

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOLOS E QUALIDADE DE
ECOSSITEMAS
CURSO DE MESTRADO**

**PLANTAS NATIVAS E
FONTES DE FOSFATO NA REMOÇÃO E ESTABILIZAÇÃO QUÍMICA
DE METAIS TRAÇOS DE UM VERTISSOLO.**

EMYLLY FIGUEREDO LEAL

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
AGOSTO/2014**

**PLANTAS NATIVAS E
FONTES DE FOSFATO NA REMOÇÃO E ESTABILIZAÇÃO QUÍMICA
DE METAIS TRAÇOS DE UM VERTISSOLO.**

EMYLLY FIGUEREDO LEAL

Tecnóloga em Fruticultura Irrigada
IF-SERTÃO, 2011

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Solos e Qualidade de Ecossistemas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Solos e Qualidade de Ecossistemas, Área de concentração: Manejo de Resíduos e Remediação de Áreas Impactadas.

ORIENTADOR: PROFº. DR. JORGE ANTONIO GONZAGA SANTOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
MESTRADO EM SOLOS E QUALIDADE DE ECOSSISTEMAS
CRUZ DAS ALMAS – BAHIA – 2014

FICHA CATALOGRÁFICA

L435p	<p>Leal, Emylly Figueredo. Plantas nativas e fontes de fosfato na remoção e estabilização química de metais traços de um vertissolo / Leal, Emylly Figueredo._ Cruz das Almas, BA, 2014. 72f; il.</p> <p>Orientador: Jorge Antonio Gonzaga Santos.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Solos – Teor de metal pesado. 2.Solos – Fitorremediação. 3.Plantas – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 631.4</p>
-------	--

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOLOS E QUALIDADE DE
ECOSSISTEMAS**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
EMYLLY FIGUEREDO LEAL**

Prof. : Dr. Jorge Antonio Gonzaga Santos
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
(Orientador)

Paula Ângela Umbelino Guedes Alcoforado
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Marcela Rebouças Bomfim
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Solos e Qualidade de ecossistemas em _____
Conferindo o Grau de Mestre em Solos e Qualidade de Ecossistemas em _____

“Não sabendo que era impossível foi lá e fez”

Jean Cocteau

Aos meus pais Ernando e Mirtes, a
minha irmã Emyllena e sobrinha Lara.

Dedico

Agradecimentos

À Deus, pela oportunidade de estudar e crescer frente às dificuldades e os desafios da vida e por colocar pessoas especiais no meu caminho.

À minha família em especial, a meus pais Ernando e Mirtes que sempre me incentivaram a seguir em frente e alcançar meus objetivos. Minha irmã e sobrinha que sempre me alegraram e me deram força. A vocês só tenho a agradecer por tudo que fizeram por mim. Obrigado por tudo. AMO VOCÊS

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade de estudo.

Ao Orientador Jorge Gonzaga, pela paciência, sabedoria, ânimo, e a quem devo muito por esta empreitada.

A Professora Paula Ângela que foi um exemplo de profissional, e, sobretudo obrigada pela amizade e força.

Gabriel Lira, pelo apoio nas horas difíceis, conselhos, e pela companhia sempre carinhosa e, sobretudo pelo que tem feito por mim. Te amo.

À bolsista Josiane, pela seriedade e responsabilidade dedicadas a esta pesquisa e acima de tudo pela sua amizade e grandeza de caráter.

A Adriana e Flavia pelos ensinamentos, apoio e amizade e a parceria científica.

As Pós-Doutorandas Maria e Marcela pelo apoio, conhecimentos compartilhados e pela ajuda na finalização desta etapa.

Aos técnicos do laboratório Laura Xavier e Moacir pelo apoio para a realização das etapas desse trabalho e pelo excelente convívio.

Aos colegas de laboratório de metais traços Capela, Edson, Marcos, Kelly, Lia, Sara, Augusto, Ludmila e Vitor pela convivência, amizade e muitas risadas.

Aos colegas de pós-graduação Higina, Sérgio, Marcos, Gerlange Elisa, Joseane, Nafez, Tatiana, Eder, Carol, Kátia, Dryele, pelo estímulo, alegria, troca de ideias e convivência.

Aos professores do mestrado pelo aprendizado durante o curso.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO 1	18
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. MATERIAL E MÉTODO.....	26
2.1. ÁREA DE ESTUDO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	26
2.2. DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES UTILIZADAS NO ESTUDO	27
2.3. AMOSTRAGEM DE PLANTAS E SOLOS.....	28
2.4. ANÁLISE DE METAIS NA PLANTA E SOLO	28
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.1. PRODUÇÃO DE BIOMASSA	33
3.2. CONCENTRAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE METAIS NAS ESPÉCIES	35
4. CONCLUSÕES.....	40
5. REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO 2	47
1. INTRODUÇÃO.....	50
2. MATERIAIS E MÉTODOS	53
2.1. CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO E DELINEAMENTO.....	53
2.2. EXTRAÇÃO SEQUENCIAL DOS METAIS.....	55
2.3. TESTE DE ESTABILIZAÇÃO	57
2.3.1. TCLP - Toxicity Characteristic Leaching Procedure (USEPA, 2008).....	57
2.4. ANÁLISE DO SOLO	57
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	57
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.1. FRACIONAMENTO QUÍMICO DAS AMOSTRAS DO SOLO.....	58
3.2. TESTE DE MOBILIDADE DO METAL TCLP (TOXICITY CHARACTERISTIC LEACHING PROCEDURE)	65
4. CONCLUSÕES.....	68
5. REFERÊNCIAS	69

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Localização da fábrica e o local de coleta na área selecionada para o estudo.	26
Figura 2 - Área da fábrica onde as espécies foram coletadas em ângulos distintos .	27
Figura 3 - Biomassa das plantas 3 A, Concentração média dos metais Pb (raiz e parte aérea), 3 B do Cd 3 C e do zinco 3 D.Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....	36

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Localização da Cidade de Santo Amaro no estado da Bahia e região onde o estudo foi realizado.	53
Figura 2 – Pote plástico contendo o solo com seus respectivos tratamentos	54
Figura 3 – Fluxograma com etapas e os reagentes utilizados na extração sequencial segundo Tessier.....	56
Figura 4 - Extração sequencial aos 60 e 120 dias após a incubação com Rocha Fosfatada.	60
Figura 5 - Extração sequencial aos 60 e 120 dias após a incubação com MAP	62
Figura 6 - Extração sequencial aos 60 e 120 dias de incubação com Mistura (MAP + Rocha Fosfatada).....	63

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Características químicas do Vertissolo coletado na área experimental de Santo Amaro amostrado em duas profundidades.	29
Tabela 2 - Distribuição de chumbo, cádmio e zinco nos solos nas proximidades do ponto de crescimento da aroeira, braquiária e estilósante da área contaminada.....	32
Tabela 3 - Guia de Qualidade do Solo para proteção do ambiente e saúde humana para chumbo (Pb), cádmio (Cd) e zinco (Zn) (mg kg ⁻¹) baseado no uso do solo.	32
Tabela 4 - Biomassa da parte aérea e raiz das plantas estudadas.....	34

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Macronutrientes, relações entre cátions e saturação do complexo de troca da rocha fosfatada.....	55
Tabela 2 – Característica química do Vertissolo estudado	58
Tabela 3 - Resumo da análise estatística para a análise de TCLP para as concentrações de chumbo	65
Tabela 4 - Variação dos teores de Pb determinados em extrato de TCLP nas diferentes fontes de fosfato, relações molares P:Pb e nos dois tempos estudados..	67
Tabela 5 – Concentração de chumbo nos controles de 60 e 120 dias para o teste TCLP e extração sequencial.	67

PLANTAS NATIVAS E FONTES DE FOSFATO NA REMOÇÃO E ESTABILIZAÇÃO QUÍMICA DE METAIS TRAÇOS DE UM VERTISSOLO.

Autora: Emylly Figueredo Leal

Orientador: Prof. Dr Jorge Antônio Gonzaga Santos

Resumo: A Companhia Brasileira de Chumbo - COBRAC, em Santo Amaro - BA, deixou um passivo de 500 mil toneladas de escória com elevada concentração de chumbo, e cuja dispersão tem resultado em graves efeitos na saúde humana, além dos impactos na Bacia do Subaé. No processo de remediação de áreas contaminadas, é necessário utilizar todas as técnicas disponíveis. Na fitoextração, a existência de uma comunidade vegetal nativa crescendo na área contaminada constitui-se em uma grande oportunidade para estudar o potencial de tais espécies. Outra técnica que pode ser empregada é a estabilização química que consiste na aplicação de agentes estabilizantes ao sítio contaminado, os quais transformam as espécies químicas mais móveis em espécies menos móveis. Diante do exposto os objetivos da pesquisa foram: i) avaliar o teor de Pb, Cd e Zn na área de ocorrência de cada espécie em cada bloco e o potencial de extração de Pb, Cd e Zn de três espécies vegetais de maior ocorrência: Aroeira (*Schinus terebinthifolia*); Capim Braquiária (*brachiaria decumbens*); e Estilosante (*stylosanthes viscosa*) ii) testar a partição de Pb em um Vertissolo contaminado utilizando três fontes de fosfato, aplicados em quatro relações molares e avaliados em dois tempos. Para tanto, o experimento foi estabelecido em delineamento em blocos ao acaso, no qual se avaliou o teor de Pb, Cd e Zn na área de ocorrência de cada espécie em cada bloco e o potencial de extração três espécies vegetais de maior ocorrência. As plantas de braquiárias germinaram em solos com concentrações mais elevadas enquanto a estilosante germinou em solos com os menores teores, e a aroeira tende a se concentrar em ambientes com concentração intermediária. Vasos contendo 0,3 kg de solo, incubados, foram tratados com fonte de fosfato para a imobilização do Pb na razão molar P:Pb de 2:1; 4:1; 8:1, 16:1 e um controle, sem aplicação de fosfato, avaliados aos 60 e 120 dias. Os resultados indicam que com o tempo ocorre um processo de transformação do Pb de formas menos estáveis para mais estáveis .

Palavras-chave: fitorremediação, estabilização, contaminação do solo.

NATIVE PLANTS AND PHOSPHATE SOURCES IN CHEMISTRY REMOVAL AND STABILIZATION OF METALS TRACES OF A VERTISOL

Author: Emylly Figueredo Leal

Adviser: Prof. Dr Jorge Antonio Santos Gonzaga, PHD.

ABSTRACT: Lead Brazilian company - COBRAC, in Santo Amaro, Bahia, left an liability of five hundred thousand tons of slag rich in lead, and whose dispersion has resulted in serious effects on human health and impacts in the Subaé Basin and its estuary. In the remediation of contaminated areas process, is important to use all available techniques. In phytoextraction, the existence of a native plant community growing in the contaminated area is a great opportunity to study the species potential. Another technique that can be employed is chemical stabilization that involves the application of stabilizing agents to the contaminated site, which transform the mobile chemical species to less mobile species. Given the above, research objectives were: i) to evaluate the content of Pb, Cd and Zn in the occurrence area of each species in each block and extraction potential of three plant most common species: Aroeira (*Schinus terebinthifolia*); Capim (*Brachiaria decumbens*); and Estilosante (*Stylosanthes viscosa*) in a contaminated area by tailings from the mining industry ii) test the Pb partition in contaminated vertisol using three phosphate sources applied at four molar ratios and assessed in three stages. To this end, the experiment was established in randomized blocks, which evaluated Pb, Cd and Zn content in each block of the occurrence of each species area and the potential extraction from three plant species of higher occurrence. Capim plants germinated in soils with high concentrations of lead while Estilosante germinated in soils with lower levels of lead, and the Aroeira tends to concentrate in environments with intermediate concentration of Pb, evaluated at 60 and 120 days. The results indicate that with time occurs a Pb transformation process from less stable forms such as Pb bound to carbonates for more stable forms with Pb attached to oxides the MOS and the residual fraction

Keywords: Phytoremediation, stabilization, soil contamination.

1. INTRODUÇÃO

Os minerais têm contribuído de forma expressiva para o desenvolvimento econômico das sociedades, porém nas últimas décadas, as atividades de extração, processamento e deposição dos subprodutos da mineração tem contribuído de forma crescente na contaminação do ar, do solo e das águas por metais traços, com efeitos negativos na qualidade do meio ambiente e na saúde humana.

Metal pesado é todo elemento metálico cuja densidade é igual ou superior a 5 g cm³, presentes no meio ambiente, os quais dependendo da concentração e da espécie química tornam-se potencialmente tóxicos.

A contaminação por metais pesados, causada pela Companhia Brasileira de Chumbo - COBRAC, subsidiária da multinacional Penarroya inserida na cidade de Santo Amaro, no Estado da Bahia, apresenta a maior contaminação urbana de Pb do mundo. A empresa que beneficiava óxidos de chumbo para a fabricação de lingotes de chumbo deixou um passivo ambiental de mais de 500 mil toneladas de escória, com elevada concentração de chumbo (Pb), cádmio (Cd) e zinco (Zn) que foram depositadas no solo, e parte doada aos moradores e prefeitura para uso na pavimentação das vias de acesso e quintais de suas casas (ANJOS, 2001), cuja dispersão tem resultado em graves efeitos na saúde humana, vide a incidência de pessoas com algum grau de defeito físico, provocadas pelos metais, além dos impactos na Baía do Subaé e seu estuário, como contaminação de manguezais e fruto do mar.

No processo de remediação de áreas contaminadas, frequentemente é necessário utilizar todas as técnicas disponíveis. A escolha da técnica de remediação a ser utilizada depende de diversos fatores como: o grau de contaminação e a profundidade do contaminante dentre outros. As técnicas *ex situ* como escavação, solidificação e quelatação/extração, são pouco sustentáveis por promoverem grandes alterações no ecossistema e gerarem contaminação secundária. As técnicas *in situ* têm sido pesquisadas como alternativas mais baratas, ambientalmente e esteticamente mais aceitáveis e economicamente mais viáveis do que as técnicas *ex situ*. Entre as técnicas *in situ* mais utilizadas destacam-se a fitorremediação e a estabilização química.

A Fitorremediação é uma técnica *in situ* que envolve o emprego de plantas acumuladoras e/ou tolerantes a metais pesado, sua microbiota associada, e de amenizantes do solo, além de práticas agronômicas (ANDRADE et al., 2007) aplicadas em conjunto que removem, imobilizam ou tornam inofensivos os contaminantes da água, solos e sedimentos contaminados por diversos tipos de poluentes (ACCIOLY & SIQUEIRA 2000; ROSSATO, 2010; COUTINHO & BARBOSA, 2007).

A fitorremediação oferece várias vantagens dentre as quais grandes áreas podem ser tratadas de diversas maneiras, com possibilidades de remediar o solo e subsolo contaminados e ao mesmo tempo embelezar o ambiente. Segundo Andrade et al. (2007), a fitorremediação é uma técnica que se beneficia por empregar os mesmos equipamentos e insumos utilizados na agricultura. Dessa forma, a aplicação é favorecida através da fácil aquisição e pelo menor custo de equipamentos e insumos.

O autor supracitado ressalta ainda, que seu uso apresenta algumas restrições tais como, maior tempo na obtenção de resultados satisfatórios levando em consideração o ciclo da planta. E ainda, a concentração do poluente e a presença de outras toxinas que podem ou não estar dentro dos limites de tolerância da planta. Outra limitação, é que as plantas utilizadas podem entrar na cadeia alimentar de outros seres vivos.

Existem cinco processos fisiológicos associados à fitorremediação, fitoestabilização, fitovolatilização, fitodegradação, fitoestimulação e fitoextração (PEUKE & RENNENBERG, 2005). Na fitoextração são utilizadas plantas com a habilidade de tolerar e acumular altas concentrações de metais como maiores do que $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn, maiores do que 1.000 mg kg^{-1} de Pb, Ni e Cu, e maiores do que 100 mg kg^{-1} Cd na matéria seca, quando crescem em solos com altos teores de metais (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). O sucesso da fitoextração pode ser influenciado por diversos fatores, como o nível da contaminação do metal no solo, a sua biodisponibilidade, a acumulação do metal na parte aérea das plantas e a elevada produção de biomassa pela planta (GRATÃO et al., 2005; KOLBAS et al., 2011).

Plantas utilizadas em projetos de fitorremediação devem ser capazes de crescer em ambientes com severas limitações edáfo-climáticas (CONESA & SCHULIN, 2010). O uso de espécies de plantas que colonizam espontaneamente

áreas contaminadas pode se constituir em uma ferramenta útil para fitorremediação (MENDEZ & MAIER, 2008). As espécies de plantas podem ser incluídas entre outras, ervas daninhas, gramínea e espécies oportunistas (PÁRRAGA-AGUADO et al., 2013). Em adição, as plantas devem apresentar alta acumulação de biomassa.

Por outro lado, alguns solos podem estar tão contaminados que a fitoextração não seria uma abordagem adequada e o tempo necessário para remediação seria muito longo em razão da dificuldade de estabelecimento da vegetação. Nestes casos, uma forma alternativa seria estabilizar o contaminante, reduzindo a sua concentração para níveis mais toleráveis às plantas (GABOS et al., 2011).

A estabilização ou imobilização química de metais e outra técnica de remediação *in situ* que estabiliza os metais chumbo e cádmio no local, com a vantagem da redução do custo com transporte e aterro sanitário, não produzindo subprodutos tóxicos e não alterando a paisagem, assim é mais eficaz e sustentável (ADRIANO et al., 1997). Essa técnica se caracteriza através da aplicação ao site contaminado por compostos químicos ou mineralógicos ou agentes estabilizantes, que transformam as espécies químicas mais móveis em espécies menos móveis consequentemente menos biodisponível através dos processos de sorção, como adsorção a superfície mineral, formação de complexos estáveis, precipitação de superfície e troca iônica. Assim, o agente estabilizante não deve ser tóxico, e não deve influenciar negativamente as propriedades físico-químicas do solo, e deve imobilizar o contaminante alvo (BANDORA, 2012). A matéria orgânica como biossólidos, turfa, material alcalino, fosfato natural e sintético, rochas fosfatadas, fertilizantes fosfatados e ácido fosfórico são exemplos de agentes estabilizantes que têm sido utilizado na imobilização de Pb e Cd em solos contaminados (BASTA et al., 2001).

O fosfato, por exemplo, tem sido utilizado como um agente estabilizante eficiente de metais via formação fosfato de metais pesados estáveis, como o fosfato de chumbo e fosfato de cádmio reduzindo assim a mobilidade e biodisponibilidade dos metais (MIRETZKY & FERNANDEZ-CIRELLI, 2008). Os minerais fosfatos, uma vez aplicados ao solo, liberam íons (H_2PO_4^-) na solução aquosa que reagem com os íons Pb^{2+} e Cd^{2+} disponíveis no solo e formam a piromorfita, $[\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})]$, a forma de chumbo mais insolúvel em água e estável termodinamicamente sob condição ambiental (LINDSAY, 1979). Entretanto, a coexistência de outros metais na

solução que competem por fosfato pode reduzir a eficiência do agente estabilizante (CORAMI et al., 2008) deixando Pb não imobilizado no sistema.

Uma forma de avaliar a eficiência ou estabilidade dos produtos formados no solo pela imobilização química é a determinação da quantidade de metais pesados que continuam insolúveis quando o meio é acidificado (BASTA et al., 2001).

O método TCLP-Toxicity Characteristic Leaching Procedure é utilizado para avaliar a fitodisponibilidade do metal e o potencial de migração do mesmo da zona de vadoso do solo para o lençol freático quando a amostra é acidificada. Quanto maior for a concentração do metal no extrato TCLP menor será a imobilização do metal e maior será a sua solubilidade e conseqüentemente a sua mobilidade e fitodisponibilidade no solo.

Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivos, avaliar espécies nativas em área contaminada que apresente potencial de tolerância; e avaliar em condição. P:Pb na redução da biodisponibilidade de Pb , Cd e Zn.

2. REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A. M. A. e SIQUEIRA, J. O. Contaminação Química e Biorremediação do Solo. In: NOVAIS, R. F., ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 1. p. 299-352, 2000.
- ADRIANO, D.C.J.; ALBRIGHT, F. W.; WHICKER, I. K.; ISKANDAR, C.; SHERONY. Remediation of metal- and radionuclide-contaminated soils. In I.K. Iskandar and D.C. Adriano (ed.) Remediation of soils contaminated with metals. **Advances in Environmental Science. Science Reviews, Middlesex, UK.** p. 27–46, 1997
- ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. Fitorremediação: o uso das plantas na melhoria da qualidade ambiental. São Paulo: **Oficina de textos**, 2007.
- ANJOS, J. A. S. A.; SANCHEZ, L. E. Plano de Gestão ambiental para sítios contaminados com resíduos industriais: o caso da Plumbum em Santo Amaro da Purificação - BA. In: Bahia Análise & Dados, Salvador/BA, v.10 n. 4 p.306-309, mar. 2001. Disponível em: http://jangello.unifacs.br/downloads/Projeto_Purifica.pdf. Acesso em: 02 jul. 2011
- BANDORA, A. Influence of Zeolites, Humic Acids, and Selenates (VI) on Lead and Cadmium Immobilization and Selected Soil Properties. **Pol. J. Environ. Stud.** v. 21, n. 4, p. 813-820, 2012
- BASTA, N.T.; GRADWOHL, R. K. L.; SNETHEN, J. L.; SCHRODER. Chemical immobilization of lead, zinc, and cadmium in smelter-contaminated soils using biosolids and rock phosphate. **J. Environ. Qual.** V. 30, p. 1222–1230, 2001
- CONESA, H.M., SCHULIN, R. The Cartagena-La Unión mining district (SE Spain): a review of environmental problems and emerging phytoremediation solutions after fifteen years research. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 12, p. 1225-1233, 2010.
- CORAMI, A.; MIGNARDI, S.; FERRINI, V. Cadmium removal from single- and multimetal Cd + Pb + Zn + Cu) solutions by sorption on hydroxyapatite. **Journal of Colloid and Interface Science.** v. 317, p. 402–408, 2008

COUTINHO, H. D.; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: Considerações Gerais e Características de Utilização. **Rev. Silva Lusitana**. v. 15, n. 1, p. 103 - 117, 2007.

GABOS, M. B.; CASAGRANDE, G.; ABREU, C. A.; PAZ-FERREIRO, J. Uso da matéria orgânica como mitigadora de solo multicontaminado e do girassol como fitoextratora. **Rev. bras. eng. agríc. ambient. [online]**. v.15, n.12, p. 1298-1306, ISSN 1415-4366, 2011

GRATÃO, P. L.; PRASAD, M. N. V.; CARDOSO, P. F.; LEAS, P. J.; AZEVEDO, R. A. Phytoremediation: Green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 17, p. 53-64, 2005.

KOLBAS, A.; MENCH, M.; HERZIG, R.; NEHNEVAJOVA, E.; BES, C. M. Copper phytoextraction in tandem with oilseed production using commercial cultivars and mutant lines of sunflower. **International Journal of Phytoremediation**. v,13, p. 55-76, 2011

LINDSAY, W. L. Chemical Equilibria in Soils, **John Wiley & Sons Inc.**, New York, p. 329–342, 1979.

MENDEZ, M.O., AND R.M. MAIER. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments – an emerging remediation technology. **Environ. Health Perspec.** 116:278-283. PMID: 18335091, 2008.

MIRETZKY, P.; FERNANDEZ-CIRELLI A. Phosphates for Pb immobilization in soils: a review. **Environmental Chemistry Letters**. v. 6, n. 3, p. 121–133, 2008.

PÁRRAGA-AGUADO, I. GONZÁLEZ-ALCARAZ, M.N., ÁLVAREZ-ROGEL, J., JIMÉNEZ-CÁRCELES, F.J., CONESA, H.M. The importance of edaphic niches and pioneer plant species succession for the phytomanagement of mine tailings. **Environ. Pollut.** V.176, p.134-143, 2013.

PEUKE, A. D.; RENNENBERG, H. Phytoremediation: molecular biology, requirements for application, environmental protection, public attention and feasibility. **EMBO Rep.** v. 6,p. 497 - 501, 2005.

ROSSATO, L. V. **Efeitos bioquímicos e fisiológicos do chumbo em plantas de Quitoco (Pluchea Sagittalis): possível papel fitorremediador.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica)- UFSM, Santa Maria, RS, 2010.

CAPÍTULO 1

**SELEÇÃO DE PLANTAS TOLERANTES A CHUMBO, CÁDMIO E ZINCO EM
ÁREA CONTAMINADA COM REJEITOS DE INDÚSTRIA DE MINERAÇÃO.**

SELEÇÃO DE PLANTAS TOLERANTES A CHUMBO, CÁDMIO E ZINCO EM ÁREA CONTAMINADA COM REJEITOS DE INDÚSTRIA DE MINERAÇÃO.

Autora: Emylly Figueredo Leal

Orientador: Jorge Antonio Gonzaga

Resumo: Diante do quadro alarmante de contaminação por metais pesados, é de suma importância expandir o conhecimento atual de modo a identificar espécies que sejam potencialmente aptas à restauração de áreas contaminadas. Assim espécies que crescem em ambientes contaminados como em áreas de mineração podem desenvolver mecanismos que lhes garantem sobrevivência mesmo em altas concentrações de metais. Diante do exposto objetivou-se o nível de contaminação de uma área de descarte de rejeitos de indústria na área de ocorrência de três espécies e o potencial e/ou capacidade de acumulação de chumbo, cádmio e zinco de três espécies nativas de maior ocorrência em um Vertissolo. O estudo foi realizado na área próxima as instalações da antiga fábrica de beneficiamento de Pb no município de Santo Amaro, Bahia, Brasil. O experimento foi estabelecido em delineamento em blocos ao acaso, no qual se avaliou o teor de Pb, Cd e Zn na área de ocorrência de cada espécie em cada bloco e o potencial de extração de Pb, Cd e Zn de três espécies vegetais de maior ocorrência: Aroeira (*Schinus terebinthifolia*); Capim Braquiária (*brachiaria decumbens*); e Estilosante (*stylosanthes viscosa*). Os resultados mostraram que as concentrações médias dos metais da área experimental estão acima dos limites da legislação brasileira para solos. As plantas de braquiárias germinaram em solos com concentrações mais elevadas de chumbo enquanto a estilosante germinou em solos com os menores teores de chumbo, e a aroeira tende a se concentrar em ambientes com concentração intermediária de Pb. A braquiária apresentou o mecanismo de exclusão do contaminante, para vegetar em ambientes de alta concentração de Pb, Cd e Zn, a estilosante tendeu a ocupar as áreas contaminadas com menores teores de metais, pois a planta tende a particionar mais os metais, principalmente o Cd e o Zn, na parte aérea do que na raiz. A aroeira tende a apresentar característica intermediária entre a braquiária e a estilosante.

Palavra-chave: Fitoextração, metais pesados, contaminação ambiental.

LEAD, CADMIUM AND ZINC TOLERANT PLANTS SELECTION IN MINING INDUSTRY WASTE CONTAMINATED AREA

Author: Figueredo Emylly Leal

Advisor: Jorge Antonio Gonzaga

ABSTRACT: Given the alarming scenario of heavy metals contamination is extremely important to expand current knowledge in order to identify species that are potentially suitable for the contaminated areas restoration. In this sense species growing in contaminated areas as in mining environments can develop mechanisms that guarantee their survival even in high metals concentrations. Given the above objective is the level of contamination of a tailings disposal area of industry in the area of occurrence of three species and the potential and/or capacity of accumulation of lead, cadmium and zinc from three native species most frequent in Vertisol. This study was carried out in the area near the premises of the old processing Pb plant in Santo Amaro, Bahia, Brazil. The experiment was established in randomized blocks, which evaluated Pb, Cd and Zn content in each block of the occurrence of each species area and the potential for Pb, Cd and Zn extraction from three plant species of higher occurrence: Aroeira (*Schinus terebinthifolia*); Capim (*Brachiaria decumbens*); and Estilosante (*Stylosanthes viscosa*). The results showed that metals mean concentrations of the experimental area are above the limits of Brazilian law for soils. Capim plants germinated in soils with high concentrations of lead while Estilosante germinated in soils with lower levels of lead, and the Aroeira tends to concentrate in environments with intermediate concentration of Pb. Capim showed the contaminant exclusion mechanism to vegetate in high Pb, Cd and Zn concentration environments, Estilosante tended to occupy contaminated with lower metal content areas as the plant tends to partition more metals, especially Cd and Zn in shoots than at the root. Aroeira tends to have intermediate characteristics between Capim and Estilosante.

Keyword: Phytoextraction, heavy metals, environmental contamination.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da contaminação do solo por metais pesados é um dos maiores problemas ambientais, vindo a ameaçar a saúde humana e animal, além de afetar os demais ecossistemas (ROONGTANAKIAT & SANON, 2011). Esse aumento pode estar diretamente relacionado à revolução industrial, onde ocorreu uma liberação acentuada de poluentes para o ambiente, sendo o solo utilizado como filtro acumulador e receptor de diversas substâncias resultantes da atividade humana. No entanto, essa capacidade é limitada, podendo ocorrer alteração da qualidade do solo, devido ao efeito acumulativo da deposição de poluentes atmosféricos, aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes e disposição de resíduos sólidos urbanos, industriais, tóxicos e radioativos (CETESB, 2009).

A preocupação com as consequências ambientais decorrentes dessas atividades, especialmente no solo, tem sido objeto de intensas discussões e faz parte da agenda política de diversos países (CETESB, 2009). Um dos casos de contaminação derivada da indústria de mineração ocorreu em Santo Amaro, cidade localizada no Recôncavo Sul da Bahia, e tem uma população de 61.407 habitantes, com uma distância de, aproximadamente, 70 km da cidade de Salvador, capital deste.

Santo Amaro foi palco de intensa atividade de extração metalúrgica de chumbo que segundo Machado et al. (2004), começou em 1956 quando foi instalada na cidade e se intensificou nas décadas de 1960 e 1970. A fábrica da COBRAC (Companhia Brasileira de Chumbo) produziu entre 11.000 e 32.000 toneladas de chumbo por ano gerando um passivo ambiental. Por falta de conhecimento, gerenciamento inadequado e regulamentação ineficiente, a escória por ser um material granular e de boa capacidade de suporte, foi utilizada pela população e pela prefeitura de Santo Amaro para os mais diversos fins, como na pavimentação de vias de acesso e aterro de quintais disseminando mais a contaminação (MACHADO et al., 2003).

Vale ressaltar também que, com localização a 290 metros das margens do rio Subaé em um vale de topografia suavemente acidentada, foi um dos principais erros associados à construção da fábrica, pois além da dificuldade para dispersar os

poluentes lançados na atmosfera, devido à baixa intensidade dos ventos nesta zona, o que também favoreceu a precipitação das partículas contaminadas na própria área urbana e os poluentes foram jogados in natura nos rios devido à baixa capacidade dos corpos receptores (MACHADO et al., 2010).

O seu fechamento foi impulsionado depois que ocorreu o esgotamento do material extraído da jazida de Boquira-BA. Após a exaustão passou-se a importar minério do Peru. Desde o seu fechamento, a companhia tem mudado o seu nome diversas vezes, tendo já adquirido as marcas Plumbum, Grupo Trevo e TREVISAN (MACHADO et al., 2004).

A situação da contaminação do sítio urbano foi citada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA, 2003), que identificou Santo Amaro (BA) como uma das áreas prioritárias para a vigilância ambiental relacionada com solos contaminados no Brasil. Rabelo (2010), estudando a contaminação remanescente no sítio urbano e no entorno de Santo Amaro, provenientes da deposição de escória e das antigas emissões atmosféricas geradas pela COBRAC, ressaltou que os valores médios encontrados nos solos superficial dos quintais de Santo Amaro foram de 1011 e 7,28 mg kg⁻¹ de Pb e Cd respectivamente. Confirmando a persistência da contaminação, visto que 80 % dos quintais apresentaram valores de concentração acima do limite de intervenção (300 mg Kg⁻¹) para área residencial e 50 % acima dos limites de intervenção industrial (900 mg kg⁻¹) estabelecido pela resolução CONAMA N°420/2009.

Segundo Magna (2011), que avaliou o conteúdo dos metais Pb e Cd detectados em alimentos vegetais e gramíneas cultivadas em solos contaminados da área urbana de Santo Amaro, o autor constatou que para as gramíneas, Capim de Burro (*Eleusine indica*) e Capim Braquiária (*Brachiaria decumbens*), os teores de Cd ficaram abaixo do limite de detecção, para o Pb observaram valores médios de 253,3 e 18,5 mg kg⁻¹, respectivamente.

Os metais pesados podem ocorrer naturalmente no ambiente e mesmo em baixa concentração podem afetar a fertilidade do solo, pois são elementos tóxicos, que afetam a produção de biomassa e, conseqüentemente, o rendimento da produção e o seu acúmulo nos solos (LICHT 1998). Os metais merecem preocupação principalmente por serem não degradáveis, apesar de apresentar alguma mobilidade no meio ambiente (BALDRIAN, 2010), e persistem por períodos

longos no meio ambiente, mesmo com a proscrição das fontes antropogênicas de emissão (NIZOLI & SILVA, 2009).

Como foi citada anteriormente a área de estudo possui um grau de contaminação bastante elevada e o principal contaminante é o chumbo, que se destaca como o maior poluidor do meio.

Segundo Andrade *et al.* (2009), no solo, o Pb é de difícil remoção pois pode se ligar às partículas por meio de mecanismos de adsorção, troca catiônica, precipitação e complexação com a matéria orgânica e, quando dissolvido na água e na forma de íon trocável, torna-se disponível para a absorção pelas plantas.

O seu acúmulo no corpo por inalação ou ingestão, pode causar câncer e afetar o sistema nervoso central, o sistema gastrointestinal, rins e colocar em risco a vida das pessoas. Uma vez introduzido no solo é muito difícil de remover o chumbo devido a sua baixa movimentação no perfil e por não ser degradado microbiologicamente. A intoxicação por chumbo geralmente é de origem alimentar ou profissional podendo causar danos irreversíveis ao cérebro de crianças. É relatado em Silva *et al.* (2003) que os moradores do entorno da fábrica em Santo Amaro descrevem casos de adultos e crianças contaminadas por chumbo e com doenças relacionada ao mesmo.

O cádmio também causa contaminação em Santo Amaro (BA), ocorrendo frequentemente em áreas próximas às fundições de chumbo, zinco e cobre. Outra importante fonte de Cd no ambiente é a combustão do carvão que o introduz no ambiente e a sua liberação por incineração de materiais residuais que contêm o elemento (CRUVINEL, 2009). Este metal não é um nutriente para os vegetais ou animais, entretanto é facilmente absorvido pelas raízes das plantas e acumulado nas partes aéreas em concentrações que podem causar riscos à cadeia alimentar (KOLELI *et al.*, 2004). Acredita-se que de forma semelhante a outros metais pesados, o Cd entra nas células vegetais através de transportadores de cátions com ampla especificidade de substrato (GUIMARÃES *et al.*, 2008). E quando o Cd é absorvido pelo homem é considerado tóxico, sendo um elemento de meia vida biológica longa, com estimativas de 16 a 33 anos de permanência no corpo humano até que seja totalmente eliminada (COZZOLINO, 2005). Sua lenta excreção faz com que o mesmo se acumule no fígado e rins (MAZZUCO, 2008), pulmões, sistema reprodutor, dentre outros (WHO, 2012).

Por ser um elemento de alta mobilidade e toxicidade no solo, o Cd apresenta elevado potencial de risco ambiental (ARDUINI et al., 1996), justificando assim estudos que contribuam para recuperação de áreas contaminadas com esse metal.

Outro metal encontrado na área é o Zinco (Zn), porém dos metais estudados ele é o único a ser um elemento essencial para os organismos, por ser um componente estrutural de muitas proteínas, além de ser indispensável para o crescimento das plantas (ALEXANDRE et al., 2012). Depois do ferro, o zinco é o segundo metal mais abundante nos organismos (BROADLEY et al., 2007). Por fontes antrópicas é introduzido no ambiente, através das atividades de mineração, resíduos de processos industriais, agroquímicos, fertilizantes e o uso do lodo de esgoto. Sendo fortemente adsorvido em solos argilosos, podendo agravar a deficiência do mesmo. Nos vegetais, os sintomas de toxicidade incluem restrição de crescimento radicular e, brotos, a expansão foliar seguida de clorose das folhas, aparecimento de pigmentos marrons avermelhados, provavelmente de substâncias fenólicas, distribuído por toda a planta; morte da plântula; e inibição do crescimento vegetal (LI et al., 2011). Para o organismo humano a absorção excessiva deste metal pode levar a um quadro de intoxicação, como vômito, diarreia e cólicas (BARROS, 2007).

Para a remoção de contaminantes do solo implica no uso de medidas complexas e caras e de longa duração para que o solo volte a ser utilizado de forma segura. Isto ocorre devido ao alto tempo de residência de metais no solo além da possibilidade de alguns desses elementos migrarem para a água subterrânea (BECERRIL SOTO et al., 2007).

As plantas são componentes essenciais aos ecossistemas, pois elas transferem elementos do ambiente abiótico para o ambiente biótico. E a fitorremediação é uma tecnologia relativamente nova que contempla o uso de plantas para transformar ou eliminar o contaminante acumulado nos tecidos vegetais. Essa tecnologia tem diversas vantagens comparativas às técnicas tradicionais de descontaminação, principalmente quando espécies nativas ou não invasivas são utilizadas. O uso de espécies nativas aumenta a relação custo benefício, não altera a paisagem, reduz ou elimina a concentração de metais pesados e recupera a qualidade, a funcionalidade e sustentabilidade do solo (ALVAREZ & ILLMAN, 2006). O sucesso do uso da técnica da fitorremediação depende da existência de plantas capazes de concentrar metais, da produção de

biomassa, do órgão vegetal onde o metal é acumulado, biodisponibilidade de metais no solo, a toxicidade e a competição entre os diferentes metais.

É hipotetizado que plantas crescendo em áreas com alta concentração de metais resultante de descarte de rejeito da indústria de mineração sejam tolerantes aqueles metais e, portanto tenham o potencial de serem utilizadas para fitorremediação. A ocorrência de plantas nativas em diferentes áreas do sítio contaminado pode ser um indicativo de adaptação das espécies a diferentes concentrações dos contaminantes. Baseado nessas premissas observou-se neste estudo a) o nível de contaminação de uma área de descarte de rejeitos da indústria de processamento do chumbo nas áreas de ocorrência de três espécies b) o potencial e capacidade de acumulação de chumbo, cádmio e zinco de três espécies nativas Aroeira (*Schinus terebinthifolia*), Capim Braquiária (*brachiaria decumbens*) e Estilosante (*Stylosanthes viscosa*) de maior ocorrência em um Vertissolo ser utilizado em estratégias de fitorremediação em Santo Amaro, Bahia.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1. ÁREA DE ESTUDO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado na área próximo as instalações da antiga fábrica de beneficiamento de Pb no município de Santo Amaro, Bahia, Brasil (Figura 1), localizada no Recôncavo Sul da Bahia, com aproximadamente 61.407 habitantes, distante a 70 km da cidade de Salvador, capital do Estado. O município está inserido em uma zona climática do tipo As, clima úmido a subúmido (Topical) de acordo com Thornthwaite & Matther (1955). Além da pluviometria elevada, a temperatura chega a ultrapassar a média de 26°C, e elevada evapotranspiração que chega a atingir a média de 1.328 mm ano⁻¹ (AZEVEDO, 2012). A precipitação ocorre principalmente nos meses de março a agosto com médias pluviométricas variando de 1000 a 1600 mm.

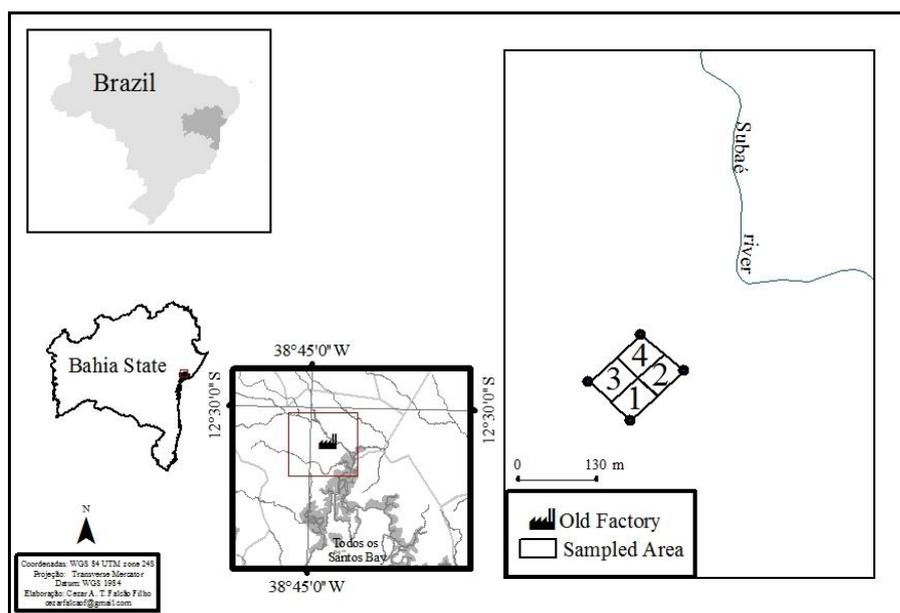


Figura 1 - Localização da fábrica e o local de coleta na área selecionada para o estudo.

O experimento foi estabelecido em delineamento em blocos ao acaso, no qual se avaliou o teor de Pb, Cd e Zn na área de ocorrência de cada espécie em cada bloco; e o potencial de extração de Pb, Cd e Zn de três espécies vegetais de maior ocorrência: Aroeira (*Schinus terebinthifolia*); Capim Braquiária (*brachiaria decumbens*); e Estilosante (*stylosanthes viscosa*) em uma área contaminada por

rejeitos da indústria de mineração, cuja uma avaliação anterior apresentou a concentração mais alta dos metais Pb, Cd e Zn.

A área experimental é de 120 m por 100 m e foi subdividida em quatro blocos de 60 m por 50 m. Para que os resultados fossem mais representativos em cada bloco foi coletado 3 repetições de cada tratamento. Cada repetição em cada bloco foi representado pela coleta de 5 plantas por espécie e as respectivas amostras de solo na área de crescimento das plantas amostradas.

2.2. DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES UTILIZADAS NO ESTUDO

Foram avaliadas três espécies de maior ocorrência espontânea na área contaminada (Figura 2). A aroeira (*Schinus terebinthifolia*) espécie arbórea que alguns estudos indicam ser uma espécie com capacidade de remoção de metais (SILVA et al., 2011; ASSUNÇÃO, 2012); o capim braquiária (*brachiaria decumbens*), gramínea que se encontra amplamente disseminada na área contaminada e estilósante (*stylosanthes viscosa*) uma leguminosa que também foi encontrada em grande número na área.



Figura 2 - Espécies coletadas na área da fábrica onde a – Aroeira ,b- Braquiária e c- Estilósantes

2.3. AMOSTRAGEM DE PLANTAS E SOLOS

A área contaminada foi dividida em quatro blocos com o intuito de avaliar o nível de homogeneidade do local (Figura 1). As plantas coletadas na área vegetada apresentavam característica de distribuição diversa. Enquanto a gramínea apresentava um índice de cobertura de mais de 90%, a aroeira e a estilosante se encontravam mais espaçadas. A parte aérea e a raiz das três espécies vegetais foram coletadas (n=5) e comitantemente com três amostras compostas de solos (n=3) em cada quadrante e para cada vegetação. O solo foi coletado na profundidade de 0-20 cm.

As plantas foram coletadas com auxílio de enxadão onde se tomou cuidado para manter o torrão do solo, visando manter o sistema radicular. As mesmas foram trazidas para laboratório onde foram segmentadas em parte aérea e raiz, avaliadas para biomassa e acondicionadas em saco de papel para secagem em estufa de circulação forçada a 65°C por um período de 72 h. Após secagem, a biomassa seca das plantas foi pesada em balança (Marconi Modelo AL500C com precisão de $\pm 0,001$ g). O material vegetal seco foi processado em moinho tipo Willye TE 650 com malha de 1 mm de diâmetro e acondicionado em saco plástico vedado até o momento da análise. As amostras de solo foram secas ao ar, peneirado em tela de nylon 2,00 mesh e moído em almofariz de ágata, para obtenção da Terra Fina Seca ao Ar (TFSA).

2.4. ANÁLISE DE METAIS NA PLANTA E SOLO

O Vertissolo da área experimental foi caracterizado quimicamente (Tabela 1), para $\text{pH}_{(\text{H}_2\text{O})}$ e o $\text{pH}_{(\text{KCl})}$ determinados, na relação solo: solução de 1:2,5, pelo método potenciométrico (EMBRAPA, 2009). Cálcio, magnésio e alumínio foram extraídos com KCl 1 mol L^{-1} , na relação de 1:10, conforme descrito em EMBRAPA, (2009). A acidez potencial (Al + H) foi determinada pelo método do acetato de cálcio tamponado a pH 7,0. Fósforo, potássio e sódio foram extraídos por Mehlich-1 (HCl $0,05\text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,0125\text{ mol L}^{-1}$) e quantificado pelo método colorimétrico (P) e fotometria de chama (K e Na), (EMBRAPA, 2009), O carbono orgânico foi determinado através da oxidação da matéria orgânica com solução de dicromato de potássio em meio ácido e titulação do excesso de dicromato com solução de sulfato ferroso amoniacal, usando difenilamina como indicador.

Tabela 1 - Características químicas do Vertissolo coletado na área experimental de Santo Amaro amostrado em duas profundidades.

Atributos	Profundidade (cm)	
	0-20	20-40
pH_(H₂O) (1:2,5)	8,2	8,2
pH_(KCl) (1:2,5)	6,7	6,7
Ca²⁺ (cmol_c dm⁻³)	37,0	37,4
Mg²⁺ (cmol_c dm⁻³)	6,0	6,2
Al³⁺ (cmol_c dm⁻³)	0,0	0,0
(H+Al) (cmol_c dm³)	0,1	0,10
K⁺ (cmol_c dm⁻³)	0,28	0,24
Na⁺ (cmol_c dm⁻³)	0,48	0,40
P (mg dm⁻³)	0,12	0,12
SB (cmol_c dm⁻³)	43,8	44,2
T (cmol_c dm⁻³)	43,9	44,3
V%	99,8	99,8
MOS	0,78	0,44

As amostras de plantas e de solo foram digeridas por via úmida pelo método USEPA - SW 846- 3050 B, respectivamente conforme descrito no livro da Embrapa (2009). Além da oxidação do material orgâno-mineral, com ácido nítrico e subsequentemente oxidado com peróxido de hidrogênio, liberando os metais ligados às frações orgânicas e minerais, com exceção aos silicatos. Em síntese, cerca de 0,500 g do material vegetal seco e moído ou solo seco ao ar, peneirado em tela de nylon de 2,00 mesh e moído em almofariz de ágata, foi pesado em balança analítica e transferido para tubos de ensaio, identificados nos quais foram adicionados 10,0 ml de solução HNO₃: H₂O deionizada 1:1 (volume/volume). A mistura foi aquecida nos tubos de ensaio a 95 °C em sistema de refluxo durante quinze minutos em bloco digestor Bloco (SL 25/40 SOLAB) e retirada para resfriar. Em seguida, adicionou-se 5 ml de HNO₃ concentrado, aquecendo novamente a 95 °C, sob refluxo por 30 minutos. Este procedimento foi repetido mais uma vez. A mistura ficou sob aquecimento a 95 °C durante 2 horas, para a redução do volume. Após resfriada, foi adicionada a mistura 2 ml de água deionizada e 3 ml de H₂O₂, aquecendo

novamente até que a reação de efervescência provocada pelo H_2O_2 tivesse diminuído. Alíquotas de 1 ml de H_2O_2 foram adicionadas até que a aparência da amostra apresentasse efervescência semelhante a do controle e que o volume de peróxido de hidrogênio adicionado não tivesse, ultrapassando o volume de 10 mL. Finalmente, adicionou-se 5 ml de ácido clorídrico concentrado e 10 ml de água deionizada, e aqueceu a mistura durante 15 minutos a 95 °C. Após resfriado, o material foi filtrado em papel filtro Whatman (nº 42), e avolumado com HCl:H₂O deionizada 1:100 volume/volume) para 50 ml e acondicionados em recipientes previamente limpos e descontaminado com solução de HNO₃ 5%. Os teores de Pb, Cd e Zn, na raiz, na parte aérea e no solo foram determinados em Espectrofotômetro de absorção atômica VARIAN, Modelo FS 240 com SIPS . Para cada grupo de 10 amostras foi adicionada uma amostra duplicada e outra amostra spike, para controle de qualidade ou seja, 20% de amostra para controle de qualidade.

A translocação dos metais, Pb, Cd e Zn para planta em relação à concentração do elemento no solo (fator de bioacumulação, FB) e a concentração dos metais na parte aérea em relação a quantidade do mesmo na raiz (fator de translocação, FT) (ZU *et al.*,2005) foi calculado a partir das seguintes equações:

$$FB = \frac{TMPA}{TMS} \qquad FT = \frac{TMPA}{TMR}$$

Onde: TMPA refere-se ao teor do metal na parte aérea e TMS: teor de metal no solo e TMR: teor de metal na raiz.

2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os teores médios e os desvios padrão de Pb, Cd, Zn na área de crescimento de cada uma das espécies em cada quadrante, os dados de biomassa e os teores de Pb, Cd, Zn na parte aérea, raiz e no solo das diferentes espécies foram submetidos à análise de variância (teste F). O teste de separação de média Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para comparar o efeito da contaminação nos diferentes atributos avaliados utilizando o programa computacional SAS (2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise química do vertissolo (Tabela 1), revelou ausência de acidez, e teor muito alto de macronutrientes e o resultado referente ao complexo sortivo indicou um valor elevado para saturação de bases não aparecendo à presença de Al^{3+} . Esse dado é importante, quando se observa a competição catiônica dos metais pelos sítios de adsorção do solo e entre elementos com maior valência. Outro importante atributo do solo na mobilidade dos metais pesados é o pH, visto que está correlacionado com a adsorção de metais no solo (McBRIDE & BLASIAK, 1979).

Para o solo em estudo foi observado o pH alcalino. Segundo Tavares (2013) a mobilidade dos metais pesados na maioria dos solos diminui com o aumento do pH para valores próximos à neutralidade, através da precipitação de formas insolúveis, como hidróxidos, carbonatos e complexos orgânicos.

Os teores de Pb, Cd e Zn da área do estudo são apresentados na Tabela 2. Para fins de comparação, foi construído uma tabela com o Guia de Qualidade do Solo para proteção do ambiente e saúde humana para de chumbo (Pb), cádmio (Cd) e zinco (Zn) ($mg\ kg^{-1}$), baseado no uso do solo, do Brasil, Canadá e USEPA, (Tabela 3). Os valores da tabela foram usados com duas premissas: quando a concentração do metal for muito elevada, utilizar as concentrações do uso do solo industrial, por apresentarem valores maiores; por apresentar valores mais conservadores entre as três legislações, os dados da legislação do Brasil sempre foram usados como referência.

As concentrações médias de Pb da área experimental estão acima dos limites da legislação brasileira para solos utilizados para fins industriais. As concentrações foram 4,5 (braquiária), 1,8 vezes (aroeira) maior do que o valor da legislação enquanto a estilante vegetou em concentração inferior ao da legislação para solo industrial porém em concentração bem superior ao limite para solo agrícola, (Tabela 2). Os teores de metais na área experimental foram bem desuniforme como indicado pelos valores de desvio padrão, (Tabela 2), variabilidade esperada para uma área de descarte de rejeito. As plantas de braquiárias germinaram em solos com concentrações mais elevadas de chumbo enquanto a estilante germinou em solos com os menores teores de chumbo, (Tabela 2) e a aroeira tende a se concentrar em ambientes com concentração intermediária de Pb.

Os teores médios de Cd e Zn dos solos não diferiram entre as espécies avaliadas (Tabela 2). Os teores médios de Cd foram entre 4,6 e 5,5 vezes maiores do que os limites estabelecidos pela legislação brasileira para Cd para uso agrícola, (Tabela 3), enquanto os teores médios de Zn da área experimental foi de 5 a 6,2 vezes maiores do que os limites estabelecidos pela legislação brasileira para uso agrícola desse elemento.

Tabela 2 - Distribuição de chumbo, cádmio e zinco nos solos nas proximidades do ponto de crescimento da aroeira, braquiária e estilosante da área contaminada.

Bloco	Espécies estudadas		
	Aroeira	Braquiária	Estilosante
	Chumbo (mg kg⁻¹)		
1	1339,25 ± 339,25	2569,46 ± 69,46	700,95 ± 0,95
2	741,10 ± 41,10	4537,33 ± 37,33	1947,87 ± 47,87
3	465,70 ± 65,70	1991,89 ± 91,89	204,85 ± 4,85
4	4024,56 ± 24,56	6913,13 ± 13,13	437,39 ± 7,39
Média	1642,70 ± 42,70	4002,95 ± 2,95	822,77 ± 2,77
	Cádmio (mg kg⁻¹)		
1	9,32 ± 1,07	15,72 ± 0,72	17,11 ± 0,11
2	8,43 ± 43,9	9,19 ± 19,0	21,94 ± 1,94
3	12,35 ± 2,35	9,91 ± 0,91	7,07 ± 0,70
4	31,78 ± 1,78	31,85 ± 0,85	9,51 ± 0,51
Média	15,47 ± 5,47	16,67 ± 0,67	13,91 ± 0,91
	Zinco (mg kg⁻¹)		
1	291,30 ± 270,52	1734,98 ± 188,30	5048,02 ± 1261,14
2	419,24 ± 112,98	1171,31 ± 221,12	5046,00 ± 1725,21
3	90,35 ± 32,07	1569,09 ± 559,54	131,08 ± 30,08
4	7002,13 ± 7496,87	7107,34 ± 1163,66	929,74 ± 205,02
Média	2793,78 ± 4994,19	2229,33 ± 2414,20	2788,71 ± 2547,29

Tabela 3 - Guia de Qualidade do Solo para proteção do ambiente e saúde humana para chumbo (Pb), cádmio (Cd) e zinco (Zn) (mg kg⁻¹) baseado no uso do solo.

Elemento	Uso do Solo								
	Agrícola			Residencial			Industrial		
	Brasil ¹	Canadá ²	USEPA ³	Brasil	Canadá	USEPA	Brasil	Canadá	USEPA
Pb	180	70	70	300	140	400	900	600	800
Cd	3,0	1,4	1,4	8	10	70,0	20,0	22,0	800
Zn	450	200	-	1000	200	23000	2000	360	350000

¹Resolução CONAMA

²<http://www.ccme.ca/publicatios/cegg/rcge.html>

³USEPA, GAHP. [http://www.epa.gov/reg3hwm/risk/human/rb-concentration-table/Generic Tables/](http://www.epa.gov/reg3hwm/risk/human/rb-concentration-table/Generic%20Tables/)

Os dados obtidos nesse estudo possivelmente indicam que o Pb foi o fator determinante para o estabelecimento das espécies vegetais na área experimental, já que os teores médios de Cd e Zn do solo não diferiram. A ordem de ocorrência das espécies vegetais de acordo com a concentração crescente de Pb foi estilossante < aroeira < braquiária.

3.1. PRODUÇÃO DE BIOMASSA

Uma das características que credencia uma espécie para ser utilizada em programa de fitorremediação é a produção de biomassa da parte aérea (Tabela 4). A biomassa da aroeira (60,52 g /5 plantas) e da braquiária (63,17 g /5 plantas) foram cerca de 2,0 vezes maior do que da estilossante (29,38 g /5 plantas). Essa mesma tendência foi observado para biomassa de raiz onde a biomassa da aroeira (62,52 g /5 plantas) e da braquiária (59,17 g /5 plantas) foi 14 e 13 vezes maior do que a da estilossante (4,56 g /5 plantas), (Figura 3 a). Por ser uma leguminosa e apresentar maior exigência nutricional, a estilossante, foi à espécie com menor produção de biomassa.

Uma característica desejável na seleção de plantas tolerantes a metais é a produção de biomassa. O chumbo afeta o sistema fisiológico da planta e inibe a fotossíntese, alterando a nutrição mineral e o balanço hídrico, modificando o estado hormonal e afeta a estrutura e permeabilidade da membrana (SHARMA & DUBEY, 2005) no que resulta em uma baixa produção de biomassa da parte aérea e do sistema radicular. Andrade et al. (2009) avaliando o efeito de solo contaminado com Pb, Zn, Cd e Cu na produção de biomassa de girassol, aveia preta e grama batatais relataram redução da produção de biomassa da parte aérea e radicular.

Esses dados também podem explicar a maior ocorrência das leguminosas nas áreas com menor teor de metais.

Tabela 4 - Biomassa da parte aérea e raiz das plantas estudadas

	Aroeira		Braquiária		Estilosante	
	Parte aérea	Raiz	Parte aérea	Raiz	Parte aérea	Raiz
1	57,67±12,55	37,42±23,01	55,93 ± 29,28	74,06 ± 44,96	19,05 ±8,12	23,48 ±34,52
2	64,10 ±15,64	60,38 ± 5,85	62,05±27,39	48,09 ± 4,44	75,13±54,87	10,00 ± 8,87
3	55,23 ±15,18	78,37±39,99	70,01±32,47	54,62 ± 12,72	30,87±13,87	5,08 ± 3,39
4	84,77±22,64	86,08± 37,15	103,14±37,96	50,06±17,03	26,74±16,24	4,98 ± 3,16
Média	65,44 ±18,85	65,56± 32,05	72,78 ± 33,29	56,71 ± 23,85	37,95±34,13	10,89±17,23

*Biomassa de 5 plantas coletadas de cada espécie

De acordo com AZEVEDO et al. (2007), a utilização de leguminosas para recuperar áreas degradadas apresenta várias vantagens, devido à existência de um grande número de espécies que ocorrem em várias regiões do Brasil e à relativa facilidade na obtenção de sementes.

A menor produção de biomassa da leguminosa pode estar associada a desequilíbrio nutricional. A relação biomassa da parte aérea para a biomassa de raiz é uma das formas de confirmar essa relação. Alto valor da relação biomassa da parte aérea/biomassa de raiz indica a existência de desequilíbrio nutricional. Enquanto a relação biomassa da parte aérea/biomassa da raiz da aroeira e da braquiária foi em torno de uma unidade, a da estilosante foi cerca de 6,5 unidades. Os dados obtidos nesse experimento corroboram com os encontrados por Romeiro et al. (2006) e Romeiro et al. (2007) porém, não são da mesma ordem de grandeza em função da diferença na forma de cultivo das plantas. Nos casos de utilização de sistemas hidropônicos a absorção de metais pesados é facilitada, em função da total disponibilidade dos elementos, comparado ao sistema solo.

3.2. CONCENTRAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE METAIS NAS ESPÉCIES

Espécies vegetais apresentam comportamento diferenciado em resposta à contaminação de metais. Por exemplo, os teores de Pb na raiz de braquiária e aroeira foram maiores do que aqueles obtidos para a parte aérea, (Figura 3 b). Em contraste os teores de Pb na raiz e parte aérea da estilosante foram semelhantes. Entre as espécies, a concentração de chumbo na parte aérea da Aroeira ($77,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e o da braquiária ($147,58 \text{ mg kg}^{-1}$) foram três e cinco vezes maior do que do estilosante ($26,97 \text{ mg kg}^{-1}$), respectivamente. A mesma tendência foi observada para a raiz, onde os teores de Pb na raiz da aroeira ($124,44 \text{ mg kg}^{-1}$) e o da braquiária ($428,61 \text{ mg kg}^{-1}$) foram 3,1 e 10,1 vezes maiores do que o da estilosante (Figura, 3b). Este maior acúmulo do Pb observados nas raízes das espécies, pode indicar que as mesmas servem como uma barreira parcial ao transporte do metal para a parte aérea (SHARMA e DUBEY, 2005),

Não houve diferença entre os valores de transferência entre os tratamentos embora o FT da estilosante (0,67) e da aroeira (0,66) tenham sido três vezes maior do que a da braquiária (0,32).

Na escolha de plantas bioacumuladoras é desejável que as plantas apresentem fator de bioacumulação (FB), razão entre a concentração do metal na planta quando comparado com a concentração do meio, superior a uma unidade. Das espécies avaliadas, nenhuma apresentou FB próximo a uma unidade, aroeira (0,07), braquiária (0,05) e estilosante (0,10) o que indica que nenhuma das espécies avaliada pode ser utilizada como fitoextratora de chumbo.

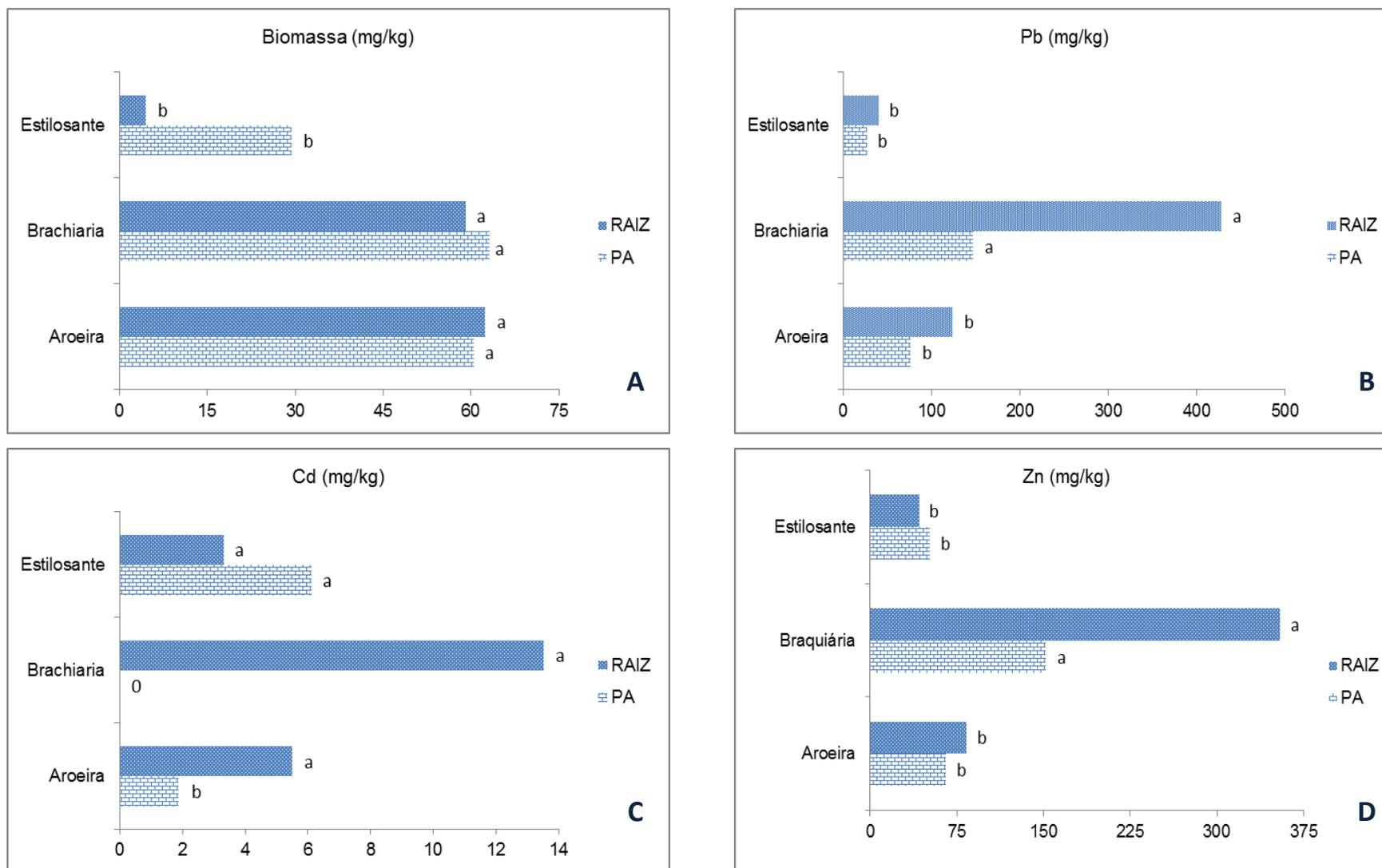


Figura 3 - Biomassa das plantas 3 A, Concentração média dos metais Pb (raiz e parte área), 3 B do Cd 3 C e do zinco 3 D. Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As concentrações de Cd na parte aérea das três espécies avaliadas variou de 0, mg kg⁻¹ (braquiária) a 6,12mg kg⁻¹ (estilosante) enquanto a aroeira apresentou concentração 1,90 mg kg⁻¹, (Figura 3 c). Segundo BOWEN (1979), a concentração normal de Cd na parte aérea da maioria das plantas varia de 0,1 a 2,4 mg kg⁻¹. Baseando-se nesta faixa, o teor de Cd em braquiária e aroeira estão dentro da faixa considerada normal, enquanto a estilosante apresentou concentrações de Cd acima da concentração considerada normal. A concentração de Cd na raiz variou de 3,32 mg kg⁻¹ (estilosante) a 13,54 mg kg⁻¹ (braquiária) e a aroeira apresentou uma concentração intermediária (5,52 mg kg⁻¹) entre as duas espécies. A concentração de Cd na braquiária foi duas vezes maior do que a da aroeira e 4,1 vezes maior do que a da estilosante (Figura 3 c). Segundo PEREIRA et al.,(2012) a absorção de Cd, como dos outros metais, pelas plantas depende da biodisponibilidade do elemento na solução do solo .

Na seleção de plantas fitorremediadoras é desejável que a planta selecionada apresente o fator de transferência (FT) $\geq 1,00$. Entre as espécies estudadas a estilosante foi à única que apresentou um mecanismo de eficiência na transferência de Cd da raiz para a parte aérea, com valor de FT de 1,84. Por outro lado a braquiária foi altamente ineficiente ou intolerante a presença de Cd na parte aérea desde que concentrou todo o Cd na raiz, Figura 3 c (FT ~ 0) e a aroeira apresentou um FT de 0,20. CHEN et al., (2003) constataram que na cenoura e no rabanete a maior parte do Cd foi absorvido pelas suas raízes e não foi translocado para a parte aérea, e segundo Nascimento e Xing (2006), o elemento pode ser absorvido pela raiz, mas não ser translocado para a parte aérea em quantidade suficiente assim não originará risco de transferência para à cadeia trófica.

Conforme Zancheta (2010), as plantas apresentam determinados mecanismos de tolerância para altas concentrações do Cd, onde a barreira inicial ocorre, principalmente, nas raízes das plantas, onde este metal pode ser imobilizado através da parede celular e dos carboidratos extracelulares, como mucilagem e calose. Este processo evita a presença de íons livres nos tecidos radiculares e a sua translocação da raiz para parte área (WAGNER, 1993). O acúmulo do contaminante na raiz se constitui em um mecanismo interessante de evitar que o elemento entre na cadeia trófica protegendo dessa forma os seres humanos, os animais de intoxicação por contaminantes (CHANEY & OLIVER, 1996).

A tolerância das leguminosas a Cd também foi relatada por Rossi (2007) que estudando potencial fitoextrator das leguminosas *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. e *Crotalaria juncea* em condições de hidroponia, observou que o feijão de porco apresentou características de planta com potencial fitoextrator por acumular grande parte do Cd na parte aérea e ter alta biomassa. Porém o autor ressalta que para que os resultados sejam confirmados a planta deve ser exposta a condições reais de solos contaminados. Entretanto a Crotalária não apresentou características de uma boa planta fitoextratora apesar possuir alta biomassa aérea, o desenvolvimento foi inibido na presença do Cd.

Como observado para Cd os teores de Zn na raiz de braquiária (354,35 mg kg⁻¹) e aroeira (83,48 mg kg⁻¹) foram maiores do que o da parte aérea (152,20 mg kg⁻¹ e 65,89 mg kg⁻¹, respectivamente), enquanto a estilosante foi a única espécie que apresentou teor de Zn na parte aérea (51,61 mg kg⁻¹) maior do que na raiz (42,10 mg kg⁻¹), tabela 3 d. Esse resultado indica que a estilosante também apresenta uma grande capacidade de transferência de Zn para a parte aérea como indicado pelo FT de 1,27.

Entre as espécies, a braquiária foi a planta que apresentou maior teor de Zn. Teores de Zn na planta entre 100 a 400 mg kg⁻¹ é considerado tóxico para a maioria das espécies (KABATA-PENDIAS & PENDIAS,1992). Os teores de zinco da aroeira e a estilosante estão abaixo desse limite de toxicidade enquanto a concentração de Zn na braquiária esta na faixa de toxicidade. Outros estudos têm indicado a tolerância da braquiária a metais. Costa et al.,(2004) avaliou o acúmulo de metais (Mn, Cu, Ni, Pb, Cd e Zn) pelos vegetais existentes, próximo a uma lagoa onde no passado servia como descarte de efluentes para uma indústria de comércio de metais observou que braquiária apresentou valores: 149 mg kg⁻¹ de Zn, 3 mg kg⁻¹ de Pb, 1 mg kg⁻¹ de Cd. Eles concluíram que as plantas foram acumuladoras e tolerantes aos metais. CARNEIRO et al., (2002) estudando, o comportamento de espécies herbáceas em relação ao excesso de Cd e Zn em um Latossolo Vermelho ácrico com concentrações de 18.600 de Zn; 140 de Cd; 450 de Cu; 410 de Pb mg kg⁻¹ de solo, constatou que a Braquiária (*Brachiaria decumbens*), não se mostrou adaptada ao excesso de metais no solo, pois comportam-se de modo semelhante às espécies obtidas de áreas não contaminadas. O comportamento diferenciado observado para as espécies avaliadas nesse estudo pode estar relacionado com a fertilidade do vertissolo, utilizado no presente estudo (tabela 1). Ha et al.,(2011)

estudando diferentes espécies coletadas em área de mineração no Vietnã do Norte, observaram que espécies que estão se desenvolvendo nesses solos contaminados são tolerantes a estes metais.

Os resultados obtidos nesse estudo ajudam a entender os processos utilizados pelas três espécies para povoamento da área contaminada. Enquanto a braquiária utiliza o mecanismo de manter o contaminante no sistema radicular, ou seja, o sistema de exclusão do contaminante, para vegetar em ambientes de alta concentração de Pb, Cd e Zn, mantendo boa parte desses metais na raiz, especialmente o Cd. Por outro lado a estilósante tende a ocupar as áreas contaminadas com menores teores de metais, pois a planta tende a particionar mais os metais, principalmente o Cd e o Zn, na parte aérea do que na raiz. A transferência de maior teor de metais para a parte aérea pode influenciar negativamente nos processos fisiológicos da leguminosa resultando possivelmente uma menor produção de biomassa e baixos teores de metais na planta, especialmente chumbo. A aroeira tende a apresentar característica intermediária entre a braquiária e a estilósante.

4. CONCLUSÕES

- As espécies vegetais apresentam comportamento diferenciado em resposta à contaminação do solo por Pb, Cd e Zn.
- A ordem de ocorrência das espécies vegetais de acordo com a concentração crescente de Pb foi estilosante < aroeira < braquiária.
- Entre as espécies estudadas a estilosante foi a única que apresentou um eficiente mecanismo na transferência de Cd da raiz para a parte aérea.
- A estilosante vegetou em áreas contaminadas com menores teores de metais, tendendo particionar mais os metais, principalmente o Cd e o Zn, na parte aérea do que na raiz.
- A braquiária utiliza o mecanismo de manter o contaminante no sistema radicular.

5. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. G.; MELO, V. F.; GABARDO, J.; SOUZA, L. C. P.; REISSMANN, C. B. Metais pesados em solos de área de mineração e metalurgia de chumbo. I – fitoextração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1879-1888, 2009.
- ALEXANDRE, R. J.; OLIVEIRA, M. F. F.; SANTOS, T. C.; CANTON, G. C.; CONCEIÇÃO, J. M.; EUTROPIO, F. J.; CRUZ, Z. M. A.; DOBBSS, L. B.; RAMOS, A. Zinco e ferro: de micronutrientes a contaminantes do solo. **Revista Natureza On line**. v.10, n. 1, p. 23-28, 2012
- ALVAREZ, P.J.J., ILLMAN, W.A., Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models. Wiley-Interscience, New Jersey. Amat, A., 1983. **Pharmacological research for major taxons of Bonaeren**, 2006.
- ARDUINI, J.; GODBOLD, D. L.; ONNIS, A. Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings. **Physiologia Plantarum**, v.97, n.1, p.111-117, 1996.
- ASSUNÇÃO,S.J.R. **SELEÇÃO DE PLANTAS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE CHUMBO, CÁDMIO E ZINCO, DE UMA ÁREA CONTAMINADA NA BACIA DO RIO SUBAÉ**.2012, 100f. Dissertação (Mestrado em solos e qualidade de ecossistemas) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das almas – BA, 2012.
- AZEVEDO, L.P. **Mapeamento geoquímico de solos contaminados por metais (Pb, Zn, As e Cu),Santo da Purificação**.2012.93f.Dissertação (Mestrado em solos e qualidade de ecossistemas). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,Cruz das almas –BA, 2012
- AZEVEDO, R.L.; RIBEIRO, G.T.; AZEVEDO, C.L.L. Feijão Guandu: Uma Planta Multiuso. **Revista da Fapese**, v.3, n. 2, p. 81-86. 2007.
- BALDRIAN, P. Effect of Heavy Metals on Saprotrophic Soil Fungi. In:____. Soil Heavy Metals. **Noida: Springercap**. v.19, n 12, p.263-279, 2010.

BARROS, A. C. A. **Estudos Sobre o Potencial do Bambu *Guadua angustifolia* Kunz para a Fitorremediação dos Metais Pesados Zinco e Cádmio.** 2007. 70f. Dissertação (Mestrado)-UFA, Maceió, 2007.

BECERRIL SOTO, J.M., BARRUTIA SARASUA, O., GARCÍA PLAZAOLA, J.I., HERNÁNDEZ, A., OLANO MENDOZA, J.M., GARBISU CRESPO, C. Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. **Ecosistemas** v. 16 (2), p. 50–55. , 2007.

BOWEN, H.J.M. **Environmental chemistry of the elements.** London: Academic Press, 1979.

BRASIL; resolução CONAMA Nº 420 de 28 de dezembro de 2009. **Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.** *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF 31 de dezembro de 2009.*

BROADLEY, M. R., WHITE, P. J., HAMMOND, J.P., ZELKO, I., LUX, A. Zinc in plants. **New Phytol.** v. 173: p. 677-702, 2007.

CARNEIRO, M.A.C; SIQUEIRA,J.O;MOREIRA,F.M.S de. **Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados,** Pesquisa Agropecuária Brasileira, , v. 37, n. 11, p. 1629-1638, 2002.

CETESB. 2009. Solo. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/solo/informacoes-basicas/5-poluicao>

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology,** Londrina, v. 17, n. 1, p. 35-52, 2005.

CHANEY, R. L.; OLIVER, D. P. Sources, potential adverse effects and remediation of agriculture soil contaminants. In: Naidu, R. (ed.). **Contaminants and the soil environment in the Australasia-Pacific region.** Dordrecht: **Kluwer Academic Publishers,** p. 323-359. 1996.

CHEN, Y.X.; HE, Y.F.; YANG, Y.; YU, Y.L.; ZHENG, S.J.; TIAN, G.M.; LUO, Y.M.; WONG, M.H. Effect of cadmium on nodulation and N₂-fixation of soybean in contaminated soils. **Chemosphere**. v. 50, p. 781-787, 2003.

COSTA, S.M.S.P. da. **Avaliação do potencial de plantas nativas do Brasil no tratamento de esgoto doméstico e efluentes industriais em “wetlands” construídos**. Campinas, 2004. 119 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, 2004.

COZZOLINO, S.M.F.; PEDROSA, L.F.C. Grupo de trabalho: Biodisponibilidade de nutrientes. **Boletim SBCTA**, v.29, n.1, p.53-56, 1995

CRUVINEL, D. F. C.; **Avaliação da fitorremediação em solos submetidos à contaminação com metais**. 2009. 79 F. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) - Universidade de Ribeirão Preto, São Paulo, 2009.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, DF: Embrapa Informação tecnológica, 2009. 627p.

FUNASA. Avaliação de risco à saúde por exposição a metais pesados em Santo Amaro da Purificação-BA. 2003. Disponível em: <http://www.acpo.org.br/saudeambiental/CGVAM/02_Avaliacao_de_Risco/05_Santo%20Amaro_BA/Parte%2001%20Ficha%20t%E9cnica%20e%20%E9ndice.pdf>.

Acesso em: 02 de agosto de 2014.

GUIMARÃES, M. de A. *et al.* Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas**, n. 3, v.1, p. 58, 2008. Disponível em:<http://www.ccaa.ufma.br/revistatropica/artigos%20_vol%202_%20nr%202/agronomia/toxidade_e_toler_agro_re.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2012.

Ha, N. T. H. *et al.* Uptake of metals and metalloids by plants growing in a lead-zinc mine area, Northern Vietnam. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 186, n 2/3, p. 1384-1391, Feb. 2011

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

KOLELI, N.; EKER, S.; CAKMAK, I.; Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil . **Environ. Pollut** .v.131, p.453-459 .2004

LI, T.; DI, Z.; ISLAM, E.; JIANG, H.; YANG, X. Rhizosphere characteristics of zinc hyperaccumulator *Sedum alfredii* involved in zinc accumulation. **Journal of Hazardous Materials**. v. 185, p. 818-823, 2011.

LICHT, O. A. B. Prospecção geoquímica: princípios, técnicas e métodos. Rio de Janeiro: CPRM, 1998.

MACHADO S. L.; PORTELLA, R. B.; CESANA; RABELO, T. S; LOPES D. O. M. Estudo da Influência na Contaminação do Solo por Metais Pesados derivada das emissões atmosféricas de uma metalúrgica desativada no município de Santo Amaro – Ba. X Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Maceió, 2010.

MACHADO, S. L.; CARVALHO, M. de F.; C. W. C., DELGADO; ANJOS, J. A. S. A.; DOURADO, K. A.; AMPARO, N. S. do.; CARDOSO, L. P.; LIMA, A. V. M.; SANTOS, D. M.; SANTOS, D. B. dos; KIPERSTOK FIRST, A.; SÁNCHEZ, L.; BOTELHO, M. A. B.; OLIVEIRA NETO, F. A. PROJETO PURIFICA – Proposta para remediação de áreas degradadas pela atividade extrativa de chumbo em Santo Amaro da Purificação. Salvador, Bahia, 2003.

MACHADO, S. L.; RIBEIRO, L. D.; KIPERSTOK, A.; BOTELHO, M. A. D. E.; CARVALHO, M. F. Diagnóstico da contaminação por metais pesados em Santo Amaro - BA. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 9, n. 2, p. 140-155, 2004

MAGNA, G. A. M. **Análise da exposição por chumbo e cádmio presentes em alimentos vegetais e gramíneas no município de Santo Amaro – BA caso do passivo ambiental da COBRAC**. Dissertação (Mestrado). Engenharia Ambiental Urbana, Universidade Federal da Bahia, 2011.

MAZZUCO, K. T. M.; Uso Da *Canavalia ensiformis* Como Fitorremediador de solos contaminados por chumbo. 2008.187 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

MCBRIDE, M.B. & BLASIAK, J.J., Zinc and copper solubility as a function of pH in an acid soil, **Soil Science Society of America Journal**, v.43, p.866-870, 1979

NASCIMENTO, C. W. A. e XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia. Agricola**. v. 63, p. 299-311, 2006.

NIZOLI, E. C.; SILVA, W. L. O papel dos sulfetos volatizados por acidificação no controle do potencial de biodisponibilidade de metais em sedimentos contaminados em um estuário tropical, no Sudeste do Brasil. **Quím. Nova**, 32, 2, 365-372, 2009.

PEREIRA, B.F.F. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em latossolo vermelho contaminado com chumbo** 81 f. 2005. IAC-Instituto Agronomico de Campinas, São Paulo, Campinas. 2005.

RABELO, S. T. **Estudo das rotas remanescentes de contaminação por chumbo e cádmio no município de Santo Amaro-BA**. Dissertação (Mestrado). Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, 2010.

ROMEIRO, S.; LAGÔA, A. M. A.; FURLANI, P. R.; ABREU, C. A. de; ABREU, M. F. de; ERISMANN, M. Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 4, p. 483-489, 2006

ROMEIRO, S.; LAGÔA, A. M. A.; FURLANI, P. R.; ABREU, C. A. de; PEREIRA, B. F. F. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes*. **Bragantia, Campinas**, v. 66, n. 2, p. 327-334, 2007.

ROONGTANAKIAT, NUALCHAVEE; SANOH, SARATTANA. Phytoextraction of zinc cadmium and lead from contaminated soil by vetiver grass. **Kasetsart Journal (Natural Science)**. v. 45, 603-612, 2011.

ROSSI, S.C. **Fisiologia de leguminosas com potencial fitoextrator para o metal pesado cádmio**. Campinas. 2007. 60f. Dissertação (Mestrado em agricultura tropical e subtropical)-Instituto Agrônômico, 2007.

SILVA, A. P. da *et al.* **Resumo executivo: Avaliação de risco à saúde humana por metais pesados no município de Santo Amaro da Purificação, Bahia**. 2003.

78 p, Disponível em:
http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/resumo_executivo_sto_amaro.pdf.

Acesso em: 16 de abril de 2012, 11:00.

SILVA,R.F.; SAIDELLES,F.L.F.;SILVA,A.S.;BOLZAN,J.S.;Influência da contaminação do solo por cobre no crescimento e qualidade de mudas de açoita-cavalo (*Luehea*

divaricata mart. & zucc.) e aroeira-vermelha (*schinus therebinthifolius raddi*). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 111-118,ISSN 0103-9954, 2011

TAVARES, S. R. L. OLIVEIRA, S. A. 2. SALGADO, C. M. Avaliação de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados, **HOLOS**, v. 5, p.80-97, ISSN 1807-1600, 2013.

THORNTHWAITE, C.W e MATHER, J.R. **The water balance**. Centerton: Drexel institute of Technogy, Laboratory of climatology, 1955, V.VIII, n.1.

WAGNER, G.J. **Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health**. Advances in Agronomy, v. 51, p.173-212, 1993

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION -, Disponível em <<http://www.who.int/ipcs/features/cadmium.pdf>> Acessado em 02 de agosto de 2014.

ZANCHETA, A.C.F. **Seleção de plantas em solução nutritiva para fitoextração de cádmio, cobre e zinco**. Campinas, 2010.75p. Dissertação (Mestrado Agricultura Tropical e Subtropical), Instituto Agronômico. 2010

CAPÍTULO 2

ESTABILIZAÇÃO E REDISTRIBUIÇÃO DO CHUMBO PELA ADIÇÃO DE FONTES DE FOSFATO

ESTABILIZAÇÃO E REDISTRIBUIÇÃO DO CHUMBO PELA ADIÇÃO DE FONTES DE FOSFATO

Autora: Emylly Figueredo Leal

Orientador: Prof. Dr. Jorge Antonio Gonzaga Santos

Resumo: O impacto de contaminação do solo deve ser analisado não só pela concentração total dos metais, como também através de sua biodisponibilidade. Sob esse aspecto, é necessário aprofundar o conhecimento sobre as formas químicas que estes metais podem ocorrer no solo. O objetivo do estudo foi avaliar a relação molar P:Pb adequada para estabilização do metal resultante na maior imobilização em um vertissolo e observar a dinâmica de transformação do chumbo ao longo do tempo utilizando a análise sequencial. O experimento foi conduzido no Laboratório de Metais Traços da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - BA, em incubadora B.O.D BT 60 a temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$. O estudo foi estabelecido em delineamento experimental blocos ao acaso, em esquema fatorial $3 \times 4 \times 3$ com três repetições. Vasos contendo 0,3 kg de solo, previamente incubados com água, foram tratados com fonte de fosfato para a imobilização do Pb na razão molar P:Pb de 2:1; 4:1; 8:1, 16:1 e um controle, sem aplicação de fosfato. A estabilidade do Pb das diferentes razões molares foi avaliada aos 60 e 120 dias de incubação dos tratamentos, com três repetições. Os resultados do estudo indicam que com o tempo ocorre um processo de transformação do Pb de formas menos estáveis, como o Pb ligado a carbonatos para formas mais estáveis com o Pb ligados a óxidos, a MOS e a fração residual. O uso de fosfato solúvel no vertissolo para o presente estudo, em curto prazo, reduziu a quantidade de Pb presente nas frações do solo. Em suma, independente da fonte, relação molar utilizada, e tempo de incubação utilizada não foi suficiente para que os teores de Pb – TCLP estivessem abaixo dos valores requeridos pela legislação para Pb.

Palavras- Chave: Estabilização química, rocha fosfatada, metais pesados.

LEAD STABILIZATION AND REDISTRIBUTION BY ADDING PHOSPHATE SOURCES

Author: Emylly Figueredo Leal

Advisor: Prof. Dr. Jorge Antonio Santos Gonzaga

ABSTRACT: Soil contamination impact must be analyzed not only by metals total concentration, as well as through its bioavailability. In this regard, it is necessary to deepen the knowledge about the chemical forms that these metals occur on the ground. The aim of the study was to evaluate the molar ratio P: Pb suitable for metal stabilization resulting in greater immobilization on a Vertisol and observes the lead dynamics transformation over time using the sequential analysis. The experiment was carried out at the Laboratory of Metal Traces of the Recôncavo da Bahia Federal University, Cruz das Almas – BA, in BT BOD incubator at $60 \pm 22 \text{ } ^\circ \text{C} \pm 1 \text{ } ^\circ$. The study was established in a randomized block design in factorial scheme $3 \times 4 \times 3$ with three replications. Pots containing 0.3 kg of pre-incubated soil were treated with a source of phosphate to immobilize lead in the molar ratio of P: Pb 2: 1; 4: 1; 8: 1, 16: 1 and a control without application of phosphate. The stability of different molar ratios of Pb was evaluated at 60 the 120 days of incubation treatments with three replications. The results indicate that with time occurs a Pb transformation process from less stable forms such as Pb bound to carbonates for more stable forms with Pb attached to oxides the MOS and the residual fraction. The use of soluble phosphate in Vertisol for this study, short-term, reduced the amount of Pb present in soil fractions. In short, regardless of the source, molar ratio used, and incubation time used, was not enough for Pb - TCLP were below the values required by law for Pb.

Keywords: Chemical stabilization, phosphate rock, heavy metal.

1. INTRODUÇÃO

Estabilização química é uma técnica que utiliza compostos químicos, mineralógicos ou agentes estabilizantes, que transformam as espécies químicas mais móveis em espécies menos móveis, assim menos biodisponível, através dos processos de sorção, como adsorção a superfície mineral, formação de complexos estáveis, precipitação de superfície e troca iônica. O agente estabilizante não deve ser tóxico e não deve influenciar negativamente as propriedades físico-químicas do solo devendo imobilizar o contaminante alvo (BANDORA, 2012). O fosfato tem sido utilizado como agente estabilizante eficiente de metais via formação fosfato de metais pesados estáveis, como o fosfato de chumbo e fosfato de cádmio reduzindo a mobilidade e biodisponibilidade dos metais (MIRETZKY & FERNANDEZ-CIRELLI, 2008). Na literatura é citado dois possíveis mecanismos de formação da imobilização do chumbo por fosfatados: a dissolução do material fosfatado, seguida de precipitação e formação de compostos insolúveis, como a piromorfita (MA et al. 1993, ZHANG & RYAN 1999, ZHANG et al. 1998), e a troca iônica entre Pb^{2+} em solução e Ca^{2+} na superfície do material fosfatado (TAKEUCHI & ARAI, 1990, SHASHKOVA *et al.* 1999). Segundo Chrysochoou et al. (2007), a influência de ocorrência destes mecanismos é extremamente dependente do pH e das propriedades físico-químicas do material fosfatado.

A imobilização do chumbo por apatita é baseada na dissolução da apatita, seguida de formação de novas fases mais estáveis de piromorfita e sua deposição na superfície da apatita (RAICEVIC et al. 2005). E os fosfatos bastante utilizados na agricultura como fertilizantes, também apresentam efeitos satisfatórios para a imobilização de metais pesados. Por serem materiais relativamente baratos, de fácil aquisição, apresentam grande capacidade de imobilização, e pode se constituir boa alternativa para estudos mais detalhados de estabilização. A rocha fosfática é amplamente utilizada e é também fonte para a produção de outros fertilizantes, como DAP, superfosfato triplo, fosfato monoamônico e H_3PO_4 . Vários autores (Ma et al., 1993; Xu et al., 1994; Boisson et al., 1999) vem estudando a aplicação de fósforo como uma técnica eficiente na imobilização de chumbo (Pb) em solos contaminados, podendo ser aplicável a outros elementos como o cádmio (Cd), zinco (Zn), que geralmente podem estar associados à contaminação com Pb. Não

obstante, estudos da efetividade de uso do fosfato para imobilizar esses outros elementos são ainda incipientes. (CHEN et al.,2007). Entretanto para que ocorra a formação de fosfatos de metal, é necessário que o P esteja presente como íon fosfato livre, H_2PO_4^- na solução do solo (COTTER-HOWELLS & CAPORN, 1996). O uso de fosfato de alta solubilidade eleva a concentração de H_2PO_4^- na solução do solo propiciando processos de adsorção específica e/ou formação de compostos de baixa solubilidade (OLIVEIRA JUNIOR, 2007). O aumento da adsorção diminui a mobilidade e biodisponibilidade de Cd, Cu e Pb em solos, resíduos e outros. Galindo et al. (2005) verificaram significativas reduções dos teores de Pb disponível em solos remediados com superfosfatos triplo. Entretanto Adriano et al. (1998), ressalva que para os estudos de estabilização de metais nos solos utilizando fosfatos ainda carece de informação sobre o efeito da longevidade de estabilização.

O acúmulo de metais pesados no ambiente representa um risco potencial para a saúde humana devido a transferência desses elementos para o meio aquático, a absorção pelas plantas e sua subsequente introdução na cadeia alimentar. Os metais no solo podem ser encontrados na solução do solo, na dupla camada difusa, oclusos nos óxidos, incorporados na fração orgânica do solo ou no látice de estruturas primárias e secundárias de minerais (RAO, 2007). Uma das técnicas disponível para estimar a partição geoquímica dos metais é a extração sequencial dos metais que se baseia no uso de extratores com agressividade crescente que determinam o nível de associação do metal com os componentes do solo e daí se conhecer a sua disponibilidade. O primeiro procedimento foi desenvolvido por Tessier e colaboradores (1979). Este método foi elaborado inicialmente para determinar metais em sedimentos, mas seu uso foi ampliado para solos contaminados. A sua proposta buscou responder tais informações: como origem dos metais, disponibilidade biológica e físico-química, mobilização e transporte (TESSIER et al., 1979).

A extração sequencial define bem as diferentes frações do solo com as quais podem estar associados aos metais pesados, e também aos extratores químicos específicos que agem a cerca de cada fração (BECKETT, 1989). Iniciando de extratores mais fracos e aumentando gradativamente o poder de dissolução, com extratores mais fortes, na sequência das frações, permitindo conclusões sobre a estabilidade de ligação dos elementos e a sua potencial liberação por meio de processos, tais como leves variações nas condições químicas

dos solos, decomposição de matéria orgânica ou mesmo processos de intemperismo (KENNEDY et al., 1997). A sequência de reagentes empregada permite extrair as seguintes frações: solúvel, trocável, ligada a carbonatos, ligada a oxi-hidróxidos de ferro e manganês, ligado à matéria orgânica e à fração residual.

Tem-se observado que os elementos de maior mobilidade encontram-se, nas frações iniciais: a solúvel, trocável e ligada a carbonato, enquanto os de baixa mobilidade estão ligados às frações óxidos de Fe, Mn, da matéria orgânica e além da residual (AMARAL SOBRINHO et al., 1994)

Entretanto, não existe uma padronização para esquemas de fracionamento e os fatores experimentais tais como a seletividade dos reagentes possam efetivamente comprometer a extração dos elementos estudados. Na extração a complexidade e o número de frações solubilizadas podem variar, dependendo do procedimento escolhido, dentre os diversos propostos para análise. (OLIVEIRA & MARINS, 2011).

A espécie química do metal presente no solo tem grande influência na mobilidade, biodisponibilidade e toxicidade dos contaminantes (HASS & FINE, 2010). Uma análise utilizada para determinar a mobilidade e avaliar o potencial tóxico dos metais é o TCLP, Toxicity Characteristic Leaching Procedure no qual foi proposto pela USEPA (1994) sendo utilizado para definir o grau de perigo que um material em particular oferece à saúde, o qual depende da mobilidade dos metais pesados no solo ou cursos d'água. Desse modo, o método tenta simular se a fração da concentração total de metais existente no solo é solúvel o suficiente para causar risco à saúde humana.

O método consiste em extrações parciais dos metais em extrato de ácido acético em pH 4,9 que simula a lixiviação realizada pela água da chuva ou por efluentes em locais contaminados. O limite máximo de chumbo na solução extratora (TCLP) é de 5 mg L^{-1} para Pb. As concentrações acima desses valores são consideradas perigosas. Maior a concentração do metal no extrato TCLP menor será a imobilização do metal e maior será a sua solubilidade e conseqüentemente a sua mobilidade e fitodisponibilidade no solo. O presente estudo avaliou: a - a partição de Pb em um Vertissolo contaminado com escória da indústria de transformação do chumbo utilizando três fontes de fosfato, aplicados em quatro relações molares e avaliados em três tempos; e b - a eficiência dos tratamentos em imobilizar o Pb utilizando o método TCLP.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO E DELINEAMENTO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Metais Traços da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - BA, em incubadora BOD a temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$. O solo utilizado, classificado como Vertissolo, foi coletado, na camada de 0-20 cm, em uma área contaminada com rejeito do processamento de chumbo na fabrica onde funcionava a COBRAC, no Município de Santo Amaro, Bahia, (Figura 1).

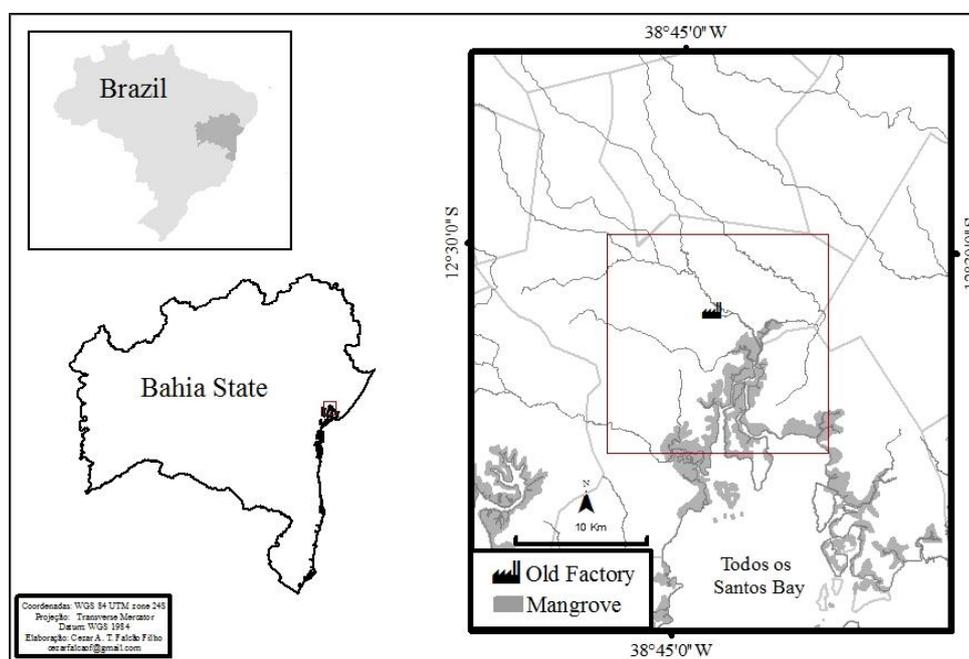


Figura 1 – Localização da Cidade de Santo Amaro no estado da Bahia e região onde o estudo foi realizado.

Após secagem o solo foi destorroado moído e peneirado com malha de 2 mm. As características químicas do solo foram determinadas segundo a metodologia descrita pela Embrapa (2009). A capacidade de campo foi determinada pelo método simplificado como proposto por Fernandes (1967): Foram pesados 25 g de TFSA de cada amostra e colocados em funis revestidos com papel de filtro. Com a boca do funil fechado, saturou-se o solo com 50 mL de água destilada. Em seguida, liberou-se a boca do funil e recolheu-se a água em excesso em proveta até que parasse o

gotejamento. A capacidade de retenção de água é obtida dividindo-se o volume de água retido pela massa de solo utilizado. Completado o período de incubação os tratamentos foram aplicados ao solo. O estudo foi estabelecido em delineamento experimental blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 4 x 3 com três repetições. Vasos contendo 0,3 kg de solo (Figura 2), previamente incubados por 30 dias a 70% da capacidade de campo foram tratados com 3 fontes de fosfato: fosfato monoamônico (MAP, Vetec), rocha fosfatada (RF) que foi caracterizado quimicamente (Tabela 1), no qual foi homogeneizada, peneirada e contendo 19% de P_2O_5 e um tratamento com 50% de P_2O_5 oriundo do MAP e 50% do P_2O_5 da rocha fosfatada (RF+MAP); aplicados em quatro razões molares P:Pb, 2:1; 4:1; 8:1, 16:1 e um controle, sem aplicação de fosfato. Para o tratamento que continha duas fontes de fósforo foi utilizado 50% da molaridade para cada fonte. A estabilidade e a dinâmica do Pb nas diferentes razões molares foram avaliadas para estabilidade do metal pela extração sequencial e para o potencial toxicológico do Pb no solo através do teste Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP) aos 60 e 120 dias de incubação.



Figura 2 – Pote plástico contendo o solo com seus respectivos tratamentos

Tabela 1 - Macronutrientes, relações entre cátions e saturação do complexo de troca da rocha fosfatada.

Atributos	
pH_(H₂O) (1:2,5)	8,75
pH_(CaCl₂) (1:2,5)	7,75
Ca²⁺ (cmol_c dm⁻³)	8,35
Mg²⁺ (cmol_c dm⁻³)	11,45
Al³⁺ (cmol_c dm⁻³)	0,0
(H+Al) (cmol_c dm³)	0,0
K⁺ (mg/dm³)	83,00
Na⁺ (mg dm⁻³)	0,00
P (mg dm⁻³)	379,90
V%	100,00
MOS	0,30

2.2. EXTRAÇÃO SEQUENCIAL DOS METAIS

A extração sequencial foi utilizada, para avaliar a eficiência das fontes de fosfato em imobilizar o Pb no solo contaminado e para identificar a fração em que estava se compartimentalizando. A extração sequencial foi feita baseado no método de TESSIER (1979) modificado. A modificação consistiu no uso do Método USEPA 3050 (digestão com ácido nítrico e peróxido) ao invés da mistura HF-HClO₄ para avaliação da fração residual. A análise de extração sequencial foi feito como descrito no fluxograma (Figura 3). Os procedimentos comuns em extração sequencial, como os listados a seguir foram observados: tomar 1 grama da massa das amostras com balança de precisão de 0,001g ou mg; lavar resíduo com 15 ml de água destilada-deionizada; agitar resíduo com agitador horizontal 160 RPM por 30 minutos; e centrifugar as amostras por 30 min. a 3000 RPM, para remoção do excesso de sais (exceto a fração solúvel) e para separação das fases e o sobrenadante; durante as extrações as amostras foram centrifugadas a uma velocidade de 3000 RPM durante 30 min. para separação das fases e o sobrenadante passado em filtro com membranas de 0,45 µm; estocar o sobrenadante de cada fração em frascos de polietileno, para evitar a adsorção dos metais.

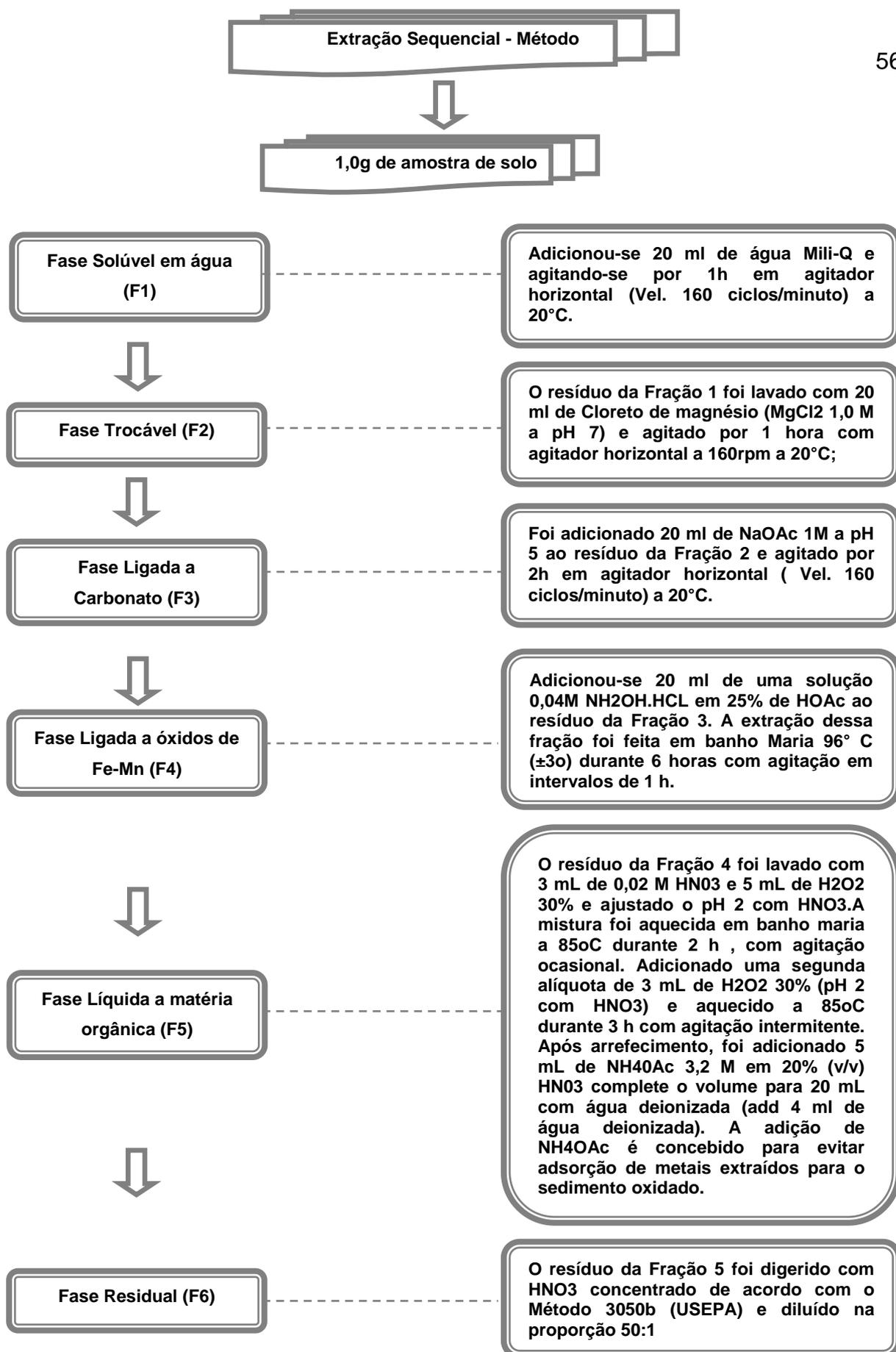


Figura 3 – Fluxograma com etapas e os reagentes utilizados na extração sequencial segundo Tessier.

2.3. TESTE DE ESTABILIZAÇÃO

2.3.1. TCLP - Toxicity Characteristic Leaching Procedure (USEPA, 2008)

A análise de TCLP é utilizada para determinar a mobilidade de analitos inorgânicos e orgânicos e para avaliar o potencial tóxico dos metais de acordo com a quantidade de contaminante que é mobilizado da matriz. O fluido extrator (pH entre $4,93 \pm 0,05$) foi preparado com 5,7 mL de ácido acético para 500 mL de água, mais 64,3 mL NaOH 1N e diluído em um volume de 1 L. Pesou-se 1,000g de solo, previamente peneirado em malha de 1mm, em tubos de centrífuga com capacidade para 50 mL. Foi adicionado 20 mL da solução extratora acidificada. Os tubos foram colocados em um agitador horizontal (Tecnal orbital TE-145) a 30 rpm durante 18 h em temperatura ambiente. Após esse período de agitação as amostras foram centrifugadas (Hettich, Modelo Rotina 420R) a 7000 rpm por 15 minutos e filtradas em filtros de 0,45 μ m. Após filtração as amostras foram acidificadas a pH < 2 e armazenadas em câmara fria (- 5°C) até determinação.

2.4. ANÁLISE DO SOLO

Os extratos coletados após cada extração sequencial assim com o material coletado do extrato de TCLP foram analisados para o teor de Pb por espectrofotômetro de absorção atômica utilizando o Varian, Modelo FS 240.

2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos da extração sequencial e do teste TCLP foram submetidos para Análise de variância (ANOVA) utilizando o programa estatístico SAS (2009). Quando houve interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores fonte de fosfato, relação molar P:Pb e tempo de incubação fixou-se dois fatores e avaliou-se o efeito do terceiro. Utilizou-se o teste de Duncan para avaliar os fatores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características químicas do Vertissolo utilizado no estudo são apresentadas na Tabela 2. Trata-se de um solo com pH em torno de 8,0, com CTC de 43,9 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ e percentagem de saturação de 99,8%. A concentração de chumbo foi de 1032,478 mg kg^{-1} . Pode-se observar uma elevada concentração de Ca^{2+} e Mg^{2+} no qual constituem um fator a mais da competição do Pb pelo fosfato.

Tabela 2 - Característica química do Vertissolo estudado.

Atributos	Profundidade (cm)	
	0-20	20-40
$\text{pH}_{(\text{H}_2\text{O})} (1:2,5)$	8,2	8,2
$\text{pH}_{(\text{KCl})} (1:2,5)$	6,7	6,7
$\text{Ca}^{2+} (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	37,0	37,4
$\text{Mg}^{2+} (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	6,0	6,2
$\text{Al}^{3+} (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	0,0	0,0
$(\text{H}+\text{Al}) (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	0,1	0,10
$\text{K}^+ (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	0,28	0,24
$\text{Na}^+ (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	0,48	0,40
$\text{P} (\text{mg dm}^{-3})$	0,12	0,12
$\text{SB} (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	43,8	44,2
$\text{T} (\text{cmol}_c \text{dm}^{-3})$	43,9	44,3
V%	99,8	99,8
MOS	0,78	0,44

3.1. FRACIONAMENTO QUÍMICO DAS AMOSTRAS DO SOLO

As técnicas de extração sequencial avaliam o potencial de mobilidade e disponibilidade destes metais, através do fracionamento destes em solos, sedimentos e outras matrizes ambientais (PEREIRA et al., 2007).

A imobilização do Pb no solo é influenciada por diversos fatores tais como o tipo de solo, as frações minerais do solo, pH, tipo e fonte do amenizante como fósforo, da razão molecular entre P:Pb, da concentração do metal, do tempo de

contato do amenizante entre outros (ALLEONI et al., 2005) No presente estudo foram avaliados três desses fatores, fonte de fosfato, relação molar P:Pb e o tempo de contato.

A fonte de fosfato adicionado ao Vertissolo influenciou na proporção de Pb associado aos diferentes compartimentos do solo. Por exemplo, nos dois períodos avaliados, independente da fonte de fosfato adicionado foi reduzido a quase a zero o Pb presente nas fração solúvel (F1) e trocável (F2), (Figura 5). O Pb ligado a essas duas frações são prontamente solúveis em água (F1), ou por alteração da composição química ou força iônica da solução do solo (F2) (KEDE, 2008). Esse resultado é expressivo porque indica que a utilização de qualquer das fontes de fosfato utilizada nesse estudo estabilizam as formas de Pb mais prontamente disponíveis no solo, (Figura 6).

O uso da RF resultou na formação de chumbo associado às frações ligado a carbonato (F3), a óxido (F4) e residual (F6). A maior solubilidade do fosfato no MAP contribuiu para a formação das mesmas frações observadas, com maiores concentrações de Pb associado as frações F3, F4 e F6 do que na RF no período de 120 dias. As concentrações de Pb nas frações F3 a F4 e F6 pela adição de RF + MAP foi intermediárias (Figura 7).

O Pb retido em F4 esta ligada através de ligação de esfera interna com óxidos de Fe-Mn. O mecanismo envolve substituição isomórfica de um cátion divalente ou trivalente por íons de Fe e Mn ou através da oxidação da superfície dos precipitados de óxidos (KABATA-PENTIAS & PENDIAS, 1984).

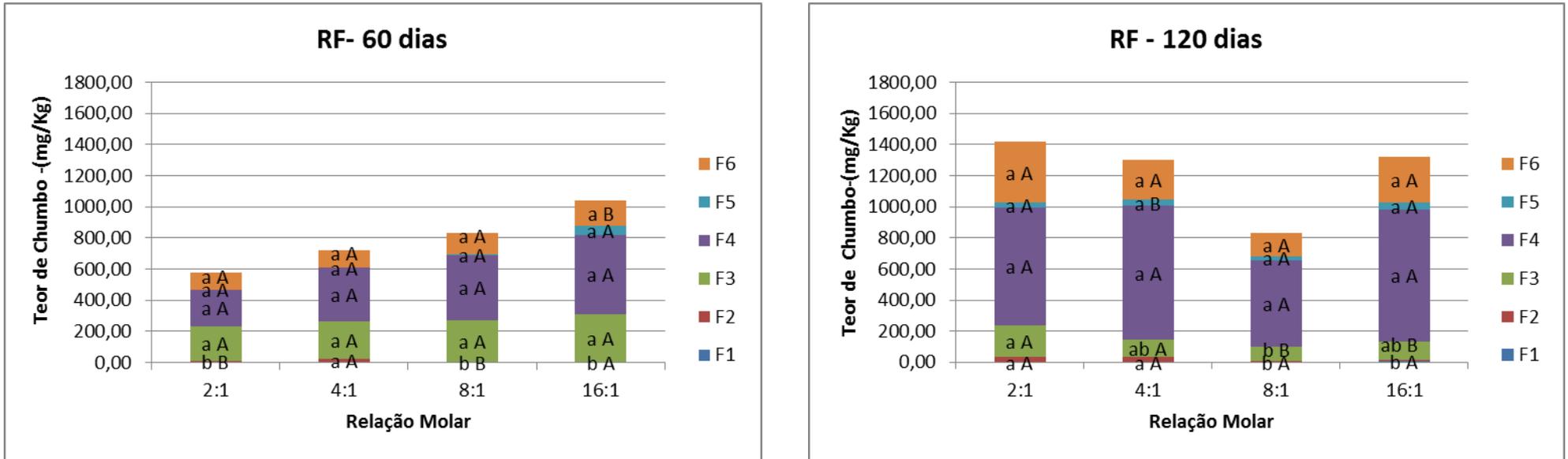


Figura 6 - Extração sequencial aos 60 e 120 dias após a incubação com Rocha Fosfatada. Letras minúsculas iguais para a relação molar e maiúsculas para o tempo não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%;

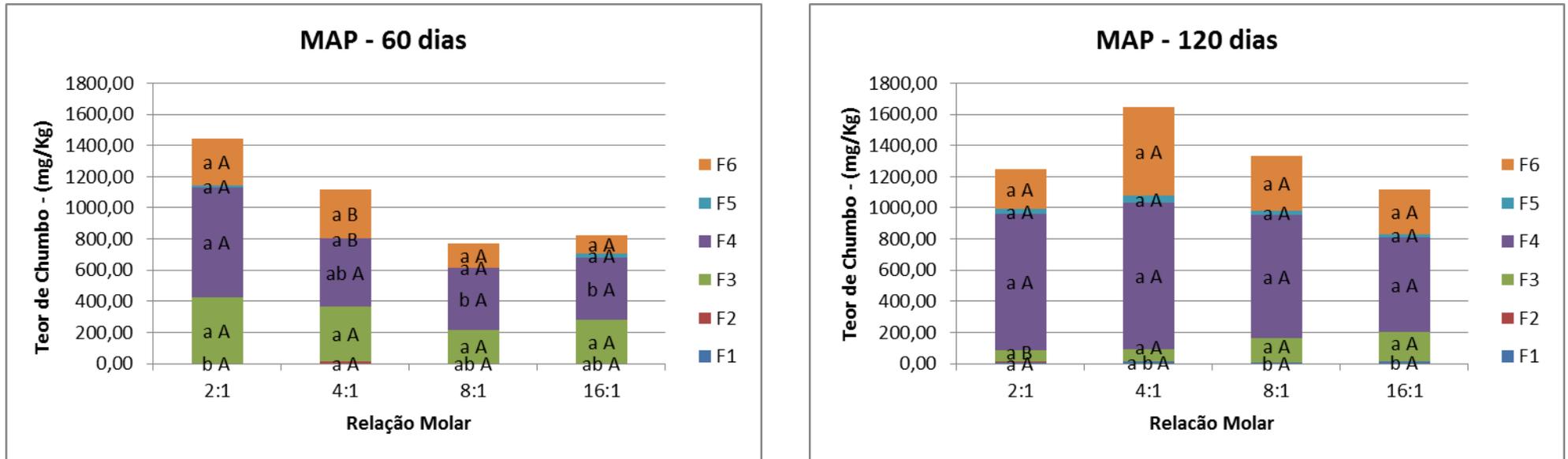


Figura 7 - Extração sequencial aos 60 e 120 dias após a incubação com MAP

Letras minúsculas iguais para a relação molar e maiúsculas para o tempo não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%;

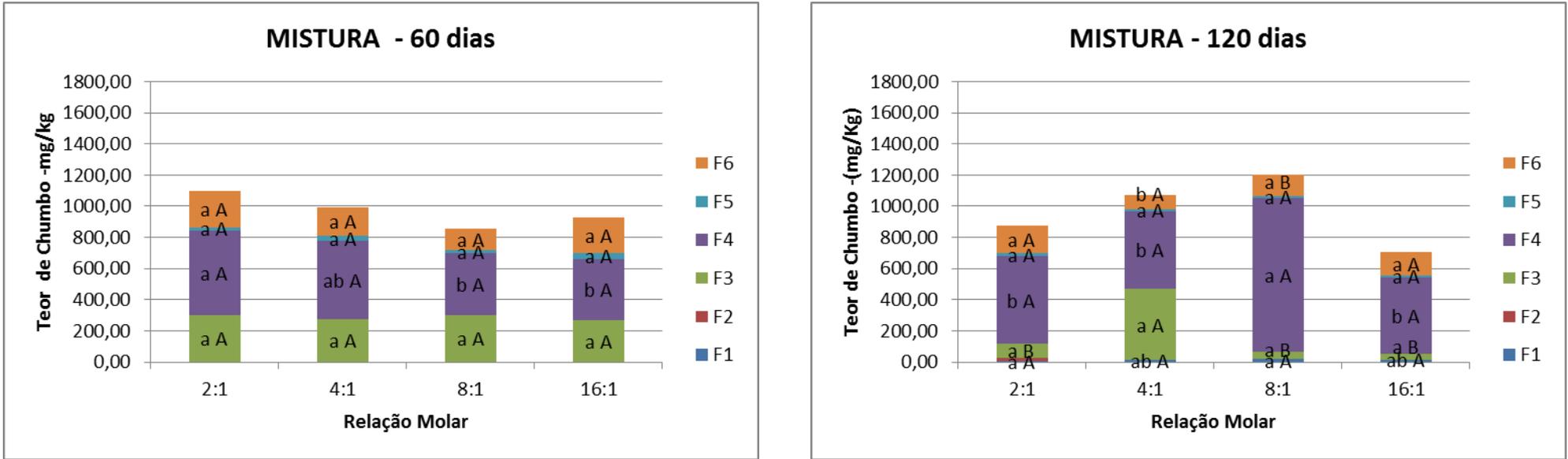


Figura 8 - Extração sequencial aos 60 e 120 dias de incubação com Mistura (MAP + Rocha Fosfatada)
 Letras minúsculas iguais para a relação molar e maiúsculas para o tempo não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%;

No tratamento RF para 60 dias, o aumento da relação molar P:Pb resultou principalmente no aumento do Pb ligado aos óxidos, já o aumento da relação molar no MAP reduziu a quantidade de Pb associado as frações do solo, enquanto o uso da mistura RF+MAP apresenta concentrações intermediárias das diferentes formas de Pb, nas frações F3, F4, F5 e F6. Esses resultados indicam que quando uma fonte menos solúvel de fosfato é utilizada, como no caso da RF, o aumento de RM P:Pb resulta na mobilização crescente do Pb para formas mais estáveis, como Pb ligado a óxido. Enquanto a redução das formas de Pb associadas as frações do solo com o aumento das relações molares, indica que quando fontes mais solúveis de fosfato é adicionado ao Vertissolo com elevada concentração de Ca e Mg precipitados ou complexos de fosfato com esses cátions são formados, reduzindo as quantidade de fosfato associado ao Pb.

A dinâmica da transformação do chumbo pode ser observada nas variações das frações ao longo do tempo. Para todos os tratamentos houve uma diminuição das concentrações de frações menos estáveis como a ligada aos carbonatos, F3, e aumento das concentrações mais estáveis como a ligada aos óxidos, F4 e a fração residual, F6. Ou seja, com o tempo as formas mais solúvel de Pb foi transformadas em frações mais insolúveis e menos móvel pela formação de compostos intermediários com óxido de ferro ou com a matéria orgânica (ALLEONI et al., 2005) Os resultados obtidos nesse estudo são semelhantes aos relatados por PASSOS, (2011) e PEREIRA et. al (2007) que encontraram nas três primeiras frações as quais são utilizada para indicar a mobilidade dos metais podem ser remobilizados. A concentração de Pb ligado a matéria orgânica só é perceptível no período 120 dias. Isso ocorre devido que o tempo de estabilização do Pb com compostos orgânicos no Vertissolo ocorrem mais lentamente do que a formação de compostos estáveis formados com componentes minerais. O Pb da fração orgânica do solo ocorre pela imobilização do metal pelos componentes da fração húmica do solo de elevada capacidade adsortiva. O Pb dessa fração forma complexos organometálicos insolúveis de forma semelhante ao descrito para os óxidos. Um dos possíveis esclarecimentos para o acréscimo da concentração de Pb ligada a MOS aumentar com o tempo é que a matéria orgânica compete com os fosfatos na retenção do metal.

Os resultados do nosso estudo não estão de acordo com os resultados relatados por RUBIO, et. al, (1991) que afirmaram que os metais presentes nas

três primeiras frações da extração são origem antropogênica enquanto que os metais presentes na fração residual corresponde aos metais de origem litogênica.

O presente estudo demonstra que as fontes antropogênicas estão em equilíbrio dinâmico com os metais das três primeiras frações (mais solúveis) e em equilíbrio mais lento com as frações mais estáveis dos metais no solo. Porém com o tempo de contato do P:Pb esses metais aumentaram a concentração das frações mais estáveis.

Em suma, a adição de qualquer das fontes de fosfato, ao vertissolo utilizado nesse estudo, reduziu a concentração da fração solúvel e trocável de Pb no solo. A fração solúvel representa os metais presentes na solução do solo; enquanto os metais presente na fração trocável (F2) representam os metais associados a dupla camada difusa os quais são adsorvidos eletrostaticamente as cargas negativas das argilas e da fração húmica do solo. Os metais trocáveis são caracterizados por serem extraídos por meio de reações de troca utilizando sais neutros, como no presente estudo o $MgCl_2$. Os metais presentes na fração solúvel e a trocável são as frações mais móveis e mais prontamente disponíveis no solo, por isso apresentam grande potencial de contaminação do lençol freático, (SPOSITO, 1984). A reduzida concentração dessas duas frações no solo indica que a reação do fosfato com a fração mais solúvel de Pb é relativamente rápida. Com o tempo houve aumento das concentrações de Pb nas frações do solo devido a maior estabilidade dos compostos de Pb com o fosfato do que com os compostos de outros cátions.

3.2. TESTE DE MOBILIDADE DO METAL TCLP (TOXICITY CHARACTERISTIC LEACHING PROCEDURE)

A decomposição dos resultados da interação é apresentada na Tabela 3. E os valores de TCLP para chumbo foram dependentes do tempo de incubação, da fonte de fosfato e da relação molar P: Pb (Tabela 4).

Tabela 3 - Resumo da análise estatística para a análise de TCLP para as concentrações de chumbo

Fatores de Variação	Chumbo - Significâncias (mg/Kg)
Repetição	Ns
Tempo	**
Tratamento	*
Tempo x Tratamento	**
Relação molar	**
Tempo x relação	**
Tratamento x relação molar	**
Temp x Trat x RM	**
CV	24,99

O método de análise de TCLP, 1311, USEPA (2013) foi desenvolvido para quantificar a concentração de Pb biodisponível em solos de áreas contaminadas com metais. Para Pb, valores de TCLP acima de 5 mg L⁻¹ são considerados perigosos, e podem causar danos as plantas e aos animais inclusive ao homem. No presente estudo, apenas a mistura RF+MAP foi capaz de reduzir o teor de Pb - TCLP para os valores indicados na legislação.

A quantidade de RF adicionada ao sistema influenciou na eficiência da imobilização do chumbo. Quando a RF foi aplicada em menor quantidade (RM < 8:1) os teores de Pb TCLP foram iguais ou superiores ao do controle aos 60 e aos 120 dias, (Tabela 9). Entretanto segundo MIRETZKY & FERNANDEZ-CIRELLI (2008), O uso de compostos fosfatados de baixa solubilidade, como hidroxiapatita ou rocha fosfatada, pode limitar a imobilização do Pb no solo devido a baixa dissolução desses compostos. O presente estudo parece confirmar esses resultados, pelo menos para a análise aos 60 dias, onde as quantidade de Pb extraído no tratamento

RF, foi maior do que no tratamento com o fosfato sintético (MAP) ou na mistura RF + MAP, em todas as relações molares. Nesses dois tratamentos os teores Pb - TCLP foi pelo menos duas vezes menor do que o da RF até a RM 8:1. A concentração de Pb - TCLP determinado aos 60 dias na relação 16:1 foi semelhante entre as fontes de fosfato. A eficiência das fontes de fosfato estabilizar Pb na solução do solo depende da capacidade da fonte de fosfato em ser solubilizada e fornecer fósforo para o meio (Ma, 1993). Tais resultados podem ser atribuídos a uma maior solubilização de fosfato sintético na solução do solo do que da fonte natural (RF) ou mista RF+MAP. Os resultados do Pb - TCLP estão de acordo com os resultados do estudo de fracionamento (Figura 5). A quantidade de Pb estabilizada pela RF (RM < 4:1) aos 60 dias, principalmente na fração F3, foi pelo menos a metade daquela obtida para MAP ou RF+ MAP.

Uma das razões da baixa eficiência da imobilização de Pb pela RF pode ter sido os elevados valores de pH do Vertissolo, (Tabela 1), os quais não favorecem a dissolução da RF.

Na avaliação da eficiência dos tratamentos realizadas aos 120 dias de incubação, independente da fonte de fosfato avaliada, a concentração de Pb - TCLP aumentou. Apesar do processo de mobilização do Pb das frações mais lábeis para as mais estáveis a concentração de Pb, especialmente na fração F3, uma das frações solúveis do solo, ainda foi significativa em todos os tratamentos. Esses resultados indicam que o tempo de incubação para que resultados mais expressivos para estabilização de Pb no Vertissolo deve ser maior. Por exemplo, para reduzir a toxicidade (TCLP) Pb de 82 mg L^{-1} para abaixo do nível de regulamentação da EPA de 5 mg L^{-1} . Melamed et al.(2005) utilizando a combinação de H_3PO_4 e $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ou RF conseguiu bons resultados aos 220 dias ou seja 100 dias a mais do que o usado nesse estudo.

Tabela 4 - Variação dos teores de Pb determinados em extrato de TCLP nas diferentes fontes de fosfato, relações molares P:Pb e nos dois tempos estudados.

TCLP		
CHUMBO		
RM	60 DIAS	120 DIAS
RF		
2:1	43,297ab A	20,400 b A
4:1	49,470 a A	28,400 a B
8:1	21,443 bc A	30,333 a A
16:1	13,203 c B	33,733 a A
MAP		
2:1	18,263 a B	40,200 a A
4:1	18,603 a B	40,867 a A
8:1	10,107 b B	39,467 a A
16:1	15,630 abB	40,667 a A
Mistura		
2:1	15,370 a B	39,400 a A
4:1	12,690 a B	44,333 a A
8:1	13,343 a A	29,467 a A

Para um dado tratamento letras minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%;

Tabela 5 – Concentração de chumbo nos controles de 60 e 120 dias para o teste TCLP e extração sequencial.

TEMPO	TCLP	F1	F2	F3	F4	F5	F6
CONTROLE							
60	37,917 a	0,000 a	4,300 a	305,70 a	278,70 a	0,000 a	84,000 a
120	11,867 a	0,000 a	21,670 a	175,87 a	373,90 a	8,133 a	197,40 a

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5%

Em outro estudo utilizando ácido fosfórico (H_3PO_4), o mesmo se mostrou eficiente comparado com a rocha fosfatada e a mistura de ambos em promover maior imobilização do Pb, mas apesar de se mostrar eficiente foi muito agressivo com uma redução drástica do pH. Porém pode ocasionar danos ao ambiente como a eutrofização (KEDE, 2006).

Independente da relação molar P:Pb avaliada, a concentração de Pb no tempo 60 dias foi acima do valor considerado perigoso.

Em suma, Independente da fonte, relação molar utilizada, o tempo de incubação utilizada nesse estudo não foi suficiente para que os teores de Pb – TCLP estivessem abaixo dos valores requeridos pela legislação para Pb (5 mg L^{-1}).

4. CONCLUSÕES

- Para as condições realizadas no teste de mobilidade do metal (TCLP), ou seja, em um sistema sem variação de volume dos solos, a concentração de chumbo, excedeu significativamente o limite regulador de 5 mg Pb/l estabelecido pela EPA, sendo classificados como perigosos à saúde.
- A partir da extração sequencial verifica-se que todos os três tratamentos se mostraram eficiente em converter o chumbo das formas mais solúveis (potencialmente disponível) para a forma menos solúvel (fração menos disponível).

5. REFERÊNCIAS

- ALLEONI, L.R.F.; IGLESIAS, C.S.M.; MELLO, S.C.; CAMARGO, O.A.; CASAGRANDE, J.C.; LAVORENTI, N.A. Atributos do solo relacionados à adsorção de cádmio e cobre em solos tropicais. **Acta Sci. Agron.** Maringá, v. 27, n. 4, p. 729-737, 2005
- ADRIANO, D.C.; CHLOPECKA, A.; KAPLAN, D.I. Role of soil chemistry in soil remediation and ecosystem conservation. In: HUANG, P.M. (Ed.) Soil chemistry and ecosystem health. **Soil Science Society of America**, Madison n. 52, p. 361–386, 1998.
- AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X.; COSTA, L.M. & OLIVEIRA, C. Formas químicas de zinco e sua absorção por plantas de milho cultivadas em solo tratado com resíduo siderúrgico. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 18, p. 313-320, 1994.
- BANDORA, A. Influence of Zeolites, humic acids and selenates (VI) on Lead and Cadmium Immobilization and Selected Soil Properties. **Pol J. Environ. Stud.** v. 21, n. 4 p. 813-820. 2012
- BECKETT, P. H. T. The Use of Extractants in Studies on Trace Metals in Soils, Sewage Sludges, and Sludge-Treated Soils. **Adv. Soil Sci**, v. 9, p.143,1989.
- BOISSON, J.; RUTTENS, A.; MENCH, M. & VANGRONSVELD, J. Evaluation of hydroxyapatite as a metal immobilizing soil additive for the remediation of polluted soils. Part 1. Influence of hydroxyapatite on metal exchangeability in soil, plant growth and plant metal accumulation. **Environ. Poll.**, v. 104, p. 225-233, 1999.
- COTTER-HOWELLS, J. & CAPORN, S. Remediation of contaminated land by formation of heavy metal phosphates. **Appl. Geochem.**, v.11,p.335-342, 1996.
- CHEN, S.; XU, M.; MA, Y.; YANG, J.; Evaluation of different phosphate amendments on availability of metals in contaminated soil. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 67, p. 278-285, 2007
- CHRYSOCHOOU M., DERMATAS D., GRUBB D. Phosphate application to firing range soils for Pb immobilization: the unclear role of phosphate. **J. Hazard. Mater.**, v. 144, p. 1–14, 2007

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, DF: **Embrapa Informação tecnológica**, p. 627, 2009

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, USA. Method 1311 – Toxicity Characteristic Leaching Procedure. 35 p. 1994

FERNANDES, B. **Retenção e movimento de água no solo**. (Dissertação Mestrado) Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, 49 p. 1967.

GALINDO, I.C.L.; BEZERRA, S.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; ACCIOLY, A.M.A. Fertilizantes fosfatados e orgânicos e seus efeitos na imobilização de chumbo em solo contaminado. **Caatinga**, Mossoró, v.18, n.1, p.58-65, jan./mar., 2005.

GLEYZES,C et al., Fraction studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. **Trends in analytical chemistry**, v. 21, n.6+7, 2002

HASS A., FINE P; Sequential selective extraction procedures for the study of heavy metals in soils, sediments, and waste materials – a critical Review. **Environmental Science and Technology**, v.40, p.365–399. 2010

KABATA-PENDIA,A.;PENDIAS,H. Soil constituents .In :Trace elements in soils and plants. Florida:CRC Press,p.33-50,1984.

KEDE, M. L. F. M. **Comportamento do chumbo em latossolos após aplicação de rocha fosfatada brasileira subsídio para remediação ambiental de áreas contaminadas**. Rio de Janeiro, 2006.68p. Dissertação (Mestrado em ciência na área de Saúde Pública),FIOCRUZ.2006.

KEDE, M. L. F. M. et al. **Estudo do comportamento do chumbo em latossolos brasileiros tratados com fosfatos:contribuições para a remediação de sítios contaminados**. *Quím. Nova* [online]. v. 31, n.3, p. 579-584. ISSN 0100-4042, 2008.

KENNEDY,V.H.;SANCHEZ,A.L.;OUGHTON,D.H.;ROWLAND,A.P. Use of single and sequential chemical extractants to assess radionuclide and heavy metal availability from soils for root uptake.**Analyst**,London,v.122,n.8,p.89R-100R,aug.,1997.

MA, Q.Y.; TRAINA, S.J.; LOGAN, T.J. In situ lead immobilization by apatite. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 27, p. 1803-1810, 1993.

MELAMED, R. et al. Field assessment of lead immobilization in a contaminated soil after phosphate application. **The Science of the Total Environment**. v. 305, p. 117–127, 2003.

MIRETZKY P, FERNANDEZ-CIRELLI A. Phosphates for Pb immobilization in soils: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 6, n. 3, p. 121–133, 2008.

OLIVEIRA JUNIOR, A. Eficiência **agronômica de fosfatos de rocha, utilizados isoladamente ou associados ao superfosfato triplo, para a cultura da soja**. 2007. 123 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, R. C. B. de; MARINS, R. V. Dinâmica de Metais Traço em solo e ambiente sedimentar estuarino como um fator determinante no aporte desses contaminantes para o ambiente aquático: Revisão. **Rev. Virtual Quim.** v. 3, n. 2, p. 88-102, 2011.

PASSOS, E. A. Metal Fractionation in sediments of the Sergipe River, Northeast, Brazil. **J. Braz. Chem Soc**, v. 22, n. 5, p. 828-835, 2011.

PEREIRA, J. C.; GUIMARÃES-SILVA, A. K.; NALINI JUNIOR, H. A.; PACHECO-SILVA, E.; LENA, J. C de. Distribuição, fracionamento e mobilidade de elementos traço em sedimentos superficiais. **Quím. Nova**, v. 30, n. 5, p. 1249-1255, 2007

RAICEVIC S., KALUDJEROVIC-RADOICIC T., ZOUBOULIS A.I. In situ stabilization of toxic metals in polluted soils using phosphates: thoretical prediciton and experimental verification. **J. Hazard. Mater.** v. 117, p. 41-53, 2005.

RAO C.R.M., SAHUQUILLO A., LOPEZ SANCHEZ J.F. (2007): A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. **Water Air and Soil Pollution**, v.189, p. 291–333, 2007

RUBIO, R.; LOPEZ-SANCHEZ, J. F.; RAUET, G. La especiación sólida de trazas de metales en sedimentos. Aplicación a sedimentos muy contaminados. **Anales Quimica**. v. 87, p. 599-605, 1991

SHASHKOVA I., RAT'KO A., KITIKOVA N. Removal of heavy metal ions from aqueous solutions by alkaline-earth metal phosphates. *Colloids Surf. A. Physicochem. Eng. Asp.* v. 160, p.207–215, 1999

SPOSITO, G. The surface chemistry of soils. New York: Oxford University Press, p. 234, 1984

TAKEUCHI Y., ARAI H. Removal of coexisting Pb^{2+} , Cu^{2+} and Cd^{2+} ions from water by addition of hydroxyapatite powder. *J. Chem. Eng. Jpn.*, v. 23, p. 75–80, 1990.

TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C.; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 51, n. 7, p. 844-851, June, 1979

TESSIER, R.W. et al. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace-elements. *Environmental Technology*, v.15, p.844-851, 1979.

XU, Y.; SCHWARTZ, F.W. & TRAINA, S.J. Sorption of Zn^{2+} and Cd^{2+} on hydroxyapatite surfaces. *Environ. Sci. Technol.*, v. 28, p. 1472-1480, 1994.

ZHANG P., RYAN J. Formation of chloropyromorphite from galena (PbS) in the presence of hydroxyapatite. *Environ. Sci. Technol.*, v.3, p. 618–624, 1999.

ZHANG P., RYAN J.A., YANG J.. In vitro soil Pb solubility in the presence of hydroxyapatite. *Environ. Sci. Technol.* v. 32, p. 2763–2768, 1998