



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Solos  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1517-2627

Novembro, 2003

## ***Documentos 47***

### **Especiação em Solos** aspectos gerais

Daniel Vidal Pérez  
Reinaldo Calixto de Campos

Rio de Janeiro, RJ  
2003

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Solos**

Rua Jardim Botânico, 1.024. Jardim Botânico, Rio de Janeiro-RJ

CEP: 22460-000

Fone: (21) 2274.4999

Fax: (21) 2274.5291

Home page: [www.cnps.embrapa.br](http://www.cnps.embrapa.br)

E-mail (sac): [sac@cnps.embrapa.br](mailto:sac@cnps.embrapa.br)

**Supervisor editorial:** *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

**Revisor de texto:** *Paulo Augusto da Eira*

**Normalização bibliográfica:** *Cláudia Regina Delaia*

**Tratamento de ilustrações:** *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

**Editoração eletrônica:** *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

**1ª edição**

1ª impressão (2003): 300 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

Pérez, Daniel Vidal

Especiação em solos: aspectos gerais / Daniel Vidal Pérez, Reinaldo Calixto de Campos. - Rio de Janeiro : Embrapa Solos, 2003.

33p. - (Embrapa Solos. Documentos; n. 47)

ISSN 1517-2627

1. Contaminação Ambiental. 2. Solos – Contaminação Química. 3. Solos – Especiação. I. Campos, Reinaldo Calixto de. II. Embrapa Solos (Rio de Janeiro). III. Título. IV. Série.

CDD (21.ed.) 631.41

---

© Embrapa 2003

## **Autores**

**Daniel Vidal Pérez**

Pesquisador da Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico,  
1.024, Rio de Janeiro - RJ. CEP: 22460-000.

E-mail: [daniel@cnps.embrapa.br](mailto:daniel@cnps.embrapa.br)

**Reinaldo Calixto de Campos**

Professor do Departamento de Química, PUC-RJ, Rua  
Marquês de São Vicente, 225, Rio de Janeiro - RJ.  
CEP: 22453-900.

E-mail: [rccampos@rdc.puc-rio.br](mailto:rccampos@rdc.puc-rio.br)

# Sumário

<b>Introdução</b> .....	7
<b>Conceito de Especiação</b> .....	7
<b>Especiação em Solos</b> .....	8
Fase Sólida .....	9
Fase Líquida .....	10
Modelos Computacionais .....	13
Leitura Direta .....	14
Combinação de Técnicas .....	14
<b>Especiação da solução de solo pela separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com coluna de exclusão</b> .....	16
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	19

## Introdução

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)

### Conceito de Especiação

Apesar de não existir um conceito internacionalmente aceito 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 específicas espécies, formas ou fases sob as quais 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, segundo Angehrn-Bettinazzi (1990) e Kot & Namiesnik (2000), há unanimidade: 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.

## Especiação em Solos

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 seqüencial), 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 seqüencial) 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 seqüencial 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 no Chemistry Citation Index (1991-1994), sobre a aplicação da espectrometria de absorção atômica eletrotérmica na especiação de metais em diversas matrizes (água, matriz biológica, solo, sedimentos e particulados aéreos), além dos pré-tratamentos necessários. Em solos, focalizam bastante a questão da extração seqüencial 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 o desenvolvimento de novas 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 seqüencial 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 seqüencial. Além disso, descrevem, sumariamente, alguns tipos de análises e técnicas, com exemplos de aplicação. Em relação ao alumínio, 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 Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES).

Em suma, fica claro, nesses trabalhos, 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.

### **Fase sólida**

A complexidade das possíveis reações no solo, normalmente restringe os estudos sobre distribuição 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 baseia-se 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 *et al.*, 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 & Traina, 1998; Sauve *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 seqüencial 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 para se criar um protocolo definido e único de modo que os resultados possam ser comparados no mundo todo e usados, também, em legislação ambiental (Tack & Verloo, 1995; Quevauviller, 1998).

### Fase líquida

Vários parâmetros da solução do solo têm um impacto importante 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 apresentadas 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.* (1998a, 1998b).

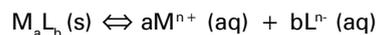
Na ausência de concentração elevada de ligantes complexantes, a mais importante classe de reações em sistemas aquosos é a protonação ou hidrólise. Em função do pH, os metais podem passar por uma série de reações de protonação, que podem ser representadas da seguinte forma:



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 formadas as primeiras espécies do metal hidrolizado ( $Me(OH)^{n-v}$ ), 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 em 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:



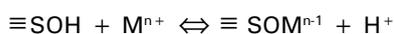
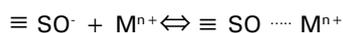
Também a formação de complexos com ligantes orgânicos e inorgânicos é outro fator que afeta fortemente a especiação de íons metálicos. A propensão dos ânions em formarem complexos estáveis com um dado íon metálico pode ser estimada pela regra: ácidos "duros" tendem a formar complexos mais estáveis com bases "duras", enquanto ácidos "moles" o fazem com bases "moles". Bases "duras" incluem os ânions inorgânicos mais comuns da solução do solo, ou seja, 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:

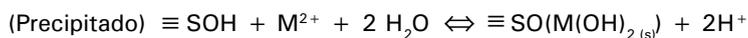
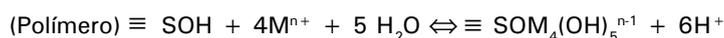
- complexação na superfície do sólido - em ambiente oxidico, as superfícies mais reativas são aquelas compostas por grupos funcionais hidroxilados. A reação do metal com essas superfícies é análoga à hidrólise:



- troca iônica em sítios de carga fixa (substituição isomórfica) - 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.

Assim sendo, a especiação, na solução do solo, tem sido realizada com base:

- a) 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) em técnicas de leitura direta;
- c) na combinação de técnicas de separação e detecção.

### *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),  $\beta_{ML_n}$  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.* (1995), esse programa é um derivado do programa de especiação multipropósito Geochem (Mattigod & Sposito, 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 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).

Desta forma, 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).

### *Leitura direta*

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

- eletrodo íon seletivo - apesar de possibilitarem a leitura direta da concentração do íon livre, a precisão de seus resultados tem sido muito questionada. 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 - 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 - 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).

### *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 para promover seletividade nos estudos de especiação (Ure, 1991; Tack & Verloo, 1995; Das & Chakraborty, 1997; Hill, 1997; Kot & Namiesnik, 2000; Bi *et al.*, 2001; Das *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 porquê da tendência em se utilizar a cromatografia por exclusão de tamanho nesse tipo de estudo (Mattigod, 1995; Tack & Verloo, 1995; Morrow *et al.*, 1996; Das & Chakraborty, 1997; Bi *et al.*, 2001).

Na tabela 1, são relacionadas as principais espécies de certos elementos, relevantes na química de solos, normalmente encontrados em soluções de solos bem aerados.

**Tabela 1.** Principais espécies químicas de alguns elementos na solução do solo (Sposito, 1989).

Cátion	Solo Ácido	Solo Alcalino
Ca <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , CaSO <sub>4</sub> , org <sup>(a)</sup>	Ca <sup>2+</sup> , CaSO <sub>4</sub> , CaHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>
Mg <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup> , MgSO <sub>4</sub> , org <sup>(a)</sup>	Mg <sup>2+</sup> , MgSO <sub>4</sub> , MgCO <sub>3</sub>
Zn <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup> , ZnSO <sub>4</sub> , org <sup>(a)</sup>	ZnHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup> , ZnCO <sub>3</sub> , org <sup>(a)</sup> , Zn <sup>2+</sup> , ZnSO <sub>4</sub> , ZnB(OH) <sub>4</sub> <sup>+</sup>
Al <sup>3+</sup>	org <sup>(a)</sup> , AlF <sup>2+</sup> , AlOH <sup>2+</sup>	Al(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup> , org <sup>(a)</sup>
Fe <sup>3+</sup>	FeOH <sup>2+</sup> , Fe(OH) <sub>3</sub> , org <sup>(a)</sup>	Fe(OH) <sub>3</sub> , org <sup>(a)</sup>
Mn <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup> , MnSO <sub>4</sub> , org <sup>(a)</sup>	Mn <sup>2+</sup> , MnSO <sub>4</sub> , MnCO <sub>3</sub> , MnHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup> , MnB(OH) <sub>4</sub> <sup>+</sup>

(a) complexos orgânicos.

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

## Especiação da solução de solo pela separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com coluna de exclusão

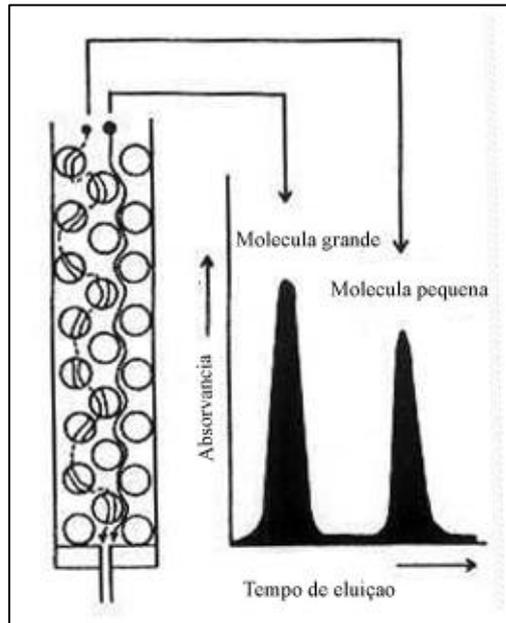
Complexos orgânicos compõem uma das principais formas em que os vários elementos ocorrem na solução do solo (Tabela 1). Como pode se ver na Tabela 2, a diferença de massa molecular, que se reflete em tamanho, é bastante grande entre os dois principais componentes húmicos do solo, ou seja, os ácidos húmicos e fúlvicos, o que permite a sua separação por CLAE, usando coluna de separação por exclusão de tamanho (Figura 1). Com esta coluna, quanto menor a partícula, mais tempo ela gasta nos poros da fase estacionária e mais tempo leva para ser eluída.

**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).



**Fig. 1.** Esquema do funcionamento de uma coluna de exclusão por tamanho, adaptado de Stevenson (1994).

Os levantamentos bibliográficos realizados por Graetz & Volk (1983) e Nobili *et al.* (1989) associados à pesquisa realizada para o presente trabalho (Anexo 1), 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 3).

**Tabela 3.** 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 (Dalton) <sup>1</sup>
Gregson & Alloway (1984)	Pb	Inglaterra/ Noruega	Sephadex G-50 Sephadex G-100	1.500-30.000 (ptn. <sup>2</sup> ) 4.000-150.000 (ptn.)
Gardiner <i>et al.</i> (1987)	Al	USA	Superose 12	1.000-300.000 (ptn.)
Morrisson & Park (1990)	Cu	Inglaterra	TSK G3000 SW	10.000-500.000 (ptn.)
Kerven <i>et al.</i> (1995)	Al, Fe, Mn	Austrália	Fractogel TSK HW40(S)	100-5.000
Hees <i>et al.</i> (1996)	Al, Si	Suécia	Sephadex G-10 Bio-Gel P2	Limite de exclusão 700 100-1.800
Tsunoda <i>et al.</i> (1997)	Al	Japão	Shodex Asahipac-320HQ	40.000 (limite de exclusão)
Casartelli (1999)	Lantanídeos	Brasil	Toyopearl HW-40S	100-10.000 (ptn.)
Pérez (2002)	Al, Fe, Mn	Brasil	Superdex 75HR 10/30	3.000-70.000

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

Quanto ao tipo de eluente usado (Anexo 1), 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 1).

Uma vez que a CLAE separa os componentes da solução do solo, a solução eluída pode ser coletada em pequenas frações e analisada para os metais desejados por diversas técnicas, principalmente, a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite-GFAAS (Anexo 1). Há, contudo, a possibilidade de realizar a análise "on-line" pela hifenação do CLAE com um espectrômetro de plasma (ICP-OES ou ICP-MS).

## Referências Bibliográficas

ADAMS, F.; SLAETS, S. Improving the reliability of speciation analysis of organometallic compounds. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v.19, n.2-3, p.80-85, 2000.

ALLEN, H. E. The significance of trace metal speciation for water, sediment and soil quality criteria and standards. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, Supp. pt. 1, v.23, p.45, 1993.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. 2.ed. Glasgow (UK): Blackie, 1995. 368p.

ANGEHRN-BETTINAZZI, C. Factors affecting the investigation of heavy metal speciation in forest soils using thin-channel ultrafiltration. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Reading, v.39, p.81-89, 1990.

BAHAM, J.; BALL, N. B.; SPOSITO, G. Gel filtration studies of trace metal-fulvic acid solutions extracted from sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.7, n2, p.181-188, 1978.

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. **Environmental Science and Technology**, Washington, D.C., v.19, p.422-426, 1985.

BERDÉN, M.; BERGGREN, D. Gel filtration chromatography of humic substances in soil solutions using HPLC - determination of the molecular weight distribution. **Journal of Soil Science**, Oxford, v.41, n.1, p.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. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Reading, v. 35, p.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**. Boca Raton: CRC, 1995. v.2, 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 Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v.370, p.984-996, 2001.

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 Science**, Baltimore, v.162, n.10, p.722-732, 1997.

CANDELARIA, L. M.; CHANG, A. C.; AMRHEIN, C. Measuring cadmium ion activities in sludge-amended soils. **Soil Science**, Baltimore, v.159, n.3, p.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**. 1999. 182f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - PUC-RIO, Rio de Janeiro.

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. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Reading, v.50, p.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**, Amsterdam, v.81/82, p.471-479, 1989.

CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformational arrangement of dissolved humic substances. Influence of solution composition on association of humic molecules. **Environmental Science and Technology**, Washington, D.C., v.33, n.10, p.1682-1690, 1999a.

CONTE, P.; PICCOLO, A. High pressure size exclusion chromatography (HPSEC) of humic substances: molecular sizes, analytical parameters, and column performance. **Chemosphere**, Oxford, v.38, n.3, p.517-528, 1999b.

COZZOLINO, A.; CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy-, keto-, and sulfonic acids. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.33, p.563-571, 2001.

DAS, A.K.; CHAKRABORTY, R. Electrothermal atomic absorption spectrometry in the study of metal ion speciation. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v.357, p.1-17, 1997.

DAS, A. K.; CHAKRABORTY, R.; CERVERA, M. L.; GUARDIA, M. de la. Metal speciation in solid matrices. **Talanta**, Oxford, v.42, p.1007-1030, 1995.

DAS, A. K.; GUARDIA, M. de la; CERVERA, M.L. Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions. **Talanta**, Oxford, v.55, p.1-28, 2001.

DEAN, J. R.; BUTLER, O.; FISHER, A.; GARDEN, L. M.; CRESSER, M.S.; WATKINS, P.; CAVE, M. Atomic spectrometry update - Environmental analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, Cambridge, v.13, p.1R-56R, 1998.

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.

FRIGON, R. P.; LEYPOLDT, J. K.; UYEJL, S.; HENDERSON, L. W. Disparity between Stokes radii of dextrans and proteins as determined by retention volume in gel permeation chromatography. **Analytical Chemistry**, Washington, D.C., v.55, p.1349-1354, 1983.

GARDINER, P.E.; SCHIERL, R.; KREUTZER, K. Aluminum speciation in soil solutions as studied by size exclusion chromatography. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.103, p.151-154, 1987.

GRAETZ, D. A.; VOLK, B. G. Liquid chromatography analysis in soil chemistry. In: GOB, R. L. **Chromatographic analysis of the environment**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1983. p.423-497.

GREGSON, S. K.; ALLOWAY, B. J. Gel permeation chromatography studies on the speciation of lead in solutions of heavily polluted soils. **Journal of Soil Science**, Oxford, v.35, p.35-61, 1984.

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. **Environmental Science and Technology**, Washington, D.C., v.25, n.8, p.1427-1431, 1991.

HANI, H. Soil Analysis as a tool to predict effects on the environment. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.27, n.3/4, p.289-306, 1996.

HAYES, K. F.; TRAINA, S. J. Metal ion speciation and its significance in ecosystem health. In: SOIL CHEMISTRY AND ECOSYSTEMS HEALTH, 1995, St. Louis. **Proceedings...** Madison: SSSA, 1998. p.45-84 (Special Publication, 52).

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**, Oxford, v.33, n.10, p.1951-1966, 1996.

HILL, S.J. Speciation of trace metals in the environment. **Chemical Society Reviews**, Cambridge, v.26, p.291-298, 1997.

HILS, A.; GROTE, M.; JANFLEN, E.; EICHHORN, J. Speciation of trace amounts of aluminum in percolating water of forest soil by on-line coupling HPLC-ICP-MS. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v.364, p.457-464, 1999.

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

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**, Dordrecht, v.171, p.29-34, 1995.

KOT, A.; NAMIESNIK, J. The role of speciation in analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v.19, n.2/3, p.69-79, 2000.

MATTIGOD, S. V. Validation of geochemical equilibrium models. In: LOEPPERT, R. H., SCHWAB, A. P., GOLDBERG, S., (Ed.) **Chemical equilibrium and reaction models**. Madison: Soil Science Society of America/American Society of Agronomy, 1995. p.201-218.

MATTIGOD, S. V.; SPOSITO, G. Chemical modelling of trace metal equilibria in contaminated soil solutions using the computer program GEOCHEM. In: HENNE, E. A.(ed.) **Chemical modelling in aqueous systems**. Washington, D.C.: 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).

McBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1994. p.31-62.

McLEAN, J. E.; BLEDSOE, B. E. **Behaviour of metals in soils**. Washington, D.C.: EPA. 1992. 25p.

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**, Amsterdam, v.258, p.183-194, 2000.

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**, Cambridge, v.115, p.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).

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**, Middlesex, v.5, n.4, p.135-140, 1993.

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., (Ed.) **Chemical equilibrium and reaction models**. Madison: Soil Science Society of America/American Society of Agronomy, 1995. p.253-269.

PÉREZ, D. V. **Avaliação de parâmetros críticos para especiação de Al, Fe e Mn em solução de solos sob diferentes sistemas de uso e manejo**. 2002. 193f. Tese (Doutorado em Química Analítica). : PUC-RIO, Rio de Janeiro.

PICCOLO, A.; CONTE, P.; COZZOLINO, A. Effects of mineral and monocarboxylic acids on the molecular association of dissolved humic substance. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.50, p.687-694, 1999.

PICCOLO, A.; CONTE, P.; COZZOLINO, A. Chromatographic and spectrophotometric properties of dissolved humic substances compared with macromolecules polymers. **Soil Science**, Baltimore, v.166, n.3, p.174-185, 2001.

QUEVAUVILLER, Ph. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis. I. Standardization. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v.17, n.5, p.289-298, 1998.

RAUSA, R.; MAZZOLARI, E.; CALEMMA, V. Determination of molecular size distributions of humic acids by high performance size exclusion chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.541, p.419-429, 1991.

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**, Middlesex, v.10, n.3, p.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**, Middlesex, v.10, n.3, p.83-94, 1998b.

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. **Environmental Science and Technology**, Washington, D.C., v.32, p.363-369, 1998.

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.

RUBIO, R.; URE, A. M. Approaches to sampling and sample pretreatments for metal speciation in soils and sediments. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Reading, v.51, p.205-207, 1993.

SAITO, Y.; HAYANO, S. Application of high-performance aqueous gel permeation chromatography to humic substances from marine sediment. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.177, p.390-392, 1979.

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**, Oxford, v.17, n.8, p.1481-1489, 1998.

SPOSITO, G. Trace metals in contaminated waters. **Environmental Science and Technology**, Washington, D.C., v.15, n.4, p.396-403, 1981.

SPOSITO, G. Sorption of trace metals by humic materials in soils and natural waters. **CRC Critical Reviews in Environmental Control**, Boca Raton, v.16, n.2, p.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.; INOUE, C. A. Trace metal complexation by fulvic acid extracted from sewage sludge: II. Development of chemical models. **Soil Science Society of America Journal**, v.46, p.51-56, 1982.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2.ed. New York: John Wiley, 1994. p.325-349.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters**. 3.ed. New York: John Wiley, 1996. 1022p.

TACK, F. M. G.; VERLOO, M. G. Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Reading, v.59, p.225-238, 1995.

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**, Tokyo, v.13, p.757-764, 1997.

URE, A. M. Trace element speciation in soils, soil extracts and solutions. *Mikrochimica Acta*, Vienna, v.2, n.1-6, p.49-57, 1991.

URE, A. M.; DAVIDSON, C. M. Introduction to speciation. In: URE, A. M.; DAVIDSON, C. M. **Chemical speciation in the environment**. Glasgow (UK): Blackie, 1995. p.1-5.

VELA, N. P.; CARUSO, J. A. Trace metal speciation via supercritical fluid extraction liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, Cambridge, v.11, p.1129-1135, 1996.

VERLOO, M.; EECKHOUT, M. Metal species transformation in soils: an analytical approach. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Reading, v.39, p.179-186, 1990.

WINISTORFER, D. Speciation of heavy metals in extracted soil solutions by a cation exchange batch equilibrium method. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.26, n.7/8, p.1073-1093, 1995.

WU, C. -S. **Column handbook for size exclusion chromatography**. San Diego: Academic Press, 1999. 637p.

ZERNICHOW, L.; LUND, W. Size exclusion chromatography of aluminum species in natural waters. **Analitica Chimica Acta**, Amsterdam, v.300, p.167-171, 1995.

## **ANEXO**

---

**Alguns dados de trabalhos que utilizaram coluna cromatográfica de exclusão por tamanho para estudos envolvendo solo, a solução do solo ou soluções afins**

Referência	Principais características operacionais	Outras informações
Baham <i>et al.</i> (1978)	COLUNA: Sephadex G-10 em coluna Pharmacia K26/100 (altura 80cm) ELUENTE: ? FLUXO: 25mL h <sup>-1</sup> DETECÇÃO: ? VOLUME do LOOP: ?	AMOSTRA: extrato de lodo de esgoto <ul style="list-style-type: none"> <li>Frações coletadas de 3mL para análise de C e metais.</li> <li>Discute IR dos complexos orgânicos.</li> </ul>
Saito and Hayano (1979)	COLUNA: TSK Gel G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: Água e 0,1M NaCl FLUXO: 0,5 e 1 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,025 a 0,1 mL	AMOSTRA: extrato alcalino de ácidos húmicos de sedimento.
Frigon <i>et al.</i> (1983)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0,01M fosfato de sódio + AcNH <sub>4</sub> de 0 a 0,5M (pH 7) FLUXO: 1 mL min <sup>-1</sup> 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 <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinou Pb por GFAAS.</li> </ul>
Becher <i>et al.</i> (1985)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0,02M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (pH 6,5) FLUXO: 1 mL min <sup>-1</sup> 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"> <li>Faz teste de força iônica (I) na eluição de ácidos húmicos.</li> </ul>
Gardiner <i>et al.</i> (1987)	COLUNA: Superose 12 ELUENTE: 0,2M AcNa pH 3,8 FLUXO: 0,3 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Coletou 70 frações de 0,6mL.</li> <li>Determinou Al e Fe por GFAAS.</li> <li>Apona como fazer a análise de recuperação de Al no eluente.</li> </ul>

Referência	Principais características operacionais	Outras informações
Ceccanti <i>et al.</i> (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"> <li>AMOSTRA: ácido húmico extraído por pirofosfato-Na/HCl.</li> </ul>
Berdén & Berggren (1990)	COLUNA: TSKgel G2000SWXL (7,8x300mm) ELUENTE: NaNO <sub>3</sub> (pH 6) e Ac.NH <sub>4</sub> /NaNO <sub>3</sub> 1:3 (pH 7) FLUXO: 1,0 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 260 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	<p>AMOSTRA: solução do solo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Testou NaNO<sub>3</sub> (pH 6) e Ac.NH<sub>4</sub>/NaNO<sub>3</sub> 1:3 (pH 7) com I de 0,05, 0,1, 0,15 e 0,20M na eluição do AH.</li> </ul>
Morrison & Park (1990)	COLUNA: TSK G3000 SW (8x300mm) ELUENTE: Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> + NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,0058M e pH 5,8 FLUXO: 0,75 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 284 nm VOLUME do LOOP: 0.2 mL	<p>AMOSTRA: solução do solo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Coletou frações de 0,25mL para Cu por GFAAS.</li> <li>Cita efeitos de I (efeito coulombico).</li> </ul>
Rausa <i>et al.</i> (1991)	COLUNA: Shodex Ionpak S-802S, S-803S, S-804S ELUENTE: NaNO <sub>3</sub> 0.03 ou 0.05M FLUXO: 0,6-1,0 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 262 nm VOLUME do LOOP: ?	<p>AMOSTRA: humatos de sódio, de carvão e compostos orgânicos.</p>
Castilho <i>et al.</i> (1993)	COLUNA: Zero-pressure Sephadex G-75 (16mm x 400mm) ELUENTE: 10 <sup>-2</sup> M KCl, pH = 7.0 FLUXO: 100 mL h <sup>-1</sup> DETECÇÃO: UV 215 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	<p>AMOSTRA: solução de solo de tratamento com lodo de suíno</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Coletou de 20 a 80 frações (10 a 2,5 mL) e analisou Cd, Zn, Cu, DOC, etc.</li> <li>Varredura UV entre 245 e 500nm para identificar grupos funcionais.</li> </ul>

Referência	Principais características operacionais	Outras informações
Kerven <i>et al.</i> (1995)	COLUNA: Fractogel TSK HW-40(s) ELUENTE: 0,02M KCl pH 4,2 FLUXO: 1 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>O eluído foi misturado continuamente com solução MAKEUP de 10mg/L de Sc.</li> <li>Acoplamento direto no ICP-OES.</li> </ul>
Zernichow & 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 <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	AMOSTRA: água de rio <ul style="list-style-type: none"> <li>Adicionou tampão à amostra antes da injeção.</li> <li>Coletou 40 frações de 0,6mL.</li> <li>Determinou Al por GFAAS.</li> </ul>
Hees <i>et al.</i> (1996)	COLUNA: Bio-Gel P2 (16 x 300mm) cut-off 1800D (separa ácidos orgânicos de baixa massa molecular de Ac.Húmicos) ELUENTE: 0,1M NaSCN FLUXO: 0,26 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 400 nm VOLUME do LOOP: ?	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Testou vários sais como eluentes e preferiu o NaSCN pois não houve adsorção.</li> <li>Cita Supelco Gel C610H para ácidos de baixo peso molecular.</li> <li>Coletou frações de 2,6mL para Al.</li> </ul>
Tsunoda <i>et al.</i> (1997)	COLUNA: Shodex Asahipac-320 HQ ELUENTE: 0,1M NaNO <sub>3</sub> (pH 3,0) FLUXO: 0,4 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: pós coluna-fluorimetria VOLUME do LOOP: 20 mm <sup>3</sup>	AMOSTRA: Extrato aquoso de solo. <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinou Al.</li> </ul>
Romkens & Dolfing (1998)	COLUNA: Bio-Sil SEC 250 (7,5 x 600mm) ELUENTE: 0,05M NaNO <sub>3</sub> ou H <sub>2</sub> O pH 6,0 FLUXO: 1 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 200 e 250 nm VOLUME do LOOP: 0,020 ml	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Avaliou efeito de força iônica (I) e sais nos picos.</li> <li>Determina efeito de Ca e Cu na precipitação DOC.</li> </ul>
Casartelli (1999)	COLUNA: Toyopearl HW40S (1x36cm) ELUENTE: KCl 0,02M FLUXO: 1,0 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Usou calibração com proteínas.</li> </ul>

Referência	Principais características operacionais	Outras informações
Conte & Piccolo (1999a)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0,05M NaNO <sub>3</sub> com: 0,004M NaN <sub>3</sub> , ou 4,6x10 <sup>-7</sup> M metanol (pH 6,97), ou com HCl pH 5,54 ou 4,6x10 <sup>-7</sup> M AcH pH 5,69 FLUXO: 0,6 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: ácidos húmicos isolados de solos <ul style="list-style-type: none"> <li>• Usou calibração com polissacarídeos (explica o porque) e 4 eluentes (não houve diferença).</li> </ul>
Conte & Piccolo (1999b)	COLUNA: TSK G3000SW e Biosep S2000 ELUENTE: 0,05M NaNO <sub>3</sub> com: 0,004M NaN <sub>3</sub> (I= 0,05, pH 7,0) FLUXO: 0,6 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: ácidos húmicos isolados de solos <ul style="list-style-type: none"> <li>• Usou calibração com polissacarídeos.</li> </ul>
Hils <i>et al.</i> (1999)	COLUNA: Superdex 75HR (10/30) ou Peptide HR 10/30 ELUENTE: água demineralizada FLUXO: 1 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteínas para calibrar (mostra a concentração de cada uma).</li> <li>• Testou coluna catiônica para separar Al-org. do inorg.</li> <li>• Discute acoplamento ICP-MS/HPLC.</li> </ul>

Referência	Principais características operacionais	Outras informações
Kerven <i>et al.</i> (1995)	COLUNA: Fractogel TSK HW-40(s) ELUENTE: 0,02M KCl pH 4,2 FLUXO: 1 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>O eluído foi misturado continuamente com solução MAKEUP de 10mg/L de Sc.</li> <li>Acoplamento direto no ICP-OES</li> </ul>
Zernichow & 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 <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,2 mL	AMOSTRA: água de rio <ul style="list-style-type: none"> <li>Adicionou tampão à amostra antes da injeção</li> <li>Coletou 40 frações de 0,6mL</li> <li>Determinou Al por GFAAS.</li> </ul>
Hees <i>et al.</i> (1996)	COLUNA: Bio-Gel P2 (16 x 300mm) cut-off 1800D (separa ácidos orgânicos de baixa massa molecular de Ac.Húmicos) ELUENTE: 0,1M NaSCN FLUXO: 0,26 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 400 nm VOLUME do LOOP: ?	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Testou vários sais como eluentes e preferiu o NaSCN pois não houve adsorção</li> <li>Cita Supelco Gel C610H para ácidos de baixo peso molecular</li> <li>Coletou frações de 2,6mL para Al</li> </ul>
Tsunoda <i>et al.</i> (1997)	COLUNA: Shodex Asahipac-320 HQ ELUENTE: 0,1M NaNO <sub>3</sub> (pH 3,0) FLUXO: 0,4 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: pós coluna-fluorimetria VOLUME do LOOP: 20 mm <sup>3</sup>	AMOSTRA: Extrato aquoso de solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinou Al</li> </ul>
Romkens & Dolfing (1998)	COLUNA: Bio-Sil SEC 250 (7,5 x 600mm) ELUENTE: 0,05M NaNO <sub>3</sub> ou H <sub>2</sub> O pH 6,0 FLUXO: 1 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 200 e 250 nm VOLUME do LOOP: 0,020 ml	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Avaliou efeito de força iônica (I) e sais nos picos</li> <li>Determina efeito de Ca e Cu na precipitação DOC</li> </ul>
Casartelli (1999)	COLUNA: Toyopearl HW40S (1x36cm) ELUENTE: KCl 0,02M FLUXO: 1,0 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 254 nm VOLUME do LOOP: 0,5 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>Usou calibração com proteínas.</li> </ul>

Referência	Principais características operacionais	Outras informações
Piccolo <i>et al.</i> (1999)	COLUNA: Biosep S2000 (7,5x600mm) ELUENTE: 0.05M NaNO <sub>3</sub> + 0.004M NaN <sub>3</sub> (pH 7, I = 0,005M) FLUXO: 0,6 mL min <sup>-1</sup> 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"> <li>• Usou polissacarídeos para calibrar.</li> <li>• Estudou estabilidade conformacional de humatos-Na em presença de ácidos monocarboxílicos e HCl (que não alterou I).</li> </ul>
Mitrovic & Milacic (2000)	COLUNA: Superdex HR 75 10/30 ELUENTE: Tampão tris-HCl + NaCl FLUXO: 0,35cm <sup>3</sup> min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 278 nm VOLUME do LOOP: 0,2 ou 1 cm <sup>3</sup>	AMOSTRA: extrato aquoso de solo <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mostra como preparar solução, a partir de padrões, de Al-Hum e Al-Ful</li> <li>• Coletou frações de 0,875cm<sup>3</sup> e determinou Al.</li> <li>• Usou outra coluna (catiônica).</li> </ul>
Cozzolino <i>et al.</i> (2001)	COLUNA: Biosep S2000 (7,5x600mm) ELUENTE: 0.05M NaNO <sub>3</sub> + 0.004M NaN <sub>3</sub> FLUXO: 0,6 mL min <sup>-1</sup> 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"> <li>• Usou polissacarídeos para calibrar.</li> <li>• Estudou estabilidade conformacional de humatos-Na.</li> </ul>
Piccolo <i>et al.</i> (2001)	COLUNA: TSK G3000SW (7,5x600mm) ELUENTE: 0,05M NaNO <sub>3</sub> com: 0,004M NaN <sub>3</sub> , ou 4,6x10 <sup>-7</sup> M metanol (pH 6,97), ou com HCl pH 5,54 ou 4,6x10 <sup>-7</sup> M AcH pH 5,69 FLUXO: 0,6 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 280 nm VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: ácidos húmicos isolados de solo, carvão e lignita <ul style="list-style-type: none"> <li>• Usou polissacarídeos e polímeros para calibrar, mas usou detecção por índice de refração.</li> </ul>
Pérez (2002)	COLUNA: Superdex 75 HR 10/30 ELUENTE: água e 0,01 M NaCl FLUXO: 1,0 mL min <sup>-1</sup> DETECÇÃO: 200 a 300 nm (DAD) VOLUME do LOOP: 0,1 mL	AMOSTRA: solução do solo <ul style="list-style-type: none"> <li>• Usou proteínas na calibração;</li> <li>• Detecção por arranjo de diodo;</li> <li>• Coletou frações de 300µL e determinou Al, Fe, Mn.</li> </ul>