



**Ministério  
da Agricultura  
e do Abastecimento**

# Avaliação de Extratores de Substâncias Húmicas de um LATOSSOLO VERMELHO Distroférico

**Embrapa**

***República Federativa do Brasil***

*Presidente:* Fernando Henrique Cardoso

***Ministério da Agricultura e do Abastecimento***

*Ministro:* Marcus Vinicius Pratini de Moraes

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)***

*Presidente:* Alberto Duque Portugal

*Diretores:* Elza Ângela Battaglia Brito da Cunha  
José Roberto Rodrigues Peres  
Dante Daniel Giacomelli Scolari

***Embrapa Solos***

*Chefe Geral:* Doracy Pessoa Ramos

*Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento:* Celso Vainer Manzatto

*Chefe Adjunto de Apoio e Administração:* Paulo Augusto da Eira

AVALIAÇÃO DE EXTRATORES DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE UM  
LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRICO

Tony Jarbas Ferreira Cunha

Neli do Amaral Meneguelli

Mauro da Conceição

Pedro Luiz Oliveira de Almeida Machado

Alessandra Alexandre Freixo

**Embrapa**

---

**Solos**

Copyright © 2000. Embrapa

Embrapa Solos. Boletim de Pesquisa nº 7

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Solos**

Rua Jardim Botânico, 1.024

22460-000 Rio de Janeiro, RJ

Tel: (0\_\_21) 274-4999

Fax: (0\_\_21) 274-5291

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

Site: <http://www.cnps.embrapa.br>

**Tratamento editorial**

Jacqueline Silva Rezende Mattos

**Revisão de texto**

André Luiz da Silva Lopes

**Normalização bibliográfica**

Maria da Penha Delaia

**Capa**

Lipedias

**Revisão final**

Jacqueline Silva Rezende Mattos

1a. edição

Tiragem desta edição: 300 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

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

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.**

**Embrapa Solos**

---

Avaliação de extratores de substâncias húmicas de um latossolo vermelho distroférico / Tony Jarbas Ferreira da Cunha ... [et al.] . - Rio de Janeiro : Embrapa Solos, 2000.  
15 p. - (Embrapa Solos. Boletim de Pesquisa ; n. 7).

ISSN 1517-5219

1. Solo - Latossolo Vermelho Distroférico - Análise. 2. Substâncias húmicas - Extração - Método. 3. Substâncias húmicas - Caracterização I. Cunha, Tony Jarbas Ferreira da. II. Meneguelli, Neli do Amaral. III. Conceição, Mauro da. IV. Machado, Pedro Luiz Oliveira de Almeida. V. Freixo, Alessandra Alexandre. VI. Embrapa Solos (Rio de Janeiro, RJ). VII. Título. VIII. Serie.

---

CDD(21.ed.)631.4

## AUTORIA

Tony Jarbas Ferreira Cunha <sup>1</sup>

Neli do Amaral Meneguelli <sup>1</sup>

Mauro da Conceição <sup>1</sup>

Pedro Luiz Oliveira de Almeida Machado <sup>2</sup>

Alessandra Alexandre Freixo <sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> Pesquisador, Eng. Agrôn., M.Sc., Embrapa Solos. E-mail: tony@cnps.embrapa.br, neli@cnps.embrapa.br, mauro@cnps.embrapa.br.

<sup>2</sup> Pesquisador, Eng. Agrôn., Ph.D., Embrapa Solos. E-mail: pedro@cnps.embrapa.br

<sup>3</sup> Estagiária Embrapa Solos.

# SUMÁRIO

Resumo • *vii*

Abstract • *ix*

1 INTRODUÇÃO • **1**

2 MATERIAL E MÉTODOS • **3**

2.1 Métodos de extração de substâncias húmicas • **3**

2.2 Fracionamento das substâncias húmicas extraídas do solo • **5**

2.3 Caracterização das substâncias húmicas • **6**

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO • **7**

4 CONCLUSÕES • **12**

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS • **13**

## RESUMO

Objetivando-se avaliar quatro diferentes tipos de extratores químicos de substâncias húmicas, quais sejam: 1) resina quelatizante, 2) método de Kononova ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  +  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ ), 3) método da Soda, Schnitzer (1982) ( $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ ), 4) Dabin (pré-tratamento com  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $2\text{mol L}^{-1}$ , seguido de extração com  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  e  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ ), coletaram-se amostras do horizonte A (0-10cm) de um Latossolo Vermelho Distroférrico sob floresta tropical subperenifólia em Bela Vista do Paraíso, PR. Utilizou-se o método da coluna cromatográfica por exclusão, com esferas porosas de vidro, para fracionamento das substâncias húmicas obtidas com os diferentes extratores. Foi observada a seguinte ordem de extração: Dabin ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ ) > Schnitzer ( $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ ) > Dabin ( $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ ) = Kononova > Resina quelatizante. Na maioria dos extratos houve predominância de ácidos fúlvicos.

*Termos de indexação:* matéria orgânica, ácidos fúlvicos, ácidos húmicos, humina, floresta tropical, Paraná.

## ABSTRACT

### *Evaluation of Extractants of Humic Substances of a Rhodic Ferralsol*

Four extraction procedures including ionic exchange resin, Kononova method ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 + 0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ ), method recommended by Schnitzer ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ ) and Dabin method (pretreatment with  $2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_3\text{PO}_4$  followed by extraction with  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  and  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ ), were used to extract humic substances from the A horizon (0-10cm) of a Rhodic Ferralsol under semi-evergreen tropical forest in Bela Vista do Paraíso, Paraná State, Brazil. Grey humic acids, brown humic acids and fulvic acids were analysed chromatographically on controlled pore glass. Extractabilities decreased in the following order: Dabin ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) > Schnitzer ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ ) > Dabin ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ ) = Kononova method > ionic exchange resin. The majority of the extracts contained predominantly fulvic acids.

*Index terms:* organic matter, fulvic acids, humic acids, humine, tropical forest, Paraná.

## 1 INTRODUÇÃO

As substâncias húmicas, que constituem aproximadamente 90% da matéria orgânica do solo, são definidas como substâncias coloidais amorfas, de ocorrência natural, heterogêneas e de alto peso molecular variando de 800 a valores superiores a 1.000.000 Daltons (Aiken et al., 1985). Estas exercem influência amplamente reconhecida nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo e, conseqüentemente, no crescimento das plantas (Roth et al., 1992). Em sua hidrólise ácida, aparecem substâncias insolúveis denominadas ácidos húmicos; na hidrólise alcalina, encontram-se os ácidos fúlvicos; e, finalmente, a humina que é insolúvel tanto em meio ácido como em meio alcalino.

Para se fazer um estudo minucioso das substâncias húmicas dos solos, investigando suas características estruturais e comportamento químico, há a necessidade de se isolar estes materiais orgânicos do componente argilo-mineral. O uso de soluções de NaOH 0,1mol L<sup>-1</sup> (Stevenson, 1994), KOH 0,1mol L<sup>-1</sup> e 0,25mol L<sup>-1</sup> (Cegarra et al. 1994), e de Pirofosfato de Sódio 0,1mol.L<sup>-1</sup> (Yormah et al., 1997), tem sido empregado para o isolamento de substâncias húmicas dos solos.

Apesar de muitas substâncias serem usadas para a extração das substâncias húmicas do solo, as mais usadas têm sido soluções alcalinas diluídas, principalmente NaOH. Por outro lado, o melhor extrator deve ser aquele que pode remover todas as substâncias húmicas sem produzir artefatos durante a extração. Todavia, devido à heterogeneidade do húmus do solo e à complexidade de sua interação com componentes minerais, não é surpresa que a quantidade e composição das substâncias húmicas extraídas sejam afetadas não só pela concentração e tipo de

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a condução deste estudo, foi selecionado um LATOSSOLO VERMELHO Distroférico no município de Bela Vista do Paraíso-PR, sob floresta tropical subperenifólia. A profundidade de amostragem foi de 0 a 10cm, com três repetições. As amostras foram previamente secas à sombra por, aproximadamente, 12 horas antes de serem transferidas para o Laboratório da Embrapa Solos, no Rio de Janeiro, RJ. Em seguida, foram secas ao ar (35°C), moídas e passadas em peneira com abertura de 2mm para caracterização química e física do solo (Tabela 1), conforme Embrapa (1997), e posterior condução do estudo.

**TABELA 1. Características físicas e químicas do solo estudado.**

Granulometria g.kg <sup>-1</sup>				pH H <sub>2</sub> O	C Orgânico g.kg <sup>-1</sup>	Cátions trocáveis mmol.c.dm <sup>-3</sup>				Acidez total	P mg.kg <sup>-1</sup>
Argila	Silte	Areia fina	Areia grossa			Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	K <sup>+</sup>	H + Al mmol.c.dm <sup>-3</sup>	
640	250	20	90	5,4	31	0,0	91	26	4,79	78	1

### 2.1 Métodos de extração de substâncias húmicas

Foram utilizados os seguintes métodos de extração:

- **método da Resina Quelatizante (Danneberg & Ullah, 1982)** - as substâncias húmicas foram extraídas do solo, utilizando-se água deionizada e resina quelatizante saturada com sódio (CHELEX 100, 100-200 mesh, BioRad, EUA), numa relação solo/resina/água de 1:2,5:5. Após agitação por 16 horas e centrifugação por 30 minutos a 15.000rpm e, sob temperatura nunca superior a 25°C, o sobrenadante, contendo água e substâncias húmicas, foi transferido para um frasco de polietileno e, após secagem a frio, os extratos foram armazenados congelados, em refrigerador, até o fracionamento. O controle da temperatura foi importante para

uma extração adequada, pois o isolamento de substâncias húmicas em meio alcalino (pH 9,0 a 12,0), sob temperaturas elevadas, pode levar à formação de ácidos húmicos com maior peso molecular (Cegarra et al., 1994).

- **método de Kononova (Kononova, 1966)** - as substâncias húmicas foram extraídas com solução de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  +  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ , numa relação solo/solução de 1:20, com agitação, centrifugação, liofilização e armazenamento idêntico ao método descrito no tópico A.
- **método da Soda (Schnitzer, 1982)** - as substâncias húmicas foram extraídas com solução de  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  numa relação solo/solução de 1:10. A suspensão foi agitada horizontalmente a 250rpm, por 24 horas. Após agitação, a suspensão foi centrifugada, o sobrenadante isolado, liofilizado e o extrato húmico armazenado de modo semelhante ao procedimento descrito no tópico A.
- **método de Dabin (Dabin, 1971)** - para extração das substâncias húmicas, a amostra de solo foi peneirada a 80mesh e tratada, preliminarmente, com  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $2\text{mol L}^{-1}$  (densidade 1:1), objetivando-se separar materiais orgânicos leves que, ao serem postos em contato direto com o pirofosfato ou a soda, podem resultar numa "neo-síntese" de ácidos fúlvicos ou húmicos (Dabin, 1971). As soluções ácidas foram recolhidas e separadas. Após a centrifugação, a fração pesada do solo foi lavada duas vezes com água deionizada para se extrair o excesso de ácido.

Após a lavagem, efetuaram-se duas extrações com  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  a pH 9,8 seguindo os mesmos passos de agitação e centrifugação descritos no tópico A.

Todos as suspensões correspondentes a cada extração foram misturadas após a centrifugação. Foi efetuada a liofilização das substâncias húmicas obtidas e o congelamento das mesmas, para posterior fracionamento.

Após a extração com  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ , seguiram-se mais duas extrações com  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  no resíduo da amostra de solo. Todos os líquidos correspondentes a cada extração foram misturados após a centrifugação. Foi efetuada a liofilização das substâncias húmicas obtidas e o congelamento das mesmas para posterior fracionamento.

## **2.2 Fracionamento das substâncias húmicas extraídas do solo**

O fracionamento de todos os extratos foi realizado por cromatografia de exclusão, segundo método proposto por Danneberg (1977), onde os ácidos húmicos cinzas e marrons ou brunos e os ácidos fúlvicos foram caracterizados, cromatograficamente, em coluna tipo C (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia), de 100cm de comprimento por 16mm de diâmetro interno. A coluna foi empacotada com esferas porosas de vidro, CPG "Controlled Pore Glass" 00170B, com tamanho de partícula de 120 a 200mesh e diâmetro de poro de 17nm (CPG Inc., Lincoln Park, NJ, EUA). Em relação à coluna contendo gel, como Sephadex, uma vantagem do fracionamento das substâncias húmicas em colunas contendo CPG reside no fato de tratar-se de um material inerte, que não reage ou não causa efeitos de adsorção com o componente orgânico a ser fracionado. Uma outra vantagem é o maior tempo de uso do CPG sem necessidade de trocá-lo com frequência. Descrição mais detalhada sobre a fabricação, os princípios e as vantagens da cromatografia em esferas porosas de vidro pode ser obtida em Haller (1965). Como solução eluente, utilizou-se o  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$   $0,02\text{mol L}^{-1}$  e  $\text{NaCl}$   $0,05\text{mol.L}^{-1}$ , de pH 9,0.

Parâmetros de calibração, tais como volume total ( $V_t$ ) e volume morto ( $V_o$ ), foram determinados após empacotamento da coluna. Para o volume morto ( $V_o$ ), usou-se uma solução contendo Blue Dextran 2.000 a 0,5% (Pharmacia Fine Chemicals; Uppsala, Suécia), enquanto que, para a determinação do volume total ( $V_t$ ), utilizou-se uma solução de fenolftaleína a 10%. Todo o sistema foi hermeticamente fechado para evitar a formação de bolhas de ar na coluna.

### 2.3 Caracterização das substâncias húmicas

Utilizaram-se os seguintes parâmetros para a caracterização das substâncias húmicas:

- **Grau de condensação molecular (E4/E6)** - o grau de condensação molecular foi obtido através das relações de absorvância no comprimento de onda de 400 e 600nm dos extratos (Chen *et al.*, 1977).
- **Coefficiente de partição - Valor de Kd (Tan & Giddens, 1972)** - o coeficiente de partição foi calculado através da fórmula:

$$Kd = \frac{V_e - V_o}{V_t - V_o}$$

onde:

$V_e$  = volume de eluição;  $V_o$  = volume vazio; e  $V_t$  = volume total.

A densidade ótica por grama de solo (d.o./g de solo) foi calculada pela integração do pico de absorvância.

Todos os resultados apresentados referem-se à média de três repetições. Os dados referentes às substâncias húmicas totais (SHT) e ácidos húmicos cinzentos (AHC) foram analisados estatisticamente, usando-se o procedimento PROC GLM do SAS (schlotzhaver & Littell, 1987). Para os ácidos húmicos marrons (AHM) + ácidos fúlvicos (AF), não foram efetuadas tais análises, em virtude do fracionamento realizado com os extratores 1, 2 e 3 não ter separado estes dois componentes húmicos.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2, são apresentados os teores e as características das substâncias húmicas totais extraídas do solo.

**TABELA 2. Características das substâncias húmicas extraídas do solo estudado.**

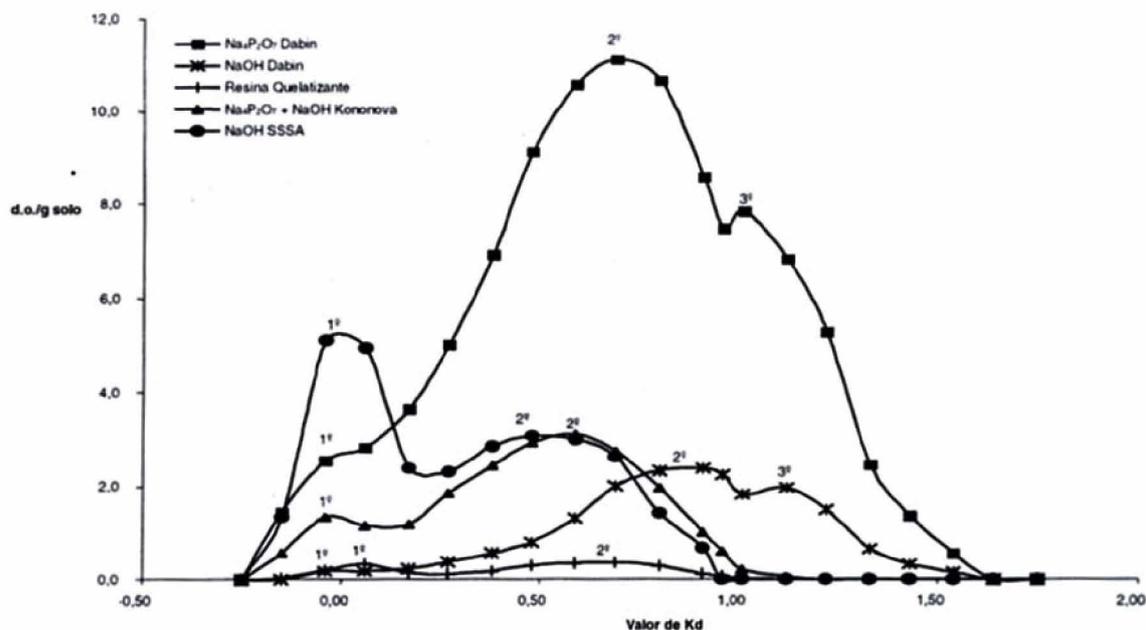
Método	AHC d.o.g <sup>-1</sup>	Valor Kd	AF + AHM d.o.g <sup>-1</sup>	Valor Kd	AF d.o.g <sup>-1</sup>	Valor Kd	SHT d.o.g <sup>-1</sup>
Resina Quelatizante	0,384 c	0,016	0,402	0,723	-	-	7,07 d
Kononova	1,243 c	-0,022	3,080	0,571	-	-	47,27 c
Soda	6,557 a	-0,008	2,933	0,505	-	-	69,05 b
Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 0,1 mol L <sup>-1</sup> (Dabin)	2,620 b	0,048	10,594	0,725	8,257	0,963	183,9 a
NaOH 0,1 mol L <sup>-1</sup> (Dabin)	0,252 c	0,014	2,444	0,887	1,948	1,053	35,65 c

AHC: ácido húmico cinza; AF: ácido fúlvico; AHM: ácido húmico marrom; SHT: substância húmica total; d.o.g<sup>-1</sup>: densidade ótica por grama de solo; Kd: coeficiente de partição.

Nota: médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Embora o fracionamento ou separação das substâncias húmicas em ácidos húmicos e fúlvicos seja normalmente conduzido pela acidificação do extrato e posterior centrifugação, foi adotado o fracionamento em coluna por exclusão, para todos os extratos, pela possibilidade de menor ocorrência de erro operacional ou de manipulação. As substâncias húmicas de alto peso molecular (ácidos húmicos cinzentos), independentemente do tipo de extrator químico, situaram-se num valor de Kd  $\cong$  0,0 (Tabela 2). Substâncias húmicas de baixo peso molecular (ácidos húmicos marrom e principalmente ácidos fúlvicos) concentraram-se num valor de Kd  $\cong$  0,6. No fracionamento dos extratos em pirofosfato de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup> (método de Dabin),

observou-se um terceiro pico no valor de  $K_d = 1,0$ . Trata-se, possivelmente, de um pico relacionado aos ácidos fúlvicos (Figura 1).



**FIGURA 1.** Cromatogramas das substâncias húmicas extraídas por diferentes extratores. 1º: pico de absorvância referente a ácidos húmicos cinza; 2º: pico de absorvância referente a ácidos húmicos marrons + ácidos fúlvicos; 3º: pico de absorvância referente a ácidos fúlvicos; d.o./g solo: densidade ótica por grama de solo; valor de  $K_d$ : coeficiente de partição.

Quanto às quantidades de substâncias húmicas extraídas, a solução de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  (método de Dabin) foi a que extraiu maiores quantidades de substâncias húmicas totais ( $183,9\text{d.o.g}^{-1}$  de solo), seguida das soluções de  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  (método da Soda),  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  +  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  (método de Kononova),  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  (método de Dabin) e método da resina, com valores médios de  $69,05$ ;  $47,27$ ;  $35,65$  e  $7,07\text{d.o.g}^{-1}$  de solo, respectivamente. A ação do extrator contendo sódio dá-se através da troca desse cátion monovalente ( $\text{Na}^+$ ) do extrator por um cátion polivalente no solo, que, por sua vez, age como metal ligante no complexo organo-mineral (Kutsch, 1985). Kononova (1966) constatou que a extração com solução de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  é menos eficiente que a procedida com  $\text{NaOH}$ . Neste estudo, as maiores quantidades de substâncias húmicas extraídas em solução de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  poderiam ser explicadas pelas duas sucessivas extrações conduzidas. Esta também poderia ser a provável explicação para o fato do extrato obtido em solução de  $\text{NaOH}$  do método de Dabin, conter quantidades duas vezes menor que no extrato em solução de  $\text{NaOH}$  do método da Soda, embora as soluções tivessem as mesmas concentrações de  $\text{NaOH}$ .

Exceto para o método da Soda, todos os outros se caracterizaram por apresentar mais ácidos fúlvicos e ácidos húmicos marrons que ácidos húmicos cinza. Machado & Gerzabek (1993) também observaram semelhante configuração num Latossolo Roxo da mesma região (Londrina, PR) utilizando o método de Kononova e da resina. Entretanto, este maior teor de componentes orgânicos de menor peso molecular (ácidos fúlvicos e ácidos húmicos marrom) pode tratar-se de artefatos produzidos durante a extração, pois extrações conduzidas em soluções fortemente alcalinas, como as presentes no método de Dabin, Kononova e da Soda, podem levar à oxidação de componentes orgânicos (Bremner, 1950), com conseqüente "quebra" de ácidos húmicos (Swift & Posner, 1972). Schuppli & Mckeague (1984) também demonstraram problemas de produção de artefatos ou componentes orgânicos de baixo peso molecular, como ácidos fúlvicos, nas extrações com soluções fortemente alcalinas.

Vários trabalhos constataram que também a resina, por ser um extrator mais ameno, evita a produção de artefatos orgânicos durante a extração (Kutsch, 1985). Todavia, a resina Chelex 100 apresenta fraca

capacidade de extração, que segundo Gerzabek & Ullah (1989), varia entre 13,5 e 55,5%. A variação na capacidade de extração deve-se, principalmente, às características do extrator químico, da mineralogia e da textura do solo (Kutsch, 1985) e, segundo Stevenson (1994), tanto a extração completa com frações representativas como a extração sem alteração das substâncias húmicas são dois requisitos de um extrator ideal.

Na Tabela 3, são apresentados os valores da relação E4/E6 das substâncias húmicas extraídas. A relação E4/E6 diminui com o aumento da condensação molecular e aromaticidade e, aparentemente, pode ser utilizada como um índice de humificação (Stevenson, 1994). Uma relação de 7 a 8 ou maior é normalmente observada para ácidos fúlvicos ou frações húmicas com peso molecular relativamente baixo. Por outro lado, uma relação de 3 a 5 ou menor é característica de ácidos húmicos e outros componentes de alto peso molecular (Kononova, 1966). A relação E4/E6 poderia, assim, corroborar os resultados obtidos no fracionamento em coluna por exclusão. Observa-se, na Tabela 3, que os valores da relação E4/E6m, referentes aos extratos obtidos com a resina e hidróxido de sódio, tanto do método de Dabin como o da Soda/Schnitzer, estão em consonância com o fracionamento, ou seja, são valores que caracterizam substâncias húmicas constituídas, predominantemente, de componentes orgânicos de baixo peso molecular. Entretanto, semelhante equivalência não foi observada para os extratos obtidos pelo método de Kononova e de Dabin ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$ ), onde os valores da relação E4/E6 (2,29 e 1,97, respectivamente) não refletem as configurações das substâncias húmicas obtidas no fracionamento em coluna por exclusão, seguido de determinação em espectrofotômetro a 400nm. Provavelmente, no momento da determinação dos valores de E4/E6, o alto valor de pH dos extratos (pH 9 a 12) pode ter ocasionado o surgimento de valores baixos da relação (Chen et al., 1977).

**TABELA 3. Relação E4/E6 de substâncias húmicas de Latossolo Roxo distrófico.**

Método de extração	E4/E6
Resina Quelatizante	8,00
Kononova	2,29
Soda	1,26
Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 0,1 mol L <sup>-1</sup> (Dabin)	1,97
NaOH 0,1 mol L <sup>-1</sup> (Dabin)	6,20

Neste estudo, foi constatado que os diferentes extratores apresentam diferentes capacidades de extração de substâncias húmicas com diferentes configurações. Parsons (1988) observou semelhante comportamento para solos de clima temperado. É necessário que novas comparações sejam conduzidas, em outras classes de solos, utilizando-se as técnicas espectroscópicas como a ressonância magnética nuclear e infra-vermelho com transformada de Fourier, para melhor constatar as alterações ou diferenças nas composições das substâncias húmicas.

## **4 CONCLUSÕES**

Os métodos testados apresentaram diferentes capacidades de extração de substâncias húmicas, onde os extratores alcalinos como  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  (método de Dabin) e  $\text{NaOH}$   $0,1\text{mol L}^{-1}$  (método da soda) foram os que extraíram as maiores quantidades. O extrator mais fraco foi a resina quelatizante.

As quantidades de ácidos húmicos + fúlvicos também variaram dependendo do extrator, onde, exceto para o método da Soda, todos os outros extratores continham mais ácidos fúlvicos que húmicos.

O método de Dabin, envolvendo soluções de  $\text{NaOH}$  e  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , levou ao surgimento de um terceiro pico no cromatograma, que pode ser unicamente relativo a ácidos fúlvicos.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L. ; McCARTHY, P. An introduction to humic substances in soil, sediment and water, In: AIKEN, G.R. et al., ed. **Humic substances in soil, sediment and water**. New York: Wiley-Interscience, 1985. p.1-9.
- BREMNER, J. M. Some observations on the oxidation of soil organic matter in the presence of alkali. **The Journal of Soil Science**, Oxford, v. 1, n. 2, p.198-204, 1950.
- CEGARRA, J.; GARCIA, D.; NAVARRO, A.; BERNAL, M. P. Effects of heat on the alkali extraction of humic substances from peat. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, p.2685-2695, 1994.
- CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.40, p.682-686, 1977.
- DABIN, B. Étude d'une méthode de fractionnement des matières humiques du sol. **Science du Sol**, Versailles, v.1, p.47-63, 1971.
- DANNEBERG, O. H. Chromatography of humic substances on controlled pore glass. In: SYMPOSIUM ON SOIL ORGANIC MATTER STUDIES, 1976, Braunschweig, Germany. **Proceedings...** Viena: IAEA, 1977. p221-228,
- DANNEBERG, O. H.; ULLAH, S. M. Chromatographische Unterscheidung von Huminstoffen und Nichthuminstoffen aus Schwarzerdehumus. **Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkunde**, Weinheim, v.145, p.526-538, 1982.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

- GERZABEK, M. H.; ULLAH, S. M. Humic substances in soils from Bangladesh, Namibia and Canada. **Agrophysics**, Budapest, v. 5, p.197-203, 1989.
- HALLER, W. Chromatography on glass of controlled pore size. **Nature**, London, v.206, p.693-696, 1965.
- KONONOVA, M. M. **Soil organic matter**. 2.ed. London: Pergamon, 1966. 544p.
- KUTSCH, H. Zur Verwendung von chelatisierenden Harzen bei der Extraktion von Huminstoffen aus Mineralboeden. **Landwirtschaftliche Forschung**, Frankfurt a.M., v.38, p.245-254, 1985.
- MACHADO, P. L. O. de A.; GERZABEK, M. H. Tillage and crop rotation interactions on humic substances of a Typic Haplorthox from Southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v.26, p. 227-236, 1993.
- ORIOLO, G. A. & CURVETTO, N. R. Evaluation of extractants for soil humic substances. I. Isotachophoretic Studies. **Plant and Soil** 55, 1980, p. 353-361.
- PARSONS, J. W. Isolation of humic substances from soils and sediments. In: FRIMMEL, F.H.; CHRISTMAN, R.F. **Humic substances and their role in the environment**. Chichester: John Wiley, 1988. p.3-14.
- ROTH, C. H.; WILCZYNSKI, W.; CASTRO FILHO, C. Effect of tillage and liming on organic matter composition in a Rhodic Ferralsol from Southern Brazil. **Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkunde**, Weinheim, v.155, p.175-179, 1992.
- SCHLOTZHAVER, S. D.; LITTELL, R. C. **System for elementary statistical analysis**. Cary, USA: SAS Institute Inc., 1987. p.224-228.

- SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H. & KEENEY, D. R. ed. **Methods of soil analysis, part 2. Chemical and microbiological properties**. 2<sup>a</sup> ed. ASS, SSSA, publisher. Madison, Wisconsin USA, 1982.
- SCHUPPLI, P. A.; McKEAGUE, J. A. Limitations of alkali-extractable organic fractions as bases of soil classification criteria. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.64, p.173-186, 1984.
- STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2ed. New York,: J. Wiley, 1994. 496p.
- SWIFT, R. S. & POSNER, A. M. Autoxidation of humic acid under alkaline conditions. **The Journal of Soil Science**, Oxford, v.23, p.381-393, 1972.
- TAN, K. H.; GIDDENS, J. E. Molecular weights and spectral characteristics of humic and fulvic acids. **Geoderma**, Amsterdam, v. 8, p.221-229, 1972.
- YORMAH, T. B. R.; HAYES, M. H. B.; WILSON, W. S. **Humic substances from a tropical soil. Humic substances in soils, peats and waters: health and environmental aspects**. Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry, 1997, p.176-186.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA  
E DO ABASTECIMENTO

