

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÁCIDO HÚMICO DE SOLO DA ILHA DE CANANÉIA E DE SUA INTERAÇÃO COM Fe(III), Cu(II) E Cd(II)

Maria Cláudia Pinheiro Barros, José Realino de Paula e Maria Olímpia de O. Rezende
Instituto de Química de São Carlos - USP - Cx. P. 369 - 13560-970 - São Carlos - SP

Recebido em 2/2/94; cópia revisada em 12/5/94

In this work humic acid was extracted from Cananeia Island's soil (São Paulo State). The humic acid was purified, characterized and its interaction with metals (Fe(III), Cu(II), and Cd(II)) was studied by means of data obtained from ultraviolet, visible and infrared spectroscopies, and differential pulse polarography. The stability constants of the humic acid-metal complexes were determined by using paper chromatography in a wide range of pH. For Fe(III), Cu(II), and Cd(II) cations, log K values were found to be 8.85, 8.19, and 5.65, respectively, at pH 5.0.

Keywords: humic acid-metal interactions; infrared spectroscopy; potentiometric titration; differential pulse polarography; paper chromatography.

INTRODUÇÃO

As substâncias húmicas, que compõem o ácido húmico, o ácido fúlvico e a humina, originam-se da degradação química e biológica de resíduos de plantas e animais e da atividade metabólica de microorganismos. Os ácidos húmicos são definidos operacionalmente como a fração das substâncias húmicas que é solúvel em meio alcalino diluído e precipita pela acidificação do extrato alcalino. Os ácidos fúlvicos permanecem em solução quando o extrato alcalino é acidificado e a humina é a fração não extraída por ácido ou álcali diluídos. Investigações químicas das substâncias húmicas datam de 200 anos atrás¹.

As substâncias húmicas desempenham um papel importante no ambiente devido a várias características. Uma delas é ajudar na germinação de sementes, pois fazem aumentar a retenção de calor pelo solo, graças à coloração tipicamente escura que possuem. Devido à alta capacidade de retenção de água, até vinte vezes a sua massa, as substâncias húmicas evitam o escoamento sendo, portanto, importantes na conservação do solo contra a erosão. Ao combinarem-se com argilas minerais, cimentam partículas do solo em agregados e permitem a troca de gases, aumentando a permeabilidade. A decomposição da matéria orgânica produz NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-} , que são nutrientes importantes para o crescimento de plantas. Uma outra propriedade importante das substâncias húmicas é a habilidade de interagir com íons metálicos para formar complexos de diferentes estabilidades e características estruturais. A habilidade das substâncias húmicas formarem complexos estáveis com íons metálicos é devida ao alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio, tais como carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas^{2,3,5}. Além da ação fertilizante, as substâncias húmicas desempenham um papel importante em vários setores da economia pela sua importância como fonte de energia⁶.

Nas plantas o ferro é considerado um metal chave em transformações energéticas necessárias para a síntese e outros processos vitais das células^{7,8}. Em solos ricos em ferro, porém, a absorção excessiva dele pode produzir efeitos tóxicos para as plantas. Os sintomas dessa toxicidade dependem das espécies e dos estágios de crescimento^{8,9}. A perda de folhas, por exemplo, indica acumulação excessiva de ferro. A geoquímica do ferro é muito complexa no ambiente terrestre e é fortemente influenciada pelo equilíbrio entre os estados de oxidação +2 e

+3. O cobre exibe uma alta capacidade para interagir quimicamente com componentes orgânicos e minerais do solo. Os íons cobre podem facilmente precipitar com vários ânions como sulfeto, carbonato e hidróxido. Deste modo, o cobre é um elemento que apresenta pouca variação em conteúdo no perfil do solo, tendendo a acumular-se na superfície¹⁰. É essencial para as plantas, porém é tóxico quando em excesso. O cádmio é tóxico e quando absorvido pelas plantas pode provocar uma clorose progressiva das folhas seguida de necrose^{10,11}.

Neste trabalho estudou-se a interação de ácido húmico (AH) com íons Fe(III), Cu(II) e Cd(II). Extraíu-se o AH do solo da Ilha de Cananéia, situada no litoral sul do Estado de São Paulo.

O objetivo deste estudo foi a determinação dos principais grupos funcionais de AH não cultivado e sua interação com metais no sentido de enfatizar-se a formação de complexos ou quelatos. O estudo das substâncias húmicas permite um melhor aproveitamento do solo. A maioria dos estudos trata de solos de regiões temperadas, dando-se pouca ênfase ao estudo de AH de regiões tropicais e subtropicais. Realizou-se o estudo da interação AH/metálico por espectroscopia vibracional na região do infravermelho, por titulação potenciométrica, por polarografia de pulso diferencial e por cromatografia em papel. Os resultados mostram que a afinidade do AH pelo cátion metálico segue a ordem: Fe(III) > Cu(II) > Cd(II).

EXPERIMENTAL

Coletou-se a amostra a uma distância de aproximadamente 1200 m do embarcadouro através do Mar Pequeno em direção ao centro da ilha a 25° S e a 48° W. Efetuou-se a coleta na superfície do solo com um amostrador Hiller e armazenou-se em sacos de polietileno. Secou-se o solo ao ar e passou-se em peneira de malha 60-AS. Tomou-se amostras de 400g subdivididas em 8 erlenmeyers. Ao solo úmido, reidratado com água, adicionou-se solução de HCl 0,5M para eliminação de carbonatos e íons metálicos fracamente ligados. Após a centrifugação a 1000 rpm durante 30 min, removeu-se o sobrenadante ácido. Em seguida lavou-se o solo com água destilada até pH neutro. A seguir, procedeu-se à extração do AH. Para isso usou-se NaOH 0,50M como líquido extrator, em atmosfera de N_2 ¹², na proporção de um volume de sedimento para dez volumes de solução. Acidificou-se o extrato alcalino com HCl 6M a pH 2,0 para que ocorresse a precipitação do AH. Separou-se o

AH do sobrenadante contendo ácido fúlvico, por decantação e redissolveu-se o mesmo em NH_4OH . Eluiu-se a suspensão em resinas trocadoras de íons. Em seguida, após liofilização, obteve-se o AH purificado com um teor final de cinzas de 3,08%.

Para a obtenção dos espectros de UV-vis, utilizou-se um espectrofotômetro Hewlett-Packard modelo 8452A, com resolução de 3 nm. Dissolveu-se 2,0 mg de AH seco em 10,0 mL de solução aquosa de NaHCO_3 0,050 $\text{M}^{1,3}$ e efetuou-se a varredura do espectro na região de 200 a 800 nm. Para obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho, preparou-se pastilhas de AH em KBr. Secou-se o AH em estufa a vácuo a 70°C por 1 h^{13,3} e resfriou-se em dessecador sob vácuo. Pulverizou-se 10,0 mg de AH com 200 mg de KBr. No caso dos complexos AH-metal, adicionou-se 20,0 mL de solução 5,0 μM dos cátions metálicos a uma alíquota de 10,0 mL de suspensão de AH 10,0 g/L. Ajustou-se o pH para 5,0 com adição de solução de KOH 0,050 M. Deixou-se em repouso por um período de 3 dias, com agitação ocasional¹⁴. Liofilizou-se a mistura e preparou-se as pastilhas como descrito para o AH sem os metais. Utilizou-se um espectrômetro FT-IR Bomem Michelson modelo MB-102, operando na região espectral de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , com resolução nominal de 4,0 cm^{-1} .

Para a titulação potenciométrica utilizou-se um pHmetro Micronal B374 com eletrodo de vidro combinado. Adicionou-se 125,0 mg de AH em 25,00 mL de solução aquosa de NaOH 0,050 M. Transferiu-se 20,00 mL dessa suspensão para um balão de 50,00 mL e ajustou-se o pH para 2,00, mantendo-se a força iônica constante em 0,10M. Completou-se o volume com água deionizada e titulou-se com solução de NaOH 0,1016 M até pH 11. Obteve-se as curvas de titulação AH/metal utilizando-se 10,00 mg de AH, segundo o mesmo procedimento anterior, e adicionando-se 20,0 μmoles dos referidos cátions.

Para o estudo polarográfico utilizou-se suspensões de AH de 50, 100, 200, 300, 400 e 500 mg/L em KNO_3 0,10 M a pH 9,0. Realizou-se uma varredura de 0,0 a -1,2 V a 20 mV/s e com tempo de gotejamento de 1 s. Para o estudo da interação AH-metal, utilizou-se 3,00 mg/L de Fe(III) em tampão oxalato-ácido oxálico pH 4,0; 3,00 mg/L de Cu(II) e 0,300 mg/L de Cd(II), ambos em tampão acetato-ácido acético pH 5,0. Registrou-se os polarogramas em um polarógrafo Princeton Applied Research modelo 384B, com Ag/AgCl como eletrodo de referência.

Para a avaliação das constantes de estabilidade, utilizou-se a cromatografia em papel, relacionando-se os valores de R_f à interação AH/metal. Marcou-se levemente a lápis tiras de papel de filtro Whatman n° 1. Impregnou-se as tiras com suspensão 1,00 g/L de AH. Depois de secas, aplicou-se gotas de soluções-estoque de cada metal no centro das linhas marcadas a lápis. Em seguida, fez-se correr o eluente constituído de tampão acetato-ácido acético em 80% v/v de etanol / água em valores de pH de 3,0 a 7,0. Depois de secos, revelou-se as tiras com sulfato de amônio em uma câmara de luz fluorescente. Obteve-se os valores das constantes de estabilidade utilizando-se os valores de R_f .

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico. Preparou-se as soluções-estoque de cloretos de Fe(III), Cu(II) e Cd(II) com concentração de 1,000 g/L.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O AH purificado apresentou uma percentagem em massa de 47,52 de carbono, 3,50 de hidrogênio, 0,98 de nitrogênio e, por diferença, 48% de oxigênio. A razão E4/E6 foi 5,9. Esse valor é concordante com resultados obtidos anteriormente em nosso laboratório para AH da Ilha de Cananéia, embora na literatura o valor da razão E4/E6, razão entre as absorvâncias a 465 e 665 nm, respectivamente, varie principalmente na faixa de 3,0 a 5,0. O alto valor encontrado para o AH aqui estudado reflete

um baixo grau de condensação aromática e, conseqüentemente, a presença de mais estruturas alifáticas de cadeias menores. Para verificar-se qual é o grupo funcional do AH que participa com maior intensidade na interação com íons metálicos, registrou-se os espectros de infravermelho deste com Fe(III), Cu(II) e Cd(II). A figura 1 apresenta os espectros obtidos. A tabela 1 mostra o número de onda das bandas de absorção mais características do AH e de seus complexos ou quelatos.

No caso do AH verificou-se a existência de uma banda larga e forte centrada em 3421 cm^{-1} que pode ser atribuída ao estiramento $\nu(\text{O-H})$ devido à água ligada. Observou-se também o aparecimento das bandas em 2922 e 2851 cm^{-1} que podem ser atribuídas ao estiramento anti-simétrico e simétrico C-H dos grupos alifáticos, respectivamente. A banda em 1723 cm^{-1} é atribuída ao estiramento $\nu(\text{C=O})$ de grupos carboxílicos que provavelmente encontram-se conjugados. A banda em 1615 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento $\nu(\text{C=C})$ do anel, ie, às vibrações de esqueleto aromático. Esta banda também pode ser atribuída ao estiramento anti-simétrico do grupo carboxilato $\nu_{as}(\text{COO}^-)$ e ao estiramento $\nu(\text{C=O})$ do grupo COOH, devido ao H ligado a grupo OH em posição orto, como no ácido salicílico. Devido ao pequeno deslocamento desta banda quando da formação dos complexos AH-metal, pode-se atribuí-la principalmente ao estiramento do grupo carboxilato. A banda em 1406 cm^{-1} é atribuída ao estiramento simétrico $\nu_s(\text{COO}^-)$. A banda em 1379 cm^{-1} pode ser atribuída tanto à deformação $\delta(\text{OH})$, quanto ao estiramento $\nu(\text{C-O})$ de grupos fenóis. A

Tabela 1. Número de onda das bandas de absorção mais características do AH e de seus complexos ou quelatos.

Amostra	Número de onda (cm^{-1})					
AH	3421	2922	2851	1723	1615	1379
AH/Fe(III)	3310				1621	1411
AH/Cu(II)	3392				1625	~1400
AH/Cd(II)	3487	2921	2850	1722	1613	1392

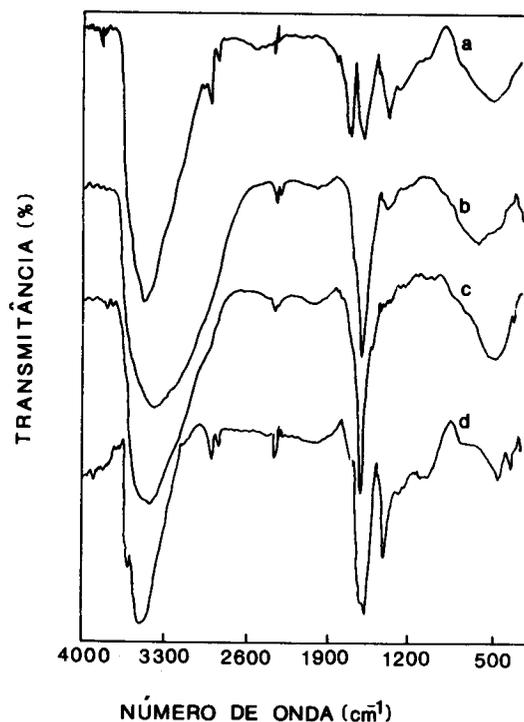
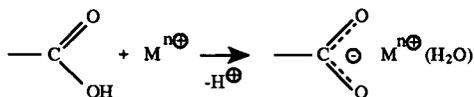
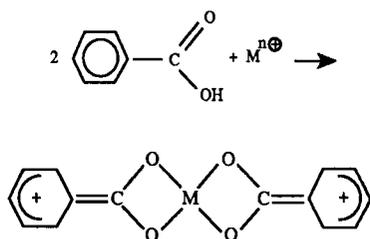


Figura 1. Espectros na região do infravermelho do ácido húmico e de seus complexos. (a) AH, (b) AH/Fe(III), (c) AH/Cu(II), (d) AH/Cd(II).

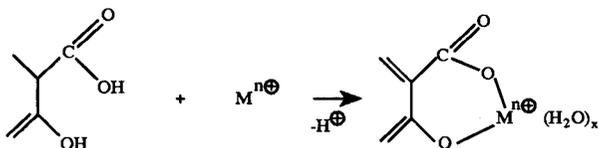
banda em 1254 cm⁻¹ pode ser atribuída ao estiramento ν(C-O) de COOH e ao estiramento ν(C-O) de éteres. Quando do estudo da interação AH-metal, observou-se que a presença dos cátions metálicos intensifica as bandas atribuídas aos íons carboxilato observadas em ≈1600 e ≈1400 cm⁻¹ com relação às bandas do grupo COOH observadas em 1723 e 1254 cm⁻¹ no espectro do ácido húmico puro. Além disso, as bandas do grupo COO⁻ são ligeiramente deslocadas quando da formação do complexo AH-metal. Isto pode ser explicado pela formação, em maior quantidade, do íon carboxilato, onde se ligam os cátions metálicos. A reação ocorreria segundo os mecanismos:



ou



Um outro possível mecanismo é o da formação de AH-metal de ligação tipo salicilato. Esta ligação pode ocorrer segundo o modelo¹⁵:



Pelo observado, pode-se dizer que o grupo funcional carboxilato é o que mais contribui para a interação AH-metal.

Para a curva de titulação potenciométrica do AH utilizou-se o método de linearização da curva de titulação¹⁶ combinado com o gráfico de Gran¹⁷. O método é aplicado aos dados da curva de titulação obtida experimentalmente quando se titula uma mistura de um ácido forte e um ácido fraco com uma base forte. Descreve-se o curso da titulação de uma mistura ácida pela seguinte equação:

$$\{(V_0 + V)([H^+] - K_w/[H^+])(1 + \beta) + m(V - V_g)(1 + \beta - \alpha h)\} / \alpha = m(V_s - V) / h$$

onde V₀ é o volume inicial da solução de mistura ácida, V é o volume de base adicionada ao longo da titulação, V_g é o volume de base equivalente à acidez total, V_s é o volume de base equivalente à titulação do ácido forte. A concentração da base titulante é representada por m e h é o número de prótons dissociáveis.

$$\beta = \sum_{i=1}^h K_i [H^+]^i$$

$$\alpha = \sum_{i=1}^h i K_i [H^+]^i$$

$$K_i = [\text{AH}_i^{h-i}] / [\text{A}^{h-i}] [\text{H}^+], (i = h \rightarrow 1)$$

K_i e K_w são as constantes de dissociação do ácido fraco e da água, respectivamente.

As referências 16 e 18 apresentam uma discussão detalhada a respeito.

Baseado no gráfico de Henderson-Hasselback, obteve-se os valores de pKa e acidez do AH com e sem adição de metais. A tabela 2 mostra os resultados obtidos.

Observou-se que o pKa aparente (carboxílico e fenólico) aumenta quando se adicionam os cátions. Isto é explicado pelo fato dos cátions metálicos trocarem os hidrogênios tituláveis dos grupos carboxílicos e fenólicos. Observou-se também um aumento na acidez explicado pela maior facilidade do ácido húmico liberar prótons quando os cátions metálicos são adicionados. O maior deslocamento do pKa e aumento de acidez foi provocado pelo Fe(III) indicando que este cátion tem maior afinidade pelo ácido húmico quando comparado a Cu(II) e a Cd(II). Isto foi comprovado pela polarografia de pulso diferencial e cromatografia em papel. A diferença observada nos valores de pKa e acidez para o ácido húmico é explicada pelo fato de se ter usado quantidades diferentes de material. Como o ácido húmico é um ácido fraco, o valor de pKa depende da concentração.

O AH apresenta uma corrente de pico em cerca de -1,0 V (fig. 2) que varia linearmente com a concentração até um máximo e depois começa a cair (fig. 3). Este comportamento está relacionado à formação de agregado¹⁹ que altera a forma

Tabela 2. Valores de pKa e acidez do ácido húmico (10,00 mg) na presença e na ausência de 20,0 μmoles de Fe(III) Cu(II) e Cd(II).

	AH	AH/Fe(III)	AH/Cu(II)	AH/Cd(II)
pKa (carboxílico)	(4,95) 5,60	6,30	6,10	5,80
pKa (fenólico)	(9,34) 8,30	9,61	9,40	9,30
acidez total (meq/g)	(4,70) 4,40	7,60	7,30	5,20
acidez carboxílica (meq/g)	(3,75) 2,90	4,40	4,50	4,30
acidez fenólica (meq/g)	(0,95) 1,50	3,20	2,80	0,90

Obs.: os números entre parêntesis representam os valores encontrados para uma massa de 125,0 mg de ácido húmico.

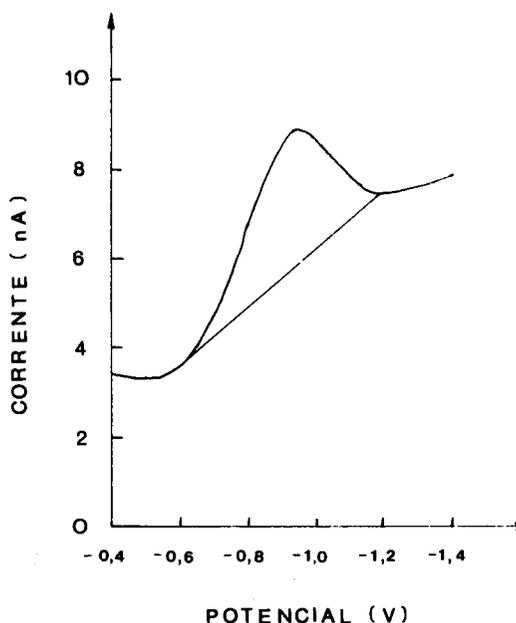


Figura 2. Polarograma de uma suspensão de 70mg/L de ácido húmico em KNO₃ 0,10M, em pH 9,0. Velocidade de varredura=20mV/s, altura de pulso=50mV e tempo de gota=1s.

em que as moléculas estão dispersas na suspensão. Registrou-se os polarogramas de outras amostras de AH extraído e purificado neste laboratório e obteve-se uma relação linear entre a corrente de pico e a acidez do AH, representada pela equação: corrente de pico (nA) = -14,58 + 6,086 acidez (meq), com um coeficiente de correlação de 0,9989. A corrente de pico que aparece em ca. -1,0 V é devida à descarga de grupos ácidos do AH, já que esta varia linearmente com a acidez. Para uma melhor caracterização da interação AH-metal realizou-se um estudo da variação da concentração do ligante (AH), tempo de complexação, pH e labilidade dos complexos ou quelatos. Os resultados mostram que com o aumento da concentração de ligante ocorreu uma diminuição da quantidade de metal livre (fig. 4). A ordem de afinidade encontrada para os cátions foi Fe(III) > Cu(II) > Cd(II). Observou-se que para o Fe(III) a complexação foi imediata, pois a concentração do metal livre foi praticamente constante em relação ao tempo, após uma adição de 300 mg/L de AH. Para o Cu(II) a concentração diminuiu ca. 30% até o segundo dia e depois permaneceu constante, após uma adição de 500 mg/L de AH. A mesma variação ocorreu para o Cd(II) considerando-se o instante de adição até o terceiro dia, após uma adição de 1500 mg/L de AH. A corrente de pico diminuiu com a adição dos cátions metálicos conforme mostra a tabela 3. Esta diminuição deve-se ao fato do ácido húmico formar complexos com cátions metálicos através de seus grupos ácidos^{20,21}. Variando-se o pH de 3,0 para 7,0 observou-se uma diminuição da concentração de metal livre. Esta diminuição é atribuída à ionização dos grupos ácidos, aumentando a facilidade que têm em se ligarem aos cátions metálicos. Realizou-se provas em branco para eliminar-se o efeito de hidrólise. Pelos gráficos da concentração de metal total em função da corrente de pico, observou-se comportamentos de complexos inertes entre o AH e os três cátions estudados. Obteve-se as seguintes relações lineares:

- corrente de pico (nA) = -1,280 + 2,420 conc Fe(III) (mg/L), com coeficiente de correlação linear de 0,9988. Manteve-se a concentração de AH em 300 mg/L,
- corrente de pico (nA) = -4,540 + 6,600 conc Cu(II) (mg/L), com coeficiente de correlação linear de 0,9998. Manteve-se a concentração de AH em 500 mg/L e
- corrente de pico (nA) = 0,9167 + 8,333 conc Cd(II) (mg/L), com coeficiente de correlação linear de 1,000. Manteve-se a concentração de AH em 1500 mg/L.

Neste trabalho determinou-se as constantes de estabilidade dos complexos organo-metálicos em diversos valores de pH

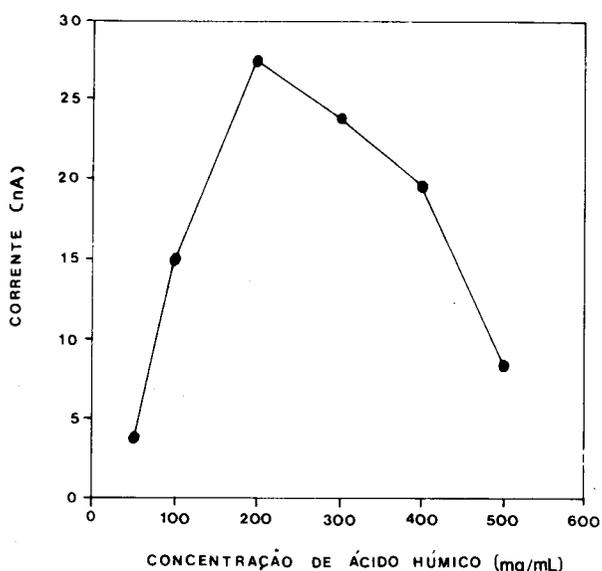


Figura 3. Variação da corrente de pico em função da concentração de ácido húmico (nas mesmas condições polarográficas da figura 2).

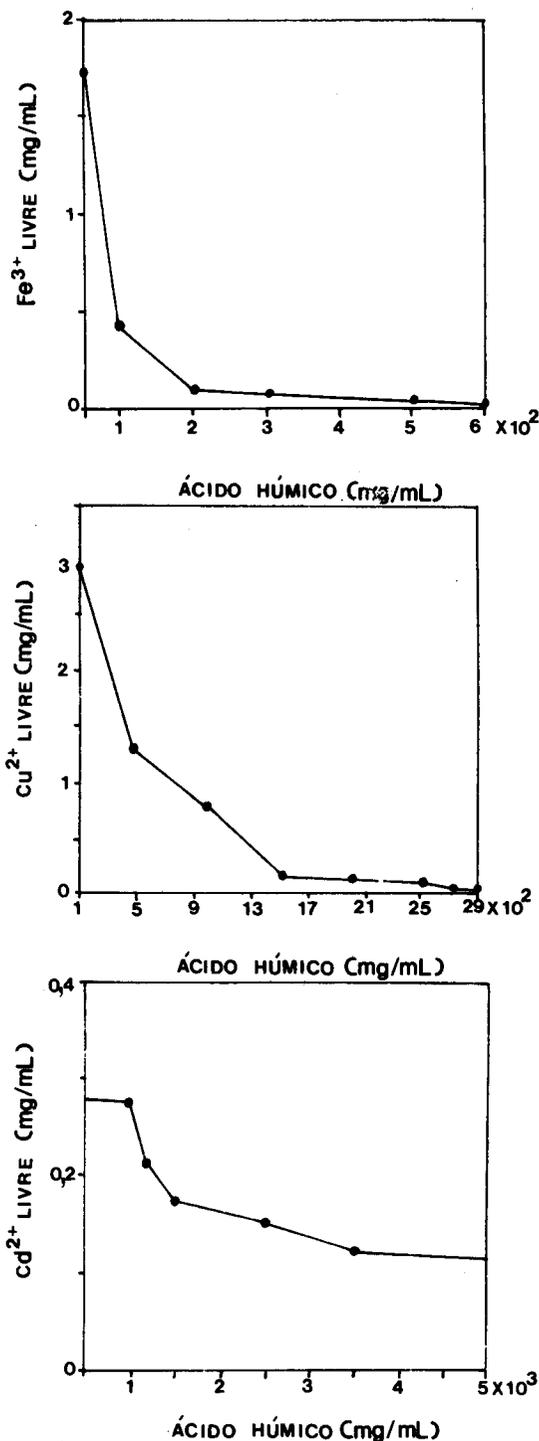


Figura 4. Variação da concentração do cátion metálico livre em função do aumento da concentração de ácido húmico. (a) Fe(III) em tampão oxalato/ácido oxálico pH 4,0; (b) Cu(II) em tampão acetato/ácido acético pH 5,0; (c) Cd(II) em tampão acetato/ácido acético pH 5,0. (Nas mesmas condições polarográficas da figura 2).

Tabela 3. Correntes de pico para o ácido húmico na ausência e na presença de 3,00 mg/L de Fe(III) (pH 4,0), 3,00 mg/L de Cu(II) (pH 5,0) e 0,300 mg/L de Cd(II) (pH 5,0).

Amostra	AH	AH/Fe(III)	AH/Cu(II)	AH/Cd(II)
Corrente de pico (nA)	27,4	23,7	25,1	26,3

Cada valor representa a média entre 5 medidas.

aplicando-se os valores de R_f à seguinte equação¹⁹:

$$\text{Log } K_o = -6,34 R_f + 9,33$$

A Tabela 4 apresenta os dados obtidos.

Com o aumento do pH ocorre um aumento no log K. Isto pode ser explicado pelo aumento da ionização dos grupos

Tabela 4. Valores das constantes de estabilidade de AH com íons metálicos expressas como log K, a diversos valores de pH.

pH Cátion	3 0	4 0	5 0	6 0	7,0
Fe(III)	8,60	8,66	8,85	9,61	
Cu(II)	6,59	7,68	8,19	8,37	8,55
Cd(II)	5,15	5,30	5,65	5,81	6,34

Cada valor de log K representa a média entre dez medidas.

funcionais. A baixos valores de pH, o excesso de íons H^+ e os metais competem com os sítios ativos do AH e, conseqüentemente, uma menor quantidade de metal é complexada.

CONCLUSÕES

Os espectros de AH e AH-metal na região do infravermelho mostraram que a interação ocorre principalmente através dos grupos carboxílicos, pois a presença dos cátions metálicos diminui a intensidade dessas bandas (1723 cm^{-1} e 1254 cm^{-1}) em relação às de $\approx 1600 \text{ cm}^{-1}$ e $\approx 1400 \text{ cm}^{-1}$, atribuídas ao estiramento de íons carboxilato. Como não se verificou nenhuma mudança aparente no número de onda característico da deformação OH fenólico, pode-se supor que esse grupo interaja em menor quantidade. A polarografia de pulso diferencial mostrou que a interação AH-metal depende da concentração de ligante, do pH e, em menor escala, do tempo. Sendo esses complexos inertes, verificou-se que essa interação é bastante forte. A ordem de afinidade encontrada foi $\text{Fe(III)} > \text{Cu(II)} > \text{Cd(II)}$, segundo as técnicas utilizadas. O aumento de pH de 3,0 para 7,0 favorece a interação do AH com os íons Fe(III), Cu(II) e Cd(II).

AGRADECIMENTOS

M.C.P.B. e J.R.P. agradecem ao CNPq pela concessão de bolsas Mestrado. Este trabalho foi desenvolvido graças aos suportes financeiros fornecidos pelo CNPq (projeto nº 403.448/89-1), FAPESP (projeto nº 89/2374-4), FINEP/PADCT (projeto

nº 43.87.1158-00) e FINEP/FNDCT (projeto nº 6591051300) aos quais os autores são gentilmente agradecidos.

REFERÊNCIAS

1. Schnitzer, M.; Khan, S. U. *Humic Substances in the Environment*, New York, Marcel Dekker (1972).
2. Senesi, N.; Sposito, G.; Martin, J. D.; *The Sci. Total Environ.*, (1986), **55**, 351.
3. Ricca, G.; Federico, L.; Astori, C.; Gallo, R.; *Geoderma*, (1993), **57**, 263.
4. Plavsic, M.; Cosovic, B.; Miletic, S.; *Anal. Chim. Acta*, (1991), **255**, 15.
5. Schnitzer, M.; Khan, S. U.; *Soil Organic Matter*, New York, Elsevier (1987).
6. Shishmina, L. V.; Chukhareva, N. V.; Smol'yaninov, S. I.; *Eurasian Soil Science*, (1992), **24**, 109.
7. Broadman, N. K.; *Trace Elements in Soil-Plant-Animal Systems*, New York, Academic Press, (1975).
8. Dekock, R. C.; *J. Plant Nutr.*, (1981), **3**, 113.
9. Singh, M.; Sing, N.; Bhadare, D. K.; *Soil Science*, (1980), **129**, 238.
10. Pendias, K. A.; Pendias, H.; *Trace Elements in Soils and Plants*, CRC Press (1985).
11. Buchauer, M.; *Environ. Sci. Technol.*, (1973), **7**, 2.
12. Rashid, M. A.; King, L. H.; *Geochim. Cosmoch. Acta*, (1969), **34**, 193.
13. Stevenson, F. J.; Goh, K. M.; *Soil Science*, (1953), **75**, 153.
14. Buffle, J.; Deladoey, P.; Greter, F. L.; Haerdi, W.; *Anal. Chim. Acta*, (1980), **116**, 255.
15. Piccolo, A.; Stevenson, F. A.; *Geoderma*, (1982), **27**, 195.
16. Takamatsu, T.; Yoshida, T.; *Soil Science*, (1978), **125**, 377.
17. Gran, G.; *Analyst*, (1952), **77**, 661.
18. (a) Barros, M.C. P.; *Utilização de Técnicas Analíticas para Caracterização do Ácido Húmico da Ilha de Cananéia (São Paulo) e sua Interação com Metais (1991)* e (b) Paula, J. R.; *Estudo da Influência das Substâncias Húmicas na Absorção de Metais por Plantas através de Técnicas Analíticas (1992)*. Dissertações de Mestrado - Instituto de Física e Química de São Carlos - Universidade de São Paulo.
19. Takamatsu, T.; Kukasabe, R.; Yoshida, T.; *Soil Science*, (1983), **136**, 371.
20. Stevenson, F. J.; *Humus Chemistry*, New York, Wiley Interscience (1982).
21. Jordão, C. P.; Costa, E.D.; Brune, W.; Goulart, A. T.; *Quím. Nova*, (1993), **16**, 517.

Publicação financiada pela FAPESP