



Revista Brasileira de Ciência do Solo

ISSN: 0100-0683

revista@sbcs.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
Brasil

Schiavo, Jolimar Antonio; Pasqualoto Canellas, Luciano; Martins, Marco Antonio; Ribeiro Matos, Carlos Roberto

REVEGETAÇÃO DE CAVA DE EXTRAÇÃO DE ARGILA COM *Acacia mangium*. II -
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA HUMINA

Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol. 31, núm. 5, 2007, pp. 1163-1171

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo

Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180214062031>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

REVEGETAÇÃO DE CAVA DE EXTRAÇÃO DE ARGILA COM *Acacia mangium*. II - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA HUMINA⁽¹⁾

Jolimar Antonio Schiavo⁽²⁾, Luciano Pasqualoto Canellas⁽³⁾, Marco Antonio Martins⁽³⁾ & Carlos Roberto Ribeiro Matos⁽³⁾

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar a natureza química dos compostos da humina extraída em solo de área degradada pela extração de argila, com vegetação espontânea de *Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf e revegetada com *Acacia mangium* Willd. Após extração e purificação, a humina foi submetida à transesterificação com metanol trifluorato de B ($\text{BF}_3\text{-MeOH}$), obtendo-se as subfrações alifáticas e aromáticas. Essas subfrações foram submetidas à cromatografia gasosa (Shimadzu GC-17A) combinada com a espectrometria de massa (Shimadzu GC/MS-qp5050A). Na subfração alifática obtida da cobertura com *A. mangium*, os compostos identificados foram: hexadecanoato de metila, octadecanoato de metila, heptadecano e 2-hidroxidodecanoato de metila; já na área com *B. mutica* os compostos foram: 14-metilpentadecanoato de metila e nonadecanoato de metila. Na subfração aromática, os compostos identificados na cobertura com *A. mangium* foram os mesmos obtidos naquela com *B. mutica*, sendo eles: 14-metilpentadecanoato de metila, 1,2 benzenodioato de 2 etilexila e butila. A leguminosa arbórea *A. mangium* proporcionou mudanças na fração mais recalcitrante das substâncias húmicas (humina), extraída da cava de extração de argila, preservando maior diversidade de compostos alifáticos.

Termos para indexação: matéria orgânica, leguminosa, cromatografia gasosa, espectrometria de massa.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada ao Laboratório de Solos da Universidade Estadual do Norte Fluminense "Darcy Ribeiro". Recebido para publicação em abril de 2006 e aprovado em maio de 2007.

⁽²⁾ Professor da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. Rodovia Aquidauana, Km 12, CEP 79200-000 Aquidauana (MS). E-mail: schiavo@uems.br

⁽³⁾ Professor do Laboratório de Solos, Universidade Estadual do Norte Fluminense "Darcy Ribeiro" – UENF. Avenida Alberto Lamego 2000, CEP 28013-600 Campos dos Goytacazes (RJ). E-mail: canellas@uenf.br, marco@uenf.br

SUMMARY: REVEGETATION OF CLAY EXTRACTION SITES WITH *Acacia mangium*. II - CHEMICAL ASPECTS OF HUMINS

*This study aimed at characterizing the chemical aspects of the humin compounds of a degraded clay extraction area covered with spontaneous vegetation of *Brachiaria mutica* (Forsk) Stapf or afforested with *Acacia mangium* Willd. After extraction and purification, humin was subjected to transesterification using $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ (boron trifluoride methanol) to obtain the aliphatic and aromatic sub-fractions. These sub-fractions were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The following compounds were identified in the aliphatic sub-fraction of the *A. mangium* site: methyl hexadecanoate, methyl octadecanoate, methyl 2-hydroxidodecanoate and heptadecano, on the other hand, in *B. mutica* site the compounds were: methyl 14-methylpentadecanoate and methyl nonadecanoate. In the aromatic sub-fractions the compounds identified in soil samples collected in *A. mangium* site were the same as those identified in *B. mutica*: methyl 14-methylpentadecanoate, 2-ethylhexyl 1.2 benzenodioate and buthyl. The re-vegetation of degraded area with the leguminous tree *A. mangium* induced changes in the recalcitrant fraction of humic substances (humin), preserving the diversity of the aliphatic compounds.*

Index terms: organic matter, leguminous tree, gas chromatography, mass spectrometry.

INTRODUÇÃO

O termo humina normalmente se refere à fração orgânica insolúvel remanescente após extração dos ácidos húmicos e fúlvicos. Há quase consenso em considerar a fração humina como não-reativa ou com seus sítios de reação bloqueados pela interação com a fração mineral do solo (Santos & Camargo, 1999). No entanto, ela assume papel central no destino de poluentes orgânicos (pesticidas, herbicidas, hidrocarbonetos poliaromáticos e clorados) e na biodisponibilidade de nutrientes (Alvarez-Puebla et al., 2004). Além disso, sua suposta natureza inerte não corresponde às rápidas mudanças observadas no seu conteúdo em experimentos de curta (Canellas et al., 2004; Schiavo, 2005) ou longa duração (Canellas et al., 2003). Resultados semelhantes foram observados por Doane et al. (2003), que estimaram, pela técnica do isótopo $\delta^{13}\text{C}$, a ciclagem de 8 % da fração alcalina insolúvel em apenas um ano de cultivo.

A origem e os caminhos de formação dos grupos alifáticos na fração mais insolúvel da matéria orgânica humificada permanecem ainda não esclarecidos (Hedges & Oades, 1997). As fontes de compostos alifáticos incluem componentes macromoleculares altamente resistentes à degradação biológica proveniente de plantas, as chamadas cutinas e suberinas (Nierop, 1998), de microrganismos do solo (Lichtfouse et al., 1995) e, ainda, da mistura dessas duas fontes (van Bergen et al., 1997). Inicialmente, a hipótese de formação das huminas esteve associada a uma dinâmica linear de evolução de matéria orgânica humificada com uma sequência de formação de ácidos fúlvicos livres que, com a intensidade do processo de humificação, iriam se condensando paulatinamente até ácidos fúlvicos e estes até ácidos húmicos. O processo final de condensação e polimerização levaria

à formação de macromoléculas insolúveis (Santos, 1984). A predominância da natureza alifática nas huminas observadas diretamente por métodos espectroscópicos levou ao abandono, nos anos 70, dessa concepção linear do processo de humificação. Foi postulada então a via da preservação seletiva de biopolímeros recalcitrantes de natureza alifática, proveniente de polissacarídeos de plantas ou da atividade microbiana (Lichtfouse et al., 1995).

Grande parte dos trabalhos sobre a natureza química da humina indica que sua composição é similar à das outras frações humificadas do solo, permanecendo insolúvel devido à elevada proporção de resíduos de plantas pouco decompostos, à presença de material humificado de elevada massa molecular e à forte associação com a fração mineral do solo (Almendros & Sanz, 1991; Preston & Newman, 1992). No entanto, tem sido observado nas huminas predominância de natureza química alifática, em particular com enriquecimento em material alifático insolúvel, revelado tanto por ressonância magnética nuclear (RMN) como pela análise de pirólise acoplada à cromatografia gasosa (Almendros & Sanz, 1991; Preston & Newman, 1992; Rice, 2001).

A limitação metodológica para remoção da humina do solo é a principal responsável pelo reduzido número de investigações a respeito da origem e constituição química desses compostos húmicos insolúveis. De acordo com Rice (2001), de 16.808 trabalhos publicados sobre substâncias húmicas, apenas 759 são referentes à fração humina, ou seja, em torno de 4,5 %. No entanto, segundo Almendros & Sanz (1991), é possível, com a utilização do metanol trifluorato de B, realizar a remoção gradativa de constituintes na humina, possibilitando, posteriormente, o diagnóstico molecular e identificação destes.

Algumas leguminosas arbóreas apresentam elevado potencial de deposição de serapilheira sobre o solo, com variações de $3,3 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para *Acacia auriculiformis* e *Gliricidia sepium*, $8,8 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para *Mimosa caesalpiniiifolia* (Costa et al., 2004), e $9,8 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para *Acacia mangium* (Andrade et al., 2000). Com a decomposição da serapilheira, têm sido observadas alterações nas frações humificadas da matéria orgânica do solo MOS (Canellas et al., 2004; Schiavo, 2005).

Em condições tropicais e subtropicais, além de a adição de material ao solo ser maior, o processo de decomposição e humificação é mais intenso. Assim, segundo Audreux (1996), a fração humina representa 70 % das frações humificadas da MOS. Mesmo apresentando elevado conteúdo, nessas condições não têm sido verificadas investigações acerca dos constituintes da fração humina.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a natureza química dos compostos da humina extraída do substrato de área degradada pela extração de argila, com vegetação espontânea de braquiária [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] e revegetada com acácia (*Acacia mangium* Willd).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em cava de extração de argila na profundidade de 0–10 cm, com duas coberturas vegetais: vegetação espontânea de braquiária [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] e revegetação com acácia (*Acacia mangium* Willd). A amostragem do solo, o preparo das amostras e o processo de fracionamento da matéria orgânica com obtenção das frações ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina foram realizados de acordo com os procedimentos descritos em Schiavo (2005).

Após o fracionamento da MOS, sobre a fração denominada humina, foram realizados os processos de extração e purificação (da humina), de acordo com método descrito em Almendros & Sanz (1991) (Figura 1). Resumidamente, o resíduo com humina foi lavado com água destilada, suspenso em líquido de densidade $1,8 \text{ g cm}^{-3}$ (NaI) e submetido à agitação. A fração herdada da humina foi recuperada por filtração após centrifugação.

A purificação foi realizada com uma mistura (1:1) de HCl e HF 1 % durante 12 h à temperatura ambiente, para posterior extração com metanol e

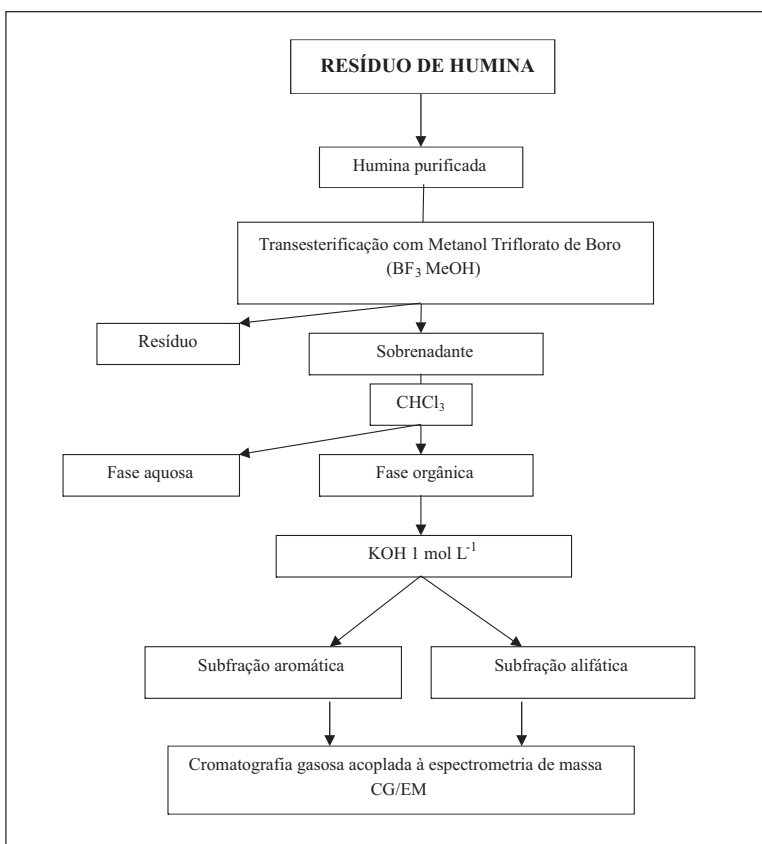


Figura 1. Esquema ilustrando o processo de purificação e extração da humina, preconizado por Kolattukudy et al. (1975) e Almendros & Sanz (1991).

triclorometano (CH_3OH , CHCl_3). Após purificação, a humina foi submetida à transesterificação com metanol trifluorato de B ($\text{BF}_3\text{-MeOH}$). Em balão com rolha rosqueada, foram adicionados 200 mg de amostra de humina e 10 ml de $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ 20 %. O complexo foi aquecido a 90 °C durante 12 h, livre de N_2 , coletando-se o sobrenadante. Após cinco repetições do processo, o sobrenadante foi centrifugado a 2.000 rpm por 3 min. O sobrenadante foi coletado e a fase aquosa separada da orgânica por meio de extração líquido-líquido com CHCl_3 . A fase orgânica foi tratada com KOH 1 mol L^{-1} para obtenção das subfrações alifáticas e aromáticas, de acordo com Kolattukudy et al. (1975). A subfração aromática foi acidificada e extraída com éter etílico. Ambas as subfrações (alifáticas e aromáticas) foram concentradas, desidratadas com Na_2SO_4 e evaporadas, para posterior análise de cromatografia gasosa (Shimadzu GC-17A) combinada com a espectrometria de massa (Shimadzu GC-MS-qp5050A). A identificação dos picos cromatográficos e dos compostos foi feita por meio de comparações com de compostos conhecidos (tempo de retenção) e por similaridade com a biblioteca matriz NIST.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em razão da presença de grande número de picos, somente os mais intensos foram selecionados e apresentados. A atribuição da estrutura dos principais compostos foi realizada com base na análise comparativa com o espectro de massa, reportado na biblioteca NIST, com similaridade acima de 90 %.

No cromatograma da subfração alifática, foi observada diversidade maior de compostos na humina extraída do solo com cobertura da acácia (Figura 2b), em comparação com a braquiária (Figura 2a). De maneira semelhante, porém menos acentuada que na subfração alifática, foram observadas diferenças nos cromatogramas da subfração aromática em relação à cobertura da cava de extração de argila (Figura 3).

Na subfração alifática sob cobertura da braquiária, observou-se predominância de ésteres metílicos de ácidos graxos típicos de material vegetal, com maior intensidade relativa para os picos 1 e 2 (Figura 4a). Os compostos correspondentes a esses picos foram 14-metilpentadecanoato de metila (1) e nonadecanoato de metila (2) (Quadro 1). Na cobertura com acácia, os picos 3, 9, 10 e 12 apresentaram a maior intensidade relativa (Figura 4b), sendo identificados como ésteres de ácidos graxos de cadeia relativamente longa com padrão de distribuição com predominância de compostos de C_{16} até C_{24} , como hexadecanoato de metila (3) e octadecanoato de metila (9) de origem predominantemente vegetal, e alcanos, como heptadecano (10) e 2-hidroxidodecanoato de metila (12)

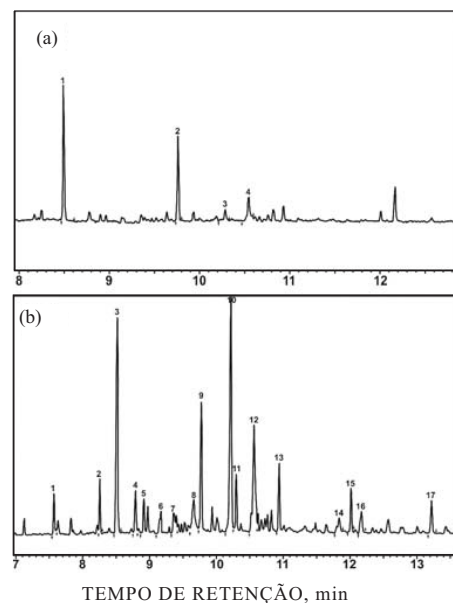


Figura 2. Cromatograma dos compostos orgânicos da subfração alifática presentes na humina extraída de amostras de solo degradado pela extração de argila, com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] (A) e em área com *Acacia mangium* Willd (B).

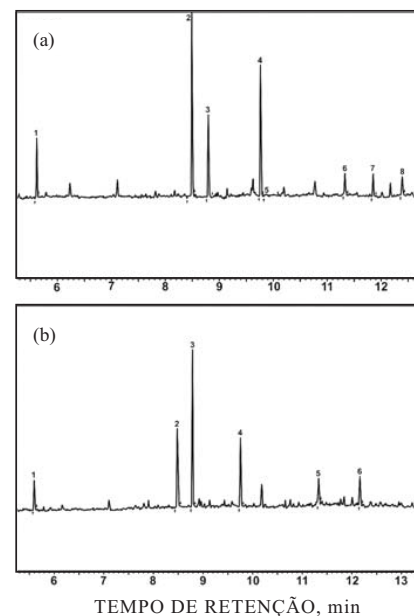


Figura 3. Cromatograma dos compostos orgânicos da subfração aromática presentes na humina extraída de amostras de solo degradado pela extração de argila, com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] (A) e em área com *Acacia mangium* Willd (B).

Quadro 1. Compostos orgânicos da subfração alifática presentes na humina extraída de amostras de solo degradado pela extração de argila, com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] e em área com *Acacia mangium* Willd

N. pico	Tempo de retenção	Composto	Composição	Estrutura
	min	<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk.) Stapf		
1	8,49	14-metilpentadecanoato de metila	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	
2	9,76	Nonadecanoato de metila	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	
3	10,54	7-cicloexiltridecano	C ₃₉ H ₇₈	
4	12,16	Ftalato de dioctila	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	
		<i>Acacia mangium</i> Willd		
1	7,56	Nonadecanoato de metila	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	
2	8,25	14-metilpentadecanoato de metila	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	
3	8,51	Hexadecanoato de metila	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	
4	8,78	12-metiltetradecanoato de metila	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	
5	8,91	15-metilexadecanoato de metila	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	
6	9,16	15-metilexadecanoato de metila	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	
7	9,35	2-hidroxidodecanoato de metila	C ₁₃ H ₂₆ O ₃	
8	9,65	Octadecanoato de metila	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	
9	9,77	Octadecanoato de metila	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	
10	10,21	Heptadecano	C ₁₇ H ₃₆	

continua...

Quadro 1. Continuação

N. pico	Tempo de retenção	Composto	Composição	Estrutura
	min	<i>Acacia mangium</i> Willd		
11	10,29	11-ciclopentilundecanoato de metila	$C_{17}H_{32}O_2$	
12	10,55	2-Hidroxidodecanoato de metila	$C_{13}H_{26}O_3$	
13	10,93	Eicosanoato de metila	$C_{21}H_{42}O_2$	
14	11,83	Heptafluorobutanoato de pentadecila	$C_{19}H_{31}F_7O_2$	
15	12,00	Docosanoato de metila	$C_{23}H_{46}O_2$	
16	12,16	1,2 Benzenodioato de ditridecila	$C_{34}H_{58}O_4$	
17	13,21	Tetracosanoato de metila	$C_{25}H_{50}O_2$	

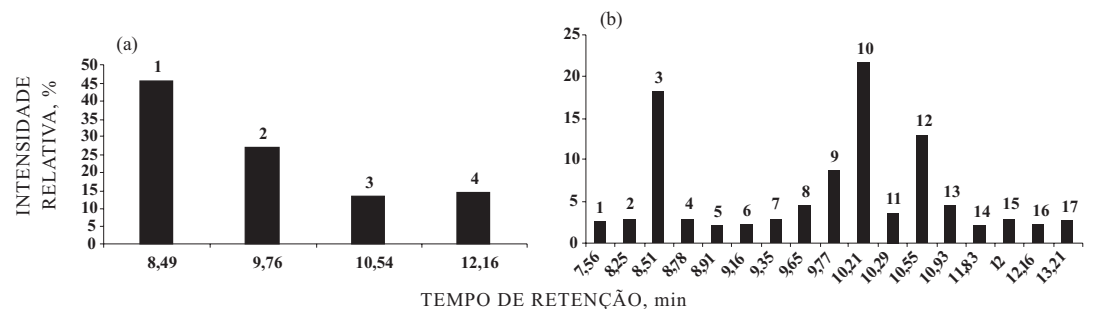


Figura 4. Percentagem relativa dos compostos orgânicos da subfração alifática presentes na humina extraída de amostras de solo degradado pela extração de argila, com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] (A) e em área com *Acacia mangium* Willd (B). Os números nas barras dos gráficos referem-se aos picos correspondentes dos cromatogramas.

(Quadro 1). De acordo com Nierop (1998), os n-alcenos com maior número de C na estrutura são tipicamente provenientes de resíduos de plantas.

Na subfração aromática, na cobertura com braquiária os picos 2, 3 e 4 mostraram maior intensidade (Figura 5a), sendo os compostos identificados como 14-metilpentadecanoato de metila

(2), 1,2 benzenodioato de 2-etilexila e butila (3) e octadecanoato de metila (4), respectivamente (Quadro 2). De maneira semelhante, na cobertura com acácia os picos 2, 3 e 4 apresentaram maior intensidade (Figura 5b), obtendo-se os mesmos compostos, exceto para o pico 4, que foi identificado como nonadecanoato de metila (4) (Quadro 2).

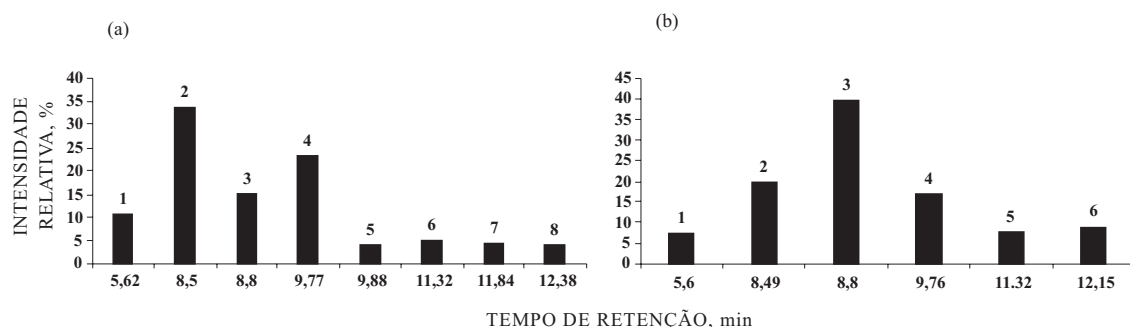


Figura 5. Percentagem relativa dos compostos orgânicos da subfração aromática presentes na humina extraída de amostras de solo degradado pela extração de argila, com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] (A) e em área com *Acacia mangium* Willd (B). Os números nas barras dos gráficos referem-se aos picos correspondentes dos cromatogramas.

Almendros & Sanz (1991), trabalhando com humina extraída de três diferentes solos, em condições de clima temperado, verificaram que, da amostra enriquecida com humina, apenas 6 a 8 % foi solúvel em CH_3Cl_3 , apresentando a mesma proporção das subfrações alifáticas e aromáticas. Esses mesmos autores observaram grande variedade de compostos orgânicos, sendo o ácido benzenocarboxílico dimetoxi o composto mais abundante na subfração aromática, e o ácido graxo mono e dienóico, na subfração alifática. No presente trabalho, a percentagem de material extraído da amostra enriquecida com humina foi de aproximadamente 20 %. Essa maior percentagem pode ser justificável, uma vez que, em condições tropicais, o processo de adição de material ao solo é maior, bem como sua decomposição e humificação são mais intensas, onde a fração humina representa 70 % das frações humificadas da MOS (Audreux, 1996).

Foi constatada grande abundância de ésteres de ácidos graxos nos compostos obtidos da humina (Quadros 1 e 2). Nas huminas isoladas da área com cobertura de acácia, além da diversidade maior de compostos na fração subalifática, foi observada presença de n-alcanos de cadeia curta, típico do metabolismo de microrganismos. Na fração alifática da humina obtida da área de gramíneas, observou-se predomínio de composto com cadeias carbônicas mais numerosas, típico de resíduos vegetais alifáticos como produtos da decomposição parcial da cutina e da suberina. De modo geral, é possível indicar que o maior aporte de serapilheira na área de cava com acácia e o maior conteúdo de N nesse material, proveniente da fixação biológica de N_2 , permite atividade biológica mais intensa. A incorporação de unidades alifáticas mais variadas nessa humina é reflexo direto dessa atividade maior.

Independentemente da cobertura da cava, como observado por Almendros & Sanz (1991), a presença de compostos de cadeias longas, principalmente na subfração alifática, pode estar relacionada a polímeros

típicos encontrados em plantas superiores, como cutina e suberina. Devido a diferentes tipos de resíduos de plantas, ao complexo processo de origem e diagênese da fração do húmus do solo, bem como às reações de proteção física da humina com as argilas minerais contra o ataque microbiano, é compreensível a preservação de compostos como cutina e suberina na fração recalcitrante da MOS. Por sua vez, com a ação microbiológica sobre os resíduos mais resistentes das plantas, compostos como ésteres podem ser incorporados, promovendo transformação do material da humina.

Freqüentemente, os polifenóis na serapilheira são correlacionados negativamente com a velocidade de decomposição, considerando a capacidade de tal grupo de substâncias de se complexar com as formas de N, tornando este elemento menos disponível para a comunidade decompositora (Constantinides & Fownes, 1994). Dos fatores relacionados com a qualidade química da serapilheira, a concentração de polifenóis acima de 40 g kg^{-1} é considerada capaz de limitar a decomposição (Palm et al., 2001), na qual estão incluídas folhas e estruturas reprodutivas da acácia (Costa et al., 2004). Dessa maneira, mesmo com elevado teor de polifenóis no material formador da serapilheira sob cobertura com acácia, a fração mais recalcitrante da MOS apresentou alterações, mostrando maior diversidade de compostos alifáticos, o que provavelmente se deve às características químicas dos resíduos da leguminosa.

Neste trabalho, foi verificado que a composição da fração humina é modificada pela alteração da cobertura da cava, mas sua natureza química é essencialmente preservada, isto é, com acúmulo de ésteres metílicos de ácidos graxos e n-alcanos na fração subalifática e ácidos graxos e ácidos benzeno carboxílicos na fração subaromática. Essa natureza alifática predominante, segundo Almendros & Sanz (1992), é semelhante à observada em huminas isoladas de solos e sedimentos de clima temperado.

Quadro 2. Compostos orgânicos da subfração aromática presentes na humina extraída de amostras de solo degradado pela extração de argila, com vegetação espontânea [*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf] e em área com *Acacia mangium* Willd

N. pico	Tempo de retenção	Composto	Composição	Estrutura
min				
<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk.) Stapf				
1	5,62	2,6-di-tert-butil-4-metilfenil metilcarbamato	C ₁₉ H ₂₈ O ₃	
2	8,50	14-metilpentadecanoato de metila	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	
3	8,80	1,2-benzenodioato de 2-etilexila e butila	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	
4	9,77	Octadecanoato de metila	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	
5	9,88	Octadecanoato de metila	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	
6	11,32	Cicloexanol	C ₆ H ₁₂ O	
7	11,84	Cicloexanol	C ₆ H ₁₂ O	
8	12,38	Octadecanoato de 2-hexadecanoiloxi-1-tetradecanoiloximetiletil	C ₅₀ H ₁₀₂	
<i>Acacia mangium</i> Willd				
1	5,6	Benzenodioato de dimetila	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	
2	8,49	14-metilpentadecanoato de metila	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	
3	8,80	1,2-benzenodioato de 2-etilexila e butila	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	
4	9,76	Nonadecanoato de metila	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	
5	11,32	Cicloexanol	C ₆ H ₁₂ O	
6	12,15	1,2-benzenodioato de diisooctila	C ₃₈ H ₇₄ O ₃	

CONCLUSÕES

1. A presença da leguminosa arbórea *Acacia mangium* proporciona mudanças na composição química da fração mais recalcitrante (humina) das substâncias húmicas extraídas da cava de extração de argila, com abundância relativa de compostos alifáticos maior do que a de compostos extraídos da subfração aromática.

2. De modo geral, os compostos orgânicos obtidos da fração humina apresentam elevada quantidade de ésteres metílicos de ácidos graxos.

AGRADECIMENTOS

Ao técnico Wallace, do LCQUI/CCT, pelo auxílio na realização das análises deste trabalho.

LITERATURA CITADA

- ALMENDROS, G. & SANZ, J. A structural study of alkyl polymers in soil after perborate degradation of humin. *Geoderma*, 53:79-95, 1992.
- ALMENDROS, G. & SANZ, J. Structural study on the soil humin fraction – boron trifluoride-methanol transesterification of soil humin preparations. *Soil Biol. Biochem.*, 23:1147-1154, 1991.
- ALVAREZ-PUEBLA, R.A.; VALENZUELA-CALAHORRO, C. & GARRIDO, J.J. Modeling the adsorption and precipitation processes of Cu (II) on humin. *J. Colloid Interface Sci.*, 277:55-61, 2004.
- ANDRADE, A.G.; COSTA, G.S. & FARIA, S.M. Deposição e decomposição da serapilheira em povoamentos de *Mimosa caesalpinifolia*, *Acacia mangium* e *Acacia holosericea* com quatro anos de idade em Planossolo. *R. Bras. Ci. Solo*. 24:777-785, 2000.
- ANDREUX, F. Humus in world soils. In: PICCOLO, A., ed. *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Amsterdam, Elsevier, 1996. p.45-100.
- CANELLAS, L.P.; ESPINDOLA, J.A.A.; REZENDE, C.E.; DE CAMARGO, P.B.; ZANDONADI, D.B.; RUMJANEK, V.M.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G. & BRAZ-FILHO, R. Organic matter quality in a soil cultivated with perennial herbaceous legumes. *Sci. Agric.*, 61:53-61, 2004.
- CANELLAS, L.P.; VELLOSO, A.C.X.; MARCIANO, C.R.; RAMALHO, J.F.G.P.; RUMJANEK, C.M.; REZENDE, C.E. & SANTOS, G.A. Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:935-944, 2003.
- CONSTANTINIDES, M. & FOWNES, J.H. Nitrogen mineralization from leaves and litter of tropical plants: relationship to nitrogen, lignin and soluble p-cyphenol concentrations. *Soil Biol. Biochem.*, 29:49-55, 1994.
- COSTA, G.S.; FRANCO, A.A.; DAMASCENO, R.N. & FARIA, S.M. Aporte de nutrientes pela serapilheira em uma área degradada e revegetada com leguminosas arbóreas. *R. Bras. Ci. Solo*, 28:919-927, 2004.
- DOANE, T.A.; DEVÈVRE, O.C. & HORWÁTH, W.R. Short-term soil carbon dynamics of humic fractions in low-input and organic cropping systems. *Geoderma*, 114:319-331, 2003.
- HEDGES, J.I. & OADES, J.M. Comparative organic geochemistries of soils and marine sediments. *Organic Geochem.*, 27:319-361, 1997.
- KOLATTUKUDY, P.E.; KRONMAN, K. & POULOSE, A.J. Determination of structure and composition of the suberin from the roots of carrot, parsnip, rutabaga, turnip, red beet and sweet potato by combined gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *Plant Physiol.*, 55:567-573, 1975.
- LICHTFOUSE, E.; BERTHIER, G.; HOUOT, S.; BARRIUSO, E.; BERGHEAUD, V. & VALLA, T. Stable carbon isotope evidence for the microbial origin of C₁₄–C₁₈ n-alkanoic acids in soils. *Organic Geochem.*, 23:849-852, 1995.
- NIEROP, K.G.J. Origin of aliphatic compounds in forest soil. *Organic Geochem.*, 29:1009-1016, 1998.
- PALM, C.A.; GACHENGO, C.N.; DELVE, R.J.; CADISH, G. & GILLER, K.E. Organic inputs for soil management in tropical agroecosystems? Application of an organic resource database. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 83:27-42, 2001.
- PRESTON, C.M. & NEWMAN, R.H. Demonstration of spatial heterogeneity in the organic matter of de-ashed humin samples by solid-state ¹³C CPMAS NMR. *Canadian J. Soil Sci.*, 72:13-19, 1992.
- RICE, J.A. Humin. *Soil Sci.*, 166:848-857, 2001.
- SANTOS, G.A. Contribution à l'étude des interactions matière organique et phosphore dans un sol ferrallitique. Lorraine, Institut National Polytechnique de Lorraine/École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, 1984. 147p. (Tese de Doutorado)
- SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A.O. Fundamentos da matéria orgânica do solo. *Ecosistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre, Gênesis, 1999. 508p.
- SCHIAVO, J.A. Revegetação de áreas degradadas pela extração de argila, com espécies micorrizadas de *Acacia mangium*, *Sesbania virgata* e *Eucalyptus camaldulensis*. Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2005. 117p. (Tese de Doutorado)
- van BERGEN, P.F.; PEAKMAN, T.M.; LEIGH-FIRBANK, E.C. & EVERSHED, R.P. Chemical evidence for archaeological frankincense: Boswellic acids and their derivatives in solvent soluble and insoluble fractions of resin-like materials. *Tetrahedron Letters*, 38:8409-8412, 1997.