcionada pela elevação do pH, originando uma conformação expandida (hidrofílica). Portanto, sítios aniônicos e polares podem ser solvatados com moléculas de água. A extensão da dissolução das substâncias húmicas é influenciada pela quantidade de eletrólito presente. Segundo HAYES (1985), o

excesso de eletrólito aumenta a força iônica externa da estrutura húmica, em relação à força interna, com isso reduz a espessura da dupla camada difusa, causando assim uma contração da macromolécula. Em alta concentração de eletrólito, a hidratação da macromolécula é reduzida, e a dispersão pode não acontecer. O autor relata ainda que soluções eletrolíticas normalmente extraem as substâncias húmicas mais altamente oxigenadas e de menor peso molecular.

O hidróxido de sódio apresenta alta capacidade de extrair material orgânico de solos que apresentem alta quantidade de hidrogênio trocável, sendo que uma concentração de base de 0,1 M é geralmente melhor do que 0,5 M, pois o excesso de NaOH reprime a dispersão.

Soluções eletrolíticas de hidróxido de sódio apresentam boa capacidade para remover H^+ , íons divalentes e polivalentes trocáveis das substâncias húmicas, apesar de apresentarem baixa constante dielétrica, que permite que haja dispersão de moléculas carregadas. Nesse contexto, LOW (1961) relatou que íons em solução aquosa provocam uma contribuição negativa para a constante dielétrica, sendo a magnitude dessa contribuição linearmente relacionada com a concentração do eletrólito. Para uma dada concentração de sal, os íons menores, ou mais altamente carregados (cátions ou ânions), promovem maior abaixamento da constante dielétrica. Admite-se que essa redução seja devido à inabilidade de moléculas de água ao redor do íon girarem em um campo elétrico alternado. Na essência, íons hidratados são julgados como inclusões esféricas de muito baixa constante dielétrica, em um meio contínuo de água com

constante dielétrica uniforme (LOW, 1961).

A introdução de um íon em um volume de água faz com que ocorra uma mudança na estrutura da água. Toda molécula de água ao redor do íon polariza-se, e com isso a água de hidratação do íon não pode coordenar com as moléculas de água da vizinhança. O resultado é a ruptura da estrutura quase cristalina da água, sendo esta ruptura acentuada se o íon diferir em tamanho da molécula de água. Um aumento na temperatura tem o mesmo efeito que o íon na ruptura da estrutura da água (LOW, 1961).

Segundo MITCHELL (1976), com a variação da temperatura ocorre uma variação na constante dielétrica da água, e à medida em que se abaixa a temperatura de 20 para 0°C, a constante dielétrica passa de 80 para 88. O abaixamento da temperatura proporciona um aumento na concentração de moléculas ligadas por pontes de hidrogênio, em relação às não ligadas, devido à sua melhor organização através de ligações de hidrogênio.

HAYES (1985) sugeriu que o melhor extrator para substâncias húmicas ligadas a H^+ é o que possui os parâmetros de solubilidade: polaridade, ligações de hidrogênio e receptor de prótons. A água satisfaz todos esses critérios, embora seja um solvente pobre para substâncias húmicas ligadas a H^+ , cátions divalentes e polivalentes. O autor relatou, ainda, a necessidade dos grupamentos ácidos nas macromoléculas apresentarem-se dissociados, e as estruturas estarem expandidas, para permitir a solvatação das bases conjugadas dos grupamentos ácidos e o umedecimento polar das estruturas, sendo essa

dissociação melhor conseguida com o uso de soluções aquosas de hidróxido de sódio ou de potássio.

2.2. *Interações Geoquímicas entre os Pigmentos Quinona e a Fração Mineral*

Muitos elementos traços encontrados em solos, em turfas, em depósitos de sedimentos costeiros e em outros materiais naturais ocorrem em concentrações apreciavelmente maiores que seus conteúdos médios na crosta terrestre (RASHID, 1971). O fenômeno de migração e acumulação de vários metais é associado com a presença de compostos húmicos (KONONOVA, 1966; RASHID, 1971). Nos estudos relacionados à matéria orgânica, tem-se ressaltado o papel dos componentes húmicos na história geoquímica dos elementos traços, pela presença de diferentes grupos funcionais, que são responsáveis pela grande capacidade de troca e pela habilidade de complexar esses componentes (SCHNITZER e SKINNER, 1963; STEVENSON, 1982). Esses autores relataram que a presença de metais em solução na forma iônica, e como complexo solúvel com a matéria orgânica é influenciada pela atividade de plantas superiores e de microrganismos que servem como fonte de ligantes solúveis em água, para formação de complexos, muitos dos quais se ligam com metais pesados, como Cd^{+2} , Pb^{+2} e Hg^{+2} , propiciando sua acumulação em diversos ambientes.

Acredita-se que grupamentos quinona, associados a componentes húmicos, participem de várias reações de importância geológica, geoquímica e biológica. Esses grupos

entram em reações de condensação, oxi-redução, e também podem ter papel importante em reações da matéria orgânica com constituintes inorgânicos, formando complexos organo-argilosos ou organo-metálicos com transferência de cargas (SCHNITZER e SKINNER, 1965; RASHID, 1972). Apesar de se admitir a presença de grupamentos quinona em substâncias húmicas, ainda não se obtiveram evidências da ocorrência de complexação com 1,2 dihidroxi ou hidroxiquinona (STEVENSON, 1982).

A combinação de estudos químicos e infravermelho tem sido usada com considerável sucesso na elucidação da natureza e do arrançamento de grupamentos funcionais derivados de solos e de turfa. Esses estudos evidenciaram a presença de grupamentos hidroxílicos, carboxílicos e fenólicos (WAGNER e STEVENSON, 1965). Diversos trabalhos foram realizados na tentativa de se verificar a ocorrência de grupamentos carbonil (SCHNITZER e SKINNER, 1965; THENG e POSNER, 1967), mas pouco se conhece a respeito da natureza desse grupo. MATHUR (1972) encontrou evidências de grupamento quinona (carbonil), mas SCHNITZER e SKINNER (1965), WAGNER e STEVENSON (1965) e THENG e POSNER (1967) não conseguiram mostrar sua ocorrência em substâncias húmicas de solos.

Segundo THENG e POSNER (1967), a absorção em torno de 1610 cm^{-1} tem sido atribuída à vibração de duplas ligações (C=C) de anéis aromáticos. Entretanto, apesar do fato de grupamentos C=O de quinona absorverem na faixa de 1690 a 1635 cm^{-1} , sua ligação com grupamentos OH, por meio de pontes de hidrogênio, faz com que ocorra um abaixamento do

número de onda, para aproximadamente 1610 cm^{-1} . Os autores relatam ainda que a ocorrência de uma banda próxima a 1610 cm^{-1} , atribuída a grupamentos quinona ligados a pontes de hidrogênio, é apenas especulação, pois existem muito poucas evidências de sua ocorrência.

O relato da existência de hidroxiquinona em solos foi confirmado pela classificação de um tipo P de ácido húmico. KUMADA (1987) cita que o tipo P de ácido húmico é aquele que apresenta um espectro de absorção máxima na região do visível a 615, 570 e 410 nm, devido à presença de hidroxiperilenequinona como cromóforo, componente este de distribuição universal.

A caracterização desse ácido húmico foi realizada em diversos trabalhos (SATO e KUMADA, 1967; SATO, 1976a,b; KUMADA e SATO, 1980; NAKABAYASHI *et alii*, 1982), nos quais sua extração foi obtida em solução 0,1 N de NaOH. A eluição dos tipos P de ácido húmico em coluna cromatográfica permite a separação da fração responsável pelas bandas de absorção, que após concentração resultou um pigmento de coloração vermelha.

O fungo micorrízico *Cenococcum gramineum*, além de outros que produzem escleródios e micélios, nos quais é encontrado como metabólito o cromóforo hidroxiperilenequinona, é considerado como possível fonte dessa estrutura. O fungo *C. gramineum* tem sido considerado como a principal fonte dessa estrutura nos solos, devido à sua ampla distribuição como fungo micorrízico (SATO e KUMADA, 1967; KUMADA e SATO, 1980). Os grupamentos C-OH e C=O do núcleo hidroxiperilenequinona podem servir como ligantes de cátions

polivalentes, formando complexos e participando em suas translocações em solos. NAKABAYASHI *et alii* (1982) relataram que essa fração foi estabilizada por combinação com ferro, em solos sob floresta.

Outros tipos de pigmentos quinona foram amplamente isolados. MATSUI e KUMADA (1974) separaram sete tipos de pigmentos hidroxiantraquinona, em diferentes classes de solo, no Japão. Esses pigmentos apresentaram como radicais básicos os grupamentos C=O, C-OH e C-CH₃. A quantidade de pigmentos obtidos nos vários solos foi próxima de 11 mg/kg, apresentando a coloração típica vermelho-alaranjado.

McGRATH (1967) isolou pigmentos hidroxiantraquinona do horizonte B, de um podzol da Irlanda, demonstrando sua grande distribuição geográfica. O pigmento isolado apresentou ponto de fusão maior que 360°C, além de outras características diferentes das antraquinonas relatadas na literatura.

Muitas investigações têm sido realizadas na tentativa de caracterizar a natureza das substâncias húmicas de solos. Vários pesquisadores encontraram hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, por meio da destilação ou da fusão redutiva de substâncias húmicas com pó de zinco (McGRATH, 1967; SATO e KUMADA, 1967; HANSEN e SCHNITZER, 1969; SATO, 1976b), sendo perilene o principal hidrocarboneto relatado, sugerindo a existência de um núcleo muito resistente dessas estruturas aromáticas. Entretanto, não é claro se essas estruturas aromáticas foram derivadas de uma parte integral de um núcleo extremamente resistente ou de componentes de baixo peso molecular, como pigmentos de solo de estrutura

polinuclear, pois as quantidades dos hidrocarbonetos relatados foram extremamente baixas (MATSUI e KUMADA, 1974).

Um grande número de pigmentos quinona é naturalmente formado como metabólitos de animais, de plantas e de microrganismos, e a maioria deles alcança o solo. Nesse sentido SAIZ-JIMENEZ *et alii* (1975) relataram que pigmentos dihidroxiperilenequinona são produzidos como metabólitos de fungos, que são incorporados dentro de polímeros escuros, e que provavelmente esses processos ocorram no solo. Vários experimentos de degradação de ácidos húmicos foram desenvolvidos, e raramente se conseguiu sucesso na obtenção de estruturas polinucleares aromáticas (KUMADA, 1987).

Em regiões de sedimentação dos oceanos, que se caracterizam por ser ambientes de redução e de rápida sedimentação, encontram-se altos conteúdos de perilene, um dos hidrocarbonetos mais abundantes, encontrado naturalmente em sedimentos. O conteúdo de perilene aumenta, de forma acentuada, com a profundidade do sedimento. Essa tendência é oposta ao observado para derivados de clorofila e de outros compostos bioquímicos, que geralmente decrescem com a profundidade dos sedimentos. Esse contraste sugere que o perilene seja formado, após sedimentação, por um processo relativamente lento; sua presença foi relacionada como sendo possivelmente originada de pigmentos hidroxiquinona, que sofreriam, em ambiente de redução, redução e hidrólise de ligações C=O, levando a uma desidratação de fenóis (C-OH), originando a estrutura aromática típica de perilene (ORR e GRADY, 1967).

AIZENSHTAT (1973) sugeriu que os pigmentos precursores de perilene sejam quase totalmente de origem terrestre, sendo transportados juntamente com detritos minerais. Quando a taxa de sedimentação é rápida e as condições de redução são estabelecidas dentro do sedimento, esses pigmentos são convertidos para hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, que são estabilizados por ligações π com metais, protegendo-os da degradação.

A redução de pigmentos hidroxiquinona para perilene é análoga à reação considerada, por BLUMER (1965), para pigmentos e hidrocarbonetos reunidos em um fósfil do jurássico. A redução do pigmento (fringelite D) provavelmente ocorra por meio de uma série de pigmentos perihidroxiquinonas intermediários, até a formação do hidrocarboneto. O oxigênio contido no pigmento ainda foi preservado em grande quantidade, quando comparado aos hidrocarbonetos existentes, indicando redução muito vagarosa no macrofósfil. ORR e GRADY (1967) não conseguiram isolar precursores correspondentes de perilene em sedimentos recentes, em seus estudos, portanto esse tipo de relação não pode ser feita. Entretanto, justificaram ser essa observação devido ao fato de a taxa de redução nos sedimentos estudados ser muito mais rápida do que no fósfil, sendo então muito difícil encontrar o mesmo comportamento apresentado pelo pigmento fringelite no fósfil.

Wakeham, citado por LAFLAMME e HITES (1978), calculou a taxa de formação de perilene, baseado em análises do sedimento e da taxa de sedimentação. O autor encontrou uma taxa rápida de formação (4 ppb/ano) em sedimentos do Lago

Washington. Analisou, também, amostras da região próxima ao núcleo do sedimento, provenientes de sedimentos de rio, de água de enxurrada, de húmus e de plancton, não detectando a presença de perilene. Isso forneceu evidências para uma formação no local, melhor que uma deposição de perilene diretamente dentro do sedimento. LAFLAMME e HITES (1978) também levantaram a hipótese da origem de perilene como sendo proveniente em larga escala de pigmentos quinona. A Figura 1 ilustra um esquema proposto, por esses autores, para essa reação.

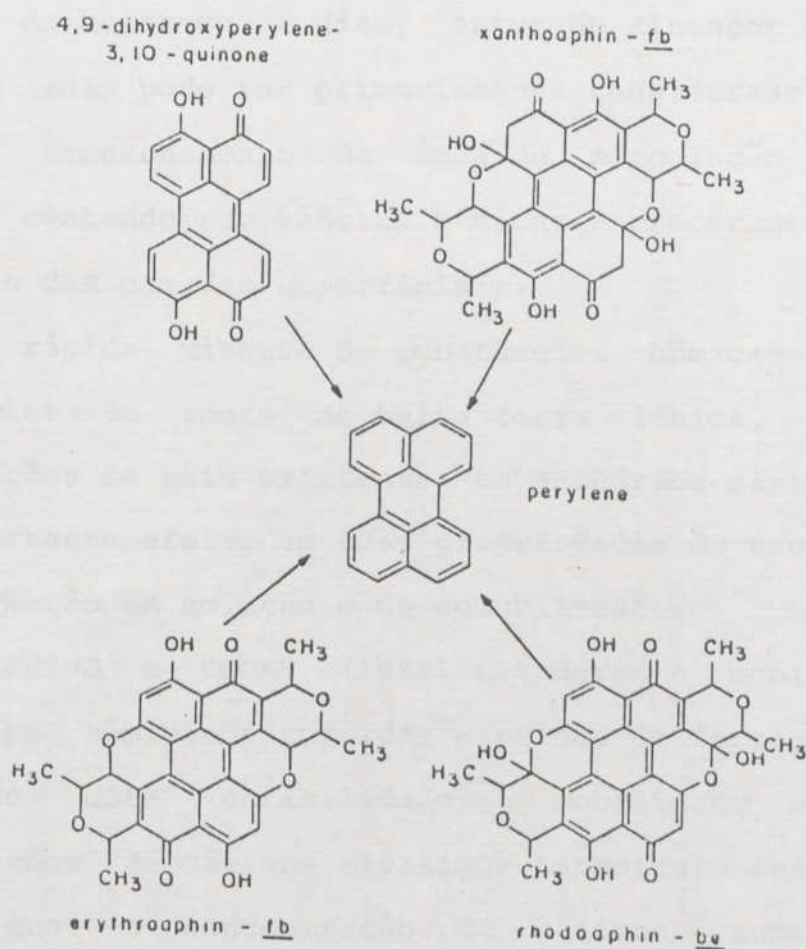


FIGURA 1 - Estrutura de Alguns Pigmentos Quinona que Podem Ser Possíveis Precusores de Perilene em Sedimentos (LAFLAMME e HITES, 1978).

2.3. Mecanismos de Migração e Sedimentação de Colóides Húmicos

Durante uma chuva, as substâncias húmicas postas em suspensão podem ser lixiviadas ou carregadas do solo para os cursos de água, que são zonas de baixa força iônica, que permitem que essas substâncias mantenham seu caráter de dispersão. Kennedy, citado por MALCOLM (1985), relatou que perto de 70% da água que chega aos cursos de água durante uma chuva passa por um íntimo contato com o solo. A chuva incidente em um solo apresenta um tempo de residência de minutos, de horas ou de dias, antes de alcançar o curso de água. O solo pode ser primariamente considerado como um local de armazenamento de água de percolação de curta duração, contendo substâncias húmicas e precursores húmicos lixiviados das camadas superficiais.

A rápida mistura de substâncias húmicas de rios, provenientes de zonas de baixa força iônica, com altas concentrações de sais existentes em estuários marinhos provoca importante efeito em suas propriedades de troca iônica, de conformação em solução e de solubilidade.

TIPPING e COOKE (1982) estudaram a mobilidade de substâncias húmicas adsorvidas a óxidos de ferro em água, observando alta estabilidade e mobilidade em baixas concentrações de cátions alcalinos terrosos, sendo que a medida que a concentração de cátions aumentava, a estabilidade era reduzida, tendendo a floculação. Essas observações são consistentes com as encontradas por Mantoura *et alii*, citados por MAYER (1985), na qual substâncias

húmicas de água doce, com concentrações muito baixas de magnésio e de cálcio, possuem 75% de seus sítios de ligações livres, e apenas 15% ligados a cálcio e 6% ligados a magnésio. Quando misturadas com água do mar, em estuários marinhos, essas substâncias tendem a se saturarem com cátions alcalinos terrosos, provocando sua instabilidade em solução.

A abundância de grupamentos ionizáveis para o pH e a concentração de cátions alcalinos terrosos encontrados em água doce fazem com que as macromoléculas se distendam em resposta à mútua repulsão de cargas de grupamentos ionizáveis de uma mesma molécula. Com a entrada dessas substâncias em estuários, ocorre redução no diâmetro da molécula, provavelmente devido à redução da repulsão de carga, pela combinação dos grupamentos ionizáveis com altas concentrações de íons alcalinos terrosos, e também pela redução da força do campo elétrico da dupla camada difusa pela alta força iônica das águas do estuário (MAYER, 1982).

Dois aspectos importantes na agregação de matéria orgânica em estuários estão relacionados ao fato de que somente uma pequena fração da matéria orgânica é floculada, e essa floculação ocorre, preferencialmente, com a fração de alto peso molecular. MANTOURA e WOODWARD (1983) observaram um comportamento estável da matéria orgânica dissolvida (MOD) na passagem pelo estuário marinho, sendo que a floculação em estuário foi restrita a frações de alto peso molecular, que somente representam uma pequena fração da matéria orgânica dissolvida (MOD).

Um importante fator do estudo da agregação de substâncias húmicas em estuários é a sua relação com a agregação de colóides de ferro e de elementos traços. As substâncias húmicas têm sido estabelecidas como agentes peptizadores para estabilização de colóides de ferro em águas de rios (BOYLE *et alii*, 1977; MOORE *et alii*, 1979). Essa combinação de colóides orgânicos e ferro sofre um efeito de precipitação, dependente da concentração salina em estuários. A estabilização dos colóides é afetada pela formação de grupamentos negativamente carregados em sua superfície, que constituem uma barreira para coagulação, sendo neutralizadas pelas altas concentrações de cátions existentes nas águas do mar. Em sistemas naturais, não se espera que colóides possuam formas de ferro cristalino, mas misturas amorfas de óxido de ferro hidratado com substâncias orgânicas.

Juntamente com o ferro, outros elementos (Zn, Mn, Al, Cu, Ni, Co, Pb, Mo) podem ser removidos em considerável extensão durante a floculação, demonstrando a importância dos estuários como locais de remoção de substâncias húmicas e de elementos traços associados. A formação de camadas de sedimentos de material orgânico floculado afeta sobremaneira a capacidade de troca catiônica e a capacidade de adsorção de elementos traços, aumentando assim a importância do mecanismo de transporte de material orgânico de água doce para as regiões de sedimentação com alta força iônica (SHOLKOVITZ, 1976).

A maior agregação de humatos por íons alcalinos terrosos indica que a reação não é simplesmente uma redução da

espessura da dupla camada elétrica, seguida por uma coagulação por forças de Van der Waals (BOYLE *et alii*, 1977). A alta afinidade de grupamentos por íons divalentes indica um grande papel do processo de neutralização de cargas, convertendo colóides hidrofílicos em colóides hidrofóbicos (ONG e BISQUE, 1968; ECKERT e SHOLKOVITZ, 1976).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desta pesquisa, foram utilizadas amostras de leite de vaca, com teor de gordura de 3,8% e teor de proteína de 3,2%. O leite foi homogeneizado e filtrado através de uma tela de 0,22 µm. Para a obtenção das amostras de leite desnatado, o leite foi tratado com 0,1% de ácido cítrico e centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos. O soro resultante foi tratado com 0,1% de ácido cítrico e centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos. O leite desnatado e o soro foram armazenados a 4°C até o momento da utilização.

3.1. Obtenção dos Ácidos Nucleicos e Proteínas

A extração dos ácidos nucleicos e proteínas foi realizada de acordo com o método de Sambrook *et alii* (1989). Para a extração dos ácidos nucleicos, o leite desnatado foi tratado com 100 µg/ml de RNase A e DNase I por 1 hora a 37°C. O material resultante foi tratado com 100 µg/ml de RNase A e DNase I por 1 hora a 37°C. O material resultante foi tratado com 100 µg/ml de RNase A e DNase I por 1 hora a 37°C. O material resultante foi tratado com 100 µg/ml de RNase A e DNase I por 1 hora a 37°C.

QUADRO 1 - Resultados da Análise Textural de Camada Superficial (0 - 10 cm) do Solo em Três Áreas sob Diferentes Coberturas Vegetais.

Identificação	AG	ML	SL	AR	Classificação Textural
Mata	27	5	12	56	Argiloso
Pastagem	29	10	7	54	Argiloso
Eucalipto					Muito Argiloso

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, foram coletadas amostras da camada superficial (0 - 10 cm), em três áreas, sob diferentes coberturas vegetais (mata, pastagem e eucalipto), encontradas no terço superior das encostas no município de Viçosa, MG. O solo estudado foi classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo álico (LVa), textura argilosa a muito argilosa (Quadro 1). Após coleta, o solo foi seco ao ar livre e peneirado em peneira de 2 mm.

3.1. Obtenção dos Ácidos Húmicos e Fúlvicos

A extração dos ácidos húmicos e fúlvicos foi realizada em tubos de centrífuga de 250 ml, a partir de uma amostra de 60 g de terra fina seca ao ar (TFSA). Uma solução de NaOH 0,1 M foi utilizada como extrator, como proposto por HAYES (1985). A extração foi realizada em baterias de seis tubos de centrífuga,

QUADRO 1 - Resultados da Análise Textural^{1/} da Camada Superficial (0 - 10 cm) do Solo Estudado sob Diferentes Coberturas Vegetais

Identificação	AG	AF	SIL	ARG	Classificação Textural
Mata	27	5	12	56	Argiloso
Pastagem	29	10	7	54	Argiloso
Eucalipto	26	5	6	63	Muito Argiloso

AG - areia grossa; AF - areia fina; SIL - silte; ARG - argila.

^{1/} Análises realizadas no Laboratório de Física do Solo da Universidade Federal de Viçosa.

para cada cobertura vegetal, totalizando 360 g de solo.

Foram adicionados 150 ml de NaOH 0,1 M, para cada tubo de centrífuga contendo 60 g de solo, agitando-se, durante 4 h, em agitador horizontal tipo vai-vem. A agitação foi realizada com o objetivo de aumentar a eficiência do extrator. A seguir, o material foi centrifugado, por 30 min, a 6000 rpm, sendo o sobrenadante filtrado em papel de filtro rápido e recolhido em um recipiente.

A extração com NaOH 0,1 M foi repetida nas mesmas condições, sobre o mesmo material, até que se obtivesse um sobrenadante incolor, indicando a ausência de material extraível em NaOH 0,1 M.

O extrato (em NaOH 0,1 M) dos solos, sob as três coberturas vegetais, contendo os ácidos húmicos e fúlvicos, teve o pH ajustado para 2,5 com H₂SO₄ conc., de modo a

precipitar os ácidos húmicos. Os ácidos fúlvicos foram separados dos húmicos por filtração em papel de filtro lento. Os ácidos húmicos retidos no papel de filtro foram redissolvidos com NaOH 0,1 M.

Os ácidos húmicos e fúlvicos extraídos dos solos, sob as três coberturas vegetais, foram liofilizados, de modo a melhor preservar suas estruturas e facilitar sua ressuspensão.

3.2. Obtenção da Nova Fração Húmica

A metodologia proposta seguiu, inicialmente, os passos descritos para a extração com NaOH 0,1 M. Sobre o resíduo da extração com NaOH 0,1 M, adicionaram-se 150 ml de água destilada por tubo de centrífuga, ressuspendeu-se o solo centrifugado e procedeu-se à nova centrifugação, a 6000 rpm, por 30 min. A temperatura da centrífuga refrigerada foi ajustada com antecedência a 0°C, de modo que a centrifugação se processasse nessa temperatura. O extrato obtido foi filtrado em papel de filtro rápido, e recolhido em um recipiente. Esse processo de extração foi repetido sobre o mesmo resíduo, até que se obtivesse um extrato praticamente incolor.

Os extratos obtidos da nova fração húmica, extraída do solo sob as três coberturas vegetais, foram liofilizados, de modo a melhor preservar suas estruturas e facilitar a ressuspensão. As extrações das substâncias húmicas foram realizadas em uma centrífuga refrigerada Sorval, modelo RC-5B, utilizando-se tubos

plásticos com tampa (polietileno), de 250 ml.

3.3. *Análise por Espectrografia Ótica de Emissão*

Foi realizada uma análise espectrográfica semiquantitativa, para 30 elementos. Foram misturados 10 mg da amostra com 20 mg de pó de grafite, espectrograficamente puro, e a mistura foi colocada em eletrodo de grafite. As amostras foram queimadas em espectrôgrafo Jarrel-Ash, modelo Wadsworth 1,5 M, durante 2 min e 15 s, sendo as linhas emitidas por todos os elementos presentes na amostra registradas em filme Kodak Sa-1. A revelação foi realizada com revelador Kodak D-19, durante 2 min, a 18°C. A comparação do filme das amostras, com um filme de padrões espectrográficos, obtidos em iguais condições, foi feita, visualmente, em comparador Jarrel-Ash.

3.4. *Análise em Infravermelho*

Correram-se espectros de infravermelho na frequência de 4000 a 400 cm^{-1} , de todas as frações liofilizadas, obtidas do solo sob vegetação de mata por meio de mistura de amostras com KBr, que foram prensadas de modo a se obterem as pastilhas. Do solo sob vegetação de eucalipto e de pastagem, somente foram feitas pastilhas da nova fração húmica. Essa nova fração húmica foi submetida a uma oxidação com H_2O_2 30 volumes, na proporção de 10 ml de H_2O_2 /g de material orgânico, sendo também obtidas as pastilhas desse tratamento. Todas as pastilhas obtidas foram

analisadas em um aparelho de infravermelho Perkim-Elmer, modelo 599B.

3.5. *Análise Térmica Diferencial (ATD)*

Amostras de todas as frações liofilizadas, extraídas do solo sob mata, foram caracterizadas por análise térmica diferencial (ATD). Do solo sob vegetação de eucalipto e de pastagem, foram analisadas somente a nova fração húmica. Procedeu-se a uma oxidação dessa nova fração húmica e da fração de ácido húmico extraída do solo sob mata, da mesma maneira relatada anteriormente, sendo essas frações também analisadas em ATD. Os termogramas foram corridos em uma taxa constante de aquecimento de 20°C/min, numa faixa de temperatura de 0 a 650°C. O aparelho utilizado foi um ATD, marca Rigaku.

3.6. *Microscópio Eletrônico de Varredura*

Montaram-se, em suporte de microscópio eletrônico de varredura, amostras de todas as frações liofilizadas extraídas do solo sob mata. Do solo sob vegetação de eucalipto e de pastagem, foi montada somente a nova fração húmica liofilizada. Carbono coloidal foi utilizado para cobrir o topo do suporte, de modo a dar fluxo ao excesso de elétrons, e foi utilizado ouro coloidal como cobertura das amostras. As amostras foram fotografadas, utilizando-se filme vericrome pan 120 da Kodak. As fotografias foram

tiradas em um microscópio eletrônico de varredura, modelo JSMT 200, marca JEOL.

3.7. *Dispersão de Raios-X*

As amostras montadas em suporte para microscópio eletrônico de varredura, da nova fração húmica extraída do solo, sob as três coberturas vegetais, foram analisadas em sua composição química, por dispersão de raio-X (EDS). A análise foi expressa em percentagem de peso, sendo o material analisado pontualmente. Utilizou-se para a análise um sistema EDS, modelo JCXA 733, marca Jeol.

3.8. *Difração de Raios-X*

Foram obtidos difratogramas da nova fração húmica extraída do solo sob mata, pastagem e eucalipto. As amostras foram preparadas de forma orientada. Os difratogramas foram obtidos com um aparelho de raios-X, marca Rigaku, utilizando-se tubo de radiação Cu-K α ($\lambda = 1,5405\text{\AA}$), a 35 kV e 20 mA. A exposição das amostras aos raios-X se deu em ângulos 2θ de 4 a 40°.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. *Princípios Básicos da Metodologia Proposta*

No processo de extração das substâncias húmicas, a utilização de hidróxido de sódio foi baseada no fenômeno de troca catiônica, onde o íon sódio é trocado por íons bivalentes e trivalentes, que fazem pontes de ligação entre as substâncias húmicas e as partículas minerais do solo, enfraquecendo, desse modo, essas ligações. O aumento do pH, propiciado pelo hidróxido, permitiu o rompimento de pontes de hidrogênio existentes, fornecendo grupamentos alternativos para formação de pontes de hidrogênio entre o solvente e a substância húmica.

A solução de NaOH, por ser um solvente de baixa constante dielétrica, não permite que haja a dispersão de colóides carregados. O fato de moléculas de água se polarizarem ao redor do íon Na, impede que essas se polarizem com as moléculas de água da vizinhança, tornando,

assim, a solução de NaOH um extrator de baixa polaridade, e conseqüentemente de baixa capacidade de se polarizar na superfície da estrutura húmica.

A água pura, ainda no estado líquido, próxima a 0°C, é um líquido de alta constante dielétrica, alta polaridade e alta capacidade de formar pontes de hidrogênio com a superfície da estrutura húmica, além do fato de possuir pequeno diâmetro, que possibilita sua penetração na estrutura húmica, propiciando sua solvatação.

Com a combinação das propriedades da solução de NaOH, juntamente com as propriedades da água pura, próxima a 0°C, foi possível formular um sistema de solventes para substâncias húmicas e que melhor se aproximasse dos critérios propostos por WHITEHEAD e TINSLEY (1964). O NaOH teria uma função de dissociar e de expandir as estruturas húmicas, e a água teria a função de simplesmente promover a solvatação, o umedecimento polar e a dispersão dos colóides húmicos carregados, colocando-os em suspensão.

Por meio da combinação proposta, foi possível extrair uma nova estrutura húmica do solo. Essa estrutura deve obedecer à teoria da dupla camada difusa, para que sua extração possa ser explicada da maneira proposta. Certamente, essa seja uma estrutura estável, que se encontra em suspensão como um colóide hidrofílico.

O fato da centrífuga ter sido ajustada para operar a 0°C foi de vital importância para a extração dessa nova fração, pois quando se adicionava água destilada e a centrifugação era feita à temperatura ambiente, pouca ou nenhuma coloração da suspensão era observada. Após a última

agitação e extração com solução de NaOH terem sido realizadas, mediu-se o pH do extrato, e não se observou uma mudança significativa quando a água era adicionada, mesmo na 2ª e 3ª adição de água, indicando não ser a variação do pH fator preponderante na dispersão dessa fração.

4.2. *Caracterização das Frações Húmicas Extraídas*

Os resultados das micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura dão uma nítida distinção morfológica entre a nova fração húmica e os ácidos húmicos e fúlvicos. A micrografia dos ácidos húmicos (Figura 2 (a)) em um aumento de 100X, extraídos do solo sob mata, demonstrou a existência de agregados de diferentes formas e tamanhos, contendo poros, o que caracterizou uma estrutura esponjosa. Essas observações são consistentes com os relatos de DUDAS e PAWLUK (1970), nos quais micrografias de ácidos húmicos mostraram a ocorrência de agregados pequenos de vários tamanhos, com a aparência de esponja. Em um aumento de 1500X (Figura 2 (b)), mostrando um detalhe dos agregados, os autores demonstraram a existência de estratos e de fragmentos com bordas distorcidas sem uma nítida distinção entre as partes.

Os ácidos fúlvicos não apresentaram grandes diferenças dos ácidos húmicos. A sua observação em um aumento de 100X (Figura 3 (a)) demonstrou, da mesma forma, que os ácidos húmicos, a existência de um grande número de pequenos agregados, com grande número de poros, semelhantes a esponjas, sendo essas observações condizentes com as

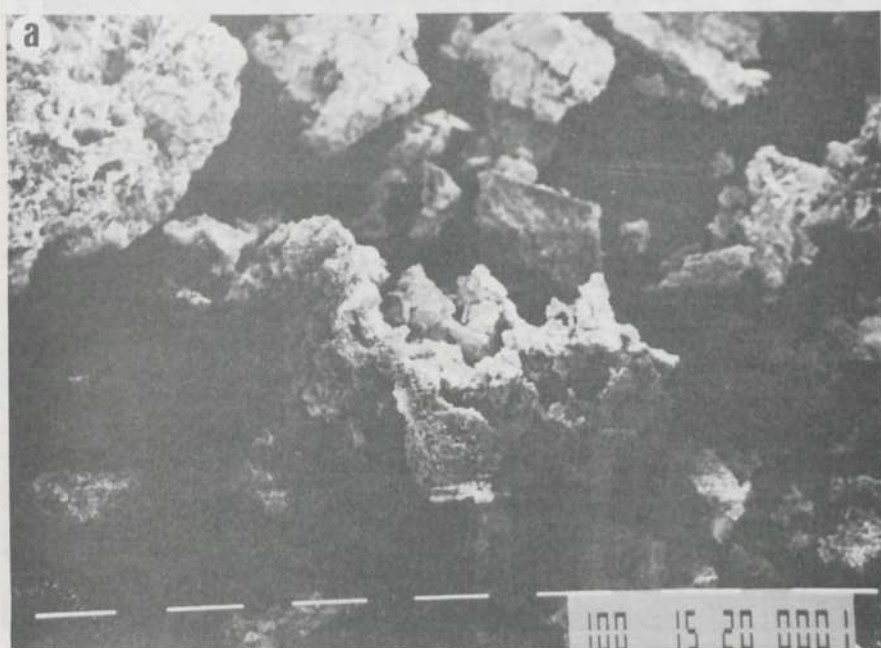


FIGURA 2 - Micrografia de Ácido Húmico, Extraído do Solo sob Mata; (a) Em Um Aumento de 100X, cada Barra Corresponde a 100 Micrômetros; (b) em um Aumento de 1500X, Cada Barra Corresponde a 10 Micrômetros.

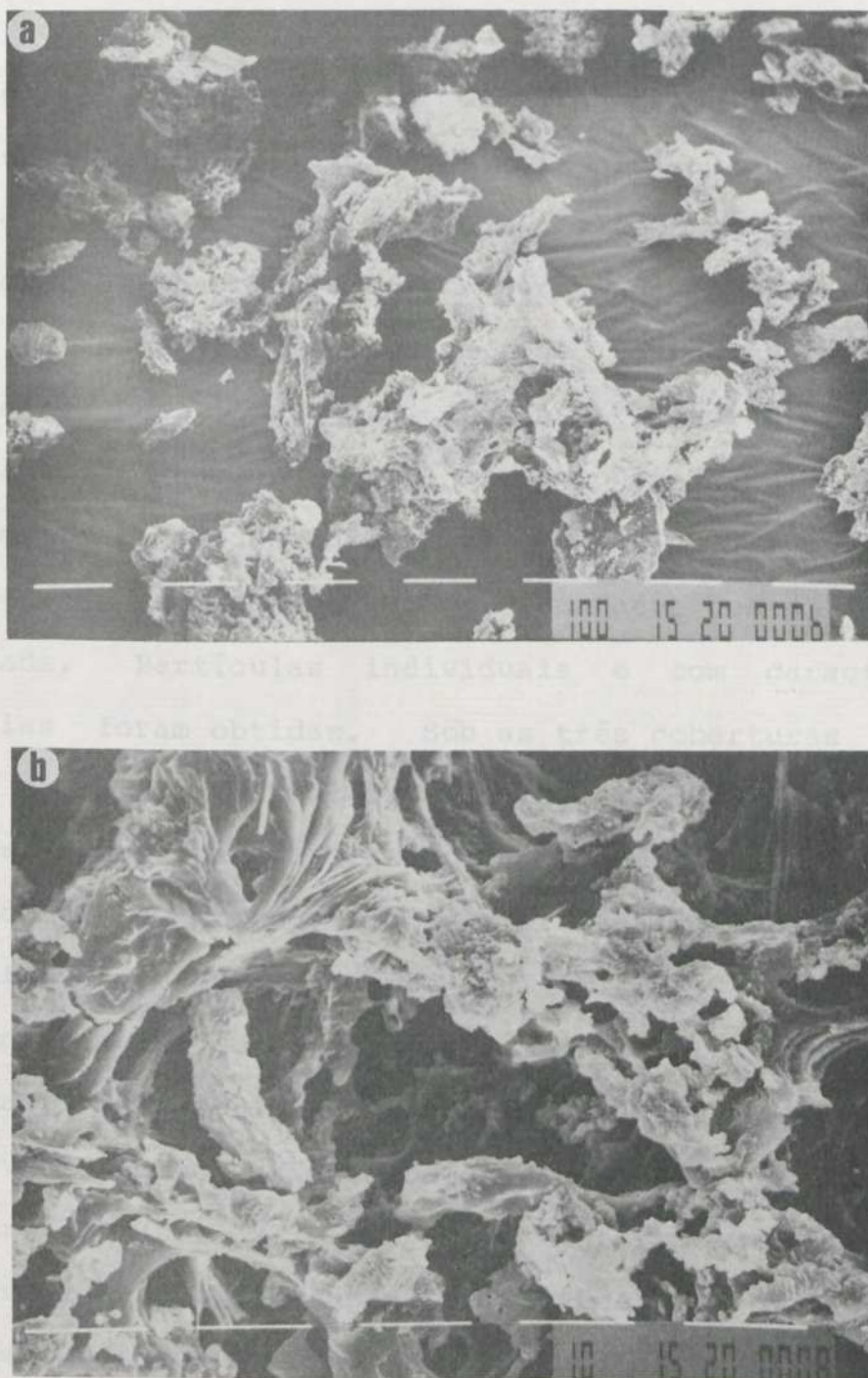


FIGURA 3 - Micrografia de Ácido Fúlvico, Extraído do Solo sob Mata; (a) Em Um Aumento de 100X, cada Barra Corresponde a 100 Micrômetros; (b) em um Aumento de 1500X, cada Barra Corresponde a 10 Micrômetros.

encontradas por SCHNITZER e KODAMA (1975). Da mesma forma que os ácidos húmicos, os ácidos fúlvicos, quando observados a um aumento de 1500X (Figura 3 (b)), demonstraram a existência de estratos e de fragmentos, sendo que a estrutura esponjosa foi bem mais nítida que nos ácidos húmicos. Tanto nos ácidos húmicos como nos fúlvicos, não foi possível observar uma estrutura individual.

A nova fração húmica foge à qualquer referência existente na literatura, quanto à caracterização de substâncias húmicas por microscopia eletrônica. As micrografias obtidas permitiram uma nítida visualização das estruturas, indicando que a separação dessa fração foi adequada. Partículas individuais e com características próprias foram obtidas. Sob as três coberturas vegetais, foram observadas estruturas laminares e tubulares, que são formas citadas na literatura como sendo características de colóides. A micrografia da fração isolada do solo sob eucalipto, em um aumento de 350X (Figura 4), apresentou um grande número de estruturas laminares e tubulares, tendo algumas um comprimento superior a 100 micrômetros. A observação em pontos detalhados, em aumento de 1500X e 2000X (Figura 5 (a, b), respectivamente), permitiu melhor caracterização, mostrando a existência de bifurcações nas extremidades das estruturas tubulares, bem como certa ramificação.

A micrografia dessa fração no solo sob pastagem, em um aumento de 150X (Figura 6 (a)), da mesma maneira que a sob vegetação de eucalipto, apresentou formas laminares e tubulares, mas a última em menor quantidade. Estruturas com

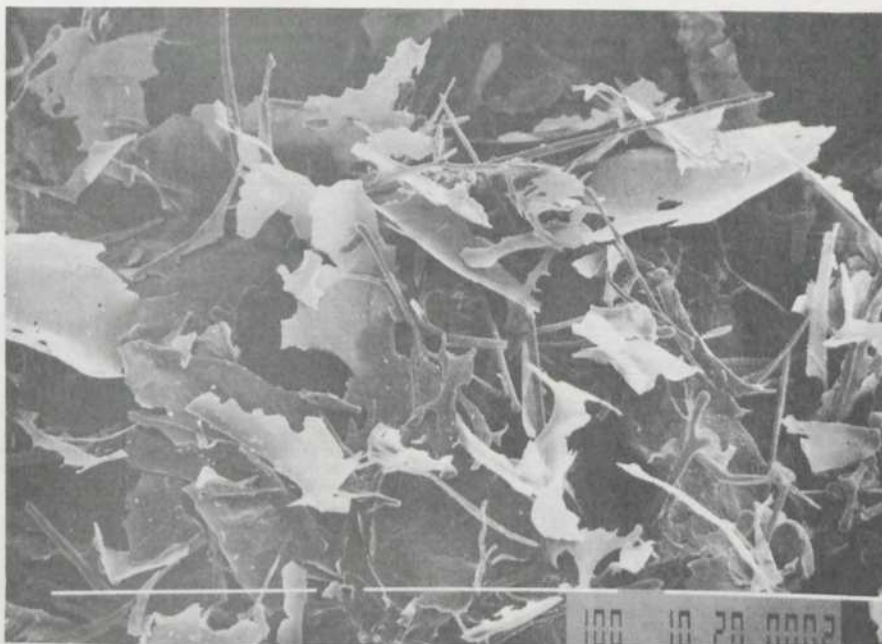


FIGURA 4 - Micrografia da Nova Fração Húmica Extraída do Solo sob Vegetação de Eucalipto, em Aumento de 350X, Cada Barra Corresponde a 100 Micrômetros.

dimensões superiores a 100 micrômetros também foram observadas. Um detalhamento, em aumento de 750X (Figura 6 (b)), mostrou a sobreposição de uma estrutura tubular sobre uma laminar, ambas com comprimentos superiores a 150 micrômetros.

Das três coberturas, a fração extraída do solo sob mata foi a que apresentou a menor proporção de estruturas tubulares. Uma micrografia, em um aumento de 350X (Figura 7 (a)), demonstrou a existência de lâminas contendo vários micrômetros de comprimento. Em um detalhamento 1500X (Figura 7 (b)), foi possível observar uma estrutura nitidamente tubular, com diâmetro aproximado de 7,5 micrômetros e comprimento próximo a 60 micrômetros.



FIGURA 5 - Micrografia da Nova Fração Húmica Extraída do Solo, sob Vegetação de Eucalipto; (a) Em Um Aumento de 1500X, Cada Barra Corresponde a 10 Micrômetros; (b) Em Um aumento de 2000X, Cada Barra Corresponde a 10 Micrômetros.

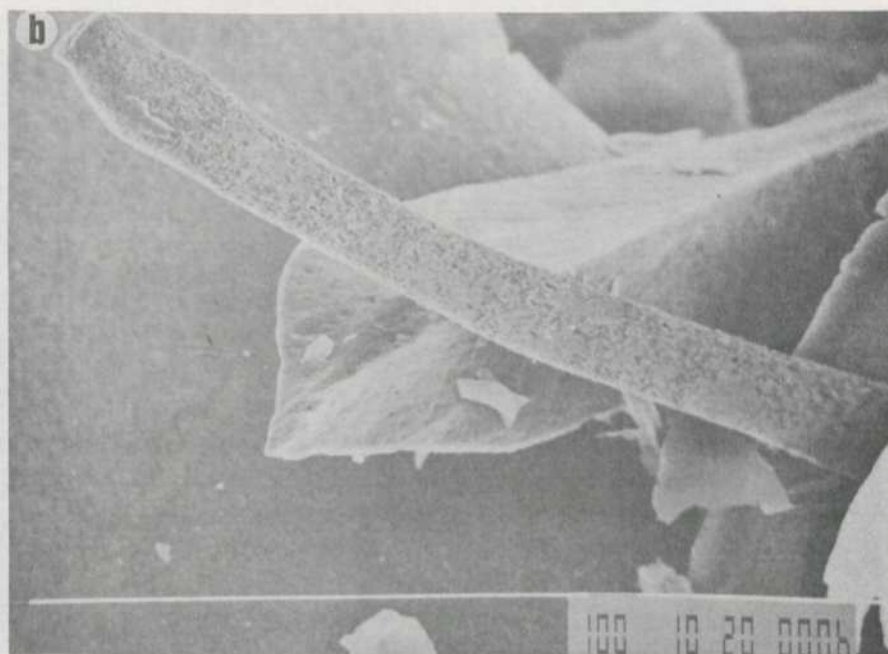
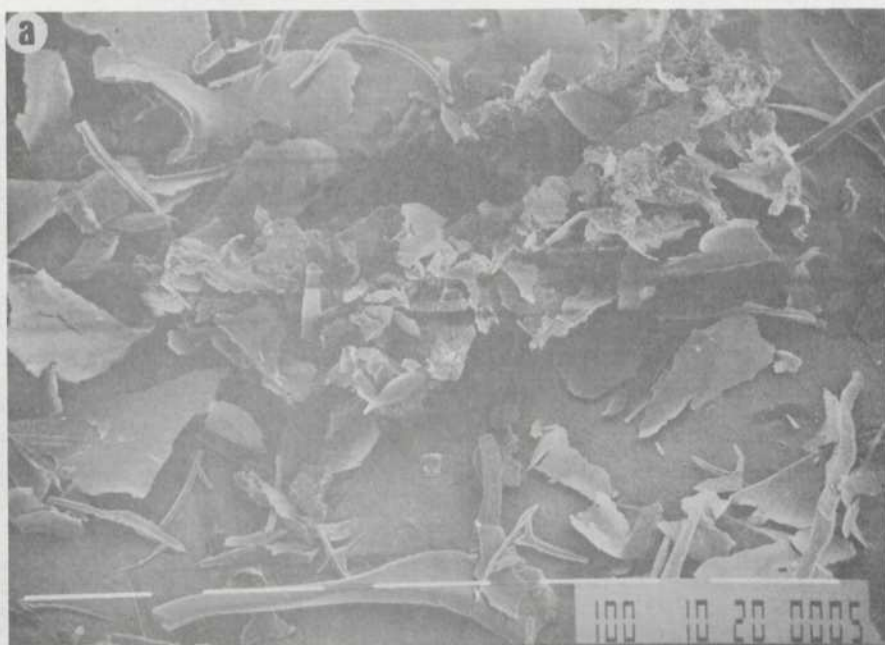


FIGURA 6 - Micrografia da Nova Fração Húmica Extraída do Solo, sob Vegetação de Pastagem; (a) Em Um Aumento de 150X, Cada Barra Corresponde a 100 Micrômetros; (b) Em Um Aumento de 750X, Cada Barra Corresponde a 100 Micrômetros.

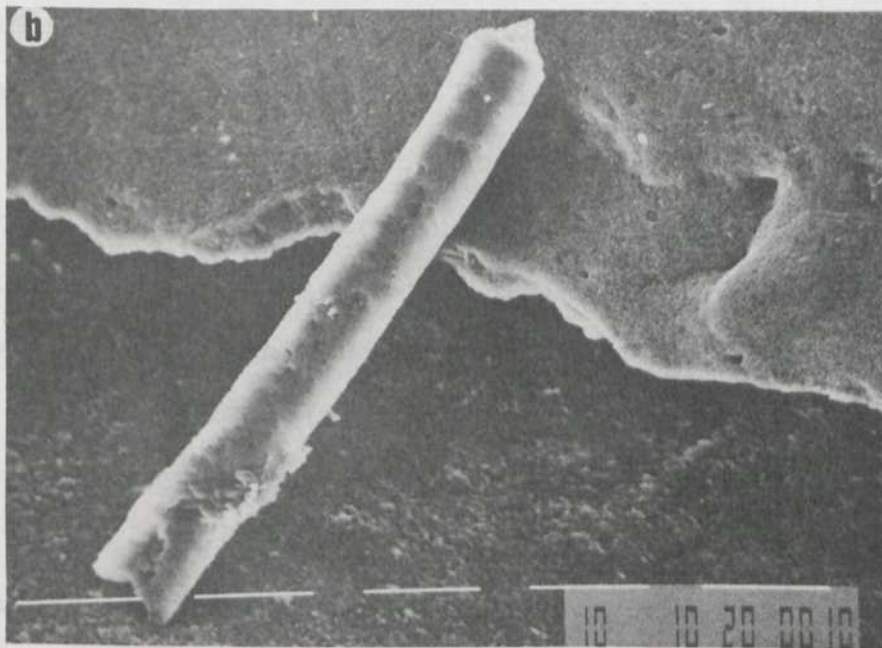
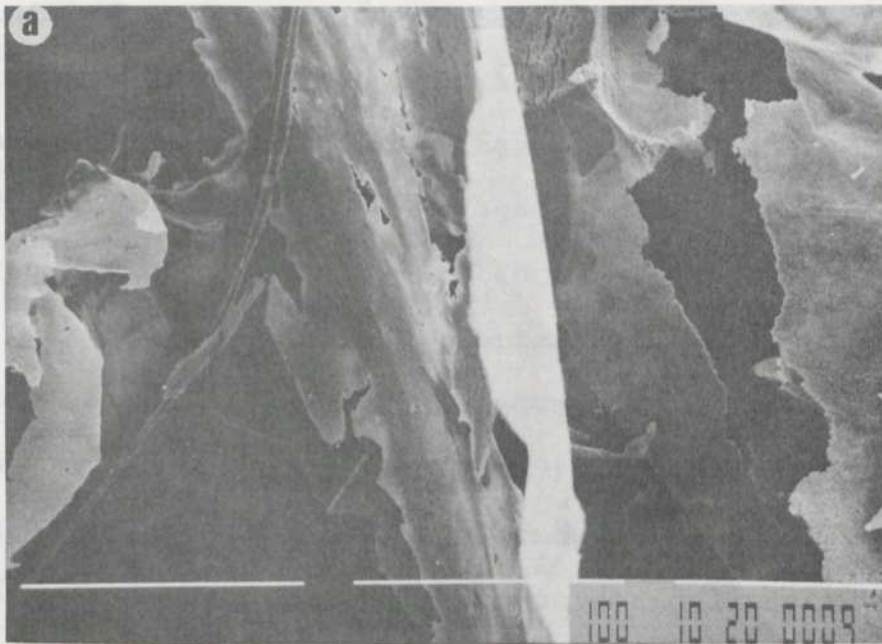


FIGURA 7 - Micrografia da Nova Fração Húmica Extraída do Solo, Sob Vegetação de Mata; (a) Em Um Aumento de 350X, Cada Barra Corresponde a 100 Micrômetros; (b) Em Um Aumento de 1500X, Cada Barra Corresponde a 10 Micrômetros.

Os ácidos húmicos e fúlvicos têm sido relatados como partículas esféricas, com dimensões para os ácidos húmicos variando de 60 a 100 Å (VISSER, 1963) e para os ácidos fúlvicos variando de 20 a 30 Å (SCHNITZER e KODAMA, 1975). Ambas as dimensões são milhares de vezes inferiores às observadas para a nova fração húmica. Essa fração é suficientemente extensa para formar ligações entre duas ou mais partículas do solo. Certamente ela possibilita uma grande estabilização de agregados, dando um suporte muito grande à teoria de EMERSON (1959), na qual foi definida a formação de agregados no solo como sendo unidades de argila, de silte e de quartzo, cimentados por polímeros orgânicos e estabilizados por forças eletrostáticas.

Foi observada, em um aumento de 5000X (Figura 8), uma estrutura cristalina, formada por dezenas de hastes, incrustada nas estruturas húmicas extraídas do solo sob mata. Esses cristais fibrosos apresentaram-se distribuídos em várias unidades, sobre essas estruturas. Para que uma cristalização orgânica possa ocorrer com tamanha perfeição no solo, o ambiente de formação dessa fração deve possuir uma estabilidade muito grande. Uma estrutura cristalina, com essas dimensões e forma, somente foi observada no solo sob mata. Na nova fração húmica extraída do solo sob eucalipto, observou-se também a presença de cristais, mas com dimensões menores e formas menos definidas que o cristal fibroso observado no solo sob mata.

O ATD realizado para o ácido húmico (Figura 9) exibiu uma reação exotérmica muito forte, a 408°C, semelhante ao observado por TAN (1978), em seus estudos com ácidos

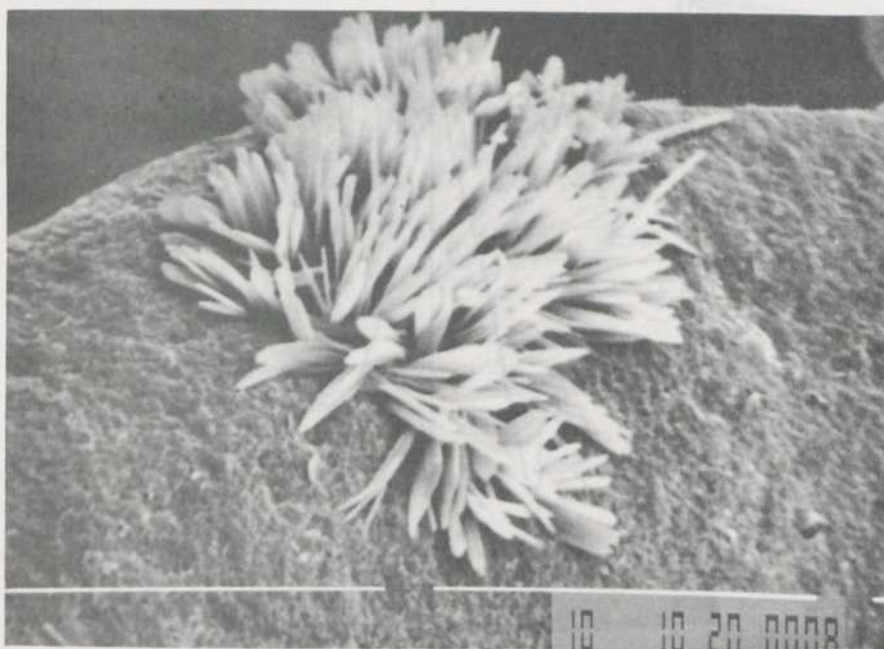


FIGURA 8 - Micrografia da Nova Fração Húmica Extraída do Solo Sob Vegetação de Mata, Em Um Aumento de 5000X, Cada Barra Corresponde a 10 Micrômetros.

húmicos. A presença de pequenos picos endotérmicos, a 100 e a 524°C, indicou perda de água de hidratação e a presença de caulinita, respectivamente. Provavelmente, a caulinita aparece como impureza da extração alcalina. O ácido fúlvico (Figura 9) apresentou picos endotérmicos, a 98, 180 e 280°C, e dois picos exotérmicos, um a 370°C e outro, mais intenso, a 460°C. SCHNITZER e KODAMA (1972) relataram a presença dos picos de 98, 370 e 460°C, em ácido fúlvico, como sendo provenientes da desidratação, da descarboxilação e da decomposição dos núcleos do ácido fúlvico, respectivamente. Os dois picos endotérmicos observados, a 180 e 280°C, provavelmente são devidos ao acúmulo de sais, que ocorrem nessa fração durante o processo de extração.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
BIBLIOTECA CENTRAL

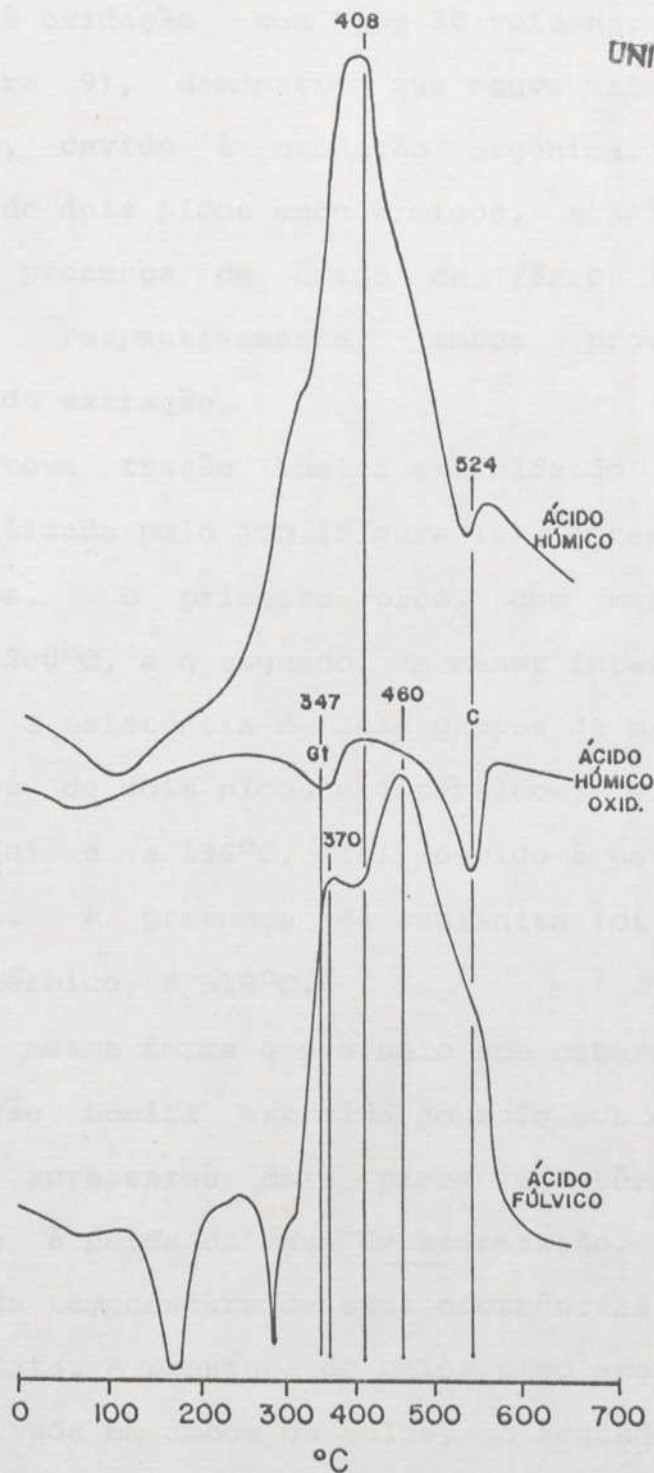


FIGURA 9 - Termogramas Realizados em ATD, para Ácido Húmico, Ácido Húmico Submetido à Oxidação com H_2O_2 30 Volumes e Ácido Fúlvico, Extraídos do Solo sob Mata. C - Caulinita, Gt - Goethita.

O ácido húmico extraído do solo sob mata, ao ser submetido à oxidação com H_2O_2 30 volumes, e analisado pelo ATD (Figura 9), demonstrou que houve eliminação do pico exotérmico, devido à oxidação orgânica. Observou-se a presença de dois picos endotérmicos, a 347 e a 524°C, em razão da presença de óxido de ferro (goethita) e de caulinita, respectivamente, ambos provavelmente como impurezas da extração.

A nova fração húmica extraída do solo sob mata, quando analisada pelo ATD (Figura 10), apresentou dois picos exotérmicos. O primeiro pico, com maior intensidade, ocorreu a 300°C, e o segundo, de menor intensidade, a 346°C, indicando a existência de dois grupos de matéria orgânica. A presença de dois picos endotérmicos, a 106°C (de maior intensidade) e a 138°C, foi devido à perda de água de hidratação. A presença de caulinita foi confirmada pelo pico endotérmico, a 510°C.

Da mesma forma que o solo sob cobertura de mata, a nova fração húmica extraída do solo sob eucalipto e sob pastagem apresentou dois picos endotérmicos iniciais, atribuídos à perda de água de hidratação, sendo que houve variação da temperatura de suas ocorrências, em relação ao solo sob mata. A presença do maior pico exotérmico, a 300°C, foi observada em ambos os solos, o segundo pico, a 346°C, também foi observado, mas como uma inflexão da curva e não como um pico nítido. A presença de caulinita também foi confirmada, nos dois solos, pelo pico endotérmico, a 508°C.

A nova fração húmica extraída do solo, sob cobertura de mata, quando submetida à oxidação com H_2O_2 30 volumes,

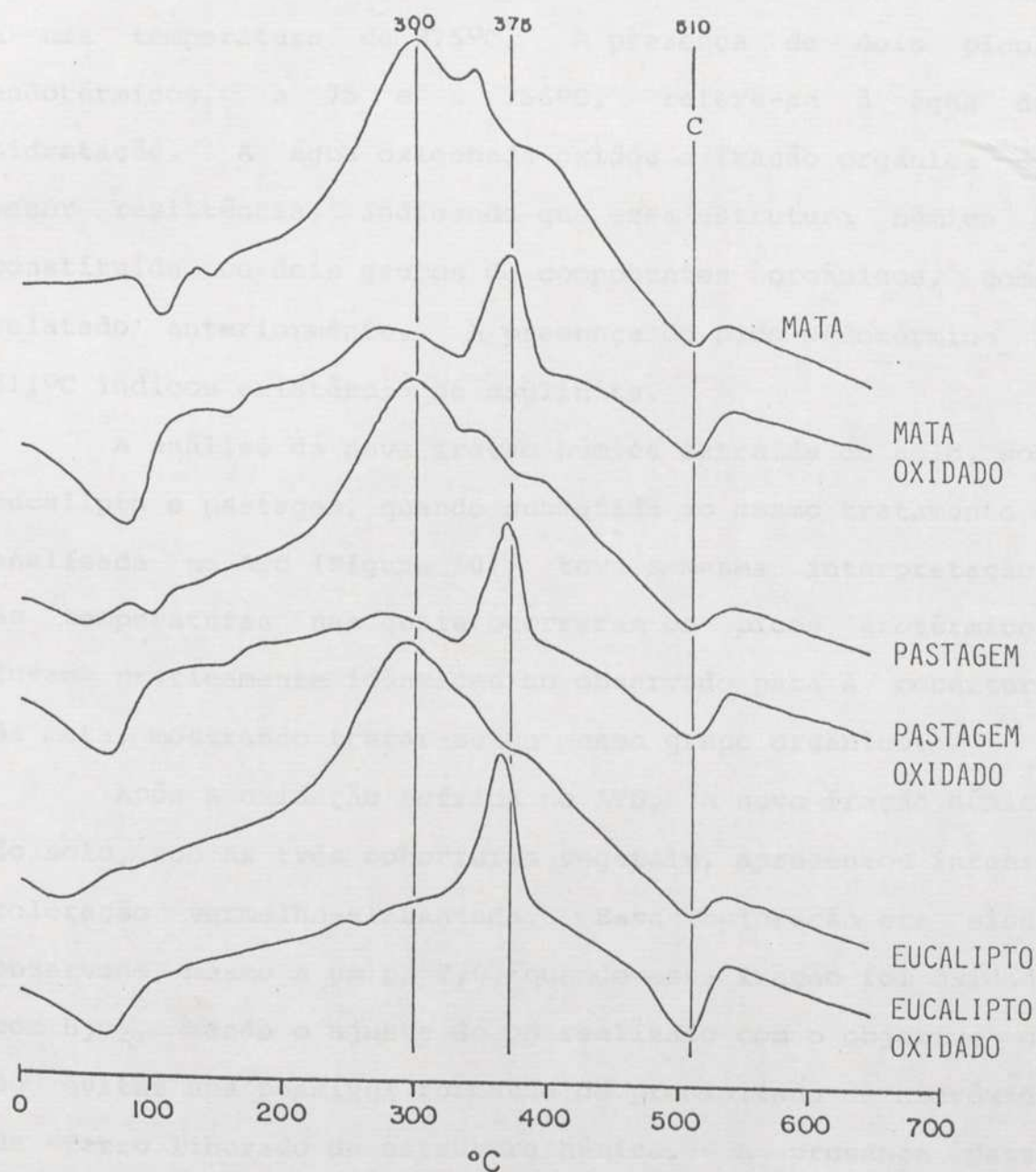


FIGURA 10 - Termogramas Realizados em ATD, para a Nova Fração Húmica Extraída do Solo, sob Vegetação de Mata, de Pastagem e de Eucalipto, Com e Sem Tratamento com H_2O_2 30 Volumes. C - Caulinite.

mostrou, pelo ATD (Figura 10), a existência de um pico exotérmico muito definido, caracterizando substâncias afins, a uma temperatura de 375°C. A presença de dois picos endotérmicos, a 75 e a 156°C, refere-se à água de hidratação. A água oxigenada oxidou a fração orgânica de menor resistência, indicando que essa estrutura húmica é constituída de dois grupos de componentes orgânicos, como relatado anteriormente. A presença do pico endotérmico a 511°C indicou existência de caulinita.

A análise da nova fração húmica extraída do solo, sob eucalipto e pastagem, quando submetida ao mesmo tratamento e analisada no ATD (Figura 10), teve a mesma interpretação. As temperaturas nas quais ocorreram os picos exotérmicos foram praticamente idênticas ao observado para a cobertura de mata, mostrando tratar-se do mesmo grupo orgânico.

Após a oxidação sofrida no ATD, a nova fração húmica do solo, sob as três coberturas vegetais, apresentou intensa coloração vermelho-alaranjada. Essa coloração era ainda observada, mesmo a um pH 2,0, quando essa fração foi oxidada com H₂O₂, sendo o ajuste do pH realizado com o objetivo de se evitar uma possível formação de precipitado de hidróxido de ferro liberado da estrutura húmica. A presença desse elemento nessas estruturas húmicas foi confirmada pela análise espectrográfica (Quadro 2), mas a intensa coloração vermelho-alaranjada, menos comum em óxido de ferro bem cristalizado, e o fato de ter apresentado a coloração mesmo após a oxidação a pH 2,0 indicaram que essa coloração não deve ser dada só pela presença de ferro. Extrações sucessivas com ditionito não foram capazes de eliminar a

QUADRO 2 - Análise Química Total, Realizada por Espectrografia Ótica de Emissão, para a Nova Fração Húmica Extraída do Solo, sob Vegetação de Mata, de Pastagem e de Eucalipto

Identificação	Fe	Mg	Ca	Ti	Mn	B	Ba	Cr	Cu	Nb	Ni	Pb	Sc	V	Zr
	%				ppm										
Mata	7	0,03	L	0,5	100	L	L	50	20	L	20	10	20	70	10
Past.	20	0,05	L	0,5	20	10	L	70	50	L	20	10	20	500	20
Euc.	7	0,02	L	0,5	20	L	L	30	15	L	20	L	20	70	15

L - presente, mas abaixo do limite de detecção.

coloração, levando a inferir a presença de um grupo cromóforo muito forte nessa fração.

O infravermelho realizado com a nova fração húmica extraída do solo (Figura 11) sob mata indicou a existência de um complexo entre a caulinita e uma hidroxiquinona. Uma nítida presença da caulinita foi confirmada pelos picos de absorção máximos a 3670, 3600, 1100, 1030, 1010, 915, 790, 700, 550 e 480 cm^{-1} . A presença de uma banda de absorção ampla a 3400 cm^{-1} foi atribuída à presença de grupamentos O-H. Normalmente, em seu estado não dissociado, esse grupamento absorve a 3600 cm^{-1} , mas quando sua associação ocorre por meio de pontes de hidrogênio, sua absorção é deslocada para a região de 3400 cm^{-1} . Esse abaixamento do número de onda possivelmente está ligado à absorção observada na região de 1610 cm^{-1} . THENG e POSNER (1967) atribuíram a absorção nessa região como sendo devido a

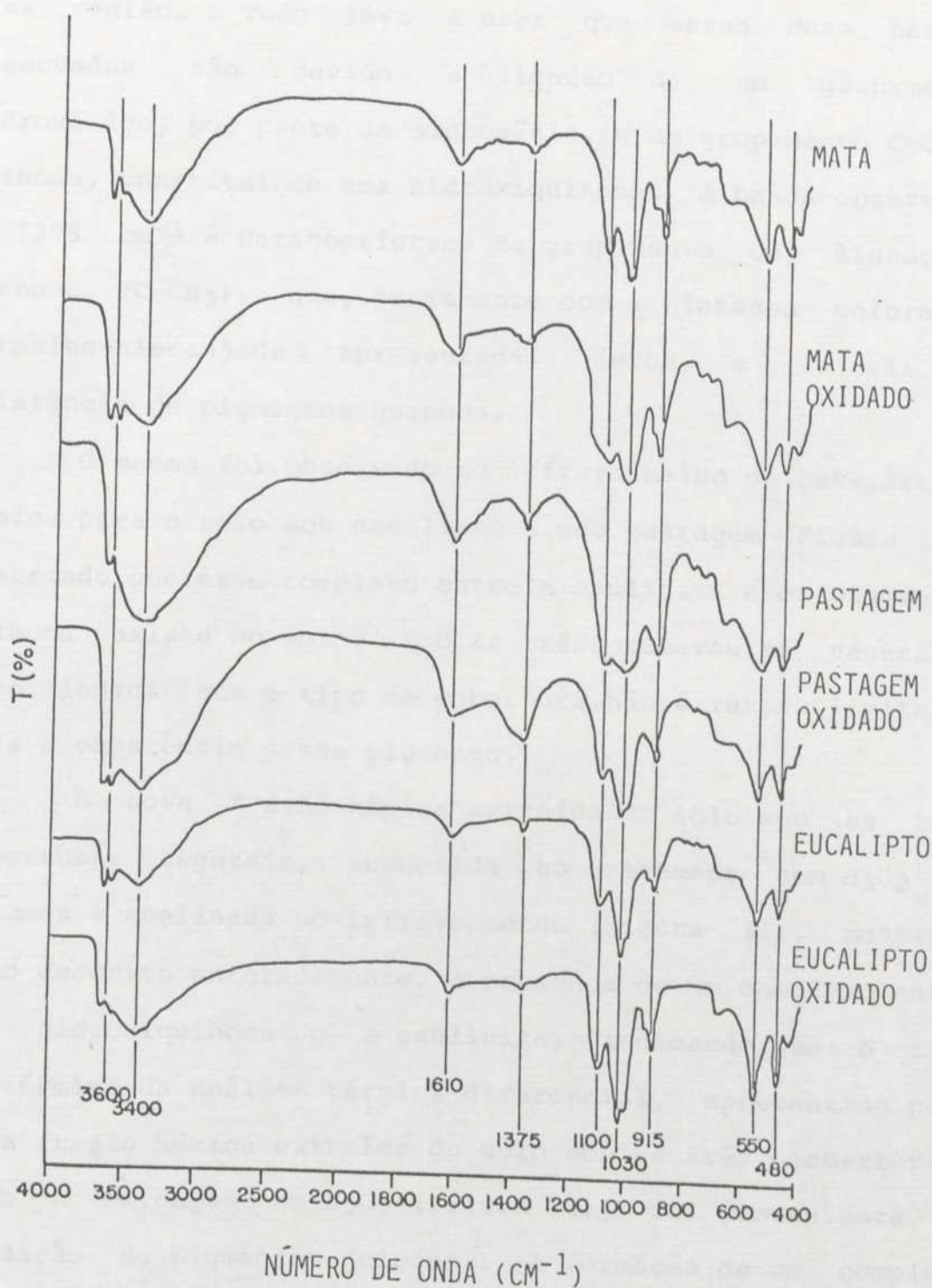


FIGURA 11 - Espectros de Absorção de Infravermelho, para Nova Fração Húmica Extraída do Solo, sob Vegetação de Mata, de Pastagem e de Eucalipto, Com e Sem Tratamento com H_2O_2 30 Volumes.

grupamentos C=O de quinona, quando ligados por pontes de hidrogênio, que fazem com que sua absorção se desloque para essa região. Tudo leva a crer que essas duas bandas observadas são devido à ligação de um grupamento hidroxílico, por ponte de hidrogênio, a um grupamento C=O de quinona, constituindo uma hidroxiquinona. A banda observada a 1375 cm^{-1} é característica de grupamento CH_3 ligado a carbono ($\text{C}-\text{CH}_3$), que, juntamente com a intensa coloração vermelho-alaranjada apresentada, levou a inferir a existência de pigmentos quinona.

O mesmo foi observado no infravermelho da nova fração húmica para o solo sob eucalipto e sob pastagem (Figura 11), mostrando que esse complexo entre a caulinita e os pigmentos quinona existe no solo, sob as três coberturas vegetais. Isso indica que o tipo de cobertura não é fator limitante para a existência desse pigmento.

A nova fração húmica extraída do solo sob as três coberturas vegetais, submetida ao tratamento com H_2O_2 30 volumes e analisada no infravermelho (Figura 11), mostrou, como descrito anteriormente, a presença de um complexo entre uma hidroxiquinona e a caulinita, indicando que o tipo exotérmico da análise térmica diferencial, apresentado pela nova fração húmica extraída do solo sob as três coberturas, após a oxidação com H_2O_2 (Figura 10), foi proveniente da oxidação de pigmentos quinona. A formação de um complexo muito estável com a caulinita certamente dá uma resistência muito grande a esse componente, além do fato dos pigmentos quinona serem relatados na literatura como compostos cristalizados com alto grau de humificação.

Os espectros de infravermelho dos ácidos húmico e fúlvico (Figura 12), extraídos do solo sob mata, não mostraram boa definição, não sendo possível uma identificação de algum grupamento funcional. Essas observações são condizentes com as relatadas por FONSECA (1984), que não observou boa definição dos espectros de infravermelho realizados com ácidos húmico, em seu trabalho.

As observações relatadas por MATSUI e KUMADA (1974), da existência de um núcleo orgânico extramente resistente em solos, podem ser confirmadas pela presença de pigmentos nas estruturas húmicas, formando complexos. As quantidades de pigmentos extraídos de solo relatados na literatura são bem pequenas. Esse fato possivelmente se explique pela formação de complexos no solo, como foi observado, o que proporciona uma resistência muito grande a esse material, sendo, então, possível extrair somente pequenas quantidades.

O cristal fibroso, observado na fração do solo sob mata (Figura 8), foi analisado pontualmente por dispersão de raios-X (Quadro 3), demonstrando a presença de Al, Si, Fe, Cu e Zn em sua estrutura. A proporção guardada entre o Al e Si demonstrou que boa parte desses dois elementos pode estar associada com a presença da caulinita, o que indicou ser essa estrutura um complexo da parte mineral com um componente orgânico bem cristalizado.

As novas estruturas húmicas extraídas do solo, sob eucalipto e pastagem, ao serem analisadas pontualmente por dispersão de raios-X (Quadro 3), demonstraram a presença de Al, Si, Fe, Cu e Zn. As proporções observadas entre Al e Si demonstraram que além da presença da caulinita, como

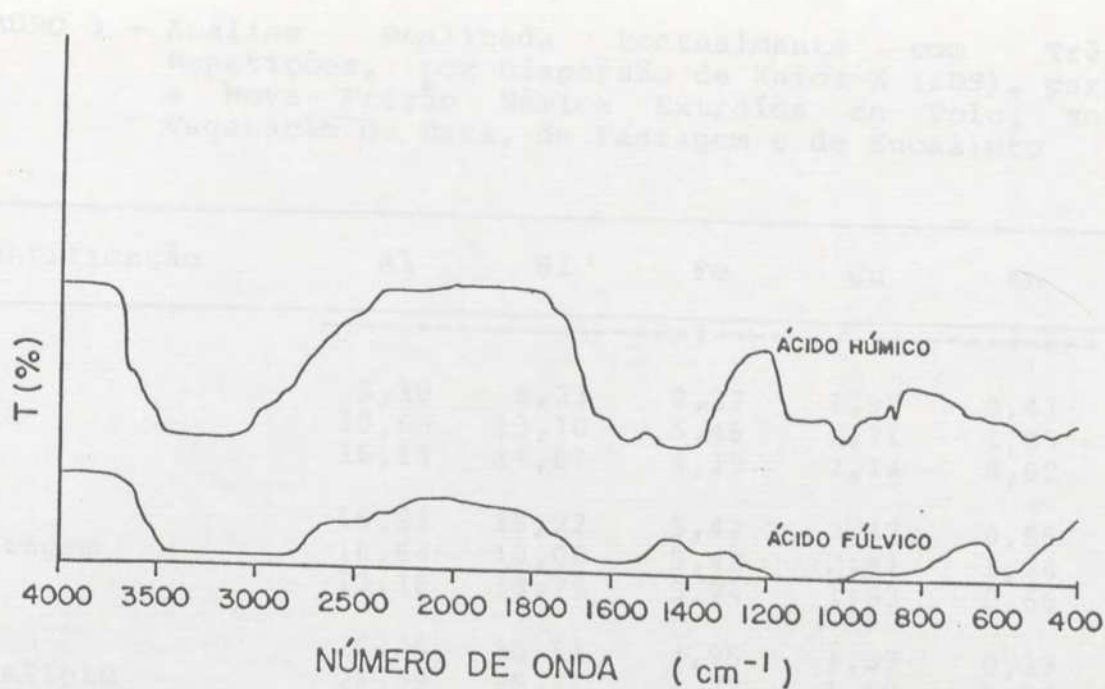


FIGURA 12 - Espectros de Absorção de Infravermelho, para Ácidos Húmicos e Ácidos Fúlvicos, Extraídos do Solo sob Vegetação de Mata.

relatado anteriormente, há também a existência, nessas estruturas, de outras formas de sílica que não as presentes na estrutura da caulinita. Essas observações indicam que essa nova fração é formada por um complexo argilo-húmico.

Com base nos difratogramas (Figura 13) realizados para a nova fração húmica, extraída do solo sob as três coberturas vegetais, calculou-se a dimensão média dos cristais de caulinita na direção [001], presentes nas estruturas húmicas, segundo equação proposta por KLUG e ALEXANDER (1954). Um valor médio observado de 14,17 nm, para esses cristais, é pequeno quando comparado com o valor médio de 30,27, encontrado para a caulinita desse mesmo solo. Isso foi condizente com as baixas temperaturas dos

QUADRO 3 - Análise Realizada Pontualmente com Três Repetições, por Dispersão de Raios-X (EDS), para a Nova Fração Húmica Extraída do Solo, sob Vegetação de Mata, de Pastagem e de Eucalipto

Identificação	Al	Si	Fe	Cu	Zn
	-----%				
Mata	5,10	6,23	2,37	1,98	0,47
	10,60	13,10	5,45	2,71	1,85
	15,15	19,87	4,19	2,14	0,62
Pastagem	15,93	18,22	5,42	2,42	0,55
	16,64	18,06	5,42	2,81	1,26
	13,18	18,79	5,74	1,63	0,66
Eucalipto	26,35	30,51	3,95	1,37	0,29
	23,59	29,71	4,72	1,58	0,26
	17,11	20,60	6,69	2,64	1,35

picos endotérmicos observados pelo ATD, para a caulinita, nessa fração (Figura 10), indicando que essa estrutura, presente nessa nova fração, é de baixa cristalinidade. A maior temperatura apresentada pelo pico endotérmico, a 524°C no ATD, dos ácidos húmicos (Figura 9) demonstrou que a caulinita presente é de maior cristalinidade, sendo, então, menos provável que haja grande interação com os ácidos húmicos. O pequeno tamanho e, conseqüentemente, a maior densidade de carga certamente ajudam a explicar a grande interação apresentada pela caulinita com a nova fração húmica.

Uma análise total dessa fração, realizada por espectrografia (Quadro 2), mostrou a presença de até 20% em peso de ferro nessas estruturas, como observado para a fração do solo sob pastagem. Os espaçamentos interplanares

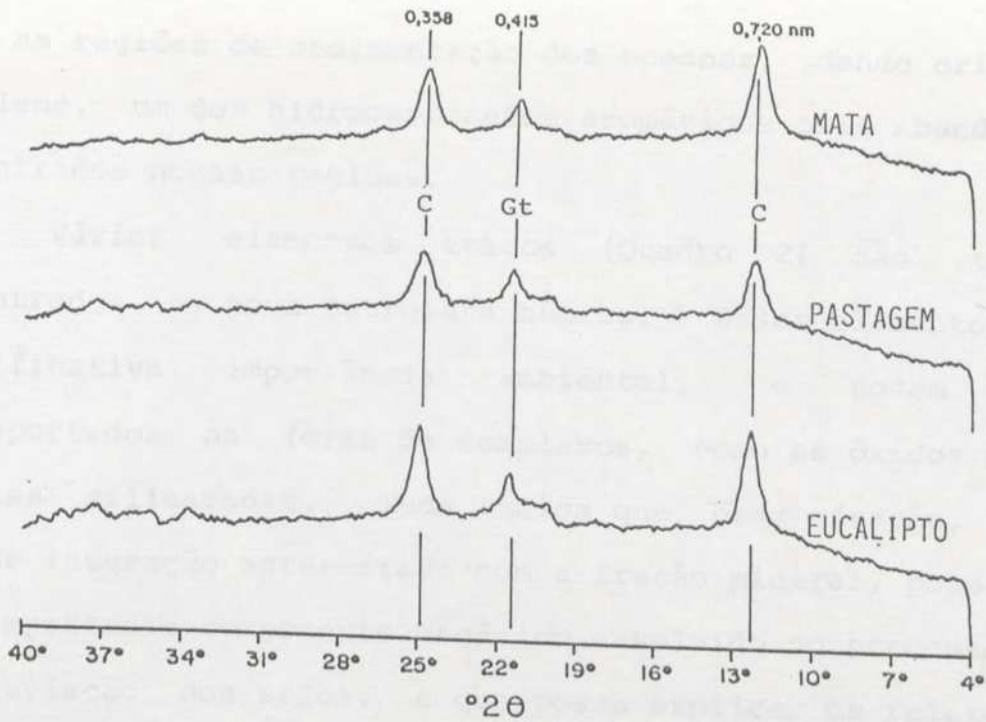


FIGURA 13 - Difratoogramas de Raios-X, para a Nova Fração Húmica Extraída do Solo, sob Vegetação de Mata, de Pastagem e de Eucalipto. C - Caulinita; Gt - Goethita.

observados pela difração de raios-X, a 0,417, 0,415 e 0,415 nm (Figura 13), para as frações extraídas do solo sob mata, pastagem e eucalipto, respectivamente, indicaram que parte do ferro é devido à presença da goethita. Proporcionalmente, em relação a caulinita, a goethita mostrou-se mais presente na nova fração húmica extraída do solo sob pastagem (Figura 13).

Essas estruturas húmicas de caráter coloidal, contendo em suas estruturas a fração mineral e pigmentos quinona, dão um suporte muito grande às observações de AIZENSHTAT (1973), nas quais os pigmentos quinona de origem terrestre são transportados juntamente com detritos minerais

para as regiões de sedimentação dos oceanos, dando origem a perilene, um dos hidrocarbonetos aromáticos mais abundantes encontrados nessas regiões.

Vários elementos traços (Quadro 2) são também encontrados na nova estrutura húmica. Esses elementos têm significativa importância ambiental, e podem ser transportados na forma de complexos, como os óxidos e as argilas silicatadas. Tudo indica que essa fração, pela grande interação apresentada com a fração mineral, possa ser um importante componente orgânico envolvido no processo de argiluviação dos solos, e que possa explicar os relatos de RASHID (1971), sobre a existência de elementos traços em solos, em turfas, em depósitos de sedimentos costeiros e em outros materiais naturais, em concentrações apreciavelmente maiores que em seus conteúdos médios na crosta terrestre.

4.3. Proposição de Mecanismos de Remoção, Migração e Sedimentação para a Nova Fração Húmica

De maneira semelhante ao processo de extração, mas não de uma forma tão drástica quando se usa NaOH, é possível propor um mecanismo natural de remoção dessa fração dos solos. A água da chuva, em condições normais, é praticamente comparável à água destilada, lavando um perfil de solo. Inicialmente, a água da chuva teria função de baixar a força iônica da solução do solo. Pela constante diluição propiciada, a força iônica seria abaixada a tal ponto, que os íons que ainda estivessem em solução teriam pouca influência nas propriedades da água. Nesse momento, a

água passaria a atuar como um dispersante e solvatador, permitindo que algumas estruturas húmicas, como as observadas nas Figuras 4 a 7 (b), que anteriormente se apresentavam neutralizadas na forma de um colóide hidrofóbico, possam atingir a solução do solo na forma de um colóide hidrofílico.

Durante uma chuva, observa-se um abaixamento da temperatura, o que, juntamente com a diluição da solução do solo, certamente exerce influência nas propriedades da água. Em condições tropicais, apesar do abaixamento da temperatura não ser tão marcante quando comparado a regiões de clima temperado, o volume torrencial de água que lava o perfil do solo seria um fator a compensar a menor variação da temperatura. As águas de degelo em regiões temperadas teriam importância muito grande na remoção dessas estruturas, pois seria um volume grande de água, próximo a 0°C, a lavar o perfil do solo.

Algumas dessas estruturas, ao atingirem a água de percolação, podem ser lixiviadas do perfil do solo para cursos de água, que se caracterizam por serem zonas de baixa força iônica e, conseqüentemente, de alta constante dielétrica, permitindo que essas substâncias mantenham o seu caráter de dispersão.

Esses colóides hidrofílicos em suspensão podem ser transportados em cursos d'água, por longas distâncias, desde que não ocorram mudanças bruscas na força iônica da solução. A interação apresentada com a fração mineral certamente lhe dá resistência para suportar as variações do potencial de oxirredução do ambiente. Ao atingirem a confluência dos

rios com os oceanos (estuários), ocorre uma brusca mudança da força iônica, em função do aumento das concentrações de sais. Nesse sentido, TIPPING e COOKE (1982) observaram, em seus estudos, que altas concentrações de cátions alcalinos terrosos tendem a saturar as substâncias húmicas em suspensão, provocando sua instabilidade e sua conseqüente floculação.

Essa fração, por apresentar grande dimensão, deve ficar mais sujeita às alterações da força iônica da solução dos estuários, como foi relatado por MANTOURA e WOODWARD (1983). A afinidade da superfície de carga por íons divalentes proporcionaria uma neutralização de cargas, mudando essas estruturas de uma conformação hidrofílica (expandida) para uma conformação hidrofóbica (contraída), propiciando sua sedimentação. Ao atingirem as camadas de sedimentação dos oceanos, que se caracterizam por ser ambientes de redução, os pigmentos quinona existentes nas estruturas húmicas seriam convertidos para perilene, seguindo o mecanismo proposto por BLUMER (1965), por ORR e GRADY (1967) e por AIZENSHTAT (1973). Juntamente com o aumento da concentração de perilene, essas camadas de sedimentação seriam enriquecidas com óxidos de ferro, argilas silicatadas e diversos elementos traços, além dos componentes orgânicos constituintes da estrutura húmica.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Os objetivos deste trabalho foram: testar a hipótese de que utilizando-se uma metodologia diferente da classicamente usada, extrai-se uma nova fração húmica da matéria orgânica do solo; caracterizar a nova fração húmica extraída; sugerir um possível mecanismo de remoção, de migração e de sedimentação para essa nova fração.

O material de solo estudado foi o Latossolo Vermelho-Amarelo álico, textura argilosa a muito argilosa. O solo foi coletado numa profundidade de 0 - 10 cm, sob as três coberturas vegetais (mata, pastagem e eucalipto), encontradas no terço superior das encostas no município de Viçosa, MG.

Foram extraídos ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e a nova fração, sendo essas frações caracterizadas por: espectrografia ótica de emissão, espectros de infravermelho, análise térmica diferencial, microscopia eletrônica de varredura, dispersão de raios-X (EDS) e difração de raios-X.

Baseado na metodologia proposta e na caracterização realizada, foi possível concluir que:

- De fato existe uma outra fração diferente das classicamente estabelecidas na literatura, como ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina.

- As características morfológicas da nova fração foram bem distintas das apresentadas pelos ácidos húmicos e fúlvicos.

- Foi observado, nessa nova estrutura húmica, a presença de um núcleo muito resistente, formado por um complexo entre pigmentos quinona e a caulinita.

- A nova fração húmica pode ser um importante componente envolvido nos mecanismos de argiluviação dos solos.

BIBLIOGRAFIA

- AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L.; MacCARTHY, P.
An introduction to humic substances in soil, sediment, and
water. In: AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L.
(eds.) *Humic substances in soil, sediment and water.
Geochemistry, isolation and characterization*. John Wiley
& Sons. New York, 1985. 692 p.
- AIZENSHTAT, Z. Perylene and its geochemical significance.
Geochim. Cosmochim. Acta, 37:559-567, 1973.
- BLUMER, M. Organic pigments. Their long-term fate.
Science, 149:722-726, 1965.
- BOYLE, E.A.; EDMOND, J.M.; SHOLKOVITZ, E.R. The mechanism of
iron removal in estuaries. *Geochim. Cosmochim. Acta*,
41:1313-1324, 1977.
- DUDAS, M.J. & PAWLUK, S. Chernozem soils of Alberta
Parklands. *Geoderma*, 3:19-37, 1970.
- ECKERT, J.M. & SHOLKOVITZ, E.R. The flocculation of iron,
aluminium and humates from rivers water by electrolytes.
Geochim. Cosmochim. Acta, 40:847-848, 1976.
- EMERSON, W.W. Complexes of calcium montmorillonite with
polymers. *Nature*, 186:573-574, 1960.

- EMERSON, W.W. The structure of soils crumbs. *J. Soil Sci.*, 10:235-244, 1959.
- FONSECA, S. *Propriedades físicas, químicas e microbiológicas de um Latossolo Vermelho Amarelo sob eucalipto, mata natural e pastagem.* Viçosa, UFV, MG, Imprensa Universitária, 1984. (Tese M.S.).
- HANSEN, E.H. & SCHNITZER, M. Zn-dust distillation and fusion of a soil humic and fulvic acid. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 33:29-36, 1969.
- HARRIS, R.F.; CHESTERS, G.; ALLEN, O.N. Dynamics of soil aggregation. *Ad. Agron.*, 18:107-169, 1966.
- HAYES, M.H.B. Extraction of humic substances from soil. In: AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L. (eds.) *Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation and characterization.* John Wiley & Sons, New York, 1985. 692 p.
- KLUG, H.P.; ALEXANDER, L.E. *X-ray diffraction procedures for polycrystalline and amorphous materials.* John Wiley and Sons, Inc., New York, 1954.
- KONONOVA, M.M. *Soil organic matter, its nature, its role in soil formation and soil fertility.* Pergamon Press, London, 1966. 544 p.
- KUMADA, K. *Chemistry of soil organic matter.* Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1987. 241 p.
- KUMADA, K. & SATO, O. Characteristics of the green fraction of P type humic acid. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 26:309-316, 1980.
- LAFLAMME, R.E. & HITES, R.A. The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochim. Cosmochi. Acta*, 42:289-303, 1978.
- LOW, P.F. Physical chemistry of clay water interaction. *Ad. Agron.*, 13:269-327, 1961.

- MALCOLM, R.L. Geochemistry of stream fulvic acid and humic substances. In: AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L. (eds.) *Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation, and characterization*. John Wiley & Sons, New York, 1985. 692 p.
- MANTOURA, R.F.C. & WOODWARD, E.M.S. Conservative behavior of riverine dissolved organic carbon in the Seven Estuary, chemical and geochemical implications. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 47:1293-1309, 1983.
- MATHUR, S.P. Infrared evidence of quinones in soil humus. *Soil Sci.*, 113:136-139, 1972.
- MATSUI, Y. & KUMADA, K. Hydroxyanthraquinone in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 20:333-341, 1974.
- MAYER, L.M. Geochemistry of humic substance in estuaries. In: AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L. (eds.) *Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation, and characterization*. John Wiley & Sons, New York, 1985. 692 p.
- MAYER, L.M. Aggregation of colloidal iron during estuarine mixing kinetics, mechanism and seasonality. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 46:2527-2535, 1982.
- McGRATH, D. Nature and distribution in Irish soils of a new soil pigment. *Nature*, 215:1414, 1967.
- MITCHELL, J.K. *Fundamentals of soil behavior*. John Wiley & Sons, New York, 1976. 422 p.
- MOORE, R.M.; BURTON, J.D.; WILLIAMS, P.J. LeB. B.; YONG, M.L. The behavior of dissolved organic material, iron, and manganese in estuarine mixing. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 43:919-926, 1979.
- MUKHERJEE, P.N. & LAHIRI, A. Rheological properties of humic acid from coal. *J. Colloid Sci.*, 11:240-243, 1956.
- NAKABAYASHI, K.; WADA, H.; TAKAI, Y. Distribution pattern of Pg fraction of P type humic acid and iron in a dark brown forest soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 28:217-223, 1982.

- ONG, H.L. & BISQUE, R.E. Coagulation of humic colloids by metal ions. *Soil Sci.*, 106:220-224, 1968.
- ORR, W.L. & GRADY, J.R. Perylene in basin sediments of southern California. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 31:1201-1209, 1967.
- RASHID, M.A. Quinone content of humic compounds isolated from the marine environment. *Soil Sci.*, 113:181-188, 1972.
- RASHID, M.A. Role of humic acid of marine origin and their different molecular weight fractions in complexing di and tri valent metal. *Soil Sci.*, 111:298-306, 1971.
- SAIZ-JIMENEZ, C.; HAIDER, K.; MARTIN, J.P. Anthraquinone and phenol as intermediates in the formation of dark-colored humic acid like pigments by *Eurotium echinulatum*. *Soil Sci. Am. Proc.*, 39:649-653, 1975.
- SATO, O. A green pigment similar to the Pg fraction of P type humic acids and related compounds produced by litter-decomposing fungi. *Soil Sci. Plant. Nutr.*, 22:269-275, 1976a.
- SATO, O. The chemical nature of components of Pg (green fraction of P type humic acid). *Soil Sci. Plant Nutr.*, 22:485-488, 1976b.
- SATO, O. & KUMADA, K. The chemical nature of the green fraction of P type humic acid. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 13:121-122, 1967.
- SCHNITZER, M. & KODAMA, H. An electron microscopic examination of fulvic acid. *Geoderma*, 13:279-287, 1975.
- SCHNITZER, M. & KODAMA, H. Differential thermal analysis of metal - fulvic acid salts and complexes. *Geoderma*, 7:93-103, 1972.
- SCHNITZER, M. & SKINNER, S.I.M. Organic - metallic interactions. *Soil Sci.*, 96:86-93, 1963.
- SCHNITZER, M. & SKINNER, S.I.M. The carbonil group in a soil organic matter preparation. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 29:400-405, 1965.

- SHOLKOVITZ, E.R. Flocculation of dissolved organic and inorganic matter during the mixing of river water and seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 40:831-845, 1976.
- STEVENSON, F.J. Geochemistry of humic substances. In: AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L., MacCARTHY, P. (eds.) *Humic substances in soil, sediment, and water. Geochemistry, isolation, and characterization*. John Wiley & Sons, New York, 1985. 692 p.
- STEVENSON, F.J. *Humus chemistry, genesis, composition, reaction*. Wiley Interscience, New York, 1982. 443 p.
- TAN, K.H. Formation of metal - humic acid complexes by titration and their characterization by differential thermal analysis and infrared spectroscopy. *Soil Biol. Biochem.*, 10:123-129, 1978.
- THENG, B.K.G. & POSNER, A.M. Nature of the carbonil groups in soil humic acid. *Soil Sci.*, 104:191-201, 1967.
- TIPPING, E. & COOKE, D. The effects of adsorbed humic substances on the surface charge of Goethite (α FeOOH) in freshwater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 46:75-80, 1982.
- VISSER, S.A. Electron - microscopic and electro-difraction patterns of humic acids. *Soil Sci.*, 96:353-356, 1963.
- WAGNER, G.H. & STEVENSON, F.J. Structural arrangement of functional groups in soil humic acid as revealed by infrared analysis. *Soil Sci.Soc. Am. Proc.*, 29:43-48, 1965.
- WHITEHEAD, D.C. & TINSLEY, J. Extraction of soil organic matter with dimethylformamide. *Soil Sci.*, 97:34-42, 1964.