

PUC
RIO

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA
DO RIO DE JANEIRO



Daniel Vidal Pérez

**Avaliação de Parâmetros Críticos
Para Especificação de Al, Fe e Mn em
Solução de Solos sob Diferentes
Sistemas de Uso e Manejo**

TESE DE DOUTORADO

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

Rio de Janeiro
Agosto de 2002

CTC Centro Técnico Científico



Daniel Vidal Pérez

**Avaliação de Parâmetros Críticos para
Especiação de Al, Fe e Mn em Solução de Solos
sob diferentes Sistemas de Uso e Manejo**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-graduação em Química Analítica do Departamento de Química do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Reinaldo Calixto de Campos
Orientador
Departamento de Química – PUC-Rio

Prof. Norbert Miekeley
Departamento de Química – PUC-Rio

Prof^a Rosane Nora Castro
UFRRJ

Prof. Pedro Luiz Oliveira de Almeida Machado
Embrapa Solos

Prof. Carlos Alberto Silva
UFLA

Prof. Laerte da Cunha Azeredo
UFRRJ

Prof. Ney Augusto Dumont
Coordenador Setorial de Pós-Graduação
do Centro Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 07 de agosto de 2002

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA
DO RIO DE JANEIRO



Daniel Vidal Pérez

**Avaliação de Parâmetros Críticos para
Especiação de Al, Fe e Mn em Solução de Solos
sob diferentes Sistemas de Uso e Manejo**

Tese de Doutorado

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Química Analítica do Departamento de Química da
PUC-Rio como parte dos requisitos parciais para
obtenção do título de Doutor em Química Analítica

Orientador Reinaldo Calixto de Campos

Rio de Janeiro
Agosto de 2002

Todos os direitos reservados. È proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Daniel Vidal Pérez

Graduou-se em Agronomia na UFRRJ (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro) em 1987. Completou o curso de Mestrado em Ciência do Solo na UFRRJ em 1990. Ingressou, em 1990, na unidade de Pesquisa em Solos (CNPS) da Embrapa, aonde continua, até o presente momento, como pesquisador.

Ficha Catalográfica

Pérez, Daniel Vidal

Avaliação de Parâmetros Críticos para Especiação de Al, Fe e Mn em Solução de Solos sob Diferentes Sistemas de Uso e Manejo/ Daniel Vidal Pérez; orientador: Reinaldo Calixto de Campos. – Rio de Janeiro: PUC, Departamento de Química, 2002.

v., 193 f.: il.; 29,7 cm

1. Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química.

Inclui referências Bibliográficas

1. Química – Teses. 2. Especiação. 3. Solução do solo. 4. Substâncias húmicas. 5. Solos brasileiros. 6. CLAE-ET. I. Campos, Reinaldo C. de (Reinaldo Calixto). II Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título

CDD: 540

A minha esposa

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Reinaldo Calixto de Campos pela amizade, orientação e pela oportunidade de completar um antigo sonho.

À Diretoria da Embrapa por minha liberação total para realizar o curso de doutorado.

Ao DOD da Embrapa, na pessoa do Sr. César Felício Prata e do Sr. Fernando do Amaral, pelo apoio e compreensão aos atrasos do meu cronograma de trabalho.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, por ter me agraciado com uma bolsa de isenção de pagamentos de créditos, sem a qual, não teria condições de realizar o curso.

Aos professores Norbert Miekeley e Carmem Lúcia, da PUC-Rio, por me permitirem realizar análises no ICP-MS em seu laboratório.

À professora Angela Wagener, da PUC-Rio, por me permitir realizar análises de COD em seu laboratório.

Ao professor Delmo S. Vaitsmann, da UFRJ, por me permitir realizar análises de cromatografia iônica em seu laboratório.

Ao Prof. José Marcus Godoy, pelo apoio e incentivo.

Aos técnicos da PUC-Rio, Rodrigo, Álvaro e Ricardo, cuja colaboração na realização das análises foi imprescindível e cuja amizade, acima de tudo, foi um grande suporte.

Aos técnicos da PUC-Rio, Maurício, Norberto, Valdeto e Adriana, cuja amizade foi um grande incentivador e conselhos fundamentais no sucesso na “Sueca”.

Ao técnico da UFRJ, Humberto Brevilato, pela indispensável ajuda, na análise por cromatografia iônica, e pela amizade nas horas críticas.

À chefia da Embrapa Solos, na pessoa do Dr. Doracy Pessoa Ramos, pelo estímulo e pelo total apoio na aquisição de materiais e reagentes fundamentais e nos momentos em que mais precisei. Sem isso, com certeza, não teria chegado até o final.

Ao colega e pesquisador da Embrapa, Dr. José Ronaldo de Macedo, pelo apoio e incansável ajuda na busca de solos úmidos.

A minha inseparável colega e pesquisadora, Dra. Neli do A. Meneguelli, por sua amizade, estímulo, bom humor e conselhos nos momentos mais difíceis.

“In memorian” ao colega da Embrapa, Aroaldo Lemos, que sempre me acompanhou, ajudou e aconselhou na caça aos solos úmidos.

Aos colegas e técnicos do laboratório da Embrapa Solos, Andréa, Ana Paula, Ademir, Carlos Souza, Sérgio, Viviane, Flávio, Rogério, Leocádio, Fátima e John Lee pelo apoio e amizade.

Ao meu “cumpadre” e colega da Embrapa Solos, Marcelo F.C. Saldanha, pela amizade e incansável ajuda no começo do meu curso.

Aos colegas de outros setores da Embrapa Solos que não pestanejaram, durante meu curso, em me dar uma “mãozinha”, a saber, Edileuza, Juarez, Elza, Paulão, Regina, Angela, Miriam, Conceição, José Silva, Schaffin, Max, Carlos Dias.

Aos pesquisadores da Embrapa, Drs. Adriana Aquino e José Guilherme, da Agrobiologia, e Drs. Wagner Bettiol e Manoel Dornelas, do Monitoramento Ambiental, pelas fotos e apoio de campo.

Aos Profs. Laerte e Cida, da UFRRJ, e ao Dr. Josino Moreira, da Fiocruz, pelo estímulo, apoio e ajuda na hora de escolher o curso de doutorado e o meu orientador.

À Profa. Rosane N. Castro, da UFRRJ, pela atenção dispensada ao desvendar “os mistérios” do cromatógrafo líquido com que trabalhei.

Aos Profs. Sheila Marino e Renato Nascimento, da UFRRJ, pela amizade.

À Profa. Sarai de Alcantara, da UFRJ, pela amizade.

À Dra. Angelica Wasserman, do IRD/CNEN, pela amizade e ajuda na realização das análises de extração sequencial.

Ao colega e pesquisador da Embrapa Solos, Dr. Mauro Conceição, e sua incansável “escudeira”, Luciana, pelo apoio na extração de ácidos húmicos.

Aos colegas da biblioteca da Embrapa Solos, na pessoa da Penha, pela amizade, apoio e incansável busca de material bibliográfico, primordial para minhas revisões.

Aos meus pais, irmão e avó pelo amor, estímulo e apoio.

Aos meus professores do Colégio de S. Bento, na lembrança “In Memoriam” do Loureiro, que jogaram as sementes da curiosidade científica que hoje estou aprendendo a cultivar.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Por fim, À Deus, começo, meio e fim.

RESUMO

Pérez, Daniel Vidal; Campos, Reinaldo Calixto de. **Avaliação de Parâmetros Críticos para Especiação de Al, Fe e Mn em Solução de Solos sob Diferentes Sistemas de Uso e Manejo**. Rio de Janeiro, 2002. 193.p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

O conhecimento da composição da solução do solo é essencial para a interpretação de uma série de reações químicas relacionadas, por exemplo, com a pedogênese, a fertilidade do solo, a poluição ambiental e a estudos de ecotoxicologia. Desta forma, fica evidente que a extração e caracterização química da solução do solo é de suma importância.

Existe uma grande variedade de métodos de obtenção da solução do solo. Dentre eles, se destaca a técnica da centrifugação, devido à sua segurança, rapidez, baixíssimo nível de contaminação e baixo custo. Contudo, a despeito dessas vantagens, esse método sofre de uma série de problemas operacionais. O mais sério diz respeito à influência que o tempo e velocidade de centrifugação têm sobre a composição da solução do solo. Além disso, o manuseio e estocagem da amostra de solo, algumas vezes, têm sido apontados como responsáveis por alterações da sua composição química. No Brasil, além do fato de existirem poucos dados a respeito da composição da solução do solo, não existe uma definição operacional dos parâmetros básicos relacionados à técnica da centrifugação.

Com isso, de forma a elucidar essas questões, dois experimentos foram inicialmente desenvolvidos. O primeiro visou estudar a influência do tempo e da velocidade de centrifugação na composição química da solução do solo. Para tal, foram utilizadas quatro amostras oriundas de dois perfis típicos e representativos dos Latossolos brasileiros. As concentrações de NH_4^+ , Ca, Mg, Al, Na, K, Mn, Fe, Zn, Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , F^- e COD variaram, significativamente, com a velocidade, mas não com o tempo de centrifugação, adotando se, então, o cálculo do balanço de cargas mais próximo à nulidade como critério para definição dos seus valores ótimos. Deste modo, chegou-se a recomendação do tempo de 1 h à velocidade de 2260 g. O segundo experimento lidou com o problema da preparação da amostra e

com sua estocagem. Para isso, selecionaram-se quatro amostras oriundas de dois perfis típicos e representativos de solos brasileiros (um Latossolo e um Argissolo), que foram submetidas a distintos processos de pré-tratamento e preservação. Os resultados obtidos demonstraram que o tratamento do solo, antes da extração, tem um efeito significativo sobre a composição química da solução do solo. Com isso, mais uma vez, utilizou-se o critério do balanço de cargas, o qual mostrou que somente a amostra mantida resfriada (4°C) apresentava resultados comparáveis àqueles obtidos nas amostras coletadas úmidas e analisadas em 24 h.

Um terceiro experimento foi desenvolvido com o objetivo de analisar os padrões de ligação entre certos metais e as substâncias húmicas presentes na solução do solo. Para isso, seis amostras dos dois perfis de solos utilizados no experimento 2 foram selecionadas. A fim de realizar a especiação, foi adotado um sistema composto de uma fase de separação, baseada em um cromatógrafo líquido de alta resolução dotado de detetor de UV e coluna de exclusão de tamanho (Superdex 75 HR 10/30), e uma fase de detecção, baseada na absorção atômica no forno de grafite. Os elementos Fe, Mn e Al foram escolhidos, devido à sua importância não só como nutrientes mas, também, como metais tóxicos para a biota do solo. Água demineralizada e uma solução de NaCl 0,01 mol L⁻¹ foram, inicialmente, testadas, optando-se, por conta dos resultados obtidos, pela solução NaCl 0,01 mol L⁻¹ como a fase móvel.

De forma a avaliar o efeito da manipulação e estocagem na especiação, quatro amostras foram selecionadas e também preparadas de diferentes maneiras. Comparados à amostra úmida, todos os cromatogramas, dos outros dois tratamentos, apresentaram diferenças significativas quanto ao padrão de absorção em UV. Além disso, o padrão de distribuição dos metais foi significativamente diferente. Esses resultados demonstraram, então, que, para fins de avaliação da especiação de metais em solução de solo, só as amostras coletadas nas condições de umidade de campo e extraídas rapidamente devem ser consideradas.

Palavras-chave: especiação; solução do solo, substâncias húmicas, solos brasileiros; CLAE-ET

ABSTRACT

Pérez, Daniel Vidal; Campos, Reinaldo Calixto de (Advisor). **Evaluation of Critical Parameters for Al, Fe, and Mn Speciation in Soil Solutions under Different Use and Management Systems**. Rio de Janeiro, 2002. 193.p. Ph.D. Thesis - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The knowledge of soil solution composition is essential for the interpretation of many soil chemical reactions related, for example, to pedogenesis, soil fertility, environmental pollution, and ecotoxicological studies. Thus, isolation and chemical analysis of soil solution are essential.

There are a variety of methods of obtaining the soil solution. Among them, the centrifugation technique seems to be safe, rapid, contamination-free, and inexpensive. Despite these advantages, this method is fraught with operational problems. The most serious of them are uncertainties surrounding centrifugation time and speed influences on the solution composition. Besides, handling and sample storage have sometimes been reported to influence the chemical composition of soil solutions. In Brazil, besides the fact that there are few comprehensive chemical data sets on soil-solution composition, there is not an operational definition for these basic parameters related to the centrifugation technique.

Thus, in order to elucidate those questions, two initial experiments were developed. The first experiment dealt with the influence of the centrifugation time and speed on the chemical composition of the soil solution of four samples from two typical and representative Brazilian Oxisols. The concentrations of NH_4^+ , Ca, Mg, Al, Na, K, Mn, Fe, Zn, Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , F⁻ and DOC varied significantly with

the centrifugation speed but not with time. Then charge balance calculations for the evaluation of the electrochemical neutrality was adopted to define the best technique of extraction. And it showed that an extraction time of 1 h at a speed of 2,260 g should be recommended. The second experiment dealt with the problem of sample preparation and sample storage. Thus, four samples from two typical and representative Brazilian soils (An Oxisol and an Ultisol) were submitted to different kinds of pre-treatment and preservation. The results showed that the effects of soil treatment prior to solution extraction had a significant effect on soil solution chemical composition. Once more, charge balance was used as final criteria. It showed that only refrigerated samples had results most comparable to the extraction of fresh soils.

A third experiment was developed with the objective of looking for trends in metal binding with the humic substances from soil solutions. Six samples from the two soils already used in the experiment 2 were studied. An HPLC system, equipped with a size exclusion column (Superdex 75 HR 10/30) and an UV detector, was applied as a separation technique in combination with the metal detection by graphite furnace atomic absorption spectrometry. The elements Fe, Mn and Al were selected for this study since they are important as nutrients and as toxic metals for soil biota. Pure water and NaCl 0,01 mol L⁻¹ were initially tested as eluents. However, because of the results, NaCl 10⁻² mol L⁻¹ was chose as the mobile phase.

In order to evaluate the effect of sample handling and storage in the speciation, four samples were selected and prepared in different ways. Comparing to the fresh soil, all the chromatograms showed a significant difference in UV absorption patterns. Moreover, the distribution pattern of the metals was

significantly different. These results demonstrated that only field moist samples, extracted in a short time, should be used to study the speciation of metals in soil solutions.

Keywords: speciation; soil solution, humic substances, Brazilian soils; HPLC-SEC.

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	22
1.1 - Solução do solo	25
1.1.1 – Importância.....	25
1.1.2 – Fatores que afetam sua composição.....	26
1.1.3 – Definição Teórica e Prática.....	28
1.1.4 – Amostragem.....	28
1.2 – Especiação.....	31
1.2.1 – Importância.....	31
1.2.2 – Definição.....	32
1.2.3 – Especiação aplicada a solos.....	32
1.2.3.1 – Revisões.....	32
1.2.3.2 – Fase sólida.....	34
1.2.3.3 – Fase líquida.....	35
1.2.3.3.a – Modelos computacionais.....	37
1.2.3.3.b – Leitura direta.....	39
1.2.3.3.c – Combinação de técnicas.....	39
1.3 - Objetivos e Justificativas.....	40
2) MATERIAL E MÉTODOS	45
2.1 – Reagentes.....	45
2.2 – Equipamentos para determinações analíticas.....	47
2.3 – Métodos.....	48
2.3.1 – Reumidecimento das amostras de solo utilizadas no experimento 1.....	48
2.3.2 – Determinação de Ca, Mg, Na, K, Al, Fe, Mn, Cu, Zn nas soluções de solo obtidas no experimento 1.....	48
2.3.3 – Determinação de Ca, Mg, Na, K, Al, Fe, Mn, Cu, Zn nas soluções de solo obtidas no experimento 2 e 3.....	49
2.3.4 – Determinação de Al, Fe, Mn na extração sequencial do experimento 3.....	50
2.3.5 – Determinação de F^- , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} e NH_4^+ nas soluções de solo obtidas nos experimentos 1 a 3.....	50
2.3.6 – Determinação de carbono orgânico dissolvido (COD) nas soluções de solo obtidas nos experimentos 1 a 3.....	50
2.3.7 – Determinação de Fe, Mn, Al nas frações eluídas do experimento 3.....	51
2.3.8 - Especiação química de Al, Fe, Mn por separação em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	52
2.3.9 – Métodos de extração e análise da fase sólida do solo.....	54
2.4 – Amostras de solo utilizadas.....	56
2.4.1 – Experimento 1.....	56
2.4.2 – Experimentos 2 e 3.....	56
2.5 – Análise estatística empregada.....	58
2.6 – Modelo de cálculo de balanço de massas e de carga utilizado.....	59
2.7 – Limpeza da vidraria.....	60
2.8 – Determinação do limite de detecção (LD).....	61
3) RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.1 – Experimento 1: Estudo da influência da velocidade e tempo de extração.....	62

3.1.1 – Qualidade dos filtros usados.....	62
3.1.2 – Velocidade e tempo de centrifugação.....	64
3.1.3 – Outras observações.....	70
3.1.4 – Conclusão relativa ao primeiro experimento.....	71
3.2 – Experimento 2: Estudo da influência da forma de estocagem da amostra.....	72
3.2.1 – Conclusão relativa ao segundo experimento.....	77
3.3 – Experimento 3: Combinação de separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) para especiação de alumínio, ferro e manganês em Solução de Solo.....	78
3.3.1 – Testes de qualidade da coluna cromatográfica.....	79
3.3.1.1 – Teste de Função ou Calibração.....	79
3.3.1.2 – Teste de eficiência (nº de pratos teóricos).....	80
3.3.2 – Determinação dos programas de temperatura a serem usados nas frações eluídas.....	80
3.3.2.1 – Curva de pirólise e de atomização.....	80
3.3.2.2 – Determinação de programas de temperatura para matriz NaCl 0,01 mol L ⁻¹ em HNO ₃ 0,2%.....	85
3.3.3 – Calibração da coluna com os eluentes que serão usados na especiação.....	88
3.3.3.1 – Água.....	88
3.3.3.2 – NaCl 0,01 mol L ⁻¹	89
3.3.4 – Eluição das amostras de solução do solo.....	90
3.3.4.1 – Influência do eluente nas curvas de absorvância.....	90
3.3.4.2 – Influência do eluente na distribuição dos metais.....	93
3.3.4.3 – Influência da estocagem na especiação dos metais.....	95
3.3.4.4 – Conclusão relativa ao tipo de eluente e de preparação da amostra estudado no terceiro experimento.....	98
3.3.5 – Especiação prevista “versus” a obtida por cromatografia de exclusão por tamanho.....	98
3.3.6 – Efeito do manejo agrícola na especiação de Fe, Mn e Al na camada superficial do solo.....	100
3.3.6.1 – Argissolo Vermelho-Amarelo do Rio de Janeiro.....	100
3.3.6.2 – Latossolo Vermelho de Jaguariúna	102
3.3.7 – Algumas relações com a fase sólida.....	104
3.3.8 - Conclusão relativa à especiação das amostras de solução de solo estudadas no terceiro experimento.....	105
4) CONCLUSÃO.....	107
5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
6) ANEXOS.....	130
6.1 - Anexo 1: Alguns dados extraídos de trabalhos de literatura que utilizaram a centrifugação como técnica de obtenção da solução do solo.....	130
6.2 - Anexo 2 Alguns dados extraídos de trabalhos de literatura que utilizaram alguma coluna cromatográfica de exclusão por tamanho para estudos envolvendo solo, a solução do solo ou soluções afins.....	134
6.3 - Anexo 3: Diagramas de extração de substâncias húmicas em solo (Kononova, 1966).....	141
6.4 - Anexo 4: Esquema de extração sequencial adotado (Wasserman et al., 2001).....	145

6.5 - Anexo 5: Tabelas de saída do programa Geochem-PC.....	147
6.6 - Anexo 6. Gráficos compostos pelos cromatogramas de absorção em UV/Vis e pela determinação de Al, Fe e Mn nas frações eluídas das amostras de solução de solo analisadas.....	153

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Algumas características químicas e físicas dos minerais de argila mais comumente encontrados em solos tropicais.....	23
Tabela 2. Algumas propriedades químicas e físicas dos principais componentes da matéria orgânica humificada.....	23
Tabela 3. Principais espécies químicas, em solução de solo, de alguns elementos químicos (Sposito, 1989).	40
Tabela 4 . Algumas características dos trabalhos que aplicaram a separação por CLAE, com coluna de exclusão de tamanho, e detecção por espectrometria de absorção atômica ou de plasma para solução do solo.....	44
Tabela 5. Esquema simplificado da extração sequencial aplicada (Wasserman et al., 2001).....	55
Tabela 6. Distribuição dos componentes orgânicos, que representariam as substâncias húmicas, segundo o modelo “Mixture Model” (Mattigod & Sposito, 1979; Sposito et al., 1982).....	60
Tabela 7. Algumas características químicas e físicas das quatro amostras selecionadas.....	62
Tabela 8. Resultados de pH e de concentração de ânions inorgânicos determinados na água antes e após filtração nos filtros tratados e não tratados.....	63
Tabela 9. Resultados de determinação de cátions metálicos na água antes e após filtração nos filtros tratados e não tratados.....	63
Tabela 10. Efeito do tempo e velocidade de centrifugação na concentração de íons metálicos determinados nas soluções de solo obtidas das quatro amostras estudadas.....	65
Tabela 11. Efeito do tempo e velocidade de centrifugação no pH, condutividade elétrica (CE), carbono orgânico dissolvido (COD) e na concentração de alguns ânions inorgânicos e de amônio determinados na solução de solo obtida das quatro amostras estudadas.....	66
Tabela 12. Efeito do tempo e velocidade de centrifugação na recuperação de água, força iônica e balanço de cargas das soluções de solo obtidas das quatro amostras estudadas.....	68
Tabela 13. Algumas equações de regressão entre a força iônica (I) e a condutividade elétrica (CE) encontradas em literatura.....	71
Tabela 14. Resultados da composição da capacidade de troca catiônica, pH e carbono orgânico das seis amostras de solo estudadas	72
Tabela 15. Resultados da análise granulométrica e da capacidade de campo das seis amostras de solo estudadas.....	72
Tabela 16. Efeito do tipo de amostra e tratamento na concentração de íons metálicos determinados na solução de solo obtida dos quatro amostras estudadas.....	74
Tabela 17. Efeito do tipo de amostra e tratamento no pH, carbono orgânico dissolvido (COD) e na concentração de alguns ânions inorgânicos e de amônio determinados na solução de solo obtida das quatro amostras estudadas.....	75
Tabela 18. Efeito do tipo de amostra na recuperação de água, força iônica e balanço de cargas da solução de solo obtida das quatro amostras estudadas.....	77
Tabela 19. Resultados da composição da capacidade de troca catiônica, pH e carbono orgânico das seis amostras de solo estudadas (experimento 3).....	78

Tabela 20. Parâmetros de cálculo de eficiência da coluna Superdex 75 HR 10/30.....	80
Tabela 21. Programas de temperatura para o Al, em matriz de HNO ₃ 0,2%.....	81
Tabela 22. Programa de temperatura para o Fe, em matriz de HNO ₃ 0,2%.....	81
Tabela 23. Programa de temperatura para o Mn, em matriz de HNO ₃ 0,2%.....	81
Tabela 24. Programa de temperatura para Al, Fe e Mn, em HNO ₃ 0,2%.....	85
Tabela 25. Validação dos resultados de Fe, Mn e Al, pela análise de material certificado de referência SLRS-4, “river water”, do NRC-Canadá.....	85
Tabela 26. Programa de temperatura para Al, Fe e Mn, em NaCl 0,01 mol L ⁻¹ + HNO ₃ 0,2%.....	86
Tabela 27. Resultados médios (n=4) da eluição de padrões de massa molecular (MM) em coluna Superdex 75 HR10/30 com eluente água demineralizada, fluxo 1 mL min ⁻¹ e alça de 100µL.....	88
Tabela 28. Resultados médios (N = 4) da eluição de padrões de massa molecular (MM) em coluna Superdex 75 HR10/30 com eluente NaCl 0,01 mol L ⁻¹ , fluxo 1 mL min ⁻¹ e alça de 100µL.....	89
Tabela 29. Somatório das áreas dos picos determinados nas amostras de solução de solo eluídas em água e em NaCl 0,01 mol L ⁻¹ , utilizando coluna Superdex 75HR 10/30.....	93
Tabela 30. Recuperação de Mn, Al e Fe associados aos picos de absorvância, em UV, por eluição em coluna Superdex 75 HR 10/30.....	94
Tabela 31. Principais frações de Al, Fe e Mn determinadas na amostra de solução do solo milho e 12 t ha ⁻¹ de lodo.....	98
Tabela 32. Resultados de análise de metais, ânions e carbono orgânicos dissolvido na solução do solo.....	99
Tabela 33. Relação da área total dos picos de absorção detectados em UV e do pico de maior intensidade com o teor de carbono orgânico dissolvido (COD) das amostras de solução de solo eluídas com NaCl.....	101
Tabela 34. Percentual de Mn, Fe e Al associados a picos de absorvância (UV), eluídos em NaCl, em função do manejo do solo.....	102
Tabela 35. Resultados da extração de substâncias húmicas dos solos estudados.....	105
Tabela 36. Resultados de extração sequencial aplicada aos solos estudados.....	105

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Condições de operação do ICP-OES.....	49
Quadro 2. Condições de operação do ICP-MS.....	49
Quadro 3. Condições de operação do CLAE.....	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da tensão com que a água é retida por uma partícula do solo (Medina, 1972), em que CC significa capacidade de campo.....	24
Figura 2. Inter-relação da solução do solo com outros componentes do sistema (adaptado de Bohn et al., 1985; Kabata-Pendias & Pendias, 1992; Hani, 1996; Lindsay, 2001).....	26
Figura 3. Esquema de instalação de um tipo de lisímetro (Wolt, 1994).....	29
Figura 4. Esquema de montagem de coluna para extração de solução de solo (Wolt, 1994).....	29
Figura 5. Esquema do tubo de centrífuga usado na extração de solução do solo, em que A é a tampa de rosca, B representa o corpo do filtro que se acopla em C, que é um tubo de 50 mL, e D é o elemento filtrante.....	30
Figura 6. Esquema do funcionamento de uma coluna de exclusão por tamanho: quanto menor a partícula, mais tempo gasta nos poros da fase estacionária e mais tempo leva para ser eluído; quanto maior, mais rapidamente é eluído.....	43
Figura 7. Detalhes do espectrômetro de absorção atômica da Analytik Jena modelo AAS ZEE nit 60: a) vista geral; b) detalhe do tubo e plataforma de grafite; c) detalhe do forno de grafite transversal; d) carrossel de 6 lâmpadas.....	52
Figura 8. Visão do conjunto CLAE-DAD/Bomba/Coluna/Coletor de frações: a) frontal; b) lateral.....	54
Figura 9. Tubo de centrífuga empregado na obtenção da solução do solo.....	56
Figura 10. Aspecto do Argissolo Vermelho-Amarelo localizado em Seropédica (RJ) e que foi empregado nos experimentos 2 e 3. A esquerda está o solo sob cultivo orgânico de milho. A direita está o solo sob pastagem natural.....	57
Figura 11. Aspecto do Latossolo Vermelho localizado em Jaguariúna (SP) e que foi empregado nos experimentos 2 e 3. À esquerda está o solo sob cultivo de milho (amostra absoluta ou sem aplicação de lodo) e, ao fundo, a mata. A direita está o solo antes da aplicação do lodo e o próprio.....	58
Figura 12. Curva de calibração da coluna superdex 75 HR10/30.....	80
Figura 13. Curvas de pirólise (O) e atomização () para a solução de 30 ng L ⁻¹ de alumínio (sem modificador), e dos respectivos “back ground” (*e x).....	82
Figura 14. Curvas de pirólise (O) e atomização () para a solução de 30 ng L ⁻¹ de ferro (sem modificador), e dos respectivos “back ground” (*e x).....	82
Figura 15. Curvas de pirólise (O) e atomização () para a solução de 30 ng L ⁻¹ de manganês (sem modificador), e dos respectivos “back ground” (*e x).....	83
Figura 16. Curvas analíticas obtidas para a) Al, b) Fe e c) Mn, levantadas por GFAAS, utilizando os programas de temperatura mostrados nas tabelas 23 a 26, com 3 (↺) e 2 () etapas de secagem.....	84
Figura 17. Curvas analíticas obtidas para a) Al, b) Fe e c) Mn, levantadas por GFAAS, utilizando os programas de temperatura mostrados nas tabelas 26 e 28, em HNO ₃ 0,2% (↺) e em NaCl 0,01 mol L ⁻¹ + HNO ₃ 0,2% () etapas de secagem.....	87
Figura 18. Variação do coeficiente de partição com o logaritmo, na base 10, da massa molecular dos padrões eluídos em água, a fluxo de 1 mL min ⁻¹ e alça de 100 μL.....	89
Figura 19. Variação do coeficiente de partição com o logaritmo, na base 10, da massa molecular dos padrões eluídos em NaCl 0,01 mol L ⁻¹ , a fluxo de 1 mL min ⁻¹ e alça de 100 μL.....	89

Figura 20. Cromatogramas de exclusão por tamanho das amostras de solução do solo, coletadas em Argissolo Vermelho-Amarelo: sob (a) pasto e (b) cultivo orgânico de milho, eluídas em dois tipos de eluentes: água demineralizada e solução de NaCl 0,01 mol L ⁻¹	91
Figura 21. Cromatogramas de exclusão por tamanho das amostras de solução do solo, coletadas em Latossolo Vermelho sob: (a) mata, (b) cultivo convencional de milho, (c) cultivo de milho com aplicação de 12 t ha ⁻¹ e (d) 24 t ha ⁻¹ de lodo de esgoto, eluídas em dois tipos de eluentes: água demineralizada e solução de NaCl 0,01 mol L ⁻¹	92
Figura 22. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes a amostra coletada em Argissolo Vermelho-Amarelo sob cultivo orgânico de milho, eluídas em NaCl 0,01 mol L ⁻¹ , nas condições de estocagem (a) “in natura” x amostra refrigerada (b) “in natura” x amostra seca e reumidecida à umidade de campo.....	96
Figura 23. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes a amostra coletada em Latossolo Vermelho sob cultivo de milho e que recebeu 12 t ha ⁻¹ de lodo de esgoto, eluídos em NaCl 0,01 mol L ⁻¹ , nas condições de estocagem (a) “in natura” x amostra refrigerada (b) “in natura” x amostra seca e reumidecida à umidade de campo.....	97
Figura 24. Relação entre o percentual do metal previsto, pelo Geochem-PC, como ligado à substâncias húmicas e o percentual do metal recuperado após a eluição na coluna Superdex 75 HR 10/30.....	100
Figura 25. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes as amostras coletadas em Argissolo Vermelho-Amarelo sob pasto e sob cultivo orgânico de milho, eluídas em NaCl 0,01 mol L ⁻¹	101
Figura 26. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes as amostras coletadas em Latossolo Vermelho sob mata e sob cultivo de milho convencional-Absoluta (a) ou com aplicação de: (b) 12 e (c) 24 t ha ⁻¹ de lodo, eluídas em NaCl 0,01 mol L ⁻¹ .	103

LISTA DE ABREVIATURAS USADAS NA TESE

ANOVA = Análise de variância.

BC = Balanço de carga.

C.C. = Capacidade de campo, que representa a quantidade máxima de água retida no solo, após a sua drenagem.

CE = Condutividade elétrica.

CLAE = Cromatografia líquida de alta eficiência.

CTC = Capacidade de troca catiônica.

C.Org. = Carbono orgânico

COD = Carbono orgânico dissolvido.

CV = Coeficiente de variação.

DAD = Detetor de arranjo de diodo.

FCR = Força centrífuga relativa.

GFAAS = Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

I = Força iônica.

ICP-MS = Espectrometria de massa com um plasma indutivamente acoplado.

ICP-OES = Espectrometria de emissão por plasma acoplado indutivamente.

Kd = Coeficiente de partição.

ki = Relação molar entre sílica e alumínio, na forma de óxidos, no solo.

LD = Limite de detecção.

MM = Massa molecular.

P = Probabilidade.

pE = $-\log_{10}$ da atividade do elétron livre.

U.C. = Umidade de campo.

UV = Ultra violeta.

“Idéias do tipo certeza, exatidão absoluta, verdade definitiva são invenções da presunção e nada têm a ver com Ciência”

Max Born (1882-1970)

1) INTRODUÇÃO

O solo é reconhecido como um tecido tridimensional biológico, de constituição física expressa pelo arranjo espacial das partículas sólidas e dos vazios a ele associados (Fitzpatrick, 1980; Nascimento, 1995). Logo, a massa do solo pode ser considerada um sistema trifásico (Medina, 1972; Foth & Turk, 1972; Sposito, 1989; Wolt, 1994), composto por:

- a) fase sólida, que compõe o material do solo;
- b) fase gasosa, que compõe a atmosfera do solo;
- c) fase líquida, que compõe a solução do solo.

Entretanto, essas fases não se encontram dispersas. Os componentes sólidos geralmente se agregam (por força da coagulação), criando um sistemas de poros (“voids”) interconectados ou não, de vários tamanhos por onde circulam a água e/ou ar (Hayes & Bolt, 1991; Tan, 1993; Alloway, 1995).

A) Fração Sólida

Segundo Kiehl (1979) e Sposito (1989), em torno de, no mínimo, 50% do volume do solo é constituído por material sólido. Desse percentual, em geral, 90% representam compostos inorgânicos, a exceção de solos orgânicos, em que o conteúdo de material orgânico representa mais de 50% do material sólido.

Com respeito à composição da fração inorgânica, uma série de minerais foi identificada, sendo que a maioria se baseia em silicatos (Sposito, 1989; Resende et al., 1995), o que já era de se esperar, visto que os elementos silício e oxigênio são os mais abundantes em solos. Contudo, óxidos metálicos são facilmente encontrados em solos tropicais, principalmente na fração argila, devido ao alto estágio de intemperismo dos mesmos (Resende et al., 1995).

A complexidade do componente orgânico torna difícil relacionar todos os compostos presentes. Contudo, Tan (1994) resume a composição orgânica do solo em:

- a) matéria orgânica não humificada, a qual se baseia, principalmente, em compostos liberados por processos de decomposição, na forma original ou pouco modificada. Apesar da grande variedade existente na planta, somente algumas poucas estruturas orgânicas são detectáveis em solo, tais

como alguns carboidratos, aminoácidos, proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos, ligninas e ácidos orgânicos.

- b) matéria orgânica humificada, o que inclui ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, ácidos himatomelânicos e huminas, cuja origem deriva, segundo a teoria de lignoproteína, da interpolimerização de compostos fenólicos, peptídeos, aminoácidos e carboidratos.

A maioria das argilas e da matéria orgânica humificada tem propriedades coloidais, dentre as quais se destaca o fato de possuírem carga elétrica de superfície. Por isso, esses dois componentes da fração sólida são considerados como os maiores sítios de atividade do solo, sendo, portanto, os principais responsáveis pela sua reatividade (Uehara & Gillman, 1981; Sposito, 1989; Tan, 1994).

Algumas propriedades químicas e físicas relevantes, dos principais minerais de argila e material orgânico humificado, encontram-se, respectivamente, nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Algumas características químicas e físicas dos minerais de argila mais comumente encontrados em solos tropicais.

Mineral	PCZL*	Área Específica m ² /g	Capacidade de Troca Catiônica cmol _c /kg
Caulinita	4,0 - 5,0	10 - 20	3 - 15
Oxi-hidróxidos de Fe/Al	7,0 - 9,0	1 - 400	0 - 4
Ilita	-----	70 - 120	10 - 40
Vermiculita	-----	300 - 500	100 - 150

*Ponto de carga zero líquida

Fonte: Grohmann (1972); Sposito (1989); Resende et al. (1995)

Tabela 2. Algumas propriedades químicas e físicas dos principais componentes da matéria orgânica humificada.

Fração Húmica	Massa molecular	Carbono %	Oxigênio %	Acidez* mol/kg
Ácido Fúlvico	1.000 - 5.000	42 - 47	45 - 50	14
Ácido Húmico	10.000 - 100.000	51 - 62	31 - 36	5
Humina	>100.000	>62	<30	>5

*Equivalente ao conceito de capacidade de troca catiônica.

Fonte: McBride (1994)

B) Fração Gasosa

A fase gasosa do solo é constituída do mesmo tipo de gases da atmosfera (Foth & Turk, 1972; Reichardt, 1985; Sposito, 1989). Porém, devido a uma série de fatores, entre os quais se destacam a atividade biológica, a continuidade e

tamanho dos poros e o gradiente de difusão do O_2 e CO_2 em água (aproximadamente 10^{-4} daquela no ar), a composição percentual pode diferir consideravelmente (Kabata-Pendias & Pendias, 1992; Lindsay, 2001). Essa fase tem assumido especial importância atualmente nos estudos sobre a participação do solo nas mudanças globais (Lal, 1995; Pérez, 1997).

C) Fração Líquida

A água do solo é a repositória de sólidos dissolvidos e gases sendo, por isso, reconhecida como a solução do solo, ou seja, o meio em que a maioria das reações químicas de solo se desenvolve (Tan, 1993).

Ela está envolvida no ciclo hidrológico (Bohn et al., 1985; Tan, 1996), em que parte da água que fica no solo é evaporada ou é perdida por escoamento superficial (“runoff”) para rios, lagos, restingas, mangues e o oceano; outra parte pode percolar através do solo até atingir o lençol freático ou os aquíferos e somente uma diminuta parte (entre 0,0005 e 0,001 %) fica retida no solo.

A retenção da água no solo ocorre sob diferentes tensões, também denominada como potencial matricial (Figura 1), o que está intimamente ligado a fenômenos de superfície (adsorção) e capilaridade (Tan, 1982; Reichardt, 1985; Tan, 1996).

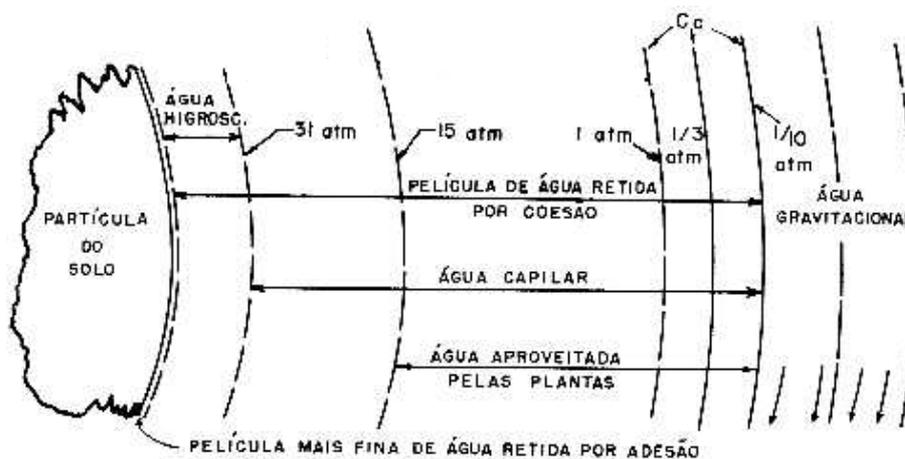


Figura 1. Representação esquemática da tensão com que a água é retida por uma partícula do solo (Medina, 1972), em que CC significa capacidade de campo.

Para cada amostra de solo homogêneo, há um valor característico de potencial matricial relativo a cada teor de água (Reichardt, 1985). Portanto, pode-se supor que as diferenças encontradas entre solos serão função, basicamente, do

tipo e quantidade dos colóides que possuem e do tamanho e forma de seus poros (Kiehl, 1979, Tan, 1982; Reichardt, 1985).

1.1 - Solução do solo

1.1.1 - Importância

O conceito da solução do solo e seu papel nas interrelações solo-planta-organismos remontam há mais de um século (Adams, 1971; Adams, 1974). Devido ao fato de ser o principal transportador de água, nutrientes e de outros elementos, alguns tóxicos, para as raízes das plantas e para a biota do solo (Allen, 1993; Tan, 1993; Ure, 1995; Smethurst, 2000), a definição, em termos quantitativos, dessas interrelações requer um conhecimento detalhado da química do solo e das leis que a governam. Por isso, só a partir da utilização de critérios termodinâmicos, principalmente o conceito de atividade, derivado do trabalho de Debye & Huckel (Adams,1974), pode se validar, por experimentação, esses conhecimentos empíricos.

Desta forma, surgiram conceitos que norteiam até hoje a experimentação agrícola com vistas a medir a capacidade de suporte que dado solo teria para determinada cultura. Um dos principais é o que se baseia na determinação de dois parâmetros (Mengel & Kirkby, 1987; Marschner, 1995; Lindsay, 2001), a saber: i) fator Intensidade, que representa a concentração do elemento na solução do solo; ii) fator Capacidade, que representa a capacidade da fase sólida em repor o elemento que foi retirado da solução .

Considerando a atual preocupação com o meio ambiente, principalmente com a qualidade da água, muitos autores têm enfatizado a participação da solução do solo como meio de transporte de contaminantes orgânicos (geralmente, agroquímicos e derivados de petróleo) e inorgânicos (nitrato e metais pesados) do solo para grandes mananciais de água potável, com efeitos ecotoxicológicos desastrosos (Kabata-Pendias & Pendias, 1992; Lal & Stewart, 1994; Berthelin et al., 1995; Ure, 1995; Alloway, 1995; Reemstema et al., 1999). Além disso, trabalhos recentes têm demonstrado a importância da determinação da concentração de Al e da relação molar Ca/Al na solução do solo, no desenvolvimento de modelos de acidificação do solo e de monitoramento de excesso de entradas (“inputs”) de compostos acidificantes de N e S, de origem industrial (Davis, 1990; Vries et al, 1995; Derome et al., 1998; Salm & Vries,

2001). Outro exemplo se refere a estudos relacionados à formação de solo (pedogênese), notadamente nos processos relativos ao transporte de substâncias húmicas, que puderam ser elucidados pelo conhecimento mais aprofundado da solução do solo (Tipping & Woof, 1991; Dahlgren et al., 1997; Kalbitz et al., 2000; Kaiser et al., 2001).

1.1.2 – Fatores que afetam sua composição

As concentrações dos elementos químicos na solução do solo são governadas por uma série de mecanismos (Bohn et al., 1985; Stevenson & Fitch, 1986; Kabata-Pendias & Pendias, 1992; Lindsay, 2001) que estão, simplificada, ilustrados na figura 2, onde setas com número ímpar representam saídas (“output”) e setas pares, entradas (“input”).

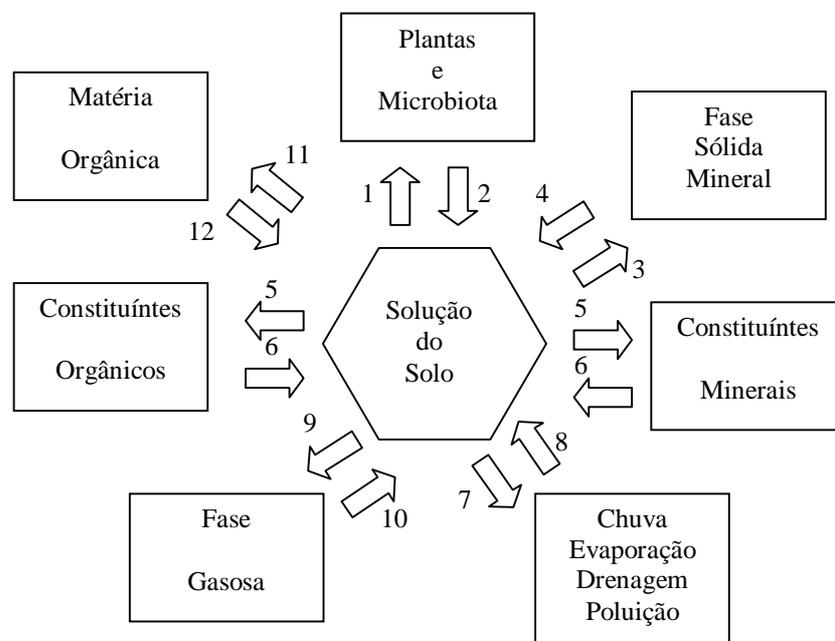


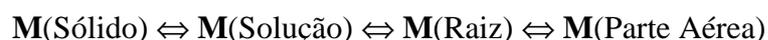
Figura 2. Inter-relação da solução do solo com outros componentes do sistema (adaptado de Bohn et al., 1985; Kabata-Pendias & Pendias, 1992; Hani, 1996; Lindsay, 2001).

Pela figura 2, os mecanismos ficam assim identificados:

- 1 – Absorção de nutrientes pela nutrição das plantas e microbiota;
- 2 – Exsudação e excreção de solutos e substâncias orgânicas pelas raízes e microorganismos, além da morte e decomposição dos organismos, o que libera solutos, também;
- 3 – Precipitação derivada da supersaturação e nucleação na solução do solo;
- 4 – Dissolução via intemperismo;

- 5 – Adsorção por causa de vários tipos de interação intermoleculares, tais como, força de Van der Waals, ponte de hidrogênio, ponte hidrofóbica, troca de íons e ligantes, etc;
- 6 – Desorção e troca iônica ;
- 7 – Drenagem de constituintes para fora do solo uma série e diluição da solução do solo pela chuva;
- 8 – Adição de metais e ligantes à solução do solo por fertilizantes e contaminantes com possível recombinação, formando novos minerais (3);
- 9 – Liberação de gases para a fase gasosa;
- 10 – Dissolução de gases na água;
- 11 – Formação de compostos orgânicos via polimerização,
- 12 – Decomposição da matéria orgânica via ação microbiana.

Entretanto, apesar de ser afetada por todos estes processos, a composição final da solução do solo é fortemente controlada pela fase mineral do solo (Lindsay, 2001). Segundo Hayes & Bolt (1991), existe uma constante interação entre a fração sólida, principalmente a fração coloidal, e a fração líquida, a qual é complexa, devido aos vários fatores envolvidos. O mesmo autor indica uma razão de distribuição na ordem de 100 entre o sorvido na fase sólida e o contido na solução. Assim, pode se resumir esses processos dinâmicos, no sistema solo-planta-atmosfera, da seguinte forma (Reichardt, 1985):



No caso, **M** representa um elemento qualquer; **M**(Sólido) representa o elemento na fase sólida (cristalina, precipitada, etc) ou adsorvido; **M**(Solução) seria o elemento na fase aquosa e **M**(Raiz) e **M**(Parte Aérea) estariam associados ao elemento absorvido pela planta. Apesar da setas indicarem processos em ambos sentidos, há uma predominância do movimento do solo para a planta.

A caracterização de **M**(Solução), ou seja, do elemento na forma “livre” (iônica) ou não, será a base do presente estudo.

Por fim, a literatura aponta outros fatores que também têm sido implicados na variação da composição da solução do solo, quais sejam: o tempo (Mulder & Cresser, 1994; Wolt, 1994), a acidificação do solo, que pode levar a mobilização

de uma série de elementos, tornando-os biodisponíveis (Ross, 1994) e a competição entre cátions de elementos traço e de elementos mais abundantes pelos sítios de troca dos colóides (Kabata-Pendias & Pendias, 1992; Ross, 1994).

No que diz respeito à formação de complexos, a água e certos compostos orgânicos, tais como ácidos húmicos e ácidos orgânicos de pequena massa molecular, são os ligantes mais abundantes. Conseqüentemente, as reações químicas mais comuns em solos serão a hidrólise e a complexação orgânica, as quais são muito sensíveis à variação de pH (Kabata-Pendias & Pendias, 1992).

1.1.3 – Definição Teórica e Prática

Várias são as definições do termo solução do solo (Adams, 1974; Berton, 1989; Kabata-Pendias & Pendias, 1992; Curi, 1993; Tan, 1993; Wolt, 1994; Rkitchie & Sposito, 1995). Contudo, Sposito (1989) foi quem a mais bem definiu ao considerá-la como sendo “a fase líquida e aquosa cuja composição é influenciada pelos fluxos de matéria e energia que ocorrem dentro dela e na sua vizinhança, além da ação do campo gravitacional da Terra”. Na prática, essa definição caracteriza a solução do solo como um sistema aberto e sujeito a uma série de forças, algumas até externas ao próprio solo. Por isso, o problema de isolar a “verdadeira” solução do solo ainda não foi solucionado (Sposito, 1989; Wolt, 1994). O que há, na realidade, é um compromisso operacional entre a precisão e a conveniência analítica para se estabelecer o método de remoção da fase aquosa.

1.1.4 – Amostragem.

Avaliar a capacidade de determinada técnica de extrair a solução do solo, geralmente envolve demonstrar que a alteração de certos parâmetros não afetam a sua composição ou, se a influenciam, o fazem de maneira preditiva (Wolt, 1994). Diversas técnicas têm sido empregadas, dentre as quais se destacam (Adams , 1974; Litaor, 1988; Sposito, 1989; Wolt, 1994; Keller, 1995):

- a) o lisímetro, que é uma técnica de campo, consistindo de tubos plásticos cravados no solo a diversas profundidades, que apresentam na ponta um elemento filtrante, sendo o mais comum uma cápsula porosa. A água pode ser coletada sob pressão ou não (Figura 3);

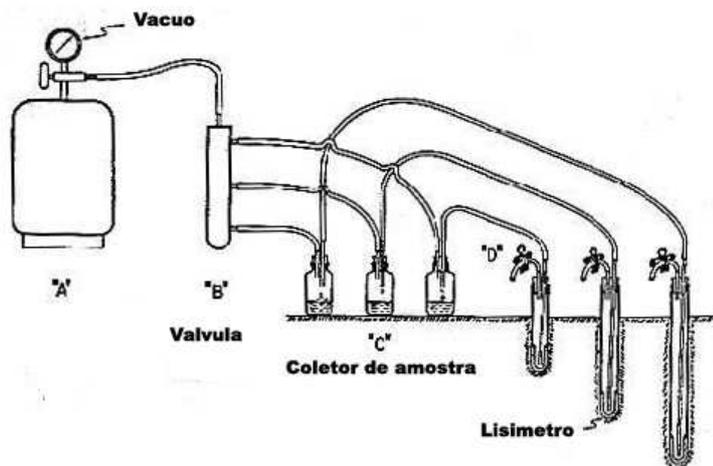


Figura 3. Esquema de instalação de um tipo de lisímetro (Wolt, 1994).

- b) O método do deslocamento em coluna, que é um método de laboratório que se baseia em empacotar o solo úmido em coluna de vidro, colocando um líquido de deslocamento, tal como o etanol, no topo, forçando a saída da solução do solo por baixo (Figura 4);



Figura 4. Esquema de montagem de coluna para extração de solução de solo (Wolt, 1994).

- c) A centrifugação, que é um método de laboratório que utiliza a pressão exercida pela força centrífuga em um tubo especial, constituído de duas câmaras separadas por elemento filtrante, que permite separar a água do solo (Figura 5). Há, ainda, uma variação dessa técnica que adiciona, também, uma substância imiscível com água, tal como o CCl_4 , para auxiliar no deslocamento da solução do solo.

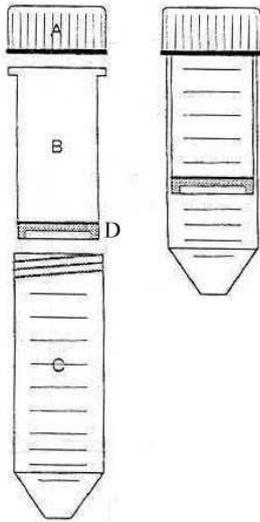


Figura 5. Esquema do tubo de centrifuga usado na extração de solução do solo, em que A é a tampa de rosca, B representa o corpo do filtro que se acopla em C, que é um tubo de 50 mL, e D é o elemento filtrante.

Todos os métodos citados apresentam vantagens e desvantagens:

- Os lisímetros, em princípio, pareciam aliar a vantagem da amostragem nas condições de campo e nos mesmos pontos amostrais, com o fato de não causarem distúrbios na estrutura do solo, ao longo do tempo (Zabowski & Ugolini, 1990; Wolt, 1994). Contudo, uma série de problemas foi determinada: a) contaminação do solo pelo elemento filtrante, independente de sua constituição ser cerâmica, teflon ou fibra de vidro (Hansen & Harris, 1975; Whelan & Barrow, 1980; Hornung, 1996; Wenzel et al., 1997; Goyne et al., 2000; Andersen et al., 2002); b) anomalias hidrológicas, em função do nível de lençol freático e das características de retenção de água pelo solo (Mulder & Cresser, 1994; Giesler et al., 1996; Marques et al., 1996), o qual aumenta o tempo de residência da água no coletor, influenciando a sua composição química; c) interação, normalmente adsorção, dos compostos presentes na solução do solo com material usado na construção do lisímetro (Litaor, 1988; Wolt, 1994; Hornung, 1996).
- Em relação ao método do deslocamento em coluna, Gillman (1976) indica que tem baixa reprodutibilidade, em virtude das dificuldades em se realizar o empacotamento da coluna de forma homogênea e constante. Além disso, dependendo da textura do solo, o tempo de empacotamento é muito elevado, o que também foi observado por Adams et al. (1980).

- A centrifugação tem sido muito empregada, devido à sua rapidez e menor variabilidade dos resultados (Gillman, 1976; Adams et al., 1980; Keller, 1995). Contudo, uma das maiores críticas deriva da pouca quantidade de solução extraída (Whelan & Barrow, 1980). Nesse sentido, tentou-se adotar, concomitante à centrifugação, o uso de líquido orgânico de baixa solubilidade, inerte e denso, como forma de expelir maior quantidade da fase aquosa (Whelan & Barrow, 1980; Sposito, 1989). No entanto, a possível adulteração da solução do solo e a elevada toxidez dos líquidos usados (Elkhatib et al., 1987) têm limitado a aplicação dessa modificação da técnica. Por outro lado, o desenvolvimento de novas técnicas de determinação analítica, que utilizam menores volumes de amostra, minimizou a desvantagem citada inicialmente, tornando o método da centrifugação como o mais apropriado ao uso na rotina (Sposito, 1989) e o mais interessante para estudos que envolvam biodisponibilidade de elementos (Zabowski & Ugolini, 1990; Mulder & Cresser, 1994; Giesler et al., 1996; Ranger et al., 2001). Contudo, certos parâmetros operacionais devem ser definidos, antes de se iniciar qualquer estudo que aplique essa técnica de extração. Walworth (1992) observou que o tempo de centrifugação pode influenciar, significativamente, a composição da solução do solo. Já Zabowski & Ugolini (1990) estabeleceram a necessidade de se saber como a composição se relaciona com a tensão que a água é retida no solo o que, também, já havia sido comentado por Reynolds (1984). Já que a dupla camada elétrica afeta a distribuição de íons ao longo da fase aquosa que interage com a superfície coloidal, Wolt (1994) sugere, então, o estudo da influência da força e tempo de centrifugação na composição das diferentes proporções da dupla camada elétrica extraídas.

1.2 – Especiação

1.2.1 – Importância

O rápido aumento dos níveis de poluição ambiental, nas últimas décadas, resultou numa preocupação crescente quanto à conservação dos ecossistemas e preservação da saúde humana (Vela & Caruso, 1996; Kot & Namiesnik, 2000). Nesse contexto, diversos estudos sobre a determinação de diferentes espécies de elementos traço, tanto em materiais biológicos como ambientais, foram fortemente incentivados, já que os efeitos ecotoxicológicos de um elemento

químico, assim como o seu comportamento ambiental (transporte, reatividade, mobilidade, etc.), dependem totalmente da sua forma química (Allen, 1993; Tack & Verloo, 1995; Winistorfer, 1995, Hani, 1996; Hayes & Traina, 1998; Quevauviller, 1998; Kot & Namiesnik, 2000)

1.2.2 - Definição

Apesar de não existir uma definição internacionalmente aceita para esse termo (Tack & Verloo, 1995, Ure & Davidson, 1995; Kot & Namiesnik, 2000), a especiação pode ser, genericamente, definida como sendo a identificação e quantificação de diferentes e definidas espécies, formas ou fases na qual um dado elemento ocorre em um dado sistema (Tack & Verloo, 1995). Contudo, independente das definições teóricas, Ure (1991) e Ure & Davidson (1995) argumentam que as diferentes formas físico-químicas determinadas pela especiação têm que ser definidas com base em, no mínimo, uma das três maneiras a seguir:

- a) Por funcionalidade, ou seja, em função de seu papel, a exemplo da determinação das espécies absorvíveis pela planta;
- b) Por operacionalidade, isto é, pelos tipos de reagentes ou procedimentos usados na sua identificação, separação e quantificação. Um bom exemplo está na própria separação da solução do solo por centrifugação.
- c) Pela sua forma química precisa, ou seja, como composto químico específico, a exemplo do tri-butil estanho, ou pelo estado de oxidação do elemento, por exemplo, $\text{Cr}^{3+}/\text{Cr}^{6+}$.

Assim mesmo, em um aspecto, todos são unânimes (Angehrn-Bettinazzi, 1990; Kot & Namiesnik, 2000): o sucesso de uma análise de especiação depende (i) de sua seletividade, ou seja, de sua capacidade de determinar a espécie química correta e (ii) de sua sensibilidade, ou seja, de permitir obter baixos limites de detecção do analito na amostra.

1.2.3 – Especiação aplicada a solos

1.2.3.1 – Revisões

Várias revisões têm sido publicadas, tanto gerais, como específicas para um dado elemento, em que diferentes aspectos da especiação em solos têm sido abordados.

Verloo & Eeckhout (1990) comentam sobre diferentes técnicas analíticas de especiação de metais em solo, tanto na fase sólida (extração sequencial), como na solução do solo (cromatografia, polarografia, potenciometria com eletrodo seletivo). Já Ure (1991) faz comentários sobre a definição do termo especiação e apresenta algumas técnicas de especiação da fase sólida (extração sequencial) e da solução do solo (cromatografia associada à espectrometria atômica), enquanto Rubio & Ure (1993) apresentam aspectos de amostragem e de estocagem de amostra de solo e de sedimento.

Tack & Verloo (1995) apresentam uma revisão superficial sobre técnicas de especiação química e modelagem computacional. Concentram-se na extração sequencial para solos e sedimentos e na relação da biodisponibilidade com diversos tipos de extratores (ácidos, sais, complexos). Por sua vez, Das et al. (1995) apresentam uma revisão sobre especiação de matrizes sólidas (solo, sedimentos, material biológico, alimentos, particulados atmosféricos, etc). Apresentam, também, alguns tipos de pré-tratamentos, técnicas de extração e detalhes analíticos dos métodos de especiação. Uma revisão sucinta é também apresentada por Hill (1997) que comenta, especificamente, técnicas de especiação para As, Sn, Pb e Hg em amostras ambientais e biológicas.

Das & Chakraborty (1997) apresentam revisão de literatura, baseada no Analytical Abstracts Database (1980-1994) e Chemistry Citation Index (1991-1994), sobre a aplicação da espectrometria de absorção atômica eletrotérmica na especiação de metais em diversas matrizes (água, biológica, solo, sedimentos e particulados aéreos), além dos pré-tratamentos necessários. Em solos, focalizam bastante a questão da extração sequencial e mencionam um trabalho, com solução do solo, que usa a cromatografia associada à espectrometria de absorção atômica.

Dean et al. (1998) apresentam revisão sobre a aplicação da espectrometria atômica na análise química de amostras ambientais, comentando os novos desenvolvimentos das técnicas de especiação para amostras de particulados, solos, plantas e material geológico. Também comentam sobre amostragem e pré-tratamentos. Já a questão da normatização de procedimentos de extração

sequencial e simples para amostras de solo e sedimento é tratada por Quevauviller (1998).

Adams & Slaets (2000) comentam sobre desenvolvimentos analíticos na especiação de compostos organo-metálicos, principalmente no que tange à remediação de problemas de extração incompleta, modificação do analito durante processo analítico, validação e precisão dos resultados, enquanto Kot & Namiesnik (2000) descrevem as principais áreas de aplicação da análise de especiação e o uso de extração sequencial. Além disso, descrevem, sumariamente, alguns tipos de análises e técnicas, com exemplos de aplicação. Em relação ao Al, Bi et al. (2001) apresentam uma extensa revisão sobre metodologias analíticas para sua especiação em amostras ambientais e biológicas. Mencionam, inclusive trabalhos recentes em solução do solo, que empregam técnicas de separação por cromatografia e detecção por ICP.

Em suma, fica claro, pelo exposta acima, que, no caso da especiação aplicada a solos, duas linhas de estudo básicas têm sido desenvolvidas: a primeira em relação à fase sólida e a segunda, e mais recente, à fase líquida.

1.2.3.2 – Fase sólida

A complexidade das possíveis reações no solo, normalmente restringe os estudos sobre distribuições de espécies metálicas, na fase sólida, a procedimentos analíticos operacionalmente definidos (Tack & Verloo, 1995; Morrow et al., 1996; Dean et al, 1998). Nesse sentido, a maioria dos esquemas de fracionamento baseiam-se ou em extrações simples, que visam medir a biodisponibilidade de dado elemento (Ross, 1994; Kot & Namiesnik, 2000), ou em extrações sequenciais, que tentam mostrar o compartimento em que se localiza dado elemento químico (Ure, 1991; Das et al., 1995; Hayes & Traina, 1998). A maioria dos estudos ambientais que envolvem a parte sólida do solo utiliza essa última técnica que contempla, em geral, as seguintes fases (McLean & Bledsoe, 1992; Das et al., 1995; Ure, 1995; Morrow et al., 1996):

- Solúvel em água
- Trocável
- Ligado a carbonatos
- Ligado à matéria orgânica
- Residual

Contudo, vários são os problemas relativos às técnicas de extração propriamente ditas (Ross, 1994; Candelaria & Chang, 1997; Hayes & Trainá, 1998; Sauvé et al., 1998; Kot & Namiesnik, 2000): i) falta de seletividade dos extratores; ii) readsorção e redistribuição do elemento durante o processo de extração; iii) influência da relação solo:solução extratora na distribuição do elemento de interesse; iv) mudança da solubilidade dos compostos minerais e orgânicos durante o curso das extrações.

Assim mesmo, pelo fato de permitir a comparação de frações quimicamente similares, a extração sequencial tem sido preferida nos estudos de especiação da fase sólida do solo (Tack & Verloo, 1995; Candelaria & Chang, 1997; Dean et al., 1998; Quevauviller, 1998), havendo, até, um grande esforço de se criar um protocolo definido e único para que os resultados possam ser comparados no mundo todo e usados, também, em legislação ambiental (Tack & Verloo, 1995; Quevauviller, 1998).

1.2.3.3 – Fase líquida

Vários parâmetros-chaves da solução do solo têm um impacto dramático na especiação do íon metálico, a exemplo do pH e do pE na concentração total do íon metálico. Esses parâmetros determinam, em grande parte, quais as espécies que irão predominar e se a hidrólise, precipitação, complexação ou reações de sorção ocorrerão. Com vistas a ilustrar melhor o assunto, algumas considerações serão realizadas com base nos textos de Sposito (1989), Kabata-Pendias & Pendias (1992), Ross (1994), Alloway (1995), Berthelin et al. (1995), Stumm & Morgan (1996), Hayes & Traina (1998), Rieuwerts et al. (1998ab).

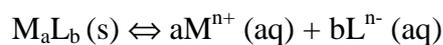
Na ausência de concentração elevada de ligantes complexantes, a mais importante classe de reações em sistemas aquosos é a protonação (ou hidrólise). Em função do pH, os metais podem passar por uma série de reações de protonação, que podem ser representadas da seguinte forma:



Em geral, pode se observar que, à medida em que o pH aumenta, há uma tendência a formação de hidróxidos do metal. E, quanto maior for a 1ª constante da hidrólise ($< pK_1$), em menor pH serão formados as primeiras espécies do metal hidrolizado ($Me(OH)^{n-y}$), como é o caso do Fe.

Condições redox também mudam a reatividade dos metais na solução do solo. A reação mais comum é a da mudança do estado de oxidação. Na medida que o pE aumenta, a forma predominante irá do estado reduzido para o oxidado.

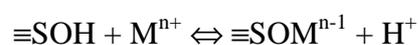
O equilíbrio dissolução/precipitação pode controlar a concentração dos metais e dos ligantes em solução do solo através da reação genérica:



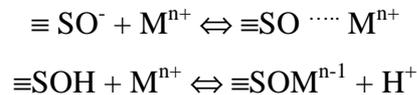
Também a formação de complexos com ligantes orgânicos e inorgânicos é outro fator que afeta fortemente a especiação de íons metálicos. A propensão dos ânions em formarem complexos estáveis com um dado íon metálico pode ser estimada pela regra: ácidos “duros” tendem a formar complexos mais estáveis com bases “duras” enquanto ácidos “moles” o fazem com bases “moles”. Bases “duras” incluem os ânions inorgânicos mais comuns da solução do solo, ou seja, o nitrato, sulfato, fluoreto, hidroxila e carbonato. Além disso, vale ressaltar que a água é a base de Lewis mais “dura” e o cloreto é considerado uma base intermediária. A maioria dos metais traço são ácidos intermediários, daí uma tendência em serem formados complexos aquosos com bases “moles” ou limítrofes, entre os quais se destacam os cloro complexos.

A reação de certos íons metálicos com a superfície dos minerais de solo (sorção) também exerce um controle sobre a especiação, já que uma significativa fração do metal pode ser adsorvida, diminuindo sua concentração na fase aquosa. Dentre os principais processos destacam se:

- Complexação na superfície do sólido \Rightarrow Em ambiente oxidico, as superfícies mais reativas são aquelas compostas por grupos funcionais hidroxilados. A reação do metal com essas superfícies é análoga à hidrólise:



- Troca iônica em sítios de carga fixa (substituição isomórfica) \Rightarrow Dependendo da extensão e da localização da substituição isomórfica, metais podem formar complexos de esfera interna ou externa com os sítios de carga fixa:



Em função da carga e do raio iônico do metal, a reação de complexação pode ser favorável ou não. À medida em que o processo de adsorção na superfície pode mudar para a formação de polímeros multinucleares ou de precipitados, a densidade das espécies sorvidas na superfície de óxidos metálicos aumenta:



Formas sólidas de material húmico podem adsorver, extensivamente, íons metálicos. Quando o húmus do solo contém grandes quantidades de carboxila, fenóis, aminas e carbonilas, significantes quantidades de metais podem ser retidas em complexos de esfera interna ou externa.

A partir do exposto, a especiação, na solução do solo, tem sido realizada, então, de três formas:

- a) com base em programas de computação, a partir do conhecimento das atividades dos íons de interesse e das constantes de estabilidade dos complexos mais comumente encontrados em solos;
- b) com base em técnicas de leitura direta;
- c) com base na combinação de técnicas de separação e detecção.

1.2.3.3.a – Modelos computacionais

A concentração total do metal que existe na solução do solo será a soma do metal “livre” e o contido nos complexos (Allen, 1993; Stumm & Morgan, 1996):

$$C_M = [M^{n+}] \cdot (1 + \sum \beta_{ML_n} \cdot [L]^{-n})$$

Em que, C_M é a concentração total do metal (M), β_{ML_n} representa uma constante de formação genérica de um dado complexo e L é um ligante genérico. Desta forma, a distribuição das espécies do metal pode ser calculada, aplicando os princípios termodinâmicos do equilíbrio químico.

Dentre os modelos computacionais existentes, o que mais se destaca na literatura é o Geochem-PC (Mattigod & Zachara, 1996). Segundo Parker et al. (1995b), esse programa é um descendente do programa de especiação multipropósito Geochem (Sposito & Mattigod, 1979), o qual é uma progênie da série de programas REDEQL (REDQL2). A diferença reside no fato de que o Geochem-PC expandiu a base de dados, permitindo o uso de mais metais, ligantes, complexos e sólidos de interesse na química do solo.

O modelo computacional se baseia no balanço de massa de todas as espécies componentes e em considerações termodinâmicas para as reações passíveis de ocorrerem. Desta forma, ele desenvolve uma série de equações não lineares, que relacionam a concentração molar de cada espécie com a constante de estabilidade condicional (ajustada pela força iônica) para os complexos ou sólidos que podem se formar. Essas equações são resolvidas, simultaneamente, usando uma variação do método Newton-Raphson, até que a soma das concentrações de todos os metais e ligantes esteja de acordo com as concentrações iniciais de entrada, com um grau de precisão (critério de convergência) selecionado pelo usuário, mas que, normalmente, é tomado como 0,01%. No caso em que a força iônica (I) não é estipulada pelo usuário, o critério de convergência também levará em consideração as diferenças entre o I e as constantes de estabilidade condicionais calculadas em cada rodada de cálculo. Nestes casos, a precisão é de 0,5%.

É evidente, contudo, que a aplicação desse e de outros modelos complica quando há a falta de dados sobre a constante de estabilidade de espécies significativas, tais como as relacionadas com substâncias húmicas (Allen, 1993; Ross, 1994; Hayes & Traina, 1998). Nestes casos, um sem número de aproximações têm sido testadas (Sposito, 1981; Sposito et al., 1982; Sposito, 1986; Grimm et al., 1991).

Com base no exposto, fica claro que procedimentos analíticos não devem ser dispensados, mas utilizados na validação, controle e melhoria desses programas (Verloo & Eeckhout, 1990; Candelaria et al., 1995).

1.2.3.3.b – Leitura direta

Vários esquemas analíticos foram propostos para a especiação direta na fase aquosa. Dentre eles, se destacam:

- Eletrodo íon seletivo \Rightarrow apesar de possibilitarem a leitura direta da concentração do íon livre, muito tem se questionado sobre a precisão de seus resultados. Assim mesmo, é um instrumento útil para monitorar a formação de complexos, posto que detecta mudanças na atividade química do íon (Verloo & Eeckhout, 1990; Mattigod, 1995; Tack & Verloo, 1995);
- Métodos polarográficos e voltamétricos \Rightarrow São os mais promissores. Como o sinal depende da característica cinética da espécie metálica em solução, isto pode ser usado na determinação de formas livres do metal e na diferenciação entre complexos fortes e lábeis. Porém, há numerosas condições experimentais que devem ser controladas, tais como interferência de surfactantes e a existência de ligantes com baixa cinética (Verloo & Eeckhout, 1990; Nor & McNeal, 1993; Tack & Verloo, 1995).
- Diálise \Rightarrow A amostra é equilibrada com uma membrana permeável e seletiva, permitindo somente a difusão do íon livre. Há, contudo, problemas de sensibilidade (limite de detecção alto) e da possibilidade de migração, também, de ácidos orgânicos de pequena massa molecular (Berggren, 1989; Tack & Verloo, 1995).

1.2.3.3.c – Combinação de técnicas

A maioria dos trabalhos aponta para o uso da técnica cromatográfica, associada à detecção por técnicas espectrométricas atômicas, como sendo o procedimento com maiores perspectivas de promover seletividade nos estudos de especiação (Ure, 1991; Tack & Verloo, 1995; Das & Chakraborty, 1997; Hill, 1997; Kot & Namiesnik, 2000; Das et al., 2001; Bi et al., 2001). Concomitantemente, devido à própria natureza da solução do solo, onde os ligantes mais abundantes são os compostos orgânicos (substâncias húmicas e ácidos orgânicos de pequena massa molecular) e a água (Berggren, 1989; Kabata-Pendias & Pendias, 1992; McLean & Bledsoe, 1992; Driscoll et al., 1994), fica fácil de se entender o porque da tendência em se utilizar a cromatografia por

exclusão de tamanho nesse tipo de estudo (Tack & Verloo, 1995; Mattigod, 1995; Morrow et al., 1996; Das & Chakraborty, 1997; Bi et al., 2001).

A tabela 3 exemplifica as principais espécies de certos elementos, relevantes na química de solos, normalmente encontrados em soluções de solos bem aerados.

Tabela 3. Principais espécies químicas, em solução de solo, de alguns elementos químicos (Sposito, 1989).

Cátion	Solo Ácido	Solo Alcalino
Ca ²⁺	Ca ²⁺ , CaSO ₄ , org ^(a)	Ca ²⁺ , CaSO ₄ , CaHCO ₃ ⁺
Mg ²⁺	Mg ²⁺ , MgSO ₄ , org ^(a)	Mg ²⁺ , MgSO ₄ , MgCO ₃
Zn ²⁺	Zn ²⁺ , ZnSO ₄ , org ^(a)	ZnHCO ₃ ⁺ , ZnCO ₃ , org ^(a) , Zn ²⁺ , ZnSO ₄ , ZnB(OH) ₄ ⁺
Al ³⁺	org ^(a) , AlF ²⁺ , AlOH ²⁺	Al(OH) ₄ ⁻ , org ^(a)
Fe ²⁺	Fe ²⁺ , FeSO ₄ , FeH ₂ PO ₄ ⁺	FeCO ₃ , Fe ²⁺ , FeHCO ₃ ⁺ , FeSO ₄
Fe ³⁺	FeOH ²⁺ , Fe(OH) ₃ , org ^(a)	Fe(OH) ₃ , org ^(a)
Mn ²⁺	Mn ²⁺ , MnSO ₄ , org ^(a)	Mn ²⁺ , MnSO ₄ , MnCO ₃ , MnHCO ₃ ⁺ , MnB(OH) ₄ ⁺

(a) complexos orgânicos.

Obs.: A ordenação da esquerda para direita reflete, a grosso modo, a ordem decrescente de significância.

1.3 - Objetivos e Justificativas

Os objetivos da presente tese de doutorado serão enumerados logo abaixo. Previamente, cumpre observar que especial atenção será dada aos elementos alumínio, ferro e manganês, devido à sua importância na fisiologia dos seres vivos que utilizam a solução do solo como meio de nutrição (Tan, 1994). Além disso, suas associações com complexos húmicos e minerais vêm sendo bastante estudadas, o que permitirá avaliar e interpretar os resultados obtidos (Sposito, 1989; Lindsay, 2001).

Objetivo 1: Estudo da influência da velocidade e tempo de extração (Experimento 1).

A técnica de extração da fase aquosa do solo por centrifugação tem sido pouco explorada no Brasil, o que pode ser observado pelo pequeno número de trabalhos encontrados em revisão de literatura (Miranda, 1993; Klepker & Anghinoni, 1994; Salet, 1994; Silva, 1996; Casartelli, 1999). Além disso, nenhum desses trabalhos avaliou a influência de diferentes combinações entre velocidade e tempo de centrifugação, fato que, conforme citado no subitem 1.1.3, pode afetar a obtenção da “verdadeira” solução do solo. No que diz respeito à literatura internacional, também não existe uma padronização. Dos 74 artigos encontrados, que aplicaram a extração da solução do solo por centrifugação (Anexo 1, p.130),

pode se observar que só 35% relataram a velocidade com base na força centrífuga relativa (FCR). Isso seria o primeiro passo para uma eventual padronização, visto que existem inúmeros modelos de centrífuga, com os mais variados raios. Além disso, como também se observa para aqueles que relataram a velocidade em rotações por minuto (rpm), os valores são extremamente variáveis, não apresentando uma tendência de faixa de valor médio. Já com respeito ao tempo, existe, ao contrário, uma tendência de se utilizarem os tempos de 30 e 60 min (28% cada). É surpreendente, porém, observar que em 9 trabalhos (12%) não há sequer menção ao tempo de centrifugação utilizado.

Os poucos estudos internacionais que tentaram relacionar a composição da solução do solo extraída com a velocidade e tempo de centrifugação também exibem resultados controversos, o que, provavelmente, deriva dos tipos de solos usados. Campbell et al. (1989), para solos ingleses, observaram, com o aumento da força centrífuga, diferenças significativas na extração de cálcio, potássio, sulfatos e fosfatos mas não encontraram grandes variações nos teores de sódio, magnésio, carbono orgânico total, cloreto e sílica. Ross & Bartlett (1990), estudando amostras de solos americanos, encontraram maior extração de fluoretos, cloretos e sulfatos pelo aumento da força centrífuga. Já Gillman (1976), estudando solos da Austrália; Edmeades et al. (1985), estudando solos da Nova Zelândia; e Zabowski & Ugolini (1990), estudando outros solos americanos, não encontraram diferenças significativas para os cátions e ânions que analisaram.

Desta forma, propõe-se aqui, inicialmente, testar as três velocidades de rotação mais usadas em literatura, ou seja, 2000, 4000 e 6000 rpm (FCR de 560, 2260 e 5080 g) e dois tempos de extração (30 e 60 minutos).

Objetivo 2: Estudo da influência da forma de estocagem da amostra (Experimento 2).

Segundo Das et al. (2001), Ebdon & Pitts (2001), Donard (2001) e Emons (2001), a maioria das determinações de qualquer espécie de metal no ambiente depende, basicamente, de um procedimento analítico que é composto por 4 passos, a saber: 1º Coleta da amostra; 2º Armazenamento ou estocagem; 3º Preparação; 4º Determinação. Até agora, a maior parte dos esforços de pesquisaram visaram o 3º e 4º estágios. Contudo, se as características físico-

químicas das amostras não forem preservadas, nos estágios 1 e 2, nenhuma das informações obtidas terá valor científico.

Para propósitos de análise de solo, a secagem ao ar, ou em estufa de circulação de ar forçado, tem sido o método mais amplamente usado (Rubio & Vidal, 1995; Hani, 1996; Houba et al. (1997). No entanto, já é esperado que isso interfira em vários processos que ocorrem no fase sólida do solo, o que afetará, provavelmente, a composição da solução do solo (Rubio & Vidal, 1995; Hani, 1996; Hill, 1997). Nesse sentido, a fim de minimizar esses efeitos indesejados, tem se proposto a preservação da amostra úmida, como coletada em campo, em refrigeração (4°C) ou, até mesmo, em freezer (-20°C), conforme descrevem Rubio & Ure (1993), Rubio & Vidal (1995), Hani (1996), Hill (1997), Dean et al. (1998).

Analisando os 74 artigos que aplicaram a extração da solução do solo por centrifugação (Anexo 1, p.130), nota-se uma clara divisão entre aqueles 46% que preferem utilizar a amostra com a umidade em que foi coletada no campo e aqueles 26% que utilizam o reumidecimento da amostra seca. No entanto, poucos são os trabalhos que aplicaram técnicas de refrigeração com vistas a permitir um maior tempo entre a coleta e a extração da água da amostra (4%).

Desta forma, pretende-se avaliar as mudanças geradas pela estocagem de amostra em diferentes formas, a saber: a) úmida, conforme coletada em campo, e analisada em período de 24h.; b) úmida, conforme coletada em campo, mantida resfriada (4°C) e analisada ao final de 15 dias; c) úmida, conforme coletada em campo, mantida em freezer (-20°C) e analisada ao final de 15 dias; d) seca, destorroada e reumedecida à capacidade de campo; e) seca, destorroada e reumedecida à umidade em que foi coletada no campo.

Objetivo 3: Combinação de separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) para especiação de alumínio, ferro e manganês em Solução de Solo (Experimento 3).

Complexos orgânicos compõem uma das principais formas em que os elementos Al, Fe e Mn ocorrem na solução do solo (Tabela 3, p.40). Como pode se ver pela tabela 2 (p.23), a diferença de massa molecular, que se reflete em tamanho, é bastante grande entre os dois principais componentes húmicos do solo,

ou seja, os ácidos húmicos e fúlvicos, o que permite a sua separação por CLAE, usando coluna de separação por exclusão de tamanho (Figura 6).

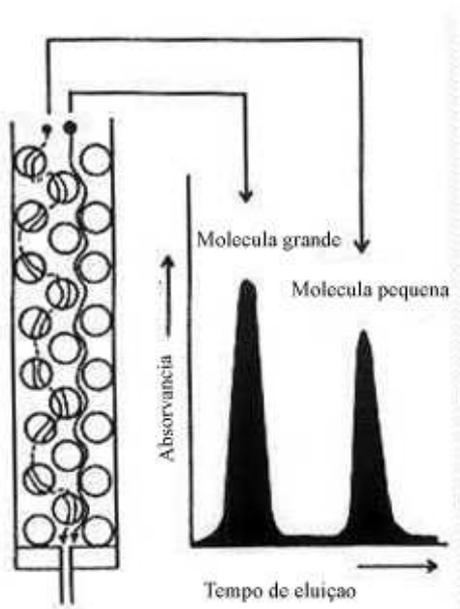


Figura 6. Esquema do funcionamento de uma coluna de exclusão por tamanho: quanto menor a partícula, mais tempo gasta nos poros da fase estacionária e mais tempo leva para ser eluído; quanto maior, mais rapidamente é eluído (adaptado de Stevenson, 1994).

Os levantamentos bibliográficos realizados por Graetz & Volk (1983) e Nobili et al. (1989) associados a pesquisa realizada na presente tese (Anexo 2, p.134), demonstram que essa técnica vem sendo aplicada em solos desde a década de 60, mas com maior intensidade no final da década de 90. Contudo, Gregson & Alloway (1984) foram, aparentemente, os primeiros a aplicar essa técnica, em solução de solos, estudando a distribuição das espécies de chumbo em amostras de solos ingleses. A partir disso, outros pesquisadores realizaram estudos similares, alterando, contudo, o elemento e o tipo de coluna cromatográfica, embora todas fossem de exclusão por tamanho (Tabela 4).

Tabela 4 . Algumas características dos trabalhos que aplicaram a separação por CLAE, com coluna de exclusão de tamanho, e detecção por espectrometria de absorção atômica ou de plasma para solução do solo.

Fonte	Elemento Determinado	Amostra (Origem)	Coluna	Separação (Da) ¹
Gregson & Alloway (1984)	Pb	Inglaterra/ Noruega	Sephadex G-50 Sephadex G-100	1.500-30.000 (ptn ² .) 4.000-150.000 (ptn.)
Gardiner et al. (1987)	Al	USA	Superose 12	1.000-300.000 (ptn.)
Morrisson & Park (1990)	Cu	Inglaterra	TSK G3000 SW	10.000-500.000 (ptn.)
Kerven et al. (1995)	Al, Fe, Mn	Austrália	Fractogel TSK HW40(S)	100-5.000
Hees et al. (1996)	Al, Si	Suécia	Sephadex G-10 Bio-Gel P2	Limite exclusão 700 100-1.800
Tsunoda et al. (1997)	Al	Japão	Shodex Asahipac-320HQ	40.000 (limite exclusão)
Casartelli (1999)	Lantanídeos	Brasil	Toyopearl HW-40S	100-10.000 (ptn.)

1. Wu (1999); 2. Faixa determinada por padrões de proteínas.

Quanto ao tipo de eluente usado (Anexo 2, p.134), vale observar que, para solução de solos, aplicou-se uma variedade de soluções, que vão desde a água até tampões. Contudo, a grande maioria, utiliza água ou soluções salinas simples com força iônica próxima à da própria solução do solo (Anexo 2, p.134). No presente estudo, serão testados dois tipos de eluentes, a água e uma solução de NaCl com força iônica próxima a média das soluções de solo obtidas (em torno de 0,01 mol L⁻¹). Soluções tampão foram evitadas pela possibilidade de competição pelos metais complexados aos ligantes do solo. O NaNO₃, embora muito citado, foi também evitado por apresentar absorvância próxima a 270 nm (Krull & Szulc, 1997), o que pode interferir nos resultados de varredura que serão usados (vide material e métodos).

A utilização de um detector de alta sensibilidade, tal como o espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite, permitirá, então, quantificar o Al, Fe e Mn presentes nas diferentes frações eluídas.

Uma vez otimizada, essa técnica será aplicada a diferentes situações de manejo e gênese de solo, a fim de avaliar a existência de processos de acumulação e mobilidade preferenciais das diferentes espécies dos elementos em questão. Além disso, como objetivo secundário, pretende-se, em alguns casos, testar o uso de dois tipos de eluentes (água e NaCl 0,01 mol L⁻¹) e a influência que certos tipos de armazenamento têm sobre os resultados de especiação.

2) MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Reagentes

Os reagentes utilizados e sua origens estão listadas abaixo

- Água destilada (Destilador Quimis);
- Água bi-destilada (Destilador Quimis);
- Água de alta pureza, resistividade $< 18\text{m}\Omega\text{ cm}^{-1}$, com base na sequência bidestilador de quartzo seguido de demineralizador Barnstead NANOpure;
- Água de alta pureza, resistividade $< 18\text{m}\Omega\text{ cm}^{-1}$, com base na sequência destilador (Quimis) seguido de deionizador (Permuton) e, por fim, demineralizador Milli-Q Plus da Millipore;
- Água de alta pureza, resistividade $< 18\text{m}\Omega\text{ cm}^{-1}$, com base na sequência; bidestilador de quartzo seguido de demineralizador Milli-Q BioCell da Millipore;
- Etanol grau HPLC, Merck (Lichrosolv);
- Acetona, P.A., Merck;
- Ácido calcon-carboxílico, P.A., Merck;
- Ácido clorídrico, Merck (Suprapur) e P.A. do Grupo Química, Isofar, J.T.Baker ou Merck;
- Ácido fósfórico, 85% P.A., RioLab;
- Ácido nítrico 65%, Merck (Suprapur) sub-destilado e P.A. do Carlo Erba e Merck;
- Ácido oxálico, P.A., Merck;
- Ácido sulfúrico, P.A., Synth;
- H_2O_2 , P.A., Vetec;
- Hidróxido de amônio, P.A., Grupo Química;
- Hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} , ampola Titrisol da Merck;
- Hidróxido de sódio, P.A., J.T.Baker e Pro-Analysis;
- Hidroxilamina, P.A., Riedel de Haen;
- Azul de bromotimol, P.A., Merck;
- Acetato de amônio, P.A., Vetec;
- Acetato de cálcio, P.A., Vetec;

- Acetato de sódio, P.A., Química Moderna; Bicarbonato de sódio, P.A., Merck;
- Biftalato de potássio, P.A., Merck.
- Carbonato de sódio, P.A., Merck;
- Cianeto de potássio, P.A., Merck;
- Cloreto de potássio, P.A., Vetec;
- Cloreto de Sódio ultrapuro (99,99%), Merck (Suprapur);
- Dicromato de potássio, P.A., Mallinckrodt;
- Difenilamina, P.A., J.T. Baker;
- EDTA dissódico, P.A., Merck (Titriplex III);
- Fenolftaleína, P.A., Química Moderna;
- Negro de eriocromo T, P.A., Merck;
- Oxalato de cálcio P.A., Carlo Erba;
- Oxalato de sódio, P.A., Merck;
- Pirofosfato de sódio, P.A., Merck;
- Sulfato ferroso amoniacal, P.A., Merck;
- Trietalonamina, P.A., Vetec;
- Aprotinina grau HPLC da Sigma;
- Vitamina B₁₂, P.A., Sigma-Aldrich;
- Kit de proteínas de pequena massa molecular da Pharmacia, contendo Blue Dextran; Ovalbumina; Albumina; Ribonuclease A; Chymotrypsinogênio A.
- Padrão analítico multielementar IV da Merck (diluída em HNO₃ 1 mol L⁻¹);
- Padrão certificado DIONEX Five Anion Standard;
- Padrão certificado DIONEX Six Cation Standard;
- Padrão Titrisol de Fe de concentração 1,000 ± 0,002 g L⁻¹ em HCl 15%;
- Padrão Titrisol de Hidróxido de Sódio 1 mol L⁻¹, Merck
- Padrão Titrisol de Mn e Al de concentração 1,000 ± 0,002 g L⁻¹ em água;
- Padrão Titrisol de Na e K de concentração 1,000 ± 0,002 g L⁻¹ em água;
- Nitrogênio 99,99% da AGA e/ou 99,996% da White Martins;
- Argônio 99,99% da AGA e/ou Argônio líquido 99,998% da White Martins;
- Hélio 99,999% da AGA;
- Oxigênio 99,5% da AGA e/ou 99,99% da White Martins.

2.2 – Equipamentos para determinações analíticas

- ICP-OES da Perkin-Elmer modelo OPTIMA 3000;
- ICP-MS da Perkin-Elmer modelo ELAN 5000A e ELAN 6000;
- Cromatógrafo de íons da DIONEX modelo DX-100;
- Analisador elementar de carbono da Shimadzu modelo TOC-5000A;
- Analisador de carbono total de alta temperatura da Dohrmann modelo DC 190;
- Espectrômetro de absorção atômica da Analytik Jena modelo AAS ZEE nit 60 com forno de grafite;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência da Perkin-Elmer modelo 1022LC Plus acoplado com bomba da Perkin Elmer série 200LC e detector com arranjo de diodo (DAD) da Perkin-Elmer modelo 235C;
- Balança analítica Mettler modelo AE 200 do laboratório do Prof. Reinaldo Calixto da PUC-RJ, calibrada por padrão da TROEMNER certificado pelo National Voluntary Laboratory Accreditation Program (Certificado nº 93280);
- Balança analítica Mettler/Toledo modelo AB 204 da Embrapa Solos, calibrada por padrão da TROEMNER certificado pelo National Voluntary Laboratory Accreditation Program (Certificado nº 93280);
- Potenciômetro Orion modelo 710A dotado de eletrodo combinado Ag/AgCl da Analyon;
- Fotômetro de chama da Digimed modelo DM 61;
- Micropipetas de volume fixo (50, 100 e 1000 μL) e de volume variável (20 a 100 e 100 a 1000 μL) da Brand modelo Transferpette;
- Sistema de nebulização ultra-sônico da CETAC modelo U-5000AT⁺.

2.3 - Métodos

2.3.1 – Reumidecimento das amostras de solo utilizadas no experimento 1

Cerca de 100 g de cada uma das quatro amostras foram pesados em bequer de teflon e umedecidas com água demineralizada até atingirem o valor da capacidade de campo. Durante o processo de molhamento, o solo foi homogeneizado com um bastão de teflon e, ao final, a boca do bequer foi fechada com parafilme e pesada. As amostras foram, então, acondicionadas em uma caixa de papelão que foi lacrada e protegida em local escuro, a fim de se evitar a entrada de luminosidade. Com isso, esperava-se diminuir o possível interferência derivada do rápido crescimento de microorganismos, como já sugerido por (Ross & Bartlett, 1990). Decorridas 24 h, era feita uma checagem do peso, que nunca variou mais de 0,1 % do peso original, para todas as amostras, e realizada uma nova homogeneização do solo. Logo depois, procedia-se à colocação e pesagem do solo no filtro, respeitando a recomendação do fabricante da centrífuga de não haver diferença maior que 0,05 g entre cada par de tubos. Após cada centrifugação, o tubo era pesado, a fim de checar alguma possível perda e, também, para calcular a eficiência de extração de água. Uma alíquota de 2 mL era, então, levada imediatamente para medição de pH e condutividade, outra alíquota (em torno de 5 mL) era pré-acidificada com HNO₃ suprapur sub-destilado (até 0,1 % m/v) para posterior análise por ICP-OES com nebulização ultrasônica; outra alíquota (em torno de 3 mL) era levada para análise de ânions inorgânicos por cromatografia iônica; outra alíquota (em torno de 1 mL) foi diluída, pré-acidificada com HNO₃ suprapur (pH 2,0) e levada para análise de carbono orgânico dissolvido (COD).

2.3.2 – Determinação de Ca, Mg, Na, K, Al, Fe, Mn, Cu, Zn nas soluções de solo obtidas no experimento 1.

Foi aplicada a técnica de espectrometria de emissão por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Para isso, utilizou-se o equipamento Perkin-Elmer modelo OPTIMA 3000 da Embrapa-Solos, cujas condições de operação estão listadas no quadro 1. Todas amostras foram analisadas em triplicata. Todos os passos analíticos foram controlados através de software ICP WinLab instalado em

computador Pentium 266. O sistema de nebulização utilizado foi o ultra-sônico a partir de equipamento CETAC modelo U-5000AT⁺.

A concentração dos elementos foi determinada com base em curva analítica obtida por diluição adequada do padrão analítico multielementar IV da Merck (diluído em HNO₃ 1 mol L⁻¹) e pelas respectivas áreas dos picos das linhas de emissão selecionadas, as quais foram: Ca – 317,932nm; Mg-279,076nm; Mn – 257,605nm; Fe – 238,199nm; Cu – 324,754nm; Zn – 213,858nm; Al – 308,211nm; Na – 330,234nm; K – 766,491nm.

Quadro 1. Condições de operação do ICP-OES.

Potência de radiofrequência	1500W
Vazão de argônio para o plasma	15 L min ⁻¹
Vazão de argônio auxiliar	0,5 L min ⁻¹
Vazão de argônio para o nebulizador	0,7 L min ⁻¹
Taxa de aspiração da amostra	2,0 mL min ⁻¹

2.3.3 – Determinação de Ca, Mg, Na, K, Al, Fe, Mn, Cu, Zn nas soluções de solo obtidas no experimento 2 e 3.

Foi utilizada a técnica de espectrometria de massa com um plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Para isso, utilizou-se do equipamento Perkin-Elmer modelo ELAN 5000A e ELAN 6000 da PUC-Rio. O instrumento estava equipado com conjunto de nebulizador Meinhard e câmara de nebulização ciclônica.

Os parâmetros operacionais principais encontram-se no quadro 2.

A solução para calibração foi preparada a partir do padrão analítico multielementar IV da Merck (diluída em HNO₃ 1 mol L⁻¹), na concentração de 50µg L⁻¹ de cada um dos 23 elementos. O método de calibração adotado foi o TotalQuant, visto que os resultados assim obtidos têm sido similares aos derivados do método quantitativo para matrizes até mais complexas do que a usada no presente estudo (Godoy, 2001). Cada amostra foi medida em triplicata.

Quadro 2. Condições de operação do ICP-MS.

Potência de radiofrequência	1050W
Vazão de argônio para o plasma	15 L min ⁻¹
Vazão de argônio auxiliar	1,0 L min ⁻¹
Vazão de argônio para o nebulizador	0,95 L min ⁻¹
Taxa de aspiração da amostra	1,0 mL min ⁻¹

2.3.4 – Determinação de Al, Fe, Mn na extração sequencial do experimento 3.

Foi aplicada a técnica de espectrometria de emissão por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Para isso, utilizou-se do equipamento Perkin-Elmer modelo OPTIMA 3000 da Embrapa-Solos. Neste caso, o nebulizador pneumático utilizado foi do tipo “cross-flow”, com injeção direta via ponteira de safira (“gem tips”). As condições de operação foram semelhantes às descritas no subitem 2.3.1.

2.3.5 – Determinação de F⁻, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ e NH₄⁺ nas soluções de solo obtidas nos experimentos 1 a 3.

Foi utilizado um cromatógrafo de íons da DIONEX modelo DX-100 com detetor condutivimétrico do Laboratório de Desenvolvimento Analítico (LaDA) da UFRJ. Para a separação e quantificação dos ânions inorgânicos foi empregada a coluna Ion Pac AS 12A, precedida de sua respectiva coluna-guarda, e a coluna de supressão ASRS-Ultra (auto-regenerante). O eluente utilizado foi uma mistura de Na₂CO₃ (2,7 mmol L⁻¹) e NaH₂CO₃ (0,4 mmol L⁻¹), no fluxo de 1,5 mL min⁻¹.

No caso do amônio, foi empregada a coluna de separação de cátions Ion Pac CS 12A, precedida de sua respectiva coluna-guarda, e a coluna de supressão CSRS-I (auto-regenerante). O eluente utilizado foi o H₂SO₄ 9 mmol L⁻¹, no fluxo de 1,0 mL min⁻¹. Nos dois casos, foi injetado um volume aproximado de 1 mL de amostra, ficando retidos no “loop” de injeção exatamente 50 µL.

A calibração do equipamento foi realizada com base em diluições adequadas de 2 padrões da DIONEX, o “six cations standard”, contendo Ca²⁺, Mg²⁺, Li⁺, Na⁺, K⁺, NH₄⁺, e o “five anions standard”, contendo F⁻, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ e PO₄³⁻. Uma interface UI 20, da DIONEX, permitia o gerenciamento do processo analítico através do software PeakNet v.3.0, instalado em computador Pentium II. As amostras e padrões foram lidos em triplicata, sendo considerada, para efeito de cálculo, a área de cada pico.

2.3.6 – Determinação de carbono orgânico dissolvido (COD) nas soluções de solo obtidas nos experimentos 1 a 3.

Para os experimentos 1 e 2, foi empregado o analisador elementar Shimadzu modelo TOC-5000A do laboratório da PUC-Rio. Este equipamento mede o carbono total, carbono inorgânico e o carbono orgânico total em matriz aquosa. Sua operação se baseia na análise dos gases, por infravermelho, após a combustão

da amostra a 680°C. A introdução da amostra se deu através de injeção automática, em volumes que variaram de 50 a 166 µL, definidas em função da calibração do equipamento. A priori, todas as amostras foram pré-acidificadas com HCl 2mol L⁻¹ e expurgadas com O₂, a fim de eliminar a possível interferência de carbono inorgânico. Uma coluna de catalisador de alta sensibilidade foi empregada.

No caso do experimento 3, foi empregado um analisador de carbono total de alta temperatura da Dohrmann modelo DC 190 da PUC-Rio. O princípio de funcionamento é o mesmo do descrito anteriormente; contudo, nesse caso, a injeção foi manual e fixada para volume de 50 µL

2.3.7 – Determinação de Fe, Mn, Al nas frações eluídas do experimento 3.

Para o experimento 3, foi utilizado o espectrômetro de absorção atômica da Analytik Jena modelo AAS ZEE nit 60 (Figura 7), com forno de grafite aquecido transversalmente e correção de fundo (“background”) por efeito Zeeman. A introdução da amostra se deu através de injeção automática, por amostrador modelo MPE 60, dotado de carrossel com 89 posições e capacidade máxima de injeção de 50 µL. Esse equipamento apresenta, também, algumas características que lhe conferem uma grande eficiência analítica com respeito a outros similares: a) ajuste automático de comprimento de onda, da abertura do monocromador (“slit”) e da energia da lâmpada; b) trocador de lâmpadas automático com capacidade para 6 lâmpadas e ajuste automático da sua posição; correção de fundo arranjado transversalmente e com microprocessador modulado e campo magnético bipolar com 2 modos de correção; c) tubo de grafite piroliticamente recoberto, com plataforma integrada e capacidade máxima de 50 µL; d) gerenciamento do processo analítico através do software WinAAS v.3.30, instalado em computador Pentium III. Os programas de temperatura, utilizados na determinação de Al, Fe, Mn, foram alvo de estudo, que será apresentado na discussão do experimento 3, apesar de já existirem programas “default”. Esta decisão foi tomada em função da necessidade de se fazer uma checagem dos parâmetros operacionais sempre que se trabalha com novos tipos de amostras (Welz & Sperling, 1999).

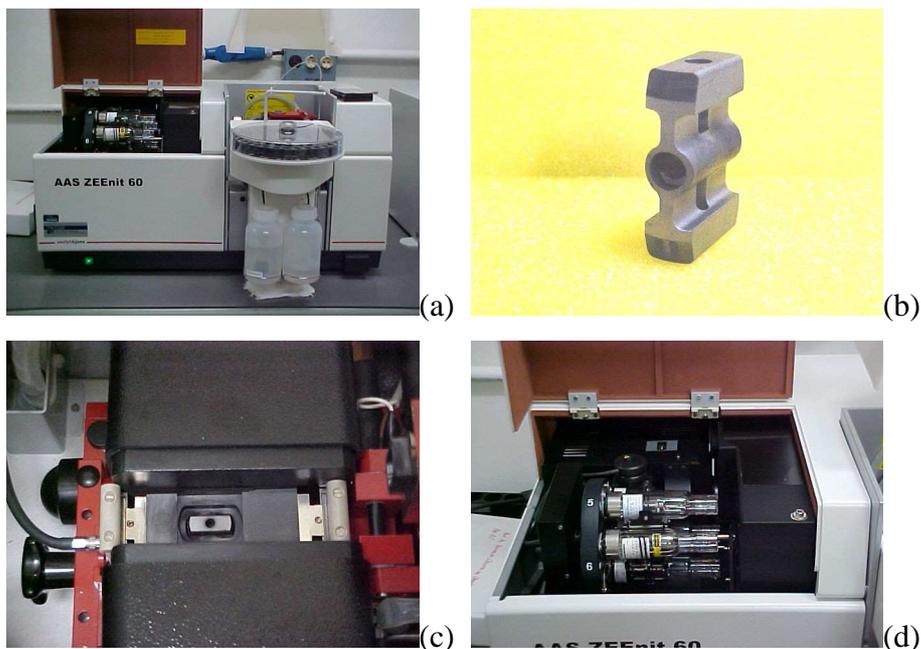


Figura 7. Detalhes do espectrômetro de absorção atômica da Analytik Jena modelo AAS ZEE nit 60: a) vista geral; b) detalhe do tubo e plataforma de grafite; c) detalhe do forno de grafite transversal; d) carrossel de 6 lâmpadas.

2.3.8 - - Especificação química de Al, Fe, Mn por separação em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Para o experimento 3, foi utilizado o cromatógrafo líquido de alta eficiência da Perkin-Elmer modelo 1022LC Plus consistindo de bomba peristáltica série 200LC (Perkin Elmer) e detector por arranjo de diodo (DAD), modelo 235C (Perkin Elmer) (Figura 8). Os cromatogramas foram gerados por software dedicado ao modelo 1022LC Plus e impressos em impressora matricial da Okidata, modelo Microline320.

A coluna selecionada foi do tipo exclusão por tamanho, da Pharmacia, modelo Superdex 75 HR, com diâmetro interno de 10mm e altura da coluna variando entre 29 e 31 cm, em função do tipo de eluente usado. Esta escolha teve como base: a) o fato de sua faixa ótima de separação (entre 3000 e 70000 Da, para proteínas globulares) englobar os pesos moleculares mais comumente associados aos ácidos húmicos e fúlvicos (Tabela 2, p.23), principal alvo desse estudo; b) a fase estacionária ser composta de um misto de agarose e dextrana, que apresenta maior resistência à pressão, permitindo maiores fluxos de eluente (Kagedal et al., 1991), e menor quantidade de cargas residuais que poderiam reter o analito eluído (Williams & Hagel, 1999); c) ter sido usada com sucesso em trabalhos recentes, até com água como eluente (Hils et al., 1999; Mitrovic & Milacic, 2000). Vale

ressaltar que esse tipo de coluna não permite separar os ácidos orgânicos de baixo peso molecular (em torno de 500 Da) que, também, tem importância na complexação de metais em solo (Strobel, 2001).

As frações eluídas foram coletadas a intervalo de 0,3 min, por intermédio de coletor automático de frações da Pharmacia, modelo LKB-RediFrac, dotado de sensor de gota e carrossel com capacidade para 95 tubos. Foram utilizados tubos de polipropileno de 75x12 mm (aproximadamente 5 mL), com tampa ventilada (dois estágios). A fim de manter a integridade das concentrações metálicas, estas foram acidificadas com 30µL de solução HNO₃ suprapur 1:50, o que, no final, corresponde a, aproximadamente, 0,2% (m/v) de HNO₃.

Os eluentes foram escolhidos com base na literatura (Anexo 2, p.134) e na intenção de se manter a integridade da amostra, principalmente, no que concerne à força iônica das soluções de solo das amostras estudadas, que, em geral, encontrou-se em torno de 0,01 mol L⁻¹. Nesse sentido, a seleção recaiu sobre a água e sobre o NaCl 0,01 mol L⁻¹, embora, na literatura, seja sugerido o KCl. Essa decisão se baseou no fato de que boa parte das concentrações metálicas, na solução do solo, se basearem no Na.

Os eluentes foram filtrados em sistema a vácuo dotado de filtro de acetato de celulose Millipore 0,45 µm, pré-lavado com água padrão Milli-Q. Soluções novas foram produzidas a cada dia em que se injetava uma amostra. Tanto o pH da água, como o da solução de NaCl, estiveram em torno de 5,6.

As principais condições de operação estão listadas no quadro 3.

Outros parâmetros relacionados ao teste de eficiência (nº de pratos teóricos), calibração e utilização desse sistema estão descritos no experimento 3.

Quadro 3. Condições de operação da CLAE.

Vazão	1 mL min ⁻¹
Integração de área do pico	Máxima absorvância na varredura entre 200 e 355 nm
Eluentes	Água padrão Milli-Q e solução de NaCl 0,01 mol L ⁻¹
Sistema de deaeração	Borbulhar de hélio no recipiente que continha os eluentes
Alça (“Loop”)	100 µL
Volume de amostra Injetada	500 µL

Todas as partes do sistema (Figura 8) que entraram em contato com o eluente eram constituídas de materiais plásticos, tais como PEEK, PTFE ou

polipropileno, de forma que contaminações oriundas do sistema de separação pudessem ser evitadas.

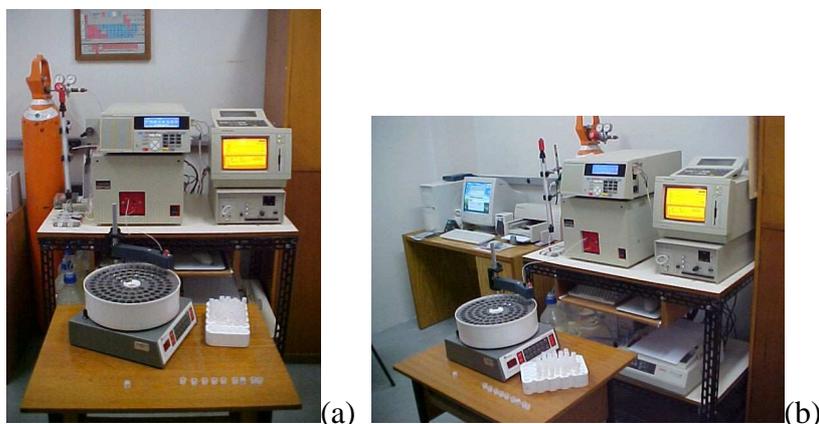


Figura 8. Visão do conjunto CLAE-DAD/Bomba/Coluna/Coletor de frações: a) frontal; b) lateral.

2.3.9 – Métodos de extração e análise da fase sólida do solo

A acidez ativa (Embrapa, 1997) foi determinada através do pH medido por potenciômetro (Orion modelo 710A), dotado de eletrodo combinado de Ag/AgCl (Analyon), na suspensão solo-água deionizada na proporção 1:2,5.

A capacidade de troca catiônica, CTC (Embrapa, 1997), foi determinada pela soma de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Na^+ , K^+ e H^+ . O Ca^{2+} + Mg^{2+} e o Al^{3+} foram extraídos com solução de KCl 1 mol L^{-1} (relação solo-solução de 1:10). Os dois primeiros foram determinados por titulação com EDTA dissódico 0,0125 mol L^{-1} , na presença dos indicadores Negro de Eriocromo T e Calcon, respectivamente. O Al^{3+} foi determinado por titulação com NaOH 0,025 mol L^{-1} , na presença do indicador azul de bromotimol. O Na^+ e o K^+ foram extraídos pela solução conhecida como Mehlich 1 (HCl 0,05 mol L^{-1} + H_2SO_4 0,0125 mol L^{-1}), na relação solo-solução, também, de 1:10 e determinados por fotometria de chama em Fotômetro da Digimed modelo DM 61. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L^{-1} a pH 7,0 (relação solo-solução de 1:15) e determinada por titulação com NaOH 0,025 mol L^{-1} , na presença de indicador fenolftaleína.

O carbono orgânico do solo, C.Org. (Embrapa, 1997), foi determinado por titulação de oxi-redução com sulfato ferroso amoniacal 0,102 mol L^{-1} , na presença de indicador difenilamina, após digestão com solução ácida de dicromato de potássio 0,0667 mol L^{-1} .

A granulometria, ou seja, a determinação dos teores de argila, silte e areia (Embrapa, 1997), foi determinada com base na lei de Stokes, após adição de dispersante químico (NaOH) e agitação (dispersão física) de uma suspensão de solo (relação solo-solução de 1:50). O teor de argila foi obtido por densimetria e o de areia com base no material retido em peneira de malha de 0,053mm.

Para a determinação da retenção de umidade (Embrapa, 1997), amostras de solo saturadas foram colocadas em placas de cerâmica, previamente saturadas, e submetidas à pressão correspondente à capacidade de campo (0,033 MPa), que representa, aproximadamente, a capacidade máxima de retenção de água pelo solo, após drenagem (Kiehl, 1979). A tensão aplicada e a saída de água são controladas por montagem conhecida como Extrator de Richards ou Panela de Richards. Paralelamente, a umidade atual do solo foi determinada pela diferença de massa entre a amostra coletada no campo, transportada em embalagem impermeável e vedada, e ela após 24h mantida em estufa, a 105-110 °C.

Na extração das frações húmicas do solo, a metodologia utilizada se baseou em Kononova (1966), com algumas modificações. A fim de facilitar a compreensão dos passos analíticos, apresenta-se a sequência de extrações nos fluxogramas contidos no Anexo 3 (p.141). Em todos os casos, as amostras foram maceradas em grau e pistilo de ágata azul antes de serem analisadas, o que se deu em triplicata. O teor de carbono foi determinado por titulação de oxi-redução com sulfato ferroso amoniacal $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, na presença de indicador difenilamina, após digestão com solução ácida de dicromato de potássio $0,0833 \text{ mol L}^{-1}$.

A extração sequencial foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Wasserman et al. (2001) e está apresentada na íntegra no Anexo 4 (p.145) e, de forma simplificada, na tabela 5.

Tabela 5. Esquema simplificado da extração sequencial aplicada Wasserman et al. (2001).

Fase geoquímica e seu significado	Etapa
Trocável + Levemente ácida: Fracamente ligado às cargas do solo e ligado a carbonatos	CH_3COOH (2 mol L^{-1}) + CH_3COONa (2 mol L^{-1}) 1:1; pH 4,7. Temperatura ambiente
Ambiente de Redução: Ligado a óxidos de Fe e Mn	$\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$); pH 2 Temperatura ambiente
Ambiente de Oxidação: Ligado a compostos lábeis da matéria orgânica	H_2O_2 (30%) + $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (1 mol L^{-1}); pH 2. Temperatura ambiente
Alcalino: Ligado a compostos orgânicos ou de Fe e Al resistentes	NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$); pH 12. Temperatura ambiente
Residual: Não mobilizado nas fases anteriores	Aqua regia. Aquecido a 50°C / 30min

A solução do solo foi extraída em um tubo especial (Maxi-Spin da Lida Manufacturing Corp.) constituído de duas câmaras conectadas por elemento filtrante em PVDF com malha de 0,45 μm (Figura 9). Todas extrações ocorreram em centrífuga de alta velocidade e refrigerada a 25°C da IEC modelo B-22M equipada com rotor nº 877 e adaptador de tubos 72310F. Os parâmetros de velocidade e tempo utilizados foram alvo de pesquisa e estão definidos no experimento 1.



Figura 9. Tubo de centrífuga empregado na obtenção da solução do solo.

2.4 – Amostras de solo utilizadas

2.4.1 – Experimento 1

Foram utilizados dois horizontes, um superficial e outro sub-superficial, de dois solos classificados como Latossolo Amarelo ácrico e Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, correspondentes aos perfis 3MG e 5SP da III Reunião de Correlação e Classificação de Solos (Embrapa, 1988). Além de possuírem mineralogia contrastante, o primeiro é um misto de caulinita e oxi-hidróxidos de Fe e Al e o segundo apresenta um forte predomínio de caulinita. Os dois solos representam a Ordem mais representativa do Brasil.

2.4.2 – Experimentos 2 e 3

Em função das diferenças marcantes de mineralogia, foram selecionadas duas áreas para amostragem. Uma, localizou-se no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, na área experimental conhecida como “Fazendinha”. O solo escolhido foi classificado como um Argissolo Vermelho-Amarelo Tb Distrófico (Embrapa, 1999a), em que ocorre o predomínio de caulinita, como

pode se verificar pelos valores de k_i , em torno de 2,1 (Embrapa, 1999b), e por alguns trabalhos realizados na região (Santos, 1986; Silva et al., 2001). Nesse solo, foram amostrados dois tipos de manejo, a saber, pasto natural, próximo a um resquício de mata (floresta secundária derivada de floresta tropical subcaducifólia), e milho cultivado de forma orgânica (Figura 10). Doravante, essas duas amostragens serão identificadas, no texto, como sendo, respectivamente, Pasto e Milho.



Figura 10. Argissolo Vermelho-Amarelo localizado em Seropédica (RJ) e que foi empregado nos experimentos 2 e 3. A esquerda está o solo sob cultivo de milho e a direita sob pastagem natural.

A outra área localizou-se no campo experimental do Centro Nacional de Pesquisa em Monitoramento Ambiental, localizado no município de Jaguariúna, Estado de São Paulo. O solo escolhido foi um Latossolo Vermelho Distroférico (textura argilosa), em que ocorre a presença de caulinita e de óxidos de ferro, como pode verificar-se pelos baixos valores de k_i , em torno de 1,3, e pela presença de fraca atração magnética (Embrapa, 2002). Nesse solo, foram amostrados quatro tipos de manejo, relacionados a um ensaio experimental com lodo de esgoto. O primeiro se refere à uma área contendo um resquício de mata (floresta secundária derivada de floresta tropical subcaducifólia), localizada próxima ao experimento, e os outros três se referem às parcelas do bloco 1 referentes às doses 0, 12 e 24 t ha⁻¹ de um lodo produzido na cidade de Franca-SP (Figura 11). Doravante, essas quatro amostragens serão identificadas, no texto,

como sendo, respectivamente, Mata, Absoluta, 12 e 24 t ha⁻¹.



Figura 11. Aspecto do Latossolo Vermelho localizado em Jaguariúna (SP) e que foi empregado nos experimentos 2 e 3. À esquerda está o solo sob cultivo de milho (amostra absoluta ou sem aplicação de lodo) e, ao fundo, a mata. A direita está o solo antes da aplicação do lodo e o próprio.

Em todos os casos, só as camadas superficiais (0-15 cm) foram alvo da amostragem, que foi realizada segundo o modelo de amostra composta, em que 6 sub-amostras foram coletadas aleatoriamente, na área no campo relativa a cada tipo de manejo, a fim de compor a amostra final. Vale ressaltar, no caso das amostras coletadas em Jaguariúna, que não houve nenhum compromisso com o delineamento experimental pré-existente, já que esse não era o interesse do presente estudo.

2.5 – Análise estatística empregada

No experimento 1, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) com base em modelo fatorial inteiramente casualizado. O teste de média empregado foi o de Tukey a $P < 0,005$ (Miller & Miller, 1993). No experimento 2 foi utilizada a ANOVA com base em modelo inteiramente casualizado. O teste de médias empregado também foi o de Tukey a $P < 0,005$.

Quando necessário, foi empregada a transformação de dados com vistas a estabilizar a variância da ANOVA (Steel & Torrie, 1960; Fernandez, 1992). Uma conveniente regra prática para decidir se a transformação é eficaz é encontrar a razão entre o maior e o menor valor de dados. Quando essa razão for superior a 20, então ela será útil (Fernandez, 1992). Dentre as várias possibilidades, as transformações logarítmicas, raiz quadrada e arco seno são as mais empregadas. Adotou-se a transformação $-\log_{10}$ da concentração molar para metais e ânions,

por ser muito comum em literatura, até como expressão de concentrações para fins de cálculos de equilíbrio e especiação (Mattigod & Zachara, 1996; Stumm & Morgan, 1996; Lindsay, 2001). Contudo, algumas adaptações foram realizadas, em função da existência de valores abaixo do limite de detecção (LD): i) quando ocorriam poucos valores (um ou dois) abaixo do LD, utilizava-se o próprio valor do LD na ANOVA; ii) se muitos valores encontravam-se abaixo do LD, resolveu-se utilizar a transformação $\sqrt{(x+1)}$. Em todos os casos que isso foi aplicado, fez-se uma nota no texto. A transformação arco seno foi utilizada para valores expressos em percentual. As curvas de calibração foram calculadas segundo o método dos mínimos quadrados num modelo de regressão linear ($y = ax + b$) através do programa Excel. Com vistas a testar a hipótese de que o coeficiente linear (b) não diferia de zero, ou seja, de que não havia erros sistemáticos, calculou-se o intervalo de confiança em torno de \underline{b} (Miller & Miller, 1993; Pimentel & Neto, 1996). Em todas as situações do presente trabalho, a hipótese inicial foi aceita, isto é, a curva analítica pode passar pela origem. Qualquer outro teste estatístico que, porventura tenha sido aplicado estará descrito sucintamente no texto. O principal pacote estatístico empregado foi o SAS (SAS INSTITUTE, 2001). Quando necessário, empregou-se, também, a ferramenta de análise de dados do EXCEL da Microsoft.

2.6 – Modelo de cálculo de balanço de massas e de carga utilizado

O programa Geochem-PC foi escolhido, por se tratar de um modelo desenvolvido especificamente para calcular a especiação de elementos químicos em solução do solo, fase sólida e adsorvida (Ross, 1994; Parker et al., 1995a). Além disso, ele é de domínio público, sendo o mais citado em literatura (Verloo & Eeckhout, 1990; Mattigod & Zachara, 1996).

Como vários modelos de equilíbrio, o Geochem-PC compreende quatro componentes principais (Parker et al., 1995b): i) interface que permite ao usuário colocar os dados; ii) base de dados de constantes de equilíbrio selecionada pelos autores, mas passível de ser alterada pelo usuário; iii) algoritmo numérico que permite resolver o problema; iv) interface que apresenta os resultados em formato que permite edição e impressão. Vale ressaltar que o “input” é dado pelo $-\log_{10}$ da concentração molar dos cátions e dos ânions de interesse, e que, no presente estudo, foram 9 e 4 os determinados, respectivamente, além do H^+/OH^- .

Uma das maiores limitações desses modelos de especiação, porém, está na dificuldade em se caracterizar o ligante orgânico presente. Mattigod & Sposito (1979) e Sposito et al. (1982) desenvolveram, então, um modelo (“Mixed Model”) para o Geochem-PC, que vem sendo aplicado até hoje com razoável sucesso (Ross, 1994; Candelaria et al. (1995). Esse modelo assume que, em 226 mg/L do carbono orgânico presente na solução do solo, existe uma distribuição de nove compostos orgânicos, conforme descrito na tabela 6.

Tabela 6. Distribuição dos componentes orgânicos, que representariam as substâncias húmicas, segundo o modelo “Mixture Model” (Mattigod & Sposito, 1979; Sposito et al., 1982).

Ácido	Concentração em $-\log C_T$
Arginina	4,49
Benzenosulfônico	4,27
Cítrico	4,14
Lisina	4,36
Maleico	3,97
Ornitina	4,36
Ftálico	3,97
Salicílico	4,27
Valina	4,36

Apesar de todos os problemas que esse tipo de suposição possa ter, ainda é melhor calcular um possível efeito dos ligantes orgânicos do que desconsiderá-los (Mattigod & Sposito, 1979; Mattigod & Zachara, 1996).

O balanço de cargas foi calculado, pelo programa, com base na relação percentual entre a carga líquida calculada e o total de cargas derivadas das espécies catiônicas na solução. Vale ressaltar que esse valor é fortemente afetado pelas incertezas dos dados que abastecem o programa. Por isso, contornou-se esse problema pelo uso de repetições independentes (2 a 3 replicatas) para cada tipo de amostra analisada.

Um exemplo das tabelas de saída provenientes dos cálculos de especiação do Geochem-PC encontra-se no Anexo 5 (p.147).

2.7 – Limpeza da vidraria

Todos recipientes e vidrarias utilizados, a exceção dos filtros, foram descontaminados com base no seguinte procedimento: imersão em solução de HCl 10% por, no mínimo, 2 dias; rinsagem com água deionizada três vezes; rinsagem com água demineralizada duas vezes; secagem ao ar em ambiente protegido;

estocagem em sacos plásticos fechados e acondicionado em caixas plásticas fechadas até o seu uso.

Utilizou-se o HCl ao invés do HNO₃, geralmente recomendado, pois o íon nitrato é, normalmente, mais diluído em soluções do solo do que o cloreto.

2.8 – Determinação do limite de detecção (LD)

Os limites de detecção para os metais determinados na solução do solo, tanto por ICP-OES como por ICP-MS, foram obtidos a partir de 20 medidas de água demineralizada, com base na fórmula (Analytical Methods Committee, 1987):

$$LD = 3\sigma_b/m,$$

em que σ_b é o desvio padrão das 20 leituras do branco e m é a inclinação da curva de calibração.

No caso dos ânions inorgânicos e do amônio, o limite de detecção foi calculado com base na curva de calibração, conforme descreve Taylor (1987). De maneira resumida, calculam-se os desvios padrões da leitura de cada concentração usada na confecção da curva de calibração (repetida, no mínimo, sete vezes) e constrói se um gráfico de dispersão em que a variável dependente são esses desvios padrões e a independente são as concentrações. Com isso, busca se, através de regressão linear ou quadrática, estimar o desvio quando a concentração é zero. Feito isso, o limite de detecção é calculado com base na fórmula já descrita acima.

3) RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Experimento 1: Estudo da influência da velocidade e tempo de extração

As principais características das amostras utilizadas neste experimento encontram-se na tabela 7, em que as amostras 1 e 2 pertencem ao Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico e as amostras 3 e 4 pertencem ao Latossolo Amarelo ácrico.

Tabela 7. Algumas características químicas e físicas das quatro amostras selecionadas.

Amostra	Horizonte (cm)	Argila	Carbono Org. g.kg ⁻¹	Capacidade de	CTC	Mineralogia ¹
				Campo (C.C)		
				cmol _c .kg ⁻¹		
1	Aep (0-20)	540	15.2	288	8.4	C > G > VHI
2	AB2 (39-53)	590	8.8	308	5.4	C > G > VHI
3	Ae (3-18)	540	28.5	266	13.2	C ~ G > VHI
4	Bw1 (30-68)	670	13.7	308	7.8	C ~ G > VHI

¹ C representa caulinita, G gibbsita, VHI vermiculita com hidróxi na entrecamada.

Essas amostras foram selecionadas, pois: a) representam uma ordem de solos das mais representativas do Brasil (Latosolos), b) possuem capacidades de retenção de água muito próximas, o que permite inferir se haverá a influência da mineralogia e do teor de matéria orgânica nos tratamentos estudados e c) possuem uma elevada capacidade de retenção de água. Os resultados aqui encontrados, provavelmente, poderão ser aplicados para outros tipos de solos minerais não hidromórficos. Desta forma, iniciar-se-á a discussão desta parte da tese, avaliando-se a qualidade dos filtros usados para, depois, discutir-se a otimização, propriamente dita, dos parâmetros de extração da solução do solo por centrifugação.

3.1.1 – Qualidade dos filtros usados

Existem várias menções, na literatura, da possibilidade dos filtros poderem contaminar as soluções filtradas (Jay, 1985; Jardine et al., 1986; Elkhatib et al., 1987). Por isso, a pré-lavagem é sempre sugerida (Jay, 1985; Tyler, 2000). Com vistas a testar a necessidade desse pré-tratamento, realizou-se um teste simples, que se baseou na determinação de pH, de ânions inorgânicos (F⁻, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻) e de cátions metálicos (Ca, Mg, Na, K, Al, Fe, Mn, Cu, Zn) nas seguintes

condições: 1 - na água (demineralizada por sistema Barnstead NANOpure), utilizada no experimento; 2 - em 10 mL da mesma água após sua passagem no filtro de 0,45µm sem pré-lavagem; 3 - em 10 mL da mesma água, após passagem em um filtro de 0,45µm que foi pré-lavado três vezes e seco ao ar. Foram retirados dois filtros de cada caixa contendo 50, num total de seis filtros. Os dados foram submetidos à análise de variância, em modelo inteiramente casualizado.

Os resultados encontram-se nas tabelas 10 e 11 (p.65 e 66).

Tabela 8. Resultados de pH e de concentração de ânions inorgânicos determinados na água antes e após filtração nos filtros tratados e não tratados.

Amostra	pH	F	Cl	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻
Água-MQ	6.25 ab	< LD	0.02 b	< LD	< LD
Lavado	5.94 b	< LD	0.06 ab	< LD	< LD
Não Lavado	6.40 a	0.03 a	0.10 a	< LD	< LD
CV da Anova	2,33	0,22	1,17	----	----

Em função de vários valores abaixo do limite de detecção (LD), utilizou-se a transformação $\sqrt{x+1}$ para os cálculos da análise de variância (Fernandez, 1992).

Valores na mesma coluna, seguidos pela mesma letra, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Tabela 9. Resultados de determinação de cátions metálicos na água antes e após filtração nos filtros tratados e não tratados.

Amostra	Na	Mg	Al	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn
Água-MQ	5164 a	1.46 b	0.39 a	1962 b	321.37 a	0.15 a	53.03 a	0.23 a	0.84 a
Lavado	5435 a	4.26 a	0.52 a	2079 a	338.17 a	0.24 a	53.53 a	0.32 a	2.72 a
Não Lavado	5376 a	4.66 a	0.45 a	2157 a	326.50 a	0.23 a	49.68 a	0.50 a	3.09 a
CV	0,26	2,09	1,82	0,16	0,94	1,05	0,20	2,43	4,01

Utilizou-se a transformação $-\log_{10}(x)$ para os cálculos da análise de variância (Fernandez, 1992).

Valores na mesma coluna, seguidos pela mesma letra, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Pode-se observar que, de maneira geral, a pré-lavagem dos filtros foi importante, principalmente, no que diz respeito à presença de Cl⁻ e F⁻, cujos teores foram maiores no uso do filtro não lavado. Com relação aos cátions, somente o K e o Mg tiveram seus teores aumentados com o uso do filtro, independente da pré-lavagem, com respeito à água utilizada. Assim mesmo, as diferenças encontradas são pouco significativas no que tange à possível interferência nos resultados de extração da solução do solo. Com respeito aos outros cátions, não se encontrou diferença significativa entre os tratamentos.

Desta forma, fica claro que o pré-tratamento de lavagem do filtro é necessário, tendo sido aplicado ao longo do trabalho experimental. Assim mesmo, a cada conjunto de seis amostras centrifugadas (capacidade máxima do rotor utilizado), uma era de água demineralizada, sendo usada para checagem dos resultados e verificação do branco.

3.1.2 – Velocidade e tempo de centrifugação

Foram testadas as três velocidades de rotação mais relatadas na literatura (Anexo 1, p.130), quais sejam, 2000, 4000 e 6000 rpm (FCR de 560, 2260 e 5080 g) e dois tempos de extração (30 e 60 minutos).

As concentrações médias da maioria dos solutos (NH_4^+ , Ca, Mg, Al, Na, K, Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}) variaram de 10^{-3} a 10^{-4} mmol L^{-1} , enquanto que as concentrações de Mn, Fe, Zn, F foram, geralmente, abaixo de 10^{-5} mmol L^{-1} (Tabelas 10 e 11). Os coeficientes de variação foram, normalmente, menores que 5%.

Tabela 10. Efeito do tempo e velocidade de centrifugação na concentração de íons metálicos determinados nas soluções de solo obtidas das quatro amostras estudadas.

Vel. g	Tempo min.	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn	Al	Na	K
mmol L ⁻¹									
Amostra 1									
560	30	0,2657 a	0,228 a	0,0188 a	0,0051 a	0,0007 a	0,1393 a	0,231 b	0,309 c
560	60	0,2831 a	0,235 a	0,0197 a	0,0046 a	0,0007 a	0,1380 a	0,210 ab	0,297 bc
2260	30	0,2838 a	0,228 a	0,0194 a	0,0055 a	0,0011 a	0,1353 a	0,091 a	0,257 ab
2260	60	0,2887 a	0,232 a	0,0197 a	0,0057 a	0,0009 a	0,1368 a	0,130 ab	0,273 abc
5080	30	0,2897 a	0,237 a	0,0201 a	0,0067 a	0,0011 a	0,1425 a	0,131 ab	0,250 a
5080	60	0,2947 a	0,238 a	0,0203 a	0,0055 a	0,0009 a	0,1394 a	0,122 ab	0,249 a
	Vel.	0,1731	0,7400	0,3366	0,0938	0,0807	0,4765	0,0103	0,0013
P	Tempo	0,1597	0,6240	0,4198	0,2856	0,3215	0,7732	0,6465	0,8675
(Teste F) ¹	V x T	0,5808	0,8919	0,8337	0,4696	0,7432	0,8564	0,3486	0,2369
	CV	0,56	0,62	0,42	1,08	1,46	0,50	2,64	0,46
Amostra 2									
560	30	0,1651 a	0,035 a	0,0096 a	< LD ²	0,0004 a	0,0058 a	0,154 a	0,069 c
560	60	0,1753 ab	0,036 a	0,0100 ab	< LD	0,0005 a	0,0058 a	0,189 a	0,057 bc
2260	30	0,1834 bc	0,036 a	0,0102 ab	< LD	0,0007 a	0,0065 a	0,092 a	0,048 b
2260	60	0,1817 bc	0,036 a	0,0104 ab	< LD	0,0005 a	0,0065 a	0,090 a	0,045 b
5080	30	0,1796 ab	0,036 a	0,0102 ab	< LD	0,0003 a	0,0067 a	0,075 a	0,013 a
5080	60	0,1961 c	0,038 a	0,0111 b	< LD	0,0006 a	0,0072 a	0,078 a	0,017 a
	Vel.	0,0025	0,1072	0,0270	-----	0,5917	0,1053	0,0123	0,0001
P	Tempo	0,0134	0,0845	0,0407	-----	0,4405	0,5707	0,6296	0,8713
(Teste F)	V x T	0,0481	0,3902	0,5079	-----	0,4490	0,7927	0,8732	0,0112
	CV	0,27	0,28	0,29	-----	2,98	0,74	3,00	0,77
Amostra 3									
560	30	0,0171 a	0,080 a	0,0035 a	0,0306 a	0,0010 b	0,6781 a	0,258 a	0,418 a
560	60	0,0185 a	0,085 a	0,0038 a	0,0312 ab	0,0010 b	0,7152 a	0,239 a	0,417 a
2260	30	0,0263 b	0,089 a	0,0041 a	0,0374 b	0,0009 b	0,7468 a	0,188 a	0,404 a
2260	60	0,0240 b	0,086 a	0,0040 a	0,0368 b	0,0008 ab	0,7505 a	0,166 a	0,397 a
5080	30	0,0231 b	0,086 a	0,0040 a	0,0354 ab	0,0008 b	0,7320 a	0,162 a	0,372 a
5080	60	0,0211 ab	0,085 a	0,0039 a	0,0346 ab	0,0003 a	0,7153 a	0,167 a	0,368 a
	Vel.	0,0004	0,4645	0,0998	0,0038	0,0175	0,2221	0,0170	0,0257
P	Tempo	0,2950	0,7586	0,8049	0,8888	0,0229	0,7226	0,4624	0,6770
(Teste F)	V x T	0,1555	0,4330	0,4015	0,7675	0,0579	0,5787	0,7086	0,9388
	CV	0,54	0,66	0,41	0,44	1,72	0,74	1,78	0,58
Amostra 4									
560	30	0,0024 ab	0,033 ab	0,0069 ab	0,0018 a	0,0003 a	0,0268 ab	0,117 a	0,114 c
560	60	0,0021 a	0,032 a	0,0066 a	0,0019 a	0,0003 a	0,0251 a	0,137 a	0,105 bc
2260	30	0,0082 c	0,034 b	0,0074 b	0,0032 b	0,0005 a	0,0289 b	0,095 a	0,090 b
2260	60	0,0084 c	0,032 ab	0,0069 ab	0,0029 b	0,0005 a	0,0271 ab	0,097 a	0,097 bc
5080	30	0,0052 bc	0,031 a	0,0066 a	0,0031 b	0,0007 a	0,0269 ab	0,079 a	0,062 a
5080	60	0,0050 bc	0,031 ab	0,0069 ab	0,0026 b	0,0003 a	0,0254 a	0,088 a	0,061 a
	Vel.	0,0003	0,0236	0,0156	0,0001	0,4511	0,0110	0,2163	0,0001
P	Tempo	0,5417	0,2148	0,1466	0,1402	0,5073	0,0052	0,4848	1,0000
(Teste F)	V x T	0,8548	0,1351	0,0197	0,1707	0,4315	0,9318	0,9861	0,0833
	CV	1,59	0,23	0,17	0,58	3,77	0,24	3,39	0,44

Para realizar os cálculos de ANOVA e do teste de Tukey, os valores das concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Al, Na, K foram transformados por $-\log_{10}$ da concentração molar.

Valores na mesma coluna seguidos de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

¹ Probabilidade. ² Limite de detecção (0,0075 mg L⁻¹ Fe).

Tabela 11. Efeito do tempo e velocidade de centrifugação no pH, condutividade elétrica (CE), carbono orgânico dissolvido (COD) e na concentração de alguns ânions inorgânicos e de amônio determinados na solução de solo obtida das quatro amostras estudadas.

Vel. g	Tempo min.	pH	CE mS cm ⁻¹	COD	Cl	NO ₃	SO ₄	F	NH ₄
----- mmol L ⁻¹ -----									
Amostra 1									
560	30	4,36 a	0,27 a	1,285 a	0,354 b	0,107 a	0,063 a	< LD ²	1,195 a
560	60	4,36 a	0,30 a	1,488 a	0,340 b	0,090 a	0,060 a	< LD	1,142 a
2,260	30	4,39 a	0,28 a	1,409 a	0,269 a	0,077 a	0,053 a	< LD	1,220 ab
2,260	60	4,37 a	0,30 a	1,333 a	0,323 b	0,090 a	0,064 a	< LD	1,228 ab
5,080	30	4,39 a	0,28 a	1,223 a	0,261 a	0,081 a	0,062 a	< LD	1,397 c
5,080	60	4,37 a	0,28 a	1,391 a	0,254 a	0,071 a	0,059 a	< LD	1,355 bc
	Vel.	0,0760	0,6297	0,2564	0,0002	0,0549	0,7530	-----	0,0009
P	Tempo	0,0278	0,0873	0,0385	0,2283	0,4980	0,6577	-----	0,2481
(Teste F) ¹	V x T	0,2056	0,3732	0,0432	0,0179	0,1765	0,3259	-----	0,6815
	CV	0,23	4,96	4,76	0,55	1,28	1,32	-----	0,47
Amostra 2									
560	30	4,50 a	0,10 a	252 b	0,073 bc	0,040 ab	< LD	< LD	0,308 a
560	60	4,52 a	0,10 a	303 b	0,078 c	0,040 ab	< LD	< LD	0,374 ab
2260	30	4,53 a	0,09 a	398 a	0,063 ab	0,026 a	< LD	< LD	0,369 ab
2260	60	4,52 a	0,09 a	329 ab	0,059 a	0,029 a	< LD	< LD	0,407 abc
5080	30	4,54 a	0,09 a	264 b	0,065 ab	0,107 c	< LD	< LD	0,568 c
5080	60	4,50 a	0,09 a	252 b	0,066 abc	0,076 bc	< LD	< LD	0,463 c
	Vel.	0,3786	0,1780	0,0007	0,0013	0,0002	-----	-----	0,0013
P	Tempo	0,2192	0,5847	0,4184	0,7780	0,4159	-----	-----	0,5552
(Teste F)	V x T	0,0884	0,7290	0,0163	0,2572	0,2055	-----	-----	0,0334
	CV	0,37	5,22	6,76	0,47	1,68	-----	-----	1,09
Amostra 3									
560	30	4,35 b	0,62 a	1,582 a	0,406 c	0,250 a	0,220 ab	0,029 ab	4,463 ab
560	60	4,34 b	0,61 a	1,622 a	0,386 bc	0,258 a	0,222 ab	0,018 a	4,269 a
2260	30	4,35 b	0,58 a	1,824 a	0,363 abc	0,281 a	0,237 b	0,084 b	4,948 ab
2260	60	4,35 b	0,58 a	1,679 a	0,332 ab	0,266 a	0,231 ab	0,076 b	5,072 b
5080	30	4,39 a	0,57 a	1,585 a	0,307 a	0,310 a	0,215 a	0,037 ab	4,837 ab
5080	60	4,33 b	0,61 a	1,670 a	0,309 a	0,271 a	0,215 a	0,021 a	4,865 ab
	Vel.	0,1337	0,1196	0,0818	0,0005	0,1881	0,0040	0,0018	0,0064
P	Tempo	0,0153	0,4842	0,8914	0,0886	0,3878	0,7732	0,0806	1,0000
(Teste F)	V x T	0,0162	0,2131	0,1854	0,3657	0,5083	0,3692	0,5541	0,6164
	CV	0,26	3,25	4,88	0,53	1,13	0,26	2,88	0,78
Amostra 4									
560	30	4,43 b	0,22 a	407 a	0,116 a	0,055 a	0,026 a	< LD	1,303 a
560	60	4,45 b	0,21 ab	458 a	0,110 a	0,046 a	0,026 a	< LD	1,322 a
2260	30	4,45 b	0,20 b	451 a	0,108 a	0,044 a	0,024 a	< LD	1,297 a
2260	60	4,46 b	0,19 b	499 a	0,119 a	0,046 a	0,027 a	< LD	1,247 a
5080	30	4,50 a	0,21 ab	442 a	0,111 a	0,114 b	0,032 a	< LD	1,436 a
5080	60	4,45 b	0,20 ab	465 a	0,109 a	0,091 ab	0,029 a	< LD	1,452 a
	Vel.	0,0127	0,0027	0,0807	0,7144	0,0014	0,0259	-----	0,0290
P	Tempo	0,1207	0,0300	0,0162	0,7096	0,2756	1,0000	-----	0,7096
(Teste F)	V x T	0,0089	0,6297	0,6036	0,1630	0,6061	0,3632	-----	0,7144
	CV	0,25	1,97	4,69	0,56	1,83	0,70	-----	0,77

Para realizar os cálculos de ANOVA e do teste de Tukey, os valores das concentrações de Cl, NO₃, SO₄, F, NH₄ foram transformados por $-\log_{10}$ da concentração molar.

Valores na mesma coluna seguidos de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0.05).

¹ Probabilidade. ² Limite de detecção (0,03 mg L⁻¹ F; 0,06 mg L⁻¹ SO₄).

O íon fosfato não foi determinado por encontrar-se, em todas as situações, abaixo do seu limite de detecção ($0,02 \text{ mg L}^{-1}$). O íon cloreto foi, então, o principal ânion que contrabalançou os cátions nas soluções centrifugadas. Contudo, verifica-se um grande déficit de ânions, demonstrado pelo balanço de cargas (Tabela 12), provavelmente relacionado à presença de ácidos orgânicos, como demonstram os resultados de COD (Tabela 11, p.66). Esse tipo de observação reforça a presente escolha do uso do modelo proposto por Mattigod & Sposito (1979) e Sposito et al. (1982), o “Mixed Model”, para realizar os cálculos de balanço de carga, visto que, apesar de suas limitações, seria muito mais inadequado realizar tais cálculos sem considerar a participação do componente orgânico (Mattigod & Sposito, 1979; Mattigod & Zachara, 1996).

Com respeito à importância relativa dos metais na solução do solo, não foi observado nenhum padrão, resultado contrário ao que se observa na literatura (Menzies & Bell, 1988; Wolt, 1994):

Amostra 1 = Ca ~ K ~ Mg > Na ~ Al > Mn > Fe > Zn

Amostra 2 = Ca > Na > K > Mg > Mn > Zn > Fe

Amostra 3 = Al > K > Na > Mg > Fe > Mn > Ca > Zn

Amostra 4 = Al > Na ~ K > Mg > Mn > Ca > Fe > Zn

Como se pode ver pelos resultados apresentados nas tabelas 10 e 11 (p.65 e 66), as concentrações da maioria dos elementos medidos variaram significativamente com relação às três velocidades estudadas. Contudo, alguns padrões podem ser observados. Pequenas, mas significantes mudanças no pH da solução do solo ocorreram nos maiores valores de força centrífuga relativa (FCR) para as amostras 3 e 4. Alterações significativas da CE também foram verificadas na amostra 4, aonde o valor intermediário de FCR produziu valores relativamente maiores. Um incremento de K e Na (amostras 1, 2, 4 e amostra 1, respectivamente) ocorreu no menor valor de FCR. Em contraste, quando mudanças significativas de cátions di- e trivalentes ocorreram, as maiores concentrações estavam associadas ao valor intermediário de FCR (Ca, amostras 2, 3, 4; Mg, Mn, and Al, amostra 4; Fe, amostras 3, 4). No caso dos ânions, quando variações significativas de F^- and SO_4^{2-} ocorriam (amostra 3), as maiores concentrações estavam na FCR intermediária. Já o cloreto teve seus maiores valores associados à FCR intermediária (amostras 1, 2, 3). Com respeito ao NO_3^- and NH_4^+ , as maiores concentrações, normalmente, eram encontradas na FCR

maior. Com respeito ao tempo de centrifugação, a mudança de 30 para 60 min não alterou significativamente a maioria dos elementos determinados.

Tabela 12. Efeito do tempo e velocidade de centrifugação na recuperação de água, força iônica e balanço de cargas das soluções de solo obtidas das quatro amostras estudadas.

Vel. g	Tempo min.	Recup. água %	Força Iônica 10^{-3} M	Balanço de carga %
Amostra 1				
560	30	17,6 b	3,74 a	10,4 ab
560	60	20,8 b	3,99 a	3,0 b
2260	30	28,0 a	3,79 a	4,7 b
2260	60	27,7 a	3,78 a	8,6 ab
5080	30	28,9 a	3,71 a	19,7 a
5080	60	30,0 a	3,87 a	11,7 ab
	Vel.	0,0001	0,6510	0,0061
P	Tempo	0,0970	0,0975	0,0774
(Teste F) ¹	V x T	0,1725	0,3984	0,0242
	CV	7,22	0,61	16,0
Amostra 2				
560	30	20,5 c	1,07 a	45,1 a
560	60	21,8 bc	1,21 b	42,2 a
2260	30	24,8 b	1,27 b	26,0 b
2260	60	31,2 a	1,20 b	37,8 ab
5080	30	31,2 a	1,22 b	45,3 a
5080	60	31,6 a	1,17 ab	47,7 a
	Vel.	0,0001	0,0093	0,0014
P	Tempo	0,0002	0,8049	0,0739
(Teste F)	V x T	0,0010	0,0054	0,0396
	CV	5,30	0,38	4,79
Amostra 3				
560	30	32,8 e	5,45 a	38,4 a
560	60	36,8 d	5,41 a	35,8 a
2260	30	41,0 c	6,10 a	38,2 a
2260	60	44,4 b	5,93 a	42,7 a
5080	30	46,9 ab	5,62 a	40,9 a
5080	60	47,6 a	5,70 a	41,1 a
	Vel.	0,0001	0,0177	0,1247
P	Tempo	0,0001	0,8588	0,6482
(Teste F)	V x T	0,0402	0,7928	0,2102
	CV	2,97	0,69	3,71
Amostra 4				
560	30	31,5 c	1,52 a	46,2 a
560	60	31,2 c	1,59 a	43,0 a
2260	30	41,6 b	1,33 a	42,1 a
2260	60	42,8 ab	1,61 a	34,7 a
5080	30	44,3 ab	1,64 a	40,5 a
5080	60	46,0 a	1,65 a	41,1 a
	Vel.	0,0001	0,2022	0,1018
P	Tempo	0,2622	0,3559	0,1345
(Teste F)	V x T	0,5289	0,7290	0,3178
	CV	4,59	0,62	4,94

Para realizar os cálculos de ANOVA e do teste de Tukey, os valores de força iônica e balanço de carga foram transformados, respectivamente, por $-\log_{10}$ and $\arcsin \sqrt{\quad}$.

Valores na mesma coluna, seguidos de mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

¹ Probabilidade.

Esses resultados contrastam com alguns estudos já realizados. Alguns autores observaram que o tempo e velocidade de centrifugação não tiveram efeito substancial na composição da solução do solo (Gillman, 1976; Edmeades et al., 1985). Outros autores, por outro lado, encontraram variações significativas, porém, inconsistentes, da concentração de certos elementos com esses dois parâmetros de centrifugação (Elkhatib et al., 1987; Ross & Bartlett, 1990).

Aparentemente, existe uma relação do tipo de solo com as alterações observadas da composição da solução do solo com os tratamentos aplicados. A composição dos íons metálicos (Tabela 10, p.65) das amostras 1 e 2, obtidas do solo caulínítico (Tabela 7, p.62) apresenta-se, em geral, com menos variações do que as observadas nas amostra 3 e 4, que representam um solo oxídico. É possível que tal comportamento esteja ligado ao fato de que solos oxídicos possuem superfícies carregadas positivamente (Uehara & Gillman, 1981; Sposito, 1989; Kabata-Pendias & Pendias, 1992). Com isso, em função das forças repulsivas, certos cátions podem ser mais facilmente removidos da superfície coloidal de acordo com a pressão aplicada à dupla camada elétrica. Observando-se as concentrações de ânions e de COD (Tabela 11, p.66), com especial atenção para as amostras 2 e 4 (em que a mineralogia da fração argila preponderará sobre o baixo teor de ácidos orgânicos no que diz respeito ao comportamento físico-químico do solo), uma análise corroborativa pode ser feita. Em função do já relatado, era de se esperar que a amostra 4 (oxídica) adsorvesse mais fortemente os ânions do que a 2, o que foi encontrado (Tabela 11, p.66), já que houve menor variação desses elementos com a velocidade e tempo de centrifugação.

Como diferenças consideráveis na composição da solução do solo surgiram em virtude do experimento desenvolvido, resolveu-se verificar qual a combinação entre tempo e velocidade de centrifugação produziria o balanço de cátions e ânions mais próximo da nulidade. Essa consideração já tinha sido experimentada e citada por outros autores (Stevenson & Fitch, 1986; Elkhatib et al., 1987; Qian & Wolt, 1990; Kopacek et al., 2000) para solução de problemas similares.

Os resultados do balanço de cargas para cada combinação inserida no Geochem-PC encontram-se na tabela 12 (p.68). Verifica-se, então, que o balanço mais acurado foi obtido para o valor intermediário de FCR, para as amostras 1 e 2, enquanto que, para as amostras 3 e 4, nenhuma diferença significativa foi

observada. O tempo de centrifugação, mais uma vez, não exerceu nenhuma influência significativa nos resultados.

Com respeito à eficiência de recuperação da água do solo, em todos os casos, o aumento da FCR incrementou significativamente os valores encontrados, fato já observado por vários autores (Gillman, 1976; Reynolds, 1984; Edmeades et al., 1985; Elkhatib et al., 1987). Contudo, somente para as amostras 2 e 3, a recuperação de água aumentou significativamente com o tempo de centrifugação.

Desta forma, os resultados encontrados sugerem que, para o presente estudo, a aplicação de uma força centrífuga relativa de 2.260 g por 60 minutos apresentam-se como o procedimento mais apropriado para se extrair a solução do solo pela técnica de centrifugação, uma vez que, entre os valores testados, foi o único a levar a um balanço de cargas mais próximo da neutralidade para todas as amostras investigadas. Deve se observar, no entanto, que os solos aqui estudados representam mais de 50% do território nacional (Embrapa, 1981).

3.1.3 – Outras observações

A força iônica (I) das soluções de solo obtidas (Tabela 12, p.68) variou entre 0,001 e 0,006 mol L⁻¹, o que é típico de solos tropicais intemperizados (Gillman & Bell, 1978; Wolt, 1994). Vários autores estudaram a relação entre I e a condutividade elétrica (CE) em extratos aquosos de solo (Griffin & Jurinak, 1973; Gillman & Bell, 1978; Black & Campbell, 1982; Pasricha, 1987; Menzies & Bell, 1988; Alva et al., 1991; Walworth, 1992; Pavan et al., 1995; Jallah & Smyth, 1995; Simón & García, 1999). As equações de regressão encontradas estão destacadas na tabela 13 (p.71), assim como a equação encontrada no presente trabalho ($I = 0,0093EC + 0,0003$, $R^2 = 0,90$). É interessante observar que essa equação é similar à outra obtida para condição de pasta de saturação de solos brasileiros (Pavan et al., 1995) e razoavelmente diferente da maioria dos outros resultados, a despeito de alguns deles também terem sido obtidos para solos bem intemperizados.

A relação pH e Al “trocável” é bem conhecida para solos (McLean et al., 1959; Pionke & Corey, 1967; Aitken, 1992) e apresenta, normalmente, um comportamento exponencial, em que o Al diminui na medida em que o pH aumenta. Contudo, a aplicação desse conceito em solução do solo, as vezes, não

é significativa (Edmeades, 1985). No presente trabalho, uma relação significativa entre o pH e a concentração de Al na solução do solo foi encontrada:

$$\text{Al (mmoles L}^{-1}\text{)} = 6\text{E}+44\text{e}^{-23,90\text{pH}} \text{ (R}^2 = 0,87, n = 48\text{)}.$$

Tabela 13. Algumas equações de regressão entre a força iônica (I) e a condutividade elétrica (CE) encontradas em literatura.

Equação	Amostra	Autoria	Localização
$I = 0.0131CE - 0.0056$	Extrato de saturação	Griffin & Jurinak, 1973	Utah (USA)
$I = 0.0120CE - 0.0004$	Solução do solo	Gillman & Bell, 1978	North Queensland (Australia)
$I = 0.014CE - 0.0002$	Solução do solo	Black & Campbell (1982) ²	New Zealand
$I = 0.01162CE - 0.000105$	Extrato de saturação	Pasricha (1987)	India (?)
$I = 0.011CE - 0.0008$	Solução do solo	Menzies & Bell (1988) ²	SE Queensland (Australia)
$I = 0.010CE - 0.0005$	Solução do solo	Menzies & Bell (1988)	SE Queensland (Australia)
$I = 0.012CE - 0.0002$	Solução do solo	Alva et al. (1991)	Georgia (USA)
$I = 0.015CE - 0.006$	Solução do solo	Alva et al. (1991) ¹	Georgia (USA)
$I = 0.0127CE - 0.0005$	Solução do solo	Walworth (1992) ²	USA
$I = 0.0088CE - 0.00015$	Extrato de saturação	Pavan et al. (1995)	Paraná (Brasil)
$I = 0.012CE$	Solução do solo	Jallah & Smith (1995)	North Caroline (USA)
$I = 0.017CE$	Extrato de saturação	Simon & Garcia (1999)	Granada (Espanha)
$I = 0.0093CE - 0.0003$	Solução do solo	Presente estudo	MG e SP (Brasil)

1 Amostra com CE abaixo de 1,0 mS cm⁻¹.

2 Sem correção para par iônico

3.1.4 – Conclusão relativa ao primeiro experimento

Os resultados obtidos demonstram que a velocidade de centrifugação pode afetar significativamente a composição da solução do solo, o que justifica a hipótese, inicialmente, formulada e desenvolvida no presente experimento.

A despeito do fato de que alguns padrões puderam ser observados, nenhuma generalização pode ser tirada. Daí, adotou-se o balanço de cargas como critério para definir as melhores condições de centrifugação. Como conseqüência, sugere-se o uso de velocidade de 2.260 g por 60 minutos para futuros estudos envolvendo essa técnica de extração da água em solos brasileiros.

3.2 – Experimento 2: Estudo da influência da forma de estocagem da amostra

As principais características das amostras utilizadas neste experimento encontram-se nas tabelas 14 e 15, em que as amostras designadas de Milho e Pasto pertencem ao Argissolo Vermelho-Amarelo Tb Distrófico (Seropédica-RJ) e as amostras designadas de Mata (Floresta secundária), Absoluta (plântio convencional de milho), 12 e 24 t ha⁻¹ de lodo pertencem ao Latossolo Vermelho Distroférico (Jaguariúna-SP). Contudo, para fins do experimento, só as duas do Rio de Janeiro e a Mata e Absoluta de São Paulo foram utilizadas, sendo que a coleta de campo ocorreu nos dias 15 e 17 de maio de 2001, respectivamente.

Com base nos resultados do experimento 1, a velocidade de centrifugação de 2.260 g por 60 minutos foi aplicada em todo experimento 2.

Os tratamentos consistiram das seguintes formas de armazenagem:

- úmida, conforme coletada em campo, e analisada em período de 24h.;
- úmida, conforme coletada em campo, mantida resfriada (4°C) e analisada ao final de 15 dias;
- úmida, conforme coletada em campo, mantida em freezer (-20°C) e analisada ao final de 15 dias;
- seca, destorroada e reumidecida à capacidade de campo (CC);
- seca, destorroada e reumidecida à umidade em que foi coletada no campo (UC).

Tabela 14. Resultados da composição da capacidade de troca catiônica, pH e carbono orgânico das seis amostras de solo estudadas .

Amostra	Ca	Mg	Na	K	H	Al	CTC	pH	C.Org
	cmol _c kg ⁻¹								g kg ⁻¹
Milho	2,4	1,4	0,12	0,61	1,5	0,0	6,0	6,5	9,4
Pasto	1,2	1,2	0,03	0,10	4,0	0,3	6,8	4,7	13,0
Mata	0,3	0,2	0,01	0,09	5,4	1,0	7,0	4,6	13,1
Absoluta	2,6	1,6	0,01	0,11	3,3	0,0	7,6	6,3	10,5
12 t ha ⁻¹	2,2	0,9	0,01	0,08	5,4	0,2	8,8	4,9	13,9
24 t ha ⁻¹	2,5	0,8	0,01	0,09	5,5	0,3	9,2	4,7	17,4

Tabela 15. Resultados da análise granulométrica e da capacidade de campo das seis amostras de solo estudadas.

Amostra	Areia	Silte	Argila	C.C (0,033MPa)	U.C.
	g kg ⁻¹				
Milho	664	96	240	253	168
Pasto	488	132	380	356	252
Mata	418	122	460	382	245
Absoluta	480	100	420	360	244
12 t ha ⁻¹	490	90	420	358	217
24 t ha ⁻¹	444	136	420	365	244

O íon fosfato não foi determinado por encontrar-se, em todas as situações, abaixo do seu limite de detecção ($0,24 \text{ mg L}^{-1}$).

Como se pode ver pelos resultados apresentados nas tabelas 16 e 17 (p.74 e 75), as concentrações da maioria dos elementos medidos variaram significativamente com relação aos cinco tratamentos estudados. Contudo, alguns padrões podem ser observados. Em geral, os menores valores de concentração dos 8 metais estiveram associados à reumidificação à Capacidade de Campo (CC), no caso das amostras 1, 3 e 4, ou da amostra ao natural, amostras 2, 3 e 4. Já os maiores valores sempre estiveram relacionados à reumificação à umidade de campo (UC). Seguindo essa tendência, no que tange aos ânions, os menores valores também foram encontrados na reumificação à CC, exceto para amostra 1 (ao natural), e os maiores valores na reumificação à UC (exceto para amostra 1). Contudo, embora aparentemente esses dados sugiram uma tendência de se manter o equilíbrio iônico, os valores de balanço de carga (Tabela 18, p.77) são bem diferentes, com nítida tendência de serem maiores para os tratamentos que envolvem reumidificação de amostra seca e menores para as outras amostras. É provável que isso esteja relacionado com o significativo incremento de Na trazido pelo reumidificação.

Outro fato interessante diz respeito à relação entre o carbono orgânico dissolvido (COD) e os teores de amônio. Em ambos, os maiores incrementos foram encontrados, também, pela secagem e reumidificação, só que, apenas, para as amostras do Rio de Janeiro. É sabido que, em pH normal do solo, substâncias húmicas e óxi-hidróxidos de ferro e alumínio têm cargas de superfície opostas (Sposito, 1989; Tan, 1993), o que lhes proporciona uma forte interação eletroquímica (Hayes & Himes, 1986; Schwertmann et al., 1986; Cornejo & Hermosín, 1996) e uma certa “proteção” contra a biodegradação (Martin & Haider, 1986; Stewart & Cole, 1989; Jackson, 1995; Zhao & McGrath, 1996). Com isso, é possível que, no pouco tempo de equilíbrio, após o reumidificação, os microorganismos que porventura tenham se desenvolvido, não tenham tido capacidade de liberar esse material. Daí, o COD, em comparação com a amostra ao natural, tenha mudado quase nada ou, até, diminuído. Com isso, não se espera que os teores de amônio mudem nessas amostras, visto que o íon NH_4^+ deriva, basicamente da decomposição da matéria orgânica, já que, no solo, ele é rapidamente convertido à nitrato (Paul & Clark, 1989; Killham, 1994). E é isso

que se observa (Tabela 17, p.75). Já as amostras do Rio de Janeiro, pertencem a um solo tipicamente caolinítico, que possui cargas de superfície de mesmo sinal que a matéria orgânica (negativa), o que minimiza o impacto do modelo de “proteção” sugerido. E é exatamente nessas amostras que se verifica que os teores de COD e, concomitantemente, os de NH_4^+ , aumentam pelo reumidecimento das amostras secas. Em relação ao pH (Tabela 17, p.75), os maiores valores foram encontrados no reumidecimento à CC (exceto para amostra 2) e os menores valores variaram com a amostra.

Tabela 16. Efeito do tipo de amostra e tratamento na concentração de íons metálicos determinados na solução de solo obtida dos quatro amostras estudadas.

Tratamento	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn	Al	Na	K
----- mmol L ⁻¹ -----								
Milho								
Natural	2,548 c	2,620 b	1,41E-04 a	5,01E-03 b	3,31E-04 a	4,67E-04 a	3,891 c	2,846 c
Mantida à 4°C	3,892 a	3,257 a	8,92E-05 a	6,82E-03 a	2,43E-04ab	2,54E-04 a	3,904 c	4,633 b
Mantida à -20°C	3,340 b	2,811 ab	1,26E-04 a	5,88E-03ab	1,75E-04ab	2,04E-04 a	3,531 c	4,507 b
Reumidecida à C.C.	1,591 d	1,334 c	3,95E-02 a	3,61E-03 c	8,64E-05 b	2,69E-03 a	26,855 b	4,032 b
Reumidecida à U.C.	3,476 ab	3,030 ab	7,53E-02 a	6,24E-03ab	5,14E-04 a	1,48E-03 a	40,096 a	6,532 a
CV	0,53	0,61	1,85	0,40	1,91	5,31	0,69	1,36
Pasto								
Natural	0,086 d	0,109 d	7,68E-04 e	4,03E-03 b	1,93E-04 b	3,95E-03 b	0,295 d	0,012 e
Mantida à 4°C	0,145 c	0,190 c	1,86E-03 d	1,49E-02 a	2,45E-04 b	1,10E-02 a	0,432 c	0,085 d
Mantida à -20°C	0,132 c	0,189 c	3,47E-03 c	1,53E-02 a	2,37E-04 b	1,06E-02 a	0,456 c	0,117 c
Reumidecida à C.C.	0,502 b	0,669 b	1,47E-01 b	1,78E-03 b	1,20E-03 a	1,17E-02 a	6,781 b	0,289 b
Reumidecida à U.C.	0,757 a	1,052 a	2,14E-01 a	2,31E-03 b	1,64E-03 a	1,60E-02 a	9,617 a	0,405 a
CV	0,53	0,39	0,24	2,82	1,41	1,23	1,23	0,53
Mata								
Natural	0,331 a	0,332 a	2,04E-03 d	1,20E-03 a	4,03E-04 a	8,88E-03 c	0,238 b	0,155 d
Mantida à 4°C	0,116abc	0,140 c	3,25E-03 c	4,46E-04 a	9,63E-05 d	1,27E-02 b	0,235 b	0,225 c
Mantida à -20°C	0,079 bc	0,127 c	2,88E-03 c	1,18E-03 a	2,21E-04 c	1,70E-02 a	0,299 b	0,260 b
Reumidecida à C.C.	0,062 c	0,096 d	6,63E-03 b	3,56E-04 a	< LD ¹ e	7,22E-03 d	3,455 a	0,245 bc
Reumidecida à U.C.	0,200 ab	0,200 b	1,14E-02 a	5,37E-04 a	3,04E-0 b	1,34E-02 b	4,941 a	0,387 a
CV	3,02	0,28	0,30	2,21	0,21	0,28	1,27	0,32
Absoluta								
Natural	0,496 c	0,443 c	1,48E-03 a	1,48E-03 c	1,89E-04 a	7,96E-03 b	0,278 d	0,175 c
Mantida à 4°C	0,713 b	0,567 b	4,46E-05 c	7,34E-03 a	4,43E-05 b	1,79E-02a	0,320 c	0,165 c
Mantida à -20°C	0,888 a	0,674 a	6,37E-05 c	4,50E-03 b	9,63E-05ab	1,01E-02ab	0,286 cd	0,201 b
Reumidecida à C.C.	0,440 c	0,373 d	4,36E-04 b	2,88E-03 b	< LD ¹ c	9,85E-03 b	3,529 b	0,167 c
Reumidecida à U.C.	0,864 a	0,695 a	5,09E-04 b	3,15E-03 b	1,52E-04 a	9,47E-03 b	4,428 a	0,239 a
CV	0,48	0,41	0,63	0,94	1,71	1,29	0,49	0,38

Para realizar os cálculos de ANOVA e do teste de Tukey, os valores das concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Al, Na, K foram transformados por $-\log_{10}$ da concentração molar.

Valores na mesma coluna, seguidos de mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

¹ Limite de detecção (0,036 $\mu\text{g L}^{-1}$ Zn).

Tabela 17. Efeito do tipo de amostra e tratamento no pH, carbono orgânico dissolvido (COD) e na concentração de alguns ânions inorgânicos e de amônio determinados na solução de solo obtida das quatro amostras estudadas.

Tratamento	pH	COD	Cl	NO ₃	SO ₄	F	NH ₄
----- mmol L ⁻¹ -----							
Milho							
Natural	5,80 d	50 c	4,47 a	10,65 bc	1,72 ab	< LD ¹ c	< LD ¹ c
Mantida à 4°C	5,94 cd	60 c	4,08 ab	15,33 a	2,03 a	< LD ¹ c	< LD ¹ c
Mantida à -20°C	5,98 c	47 c	3,78 b	12,84 ab	1,36 bc	< LD ¹ c	< LD ¹ c
Reumidecida à C.C.	7,20 a	493 b	2,73 c	0,02 d	1,08 c	0,27 a	0,97 b
Reumidecida à U.C.	6,48 b	586 a	4,17 ab	9,39 c	1,87 ab	0,09 b	1,18 a
CV	0,66	3,43	0,65	1,08	1,30	0,97	0,30
Pasto							
Natural	4,79 a	23 c	0,50 b	< LD ¹ b	< LD ¹ c	< LD ¹ b	0,07 c
Mantida à 4°C	4,63 abc	36 c	0,83 a	0,05 a	< LD ¹ c	< LD ¹ b	0,22 bc
Mantida à -20°C	4,71 ab	37 c	0,96 a	0,02 a	0,07 b	0,01 b	0,28 ab
Reumidecida à C.C.	4,46 bc	1013 b	0,53 b	< LD ¹ b	0,28 a	0,68 a	0,85 a
Reumidecida à U.C.	4,42 c	1428 a	0,76 a	0,04 a	0,29 a	0,76 a	0,49 ab
CV	1,42	4,40	0,87	2,23	1,35	5,03	3,87
Mata							
Natural	4,25 ab	46 b	0,27 ab	1,31 a	< LD ¹ c	< LD ¹ a	0,20 c
Mantida à 4°C	4,15 b	14 c	0,30 a	1,21 a	< LD ¹ c	< LD ¹ a	0,29 bc
Mantida à -20°C	4,15 b	66 a	0,28 a	0,62 b	< LD ¹ c	0,03 a	0,53 a
Reumidecida à C.C.	4,35 a	49 b	0,20 b	0,28 c	0,14 a	0,04 a	0,43 ab
Reumidecida à U.C.	4,25 ab	39 b	0,28 a	1,32 a	0,06 b	< LD ¹ a	0,52 a
CV	0,84	7,61	1,07	1,02	0,89	7,16	1,42
Absoluta							
Natural	4,49 d	110 b	0,35 a	2,07 b	< LD ¹ c	< LD ¹ a	0,14 a
Mantida à 4°C	5,91 b	24 c	0,29 ab	2,65 ab	< LD ¹ c	< LD ¹ a	0,09 a
Mantida à -20°C	5,91 b	144 a	0,28 ab	3,03 a	< LD ¹ c	< LD ¹ a	0,11 a
Reumidecida à C.C.	6,50 a	31 c	0,15 b	0,97 c	0,04 b	0,03 a	0,08 a
Reumidecida à U.C.	5,85 c	29 c	0,25 ab	2,62 ab	0,08 a	< LD ¹ a	0,05 a
CV	0,08	10,48	2,10	0,99	1,06	6,44	3,64

Para realizar os cálculos de ANOVA e do teste de Tukey, os valores das concentrações de Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, F⁻, NH₄⁺ foram transformados por $-\log_{10}$ da concentração molar.

Valores na mesma coluna seguidos de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

¹ Limite de detecção (0,080 mg L⁻¹ F; 0,230 mg L⁻¹ SO₄; 0,370 mg L⁻¹ NO₃; 0,110 mg L⁻¹ NH₄).

No que diz respeito aos poucos trabalhos de literatura sobre o assunto, os resultados aqui encontrados demonstram uma certa similaridade. Jones & Edwards (1993) também encontraram, para solos minerais da Escócia, maiores valores de metais associados à reumificação à UC, quando comparada à amostra ao natural, embora o pH, no caso deles, independesse da forma de armazenamento, o que não foi observado no presente estudo. No que tange ao trabalho de Edmeades et al. (1985), em solos da Nova Zelândia, os resultados da amostra refrigerada (4°C), também apresentaram, no geral, maiores concentrações de metais e ânions que a amostra ao natural. O trabalho de Walworth (1992), para amostras de solos americanos, encontra ressonância, também, com parte dos resultados encontrados,

principalmente, para o incremento significativo das concentrações de Mg, Na, NO₃ e Ca das amostras armazenadas em freezer quando comparadas às amostras ao natural. Há, porém, outros resultados, tais como os de NH₄, SO₄, K e Cl, que são distintos. Fato semelhante ocorre para o trabalho de Qian & Wolt (1990) que, usando também amostras de solos americanos, encontraram aumentos significativos de Ca, Mg, NO₃, Cl e Al em amostras reumidecidas à UC quando comparadas ao natural. Contudo, mais uma vez, os resultados deles diferiram do presente estudo no que concerne às concentrações de SO₄, K e Na. O único trabalho que contrasta totalmente com os resultados encontrados é o de Menzies & Bell (1988) que, em amostras de solos da Austrália, não encontraram diferenças significativas para as concentrações de metais determinados na solução de solo extraídas de amostras reumidecidas à CC (incubadas por 24 h) e em amostras ao natural.

No que diz respeito à eficiência de extração de água (Tabela 18, p.77), a recuperação sempre foi maior no reumidecimento à CC e menor na amostra ao natural (exceto para a amostra 1), o que já tinha sido relatado por Jones & Edwards (1993). Contudo, no que diz respeito ao trabalho de Walworth (1992), que encontrou um significativo aumento da quantidade de água extraída de solos armazenados em freezer, tal resultado não é confirmado pelo presente estudo.

Se a amostra coletada no campo (ao natural) é considerada àquela que produz a “verdadeira” solução do solo, não há nenhum tratamento de armazenagem que tenha produzido resultados similares para todos os parâmetros estudados e apresentados nas tabelas 16 a 18 (p. 74 a 77). Nesse caso, adotar-se-á o mesmo critério utilizado no experimento 1, que é o de basear a decisão nos tratamentos que produzam o balanço da cargas mais próximo à neutralidade. Neste caso, a exceção da amostra 2, os tratamentos em que isso ocorreu foram o tratamento ao natural e a armazenagem em refrigerador (4°C). É interessante de se observar que esse resultado, de certo modo, confirma a hipótese inicial de que a amostra ao natural é, em princípio, a que produz a solução de solo mais “verdadeira”.

Tabela 18. Efeito do tipo de amostra na recuperação de água, força iônica e balanço de cargas da solução de solo obtida das quatro amostras estudadas.

Tratamento	Recuperação água %	Força Iônica 10^{-3} M	Balanço de carga %
Milho			
Natural	11,43 c	2,33E-02 d	9,51 b
Mantida à 4°C	8,52 d	3,03E-02 b	5,38 b
Mantida à -20°C	9,83 cd	2,62E-02 c	4,55 b
Reumidecida à C.C.	32,08 a	2,56E-02 c	83,63 a
Reumidecida à U.C.	18,85 b	4,64E-02 a	70,08 a
CV	3,98	0,68	14,86
Pasto			
Natural	4,79 c	8,78E-04 d	30,47 b
Mantida à 4°C	6,37 c	1,55E-03 c	35,18 b
Mantida à -20°C	5,43 c	1,76E-03 c	21,81 c
Reumidecida à C.C.	23,76 a	8,60E-03 b	68,18 a
Reumidecida à U.C.	13,40 b	1,16E-02 a	69,88 a
CV	6,08	1,12	2,68
Mata			
Natural	3,22 d	2,50E-03 c	16,39 bc
Mantida à 4°C	9,85 c	1,73E-03 d	11,72 c
Mantida à -20°C	7,20 c	1,55E-03 d	36,09 b
Reumidecida à C.C.	47,74 a	3,02E-03 b	80,79 a
Reumidecida à U.C.	19,63 b	4,75E-03 a	73,61 a
CV	7,47	0,66	10,06
Absoluta			
Natural	3,97 c	3,54E-03 d	7,09 b
Mantida à 4°C	5,48 bc	4,37E-03 c	5,28 b
Mantida à -20°C	5,90 bc	5,27E-03 b	2,25 b
Reumidecida à C.C.	23,68 a	4,22E-03 c	75,98 a
Reumidecida à U.C.	9,14 b	7,09E-03 a	60,63 a
CV	13,71	0,56	19,85

Para realizar os cálculos de ANOVA e do teste de Tukey, os valores de força iônica e balanço de carga foram transformados, respectivamente, por $-\log_{10}$ and $\arcsin \sqrt{\cdot}$.

Valores na mesma coluna seguidos de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

3.2.1 – Conclusão relativa ao segundo experimento

Os resultados sugerem que, se não for possível extrair a solução do solo imediatamente (24 h) após a colheita, poder-se-á mantê-la refrigerada (4°C) por um período de até 15 dias, sem que significativas modificações da solução do solo extraída, considerada como um todo, ocorram.

3.3 – Experimento 3: Combinação de separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) para especiação de alumínio, ferro e manganês em Solução de Solo

As amostras que foram alvo dessa pesquisa vieram das mesmas localidades utilizadas no experimento 2, ou seja, as amostras Milho e Pasto pertencentes ao Argissolo Vermelho-Amarelo Tb Distrófico (Seropédica-RJ) e as amostras Mata (Floresta secundária), Absoluta (plantio convencional de milho), 12 e 24 t ha⁻¹ de lodo pertencentes ao Latossolo Vermelho Distroférico (Jaguarúna-SP). As principais características químicas das amostras coletadas pela segunda vez encontram-se na tabela 19. As informações de granulometria e retenção de umidade não variaram significativamente e, por isso, serão tomadas pela tabela 15 (p.72). A coleta de campo ocorreu nos dias 17 e 20 de dezembro de 2001, respectivamente, para os solos do RJ e SP.

Tabela 19. Resultados da composição da capacidade de troca catiônica, pH e carbono orgânico das seis amostras de solo estudadas (experimento 3).

Amostra	Ca	Mg	Na	K	H	Al	CTC	pH	C.Org
				cmol _c kg ⁻¹					g kg ⁻¹
Milho	2,3	1,4	0,10	0,40	1,3	0,0	5,5	6,8	7,0
Pasto	1,6	1,5	0,03	0,10	3,9	0,1	7,2	5,4	13,7
Mata	0,6	0,6	0,02	0,15	6,6	1,1	9,1	4,5	17,0
Absoluta	2,4	1,2	0,01	0,12	4,6	0,0	8,3	5,7	11,9
12 t ha ⁻¹	4,6	2,1	0,04	0,56	3,0	0,0	10,3	6,1	18,2
24 t ha ⁻¹	6,1	2,3	0,04	0,33	3,1	0,0	11,9	6,3	21,6

Como os principais parâmetros de extração da solução do solo, por centrifugação, foram definidos (experimentos 1 e 2), cumpre, agora, avaliar a capacidade de realizar a especiação por métodos analíticos. Neste contexto, aplicar-se-á a combinação da técnica de separação, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com coluna de exclusão de tamanho (Superdex 75 HR 10/30), e a detecção por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Com isso, espera-se testar se as informações assim obtidas, para diferentes situações de manejo de solo, têm relevância na caracterização de processos de acumulação e mobilidade preferenciais das diferentes espécies de alumínio, ferro e manganês. Além disso, para algumas amostras, serão testados, também:

- o impacto que algumas técnicas de armazenamento têm sobre a especiação, a saber, a) úmida, conforme coletada em campo, e analisada em período de 24h.; b) úmida, conforme coletada em campo, e mantida resfriada (4°C); c) seca, destorroada e reumidecida à umidade em que foi coletada no campo (UC).
- o uso de dois tipos de eluentes, a água e o NaCl 0,01 mol L⁻¹.

3.3.1 – Testes de qualidade da coluna cromatográfica

3.3.1.1 – Teste de Função ou Calibração

Conforme instruções contidas no manual que acompanha a coluna, procedeu-se a verificação da linearidade de resposta da coluna Superdex 75 a um conjunto de padrões contendo as seguintes substâncias: Blue Dextran; Ovalbumina; Albumina; Ribonuclease A; Chymotrypsinogênio A, Vitamina B₁₂. Soluções contendo, aproximadamente, 1 mg mL⁻¹ de cada um foram preparadas, a exceção do Blue Dextran (0,6 mg mL⁻¹) e da Vitamina B₁₂ (0,3 mg mL⁻¹) para cada injeção.

As condições de calibração encontram-se no quadro 3, porém, com as seguintes modificações: integração de área do pico de máxima absorvância na varredura entre 200 e 300 nm e eluente composto de solução tampão de NaH₂PO₄ 0,05 mol L⁻¹ + NaCl 0,15 mol L⁻¹.

Conforme recomendam Yau et al. (1979) e Mori & Barth (1999), construiu-se um gráfico de dispersão, em que o eixo X representa o logaritmo da massa molecular dos padrões e o eixo Y representa o coeficiente de partição K_d, que é calculado segundo a fórmula:

$$K_d = (V_e - V_o) / (V_t - V_o),$$

em que V_e representa o volume de eluição da substância injetada, V_o é o volume “morto” (volume de eluição de substância de massa molecular altíssima, no caso, o Blue Dextran) e V_t é o volume teórico total da coluna (produto da altura pela área da base). Cada padrão foi injetado duas vezes, trabalhando-se com a média dos resultados de eluição, cujo coeficiente de variação nunca foi superior a 1%. Como pode se observar pela figura 12, a coluna apresentou uma boa calibração, o que pode ser observado pelo elevado R² (0,995) da curva obtida.

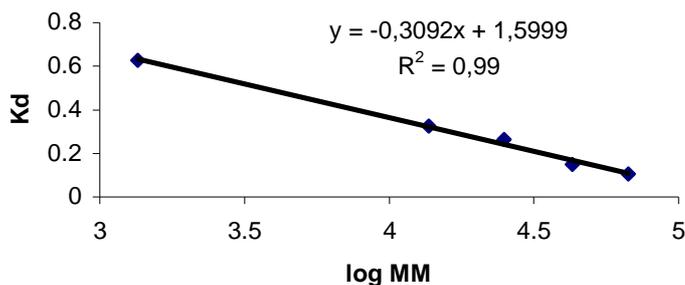


Figura 12. Curva de calibração da coluna superdex 75 HR10/30.

3.3.1.2 – Teste de eficiência (nº de pratos teóricos)

Conforme instruções contidas no manual que acompanha a coluna, procedeu-se à determinação da eficiência da coluna Superdex 75 mediante o cálculo do número de pratos teóricos por metro (H^{-1}), segundo a seguinte fórmula:

$$H^{-1} = 5,54 \times (V_e/w_h)^2 \times (1000/L),$$

em que, V_e é o volume da eluição de solução de acetona ($5,0 \text{ mg mL}^{-1}$); w_h é a largura do pico da acetona, tomado a meia altura do pico e transformado em mL; L é a altura, em mm, da coluna.

As condições do teste foram encontradas no quadro 3, porém, com as seguintes modificações: fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, eluente composto de solução 20% de etanol. A velocidade do registrador foi de $0,5 \text{ cm min}^{-1}$.

Os resultados obtidos (Tabela 20) indicam que a coluna está em excelentes condições, já que a recomendação é de que esse valor exceda $30.000 \text{ pratos m}^{-1}$.

Tabela 20. Parâmetros de cálculo de eficiência da coluna Superdex 75 HR 10/30.

Amostra	V_e	w_h	L	H^{-1}
	mL	----- cm -----	-----	pratos m^{-1}
1	22,223	1,7	29	45.974,9
2	22,203	1,7	29	45.892,2

3.3.2 – Determinação dos programas de temperatura a serem usados nas frações eluídas.

3.3.2.1 – Curva de pirólise e de atomização

Como optou-se por trabalhar com o espectrômetro de absorção atômica, recém chegado à época, da Analytik Jena modelo AAS ZEE nit 60 com forno de grafite aquecido transversalmente, resolveu-se levantar as curvas de atomização e pirólise para os elementos Fe, Mn e Al, diluídos em HNO_3 0,2% e em

concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Os programas inicialmente usados para esse teste foram sugeridos no manual do equipamento e constam das tabelas 21 a 23.

Tabela 21. Programas de temperatura para o Al, em matriz de HNO_3 0,2%.

Etapa	Tipo	Temperatura	Rampa	Hold	Tempo
		$^{\circ}\text{C}$	$^{\circ}\text{C s}^{-1}$	s	s
1	Secagem	90	10	5	10
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Secagem	120	15	10	11
4	Pirólise	1500	300	2	6,6
5	Auto Zero	1500	0	4	4
6	Atomização	2500	FP	2	2
7	Cleanout	2600	1000	4	4,1

Tabela 22. Programa de temperatura para o Fe, em matriz de HNO_3 0,2%.

Etapa	Tipo	Temperatura	Rampa	Hold	Tempo
		$^{\circ}\text{C}$	$^{\circ}\text{C s}^{-1}$	s	s
1	Secagem	90	10	5	10,2
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Secagem	120	15	10	11
4	Pirólise	800	300	2	4,3
5	Auto Zero	800	0	6	6
6	Atomização	2200	FP	3	3
7	Cleanout	2500	1000	4	4,3

Tabela 23. Programa de temperatura para o Mn, em matriz de HNO_3 0,2%.

Etapa	Tipo	Temperatura	Rampa	Hold	Tempo
		$^{\circ}\text{C}$	$^{\circ}\text{C s}^{-1}$	s	s
1	Secagem	90	10	5	10,2
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Secagem	120	15	10	11
4	Pirólise	900	300	2	4,6
5	Auto Zero	900	0	6	6
6	Atomização	2200	FP	5	5
7	Cleanout	2500	1000	4	4,3

Inicialmente, foi testado o uso de modificadores, como recomenda o manual, solução de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ para Fe e Al e solução de Pd/Mg para Mn. Contudo, devido à natureza simples da matriz, o “background” ficou muito mais elevado, não trazendo nenhuma melhoria do sinal analítico, medido com base na área do pico. O mesmo ocorreu, posteriormente, quando se trabalhou com solução de NaCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Com isso, decidiu-se pela não utilização de modificadores. Barra (1992) em matrizes mais complexas de extratos de solo, também já havia chegado a essa conclusão, no que diz respeito ao Al e Fe. Os resultados das curvas de pirólise e atomização encontram-se ilustrados nas figuras 13, 14 e 15.

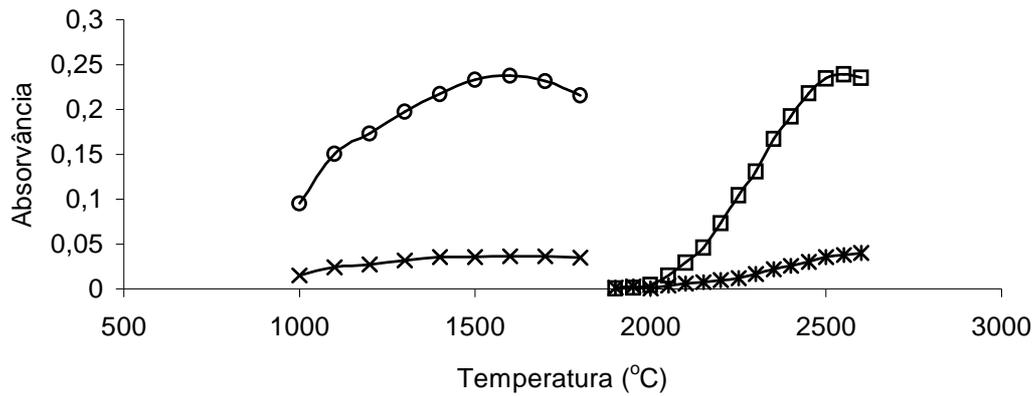


Figura 13. Curvas de pirólise (O) e atomização (□) para a solução de 30 ng L^{-1} de alumínio (sem modificador), e dos respectivos “back ground” (*e x).

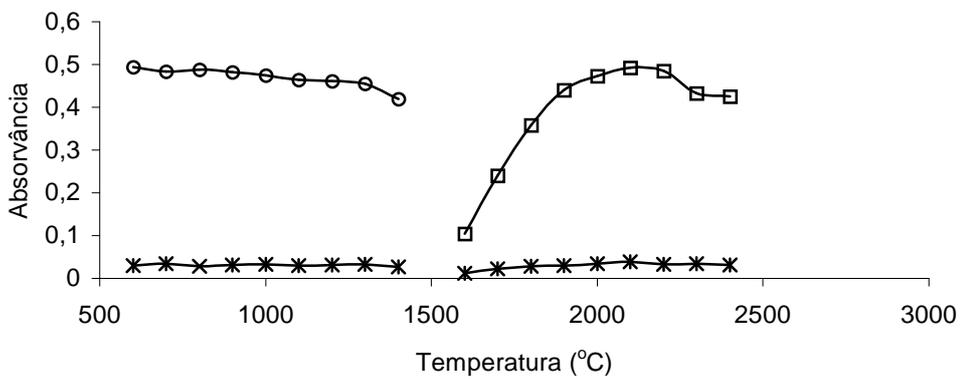


Figura 14. Curvas de pirólise (O) e atomização (□) para a solução de 30 ng L^{-1} de ferro (sem modificador), e dos respectivos “back ground” (*e x).

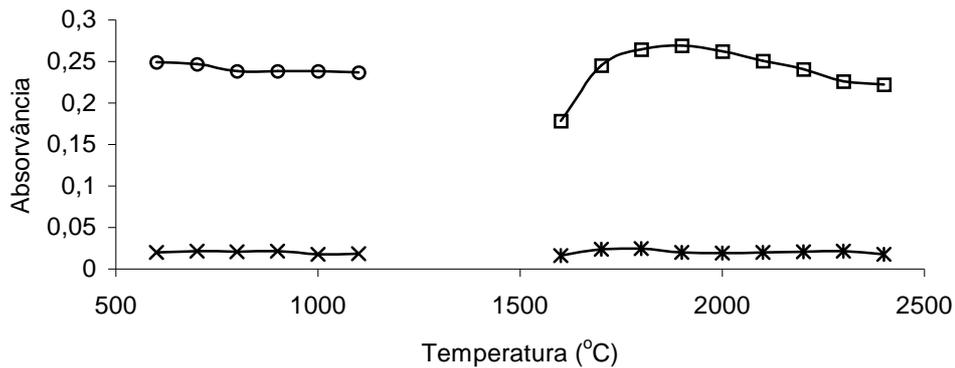
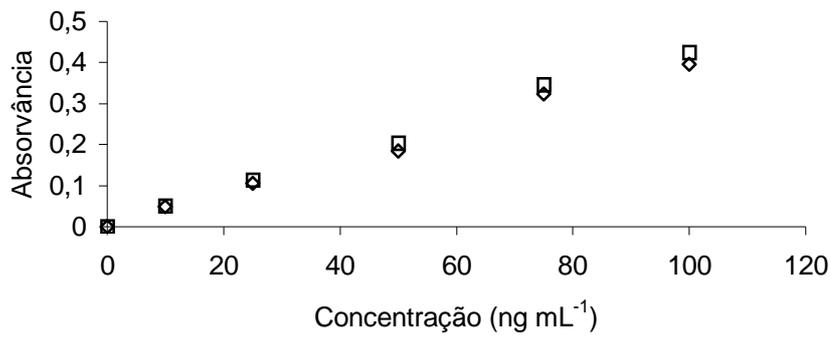


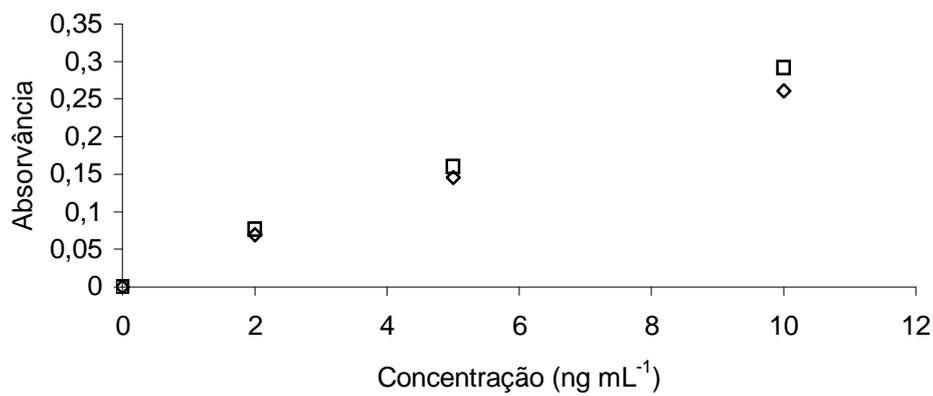
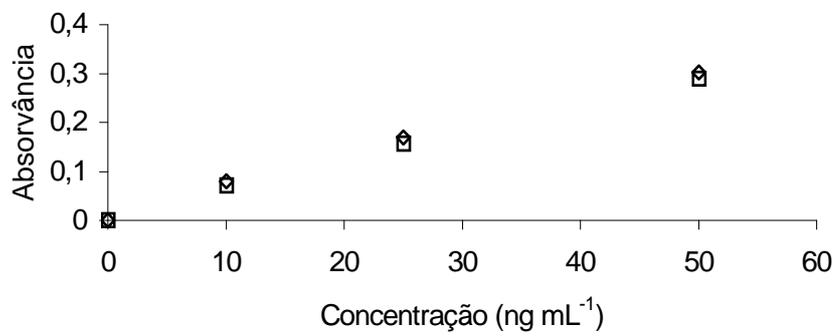
Figura 15. Curvas de pirólise (O) e atomização (□) para a solução de 30 ng L^{-1} de manganês (sem modificador), e dos respectivos “back ground” (*e x).

Com base nesses resultados, resolveu-se, então, alterar as temperaturas de atomização e pirólise de Fe e Mn para 800 e 2.200°C e, para o Al, para 1500 e 2500°C , respectivamente. Assim mesmo, como forma de diminuir o tempo de análise, buscou-se diminuir o tempo de secagem da amostra de 3 para 2 etapas já que, por avaliação visual, na 2ª etapa praticamente toda matriz já havia evaporado. Para isso, buscou-se comparar as curvas analíticas, cujas diferenças não foram significativas (Figura 16). Assim sendo, os programas finais de temperatura para análise das frações provenientes da eluição em água e acidificadas (até alcançarem concentração, aproximada, de HNO_3 0,2%) encontram-se na tabela 24 (p.85). Para validar esses protocolos, foi analisada uma amostra certificada de água de rio do Conselho Nacional de Pesquisa do Canada (NRC-CNRC), cuja matriz é similar à solução do solo,. Os resultados indicam, então, uma boa concordância ,o que demonstra a eficiência dos programas utilizados na determinação de Fe, Mn e Al (Tabela 25, p.85).

a)



b)



c)

Figura 16. Curvas analíticas obtidas para a) Al, b) Fe e c) Mn, levantadas por GFAAS, utilizando os programas de temperatura mostrados nas tabelas 23 a 26, com 3 (◻) e 2 (◻) etapas de secagem.

Tabela 24. Programa de temperatura para Al, Fe e Mn, em HNO₃ 0,2%.

Etapa	Tipo	Temperatura °C	Rampa °C s ⁻¹	Hold s	Tempo s
Alumínio ¹					
1	Secagem	90	10	5	9,8
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Pirólise	1500	300	5	9,7
4	Auto Zero	1500	0	4	4
5	Atomização	2500	2700	3	3,4
6	Cleanout	2600	1000	4	4,1
Ferro ²					
1	Secagem	90	10	5	9,9
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Pirólise	800	300	2	4,3
4	Auto Zero	800	0	6	6
5	Atomização	2200	1800	5	5,8
6	Cleanout	2500	1000	4	4,3
Manganês ³					
1	Secagem	90	10	5	9,8
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Pirólise	800	300	2	4,3
4	Auto Zero	800	0	4	4
5	Atomização	2200	1800	3	3,8
6	Cleanout	2500	1000	4	4,3

1. Integração 3s; slit 0,8nm; corrente da lâmpada 5,5mA; linha espectral 309,3nm.
2. Integração 5s; slit 0,2nm; corrente da lâmpada 7mA; linha espectral 248,3nm
3. Integração 3s; slit 0,2nm; corrente da lâmpada 5,5mA; linha espectral 279,5nm.

Tabela 25. Validação dos resultados de Fe, Mn e Al, pela análise de material certificado de referência SLRS-4, “river water”, do NRC-Canadá..

	Fe	Mn	Al
	µg L ⁻¹		
Valores certificados	103 ± 5	3,37 ± 0,18	54 ± 4
Valores encontrados ^a	103 ± 2	3,42 ± 0,06	57,0 ± 0,5

a – Média de quatro repetições.

3.3.2.2 – Determinação de programas de temperatura para matriz NaCl 0,01 mol L⁻¹ em HNO₃ 0,2%.

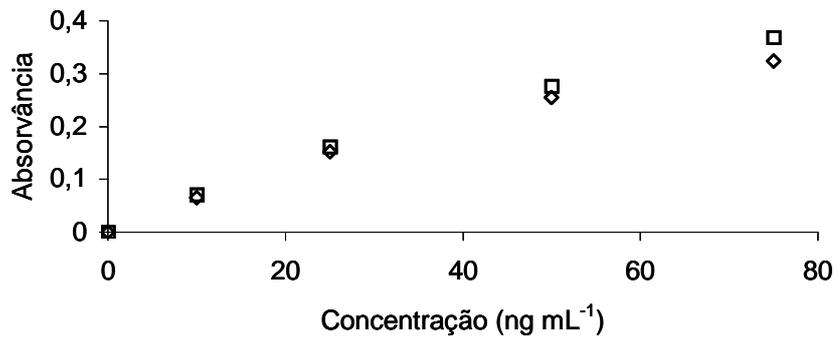
Frente a esta nova matriz, foram procedidos novos estudos de otimização do programa de temperatura. Nenhuma alteração foi observada para o Al. Já para o Fe e Mn, os novos programas otimizados encontram-se na tabela 26. A figura 17 demonstra que não houve diferença significativa, também, para as curvas de calibração obtidas nas duas matrizes estudadas.

Tabela 26. Programa de temperatura para Al, Fe e Mn, em NaCl 0,01 mol L⁻¹ + HNO₃ 0,2%.

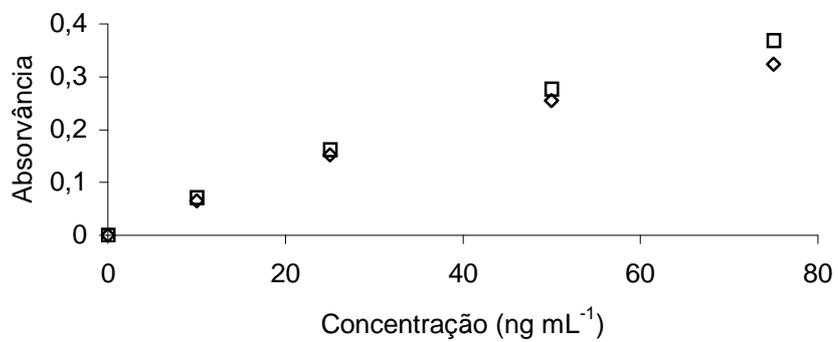
Etapa	Tipo	Temperatura °C	Rampa °C s ⁻¹	Hold s	Tempo s
Ferro					
1	Secagem	90	10	5	9,8
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Pirólise	900	300	2	4,7
4	Auto Zero	900	0	6	6
5	Atomização	2200	2200	5	5,6
6	Cleanout	2500	1000	4	4,3
Manganês ²					
1	Secagem	90	10	5	9,9
2	Secagem	105	7	30	32,1
3	Pirólise	900	300	2	4,7
4	Auto Zero	900	0	4	4
5	Atomização	2200	2200	5	5,6
6	Cleanout	2500	1000	4	4,3

1. Integração 5s; slit 0,2nm; corrente da lâmpada 7mA, linha espectral 248,3nm
2. Integração 3s; slit 0,2nm; corrente da lâmpada 5,5mA; linha espectral 279,5nm.

a)



b)



c)

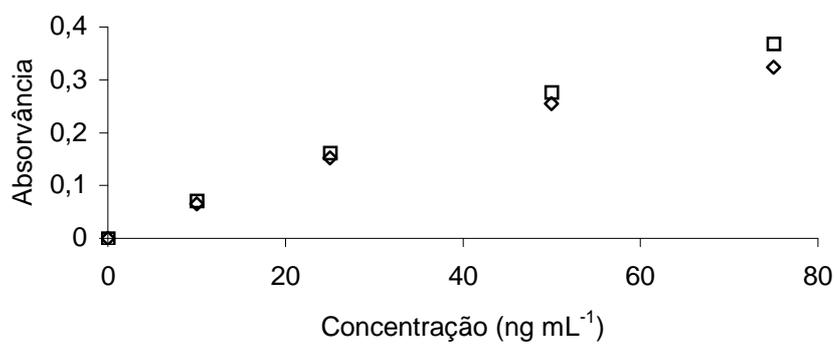


Figura 17. Curvas analíticas obtidas para a) Al, b) Fe e c) Mn, levantadas por GFAAS, utilizando os programas de temperatura mostrados nas tabelas 26 e 28, em HNO₃ 0,2% (◊) e em NaCl 0,01 mol L⁻¹ + HNO₃ 0,2% (◻) etapas de secagem.

3.3.3 – Calibração da coluna com os eluentes que serão usados na especiação.

Existe uma intensa discussão a respeito do tipo de substância que deve ser usada para calibrar as colunas de exclusão por tamanho, quando aplicadas à separação de substâncias húmicas, não havendo sido alcançado, ainda, um consenso (Perminova et al., 1998; Zhou et al., 2000; Kudryavtsev et al., 2000; Muller et al., 2000). Muito dessa indefinição se deve ao fato das substâncias húmicas representarem uma mistura complexa e heterogênea, composta de diferentes estruturas e uma larga distribuição de massa molecular. Contudo, Conte & Piccolo (1999a), com base em uma série de estudos, indicam que, devido a essa estrutura química primária indefinida, qualquer padrão de calibração somente se aproximará do raio hidrodinâmico das substâncias húmicas. Desta forma, qualquer padrão (polissacarídeos, proteínas, polistireno, etc) pode ser usado na distinção de tamanhos moleculares da matéria orgânica dissolvida.

No presente estudo, serão utilizados os mesmos padrões de proteínas usados nos testes iniciais da coluna (sub-ítem 3.3.1.1), adicionando-se, ainda, a aprotinina. O Blue Dextran continuou sendo usado para calcular o tempo morto da coluna (“void”) e a acetona foi usada para determinar o tempo de permeação.

3.3.3.1 – Água

Os resultados estão apresentados na tabela 27 e figura 18. É interessante observar que, apesar da alteração dos tempos de retenção, os coeficientes das curvas que relacionam o K_d com Log_{10} MM, tanto para eluição em água, quanto em tampão de fosfato (Figura 12, p.80), são similares.

Tabela 27. Resultados médios (n=4) da eluição de padrões de massa molecular (MM) em coluna Superdex 75 HR10/30 com eluente água demineralizada, fluxo 1 mL min⁻¹ e alça de 100µL.

Padrão	Concentração mg mL ⁻¹	MM dalton	Ve mL	Log ₁₀ MM	Kd
Acetona	pura	58.08	18,63	1,76	0,71
Vit. B 12	0,6	1355	16,62	3,13	0,61
Aprotinina	3,9	6500	8,207	3,81	0,15
Ribonulase A	4,6	13700	7,467	4,14	0,12
Chymotrypsinogênio A A	4	25000	7,233	4,40	0,10
Ovalbumina	1,2	43000	5,68	4,63	0,02
Albumina	1,1	67000	5,97	4,83	0,04
Blue Dextran	2,2	2000000	5,31		

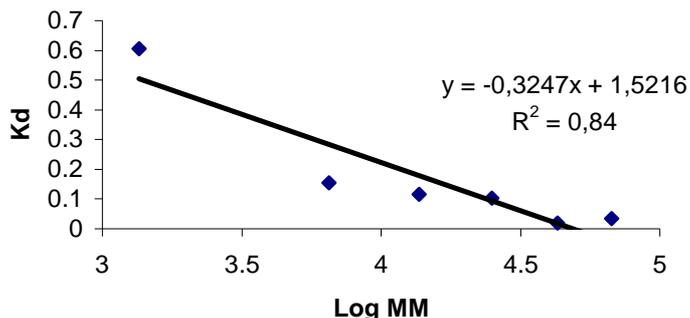


Figura 18. Variação do coeficiente de partição com o logaritmo, na base 10, da massa molecular dos padrões eluídos em água, a fluxo de 1 mL min^{-1} e alça de $100\mu\text{L}$.

3.3.3.2 – NaCl $0,01\text{ mol L}^{-1}$

Os resultados estão apresentados na tabela 28 e figura 19. Da mesma forma como ocorreu para a água, os coeficientes da curva que relaciona o Kd com Log_{10} MM, pela eluição em NaCl, são similares aos da eluição com tampão de fosfato (Figura 12, p.80) e com água (Figura 18), apesar do fato dos tempos de retenção de certos padrões serem bem diferentes (Tabelas 27 e 28).

Tabela 28. Resultados médios ($n = 4$) da eluição de padrões de massa molecular (MM) em coluna Superdex 75 HR10/30 com eluente NaCl $0,01\text{ mol L}^{-1}$, fluxo 1 mL min^{-1} e alça de $100\mu\text{L}$.

Padrão	Concentração mg mL^{-1}	MM dalton	Ve mL	Log_{10} MM	Kd
Acetona	pura	58.08	17,84	1,76	0,64
vit. B 12	0,6	1355	16,63	3,13	0,57
Aprotinina	1,5	6500	14,10	3,81	0,42
Ribonulase A	1,1	13700	13,43	4,14	0,38
Chymotrypsinogênio A A	1,1	25000	11,71	4,40	0,28
Ovalbumina	1,2	43000	7,79	4,63	0,05
Albumina	1,1	67000	7,62	4,83	0,04
Blue Dextran	1,2	2000000	6,86		

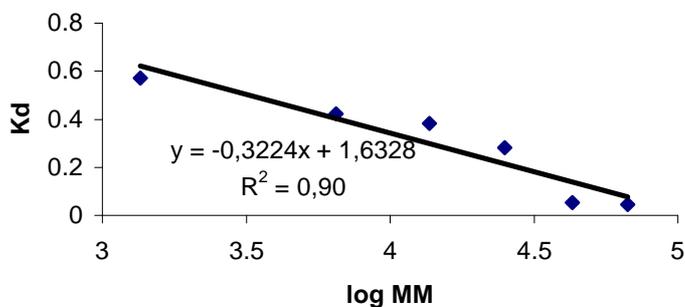


Figura 19. Variação do coeficiente de partição com o logaritmo, na base 10, da massa molecular dos padrões eluídos em NaCl $0,01\text{ mol L}^{-1}$, a fluxo de 1 mL min^{-1} e alça de $100\mu\text{L}$.

3.3.4 – Eluição das amostras de solução do solo.

Os resultados serão discutidos com base na abordagem de Rottman & Heumann (1994). Segundo estes autores, a eluição de polieletrólitos, como as substâncias húmicas, em colunas de exclusão por tamanho, é influenciada por uma série de fatores que alteram, no final, os cálculos de massa molecular, levando a interpretações errôneas. Contudo, apesar disso, é possível comparar padrões de distribuição de diferentes espécies, contendo matéria orgânica dissolvida, se as mesmas condições, principalmente de força iônica e pH, forem aplicadas. Nesse contexto, o tempo de retenção, ou volume de eluição, aliado ao perfil do material separado, serão o critério distintivo, mesmo se a massa molecular exata não for conhecida. Assim mesmo, os valores de massa molecular foram calculados e encontram-se no Anexo 6 (p. 153).

Vale ressaltar, também, que muito do que será exposto na discussão dos dados, a seguir, se baseará em trabalhos com substâncias húmicas extraídas da fase sólida do solo, visto que não há nenhum trabalho similar em solução do solo.

3.3.4.1 – Influência do eluente nas curvas de absorvância.

Pode se observar, para as seis amostras estudadas, que há um nítido deslocamento dos principais picos de absorção em função da composição do eluente (Figuras 20 e 21, p.91 e 92). No caso da água, a maioria dos picos se concentra próximo ao volume morto da coluna, enquanto que, no caso do NaCl, eles se movem em direção a tempos de retenção maiores. Esse tipo de comportamento já tem sido observado há muito em colunas de exclusão. Ele está, provavelmente, associado a interações de caráter iônico entre o gel e o analito (Mori et al., 1987; Ceccanti et al, 1989; Berdén & Berggren, 1990; Muller et al., 2000; Specht & Frimmel, 2000). Por menor que seja a presença de cargas negativas na superfície do gel que compõe a Superdex (Drevin et al, 1990; Hils et al., 1999), ela, aparentemente, é suficiente para que se estabeleça uma repulsão eletrostática, que faz com que as substâncias húmicas, também carregadas negativamente, sejam impedidas de se difundir pelos poros do gel, resultando em tempos de eluição, em água, menores do que em solução salina. Há de se destacar, também, que outros autores acreditam que tal efeito possa estar relacionado a outras causas, principalmente ao aumento do volume hidrodinâmico da substância húmica em água (Schnitzer, 1986; Stevenson, 1994; Zernichow & Lund, 1995) e

ao aumento das forças de interação hidrofóbica, entre o gel e o analito, pelo aumento da força iônica (Zernichow & Lund, 1995; Hongve et al., 1996; Schmitt et al., 2000). Contudo, todas as duas considerações tomam como base princípios que, aparentemente, são questionáveis para as condições experimentais usadas. Primeiro, a estrutura conformacional assumida pelos defensores do volume das substâncias húmicas em água (modelo variando de linear flexível a rígidas espirais) não condiz com as recentes descobertas relativas a um modelo supramolecular (Piccolo et al., 1999; Conte & Piccolo, 1999b; Piccolo et al., 2001; Cozzolino et al., 2001; Steelink, 2002; Piccolo, 2002). Em segundo lugar, os estudos que sugeriram o possível incremento das forças hidrofóbicas ocorreram em faixas de força iônica, no mínimo, dez vezes superiores à utilizada no presente trabalho. Por isso, a justificativa da interação iônica parece ser a mais plausível para explicar a situação encontrada.

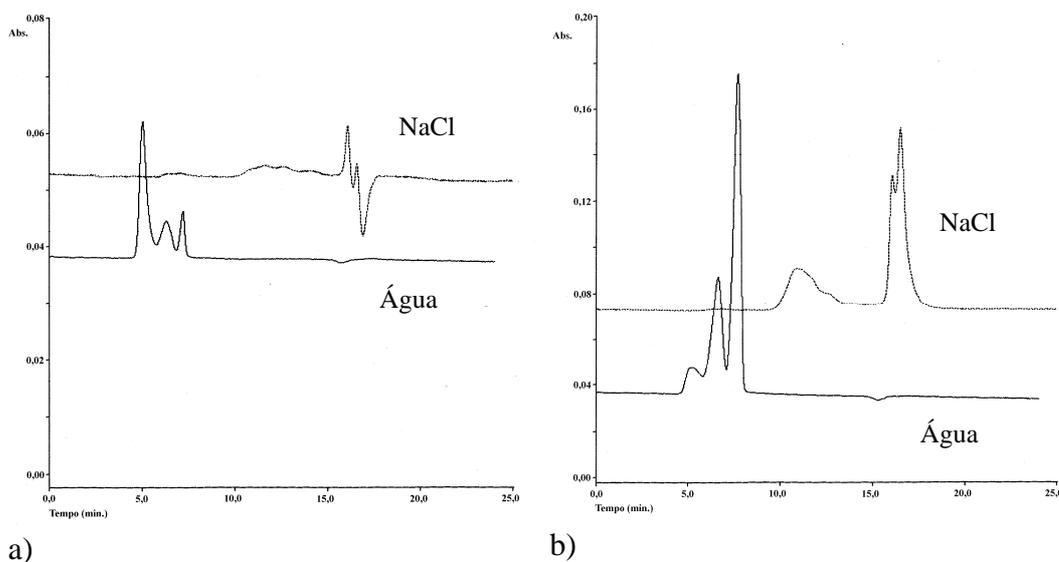
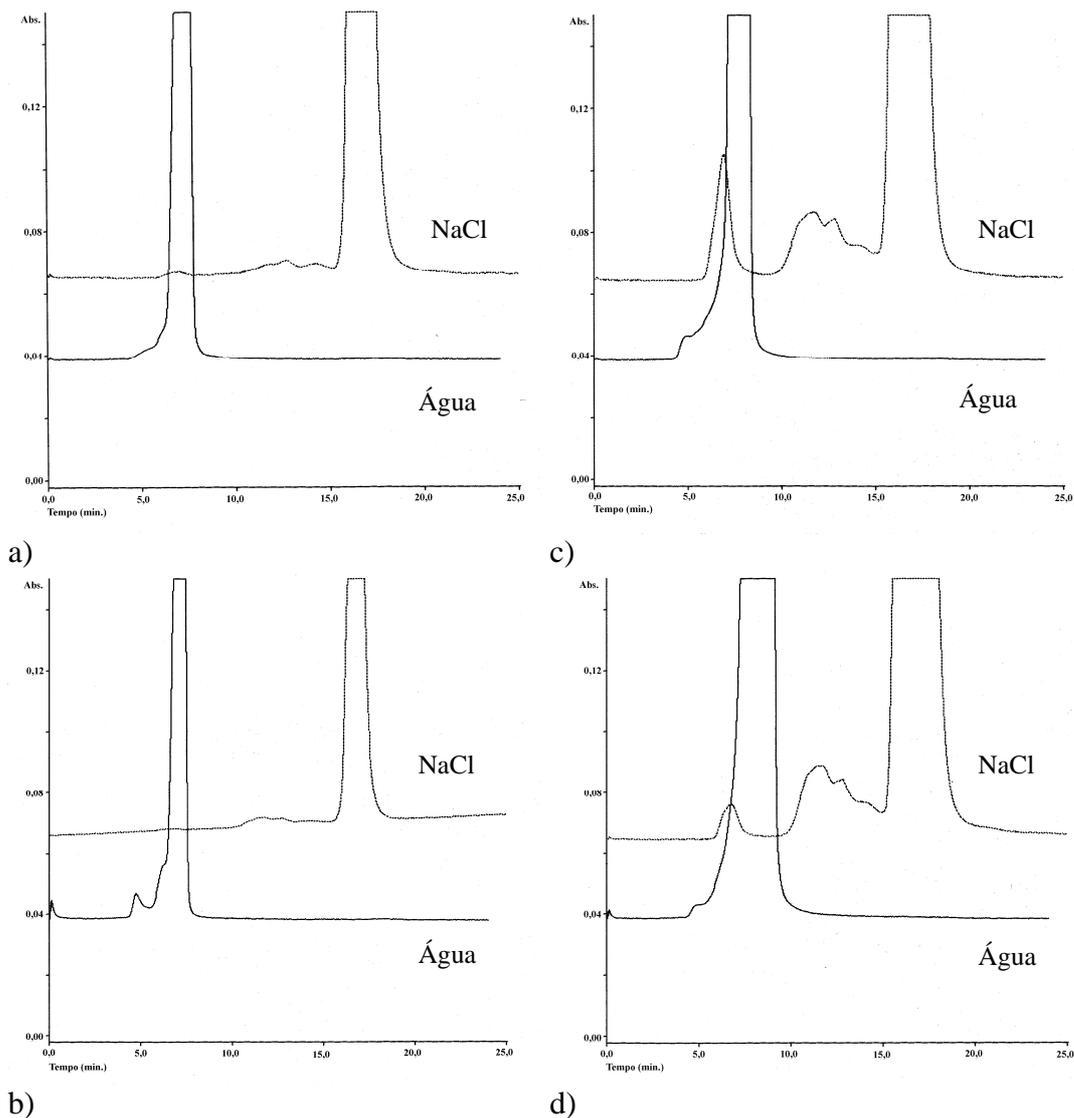


Figura 20. Cromatogramas de exclusão por tamanho das amostras de solução do solo, coletadas em Argissolo Vermelho-Amarelo: sob (a) pasto e (b) cultivo orgânico de milho, eluídas em dois tipos de eluentes: água demineralizada e solução de NaCl 0,01 mol L⁻¹.



b) d)
 Figura 21. Cromatogramas de exclusão por tamanho das amostras de solução do solo, coletadas em Latossolo Vermelho sob: (a) mata, (b) cultivo convencional de milho-Absoluta, (c) cultivo de milho com aplicação de 12 t ha^{-1} e (d) 24 t ha^{-1} de lodo de esgoto, eluídas em dois tipos de eluentes: água demineralizada e solução de NaCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

Outra observação importante diz respeito ao maior número de picos, ou subpicos e “ombros”, observados nos cromatogramas das amostras eluídas em NaCl, se comparadas com a água (Figuras 20 e 21). Schmitt et al. (2000) relacionam tal fato ao aumento das forças hidrofóbicas, em função do aumento da força iônica, o que retardaria a eluição de certas substâncias húmicas. Porém, outra vez, a faixa de força iônica usada foi maior do que a aplicada no presente trabalho. Além disso, Hongve et al. (1996), trabalhando com uma coluna de resina (Shodex ASAHPAC) e outra de sílica (TSK 3000), determinaram que uma força iônica abaixo de $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ não seria suficiente para incrementar tais forças hidrofóbicas. Uma justificativa, então, para tal comportamento pode estar ligada a

uma pequena diferença de peso, ou tamanho, das moléculas das substâncias húmicas existentes na solução do solo, o que redundaria num pico largo pelo efeito da repulsão eletrostática em água. Assim sendo, pode-se admitir que a eluição em solução salina, com força iônica próxima à solução do solo, redundaria em cromatogramas com picos mais bem distribuídos, ao longo do tempo de eluição, e seletivos e sem, aparentemente, gerar nenhum artefato.

Berdén & Berggren (1990) também observaram que, pelo aumento da força iônica, havia um incremento da área dos picos determinados. Tal comportamento não foi observado no presente estudo, como pode se constatar na tabela 29, já que, para certas amostras, o somatório da área dos picos foi maior em água, a exemplo da amostra Absoluta, e em outras foi maior na solução de NaCl 0,01 mol L⁻¹, como foi o caso da amostra Pasto.

Tabela 29. Somatório das áreas dos picos determinados nas amostras de solução de solo eluídas em água e em NaCl 0,01 mol L⁻¹, utilizando coluna Superdex 75HR 10/30.

Amostra, Tratamento	Área (n = 2)	
	Água	NaCl
Pasto, "in natura"	7,31.10 ⁶	1,98.10 ⁷
Milho, "in natura"	3,56.10 ⁷	3,56.10 ⁷
Milho, refrigeração	2,25.10 ⁷	1,62.10 ⁷
Milho, reumidecido	2,20.10 ⁷	2,65.10 ⁷
Mata, "in natura"	8,97.10 ⁷	2,59.10 ⁸
Absoluta, "in natura"	6,02.10 ⁷	4,64.10 ⁷
12 t ha ⁻¹ , "in natura"	3,88.10 ⁸	9,16.10 ⁸
12 t ha ⁻¹ , refrigeração	4,87.10 ⁸	3,90.10 ⁸
12 t ha ⁻¹ , reumidecido	1,29.10 ⁸	7,23.10 ⁸
24 t ha ⁻¹ , "in natura"	9,27.10 ⁸	1,96.10 ⁸
CV da medida	< 10%	

3.3.4.2 – Influência do eluente na distribuição dos metais

O percentual de metais associados aos picos de absorvância em UV foi sempre maior quando o eluente usado foi o NaCl (Tabela 30, p.94), o que reforça a hipótese da influência das cargas do gel que compõe a coluna na eluição dos compostos húmicos da solução do solo. Isto, porque, os metais complexados podem interagir com a coluna, sendo eluídos em tempos de retenção maiores. O elevado número de picos de Al, Mn e Fe dissociados de picos de absorvância que se observam nos cromatogramas das amostras eluídas em água parecem comprovar esse fato (Anexo 6, p.153). Já quando o eluente foi o NaCl, a presença do íon Na contrabalança o déficit de carga do gel, minimizando a competição pelo metal ligado à substância orgânica eluída. Apesar disso, alguns picos de metais,

dissociados dos picos de absorvância, são observados, principalmente nos tempos de retenção mais próximos ao volume de permeação da coluna. É provável que esses elementos estejam : a) ligados a ácidos orgânicos de baixa massa molecular (< 500 da), não absorventes de UV, como já observaram Gardiner et al. (1987), Van Hees (1996), Swift (1999), O'Loughlin & Chin (2001), ou; b) em forma inorgânica (simples ou polimerizada), como sugerem Kerven et al. (1995), Zernichow & Lund (1995), Swift (1999), Schmitt et al. (2000).

De qualquer forma, quanto aos elementos estudados, três tipos de distribuição podem ser observados pela eluição em NaCl (Anexo 6, p.153):

- co-eluição com pico de UV, mostrando o mesmo padrão de distribuição;
- co-eluição com pico de UV, sem mostrar o mesmo padrão de distribuição;
- co-eluição não específica.

Tal observação corrobora o trabalho de Rottman & Heumann (1994). Outro ponto interessante de se ressaltar é que, a despeito da literatura indicar que a estabilidade dos complexos formados entre ácidos húmicos e Mn seja, normalmente, mais fraca que aquela formada com Fe e Al (Schnitzer, 1986; Alloway, 1995; Pandey et al., 2000), os resultados obtidos, tanto para água, como para NaCl, não exibem tal tendência (Tabela 30).

Tabela 30. Recuperação de Mn, Al e Fe associados aos picos de absorvância, em UV, por eluição em coluna Superdex 75 HR 10/30.

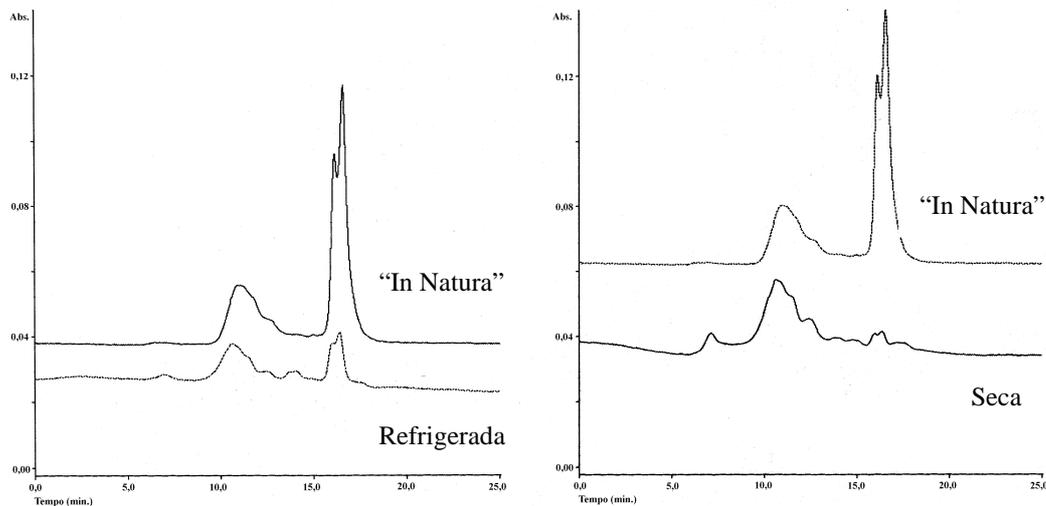
Amostra	Eluente	Mn	Fe	Al
		% ¹		
Pasto, "in natura"	Água	20	32	35
Pasto, "in natura"	NaCl	99	98	91
Milho, "in natura"	Água	22	15	23
Milho, "in natura"	NaCl	67	27	66
Milho, refrigeração	Água	75	42,5	46
Milho, refrigeração	NaCl	88	100	87
Milho, reumidecido	Água	27,5	46	18
Milho, reumidecido	NaCl	68	55,5	72
Mata, "in natura"	Água	5	3	1
Mata, "in natura"	NaCl	61	60	73
Absoluta, "in natura"	Água	34	16	24
Absoluta, "in natura"	NaCl	17	83	53
12 t ha ⁻¹ , "in natura"	Água	13	5	12
12 t ha ⁻¹ , "in natura"	NaCl	74	91	72
12 t ha ⁻¹ , refrigeração	Água	50	32	17
12 t ha ⁻¹ , refrigeração	NaCl	67	82	86
12 t ha ⁻¹ , reumidecido	Água	79	51	60,5
12 t ha ⁻¹ , reumidecido	NaCl	96	82	75
24 t ha ⁻¹ , "in natura"	Água	21	31	30
24 t ha ⁻¹ , "in natura"	NaCl	93	87	80

1. Calculado com base na razão entre os teores do elemento associados aos picos de UV e o teor total eluído da coluna.

3.3.4.3 – Influência da estocagem na especiação dos metais

Para fins dessa avaliação, somente uma amostra de cada região foi usada, a saber Milho (Seropédica – RJ) e 12 t ha⁻¹ de lodo (Jaguariúna – SP). Considerando que a eluição em NaCl representa a situação mais próxima a realidade, conforme já discutido nos dois sub-ítems anteriores, a presente discussão será realizada com base nesses cromatogramas (Figuras 22 e 23, p.96 e 97).

No caso do Milho “in natura”, nota-se, nitidamente, o surgimento de novos picos ou sub-picos, ou até “ombros”, pelo tratamento com refrigeração e pelo de secagem e reumidecimento (Figura 22), principalmente nas posições intermediárias do que representaria um pico de substância húmica de maior massa molecular (tempo de retenção em torno de 10,2 min) e de substância húmica de menor massa molecular (em torno de 16,4 min). Em princípio, considerando-se as áreas associadas a esses picos, pode se observar, no caso da amostra reumificada (Figura 22b), que só o pico de 16,5 minutos diminui em área, o que sugere uma possível agregação/repolimerização do material orgânico decomposto. Já no caso da amostra guardada em refrigerador (Figura 22a), há a perda de área dos dois picos e o surgimento, até, de um pico menor, próximo ao volume de permeação, o que sugere um processo associado de degradação microbiana e agregação/repolimerização de parte do material decomposto. O recente modelo supramolecular proposto por Piccolo e colaboradores (Piccolo et al., 1999; Conte & Piccolo, 1999; Piccolo et al., 2001; Cozzolino et al., 2001; Piccolo, 2002), que sugerem que as substâncias húmicas são formadas por associações de moléculas menores e heterogêneas, parece ser corroborado pelos presentes resultados. Além disso, pode se especular, também, sobre a mudança na natureza química da substância húmica eluída no pico de 10,6 minutos nessa amostra, em função da mudança do comprimento de onda máximo detectado pelo sistema de UV, de cerca de 330 nm para 215 nm.



a)

b)

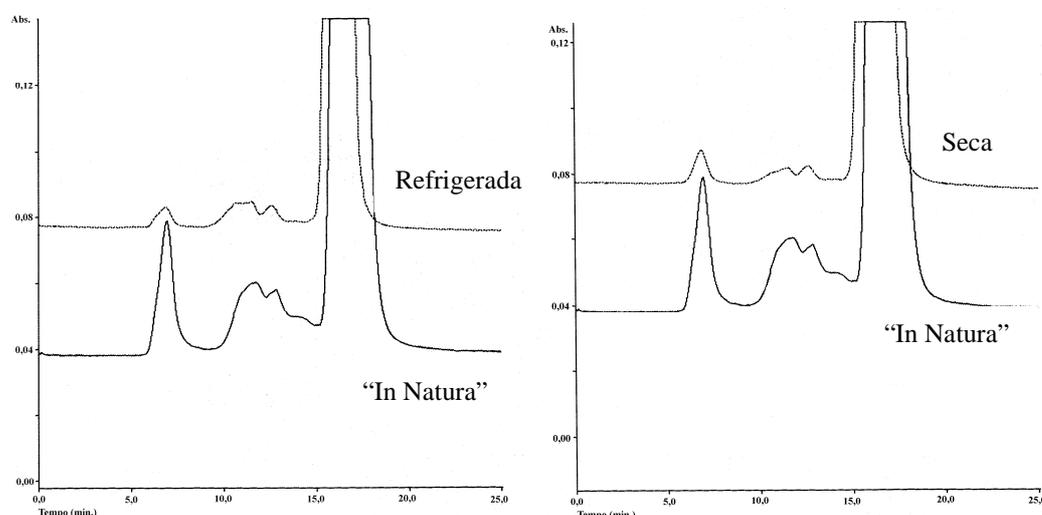
Figura 22. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes a amostra coletada em Argissolo Vermelho-Amarelo sob cultivo orgânico de milho, eluídas em NaCl 0,01 mol L⁻¹, nas condições de estocagem (a) “in natura” x amostra refrigerada (b) “in natura” x amostra seca e reumidecida à umidade de campo.

No que diz respeito aos metais, pode se observar que os maiores valores de associação dos três metais com os picos de absorvância em UV (Tabela 30, p.94) foram encontrados na amostra guardada em refrigeração, seguida da reumidecida, o que, de certo modo, corrobora a hipótese aventada anteriormente, de uma possível agregação/repolimerização dos compostos orgânicos, já que esses metais, principalmente Fe e Al, por formarem complexos bem estáveis com substâncias húmicas, podem servir de ponte de ligação entre frações orgânicas de menor massa molecular (Swift, 1989; Stevenson, 1994; Stumm & Morgan, 1996).

Quanto à distribuição dos metais, alguns padrões de comportamento podem ser observados (Tabela 31, p.98). A amostra “in natura” apresenta os teores de Mn, Fe e Al distribuídos entre dois picos principais, o de tempo de retenção próximo à 11,0 minutos e o próximo de 16,3, com nítida superioridade do primeiro. A amostra que foi refrigerada, por sua vez, passa a ter uma maior presença de um outro pico, situado em tempo de retenção menor (próximo a 7,0 min), sendo que o maior grau de associação foi encontrado no pico próximo a 16,3 minutos. Já no caso da amostra reumificada, um pico em tempo de retenção maior (em torno de 17,1 min) ocorre para Mn e Fe e um pico de tempo menor (7,1 min) para o Al.

Analisando, agora, os resultados de absorvância referentes à amostra do tratamento 12 t ha⁻¹ de lodo (Figura 23), pode se notar que os padrões de

distribuição dos picos de absorvância em UV (Anexo 6, p.153), tendo o NaCl como eluente, são similares. Contudo, um novo pico na amostra que foi mantida refrigerada (tempo de retenção próximo a 5,0 min) e outro na amostra reumidecida (em torno de 13,9 min) apareceram. Apesar de não haver correspondência nas alterações causadas pelos tratamentos estudados nas duas amostras, notadamente nas faixas dos tempos de retenção em que os novos picos aparecem, é evidente que a refrigeração por 15 dias (Figura 23a) e a secagem e reumidecimento da amostra à umidade de campo (Figura 23b) geraram diferenças na eluição dos compostos húmicos na coluna Superdex 75 RH 10/30.



a)

b)

Figura 23. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes a amostra coletada em Latossolo Vermelho sob cultivo de milho e que recebeu 12 t ha^{-1} de lodo de esgoto, eluídos em NaCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, nas condições de estocagem (a) “in natura” x amostra refrigerada (b) “in natura” x amostra seca e reumidecida à umidade de campo.

Com respeito aos metais, à semelhança da amostra “Milho”, os maiores valores de associação de Mn e Al com os picos de absorvância em UV (Tabela 32, p.99) também foram encontradas na amostra guardada em refrigeração e reumidecida. No que tange à distribuição (tabela 31, p.98), a amostra “in natura” apresenta a maior parte dos três metais associados ao pico de menor tempo de retenção (6,9) e, no caso do Mn e Al, de um tempo intermediário também (11,7). A amostra mantida em refrigeração apresenta uma nítida tendência em deslocar a maior concentração dos elementos estudados para tempos de retenção maiores, principalmente no caso do Mn e Fe. Idêntico comportamento apresenta a amostra

reumidecida, embora, no caso do Al, haja uma maior concentração no tempo de retenção menor.

Tabela 31. Principais frações de Al, Fe e Mn determinadas na amostra de solução do solo milho e 12 t ha⁻¹ de lodo.

Amostra	Milho			12 t ha ⁻¹ de lodo		
	Mn	Fe	Al	Mn	Fe	Al
“In Natura”	30% (11,0)	29% (11,0)	32% (11,0)	51% (6,9)	81% (6,9)	20% (6,9)
	25% (16,3)	19% (16,3)	15% (16,3)	23% (11,7)		25% (11,7)
Refrigerada	22% (7,0)	18% (7,0)	20% (7,0)	47% (16,1)	40% (6,8)	69% (12,5)
	39% (16,3)	48% (16,3)	24% (16,3)		27% (16,1)	
Reumificada	23% (12,4)	13% (10,6)	27% (7,0)	80% (11,5)	29% (6,8)	42% (6,9)
	18% (17,1)	31% (17,1)	20% (10,6)		34% (16,1)	28% (16,1)

Em parênteses, o tempo de retenção (min) do pico de absorvância ao qual o metal está associado.

3.3.4.4 – Conclusão relativa ao tipo de eluente e de preparação da amostra estudado no terceiro experimento

A eluição em água fez com que a maioria dos picos se situasse próximo ao tempo morto da coluna, fato já reportado em literatura e relacionado com a repulsão iônica entre o gel da coluna e o analito. Já a eluição em NaCl apresenta os picos mais próximos aos valores esperados, indicando que, de fato, o processo de exclusão, na coluna, está efetivamente ocorrendo. Isso implica que o eluente mais adequado, no presente estudo, para estudar a especiação em solução de solo foi o NaCl 0,01 mol L⁻¹. Além disso, o tipo de preparação da amostra levou a diferenças significativas, não só no padrão de distribuição das substâncias húmicas eluídas mas, principalmente, dos metais determinados. Desta forma, a fim de preservar a identidade da amostra, para fins de especiação, sugere-se que só se utilize amostras coletadas em campo e analisadas no menor espaço de tempo possível.

3.3.5 – Especiação prevista “versus” a obtida por cromatografia de exclusão por tamanho

Esse tipo de validação foi determinado somente para as amostras “in natura”, já que os tratamentos de estocagem aplicados às amostras Milho e 12 t ha⁻¹ de lodo causaram alterações substanciais no que se considera o resultado de especiação mais próximo à realidade, como discutido no sub-item anterior. Os dados utilizados para abastecer o programa de especiação escolhido, o Geochem-PC segundo o modelo “Mixed Model” (Sposito et al., 1982), encontram-se na tabela 32.

Tabela 32. Resultados de análise de metais, ânions e carbono orgânicos dissolvido na solução do solo.

Amostra	Na	Mg	K	Ca	Mn	Fe	Al	F	Cl	NO ₃	SO ₄	COD
mg L ⁻¹												
Pasto	3,46	2,60	0,53	3,28	41,31	3764,74	1402,09	< LD	7,74	0,00	8,34	37,9
Milho	22,53	5,64	29,82	11,13	42,58	10527,62	15621,17	0,49	27,40	14,12	34,21	47,5
Mata	5,07	8,67	9,76	16,47	394,95	159,52	518,46	< LD	6,55	92,88	5,17	51,6
Absoluta	1,73	4,64	3,59	8,92	10,03	3860,39	1178,22	< LD	2,18	40,12	5,37	33,9
12t ha ⁻¹	4,12	35,08	37,50	65,89	8,24	407,20	797,21	< LD	11,16	274,36	74,89	61,3
24t ha ⁻¹	4,94	70,07	47,52	139,79	19,53	425,35	65,46	0,16	14,47	653,97	87,79	50,5

Como, pela eluição em coluna de exclusão, obtém-se, principalmente, as espécies metálicas relacionadas às substâncias orgânicas, utilizar-se-ão, então, para fins de comparação, os resultados de saída do programa relativos à complexação pelos nove compostos orgânicos sugeridos pelo “Mixed Model” como mimetizadores da reação das substâncias húmicas (Anexo 5, p.147).

De maneira geral, não se observa uma semelhança entre os valores de recuperação obtidos experimentalmente e os previstos pelo Geochem-PC (Figura 24). Contudo, principalmente no caso do Fe e Al, nota-se uma certa correlação entre esses dados, o que exemplifica o valor limitado que modelos computacionais possuem para a especiação de amostras reais, como já observado por Tack & Verloo (1995) e Hayes & Traina (1998).

Esse tipo de resultado já era, de certo modo, esperado em virtude de quatro propriedades singulares das substâncias húmicas (Swift, 1989; Lu et al., 1996; Bryan et al., 1997):

- são polifuncionais, embora com predomínio de carboxilas e fenóis;
- são polieletrólitos, posto que carregam substancial carga eletrostática em solução aquosa;
- são polidispersos, já que são macromoléculas, que se encontram numa extensa faixa de massa molecular;
- podem sofrer mudanças conformacionais em resultado de interações eletrostáticas entre os vários grupos funcionais de uma mesma molécula.

Desta forma, fica difícil incorporar, satisfatoriamente, os compostos húmicos em modelos de especiação.

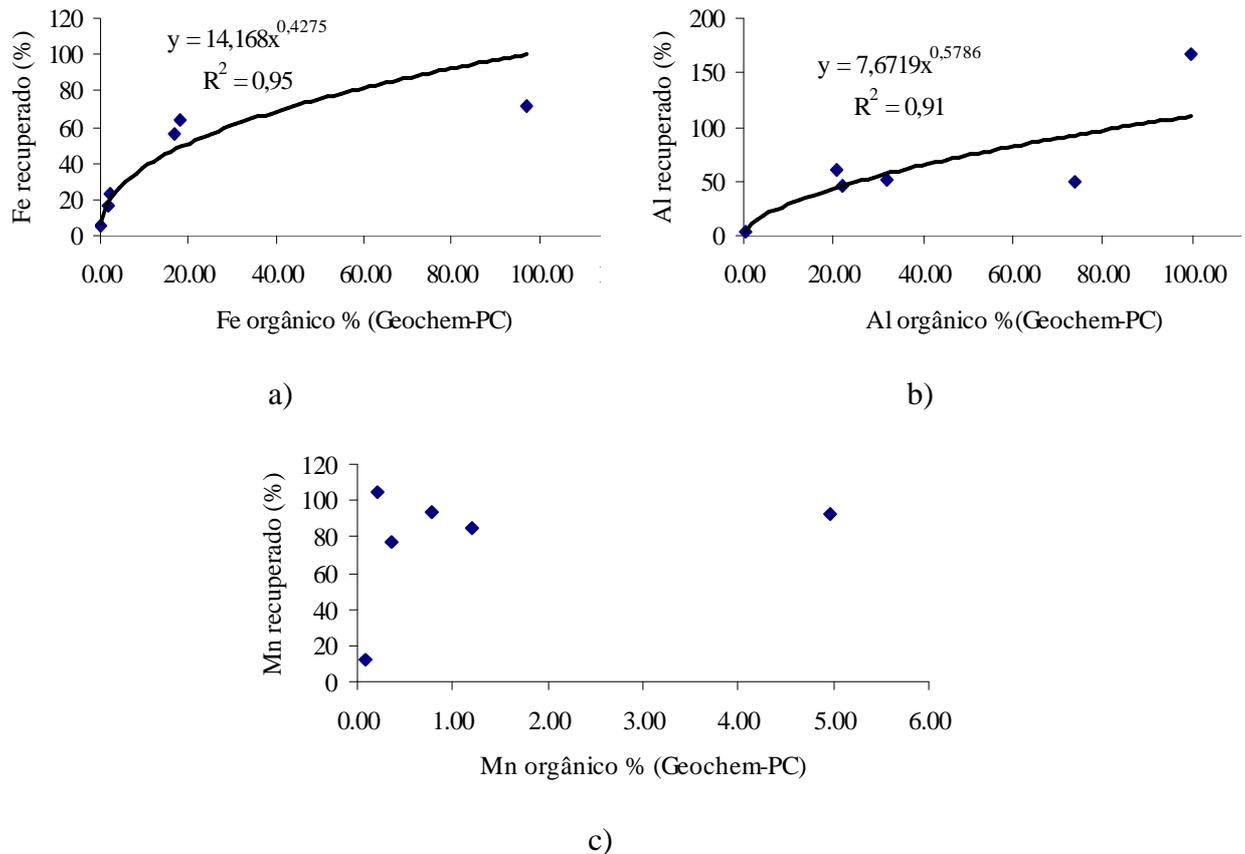


Figura 24. Relação entre o percentual do metal previsto, pelo Geochem-PC, como ligado à substâncias húmicas e o percentual do metal recuperado após a eluição na coluna Superdex 75 HR 10/30.

3.3.6 – Efeito do manejo agrícola na especiação de Fe, Mn e Al na camada superficial do solo

Para fins de comparação, serão utilizados somente os resultados obtidos por eluição com NaCl.

3.3.6.1 – Argissolo Vermelho-Amarelo do Rio de Janeiro

As duas amostras utilizadas se referem a uma área de pasto natural, não cultivada há, pelo menos, vinte anos, e uma área cultivada com milho sob manejo orgânico.

Em princípio, observa-se que os picos de absorvância das duas amostras apresentam um padrão similar (Figura 25). Há três picos comuns nos tempos de retenção de 7,0, 16,1 e 16,5 minutos, aproximadamente, e existem picos intermediários que correspondem, realmente, a uma banda de absorção com “ombros” mais definidos para o pasto. Assim mesmo, a soma das áreas desses

picos e a intensidade de absorção em UV sempre foram significativamente maiores para o cultivo do milho (Tabela 33), o que, de certo modo, encontra respaldo nos resultados de COD, cujo maior valor também foi encontrado para esse tipo de manejo.

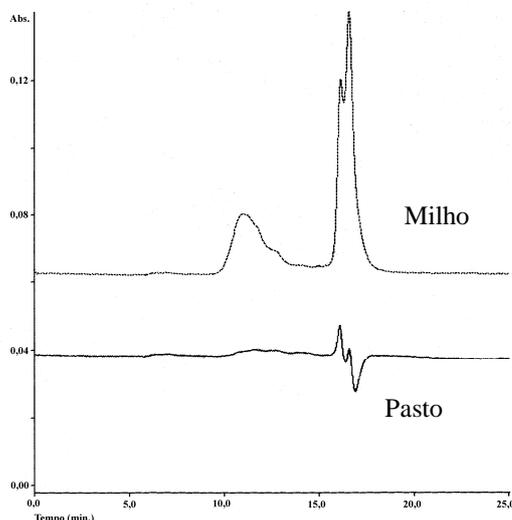


Figura 25. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes as amostras coletadas em Argissolo Vermelho-Amarelo sob pasto e sob cultivo orgânico de milho, eluídas em NaCl 0,01 mol L⁻¹.

Tabela 33. Relação da área total dos picos de absorção detectados em UV e do pico de maior intensidade com o teor de carbono orgânico dissolvido (COD) das amostras de solução de solo eluídas com NaCl.

Amostra	Área	COD (mg L ⁻¹)
Pasto	5,01.10 ⁶ (maior pico) 1,98.10 ⁷ (total)	38
Milho	2,15.10 ⁷ (maior pico) 3,56.10 ⁷ (total)	48
Mata	2,52.10 ⁸ (maior pico) 2,59.10 ⁸ (total)	52
Absoluta	4,41.10 ⁷ (maior pico) 4,64.10 ⁷ (total)	34
12 t ha ⁻¹	8,81.10 ⁸ (maior pico) 9,15.10 ⁸ (total)	61
24 t ha ⁻¹	1,68.10 ⁸ (maior pico) 1,96.10 ⁸ (total)	50

Com respeito aos metais, nota-se que há um maior percentual de Mn, Fe e Al não associados a picos de UV na amostra de solo cultivado com o milho (Tabela 34), o que já era de se esperar. Com o revolvimento do solo, há uma aceleração do crescimento da microbiota, a qual, pela decomposição da matéria orgânica e por seus próprios exsudatos, tenderá a levar o equilíbrio dos metais para frações orgânicas de menor massa molecular e, possivelmente, de menor absorção de UV

ou, até mesmo, para frações inorgânicas (Stevenson & Fitch, 1986; Tan, 1993; Manthey et al., 1994). O aparecimento de uma fração de Mn associada ao pico próximo ao volume morto e o aumento das frações de Al associadas aos picos intermediários de UV, em detrimento da diminuição do Al associado ao tempo de retenção maior (16,1-16,5 min) observado no pasto, parecem corroborar a hipótese levantada anteriormente (sub-item 3.3.4.3) de que, pela decomposição da matéria orgânica, há a possibilidade de agregação das frações de menor massa molecular em função de pontes com cátions metálicos de valência maior que 1.

Tabela 34. Percentual de Mn, Fe e Al associados a picos de absorvância (UV), eluídos em NaCl, em função do manejo do solo.

Amostra	Mn	Fe	Al
Milho	10% (7,0)	4%	8%
	44% (intermediários)	37%	43%
	25% (16,1 + 16,5)	19%	15%
Pasto	ND (7,0)	7%	7%
	64% (intermediários)	75%	28%
	35% (16,1 + 16,5)	16%	56%
Mata	11% (7,0)	ND	16%
	28% (intermediários)	25%	37%
	22% (16,5)	35%	19%
Absoluta	ND (6,8)	2%	10%
	17% (intermediários)	75%	25%
	ND (16,7)	6%	16%
12 t ha ⁻¹	51% (6,9)	81%	20%
	23% (intermediários)	7%	37%
	ND (16,1 + 17,3)	3%	15%
24 t ha ⁻¹	ND (6,8)	5%	11%
	20% (intermediários)	47%	24%
	73% (15,8 + 17,5)	35%	45%

ND significa não detectado. Em parênteses encontram se os tempos de retenção (min).

3.3.6.2 – Latossolo Vermelho de Jaguariúna

A exemplo do caso anterior, há uma grande similaridade entre os cromatogramas, da eluição em NaCl, dos quatro tipos de manejo estudados: mata, plantio convencional (Absoluta), 12 e 24 t ha⁻¹ de lodo de esgoto. Somente um “ombro”, formado no tempo de retenção de 11,6 minutos, aproximadamente, aparece nos solos cultivados e não aparece na mata (Figura 26).

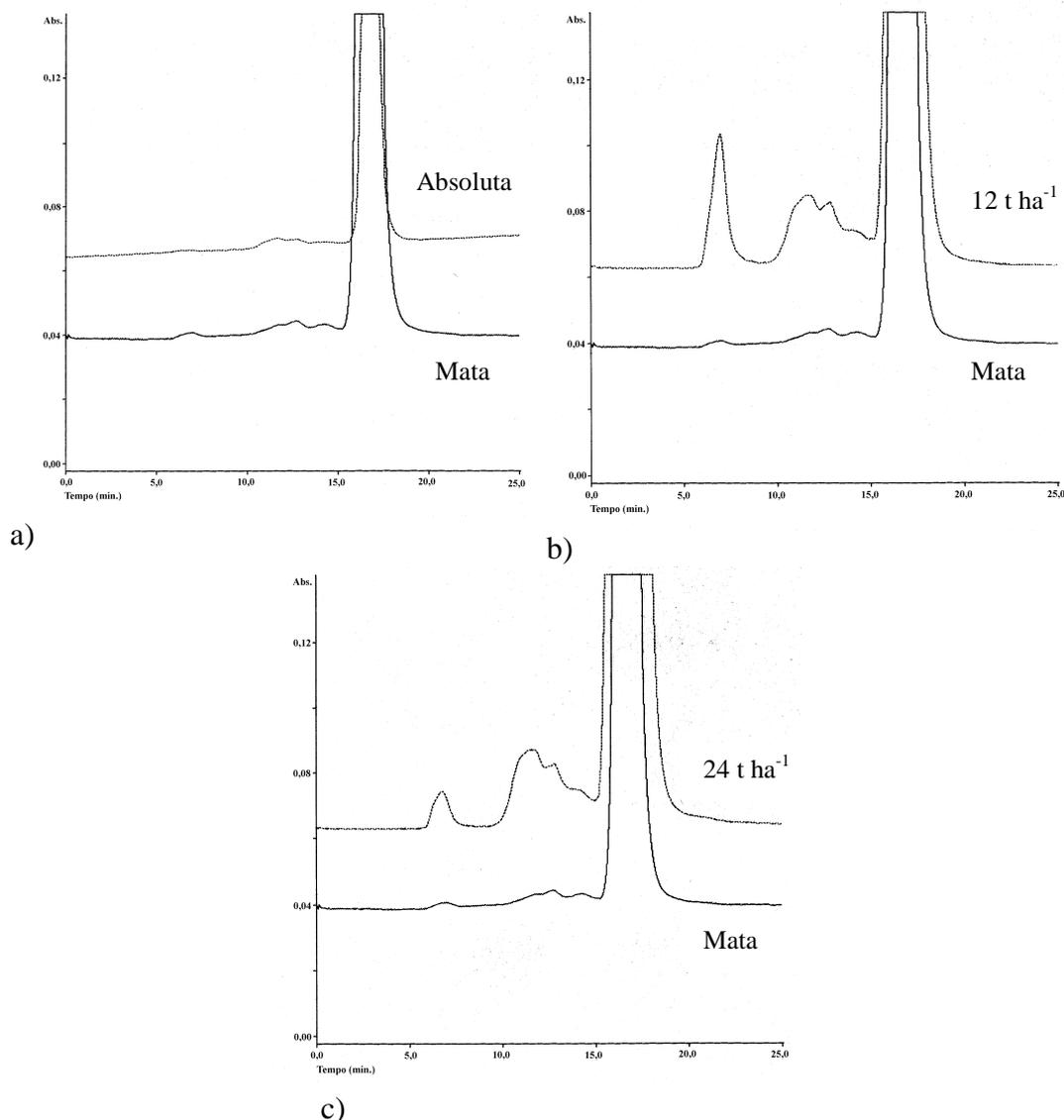


Figura 26. Cromatogramas de exclusão por tamanho da solução do solo, referentes as amostras coletadas em Latossolo Vermelho sob mata e sob cultivo de milho convencional-Absoluta (a) ou com aplicação de: (b) 12 e (c) 24 t ha⁻¹ de lodo, eluídas em NaCl 0,01 mol L⁻¹.

Da mesma forma como no caso anterior, a área total dos picos de UV teve correlação com o teor de carbono orgânico determinado (Tabela 33, p.101).

Com respeito aos metais, verificou-se, também, que o cultivo convencional do milho (Absoluta) levou a uma maior incidência de picos de Mn e Al não associados a picos de UV, quando comparado à amostra da mata (Tabela 34, p.102). A exceção foi o Fe. Contudo, deve se considerar que o solo em questão apresenta presença marcante de óxidos de ferro que se associam muito facilmente à compostos orgânicos (Uehara & Gillman, 1981; Sposito, 1989; Tan, 1993; Cornejo & Hermosín, 1996). Já as duas amostras de solução do solo que sofreram a aplicação das diferentes doses de lodo para cultivo apresentam um

comportamento singular, provavelmente relacionado ao volume e tipo de lodo usado.

A amostra 12 ha⁻¹ tende a apresentar grande concentração de Fe, Mn e, em menor proporção, Al, associados aos picos de UV obtidos em tempos de retenção mais próximos ao volume morto da coluna. Já a amostra 24 t ha⁻¹ tende a apresentar maiores concentrações desses metais em tempos de retenção maiores. O lodo é um material que já possui por processos de decomposição que levam à estabilização do material orgânico, no qual o processo de humificação já se desenvolveu a ponto de produzir substâncias húmicas, em que predominam os compostos de menor massa molecular, principalmente os ácidos fúlvicos (Senesi et al., 1996). Quando aplicado ao solo, passa a sofrer novo processo de decomposição que, aparentemente, por tudo já descrito anteriormente, culmina com o processo de agregação capitaneado, provavelmente, por pontes com os metais. E isso é o que se observa para a amostra de 12 t ha⁻¹. Contudo, a amostra de 24 t ha⁻¹ representa uma elevada entrada de material orgânico no solo e, provavelmente, não houve tempo suficiente para a sua transformação. Por isso, é provável que os compostos orgânicos presentes na solução desse solo, e eluídos em coluna de exclusão, ainda guardem uma certa semelhança com aquilo que se espera do lodo, ou seja, que os metais estejam ligados aos composto de menor massa molecular (Senesi et al., 1996).

3.3.7 – Algumas relações com a fase sólida

Em todos os cromatogramas das amostras “in natura” eluídas com NaCl, observa-se uma nítida tendência do pico de maior intensidade e área de absorvância em UV se localizar no tempo de retenção mais elevado, próximo ao volume de permeação, o que lhe confere um aspecto de substância húmica de menor massa molecular, ou seja, provavelmente, um ácido fúlvico. Observando-se os resultados da distribuição de substâncias húmicas nesses solos (Tabela 35), nota-se que, realmente, a fração fúlvica predomina sobre a húmica, em concordância com o obtido para solução do solo.

Tabela 35. Resultados da extração de substâncias húmicas dos solos estudados.

Amostra	Ácido Fúlvico “Livre”	Ác. Fúlvico “Ligado”	Ácido Húmico	Humina
	% do total			
Pasto	4,9	17,7	4,3	73,2
Milho	3,7	16,8	2,8	76,6
Mata	8,2	18,5	5,4	67,9
Absoluta	6,5	14,2	5,2	74,2
12 t ha ⁻¹	5,7	17,7	6,3	70,3
24 t ha ⁻¹	5,0	18,9	6,8	69,4

No que concerne à relação entre Fe, Mn e Al associados a picos de UV da eluição em NaCl, ou seja, o relacionado às substâncias húmicas (Tabela 34, p.102) e o teor desses elementos determinados na fração orgânica (fase 3) do solo por extração sequencial (Tabela 36), não se evidencia, aparentemente, nenhuma relação.

Tabela 36. Resultados de extração sequencial aplicada aos solos estudados

Amostra	F1 (%)	F2(%)	F3(%)	F4(%)	F5(%)
Manganês					
Milho	14,5	68,7	3,1	7,8	5,8
Pasto	15,0	56,3	3,6	13,6	11,5
12 t ha ⁻¹	17,8	17,5	1,5	9,9	53,3
24 t ha ⁻¹	16,3	18,6	1,3	12,2	51,6
Mata	18,1	8,2	1,6	5,9	66,3
Absoluta	7,3	12,6	2,0	12,6	65,5
Alumínio					
Milho	0,1	0,4	0,4	95,8	3,3
Pasto	0,3	0,4	0,5	90,7	8,1
12 t ha ⁻¹	0,4	2,4	1,1	64,8	31,3
24 t ha ⁻¹	0,4	2,7	0,9	64,3	31,7
Mata	1,2	1,6	1,1	59,7	36,3
Absoluta	0,7	1,7	1,2	74,3	22,2
Ferro					
Milho	0,1	2,4	0,2	81,9	15,3
Pasto	0,0	0,8	0,1	68,9	30,2
12 t ha ⁻¹	0,3	3,5	0,4	31,4	64,4
24 t ha ⁻¹	0,6	4,9	0,4	35,0	59,1
Mata	0,8	2,5	0,4	19,5	76,8
Absoluta	0,1	1,8	0,2	38,7	59,1

F significa fase.

3.3.8 - Conclusão relativa à especiação das amostras de solução de solo estudadas no terceiro experimento

Os resultados obtidos pela especiação em coluna de exclusão e eluição em NaCl 0,01 mol L⁻¹ foram coerentes com as formas de manejo de solo estudadas, além de parecerem corroborar o modelo conformacional proposto, atualmente, para explicar a estrutura das substâncias húmicas, que é o modelo Supramolecular.

Contudo, não se encontrou relação entre os valores de Fe, Mn e Al, associados às substâncias húmicas, determinados experimentalmente e previstos pelo programa Geochem-PC.

4) CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no experimento 1 demonstram que a velocidade e o tempo de centrifugação podem afetar significativamente a composição da solução do solo, o que justifica a importância desse estudo preliminar. Apesar do fato de que alguns padrões puderam ser observados, nenhuma generalização pode ser tirada da análise dos resultados de pH, metais, ânions inorgânicos e carbono orgânico dissolvido nas soluções de solo. Daí, adotou-se o balanço de cargas como critério para definir as melhores condições de centrifugação. Como consequência, sugere-se o uso de velocidade de 2.260 g, por 60 minutos, para futuros estudos envolvendo essa técnica de extração da água em solos brasileiros.

Os resultados obtidos no experimento 2 indicam, também, que a forma de preparo e armazenamento das amostras têm influência determinante nos resultados de pH e na concentração de metais, ânions inorgânicos e carbono orgânico dissolvido das soluções de solo. Seguindo a mesma linha de avaliação do primeiro experimento, os resultados sugerem que, se não puder se extrair a solução do solo imediatamente (24 h) após a colheita, poder-se-á mantê-la refrigerada (4°C) por um período de até 15 dias, sem que significativas modificações das concentrações totais dos elementos determinados na solução do solo extraída ocorram. Contudo, verificou-se (experimento 3) que essa afirmação não se aplicava no caso de estudos envolvendo especiação química de Al, Fe e Mn da solução do solo, onde, de fato, a amostra coletada no campo deve ter sua fase líquida extraída o mais rápido possível para imediata análise.

O experimento 3 indicou que a eluição em solução salina próxima à solução do solo redundava em cromatogramas com picos mais bem distribuídos, ao longo do tempo de eluição, e seletivos e sem, aparentemente, gerar nenhum artefato, o que, provavelmente se deva ao efeito da repulsão eletrostática do gel da coluna de exclusão em água. Os resultados obtidos pela especiação em coluna de exclusão e eluição em NaCl 0,01 mol L⁻¹ foram coerentes com as formas de manejo de solo estudadas, além de parecerem corroborar o modelo conformacional atualmente proposto para explicar a estrutura das substâncias húmicas (Supramolecular).

De maneira geral, não foi observada uma semelhança entre os valores de recuperação obtidos experimentalmente e os previstos pelo Geochem-PC, embora algumas tendências de correlação existam para o Fe e Al. As relações da fase

líquida com a fase sólida do solo só encontraram ressonância na distribuição de ácidos húmicos e fúlvicos.

Por fim, a luz dos resultados obtidos, tudo sugere que a aplicação das metodologias aqui estudadas poderá se tornar uma ferramenta fundamental na elucidação do efeito dos diferentes tipos de manejo do solo nas suas propriedades físico-químicas.

5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, F. Ionic concentrations and activities in soil solutions. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 35: 420-426. 1971.
- ADAMS, F. Soil Solution. In: CARSON, E.N. *The plant root and its environment*. Charlottesville: University Press of Virginia, 1974. p.441-481.
- ADAMS, F.; BURMESTER, C.; HUE, N.V.; LONG, F.L. A comparison of column-displacement and centrifuge methods for obtaining soil solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44: 733-735, 1980.
- ADAMS, M.L.; HAWKE, D.J.; NILSSON, N.H.S.; POWELL, K.J. The relationship between soil solution pH and Al³⁺ concentrations in a range of South Island (New Zealand) soils. *Aust. J. Soil Res.*, 38: 141-153. 2000.
- ADAMS, M.L.; McINTOSH, P.D.; PATTERSON, R.D.; POWELL, K.J. Aluminum speciation in seasonally dry country soils, South Island, New Zealand. *Aust. J. Soil Res.*, 37: 1005-1015. 1999.
- ADAMS, F. & SLAETS, S. Improving the reliability of speciation analysis of organometallic compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, 19(2-3): 80-85. 2000.
- AITKEN, R.L. Relationships between Extractable Al, Selected Soil Properties, pH Buffer Capacity and Lime Requirement in some Acidic Queensland soils. *Aust. J. Soil Res.*, 30(2):119-130. 1992.
- ALLEN, H.E. The significance of trace metal speciation for water, sediment and soil quality criteria and standards. *The Science of the Total Environment*, Supp. Pt. 1, 23: 45. 1993.
- ALLOWAY, B.J. *Heavy metals in soils*. 2.ed. Glasgow (UK): Blackie. 1995. 368p.
- ALVA, A.K.; SUMNER, M.E.; MILLER, W.P. Relationship between Ionic Strength and Electrical Conductivity for Soil Solutions. *Soil Sci.*, 152:239-242. 1991.
- ANALYTICAL METHODS COMMITTEE. Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. *Analyst*, 112: 199-204. 1987.
- ANDERSEN, M.K.; RAULUND-RASMUSSEN, K.; STROBEL, B.W.; HANSEN, H.C.B. Adsorption of cadmium, copper, nickel, and zinc to a poly(tetrafluorethene) porous soil solution sampler. *J. Environ. Qual.*, 31(1): 168-175. 2002.
- ANGEHRN-BETTINAZZI, C. Factors affecting the investigation of heavy metal speciation in forest soils using thin-channel ultrafiltration. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 39: 81-89. 1990.

- BAHAM, J.; BALL, N.B.; SPOSITO, G. Gel filtration studies of trace metal-fulvic acid solutions extracted from sewage sludge. *J. Environ. Qual.*, 7(2): 181-188. 1978.
- BARRA, C.M. Determinação de alumínio em solos e em ácidos húmicos e fúlvico de solos do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: PUC-Rio. 1992.176p. Dissertação de Mestrado.
- BECHER, G.; CARLBERG, G.E.; GJESSING, E.T.; HONGSLO, J.K.; MONARCA, S. High-performance size exclusion chromatography of chlorinated natural humic water and mutagenicity studies using the microscale fluctuation assay. *Environ. Sci. Technol.*, 19: 422-426. 1985.
- BERDÉN, M. & BERGGREN, D. Gel filtration chromatography of humic substances in soil solutions using HPLC - determination of the molecular weight distribution. *J. Soil Sci.*, 41(1): 61-72. 1990.
- BERGGREN, D. Speciation of aluminum, cadmium, copper and lead in humic soil solutions - a comparison of the ion exchange column procedure and equilibrium dialysis. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 35: 1-15. 1989.
- BERTHELIN, J.; MUNIER-LAMY, C.; LEYVAL, C. Effect of microorganisms on mobility of heavy metals in soils. In: HUANG, P.M.; BERTHELIN, J.; BOLLAG, J.-M.; MCGILL, W.B.; PAGE, A.L. Environmental impact of soil components interactions. V.2. Boca Raton: CRC. 1995. p.3-17.
- BI, S.-P.; YANG, X.-D.; ZHANG, F.-P.; WANG, X.-L.; ZOW, G.-W. Analytical methodologies for aluminum speciation in the environmental and biological samples – a review. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 370: 984-996. 2001.
- BLACK, S.A. & CAMPBELL, A.S. Ionic Strength of Soil Solution and Its Effect on Charge Properties of some New Zealand Soils. *J. Soil Sci.*, 33:249-262. 1982.
- BOHN, H.; McNEAL, B.; O'CONNOR, G. Soil chemistry. 2.ed. New York: John Wiley,. 1985. p.1-20.
- BOUDOT, J.P.; MAITAT, O.; MERLET, D.; ROUILLER, J. Occurrence of non-monomeric species of aluminum in undersaturated soil and surface waters: consequences for the determination of mineral saturation indices. *Journal of Hydrology*, 177: 47-63. 1996.
- CANDELARIA, L.M. & CHANG, A.C. Cadmium activity solution speciation and solid phase distribution of Cd in cadmium nitrate and sewage sludge treated soil systems. *Soil Sci.*, 162(10): 722-732. 1997.
- CANDELARIA, L.M.; CHANG, A.C.; AMRHEIN, C. Measuring cadmium ion activities in sludge-amended soils. *Soil Sci.*, 159(3): 162-175. 1995.
- CASARTELLI, E.A. Estudos sobre especiação e distribuição de lantanídeos e tório em solos e plantas do Morro do Ferro, Poços de Caldas, MG, Brasil. Rio de Janeiro: PUC-RJ, 1999. 182p. Tese de Doutorado.

- CASTILHO, P. del; DALENBERG, J.W.; BRUNT, K.; BRUINS, A.P. Dissolved organic matter, cadmium, copper and zinc in pig slurry and soil solution – size exclusion chromatography fractions. *Intern. J. Anal. Chem.*, 50: 91-107. 1993.
- CECCANTI, B.; CALCINAI, M.; BONMATI-PONT, M.; CIARDI, C.; TARSITANO, R. Molecular size distribution of soil humic substances with ionic strength. *The Science of the Total Environment*, 81/82: 471-479.~1989.
- CONTE, P. & PICCOLO, A. High pressure size exclusion chromatography (HPSEC) of humic substances: molecular sizes, analytical parameters, and column performance. *Chemosphere*, 38(3): 517-528. 1999a.
- CONTE, P. & PICCOLO, A. Conformational arrangement of dissolved humic substances. Influence of solution composition on association of humic molecules. *Environ. Sci. Technol.*, 33(10):1682-1690. 1999b.
- CORNEJO, J. & HERMOSÍN, M.C. Interaction of humic substances and soil clays. In: PICCOLO, A. *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Amsterdam: Elsevier. 1996. p.595-624.
- COZZOLINO, A.; CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy-, keto-, and sulfonic acids. *Soil Biology & Biochemistry*, 33:563-571. 2001.
- CURI, N. (Coord.). *Vocabulário de ciência do solo*. Campinas: SBCS. 1993. p.78.
- DAHLGREN, R.A. Comparison of soil solution extraction procedures: effect on solute chemistry. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 24(15/16): 1783-1794. 1993.
- DAHLGREN, R.A.; PERCIVAL, H.J.; PARFITT, R.L. Carbon dioxide degassing effects on soil solutions collected by centrifugation. *Soil Sci.*, 162(9): 648-655. 1997.
- DANG, X.P.; TILLER, K.G.; DALAL, R.C.; EDWARDS, D.G. Zinc speciation in soil solutions of Vertisols. *Aust. J. Soil Res.*, 34: 369-383. 1996.
- DAS, A.K. & CHAKRABORTY, R. Electrothermal atomic absorption spectrometry in the study of metal ion speciation. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 357: 1-17. 1997.
- DAS, A.K.; CHAKRABORTY, R.; CERVERA, M.L.; GUARDIA, M. de la. Metal speciation in solid matrices, *Talanta*, 42: 1007-1030, 1995.
- DAS, A.K.; GUARDIA, M. de la; CERVERA, M.L. Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions. *Talanta*, 55: 1-28. 2001.
- DAVIES, B.E. & DAVIES, R.I. A simple centrifugation method for obtaining small samples of soil solution. *Nature*, 198: 216-217. 1963.

- DAVIS, M.R. Chemical composition of soil solutions extracted from New Zealand beech forests and West German beech and spruce forests. *Plant and Soil*, 126: 237-246. 1990.
- DEAN, J.R. Atomic absorption and plasma spectroscopy. 2.ed. Chichester: John Wiley. 1997. 206p.
- DEAN, J.R.; BUTLER, O.; FISHER, A.; GARDEN, L.M.; CRESSER, M.S.; WATKINS, P.; CAVE, M. Atomic spectrometry update --Environmental analysis. *J. Anal. Atomic Spect.*, 13: 1R-56R, 1998.
- DEROME, K.; DEROME, J.; LINDROOS, A.-J. Techniques for preserving and determining aluminum fractions in soil solution from Podzolic forest soils. *Chemosphere*, 36(4/5): 1143-1148. 1998.
- DIONEX.
http://www.dionex.com/dionex/media/1_USA/chromatograms/supdiag.gif.
23 de maio de 2002 (15:00 h).
- DONARD, O.F.X. Metal speciation for improved environmental management. In: EBDON, L.; PITTS, L.; CORNELIS, R.; CREWS, H.; DONARD, O.F.X.; QUEVAUVILLER, Ph. Trace element speciation for environment, food and health. Cambridge: RSC. 2001. p.115-126.
- DREVIN, I.; LARSSON, L.; ERIKSSON, I.; JOHANSSON, B.-L. Chemical properties of and solute-support interactions with the gel filtration medium Superdex 75 pre grade. *Journal of Chromatography*, 514: 137-146. 1990.
- DRISCOLL, C.T.; OTTON, J.K.; IVERFELDT, A. Trace metal speciation and cycling. In: MOLDAN, B. & CERNÝ, J. Biogeochemistry of small catchments: a tool for environmental research. New York: John Wiley, 1994. p.299-322.
- EBDON, L. & PITTS, L. Na overview. In: EBDON, L.; PITTS, L.; CORNELIS, R.; CREWS, H.; DONARD, O.F.X.; QUEVAUVILLER, Ph. Trace element speciation for environment, food and health. Cambridge: RSC. 2001. p.375-384.
- EDMEADES, D.C.; WHEELER, D.M.; CLINTON, O.E. The chemical composition and ionic strength of soil solutions from New Zealand topsoils. *Aust. J. Soil Res.*, 23: 151-165. 1985.
- ELKHATIB, E.A.; HERN, J.L.; STALEY, T.E. A rapid centrifugation method for obtaining soil solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51: 578-583. 1987.
- EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Mapa de solos do Brasil. Rio de Janeiro: Embrapa-SNLCS. 1981.
- EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Proceedings, 3ª Reunião de Classificação, Correlação de Solos e Interpretação de Aptidão Agrícola, Rio de Janeiro, Brasil, 1988; Embrapa-SNLCS/Sociedade Brasileira de Ciência do Solo: Rio de Janeiro, 1988.

- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solo. 2.ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 1997. 212p.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999a. 412p.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Levantamento semi-detalhado dos solos da área do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) – km 47 - Seropédica, RJ. Rio de Janeiro,: Embrapa Solos, 1999b. CD-ROM. (Boletim de Pesquisa, 5).
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Levantamento semi-detalhado dos solos do campo experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. CD-ROM. (Boletim de Pesquisa, 20). *No Prelo*.
- EMOS, H. Speciation in the frame of environmental biomonitoring – challenges for analytical and environmental sciences. In: EBDON, L.; PITTS, L.; CORNELIS, R.; CREWS, H.; DONARD, O.F.X.; QUEVAUVILLER, Ph. Trace element speciation for environment, food and health. Cambridge: RSC. 2001. p.188-195.
- FERNANDEZ, G.C.J. Residual analysis and data transformations – important tools in statistical analysis. *Hortscience*, 27(4): 297-300, 1992.
- FITZPATRICK, E.A. Soils: Their formation, classification and distribution. New York: Longman, 1980. p.97-104.
- FOTH, H.D & TURK, L.M. Fundamentals of soil science. 5.ed. S.l.: John Wiley, 1972. 454p.
- FOTOVAT, A. & NAIDU, R. Ion exchange resin and MINTEQA2 speciation of Zn and Cu in alkaline sodic and acidic soil extracts. *Aust. J. S. Res.*, 35: 711-726. 1997.
- FOTOVAT, A. & NAIDU, R. Changes in composition of soil aqueous phase influence chemistry of indigenous heavy metals in alkaline sodic and acidic soils. *Geoderma*, 84: 213-234. 1998.
- FOTOVAT, A.; NAIDU, R.; SUMNER, M.E. Water:soil ration influences aqueous phase chemistry of indigenous copper and zinc in soils. *Aust. J. Soil Sci.*, 35: 687-709. 1997.
- FRIGON, R.P.; LEYPOLDT, J.K.; UYEJL, S.; HENDERSON, L.W. Disparity between Stokes radii of dextrans and proteins as determine by retention volume in gel permeation chromatography. *Anal. Chem.*, 55:1349-1354. 1983.

- GALLET, C. & KELLER, C. Phenolic composition of soil solutions: comparative study of lysimeter and centrifuge waters. *Soil Biology & Biochemistry*, 31: 1151-1160. 1999.
- GARDINER, P.E.; SCHIERL, R.; KREUTZER, K. Aluminum speciation in soil solutions as studied by size exclusion chromatography. *Plant and Soil*, 103: 151-154, 1987.
- GE, Y.; MURRAY, P.; HENDERSHOT, W.H. Trace metal speciation and bioavailability in urban soils. *Environ. Pollution*, 107: 137-144. 2000.
- GIBSON, J.A.E. & WILLET, I.R. The application of fluorescence detection to the determination and speciation of aluminum in soil solutions by ion chromatography. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 23(13/14): 1303-1313. 1991.
- GIESLER, R.; LUNDSTROM, U. Soil solution chemistry: effects of bulking soil samples. *Soil Sci. Soc. Am. J.*: 57: 1283-1288. 1993.
- GIESLER, R.; LUNDSTROM, U.S.; GRIP, H. Comparison of soil solution chemistry assessment using zero-tension lysimeters or centrifugation. *Eur. J. Soil Sci.*, 47: 395-405, 1996.
- GILLMAN, G.P.L A centrifuge method for obtained soil solution. S.I.: CSIRO, 1976. 6p (Div. Soil Divisional Report, 16).
- GILLMAN, G.P. and BELL, L.C. Soil solution studies on weathered soils from tropical northe Queensland. *Aust. J. Soil Res.*, 16: 67-77. 1978.
- GODOY, M.L.D.P. Avaliação do impacto ambiental causado pela emissão atmosférica de elementos traço pelo complexo termelétrico Jorge Lacerda, Capivari de Baixo, SC. Rio de Janeiro: PUC-Rio. 2001. Tese de Doutorado. 243p.
- GOYNE, K.W. ; DAY, R.L.; CHOROVER, J. Artifacts caused by collection of soil solution with passive capillary samplers. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64(4): 1330-1336. 2000.
- GRAETZ, D.A. & VOLK, B.G. Liquid chromatography analysis in soil chemistry. In: GOB, R.L. *Chormatographic analysis of the environment*. 2.ed. New York: Marcel Dekker. 1983. p.423-497.
- GREGSON, S.K. & ALLOWAY, B.J. Gel premeation chromatography studies on the speciation of lead in solutions of heavily polluted soils. *J. Soil Sci.*, 35: 35-61. 1984.
- GRIEVE, I.C. Effects of the centrifuge drainage method on total organic carbon concentrations in soil solutions from peaty soils. *Geoderma*, 74: 115-123. 1996.
- GRIFFIN, R.A. & JURINAK, J.J. Estimation of activity coefficients from the electrical conductivity of natural aquatic systems and soil extracts. *Soil Sci.*, 116(1): 26-30. 1973.

- GRIMM, D.M.; AZARRAGA, L.V.; CARREIRA, L.A.; SUSETYO, W. Continuous multiligand distribution model used to predict the stability constant of Cu (II) metal complexation with humic material from fluorescence quenching data. *Environ. Sci. Technol.*, 25(8): 1427-1431. 1991.
- GROHMANN, F. Superfície específica. In: MONIZ, A.C. Elementos de pedologia. São Paulo: Polígono/EDUSP, 1972. p.111-122.
- GUSTAFSSON, J.P.; HEES, P. van; STARR, K.; KARLTUN, E.; LUNDSTROM, U. Partitioning of base cations and sulphate between solid and dissolver phases in three podzolised forest soils. *Geoderma*, 94: 311-333. 2000.
- HANI, H. Soil Analysis as a tool to predict effects on the environment. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 27(3/4): 289-306. 1996.
- HANSEN, E.A. & HARRIS, A.R. Validity of soil-water samples collected with porous ceramic cups. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39(3): 528-536. 1975.
- HAYES, K.F. & TRAINA, S.J. Metal ion speciation and its significance in ecosystem health. In: *SOIL CHEMISTRY AND ECOSYSTEMS HEALTH*. St. Louis: SSSA, 1995. Proceedings. Madison: SSSA. P.45-84. 1998 (Special Publication, 52).
- HAYES, M.H.B. & BOLT, G.H. Soil colloids and the soil solution. In: BOLT, G.H.; De BOODT, M.F.; HAYES, M.H.B.; McBRIDE, M.B. Interactions at the soil colloid-soil solution interface. Dordrecht: Kluwer, 1991. p.1-33.
- HAYES, M.H.B. & HIMES, F.L. Nature and properties of humus-mineral complexes. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. Interactions of soil minerals with natural organic and microbes. Madison: SSSA. 1986. p.103-158.
- HEES, P.A.W. van; ANDERSSON, A.T.; LUNDSTROM, U.S. Separation of organic low-molecular weight aluminum complexes in soil solution by liquid chromatography. *Chemosphere*, 33(10): 1951-1966. 1996.
- HEES, P.A.W. van; DAHLÉN, J.; LUNDSTROM, U.S.; BORÉN, H.; ALLARD, B. Determination of low molecular weight organic acids in soil solution by HPLC. *Talanta*, 48: 173-179. 1999.
- HEES, P.A.W. van & LUNDSTROM, U.S. Equilibrium models of aluminum and iron complexation with different organic acids in soil solution. *Geoderma*, 94: 201-221. 2000c.
- HEES, P.A.W. van; LUNDSTROM, U.S.; GIESLER, R. Low molecular weight organic acids and their Al-complexes in soil solution – composition, distribution and seasonal variation in three podzolized soils. *Geoderma*, 94: 173-200. 2000a.

- HEES, P.A.W. van; LUNDSTROM, U.S.; STARR, M.; GIESLER, R. Factors influencing aluminum concentrations in soil solution from Podzols. *Geoderma*, 94: 289-310. 2000b.
- HEES, P.A.W. van; HEES, A.-M.T. van; LUNDSTROM, U.S. Determination of aluminum complexes of low molecular organic acids in soil solution from forest soils using ultrafiltration. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 867-874. 2001a.
- HEES, P.A.W. van; LUNDSTROM, U.S.; DANIELSSON, R.; NYBERG, L. Controlling mechanisms of aluminum in soil solution – an evaluation of 180 Podzolic forest soils. *Chemosphere*, 45: 1091-1101. 2001b.
- HEES, P.A.W. VAN; TIPPING, E.; LUNDSTROM, U.S. Aluminum speciation in forest soil solution – modelling the contribution of low molecular weight organic acids. *The Science of the Total Environment*, 278: 215-229. 2001c.
- HILL, S.J. Speciation of trace metals in the environment. *Chemical Society Reviews*, 26: 291-298, 1997.
- HILS, A.; GROTE, M.; JANFLEN, E.; EICHHORN, J. Speciation of trace amounts of aluminum in percolating water of forest soil by online coupling HPLC-ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 364: 457-464. 1999.
- HONGVE, D.; BAAN, J.; BECHER, G. Characterization of humic substances by means of high-performance size exclusion chromatography. *Environment International*, 22(5): 489-494. 1996.
- HORNUNG, M. Soil solution sampling and lysimetry (Appendix E). In: ANDERSON, J.M. & INGRAM, J.S.I. *Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods*. Wallingford (UK): CAB International. 1996. p.145-157.
- HOUBA, V.J.G.; NOVOZAMSKY, I.; Van der LEE, J.J. Quality aspects in laboratories for soil and plant analysis. In: HOOD, T.M. & JONES JUNIOR, J.B. *Soil and plant analysis in sustainable agriculture and environment*. New York: Marcel Dekker, 1997. p.31-52.
- ILVESNIEMI, H.; GIESLER, R.; HEES, P. van; MAGNUSSON, T.; MELKERUD, P.A. General description of the sampling techniques and the sites investigated in the Fennoscandinavian podzolization project. *Geoderma*, 94: 109-123. 2000.
- JACKSON, B.P. & MILLER, W.P. Soil solution chemistry of a fly ash-, poultry litter-, and sewage sludge-amended soil. *J. Environ. Anal.*, 29: 430-436. 2000.
- JACKSON, T.A. Effects of clay minerals, oxyhydroxides, and humic matter on microbial communities of soil, sediment, and water. In: HUANG, P.M.; BERTHELIN, J.; BOLLAG, J.-M.; MCGILL, W.B.; PAGE, A.L. *Environmental impact of soil component interactions: metals, other*

inorganics, and microbial activities. v.2. Boca Raton: CRC. 1995. p.165-200.

JALLAH, J.K. & SMYTH, T.J. Predicting soil solution chemical attributes from more easily measured soil and soil solution parameters. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 26(19/20): 3315-3333. 1995.

JARDINE, P.M.; ZELAZNY, L.W.; EVANS Jr., A. Solution aluminum anomalies resulting from various filtering materials. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50: 891-894. 1986.

JAY, P.C. Anion contamination of environmental water samples introduced by filter media. *Anal. Chem.*, 57(3): 780-782. 1985.

JONES, D.L. & EDWARDS, A.C. Effect of moisture content and preparation technique on the composition of soil solution obtained by centrifugation. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 24(1/2): 171-186. 1993.

JOUVE, A.; LEJEUNE, M.; REY, J. A new method for determining the bioavailability of radionuclides in the soil solution. *Journal of Environmental Radioactivity*, 43: 277-289. 1999.

KABATA-PENDIAS, A. & PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. 2.ed. Boca Raton: CRC, 1992. 365p.

KAGEDAL, L.; ENGSTROM, B.; ELLEGREN, H.; LIEBER, A.-K.; LUNDSTROM, H.; SHOLD, A.; SCHENNING, M. Chemical, physical and chromatographic properties of Superdex 75 prep grade and Superdex 200 prep grade gel filtration media. *Journal of Chromatography*, 537: 17-32. 1991.

KAISER, K.; KAUPENJOHANN, M.; ZECH, W. Sorption of dissolved organic carbon in soils: effects of soil sample storage, soil-to-solution ratio, and temperature. *Geoderma*, 99: 317-328. 2001.

KALBITZ, K.; SOLINGER, S.; PARK, J.H.; MICHALZIK, B.; MATZNER, E. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Sci.*, 165(4): 277-304. 2000.

KELLER, C. Application of centrifuging to heavy metal studies in soil solutions. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 26(9-19):1621-1636. 1995.

KERVEN, G.L.; OSTATEK-BOCZYNSKI, Z.; EDWARDS, D.G.; ASHER, C.J.; OWECZKIN, J. Chromatographic techniques for the separation of Al and associated organic ligands present in soil solution. *Plant and Soil*, 171: 29-34, 1995.

KIEHL, E.J. Manual de edafologia. Relações solo-planta. São Paulo: Ceres, 1979. 264p.

KILLHAM, K. Soil ecology. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. p.89-150.

- KLEPKER, D. & ANGHINONI, I. Fósforo, cálcio, magnésio, potássio e sódio na solução do solo obtida por deslocamento em colunas e centrifugação. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 1., Pelotas. Anais ... Pelotas: Núcleo Regional Sul da SBCS, 1994. p.57-58.
- KONONOVA, M.M. Soil organic matter. Oxford: Pergamon. 1966. 544p.
- KOOKANA, R.S. & NAIDU, R. Effect of soil solution composition on cadmium transport through variable charge soils. *Geoderma*, 84: 235-248. 1998.
- KOPACEK, J.; HEJZLAR, J.; MOSELLO, R. Estimation of organic acid anion concentrations and evaluation of charge balance in atmospherically acidified colored waters. *Wat. Res*, 14: 3598-3606. 2000.
- KOT, A. & NAMIESNIK, J. The role of speciation in analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 19(2/3): 69-79. 2000.
- KRULL, W.I. & SZULC, M. Detection sensitivity and selectivity. In: SNYDER, L.R.; KIRKLAND, J.J.; GLAJCH, J.L. *Practical HPLC methods development*. 2.ed. New York: John Wiley. 1997. p.59-99.
- KUDRYAVTSEV, A.V.; PERMINOVA, I.V.; PETROSYAN, V.S. Size-exclusion chromatographic descriptors of humic substances. *Anal. Chim. Acta*, 407: 193-202. 2000.
- LAL, R. & STEWART, B.A. Soil processes and water quality. In: LAL, R. & STEWART, B.A. *Soil processes and water quality*. Boca Raton: CRC. 1994. p.1-6.
- LAL, R.; KIMBLE, J.; LEVINE, E.; WHITMAN, C. World soils and greenhouse effect: an overview. In: LAL, R.; KIMBLE, J.; LEVINE, E.; STEWART, B.A. *Soils and global change*. S.l.: CRC, 1995. p.1-7.
- LINDSAY, W.L. *Chemical equilibria in soils*. New Jersey: Blackburn, 2001. 449p.
- LINEHAN, D.J.; SINCLAIR, H.; MITCHELL, M.C. Seasonal changes in Cu, Mn, Zn and Co concentrations in soil in the root zone of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Soil Sci.*, 40(1): 103-115. 1989.
- LITAOR, M.I. Review of soil solution samplers. *Water Resources Research*, 24(5): 727-733. 1988.
- LORENZ, S.E.; HAMON, R.E.; McGRATH, S.P.; HOLM, P.E.; CHRISTENSEN, T.H. Applications of fertilizer cations affect cadmium and zinc concentrations in soil solutions and uptake by plants. *Eur. J. Soil Sci.*, 45: 159-165. 1994.
- LU, J.Y.; CHAKRABARTI, C.L.; BACK, M.H.; SEKALY, A.L.R.; GREGOIRE, D.C.; SCHROEDER, W.H. Speciation of some metals in river surface water, rain and snow and the interactions of these metals with selected soil matrices. *J. Anal. Atomic Spect.*, 11: 1189-1202. 1996.

- MANOHARAN, V.; LOGANATHAN, P.; PARFITT, R.L.; TILLMAN, R.W. Changes in soil solution composition and aluminum speciation under legume-based pastures in response to long-term phosphate fertiliser applications. *Aust. J. Soil Res.*, 34: 985-998. 1996.
- MANTHEY, J.A.; CROWLEY, D.E.; LUSTER, D.G. *Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere*. Boca Raton: CRC. 372p. 1994.
- MARQUES, R.; RANGER, J.; GELHAYE, D.; POLLIER, B.; PONETTE, Q.; GOEDERT, O. Comparison of chemical composition of soil solutions collected by zero-tension plate lysimeters with those from ceramic-cup lysimeters in a forested soil. *Eur. J. Soil Sci.*, 47: 407-417. 1996.
- MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. 2.ed. San Diego: Academic Press. 1995. p.483-507.
- MARTIN, J.P. & HAIDER, K. Influence of mineral colloids on turnover rates of soil organic carbon. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. *Interactions of soil minerals with natural organic and microbes*. Madison: SSSA. 1986. p.283-304.
- MATSCHONAT, G. & VOGT, R. Assessment of a laboratory method to obtain the equilibrium solution composition of forest soils. *Eur. J. Soil Sci.*, 48: 545-552. 1997.
- MATSCHONAT, G. & VOGT, R. Significance of the total cation concentration in acid forest soils for the solution composition and the saturation of exchange sites. *Geoderma*, 84: 289-307. 1998.
- MATTIGOD, S.V. & SPOSITO, G. Chemical Modeling of Trace Metal Equilibria in Contaminated Soil Solutions Using the Computer Program GEOCHEM. In: HENNE, E.A.(ed.) *Chemical Modeling in Aqueous Systems*; Washington: American Chemical Society, 1979.p.837-856.
- MATTIGOD, S.V. & ZACHARA, J.M. Equilibrium modelling in soil chemistry. In: SPARKS, D.L *Methods of soil analysis: chemical methods*. Part 3. Madison: SSSA/ASA. 1996. p.1309-1358 (SSSA, Book series 5).
- MATTIGOD, S.V. Validation of geochemical equilibrium models. In: LOEPPERT, R.H., SCHWAB, A.P., GOLDBERG, S., (eds.) *Chemical Equilibrium and Reaction Models*. Madison: Soil Science Society of America/American Society of Agronomy, 1995. p.201-218.
- McBRIDE, M.B. *Environmental chemistry of soils*. New York: Oxford University Press, 1994. p.31-62.
- McLAUGHLIN, M.J.; TILLER, K.G.; SMART, M.K. Speciation of cadmium in soil solutions of saline/sodic soils and relationship with cadmium concentrations in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Aust. J. Soil Res.*, 35: 183-198. 1997.

- McLEAN, E.O.; HEDDLESON M.R.; POST G.J. Aluminum in Soils: III. A Comparison of Extraction Methods for Soils and Clays. Proc. Soil Sci. Soc. Am., 23: 289-293. 1959.
- McLEAN, J.E. & BLEDSOE, B.E. Behaviour of metals in soils. Washington: EPA. 1992. 25p.
- MEDINA, H.P. Constituição física. In: MONIZ, A.C. Elementos de pedologia. São Paulo: Polígono/EDUSP, 1972. p.11-20.
- MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. 4.ed. Worblaufen-Bern (Switzerland): IPI. 1987. p.25-111.
- MENZIES, N.W. & BELL, L.C. Evaluation of the influence of sample preparation and extraction technique on soil solution composition. Aust. J. Soil Res., 26: 451-464. 1988.
- MENZIES, N.W.; BELL, L.C.; EDWARDS, D.G. A simple positive pressure apparatus for the ultrafiltration of soil solution. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 22(1&2): 137-145. 1991.
- MERCKX, R.; BRANS, K.; SMOLDERS, E. Decomposition of dissolved organic carbon after soil drying and rewetting as an indicator of metal toxicity in soils. Soil Biology & Biochemistry, 33: 235-240. 2001.
- MILLER, J.C. & MILLER, J.N. Statistics for analytical chemistry. 3.ed. Chichester (England): Ellis Horwood. 1993. 233p.
- MIRANDA, J. Caracterização da solução do solo e das propriedades físicas e químicas de um Latossolo Vermelho-Amarelo sob diferentes coberturas vegetais. Viçosa: UFV, 1993. 65p. Dissertação de Mestrado.
- MISRA, A. & TYLER, G. Effects of soil moisture on soil solution chemistry, biomass production, and shoot nutrients in two native grasses on a clacreous soil. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 31(17&18): 2727-2738. 2000.
- MITROVIC, B. & MILACIC, R. Speciation of aluminum in forest soil extracts by size exclusion chromatography with UV and ICP-AES detection and cation exchange fast protein liquid chromatography with ETAAS detection. The Science of Total Environment, 258: 183-194. 2000.
- MORI, S.; HIRAIDE, M.; MIZUIKE, A. Aqueous size-exclusion chromatography of humic acids on a Sephadex gel column with diluted phosphate buffers as eluents. Anal. Chim. Acta, 193: 231-238. 1987.
- MORI, S. & BARTH, H.G. Size exclusion chromatography. Berli: Springer-Verlag. 1999. 234p.
- MORRISSON, A.R. & PARK, J.S. Application of high-performance size-exclusion liquid chromatography to the study of copper speciation in waters extracted from sewage sludge treated soils. Analyst, 115: 1429-1433. 1990.

- MORROW, D.A.; GINTAUTAS, P.A.; WEISS, A.D.; PIWONI, M.D.; BRICKA, R.M. Metals speciation in soils: a review. Vicksburg: U.S. Army Corps of Engineer, 1996. 108p. (Technical report, IRRP-96-5).
- MULDER, J. & CRESSER, M.S. Soil and soil solution chemistry. In: MOLDAN, B. & CERNÝ, J. Biogeochemistry of small catchments: a tool for environmental research. New York: John Wiley, 1994. p.107-131.
- MULLER, M.B.; SCHMITT, D.; FRIMMEL, F.H. Fractionation of natural organic matter by size exclusion chromatography --Properties and stability fractions. *Environ. Sci. Technol.*, 34(23): 4867-4872. 2000.
- NAIDU, R.; McCLURES, S.; McKENZIE, N.J.; FITZPATRICK, R.W. Soil solution composition and aggregate stability changes caused by long-term farming at four contrasting sites in South Australia. *Aust. J. Soil Res.*, 34: 511-527. 1996.
- NASCIMENTO, R.A.M. Fundamentos da ciência do solo (IA-305):gráficos, desenhos, tabelas. Itaguaí: UFRRJ, 1995. 112p.
- NEGRÍN, M.A.; ESPINO-MESA, M.; HERNÁNDEZ-MORENO, J.M. Effect of water: soil ratio on phosphate release: P, aluminum and fulvic acid associations in water extracts from Andisols and Andic soils. *Eur. J. Soil Sci.*, 47: 385-393. 1996.
- NOBILI, M de; GJESSING, E.; SEQUI, P. Sizes and shapes of humic substances by gel chromatography. In: HAYES, M.H.B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R.L.; SWIFT, R.S. Humic substances II: In search of structure. Chichester: John Wiley. 1989. p.561-591.
- NOR, Y.M. & McNEAL, B.L. Square wave anodic stripping voltammetry: determination of trace metals in aqueous extracts of soil samples. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 5(4): 135-140. 1993.
- O'LOUGHLIN, E. & CHIN, Y.-P. Effect of detector wavelength on the determination of the molecular weight of humic substances by high-pressure size exclusion chromatography. *Wat. Res.*, 35(1): 333-338. 2001.
- PANDEY, A.K.; PANDEY, S.D.; MISRA, V. Stability constants of metal-humic acid complexes and its role in environmental detoxification. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47: 195-200. 2000.
- PARKER, D.R.; CHANEY, R.L.; NORVELL, W.A. Chemical equilibrium models: applications to plant nutrition research. In: LOEPPERT, R.H., SCHWAB, A.P., GOLDBERG, S., (eds.) *Chemical Equilibrium and Reaction Models*. Madison: Soil Science Society of America/American Society of Agronomy, 1995a. p.163-200.
- PARKER, D.R.; NORVELL, W.A.; CHANEY, R.L. GEOCHEM-PC – A Chemical Speciation Program for IBM and Compatible Personal Computers. In: LOEPPERT, R.H., SCHWAB, A.P., GOLDBERG, S., (eds.)

Chemical Equilibrium and Reaction Models. Madison: Soil Science Society of America/American Society of Agronomy, 1995b. p.253-269.

PASRICHA, N.S. Predicting Ionic Strength from Specific Conductance in Aqueous Soil Solutions. *Soil Sci.*, 143: 92-96. 1987.

PAUL, E.A. & CLARK, F.E. *Soil microbiology and biochemistry*. San Diego: Academic Press. 1989. p.131-146.

PAVAN M.A.; TAKACHI, C.Y.; MIYAZAWA, M. Estimativa da força iônica corrigida para pares de íons através da condutividade elétrica da solução do solo. *Rev. Bra. Ci. Solo*, 19(3): 345-348. 1995.

PERCIVAL, H.J.; SPEIR, T.W.; PARSHOTAM, A. Soil solution chemistry of contrasting soils amended with heavy metals. *Aust. J. Soil Res.*, 37: 993-1004. 1999.

PÉREZ, D.V. *A ciência do solo como uma das chaves para entender o Ambiente Global*. Rio de Janeiro: PUC-RIO, 1997. 39p.

PERMINOVA, I.V.; FRIMMEL, F.H.; KOVALEVSKII, D.V.; ABBT-BRAUN, G.; KUDRYAVTSEV, A.V.; HESSE, S. Development of a predictive model for calculation of molecular weight of humic substances. *Wat. Res.*, 32(3): 872-881. 1998.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Sci.*, 166(11): 810-832. 2001.

PICCOLO, A.; CONTE, P.; COZZOLINO, A. Effects of mineral and monocarboxylic acids on the molecular association of dissolved humic substance. *Eur. J. Soil Sci.*, 50: 687-694. 1999.

PICCOLO, A.; CONTE, P.; COZZOLINO, A. Chromatographic and spectrophotometric properties of dissolved humic substances compared with macromolecules polymers. *Soil Sci.*, 166(3): 174-185. 2001.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. *Chemosphere*, 33(4): 595-602. 1996.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, 75: 57-134. 2002.

PIMENTEL, M.F. & NETO, B. de B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. *Química Nova*, 19(3): 268-277. 1996.

PIONKE, H.B. & COREY R.B. Relations between Acidic Aluminum and Soil pH, Clay and Organic Matter. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31: 749-752. 1967

QIAN, P. & WOLT, J.D. Effects of drying and time of incubation on the composition of displaced soil solution. *Soil Sci.*, 140(6): 367-374. 1990.

- QUEVAUVILLER, Ph. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis. I. Standardization. *Trends in Anal. Chem.*, 17(5): 289-298. 1998.
- RANGER, J.; MARQUES, R.; JUSSY, J.H. Forest soil dynamics during stand development assessed by lysimeter and centrifuge solutions. *Forest Ecology and Management*, 144: 129-145. 2001.
- RAUSA, R.; MAZZOLARI, E.; CALEMMA, V. Determination of molecular size distributions of humic acids by high performance size exclusion chromatography. *Journal of Chromatography*, 541: 419-429. 1991.
- REEMTSMA, T.; BREDOW, A.; GEHRING, M. The nature and kinetics of organic matter release from soil by salt solutions. *Eur. J. Soil Sci.*, 50: 53-64. 1999.
- REICHARDT, K. Processo de transferência no sistema solo-planta-atmosfera. 4.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1985. 466p.
- RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S.B. de; CORRÊA, G.F. Pedologia: base para distinção de ambientes. Viçosa: NEPUT, 1995. 304p.
- REYNOLDS, B. A simple methods for the extraction of soil solution by high speed centrifugation. *Plant and Soil*, 78: 437-440. 1984.
- RIEUWERTS, J.; THORNTON, I.; FARAGO, M.; ASHMORE, M. Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 10(3): 61-75. 1998a.
- RIEUWERTS, J.; THORNTON, I.; FARAGO, M.; ASHMORE, M. Quantifying the influence of soil properties on the solubility of metals by predictive modelling of secondary data. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 10(3): 83-94. 1998b.
- RITCHIE, G.S. & SPOSITO, G. Speciation in soils. In: URE, A.M. & DAVIDSON, C.M. *Chemical speciation in the environment*. Glasgow: Blackie. 1995. p.201-233.
- ROMKENS, P.F.A.M.; BOUWMAN, L.A.; BOON, G.T. Effect of plant growth on copper solubility and speciation in soil solution samples. *Environ. Pollution*, 106: 315-321. 1999.
- ROMKENS, P.F.A.M. & DOLFING, I. Effect of Ca on the solubility and molecular size distribution of DOC and Cu binding in soil solution samples. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 363-369. 1998.
- ROSS, D.S. & BARTLETT, R.J. Effects of extraction methods and sample storage on properties of solutions obtained from forested Spodosols. *J. Environ. Qual.*, 19: 108-113. 1990.

- ROSS, S.M. Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. In: ROSS, S.M. Toxic metals in soil-plant systems. Braffins Lane: John Wiley, 1994. p.63-152.
- ROTTMAN, L. & HEUMANN, K.G. Determination of heavy metal interactions with dissolved organic materials in natural aquatic organic materials in natural aquatic systems by coupling a high-performance liquid chromatography system with an inductively coupled plasma mass spectrometer. *Anal. Chem.*, 66: 3709-3715. 1994.
- RUBIO, R. & VIDAL, M. Quality assurance of sampling and sample pretreatment for trace metal determination in soils. In: QUEVAUVILLER, Ph. Quality assurance in environmental monitoring: sampling and sample pretreatment. Weinheim: VCH. 1995. 9.157-178.
- RUBIO, R. & URE, A.M. Approaches to sampling and sample pretreatments for metal speciation in soils and sediments. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51: 205-2017. 1993.
- SAITO, Y. & HAYANO, S. Application of high-performance aqueous gel permeation chromatography to humic substances from marine sediment. *Journal of Chromatography*, 177: 390-392. 1979.
- SALET, R.L. Dinâmica de íons na solução de um solo submetido ao sistema plantio direto. Porto Alegre: UFRGS. 110p. 1994. Dissertação de Mestrado.
- SALET, R.L. Dinâmica de íons na solução de um solo submetido ao sistema plantio direto. Porto Alegre: UFRGS, 1994. 110p. Dissertação de Mestrado.
- SALM, C. van der & VRIES, W. de. A review of the calculation procedure for critical acid loads for terrestrial ecosystems. *The Science of Total Environment*, 271: 11-25. 2001.
- SANTOS, H.G. dos. Solos intermediários entre Latossolo Vermelho-Amarelo e Podzólico Vermelho-Amarelo argila de atividade baixa: conceituação e distinção. Itaguaí: UFRRJ. 1986. 239p. Tese de Doutorado.
- SAS INSTITUTE. SAS System for Windows, v.8.02. SAS Institute Inc.: Cary, 2001; CD-ROM.
- SAUVE, S.; DUMESTRE, A.; McBRIDE, M.; HENDERSHOT, W. Derivation of soil quality criteria using predicted chemical speciation of Pb^{2+} and Cu^{2+} . *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(8): 1481-1489. 1998.
- SCHMITT, D.; MULLER, M.B.; FRIMMEL, F.H. Metal distribution in different size fractions of natural organic matter. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 28(7): 400-410. 2000.
- SCHNITZER, M. Binding of humic substances by mineral colloids. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. Interactions of soil minerals with natural organics and microbes. Madison~: SSSA. 1986. p.77-101 (SSSA Special Publication, 17).

- SCHWERTMANN, U.; KODAMA, H.; FISHER, W.R. Mutual interactions between organics and iron oxides. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. Interactions of soil minerals with natural organic and microbes. Madison: SSSA. 1986. p.223-250.
- SENESI, N.; MIANO, T.M.; BRUNETTI, G. Humic-like substances in organic amendments and effects on native soil humic substances. In: PICCOLO, A. Humic substances in terrestrial ecosystems. Amsterdam: Elsevier. 1996. p.531-593.
- SHEN, Y.; STROM, L.; JONSSON, J.-A.; TYLER, G. Low molecular organic acids in the rhizosphere soil solution of beech forest (*Fagus sylvatica* L.) Cambisols determined by ion chromatography using supported liquid membrane enrichment technique. *Soil Biology & Biochemistry*, 28(9): 1163-1169. 1996.
- SILVA, L.S. da. Características químicas de um Latossolo nos sistemas plantio direto e convencional no primeiro ano. Porto Alegre: UFRGS, 1996. 86p. Dissertação de Mestrado.
- SILVA, M.B.; ANJOS, L.H.C.; PEREIRA, M.G.; NASCIMENTO, R.A.M. Estudo de topossequência da baixada litorânea fluminense: efeitos do material de origem e posição topográfica. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 25(4): 965-976..2001.
- SIMÓN, M. & GARCÍA, I. Physico-chemical Properties of the Soil-Saturation Extracts: Estimation from Electrical Conductivity. *Geoderma*, 90: 99-109. 1999.
- SKOOG, D.A.; HOLLER, E.J.; NIEMAN, T.A. Principles of Instrumental analysis. 5. Ed. Orlando: Harcourt Brace. p.262-269. 1998.
- SKYLLBERG, U.; RAULUND-RASMUSSEN, K.; BORGGAARD, O.K. pH buffering in acidic soils developed under *Piceas abies* and *Quercus sobur* – effects of soil organic matter adsorbed cations and soil solution ionic strength. *Biogeochemistry*, 56: 51-74. 2001.
- SMAL, H. & MISZTAL, M. Soil solution chemistry in the profiles of forest and arable light textured soils, S.E. Poland. *Applied Geochemistry*, 11: 81-85. 1996.
- SMALL, H. Modern inorganic chromatography. *Anal. Chem.*, 55(2): 235A-242A 1983.
- SMETHURST, P.J. Soil solution and other soil analyses as indicators of nutrient supply: a review. *Forest Ecology and Management*, 138: 397-411. 2000.
- SMETHURST, P.J.; HERBERT, A.M.; BALLARD, L.M. Fertilization effects on soil solution chemistry in three eucalypt plantations. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 65: 795-804. 2001.

- SPECHT, C.H. & FRIMMEL, F.H. Specific interactions of organic substances in size-exclusion chromatography. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 2361-2366. 2000.
- SPOSITO, G. Trace metals in contaminated waters. *Environ. Sci. Technol.*, 15(4): 396-403. 1981.
- SPOSITO, G. Sorption of trace metals by humic materials in soils and natural waters. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 16(2): 193-229. 1986.
- SPOSITO, G. The chemistry of soils. New York: Oxford University Press, 1989. p.3-21.
- SPOSITO, G.; BINGHAM, F.T.; YADAV, S.S.; INOUYE, C.A. Trace metal complexation by fulvi acid extracted from sewage sludge: II. Development of chemical models. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46: 51-56. 1982.
- STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. Principles and procedures of statistics. New York: McGraw-Hill. 1960. p.156-160.
- STEELINK, C. Investigating humic acids in soils. *Anal. Chem.*, 74(11): 327A-333A. 2002.
- STEVENSON, F.J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2.ed. New York: John Wiley. p.325-349. 1994.
- STEVENSON, F.J. & FITCH, A. Chemistry of complexation of metal ions with soil solution organics. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. Interactions of soil minerals with natural organics and microbes. Madison: SSSA. p. 29-58. 1986 (SSSA. Special publication, 17).
- STEWART, J.W.B. & COLE, C.V. Influences of elemental interactions and pedogenic processes in organic matter dynamics. In: CLARHOLM, M. & BERGSTROM, L. (eds.) Ecology of arable lands. Dordrecht (The Netherlands). 1989. p. 77-87.
- STROBEL, B.W. Influence of vegetation on low-molecular weight carboxylic acids in soil solution – a review. *Geoderma*, 99: 169-198. 2001.
- STROBEL, B.W.; BERNHOFT, I.; BORGGAARD, K. Low-molecular weight aliphatic carboxylic acids in soil solutions under different vegetations determined by capillary zone electrophoresis. *Plant and Soil*, 212(2): 115-121. 1999.
- STROBEL, B.W.; HANSEN, H.C.B.; BORGGAARD, O.K.; ANDERSEN, M.K. RAULUND-RASMUSSEN, K. Composition and reactivity of DOC in forest floor soil solutions in relation to tree species and soil type. *Biogeochemistry*, 56: 1-26. 2001.
- STUMM, W. & MORGAN, J.J. Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters. 3.ed. New York: John Wiley. 1996. 1022p.

- SWIFT, R.S. Molecular weight, size, shape, and charge characteristics of humic substances: some basic considerations. In: HAYES, M.H.B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R.L.; SWIFT, R.S. Humic substances II: In search of structure. Chichester: John Wiley. 1989. p. 449-465.
- SWIFT, R.S. Macromolecular properties of soil humic substances: fact, fiction, and opinion. *Soil Sci.*, 164(11): 790-802. 1999.
- TACK, F.M.G. & VERLOO, M.G. Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review. *Intern. J. Environ. Chem.*, 59: 225-238. 1995.
- TAN, K.H. Principles of soil chemistry. New York: Marcel-Dekker, 1982. 267p.
- TAN, K.H. Principles of soil chemistry. New York: Marcel-Dekker, 1993.p.31-64.
- TAN, K.H. Environmental soil science. New York: Marcel-Dekker, 1994. 304p.
- TAN, K.H. Soil sampling, preparation, and analysis. New York: Marcel Dekker. 1996. p.56-72.
- TAYLOR, J.K. Quality assurance of chemical measurements. Boca Raton: CRC. 1987. p.75-93.
- TAYLOR, M.D. & PERCIVAL, H.J. Cadmium in soil solutions from a transect of soils away from a fertiliser bin. *Environ. Pollution*, 113: 34-40. 2001.
- THIBAUT, D.H. & SHEPPARD, M.J. A disposable system for soil pore-water extraction by centrifugation. *Comm. Soil Sci. Plant Anal*, 23(13/14): 1629-1641. 1992.
- TIPPING, E. & WOOF, C. The distribution of humic substances between the solid and aqueous phases of acid organic soils: a description based on humic heterogeneity and charge-dependent sorption equilibria. *J. Soil Sci.*, 42: 437-448. 1991.
- TSUNODA, K.-I.; YAGASAKI, T.; AIZAWA, S.; AKAIWA, H.; SATAKE, K.-I. Determination and speciation of aluminum in soil extracts by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection using 5-sulfo-8-quinolinol. *Analytical Sciences*, 13: 757-764. 1997.
- TYLER, G. Effects of sample pretreatment and sequential fractionation by centrifuge drainage as concentrations of minerals in a calcareous soil solution. *Geoderma*, 94: 59-70. 2000.
- TYLER, G. & OLSSON, T. Concentrations of 60 elements in the soil solution as related to the soil acidity. *Eur. J. Soil Sci.*, 52: 151-165. 2001a.
- TYLER, G. & OLSSON, T. Plant uptake of major and minor mineral elements as influenced by soil acidity and liming. *Plant and Soil*, 230: 307-321. 2001b.

- UEHARA,, G. & GILLMAN, G. The mineralogy, chemistry and physics of tropical soils with variable charge clays. Boulder: West Press, 1981. 170p.
- URE, A.M. Trace element speciation in soils, soil extracts and solutions. *Mikrochimica Acta*, 2(1-6): 49-57. 1991.
- URE, A.M. Methods of analysis for heavy metals in soils. In: ALLOWAY, B.J. Heavy metals in soils. 2.ed. Glasgow: Blackie. 1995. p.58-102.
- URE, A.M. & DAVIDSON, C.M. Introduction to speciation. In: URE, A.M. & DAVIDSON, C.M. Chemical speciation in the environment. Glasgow: Blackie, 1995. p.1-5.
- VAZ, L.R.; EDWARDS, T.; SHAND, C. & CRESSER, M. Quantification of phosphorus fractions in soil solution. *The Science of the Total Environment*, 135: 67-71. 1993
- VELA, N.P. & CARUSO, J.A. Trace metal speciation via supercritical fluid extraction liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. Atomic Spect.*, 11: 1129-1135. 1996.
- VERLOO, M. & EECKOUT, M. Metal species transformation in soils: an analytical approach. *Int. J. Environ. Anal. Chem*, 39: 179-186. 1990.
- VRIES, W. de; GRINSVEN, J.J.M. van; BREEMEN, N. van; LEETERS, E.E.J.M.; JANSEN, P.C. Impacts of acid deposition on concentrations and fluxes of solutes in acid forest soils in the Netherlands. *Geoderma*, 67(1-2): 17-43. 1995.
- WALWORTH, J.L Soil drying and rewetting, or freezing and thawing, affects soil solution composition. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 56(2): 433-437. 1992.
- WASSERMAN, M.A.; PÉREZ, D.V.; BARTOLY, F.; POQUET, I. Assessment of the mobility and bioavailability of ⁶⁰Co and ¹³⁷Cs in contaminated soils. In: REGIONAL CONGRESS ON RADIATION PROTECTION AND SAFETY, 5, 2001, Recife. Proceedings. Recife: Sociedade Brasileira de Proteção Radiológica, CD-ROM. 2001.
- WEISS, J. Ion chromatography. 2 ed. Weinheim (Germany): VCH. 1995. 465p.
- WELZ, B. & SPERLING, M. Atomic absorption spectrometry. 3.ed. Weinheim (Germany): Wiley-VCH. 1999. 940p.
- WENZEL, W.W.; SLETTEN, R.S.; BRANDSTETTER, A.; WIESHAMMER, G. STINGEDER, G. Adsorption of trace metals buy tension lysimeters: nylon membrane vs. Porous ceramic cup, *Journal of Environmental Quality*, Madison, 26(5): 1430-1434, 1997.
- WHELAN, B.R. & BARROW, N.J. A study of a method for displacing soil solution by centrifuging with an immiscible liquid. *J. Environ. Qual.*, 9(2): 315-319. 1980.

- WILLIAMS, A. & HAGEL, L. Size exclusion for analysis and purification of aqueous macromolecules. In: WU, C-S. Column handbook for size exclusion chromatography. San Diego: Academic Press. 1999. p.27-74.
- WINISTORFER, D. Speciation of heavy metals in extracted soil solutions by a cation exchange batch equilibrium method. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 26 (7/8): 1073-1093. 1995.
- WOLT, J. Soil solution chemistry: applications to environmental science and agriculture. New York: John Wiley, 1994. 345p.
- WU, C-S. Column handbook for size exclusion chromatography. San Diego: Academic Press. 1999. 637p.
- YAU, W.W.; KIRKLAND, J.J.; BLY, D.D. Modern Size-exclusion liquid chromatography. New York: John Wiley. 1979. p.285-313.
- ZABOWSKI, D. & UGOLINI, F.C. Lysimeter and centrifuge soil solutions: seasonal differences between methods. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 54: 1130-1135. 1990.
- ZERNICHOW, L. & LUND, W. Size exclusion chromatography of aluminum species in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 300: 167-171. 1995.
- ZHAO, F.J. & McGRATH, S.P. Soil organic sulphur and its turnover. In: PICCOLO, A. Humic substances in terrestrial ecosystems. 1996. p.467-506.
- ZHOU, Q.; CABANISS, S.E.; MAURICE, P.A. Considerations in the use of high-pressure size exclusion chromatography (HPSEC) for determining molecular weights of aquatic humic substances. *Wat. Res.*, 34(14): 3505-3514. 2000.

6) ANEXOS

6.1 – Anexo 1: Alguns dados extraídos de trabalhos de literatura que utilizaram a centrifugação como técnica de obtenção da solução do solo.

Autoria	Filtro	Velocidade		Tempo	Tipo Amostra
	μm	rpm	g	min	
Davies & Davies (1963)		3000	1200	60	
Gillman (1976)	0,22	2000	45		Seca e reumidecida a pH 2 por 5 dias
Adams et al (1980)	Whatman 42		1070	120	Seca e reumidecida a C.C. por 7 dias
Reynolds (1984)	0,45	10000		60	Umidade de campo
Gregson & Alloway (1984)	0,45	3500		25	Umidade de campo e reumidecido à C.C. por 7 dias
Edmeades et al. (1985)	0,22	5000	3900	60	Vários
Elkhatib et al. (1987)	Vários	Vários	Vários	20,40,60	Seca e reumidecida a C.C. por 24 h
Menzies & Bell (1988)	0,22		700	60	Vários
Linehan et al. (1989)	0,4		2000	60	Umidade de campo e reumidecido à C.C. por 48 h
Zabowski & Ugolini (1990)	0,22 (celulose)	1000/10000		30/5°C	Umidade de campo
Davis (1990)	0,45	4000		60	Umidade de campo
Morrison & Park (1990)	0,45 (Gelman)		2000	60	Umidade de campo
Gibson & Willet (1991)	0,8 (celulose)	2000			Umidade de campo
Walworth (1992)	0,6 (policarbonato)		750	15,60,120,240 /20°C	Vários
Ross & Bartlett (1992)	Whatman 540	5000/10000		45/5°C	Umidade de campo
Thibault & Sheppard (1992)	0,8	Vários	Vários	Vários	Seca e reumidecida a C.C. por 24 h em refrigerador
Miranda (1993)			900	60	Seca e reumidecida a 80-86% da C.C. por 7 dias
Vaz et al (1993)			2000	60	Umidade de campo
Jones & Edwards (1993)		3000	2010	60/20°C	Vários
Giesler & Lundstrom (1993)		14000	16500	80/5°C	Umidade de campo
Dahlgren (1993)	0,2		15530	30/5°C	Umidade de campo
Castilho et al. (1993)			2039		Umidade de campo
Klepker & Anghinoni (1994)	0,45	4000		30	Seca e reumidecida a C.C.
Lorenz et al (1994)			1250	60	Umidade de campo
Winistorfer (1995)	0,45 (lavagem ácida)	20000		15	Seca e reumidecida na relação 1:2,5 (solo:água) por 2 h
Jallah & Smith (1995)	0,45	7000/9000	6745/11149	20	Seca e reumidecida na relação 1:1,1 (solo:água)
Kerven et al. (1995)	0,2	2000		45	Seca e reumidecida a C.C. por 24 h
Keller (1995)	0,45	5000	3400	60	Umidade de campo e reumidecido à C.C.
Shen et al. (1996)	0,8/0,2 (PF)	12000		45	Umidade de campo e peneirada 6mm

Autoria	Filtro	Velocidade		Tempo	Tipo Amostra
	μm	rpm	g	min	
Boudot et al. (1996)	0,45 (celulose)		2750		Umidade de campo
Silva (1996)		4000		30	
Dang et al (1996)	0,22	2500	1000	45	Umidade de campo e reumidecido à C.C. por 7 dias
Manoharan et al (1996)	0,22	10000	12000	5°C	Umidade de campo
Smal & Misztal (1996)		3500		20	Seca e reumidecida a C.C. por 48 h no escuro
Naidu et al (1996)	0,45	10000		60	Umidade de campo e saturado
Negrin et al. (1996)	0,45 (celulose)		2000	15	Seca e reumidecida na relação 1:2,5 (solo:água) por 24 h e 4°C
Grieve (1996)		4000		90	Umidade de campo
Giesler et al (1996)		14000	16500	80/5°C	Umidade de campo
Fotovat & Naidu (1997)	0,2 (nylon)	9000	10800	60	Seca e reumidecida na relação 1:0,8 (solo:água) por 24 h
McLaughlin et al (1997)	0,2		4000	30	Seca e reumidecida por 10 h
Dahlgren et al (1997)	0,2		2300	30	Umidade de campo
Fotovat et al. (1997)	0,2 (Nalgene)	9000	10800	60	Vários
Matschonat & Vogt (1997)	0,45 (acetato celulose)		3700		Saturada na relação 1:1 (solo:água) por 2/12 h
Matschonat & Vogt (1998)	0,45 (acetato celulose)		3700		Saturada na relação 1:1 (solo:água) por 2/12 h
Fotovat & Naidu (1998)	0,2 (nylon)		10800	60	Seca e reumidecida na relação 1:0,8 (solo:água) por 24 h
Romkens & Solomons (1998)	0,45 (HTTP)		20000N/kg		Umidade de campo
Romkens et al. (1999)	0,45 (HTTP)		2039		Umidade de campo
Jouve et al. (1999)			15000	10/20°C	
Casartelli (1999)	0,45	2000		20	Umidade de campo, peneirada 2mm, saturada por 48 h
Adams et al. (1999)	0,025	3000		30	Umidade de campo e reumidecido à 15% por 12 h
Percival et al. (1999)	0,22		2400	30	Umidade de campo
Strobel et al. (1999)	0,45		4000	30/5°C	Umidade de campo
Gallet & Keller (1999)			3400	90/4°C	Umidade de campo
Hees et al (2000abc)	0,45 (Millex-HV)	14000		30	Umidade de campo
Ilvesniemi et al (2000)	0,45	12000		45	Umidade de campo
Ge et al. (2000)	0,4 (policarbonato)	1000	130	30	Umidade de campo e saturado
Tyler (2000)	0,2	Vários	Vários	60/5°C	Umidade de campo
Gustafsson et al (2000)	0,45		16500	30	Umidade de campo
Adams et al. (2000)	0,025	3000		30	Umidade de campo

Autoria	Filtro	Velocidade		Tempo	Tipo Amostra
	μm	rpm	g	min	
Mitrovic & Milacic (2000)	0,45	10000		20	Seca e reumidecida na relação 1:10 (solo:água)
Jackson & Miller (2000)	0,22	2400		20	Seca e reumidecida a C.C.
Misra & Tyler (2000)			13900	60/10°C	Umidade de campo
Hees et al (2001abc)	0,45 (Millex-HV)	14000		30	Umidade de campo
Ranger et al. (2001)	0,45	2000		20	Umidade de campo mantida a 4°C
Taylor & Percival (2001)	0,22	7000		30/20-25°C	Umidade de campo
Strobel et al. (2001)	0,45		4000	30	Umidade de campo mantida a 0-10°C
Skyllberg et al. (2001)			4000	30	Umidade de campo mantida a 4°C por 2 dias
Smethurst et al. (2001)					Pasta saturada
Merckx et al. (2001)	Não filtrou		1100	60	Seca e reumidecida a C.C.
Tyler & Olsson (2001ab)	0,2/0,8	12000	13900	60/5°C	Seca e reumidecida a 60% C.C.

6.2 – Anexo 2: Alguns dados extraídos de trabalhos de literatura que utilizaram alguma coluna cromatográfica de exclusão por tamanho para estudos envolvendo solo, a solução do solo ou soluções afins.

Autoria	Principais características Operacionais	Outras Informações
Baham et al. (1978)	COLUNA: Sephadex G-10 em coluna Phramacia K26/100 (altura 80cm) ELUENTE: FLUXO: 25mL h ⁻¹ DETECÇÃO: VOLUME do LOOP	AMOSTRA: Extrato de lodo de esgoto <ul style="list-style-type: none"> • Frações coletadas de 3mL para análise de C e metais. • Discute IR dos complexos orgânicos
Saito and Hayano (1979)	COLUNA: TSK Gel G300SW (7,5x600mm) ELUENTE: Água e 0,1M NaCl FLUXO: 0,5 e 1 mL min ⁻¹ DETECÇÃO:254 nm VOLUME do LOOP: 0,025 a 0,1 mL	AMOSTRA: Extrato alcalino de ácidos húmicos de sedimento
Frigon et al. (1983)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0,01M sodium Phosphate + AcNH ₄ de 0 a 0,5M (pH 7) FLUXO: 1 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 220 ou 280 nm VOLUME do LOOP: 0,01 a 0,2 mL	AMOSTRA: Proteínas e dextranas
Gregson & Alloway (1984)	COLUNA: Sephadex G-50/G-100 ELUENTE: 0,01M KCl FLUXO: 2 mL 3 min ⁻¹ DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Determinou Pb por GFAAS

Autoria	Principais características Operacionais	Outras Informações
Becher et al. (1985)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0.02M KH ₂ PO ₄ (pH 6,5) FLUXO: 1 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	AMOSTRA: Água natural contendo ácidos húmicos e que foi clorada <ul style="list-style-type: none"> • Faz teste de I na eluição de AH
Gardiner et al. (1987)	COLUNA: Superose 12 ELUENTE: 0,2M AcNa pH 3,8 FLUXO: 0,3 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Coletou 70 frações de 0,6mL • Determinou Al e Fe por GFAAS • Aponta como fazer a análise de recuperação de Al no eluente
Ceccanti et al. (1989)	COLUNA: Sephadex G-50 ELUENTE: água e tampão de pirofosfato-Na/HCl com I de 1, 10 e 100 mM FLUXO: ? DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: ?	<ul style="list-style-type: none"> • AMOSTRA: Ácido húmico extraído por pirofosfato-Na/HCl.
Berdén & Berggren (1990)	COLUNA: TSKgel G2000SWXL (7,8x300mm) ELUENTE: NaNO ₃ (pH 6) e Ac.NH ₄ /NaNO ₃ 1:3 (pH 7) FLUXO: 1,0 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 260 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Testou NaNO₃ (pH 6) e Ac.NH₄/NaNO₃ 1:3 (pH 7) com I de 0,05, 0,1, 0,15 e 0,20M na eluição do AH.

Autoria	Principais características Operacionais	Outras Informações
Morrison and Park (1990)	COLUNA: TSK G3000 SW (8x300mm) ELUENTE: Na ₂ HPO ₄ +NaH ₂ PO ₄) 0,0058M e pH 5,8) FLUXO: 0,75 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 284 nm VOLUME do LOOP: 0.2 mL	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Coletou frações de 0,25mL para Cu por GFAAS • Cita efeitos de I (efeito coulombico)
Rausa et Al. (1991)	COLUNA: Shodex Ionpak S-802S, S-803S, S-804S ELUENTE: NaNO ₃ 0.03 ou 0.05M FLUXO: 0,6-1,0 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 262 nm VOLUME do LOOP: ?	AMOSTRA: Humatos de sódio, de carvão e compostos orgânicos.
9) Castilho et al. (1993)	COLUNA: Zero-pressure Sephadex G-75 (16mm x 400mm) ELUENTE: 10 ⁻² M KCl, pH=7.0 FLUXO: 100 mL h ⁻¹ DETECÇÃO: UV 215 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: Solução de solo de tratamento com lodo de suíno <ul style="list-style-type: none"> • Coletou de 20 a 80 frações (10 a 2,5 mL) e analisou Cd, Zn, Cu, DOC, etc. • Varredura UV entre 245 e 500nm para identificar grupos funcionais
Kerven et al. (1995)	COLUNA: Fractogel TSK HW-40(s) ELUENTE: 0,02M KCl pH 4,2 FLUXO: 1 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • O eluído foi misturado continuamente com solução MAKEUP de 10mg/L de Sc. • Acoplamento direto no ICP-AES

Autoria	Principais características Operacionais	Outras Informações
Zernichow and Lund (1995)	COLUNA: Superose 12HR 10/30 ELUENTE: 0,1M tampão acetato (0,05M AcNa + 0,05M AcH-pH 4,6) FLUXO: 0,4 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	AMOSTRA: Água de rio <ul style="list-style-type: none"> • Adicionou tampão à amostra antes da injeção • Coletou 40 frações de 0,6mL • Determinou Al por GFAAS.
Hees et al. (1996)	COLUNA: Bio-Gel P2 (16 x 300mm) cut-off 1800D (separa LMW de Ac.Humicos) ELUENTE: 0,1M NaSCN FLUXO: 0,26 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 400 nm VOLUME do LOOP: ?	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Testou vários sais como eluentes e preferiu o NaSCN pois não houve adsorção • Cita Supelco Gel C610H para ácidos de baixo peso molecular • Coletou frações de 2,6mL para Al
Tsunoda et al. (1997)	COLUNA: Shodex Asahipac-320 HQ ELUENTE: 0,1M NaNO ₃ (pH 3,0) FLUXO: 0,4 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: pós coluna-fluorimetria VOLUME do LOOP: 20 mm ³	AMOSTRA: Extrato aquoso de solo <ul style="list-style-type: none"> • Determinou Al
Romkens and Dolfing (1998)	COLUNA: Bio-Sil SEC 250 (7,5 x 600mm) ELUENTE: 0,05M NaNO ₃ ou H ₂ O pH 6,0 FLUXO: 1 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 200 e 250 nm VOLUME do LOOP: 0,020 ml	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Avaliou efeito I e sais nos picos • Determina efeito de Ca e Cu na precipitação DOC

Autoria	Principais características Operacionais	Outras Informações
Casartelli (1999)	COLUNA: Toyopearl HW40S (1x36cm) ELUENTE: KCl 0,02M FLUXO: 1,0 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Usou calibração com proteínas.
Conte and Piccolo (1999b)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0,05M NaNO ₃ com: 0,004M NaN ₃ , ou 4,6x10 ⁻⁷ M metanol (pH 6,97), ou com HCl pH 5,54 ou 4,6x10 ⁻⁷ M AcH pH 5,69 FLUXO: 0,6 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: Ácidos húmicos isolados de solos <ul style="list-style-type: none"> • Usou calibração com polisacarídeos (explica o porque) e 4 elentes (não houve diferença)
Conte and Piccolo (1999a)	COLUNA: TSK G3000SW e Biosep S2000 ELUENTE: 0,05M NaNO ₃ com: 0,004M NaN ₃ (I= 0,05, pH 7,0) FLUXO: 0,6 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: Ácidos húmicos isolados de solos <ul style="list-style-type: none"> • Usou calibração com polisacarídeos
Hils et al.(1999)	COLUNA: Superdex 75HR (10/30) ou Peptide HR 10/30 ELUENTE: água demineralizada FLUXO: 1 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: Solução do solo <ul style="list-style-type: none"> • Proteínas para calibrar (mostra a concentração de cada uma) • Testou coluna catiônica para separar Al-org. do inorg. • Discute acoplamento ICPMS-HPLC

Autoria	Principais características Operacionais	Outras Informações
Piccolo et al.(1999)	COLUNA: Biosep S2000 (7,5x600mm) ELUENTE: 0.05M NaNO ₃ + 0.004M NaN ₃ (pH 7, I = 0,005M) FLUXO: 0,6 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: Ácidos húmicos isolados de solo e mineral e carvão <ul style="list-style-type: none"> • Usou polisacarídeos para calibrar • Estudou estabilidade conformacional de humatos-Na em presença de ácidos monocarboxílicos e HCl (que não alterou I)
Mitrovic and Milacic (2000)	COLUNA: Superdex HR 75 10/30 ELUENTE: Tampão tris-HCl + NaCl FLUXO: 0,35cm ³ min ⁻¹ DETECÇÃO: 278 nm VOLUME do LOOP: 0,2 ou 1 cm ³	AMOSTRA: Extrato aquoso de solo <ul style="list-style-type: none"> • Mostra como preparar solução, a partir de padrões, de Al-Hum e Al-Ful • Coletou frações de 0,875cm³ e determinou Al • Usou outra coluna (catiônica)
Cozzolino et al. (2001)	COLUNA: Biosep S2000 (7,5x600mm) ELUENTE: 0.05M NaNO ₃ + 0.004M NaN ₃ FLUXO: 0,6 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: Ácidos húmicos isolados de solo e mineral e carvão <ul style="list-style-type: none"> • Usou polisacarídeos para calibrar Estudou estabilidade conformacional humatos de Na
Piccolo et al. (2001)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0,05M NaNO ₃ com: 0,004M NaN ₃ , ou 4,6x10 ⁻⁷ M metanol (pH 6,97), ou com HCl pH 5,54 ou 4,6x10 ⁻⁷ M AcH pH 5,69 FLUXO: 0,6 mL min ⁻¹ DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: Ácidos húmicos isolados de solo, carvão e lignita <ul style="list-style-type: none"> • Usou polisacarídeos e polímeros para calibrar, mas usou detecção por RI

6.3 – Anexo 3: Diagramas de extração de substâncias húmicas em solo (Kononova, 1966).

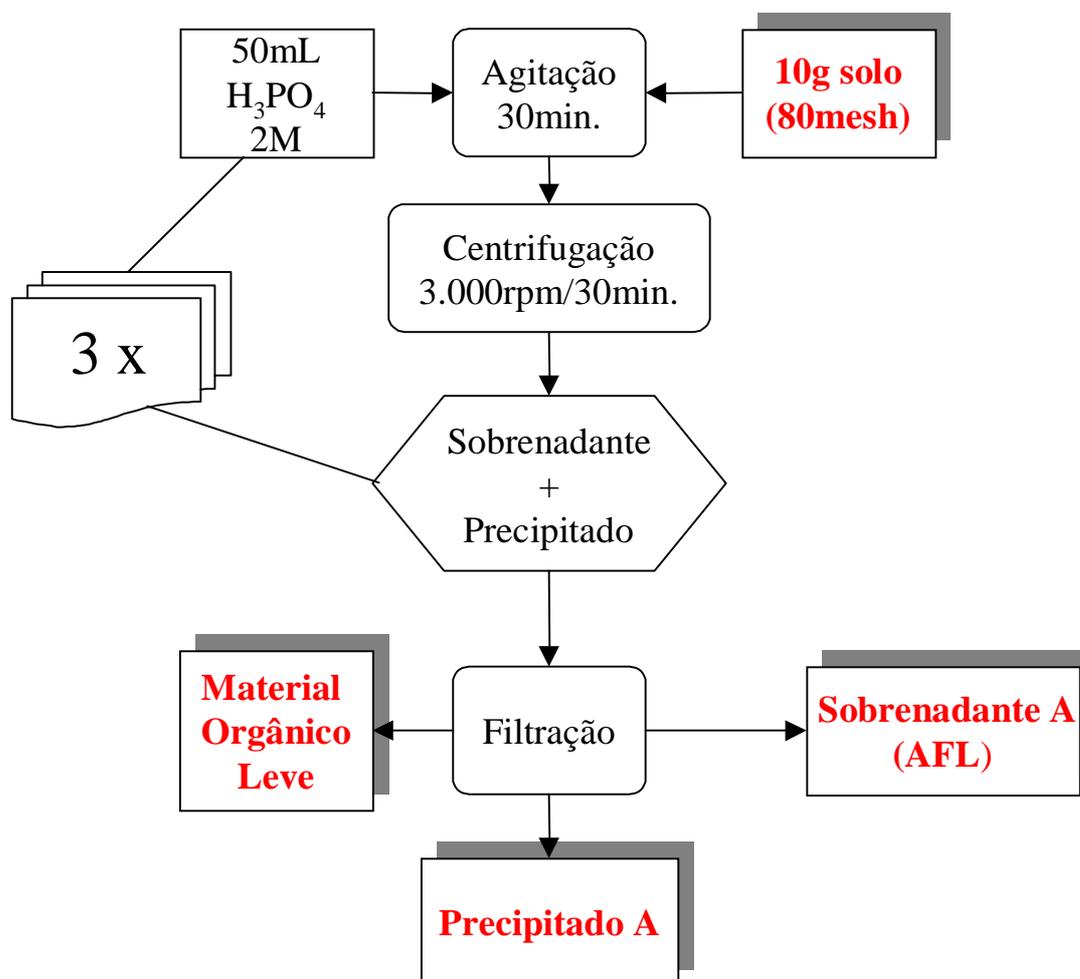


Diagrama 1. Extração Ácida :obtenção das frações Ácido Fúlvico Livre (AFL) e de Material Orgânico Leve.

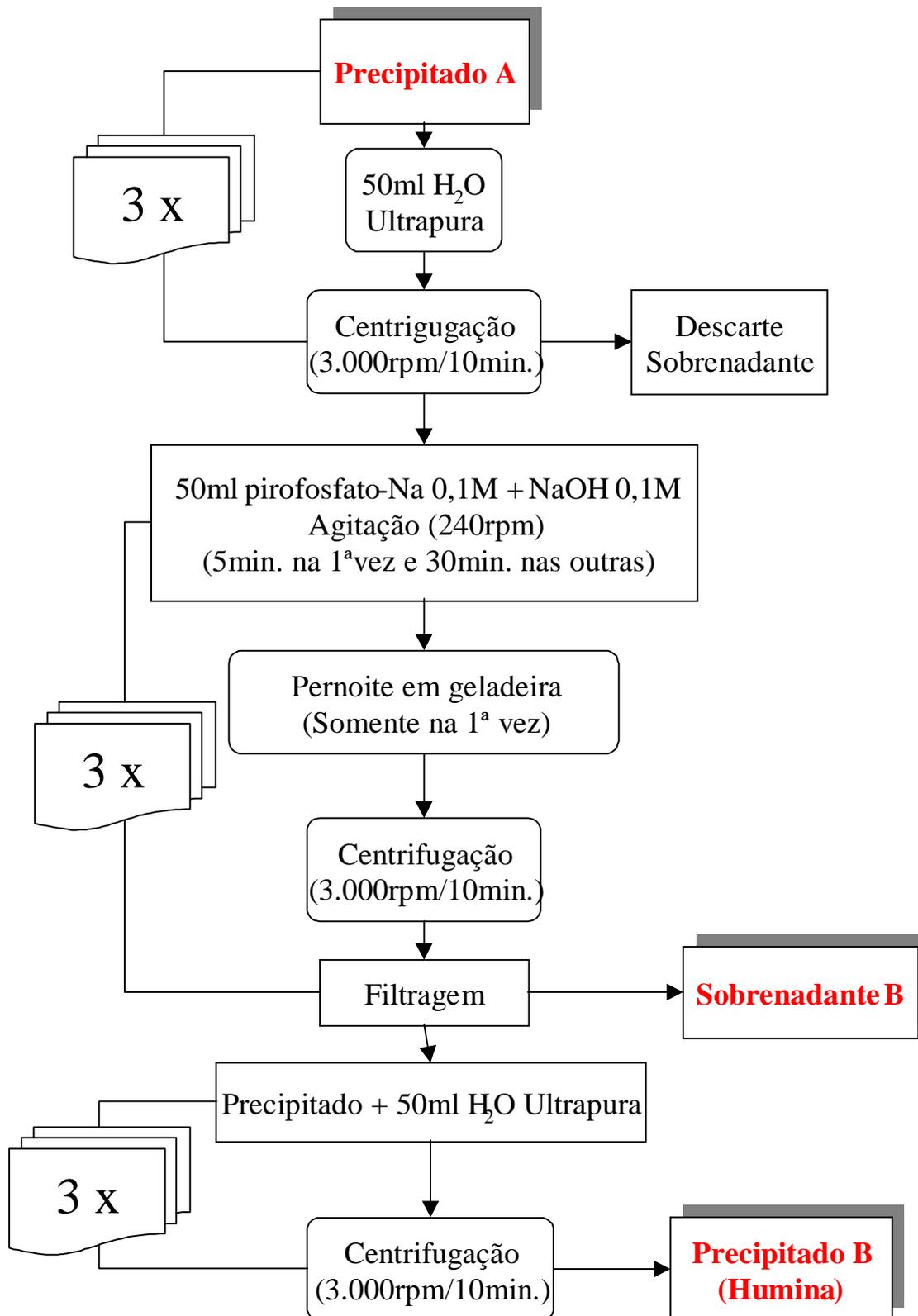


Diagrama 2. Extração Alcalina: separação da fração Humina

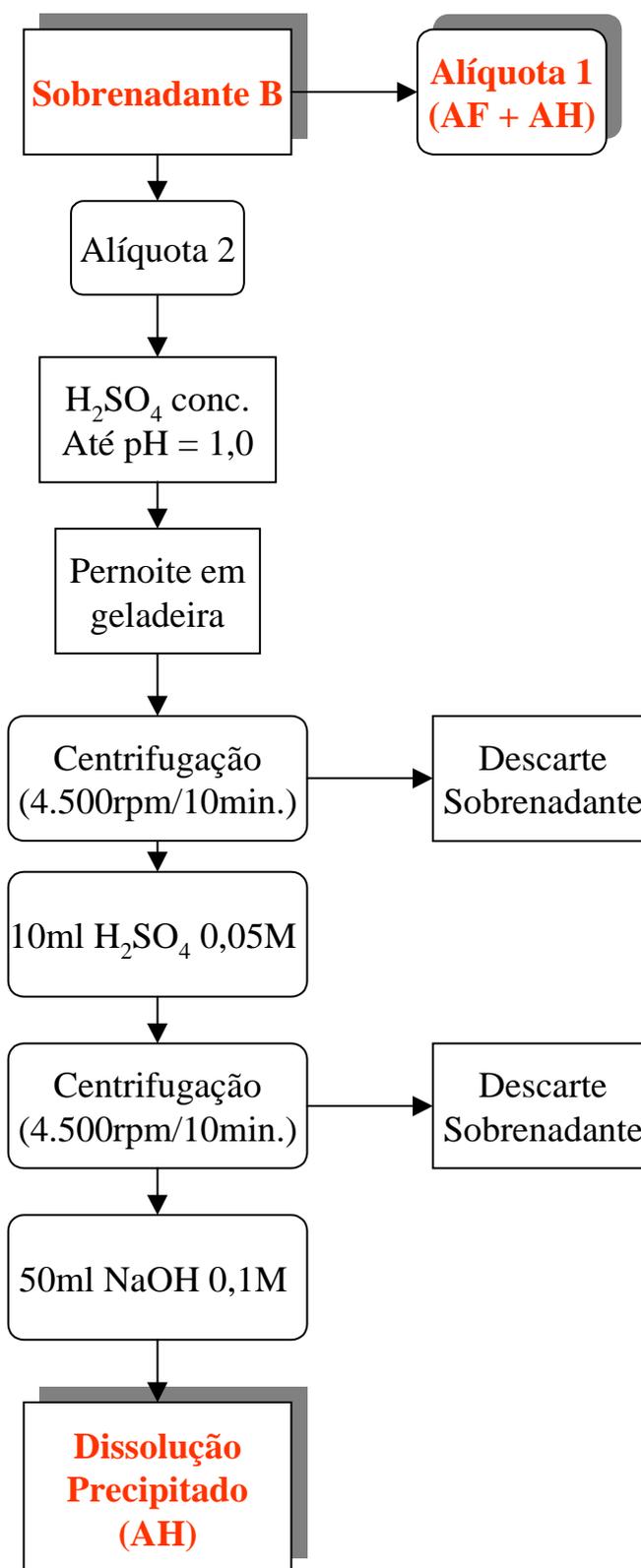


Diagrama 3. Extração Alcalina: obtenção das frações Ácido Húmico (AH) e Ácido Fúlvico (AF)

6.4 – Anexo 4: Esquema de extração sequencial adotado (Wasserman et al., 2001).

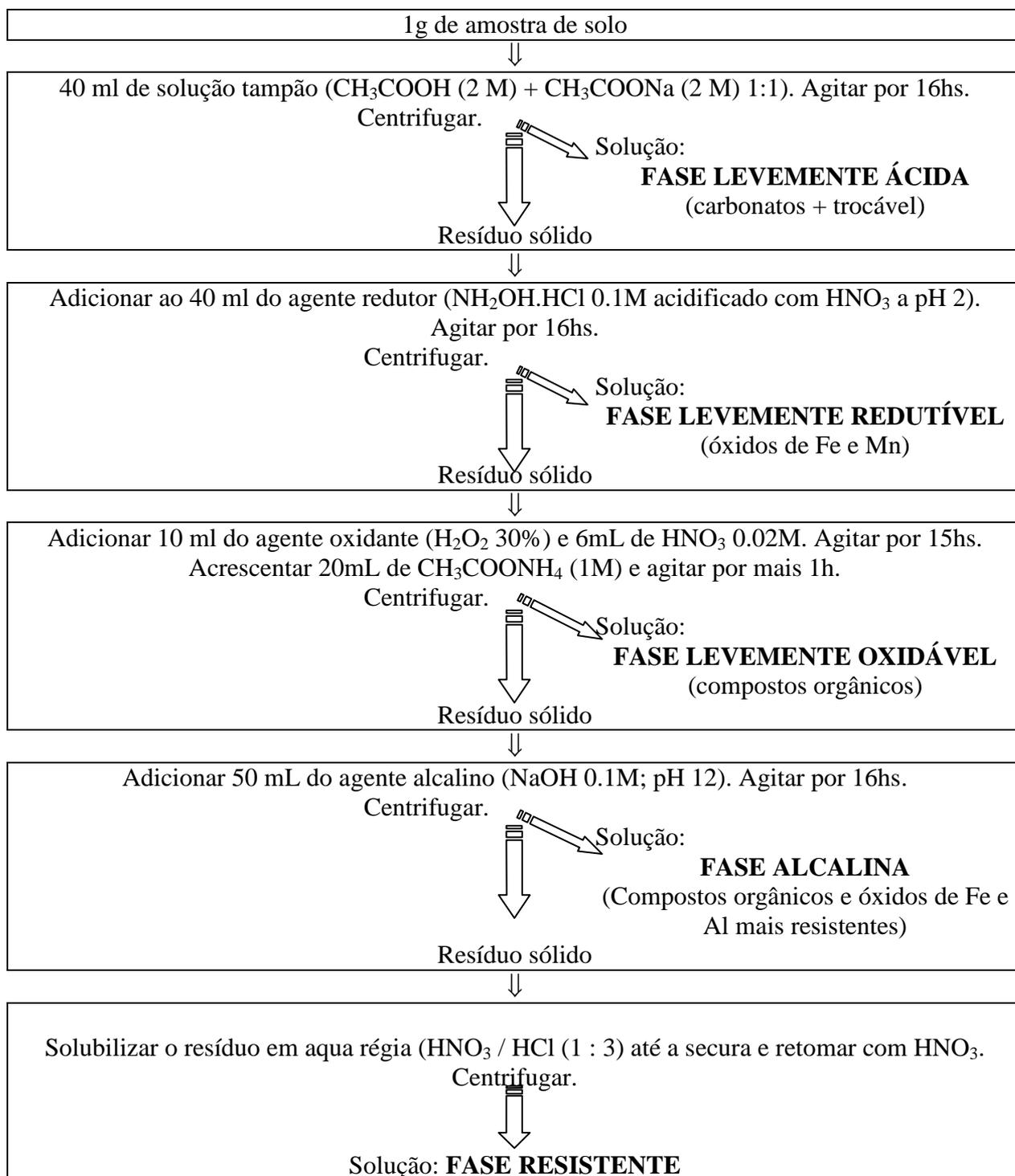


Diagrama 1. Esquema de extração sequencial adotado (Wasserman et al., 2001).

6.5 - Anexo 5: Tabelas de saída do programa Geochem-PC.

GEOCHEM-PC

Version 2.0

Input data file used: c:\geochem\4ngmm.dat
 Output data file (this file): c:\geochem\4ngmm.out
 Thermodynamic data file used: c:\geochem\geodat-a.lig

These computations involve 8 metals, 14 ligands, 143 complexes, and 16 possible solids.

Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated)
 Ionic strength will be computed for each case.

1 different cases are considered.

THE CONDITIONS FOR THE DIFFERENT CASES ARE:

METAL	CODE #	GUESS	Case 1
Ca	1	2.650	2.640
Mg	2	2.640	2.630
Mn +2	8	5.950	5.960
Fe +3	6	4.740	4.750
Al	20	4.640	5.650
Na	5	3.560	3.570
K	4	2.960	2.950

LIGAND	CODE #	GUESS	Case 1
CO3	1	2.100	2.000
SO4	2	3.070	3.060
Cl	3	3.480	3.470
NO3	57	2.120	2.110
Arg	33	5.180	5.170
BES	61	4.960	4.950
Citr	17	4.830	4.820
Lys	35	5.030	5.040
Malea	60	4.640	4.650
Orn	34	5.050	5.040
Phth	32	4.660	4.650
Sali	19	4.960	4.950
Val	42	5.030	5.040

Fixed pH 6.360
 CO2 pressure 3.500

Simple solid phases are allowed, but not imposed.

Max. iterations = 50 Convergence criterion = 1.000E-04

\$

Thermochemical Data in Use

For open-system CO2 computations, PCO2CA is: 18.15

\$

CASE NUMBER 1

Number of Iterations = 21
 Solid Fe +3 OH- (number 1) precipitates...
 Number of Iterations = 26

Number of Iterations = 30

Number of Iterations = 33

***** Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMEBER 1

Ionic Strength = 1.503E-02 (computed)

Fixed pH = 6.360

pCO2= 3.162E-04

	-log Tot. Tot. Conc	Free Conc	-log Free Activity	Activity	-log Free Free Conc	Conc	Remainder
Ca	2.291E-03	2.640	1.326E-03	2.877	2.172E-03	2.663	-7.462E-11
Mg	2.344E-03	2.630	1.373E-03	2.862	2.248E-03	2.648	9.547E-11
Mn	1.096E-06	5.960	6.308E-07	6.200	1.033E-06	5.986	3.634E-14
Fe	1.778E-05	4.750	2.622E-16	15.581	7.956E-16	15.099	0.000E+00
Al	2.239E-06	5.650	5.061E-12	11.296	1.536E-11	10.814	-2.041E-12
Na	2.692E-04	3.570	2.373E-04	3.625	2.685E-04	3.571	9.099E-13
K	1.122E-03	2.950	9.885E-04	3.005	1.118E-03	2.951	4.247E-11
CO3	1.000E-02	2.000	1.171E-09	8.931	1.918E-09	8.717	0.000E+00
SO4	8.710E-04	3.060	4.091E-04	3.388	6.701E-04	3.174	-1.780E-11
Cl	3.388E-04	3.470	2.990E-04	3.524	3.382E-04	3.471	8.363E-12
NO3	7.762E-03	2.110	6.862E-03	2.164	7.762E-03	2.110	-8.538E-11
Arg	6.761E-06	5.170	1.551E-08	7.810	1.754E-08	7.756	-1.336E-13
BES	1.122E-05	4.950	9.167E-06	5.038	1.037E-05	4.984	2.161E-13
Citr	1.514E-05	4.820	6.812E-08	7.167	2.067E-07	6.685	-8.717E-12
Lys	9.120E-06	5.040	1.068E-12	11.971	1.208E-12	11.918	-3.470E-12
Malea	2.239E-05	4.650	7.547E-06	5.122	1.236E-05	4.908	7.183E-12
Orn	9.120E-06	5.040	1.337E-12	11.874	1.512E-12	11.820	-1.701E-11
Phth	2.239E-05	4.650	1.147E-05	4.940	1.879E-05	4.726	-3.535E-12
Sali	1.122E-05	4.950	4.473E-13	12.349	7.326E-13	12.135	-5.794E-12
Val	9.120E-06	5.040	4.194E-09	8.377	4.744E-09	8.324	4.918E-12

Solid	Number	mol/L of solution
Fe +3 OH-	1	1.715E-05
H+ CO3	1	9.976E-03

The solution contains 1.025E-02 equivalents per liter of cationic species, -9.566E-03 eq/L of anionic species, and thus has a computed net charge of 6.835E-04 eq/L. This represents an error equal to 6.67 percent of the total charge of cationic species in solution.

The computed alkalinity for this solution is 1.248E-05 eq per L.

The total dissolved inorganic carbon (Ct) remaining in this solution is 2.390E-05 mol per L.

***** Table 1-C. OVERALL SPECIATION OF IONS FOR CASE NUMBER 1 *****

CONCENTRATIONS OF FREE METAL, FREE LIGAND, AND TOTAL MOL/L OF METAL COMPLEXED BY EACH LIGAND

	FREE MET	CO3	SO4	Cl	NO3	Arg
FREE LIG		8.72	3.17	3.47	2.11	7.76
Ca	2.66	6.61	3.97	7.34	9.78	8.03
Mg	2.65	6.70	4.05	6.36	7.29	8.01
Mn +2	5.99	9.32	7.29	9.07	*****	10.95
Fe +3	15.10	*****	14.71	17.39	16.53	13.88
Al	10.81	*****	11.11	*****	17.68	11.35
Na	3.57	8.31	6.25	7.14	*****	*****
K	2.95	14.66	5.44	7.23	*****	*****
H+	6.31	4.46	7.69	18.29	9.93	5.17

	Phth	Sali	Val	OH-	BES	Citr
FREE LIG	4.73	12.14	8.32	7.59	4.98	6.68
Ca	5.82	7.43	*****	9.17	6.56	5.18
Mg	6.20	*****	*****	7.95	6.24	5.27
Mn +2	8.44	2.65	11.22	10.79	9.68	8.31
Fe +3	12.17	10.46	11.64	8.47	18.90	6.20
Al	11.66	10.69	*****	8.17	14.42	5.65
Na	7.81	*****	*****	11.46	*****	9.28
K	*****	*****	*****	11.15	*****	8.76
H+	5.84	4.95	5.04	*****	10.70	6.96

* Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1
**

Ca	94.80 % as a free metal	CO3	.23 % complexed with H+
	.01 % complexed with CO3		99.76 % in solid form with H+
	4.71 % complexed with SO4	SO4	76.94 % as a free ligand
	.01 % complexed with BES		12.39 % complexed with Ca
	.29 % complexed with Citr		10.19 % complexed with Mg
	.11 % complexed with Malea		.06 % complexed with Na
	.07 % complexed with Phth		.42 % complexed with K

Mg	95.90 % as a free metal	Cl	99.82 % as a free ligand
	3.78 % complexed with SO4		.01 % complexed with Ca
	.02 % complexed with Cl		.13 % complexed with Mg
	.02 % complexed with BES		.02 % complexed with Na
	.23 % complexed with Citr		.02 % complexed with K
	.03 % complexed with Phth		
Mn +2	94.22 % as a free metal	NO3	100.00 % as a free ligand
	.04 % complexed with CO3	Arg	.26 % as a free ligand
	4.68 % complexed with SO4		.14 % complexed with Ca
	.08 % complexed with Cl		.14 % complexed with Mg
	.02 % complexed with BES		99.46 % complexed with H+
	.45 % complexed with Citr	BES	92.43 % as a free ligand
	.17 % complexed with Malea		2.47 % complexed with Ca
	.33 % complexed with Phth		5.10 % complexed with Mg
Fe +3	3.52 % complexed with Citr	Citr	1.37 % as a free ligand
	.02 % complexed with OH-		43.39 % complexed with Ca
	96.46 % in solid form with OH-		35.59 % complexed with Mg
Al	99.70 % complexed with Citr		.03 % complexed with Mn +2
	.30 % complexed with OH-		4.13 % complexed with Fe +3
Na	99.76 % as a free metal		14.75 % complexed with Al
	.21 % complexed with SO4		.01 % complexed with K
	.03 % complexed with Cl		.72 % complexed with H+
K	99.67 % as a free metal	Lys	100.00 % complexed with H+
	.33 % complexed with SO4		
		Malea	55.21 % as a free ligand
			11.19 % complexed with Ca
			.05 % complexed with Na
			33.54 % complexed with H+
		Orn	.17 % complexed with Ca
			.18 % complexed with Mg
			99.65 % complexed with H+

Phth

83.93 % as a free ligand
6.77 % complexed with Ca
2.79 % complexed with Mg
.02 % complexed with Mn +2
.07 % complexed with Na
6.42 % complexed with H+

Sali

.33 % complexed with Ca
99.67 % complexed with H+

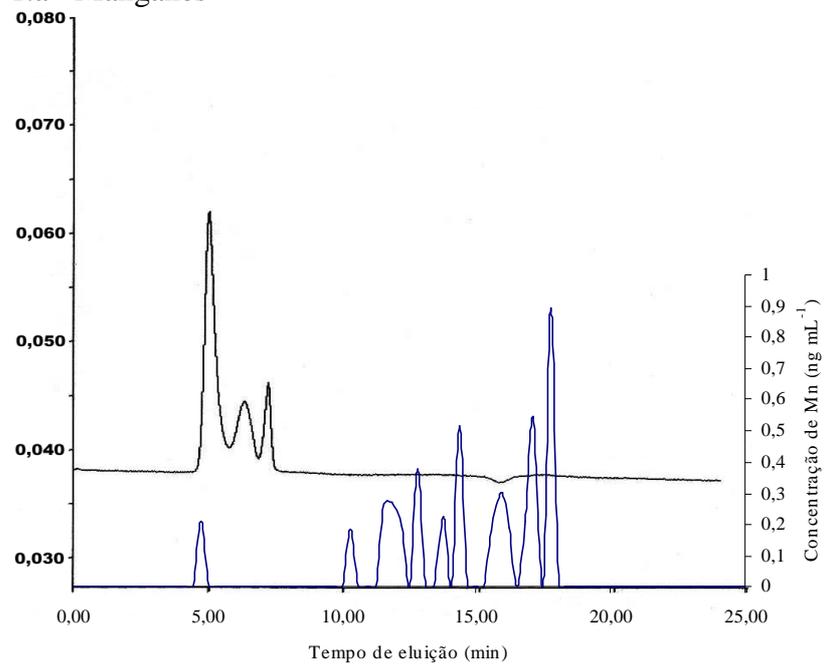
Val

.05 % as a free ligand
99.95 % complexed with H+

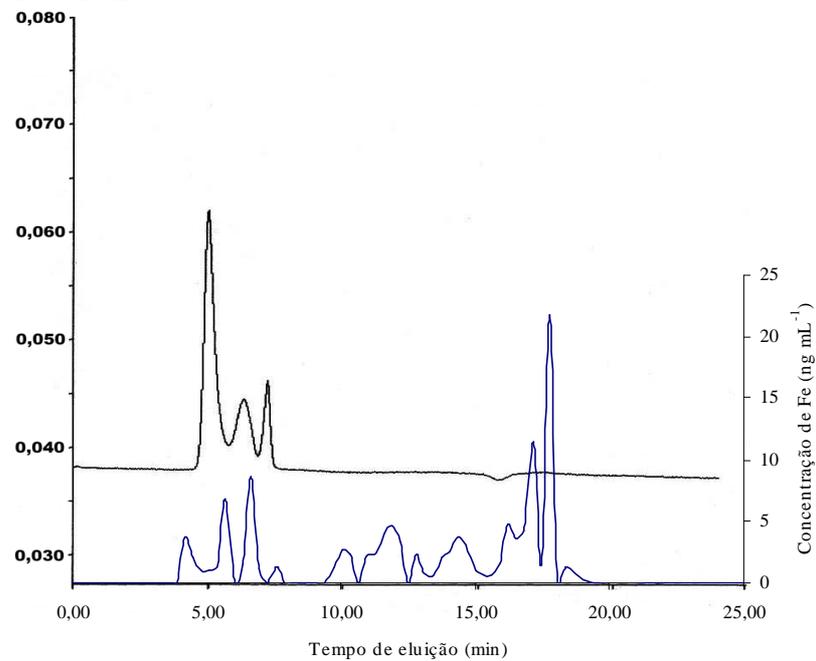
6.6 - Anexo 6: Gráficos compostos pelos cromatogramas de absorvância em DAD e pela determinação, por GFAAS, de Al, Fe e Mn nas frações eluídas das amostras de solução de solo analisadas.

1) Amostra Pasto; tratamento: "in natura" (24 h); eluente: água; fluxo: 1 mL min^{-1} ; alça = $100 \mu\text{L}$.

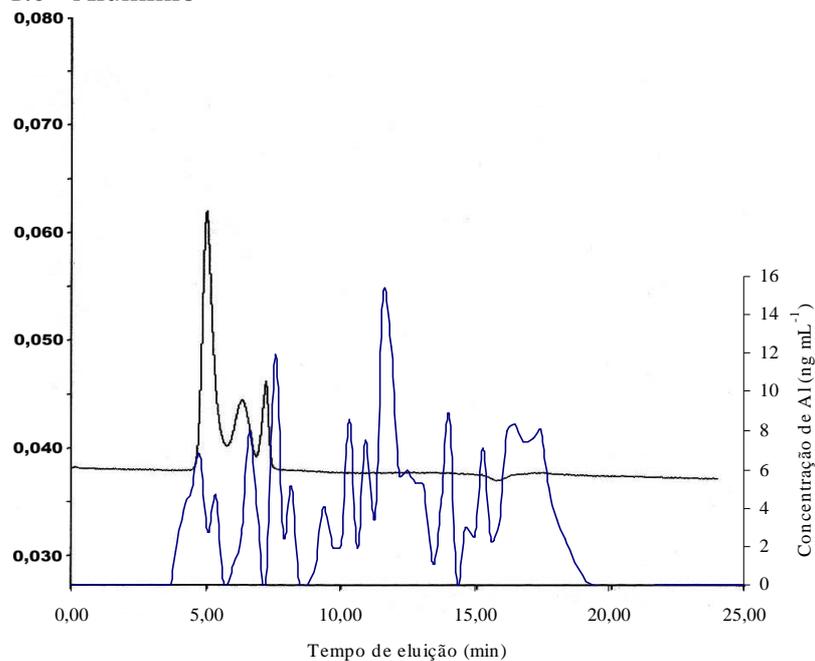
1.a - Manganês



1.b - Ferro



1.c - Alumínio



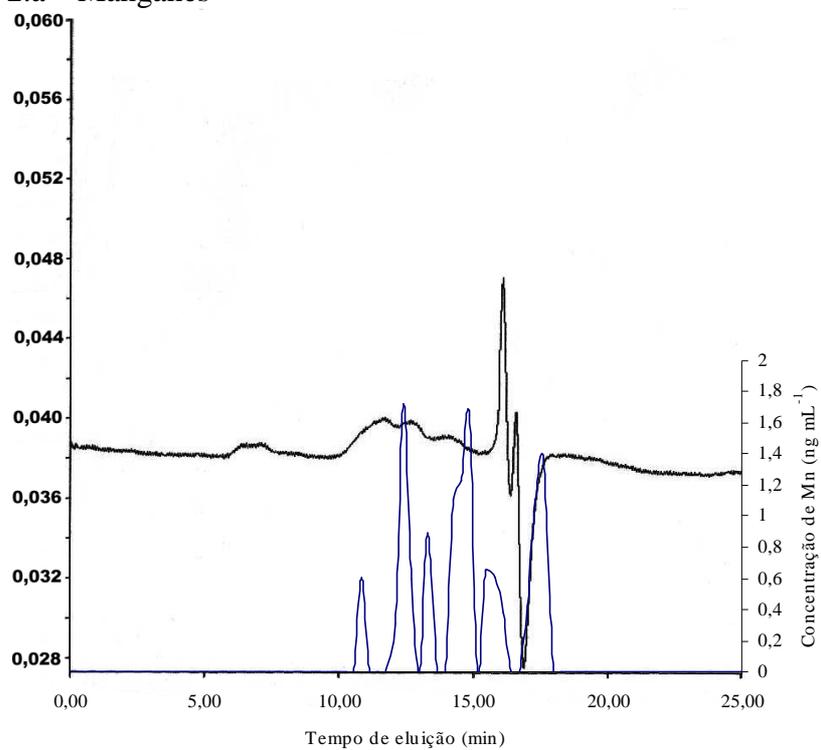
1.d – Tabela sintética dos resultados

Ve (mL) mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn	Fe ----- % -----	Al
5,01	63119	254	3390112	4	9	12,5
6,32	38162	253	1385804	--	9	7
7,20	27195	211	1046520	--	1	8,5
12,32	3788	355	691104	4	3	3
17,26	564	340	799616	12	10	4
Total			7313156	20	32	35

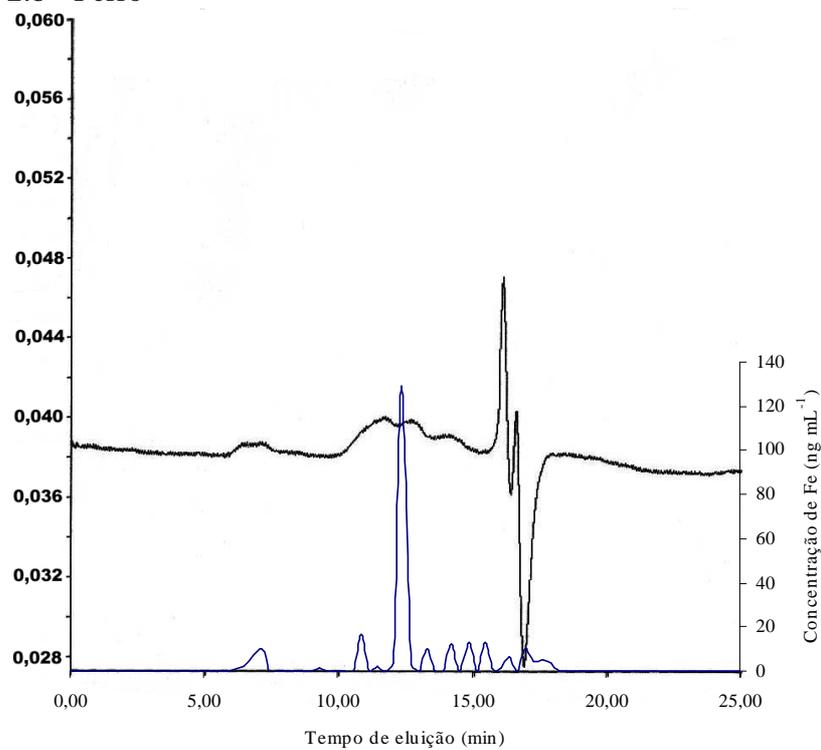
1. Massa molecular

2) Amostra Pasto; tratamento: "in natura" (24 h); eluente: NaCl 0,01 mol L⁻¹; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100μL.

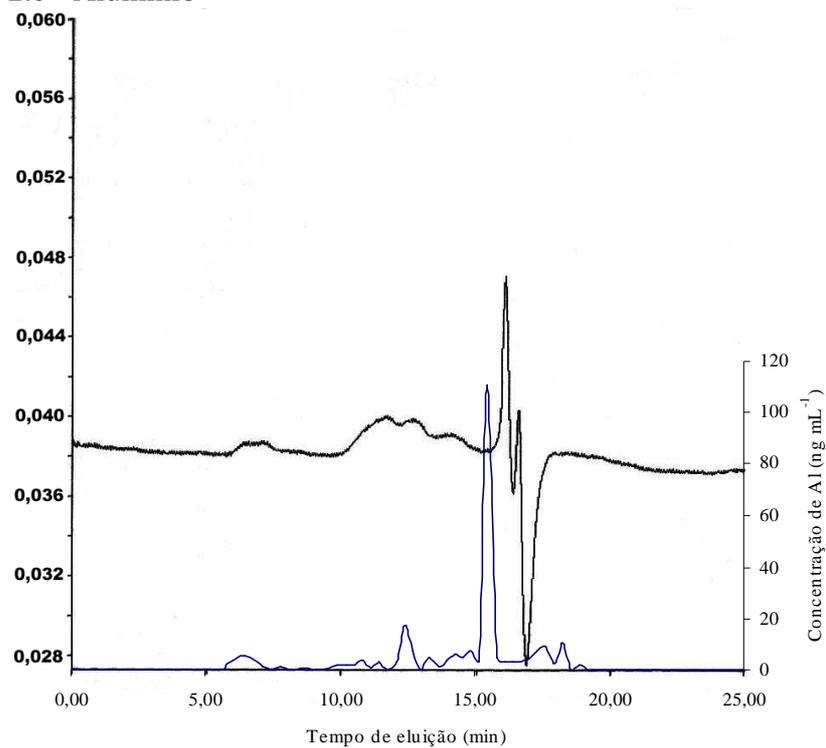
2.a – Manganês



2.b - Ferro



2.c - Alumínio



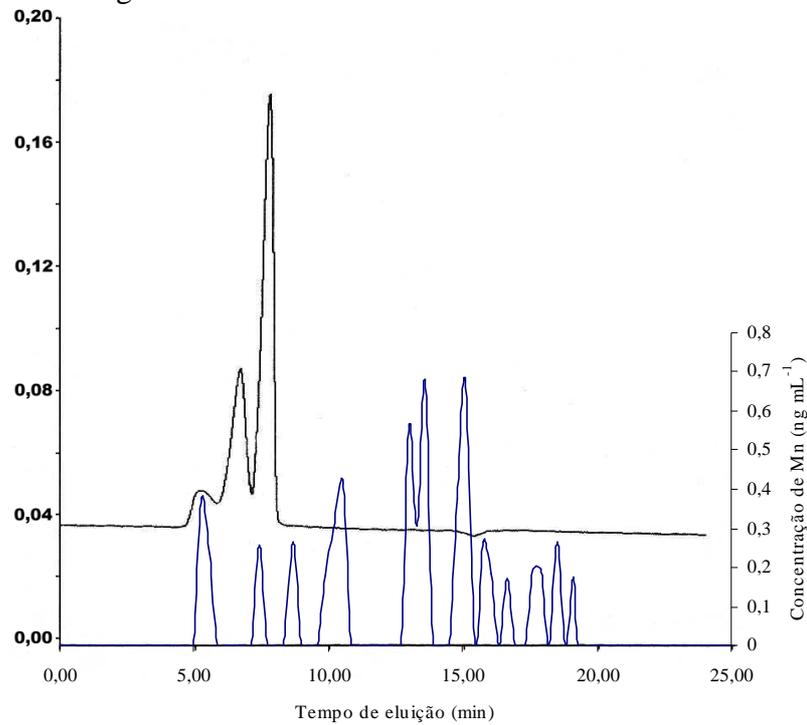
2.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe ----- % -----	Al ----- % -----
7,01	116520	332	2489036	--	7	7
11,68	16384	225	4637492	4,5	7	5
12,65	10917	228	3067850	28	58	11
14,00	6186	231	4602645	31,5	10	12
16,07	2598	211	3906405	} 35	16	56
16,56	2112	211	1100246			
Total			19803674	99	98	91

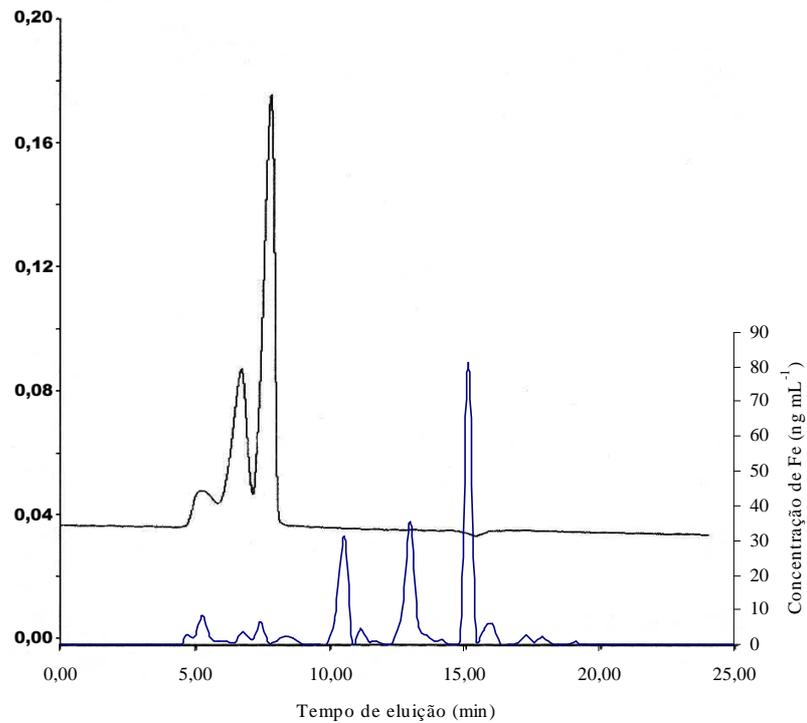
1. Massa molecular

3) Amostra Milho; Tratamento: "in natura" (24 h); eluente: água; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100µL.

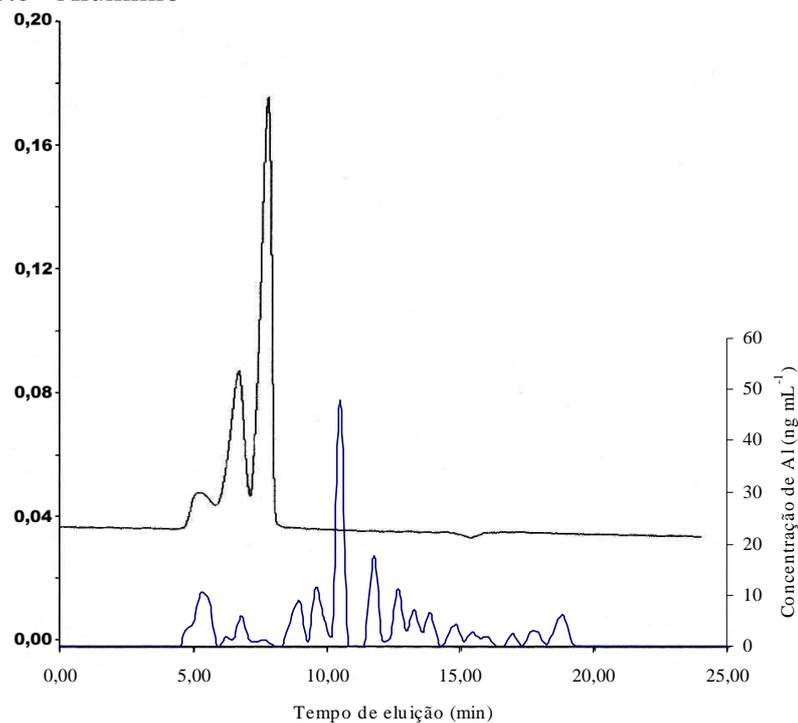
3.a - Manganês



3.b - Ferro



3.c - Alumínio



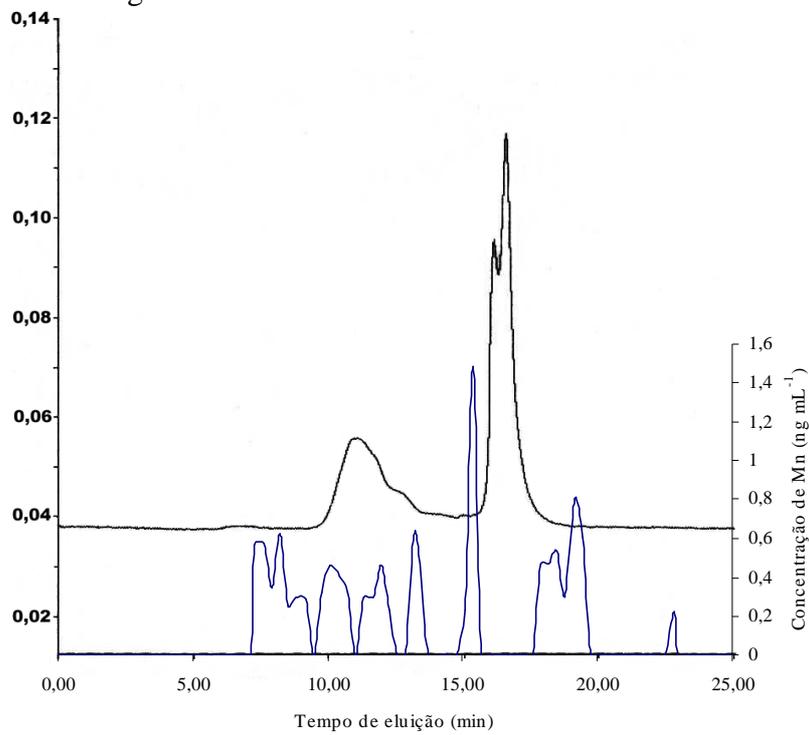
3.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn -----	Fe ----- % -----	Al
5,25	57548	254	3024649	10	7	14
6,69	33057	253	10374075	4	2	4
7,77	21811	329	19975340	5	5	4
17,18	583	221	2267664	3	1	1
Total			35641728	22	15	23

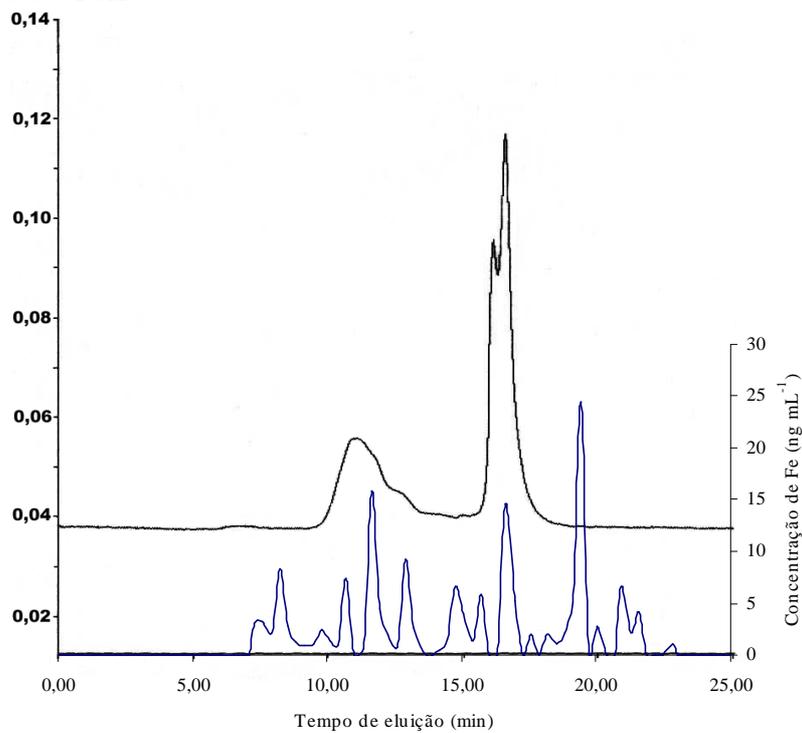
1. Massa molecular

4) Amostra Milho; Tratamento: "in natura" (24 h); eluente: NaCl 0,01 mol L⁻¹; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100μL.

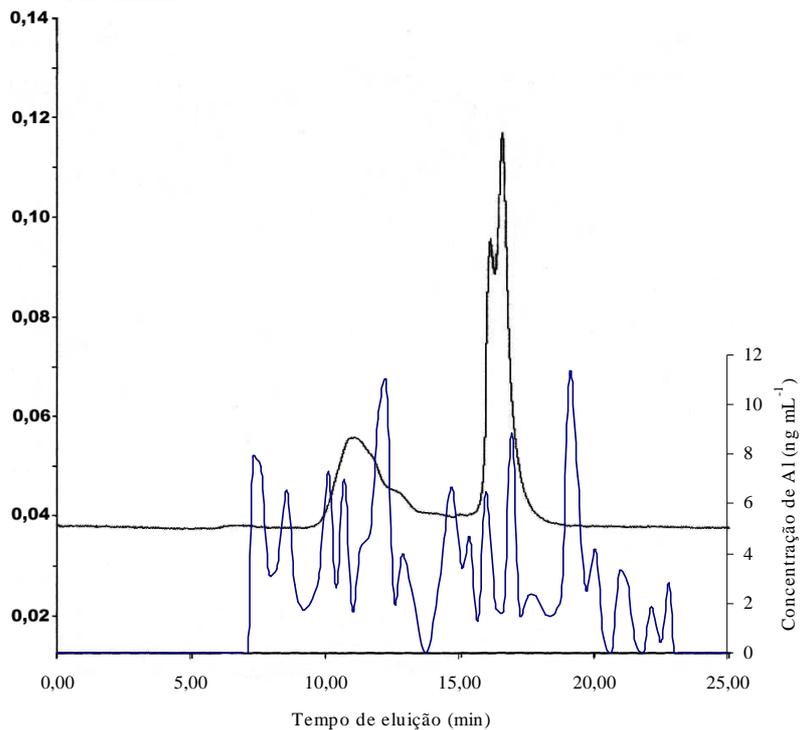
4.a - Manganês



4.b – Ferro



4.c - Alumínio



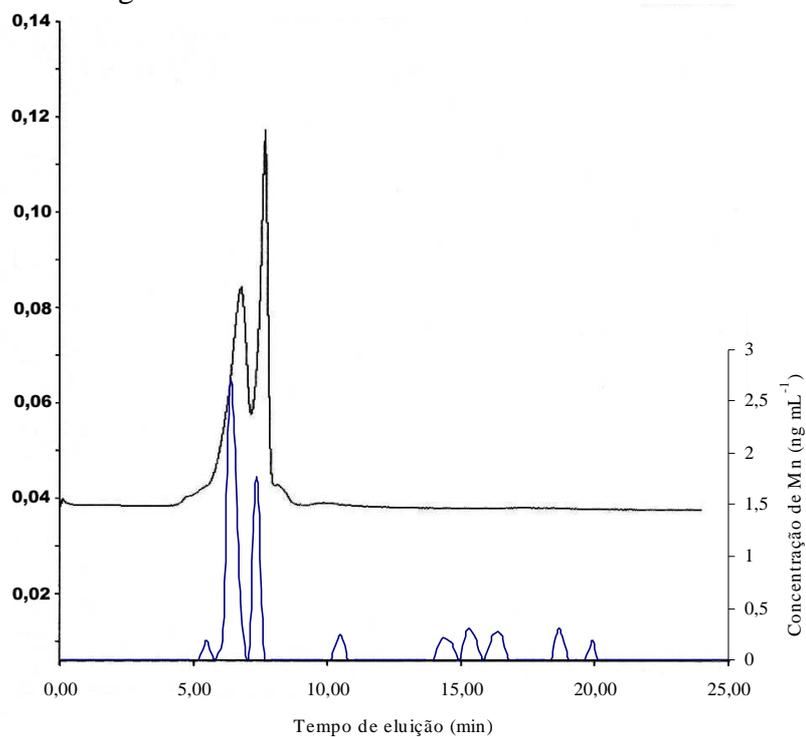
4.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn	Fe %	Al
6,97	118494	257	574720	10	4	8
10,96	22222	328	13016432	30	29	32
14,94	4169	218	446499	14	8	11
16,10	2562	211	6717782	13	19	15
16,55	2121	211	14805404			
Total			35560837	67	27	66

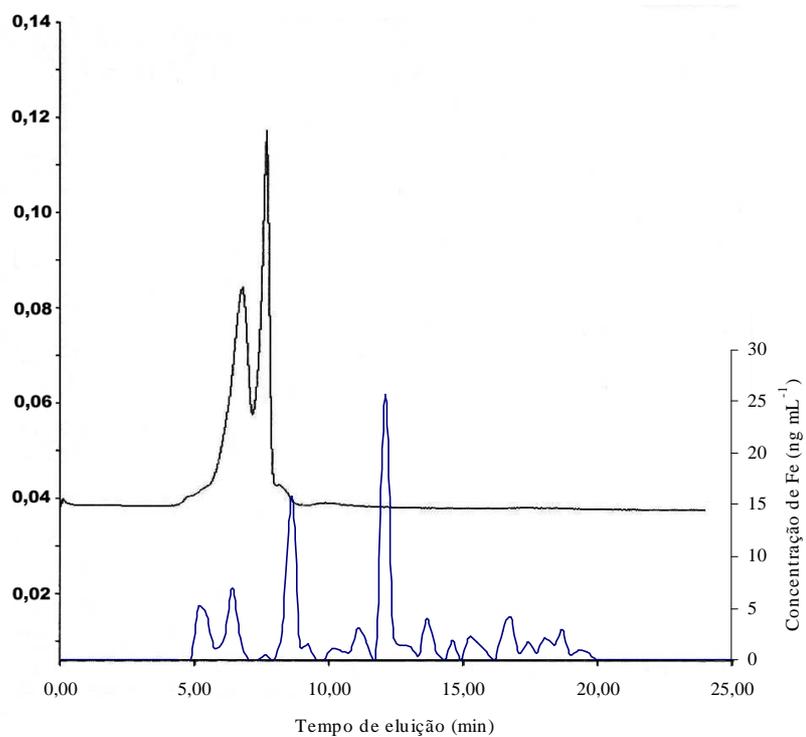
1. Massa molecular

5) Amostra Milho; tratamento: refrigerado (4°C) por 15 dias; eluente: água; fluxo: 1 mLmin⁻¹; alça = 100μL.

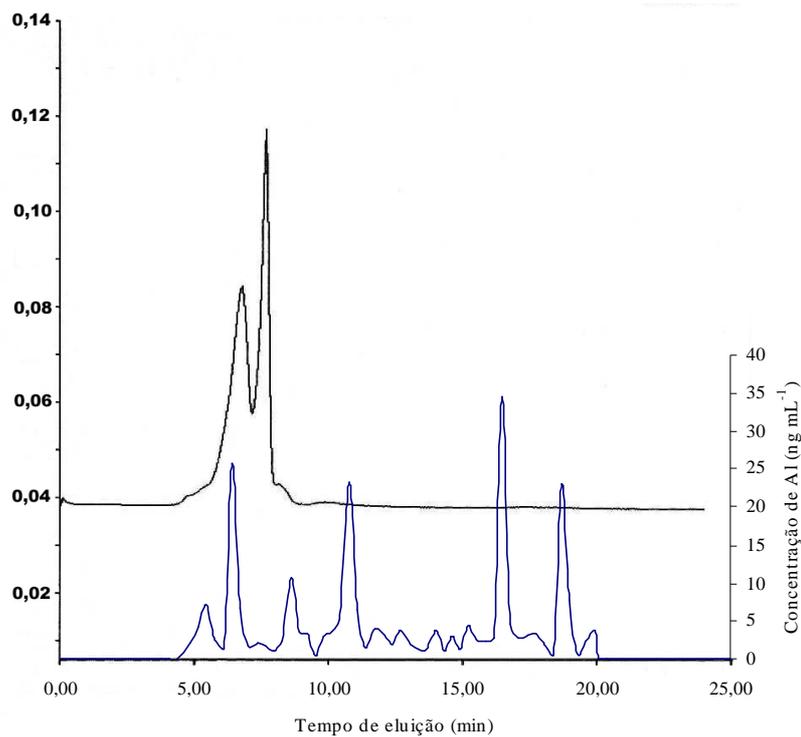
5.a - Manganês



5.b - Ferro



5.c- Alumínio



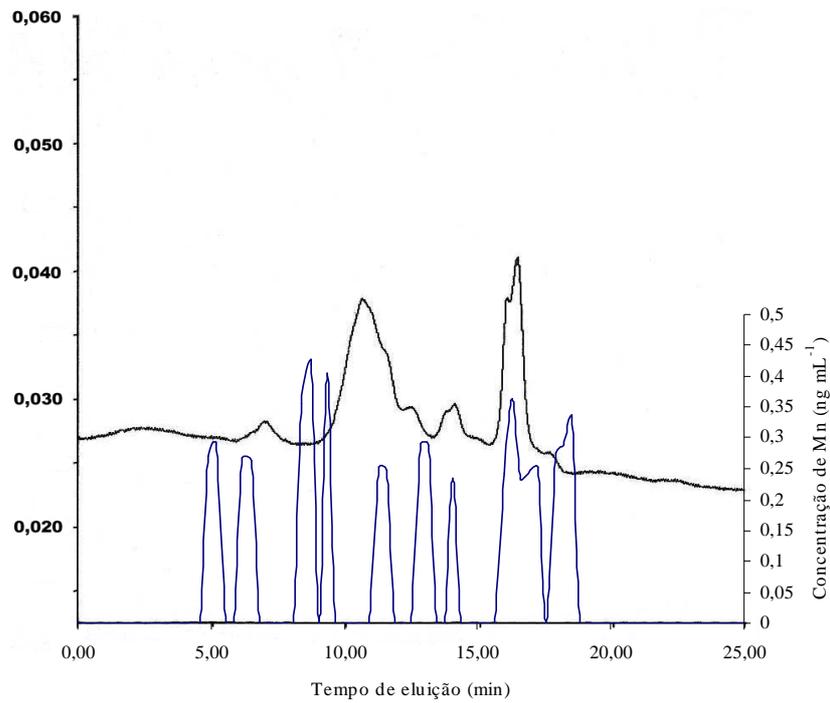
5.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe ----- % -----	Al ----- % -----
6,77	32017	259	12083052	48	19	21
7,66	22729	259	9839380	24	18	8
9,87	9729	211	418000	3	4	16
17,27	563	235	147952	--	1,5	1
Total			22488384	75	42,5	46

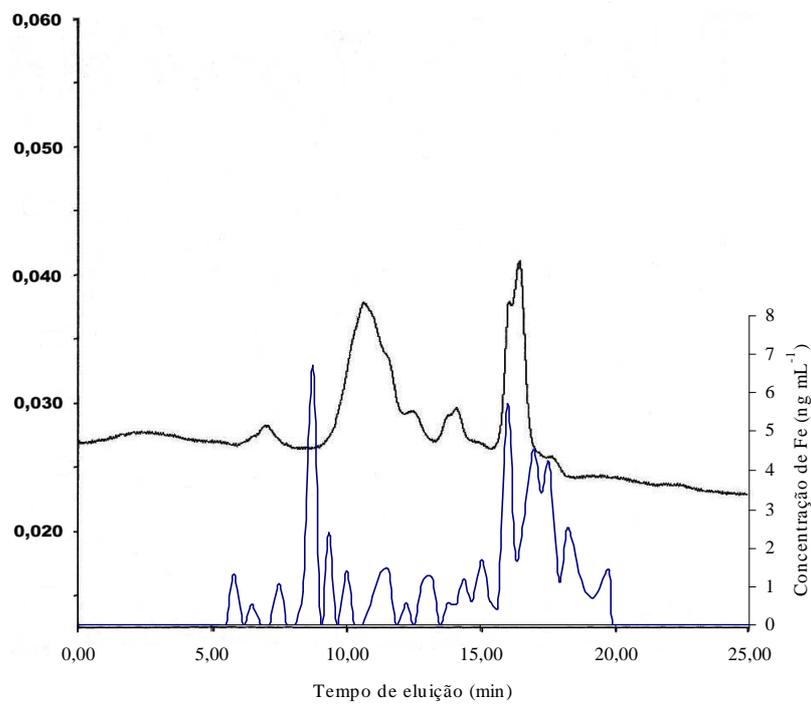
1. Massa molecular

6) Amostra Milho; tratamento: refrigerado (4°C) por 15 dias; eluente: NaCl 0,01 mol L⁻¹; fluxo: 1 mLmin⁻¹; alça = 100µL.

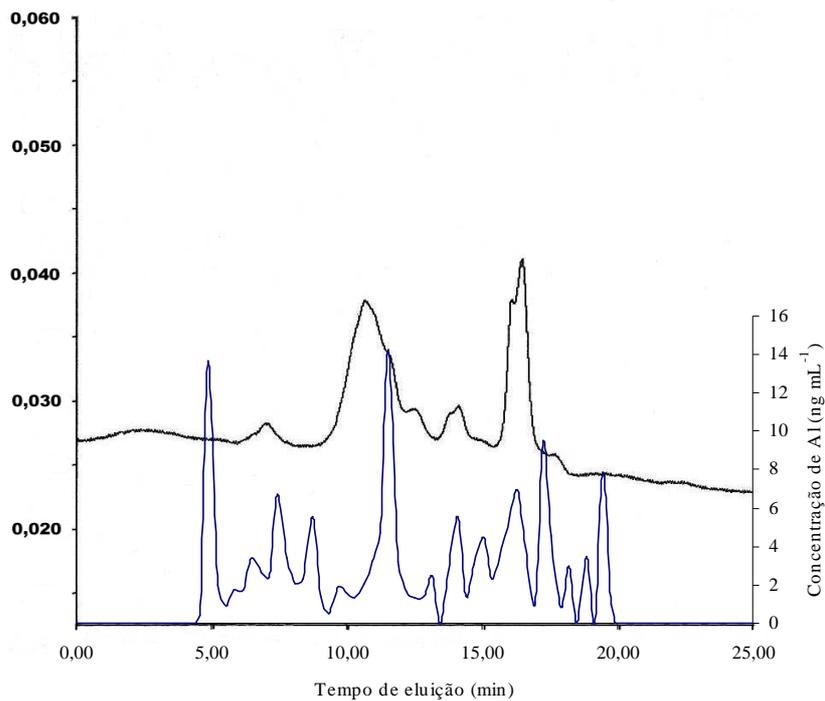
6.a - Manganês



6.b - Ferro



6.c - Alumínio



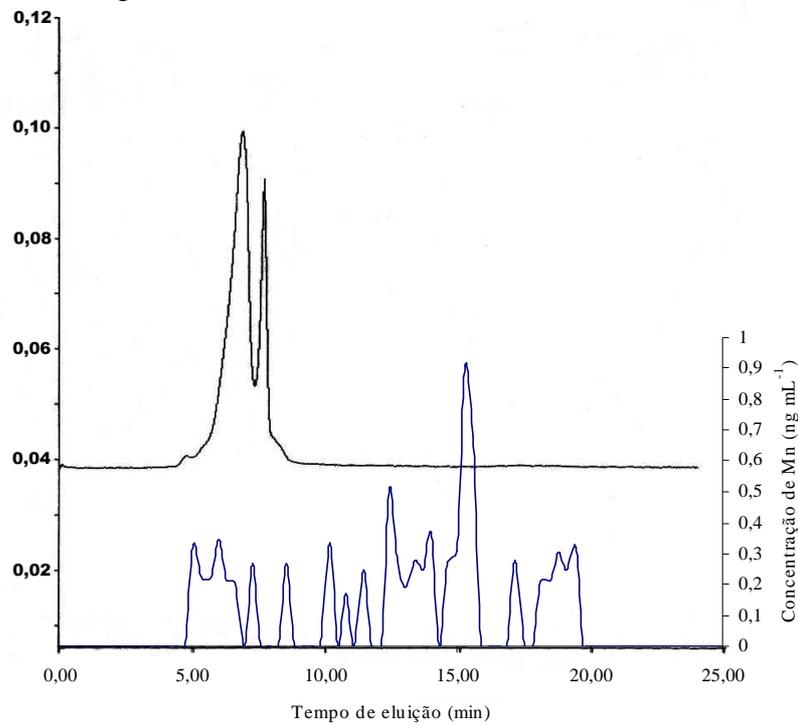
6.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn	Fe %	Al
7,00	117158	364	1076302	22	18	20
10,59	25891	215	6926094	14	12	21
12,44	11908	220	1205433	9	5	3
14,00	6186	217	1910218	4	10	12
16,03	2642	211	1694617	39	48	24
16,40	2264	211	3062636			
19,42	636	351	325368		7	7
Total			16200668	88	100	87

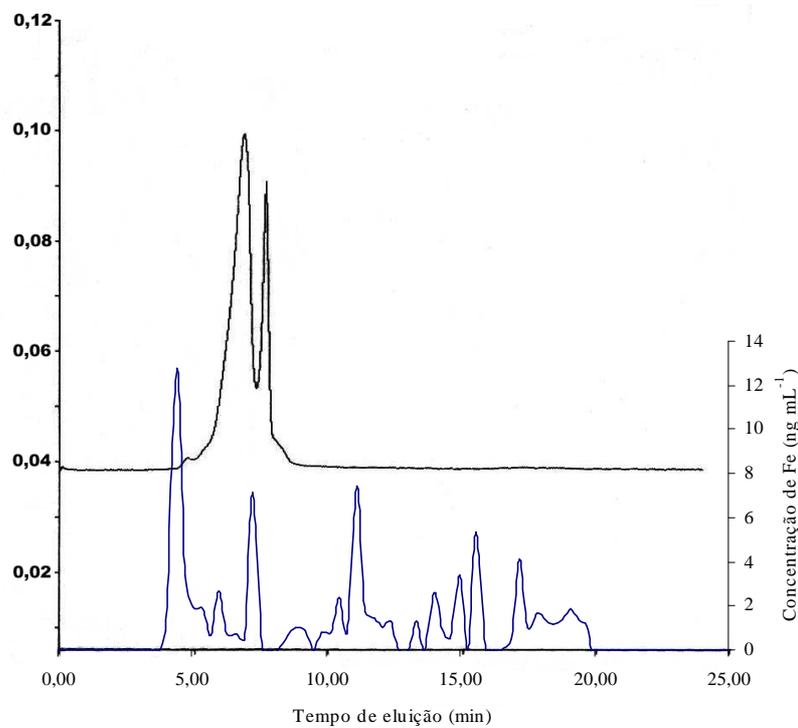
1. Massa molecular

7) Amostra Milho; tratamento: reumidecido à umidade de campo e incubado por 24 h ; eluente: água; fluxo: 1 mLmin^{-1} ; alça = $100\mu\text{L}$.

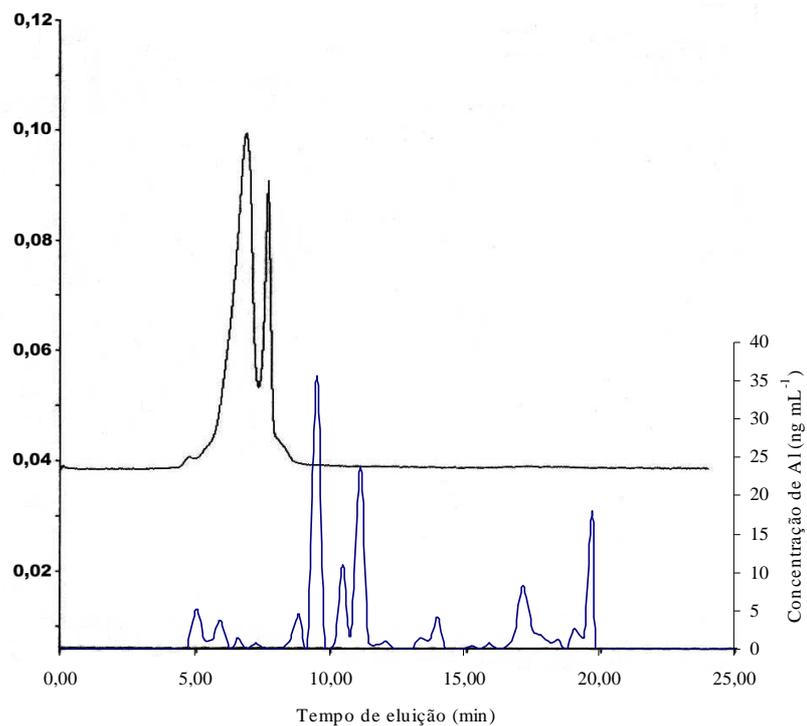
7.a - Manganês



7.b - Ferro



7.c - Alumínio



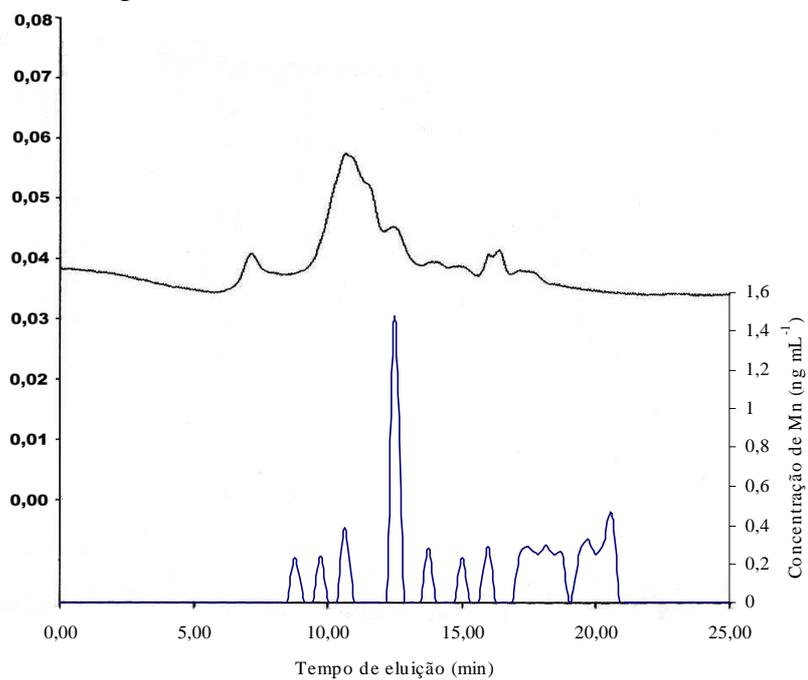
7.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe ----- % -----	Al ----- % -----
4,78	69043	260	222553	6,5	24	4
6,86	30927	258	15901080	15	15	5
7,67	22694	333	5736692	3	3	4
17,29	558	211	193172	3	4	5
Total			22053497	27,5	46	18

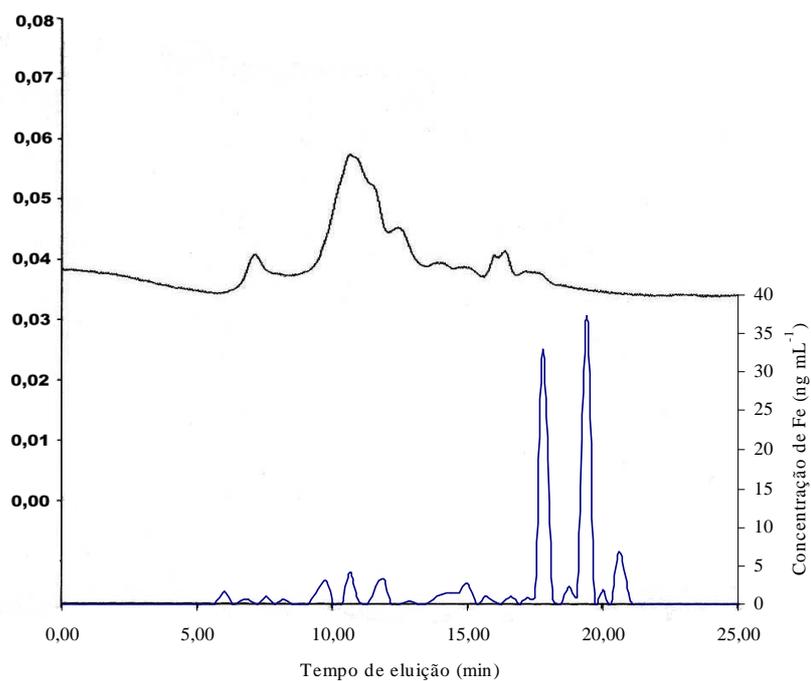
1. Massa molecular

8) Amostra Milho; tratamento: reumidecido à umidade de campo e incubado por 24 h ; eluente: NaCl 0,01 mol L⁻¹; fluxo: 1 mLmin⁻¹; alça = 100μL.

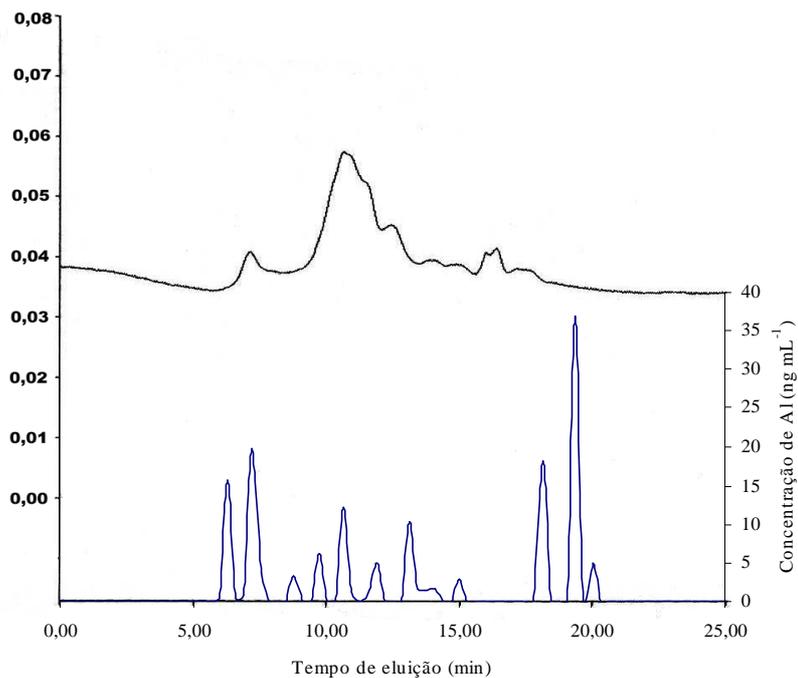
8.a - Manganês



8.b - Ferro



8.d - Alumínio



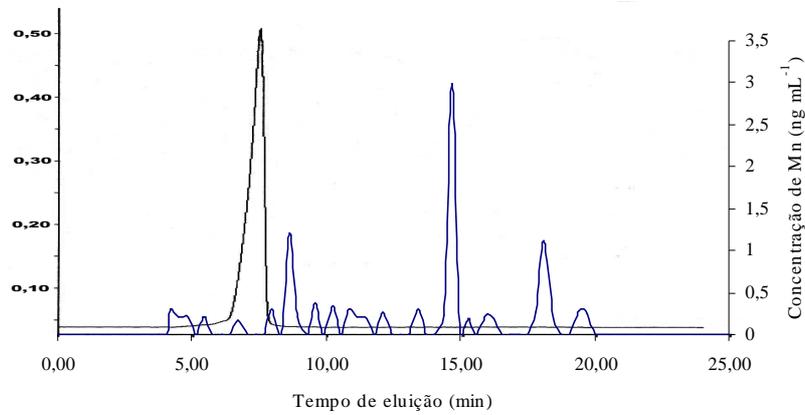
8.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn	Fe %	Al
7,12	111122	211	2158784	4	4	27
10,64	25417	334	13836720	10	13	20
12,38	12212	253	3376590	23	0,5	8
13,84	6633	211	1556636	4	3	2
14,81	4408	211	1304431	4	3	2
15,97	2709	211	878200	5	1	--
16,36	2303	211	1142457			
17,14	1660	237	2233932	18	31	13
Total			26487750	68	55,5	72

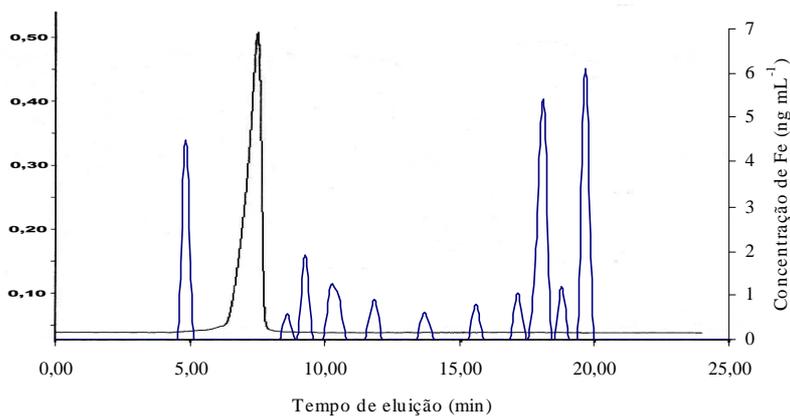
1. Massa molecular

9) Amostra Mata; tratamento: "in natura" (24 h); eluente: água; fluxo: 1 mL min^{-1} ; alça = $100 \mu\text{L}$.

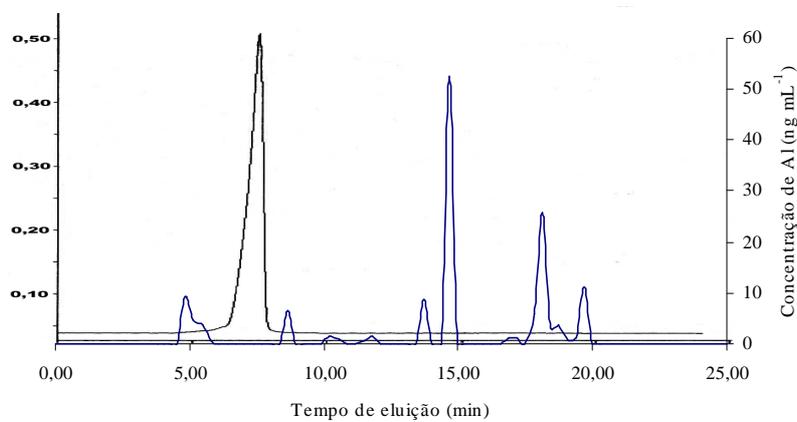
9.a - Manganês



9.b - Ferro



9.c - Alumínio



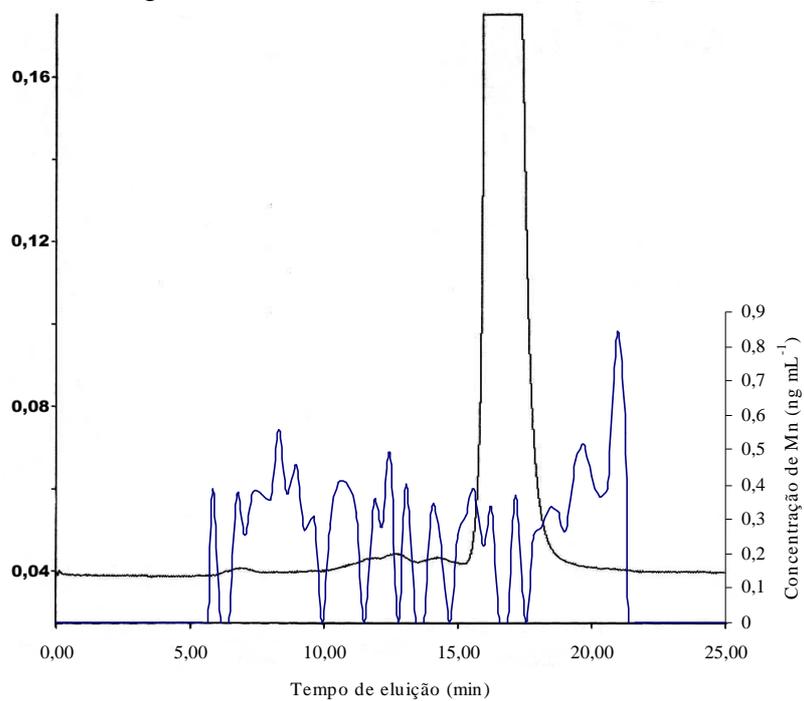
9.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn -----	Fe ----- % -----	Al
7,48	24416	274	89370888	5	--	--
17,28	561	211	311064	--	3	1
		Total	89681952	5	3	1

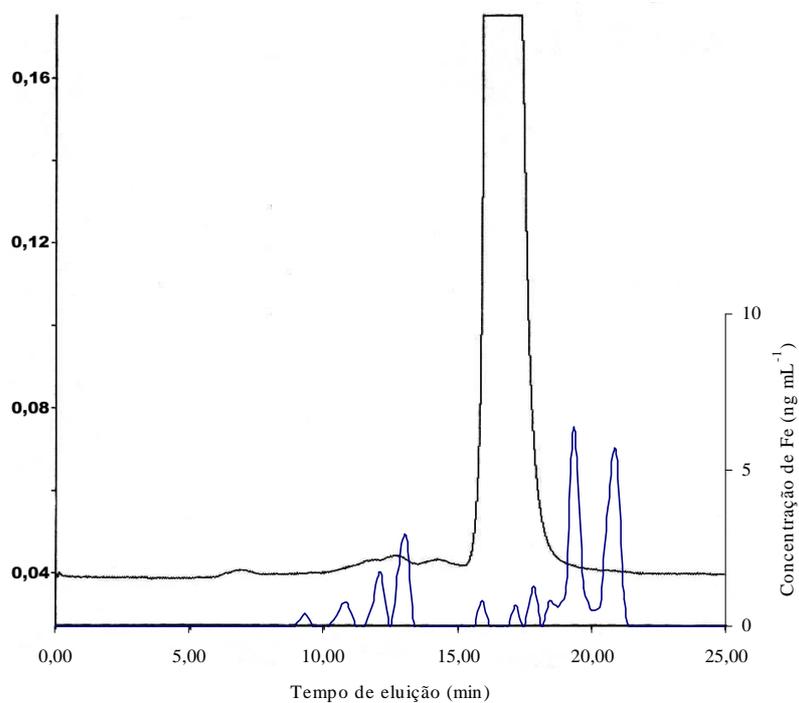
1. Massa molecular

10) Amostra Mata; tratamento: "in natura" (24 h); eluente: NaCl 0,01 mol L⁻¹; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100μL.

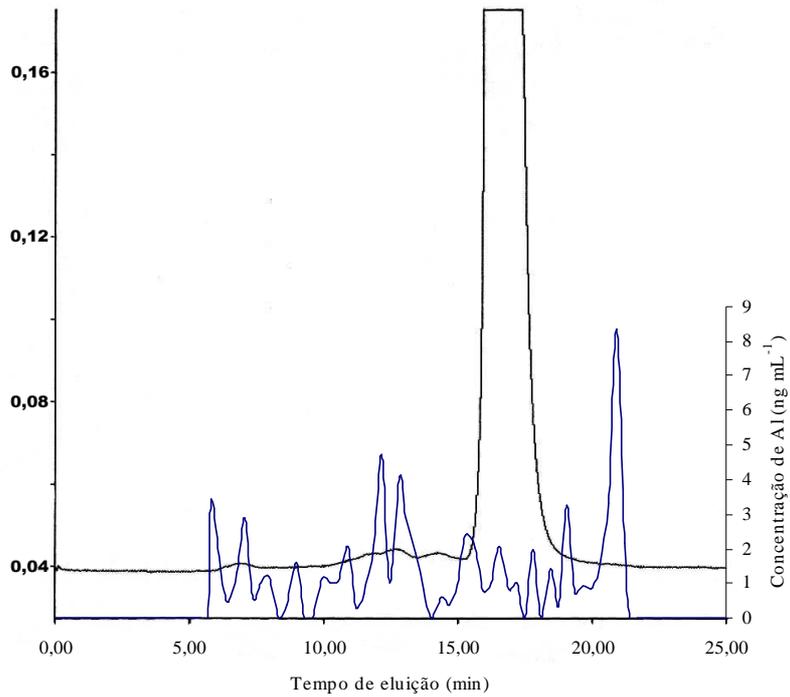
10.a - Manganês



10.b - Ferro



10.c - Alumínio



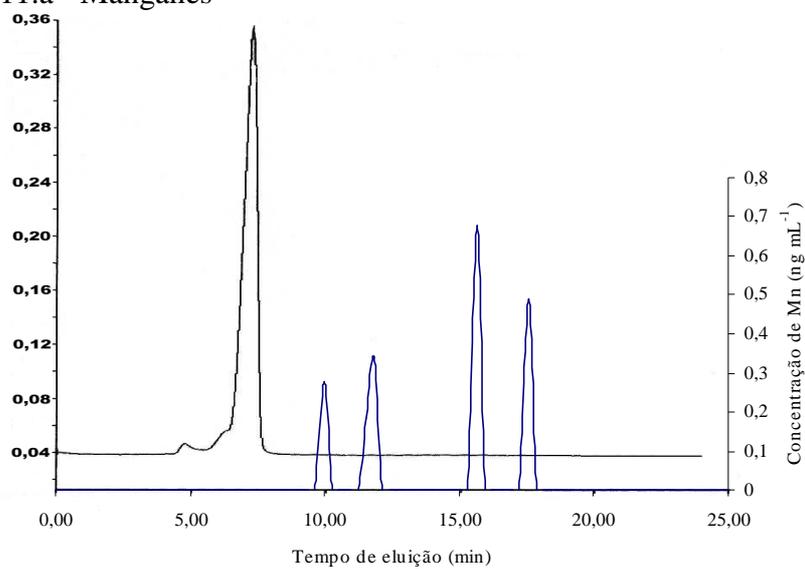
10.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn	Fe	Al
				-----	%	-----
7,01	116520	211	881096	11	--	16
12,65	10931	211	4242440	20	25	32
14,20	5702	211	1750344	8	--	6
16,57	2103	211	252326816	22	35	19
		Total	259200696	61	60	73

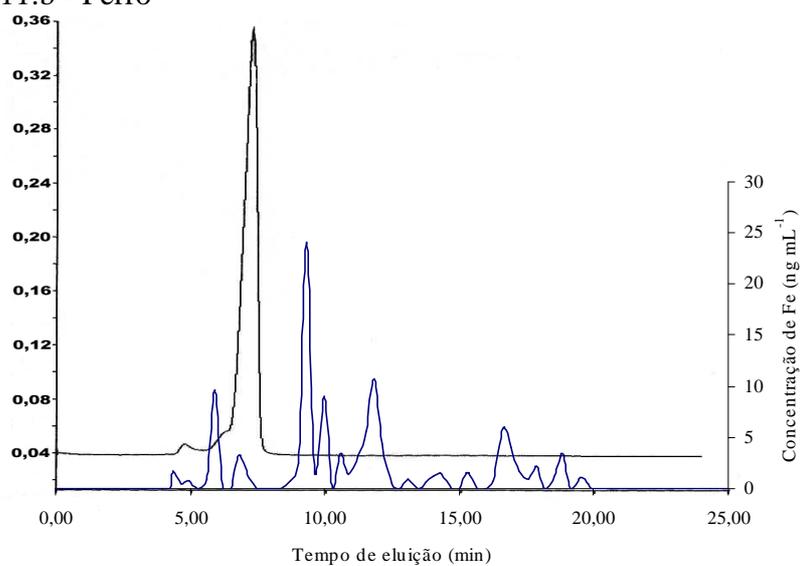
1. Massa molecular

11) Amostra Absoluta; tratamento: "in natura" (24 h); eluente: água; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100µL.

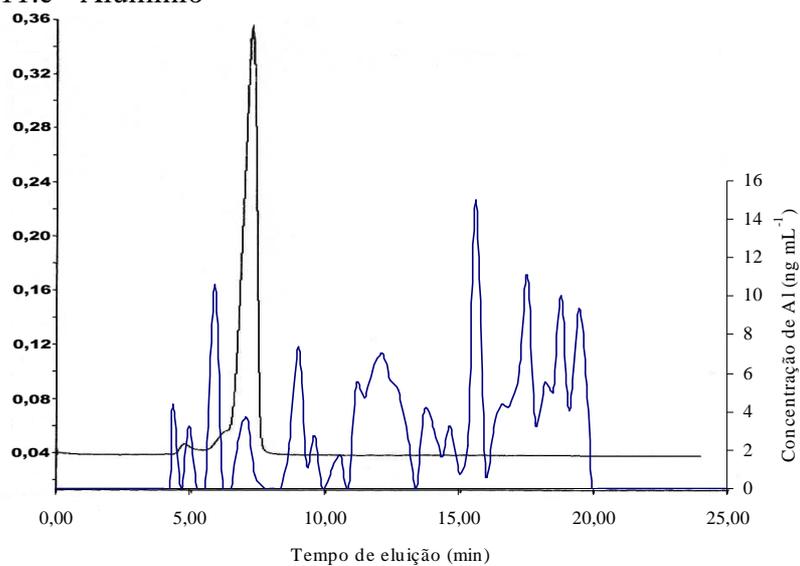
11.a - Manganês



11.b - Ferro



11.c - Alumínio



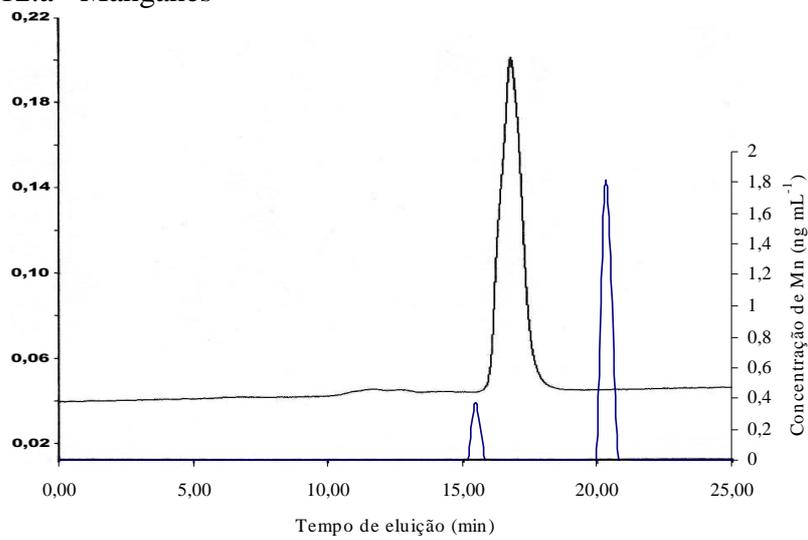
11.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn -----	Fe %	Al -----
4,75	69684	274	1733624	--	2	4
7,27	26472	274	58247656	--	13	9
15,81	988	347	64352	34	--	8
18,14	403	343	180896	--	1	3
Total			60226528	34	16	24

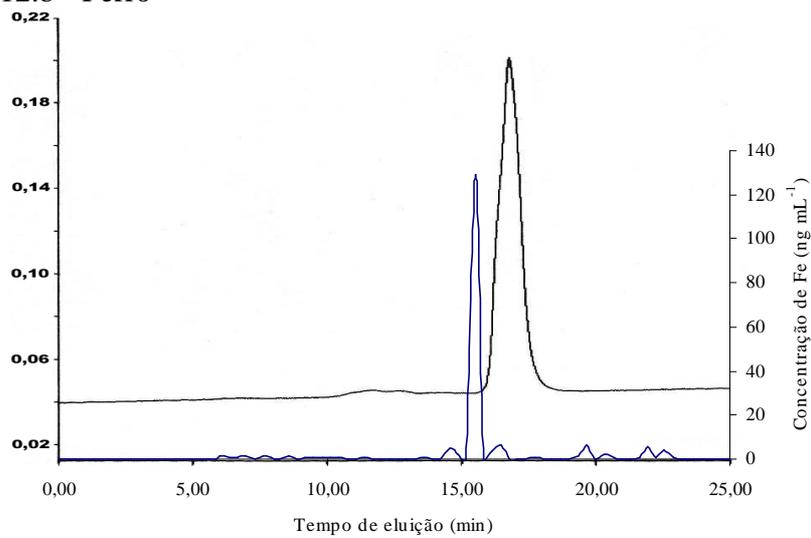
1. Massa molecular

12) Amostra Absoluta; tratamento: "in natura" (24 h); eluente: NaCl 0,01 mol L⁻¹; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100 μL.

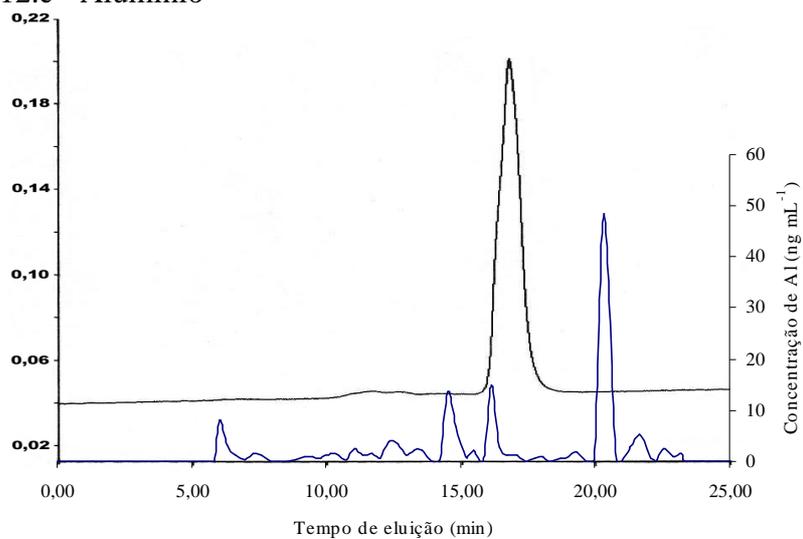
12.a - Manganês



12.b - Ferro



12.c - Alumínio



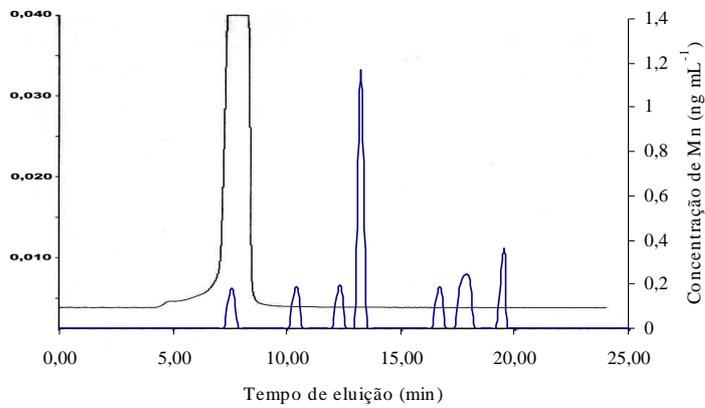
12.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn -----	Fe ----- % -----	Al
6,78	128171	364	241008	--	2	10
11,75	15929	211	1022376	--	0,5	4
12,62	11069	211	666904	--	0,5	8
14,08	5982	234	372622	17	74	15
16,76	1942	211	44087104	--	6	16
Total			46390014	17	83	53

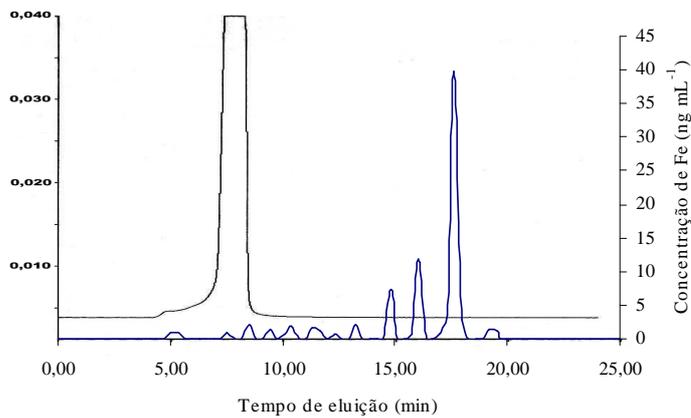
1. Massa molecular

13) Amostra 12 t ha⁻¹ lodo; tratamento: “in natura” (24 h); eluente: água; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100μL.

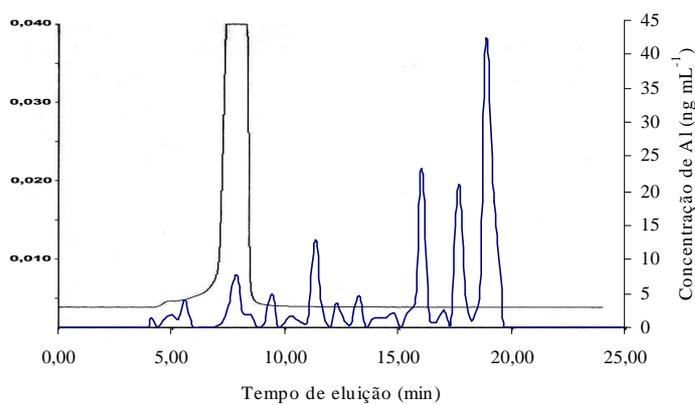
13.a - Manganês



13.b - Ferro



13.c - Alumínio



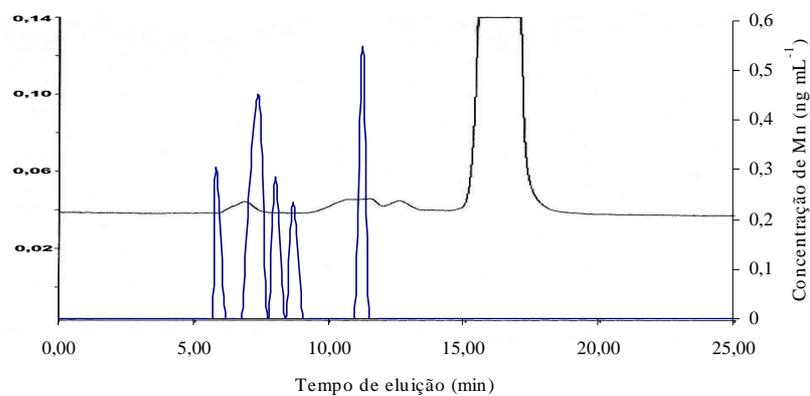
13.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe ----- % -----	Al ----- % -----	
7,07	28525	274	175204480	}	6	5	11
8,16	18792	211	212614112		7	--	0,5
16,24	837	211	266664		--	--	0,5
18,30	378	215	324808		--	--	0,5
Total			388410064	13	5	12	

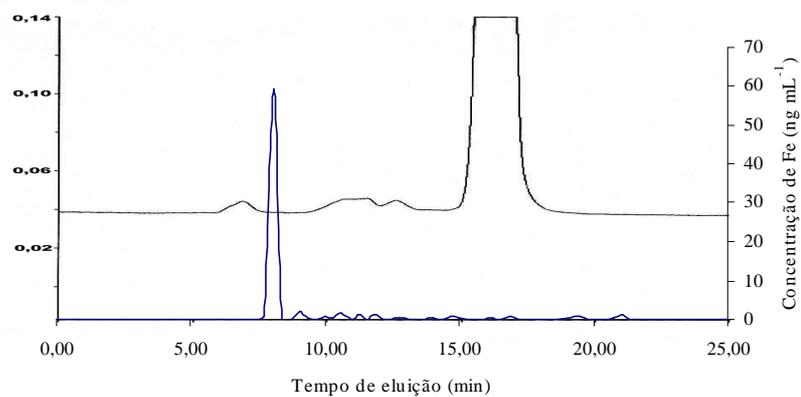
1. Massa molecular

14) Amostra 12 t ha^{-1} lodo; tratamento: “in natura” (24 h); eluente: NaCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; fluxo: 1 mL min^{-1} ; alça = $100 \mu\text{L}$.

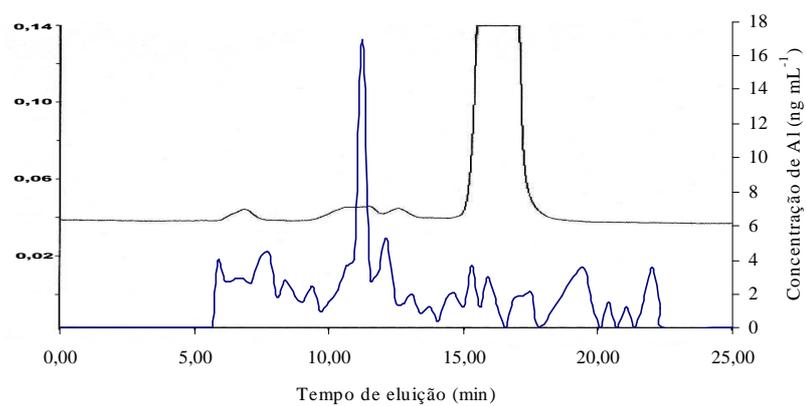
14.a - Manganês



14.b - Ferro



14.c - Alumínio



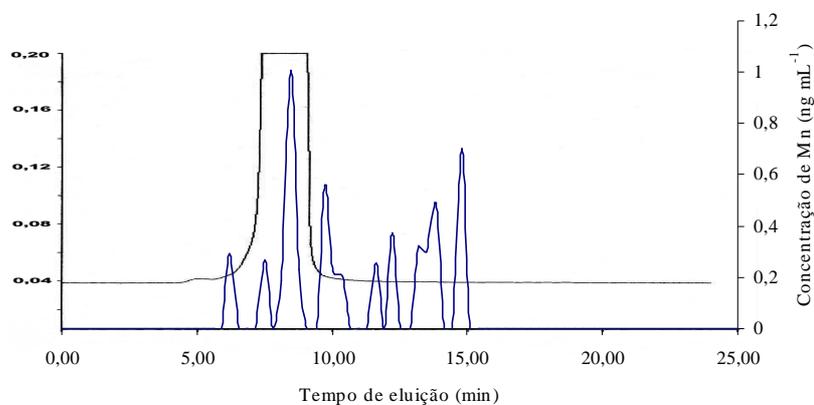
14.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe	Al
6,92	121007	275	12244548	51	81	20
11,71	16199	273	11513368	23	5	25
12,79	10281	349	10496732	--	2	12
16,10	2565	274	114239744	}	3	15
17,28	1565	300	767432960			
Total			915927352	74	91	72

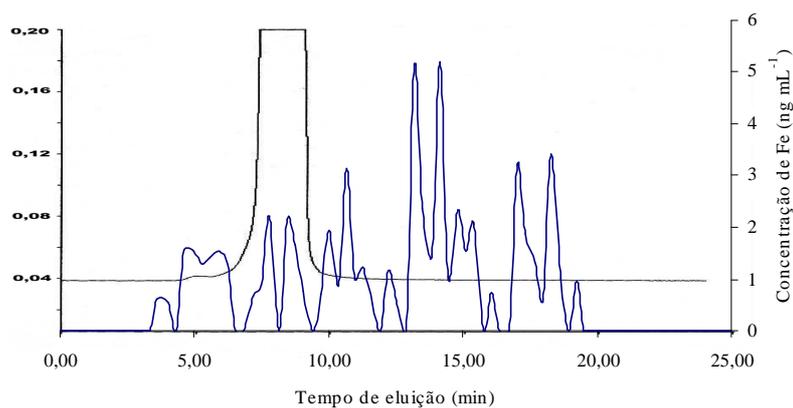
1. Massa molecular

15) Amostra 12 t ha^{-1} lodo; tratamento: refrigerado (4°C) por 15 dias; eluente: água; fluxo: 1 mLmin^{-1} ; alça = $100\mu\text{L}$.

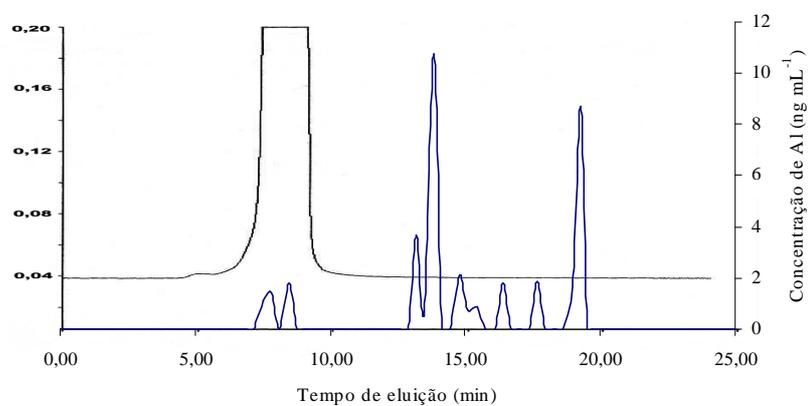
15.a - Manganês



15.b – Ferro



15.c - Alumínio



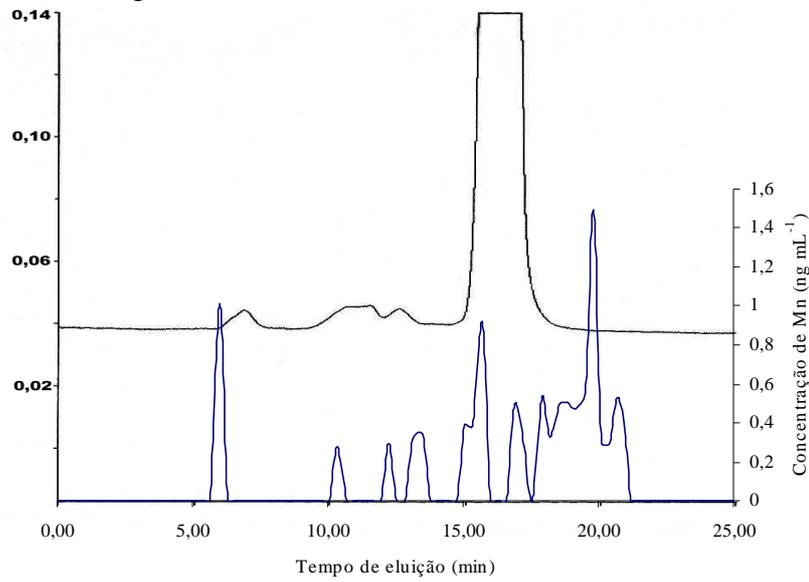
15.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn -----	Fe ----- % -----	Al -----
5,04	62322	211	683256	--	12	--
8,78	14768	334	486196800	50	17	12
17,45	526	211	76720	--	3	5
		Total	486956776	50	32	17

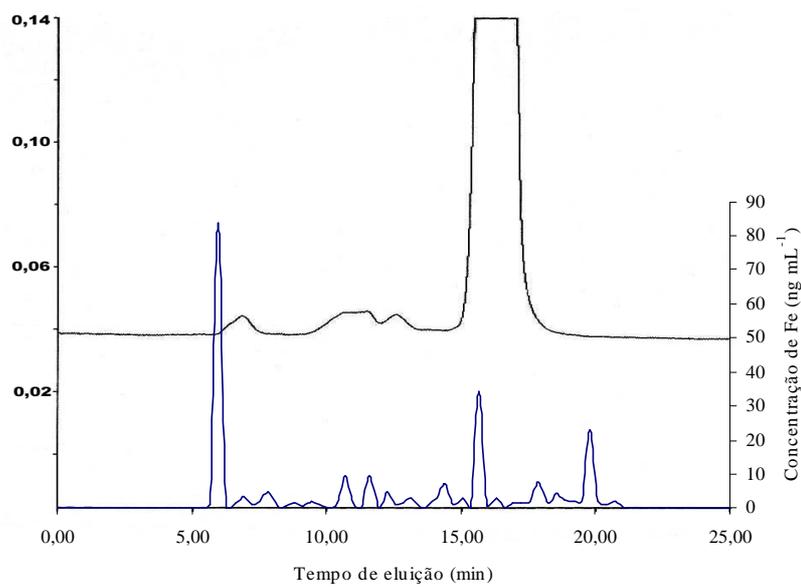
1. Massa molecular

16) Amostra 12 t ha^{-1} lodo; tratamento: refrigerado (4°C) por 15 dias; eluente: $\text{NaCl } 0,01 \text{ mol L}^{-1}$; fluxo: 1 mLmin^{-1} ; alça = $100\mu\text{L}$.

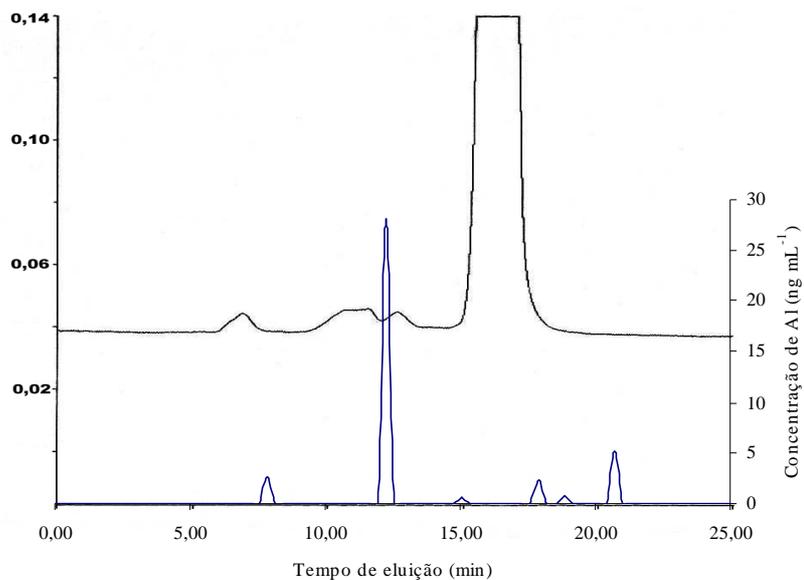
16.a - Manganês



16.b - Ferro



16.c - Alumínio



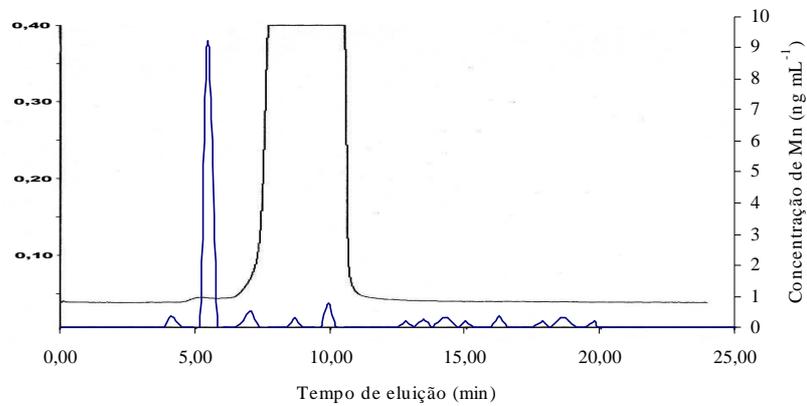
16.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn	Fe %	Al
5,05	265644	211	204150	--	--	--
6,80	127099	211	1972410	9	40	6
11,47	17916	253	4723764	2	11	--
12,53	11481	334	2771552	9	4	69
16,12	2540	301	380325536	47	27	11
Total			389997412	67	82	86

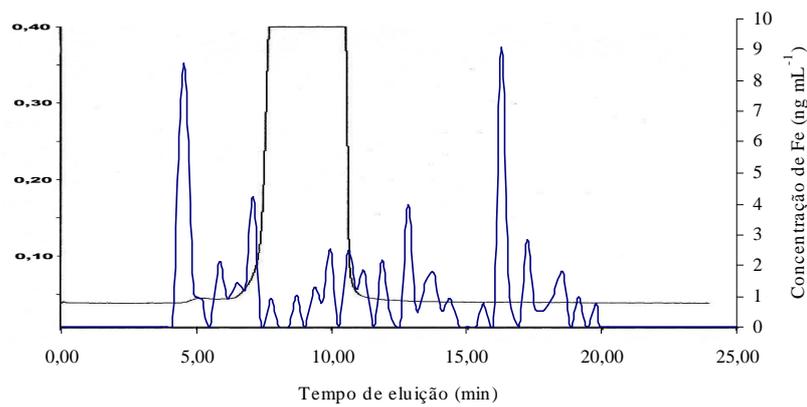
1. Massa molecular

17) Amostra 12 t ha⁻¹ lodo; tratamento: reumidecido à umidade de campo e incubado por 24 h ; eluente: água; fluxo: 1 mLmin⁻¹; alça = 100μL.

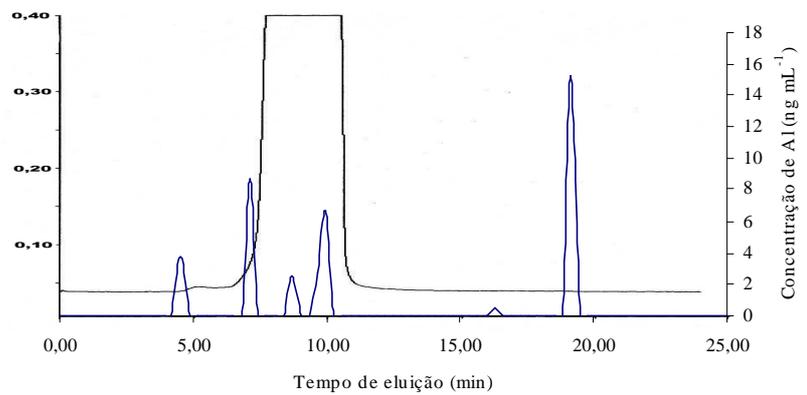
17.a - Manganês



17.b - Ferro



17.c - Alumínio



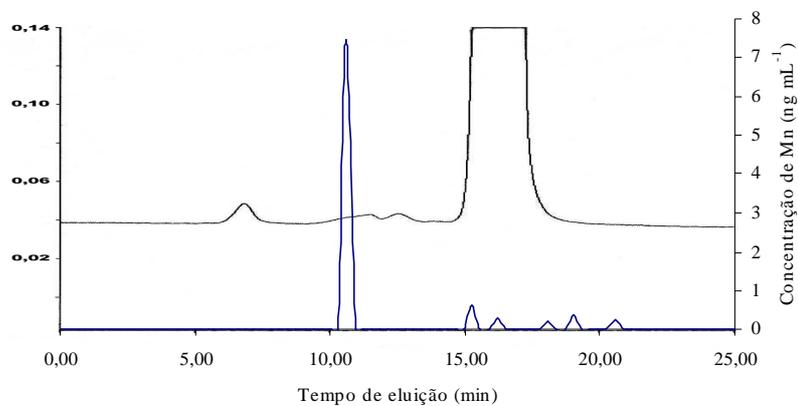
17.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe ----- % -----	Al	
5,18	59120	211	133384	}	67	20	9,5
10,07	8997	300	1469436		12	31	51
10,19	8591	300	127335756		79	51	60,5
		Total	128938576				

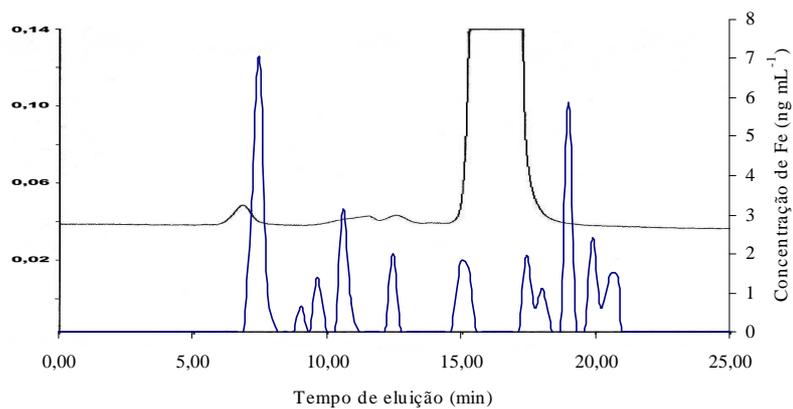
1. Massa molecular

18) Amostra 12 t ha⁻¹ Iodo; tratamento: reumidecido à umidade de campo e incubado por 24 h ; eluente: NaCl 0,01 mol L⁻¹; fluxo: 1 mLmin⁻¹; alça = 100μL.

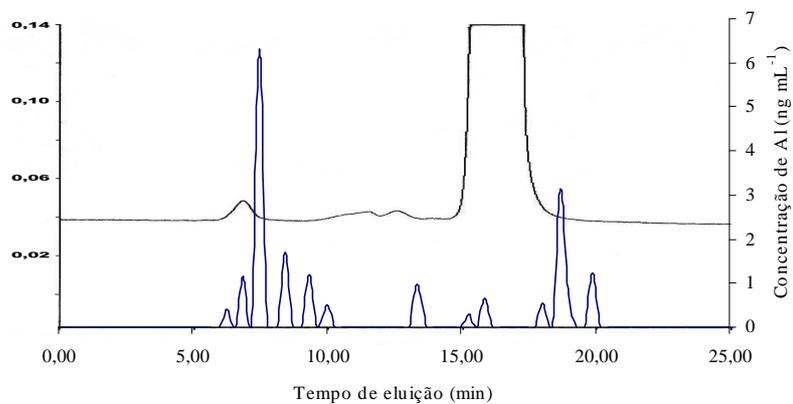
18.a - Manganês



18.b - Ferro



18.c - Alumínio



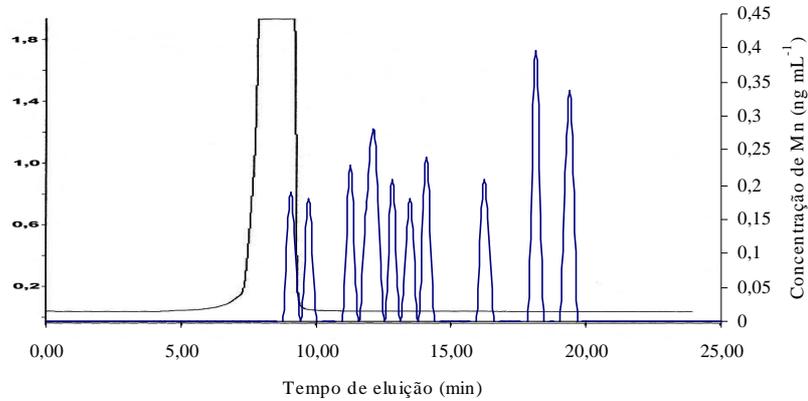
18.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe	Al
6,84	125298	211	2999404	--	29	42
11,49	17766	334	2476420	80	14	--
12,56	11337	253	1828118	--	5	5
13,92	6406	254	499485	--	--	--
15,97	2706	301	715170368	16	34	28
Total			722973795	96	82	75

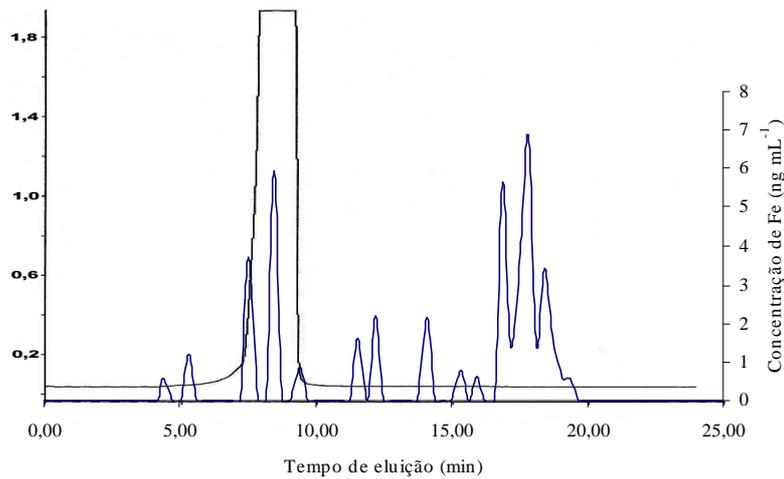
1. Massa molecular

19) Amostra 24 t ha⁻¹ lodo; tratamento: “in natura” (24 h); eluente: água; fluxo: 1 mL min⁻¹; alça = 100μL.

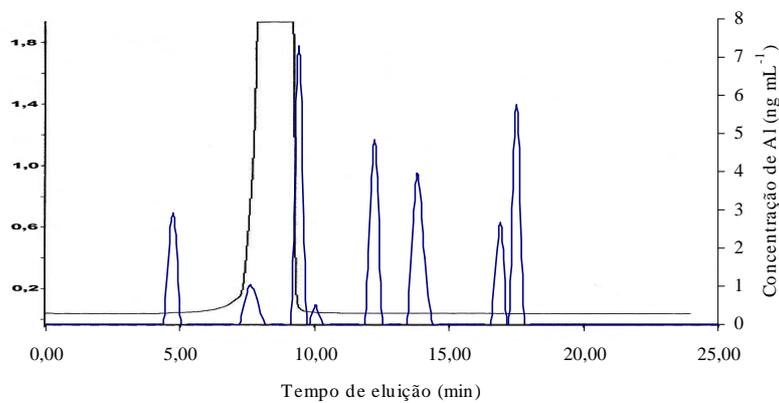
19.a - Manganês



19.b - Ferro



19.c - Alumínio



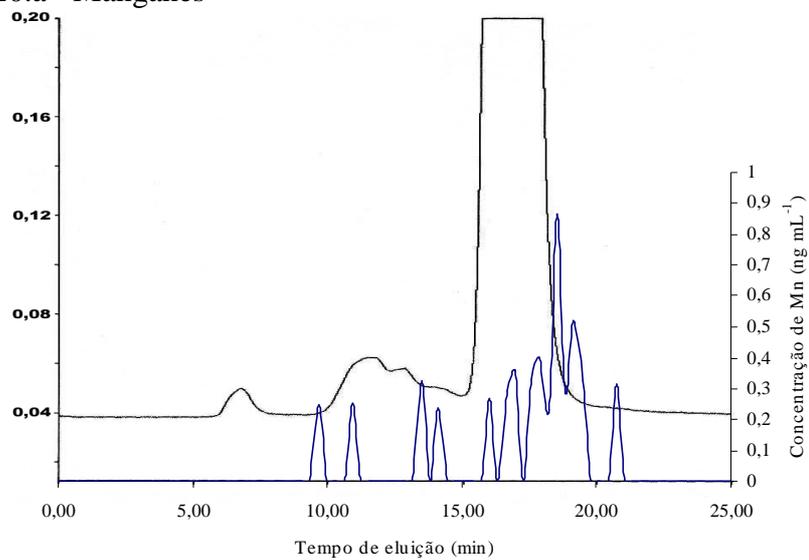
19.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn ----- % -----	Fe ----- % -----	Al ----- % -----	
7,03	28968	274	156929872	}	14	24	30
9,17	12709	274	769411840				
16,14	868	211	584908	7	--	--	
18,40	364	211	474736	--	7	--	
Total			927401356	21	31	30	

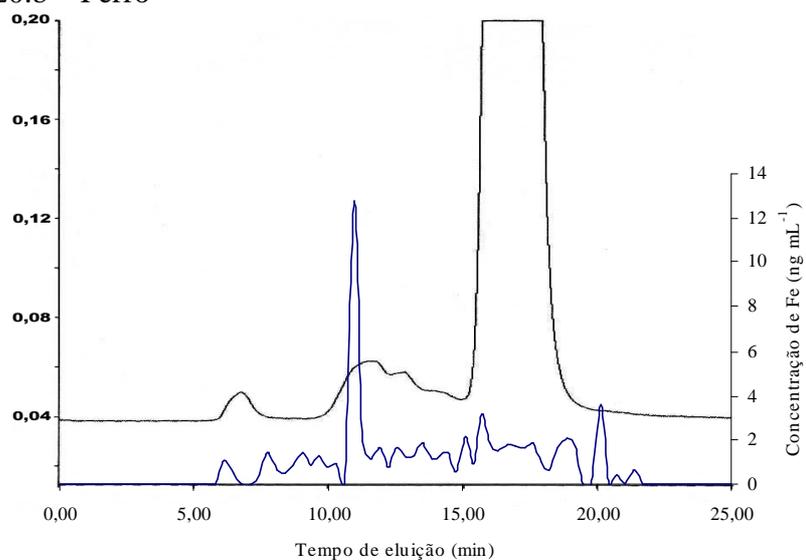
1. Massa molecular

20) Amostra 24 t ha^{-1} lodo; tratamento: "in natura" (24 h); eluente: NaCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; fluxo: 1 mL min^{-1} ; alça = $100 \mu\text{L}$.

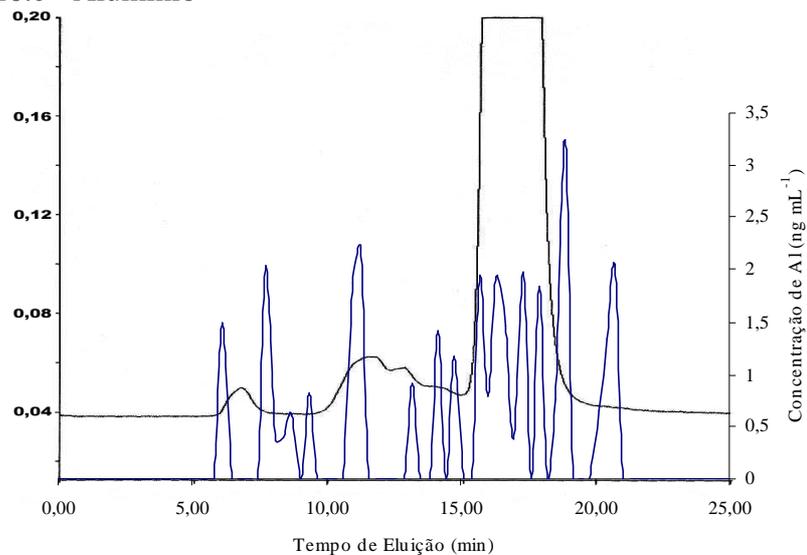
20.a - Manganês



20.b – Ferro



20.c - Alumínio



20.d – Tabela sintética dos resultados

Ve mL	MM ¹ Da	λ max nm	Área	Mn	Fe	Al
				----- % -----		
6,79	127795	211	3915540	--	5	11
11,56	17230	273	12680428	9	28	13
12,82	10165	273	10343920	11	19	11
15,81	2893	274	65111072	73	35	45
17,48	1435	211	103854784			
Total			195905744	93	87	80

1. Massa molecular



Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro
Rua Marquês de São Vicente, 225
22453-900 Rio de Janeiro Brasil
www.puc-rio.br