

ERIBERTO VAGNER DE SOUZA FREITAS

**FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR CHUMBO: EFEITOS DE
AGENTES QUELANTES SINTÉTICOS E NATURAIS NA DESSORÇÃO,
LIXIVIAÇÃO E FITOEXTRAÇÃO**

RECIFE - PE
2008

ERIBERTO VAGNER DE SOUZA FREITAS

**FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR CHUMBO: EFEITOS DE
AGENTES QUELANTES SINTÉTICOS E NATURAIS NA DESSORÇÃO,
LIXIVIAÇÃO E FITOEXTRAÇÃO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Ciência do Solo da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco, como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. D.Sc. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

Co-orientadores: D.Sc. Adriana Maria de Aguiar Accioly

Prof. D.Sc. Mateus Rosas Ribeiro Filho

RECIFE - PE
2008

FICHA CATALOGRÁFICA
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

F866f Freitas, Eriberto Vagner de Souza
Fitorremediação de solo contaminado por chumbo: efeitos de agentes quelantes sintéticos e naturais na dessorção, lixiviação e fitoextração/ Eriberto Vagner de Souza Freitas. -- 2008.
77 f. : il.

Orientador : Clístenes Williams Araújo do Nascimento
Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia.
Inclui bibliografia.

CDD 631. 42

1. Risco ambiental
2. Quelantes sintéticos
3. Quelantes orgânicos
4. Contaminação do solo
 - I. Nascimento, Clístenes Williams Araújo do
 - II. Título

“Tenho a impressão de ter sido uma criança a brincar na praia e a encontrar, de vez em quando, uma pedrinha ou pequenina concha mais linda, enquanto o imenso oceano da verdade, inexplorado, se estendia à minha frente.”

Isaac Newton

“O homem não teria alcançado o possível, se repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível.”

Max Weber

Aos meus pais João Martins de Freitas e Rita Lima de Souza Freitas, pelo grande amor, confiança e incentivo dedicados a mim ao longo da minha vida, que foram fundamentais não só para minha formação acadêmica, mas também como ser humano. A minhas irmãs Valquíria de Souza Freitas e Waléria de Souza Freitas, pela nossa grande amizade. E também ao meu avô Raimundo Barreto de Freitas (*In memoriam*), de onde partiu a inspiração para escolha dessa profissão.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a vida, por todas as glórias alcançadas, pois que o tem no coração, tem um companheiro fiel e justo que a acompanha todos os dias de nossas vidas, tem paz, tem segurança, tem um caminho reto a seguir, tem coisas a agradecer, tem discernimento do que é certo e errado, tem milhares de promessas feitas por Deus e também pelo Seu Filho Cristo Jesus, às quais pode cegamente confiar porque para Deus nada é impossível;

Aos meus queridos e amados pais, João Martins e Rita Lima, pelo amor incondicional, exemplos de honestidade e caráter, por tantas renúncias em nome não só da minha formação profissional, bem como ser humano;

As minhas amadas irmãs Valquíria e Waléria pelo companheirismo, cumplicidade, tão necessários na manutenção da entidade família;

A minha amada avó Maria, pelo enorme amor, ótimos ensinamentos, que até hoje são de grande importância para os valores da nossa família;

Aos primos Rumennig, Allan, Raquel, Elisa, Adriana, Caio, Charles e todas as demais pessoas da minha família que contribuem direta ou indiretamente para a realização dos meus objetivos;

A minha namorada, meu amor, Raquel, que entrou na minha e conquistou meu coração, pelo apoio, compreensão, dedicação e por me fazer tão feliz, a união de tudo isso foi de suma importância para término desse trabalho;

Ao professor Clístenes Williams Araújo do Nascimento pela amizade, confiança, paciência e dedicação na transmissão de ricos e imprescindíveis conhecimentos, não só para a realização deste trabalho, mas também para continuação da minha formação profissional;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, através do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade de cursar e concluir esse importante trabalho de mestrado, na caminhada rumo à qualificação profissional;

Aos professores Adailson Pereira de Souza da Universidade Federal da Paraíba e Gustavo Pereira Duda da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, pela fundamental colaboração em etapas inicial e final, respectivamente, da realização deste trabalho;

A Wólmer, Lula, Wandinho, Richelieu, Toninho, Edwigenes, Taiguara, Marta pela grande amizade e companheirismo compartilhada nos últimos anos;

Aos amigos e companheiros de república do primeiro e segundo ano de pós-graduação, Cauê, Milton Cesar, Juninho, Michel, Allyson, Dagmar, Edivan, Hugo, Josimar, Michelangelo e Esmar, pela enorme amizade, pela ajuda nos momentos difíceis, tanto relacionado ao curso, bem como na constituição de uma grande família estudantil, que tem um papel muito importante na ausência da família biológica;

Aos Amigos e colegas do Laboratório de Fertilidade do Solo, Josângela, Marcio, Hailson, Tâmara, Welka, Adelazil, Bruno, Daniel, Fernando, Bruno Toríbio pela ótima convivência;

A duas grandes amigas, Caroline e Karina, por toda ajuda, paciência e dedicação, que foram fundamentais na realização desse trabalho;

Aos amigos, Airon, João Paulo e Vinícius, pelo valioso auxílio na condução deste trabalho;

Aos meus dois amigos e parceiros do programa de pós-graduação, Emídio Filho e Moacir, por grandes discussões científica e valorosos momentos de descontração e diversão;

As minhas amigas, Cybelle, Mayara e Priscila do curso de Engenharia Florestal, pelos ótimos momentos convivência e diversão;

Aos demais, mas não menos importantes colegas e companheiros de área de solos, Ameida, Marise Caribé, Carol Malala, Laerte, Rogério, Fabio, Leandra, Jailson, Suzy, Cícero, Thaís, Felizarda, Adriana Andrade, Leila, Patrícia, Rosemberg, Fátima, Guilherme e Zeca (funcionário da UFRPE) pela harmoniosa convivência;

Aos insubstituíveis e muito queridos funcionários da UFRPE, Socorro e Seu Noca, pelo enorme carinho, paciência, por memoráveis momentos de alegria e força em horas difíceis.

ÍNDICE

| | Página |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| INTORDUÇÃO GERAL | 9 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 15 |
| CAPÍTULO I - DESSORÇÃO E LIXIVIAÇÃO DE CHUMBO EM SOLO TRATADO COM AGENTES QUELANTES | |
| 20 | |
| RESUMO | 21 |
| SUMMARY | 21 |
| INTRODUÇÃO | 22 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| CONCLUSÕES | 37 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 38 |
| CAPÍTULO II - DOSES DE NTA E EDTA PARA A MAXIMIZAÇÃO DA FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO POR MILHO | |
| 43 | |
| RESUMO | 43 |
| SUMMARY | 44 |
| INTRODUÇÃO | 45 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 48 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 52 |
| CONCLUSÕES | 60 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 61 |
| CAPÍTULO III - DOSES DE ÁCIDO CÍTRICO COM APLICAÇÃO TOTAL E PARCELADA PARA INDUZIR A FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO POR MILHO | |
| 66 | |
| RESUMO | 66 |
| SUMMARY | 67 |
| INTRODUÇÃO | 68 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 70 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 74 |
| CONCLUSÕES | 82 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 83 |

INTRODUÇÃO GERAL

O crescente desenvolvimento de atividades de industrialização, mineração e as práticas agrícolas, bem como a disposição inadequada dos rejeitos provenientes dessas atividades têm contribuído enormemente para a adição de elementos químicos que representam ameaça à saúde humana e animal, bem como à biodiversidade dos ecossistemas.

No Brasil, o aumento das exigências da sociedade e a elaboração de leis mais rígidas, têm tornado necessário o desenvolvimento de tecnologias eficientes e de baixo custo, não somente para remediar áreas contaminadas, mas também para evitar a contaminação (Pletsch et al., 1999). Existe uma diferença entre solo contaminado e poluído que é importante destacar. O primeiro é aquele que apresenta concentrações de determinada espécie química acima do esperado em condições naturais (McBride, 1994). Enquanto que um solo poluído contém concentrações de determinado contaminante que chegam a afetar os componentes bióticos do ecossistema, comprometendo a funcionalidade e sustentabilidade do ecossistema, não sendo, portanto, um solo contaminado necessariamente poluído (Accioly & Siqueira, 2000).

Diferentes substâncias e elementos podem contaminar o solo, dentre estes, os metais pesados. Por metal pesado entende-se o elemento cuja densidade atômica é maior que 6 g cm^{-3} (Alloway, 1990). As plantas têm uma tendência natural para absorver metais, sendo alguns desses, como Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn essenciais para o crescimento das plantas, enquanto outros não têm nenhuma atividade biológica. Entre estes elementos encontram-se o Pb, Cd, Hg e Cr (Lasat, 2002).

Os metais pesados ocorrem naturalmente na crosta terrestre, constituindo menos de 1 % das rochas. Quanto a origem, podem ser litogênicos quando provenientes de fontes geológicas, como resíduos de rocha liberados pelo intemperismo, ou antropogênicos, quando adicionados ao solo pela atividade humana, via mineração e aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes, por exemplo (Camargo et al., 2001). Através da absorção destes pelas plantas, os metais podem entrar na cadeia trófica, contaminando homem e animais (Accioly & Siqueira, 2000). Apresentam ainda, elevada persistência no solo, por causa da sua baixa mobilidade (Camelo et al., 1997; Abdel-Haleem et al., 2001).

Uma importante forma de contaminação antrópica advém da reciclagem de metais pesados, principalmente quando seus efluentes são lançados sem tratamento no solo ou

lagoas sem impermeabilização, proteção ou contenção. Neste contexto, baterias de chumbo são consideradas resíduos perigosos pela legislação nacional e internacional. Existe insalubridade em grau máximo para os setores de fundição, modelagem das grades e misturador de óxido de chumbo. No processo de aproveitamento do chumbo são utilizados fornos que fundem este material, originando resíduos sólidos (escórias), efluentes líquidos e gasosos. As emissões dos efluentes gasosos normalmente são lançados diretamente para a atmosfera através de chaminés sem filtros. Já os efluentes sólidos e líquidos oriundos do processo, quando lançados diretamente no solo, contaminam o próprio solo, a vegetação, águas superficiais e subterrâneas e a população vizinha, principalmente em ambientes de várzea, devido ao elevado nível hidrostático (Alloway, 1990; Kabata-Pendias & Pendias, 1992).

O chumbo é um elemento metálico sólido, cinza azulado, conhecido a séculos como potencialmente tóxico. Dentre uma lista de 275 substâncias tóxicas consideradas prioritárias para controle nos EUA, o chumbo ocupa lugar de destaque, sendo o segundo entre os metais pesados, que representam maior risco à população, principalmente crianças (ATSDR, 1997). A absorção do chumbo pode ocorrer por via digestiva, tendo como via de entrada as mãos sujas que as crianças geralmente levam à boca, em bebidas ou alimentos contaminados; também ocorre pela via respiratória devido às partículas finas de poeira suspensas no ar, fumaça e gases (Chaney & Ryan, 1994).

Horizontes superficiais dos solos são propícios para acumulação de chumbo proveniente de deposições atmosféricas ou de fontes industriais e agrícolas devido principalmente à sua baixa solubilidade e forte adsorção ao solo. Como consequência, teores tão altos quanto 3.916 mg kg^{-1} em regiões agrícolas ou, $135.000 \text{ mg kg}^{-1}$ em regiões de mineração e industriais foram reportados por Kabata-Pendias & Pendias (1992). Segundo esses mesmo autores os níveis de chumbo considerados tóxicos no solo variam de 100 a 500 mg kg^{-1} e para as plantas 30 mg kg^{-1} na matéria seca.

A CETESB (2005) estabeleceu valores de referência de metais pesados para contaminação de solo e águas subterrâneas. No caso particular do chumbo, foi estabelecido como valores de intervenção 180, 300 e 900 mg kg^{-1} respectivamente para áreas agrícolas, residencial e industrial. Já o valor de intervenção de chumbo em águas subterrâneas corresponde a $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. É importante ressaltar que mesmo com solubilidade e mobilidade geralmente baixa, em alguns ambientes a concentração de Pb é tão alta a ponto de colocar em risco a saúde humana, principalmente em locais próximos a mineração e indústrias que usam chumbo.

Os problemas causados pelo excesso de metais pesados dependem da quantidade e das formas químicas em que ocorrem nos solos. Portanto, o teor total de metais pesados no solo não é um bom parâmetro para prever a biodisponibilidade (Kumpiene et al., 2007), essa determinação tem por objetivo a obtenção de dados sobre o acúmulo destes elementos ao longo do tempo. Por exemplo, formas lábeis associadas às frações solúvel, trocável e matéria orgânica podem representar pronta disponibilidade para movimentação em solos ou absorção por organismos, enquanto “pools” mais estáveis associadas a frações oxídicas ou residuais apresentam baixa biodisponibilidade a curto e médio prazo (Ribeiro Filho et al., 1999; Nascimento et al., 2003). Desse modo, a contaminação por metais pesados pode ser avaliada por meio de extrações seqüenciais, que identificam as frações do solo as quais esses elementos se encontram associadas (Oliveira & Nascimento, 2006). Isto permite inferências sobre a origem, forma de ocorrência, biodisponibilidade, fluxos, mobilidade e transporte de metais (Galindo et al., 2005).

É importante ressaltar a grande dificuldade em avaliar a disponibilidade de metais pesados no solo, avaliação esta imprescindível a qualquer trabalho relacionado com a contaminação do solo por metais pesados. Vários trabalhos têm tentado correlacionar métodos de extração simples com biodisponibilidade (Korcak & Fanning, 1978; Abreu et al., 1995; Nascimento et al., 2002). Os resultados obtidos têm variado de acordo com as condições de estudo, até então eram raros os trabalhos brasileiros que relacionam extração seqüencial e biodisponibilidade (Ribeiro Filho et al., 2001; Araújo & Nascimento, 2005; Wowk & Melo, 2005; Oliveira & Nascimento, 2006; Costa et al., 2007; Melo et al., 2008).

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas para remover metais de solos contaminados. No entanto, muitas áreas permanecem contaminadas devido aos elevados custos ambiental e econômico das tecnologias disponíveis para remediação de solos. De acordo com Ensley (2000), os custos para remediação de uma área contaminada com Pb, com a técnica mais comumente utilizada nos Estados Unidos (escavação e disposição do solo contaminado), variam entre 150 a 350 dólares por tonelada de solo. Considerando uma demanda tão elevada de recursos econômicos, métodos de restauração ambiental de solos poluídos com metais utilizando tecnologias baseadas no uso de plantas, tem atraído crescente interesse nas duas últimas décadas. Neste contexto, a fitorremediação se apresenta como um método de remediação de solos contaminados de custo razoável, ambientalmente mais seguro e de maior aceitação pelo público que os métodos mais

agressivos ao ambiente atualmente em uso. A recuperação de solos contaminados usando fitorremediação pode custar de 20 a 30 dólares por tonelada de solo (Ensley, 2000), o que torna essa tecnologia economicamente atrativa.

A idéia de se utilizar plantas que hiperacumulem metais para remover e reciclar seletivamente metais em excesso no solo surgiu com a descoberta de diferentes plantas, que acumulavam altas concentrações de metais em sua folhagem (Brooks, 1998). As plantas para serem consideradas hiperacumuladoras são capazes de acumular naturalmente mais de 100 mg kg⁻¹ de Cd, 1000 mg kg⁻¹ de Ni, Pb e Cu, ou 10000 mg kg⁻¹ de Zn e Mn na matéria seca, quando crescem em solos ricos nestes metais (Watanebe, 1997; Reeves & Baker, 2000; McGrath & Zhao, 2003).

Dentre as técnicas de fitorremediação, a fitoextração é a técnica mais promissora e que tem despertado maior atenção dos pesquisadores desde que foi proposta por Chaney (1983) como uma tecnologia para recuperar solos poluídos por metais. O processo de fitoextração de metais do solo depende da habilidade das plantas selecionadas crescerem e acumularem metais sob as condições climáticas e de solo específicas da área a ser remediada. Duas abordagens têm sido usadas para atingir esta meta: o uso de plantas com excepcional capacidade natural de acumulação de metal, as chamadas hiperacumuladoras; no entanto uma característica geral dessas espécies é o crescimento lento e a limitada produção de biomassa (Cunningham et al., 1995; Comis, 1996; Ebbs et al., 1997). Outra estratégia é a utilização de plantas cultivadas de alta produção de biomassa, a exemplo de milho (*Zea mays*) e mostarda da Índia (*Brassica juncea*), associadas a um método de fitoextração induzida por agentes quelantes (Huang et al., 1997; Salt et al., 1998; Nascimento et al., 2006).

Para aumentar a capacidade de acumulação de metais nas plantas, foi proposta a adição de agentes quelantes. O uso de ácidos aminopolicarboxílicos persistentes (APCAs), tal como ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) tem sido testado em vários trabalhos de fitoextração (Evangelou et al., 2007). A adição de EDTA em uma taxa de 10 mmol kg⁻¹ de solo aumentou para 1,6% a acumulação de Pb na parte aérea do milho (Lasat, 2000). O mesmo autor verificou que *Brassica juncea* exposta a Pb e a EDTA em solução hidropônica foi capaz de acumular mais de 1% do metal na matéria seca da parte aérea. Wu et al. (2004) também relatam que a adição de 3 mmol kg⁻¹ de EDTA aumentou as concentrações de Cu e Pb na parte aérea de *B. juncea*. A acumulação de níveis elevados de Pb é altamente tóxica e pode causar a morte da planta, sendo recomendada a aplicação de quelantes no período de máxima produção de biomassa (Lasat, 2000).

Embora os APCAs apresentem reconhecida eficiência na fitoextração de metais pesados, especialmente EDTA e complexos EDTA-metal promovem efeitos adversos na população microbiana (Grčman et al., 2001; Bouwman et al., 2005) e nas plantas podendo reduzir severamente a produção de biomassa (Epstein et al., 1999; Chen e Cutright, 2001). Devido a baixa biodegradabilidade destes quelantes, elevadas concentrações de metais permanecem na solução do solo, aumentando enormemente os riscos de lixiviação para o lençol freático. Lombi et al. (2001) encontraram os complexos EDTA-metal na solução do solo 5 meses após a aplicação do quelante.

Como alternativa ao uso dos APCA sintéticos persistentes, sugere-se o uso de APCA naturais, ácido etilenodiaminodisucinato (EDDS), ácido nitrilotriacético (NTA), agentes biodegradáveis com baixa fitotoxicidade para microrganismos e planta. Segundo Goodfellow et al. (1997) o EDDS é produzido naturalmente por microrganismos, e também sintetizado a partir de APCA sintéticos (Schowanek et al., 1997). De acordo com Luo et al. (2005), a adição de 5 mmol kg⁻¹ de EDTA e EDDS aumentaram significativamente a absorção de Cu, Cd, Zn e Pb. Entretanto, o EDDS se mostrou mais efetivo no aumento da concentração de Cu e Zn na parte aérea, enquanto que o EDTA foi mais efetivo para Pb e Cd. Evangelou et al. (2007) destaca que apesar das notáveis características do NTA ainda são poucos os trabalhos realizados, especialmente para a fitoextração de Pb. Quartacci et al. 2007 relataram que a adição de NTA e EDDS aumentaram a capacidade de *Brassica carinata* em acumular Cu, Pb e Zn. No mesmo trabalho, verificou-se que uma fração muito limitada de metais solubilizados (< 0,2% do conteúdo total de metal) foi efetivamente absorvido e translocado para as plantas. Este fato confirma a rápida biodegradação dos quelantes, reduzindo o risco de lixiviação (Meers et al., 2005).

Outra técnica que pode ser utilizada para um fitoextração ambientalmente mais segura, é o uso de ácidos orgânicos naturais de baixo peso molecular, levando a maior aceitação do público. As plantas através de suas raízes são capazes de liberar naturalmente uma extensa gama de ácidos, como ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido propílico e ácido láctico. Estes têm a capacidade de formar complexos com os metais, aumentando a solubilidade para que possam ser absorvidos pelas plantas. A grande vantagem destes ácido orgânicos é a rápida biodegradabilidade, evitando possíveis riscos de lixiviação de metais para o lençóis freáticos. Como grandes desvantagens que muitos trabalhos vêm mostrando (Salt et al., 1995; Gupta et al, 2000; Lombi et al., 2001; Wu et al., 2003; Kos & Lestan, 2004; Melo et

al., 2006) destaca-se a baixa eficácia na mobilização e absorção dos metais pelas plantas, quando comparado aos APCA sintéticos, em especial para a fitoextração de Pb (Melo et al., 2008).

Seja qual for o quelante utilizado para induzir a fitoextração, o sucesso depende não apenas de uma elevada extração pelas raízes, mas também de um aumento substancial da transferência dos metais à parte aérea. Em verdade, a fitoextração quimicamente induzida deve ser vista como um processo de duas etapas no qual as plantas inicialmente acumulam metais em suas raízes, e então, os transfere à parte aérea de forma mais eficiente em consequência da adição ambientalmente segura de quelantes (Nascimento & Xing, 2006).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HALEEM, A.S.; SCROON, A.; EL-BAHI, S.M.; ZOHNY, E. Heavy metals and rare earth elements in phosphate fertilizer components using instrumental neutron activation analysis. **Applied Radiation and Isotopes**, 55:569-573, 2001.

ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; RAIJ, B. V. & SANTOS, W.R. Comparação de métodos de análises para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 19:463-468, 1995.

ACCIOLY, A.M.A. & SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H. & SCHAEFER, C.E.G.R. Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p. 299-352.

ALLOWAY, B.J. The origins of heavy metals in soils. In: B. J. ALLOWAY (ed.) Heavy Metals in Soils. New York, 1990. p. 29-39.

ARAÚJO, J.C.T. & NASCIMENTO, C. W. A. Fracionamento e disponibilidade de zinco por diferentes extratores em solos incubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, 29:977-985, 2005.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY - ATSDR. **Priority list of hazardous substances**. Atlanta: Division of Toxicology/ATSDR/USDHHS/USEPA, 1997. 40 p.

BOUWMAN, L.A.; BLOEM, J.; RÖMKENS, P.F.A.M.; JAPENGA, J. EDGA amendment of slightly heavy metal loaded soil affects heavy metal solubility, crop growth and microbivorous nematodes but not bacteria and herbivorous nematodes. **Soil Biology & Biochemistry**, 37:271-278, 2005.

BROOKS, R.R. Plants that hyperaccumulate metals. CAB International, New York, NY, 1998. p. 392.

CAMARGO, O.A.; ALLEONI, L.R.F. & CASAGRANDE, J.C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; RAIJ, B. & ABREU, C.A. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: Legis Summa, 2001. p.89-124.

CAMELO, L.G.L.; MIGUEZ, S.R.; MARBÁN, L. Heavy metals input with phosphate fertilizers used in Argentina. **The Science of the Total Environment**, 204:245-250, 1997.

COSTA, C. N.; MEURER, E. J.; BISSANI, C.A. & TEDESCO, M.J. Fracionamento sequencial de cádmio e chumbo em solos. **Ciência Rural**, 37:1323-1328, 2007.

CETESB - Companhia de Tecnologia Ambiental do Estado de São Paulo. Áreas Degradadas. **Revista Saneamento Ambiental**, n. 195, 2005.

CHANEY, R. L.; RYAN, J. A. Risk based standards for arsenic, lead and cadmium in urban soil. **DECHEMA**, Frankfurt, 1994.

CHANEY, R.L. Plant uptake of inorganic waste constituents. In: PARR, J.F.; MARSCH, P.B.; KLA, J.S. (Ed.). **Land treatment of inorganic wastes**. Park Ridge: Noyes Data, 1983. p.50-76.

CHEN, H. & CUTRIGHT, T. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*. **Chemosphere**, 45:21-28, 2001.

COMIS, D. Green remediation: using plants to clean the soil. **Journal of Soil and Water Conservation** 51:184-187, 1996.

CUNNINGHAM, S.D., BERTI, W.R., HUANG, J.W. Phytoremediation of contaminated soils. **Trends Biotechnol.** 13:393-397, 1995.

EBBS, S.D.; KOCHIAN, L.V. Toxicity of zinc and copper to *Brassica* species: implications for phytoremediation. **Journal of Environmental Quality**, 26:776-781, 1997.

ENSLEY, B.D. Rationale for use of phytoremediation. In: RASKIN, I.; ENSLEY, B.D. (Ed.). **Phytoremediation of toxic metals** – Using plants to clean up the environment. New York: John Wiley & Sons, 2000. p.3-11.

EPSTEIN, A.L.; GUSSMAN, C.D.; BLAYLOCK, M.J.; YERMIYAHU, U.; HUANG, J.W.; KAPULNIK, Y. & ORSER, C.S. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. **Plant Soil**, 208:87-94, 1999.

EVANGELOU, M.W.H.; EBEL, M. & SCHAEFFER, A. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. **Chemosphere**, 68:989-1003, 2007.

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**, 18:58-65, 2005.

GOODFELLOW, M.; BROWN, A.B.; CAI, J.P.; CHUN, J.S. & COLLINS, M.D. *Amycolatopsis japonicum* sp. nov, an actinomycete producing (S,S)-N,N'-ethylenediaminedisuccinic acid. **Systematic and Applied Microbiology**, 20:78-84, 1997.

GRČMAN, H.; VELIKONJA-BOLTA, S.; VODNIK, D.; KOS, B. & LEŠTAN, D. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching, and toxicity. **Plant Soil**, 235: 105-114. 2001.

GUPTA, S.K.; HERREN, T.; WENGER, K.; KREBS, R.; HARI, T. In situ gentle remediation measures for heavy metal-polluted soils. In: TERRY, N.; BAÑUELOS, G. (Ed.). **Phytoremediation of contaminated soil and water**. Boca Raton: Lewis Publishers, 2000. p.303-322.

HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R. & CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science and Technology**, 31: 800-805, 1997.

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

KORCAK, R.F. & FANNING, D.S. Extractability of cadmium, copper, nickel, and zinc by double acid versus DPTA and plant content at excessive soil levels. **Journal of Environmental Quality**, 7:506-512, 1978.

KOS, B.; LESTAN, D. Chelator induced phytoextraction and in situ soil washing of Cu. **Environmental Pollution**, 132: 333-339, 2004.

KUMPIENE, J.; LAGERKVIST, A. & MAURICE, C. Stabilization of Pb- and Cu-contaminated soil using coal fly ash and peat. **Environmental Pollution**, 145:365-373, 2007.

LASAT, M.M. Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. **Journal of Hazardous Substance Research**, 2:1-25, 2000.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metal: a review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality** 31:109-120, 2002.

LOMBI, E.; ZHAO, F.J.; DUNHAM, S.J.; MCGRATH, S.P. Phytoremediation of heavy-metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. **Journal of Environmental Quality**, 30:1919-1926, 2001.

LUO, C.; SHEN, Z.; & LI, X. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. **Chemosphere**, 59:1-11, 2005.

McGRATH, S. P. & ZHAO, F. Phytoextraction of Metals and Metalloids from Contaminated Soils. **Current Opinion in Biotechnology**, 14:277-282, 2003.

McBRIDE, M. B. Environmental chemistry of soils. New York: Oxford University Press, 1994. p. 406.

MEERS, E.; RUTTENS, A.; HOPGOOD, M.J.; SAMSON, D. & TACK, F.M.G. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Chemosphere**, 58:1011-1022, 2005.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A. & SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:1051-1060, 2006.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; ACCIOLY, A.M.A. & SANTOS, A.C.Q. Phytoextraction and fractionation of heavy metals in soil after multiple applications of natural chelants. **Scientia Agricola**, 65: 61-68, 2008.

NASCIMENTO, C.W.A.; AMARASIRIWARDENA, D.; XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetics chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, 140:114-123, 2006.

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

NASCIMENTO, C.W.A.; FONTES, R.L.F.; MELÍCIO, A.C.F.D. Copper availability as related to soil copper fractions in oxisols under liming. **Scientia Agricola**, 60:167-173, 2003.

NASCIMENTO, C.W.A.; FONTES, R.L.F. & NEVES, J.C.L. Dessorção, extração e fracionamento de manganês em Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 26:589-597, 2002.

OLIVEIRA, A. B. & NASCIMENTO, C. W. A. Formas de manganês e ferro em solos de referência de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:99-110, 2006.

PLETSCH, M., CHARLWOOD, B. V., ARAÚJO, B. S. Fitorremediação de Águas e Solos Poluídos – O uso de culturas de raízes geneticamente transformadas como modelos experimentais. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**, 11: 26-29, 1999.

QUARTACCI, M.F.; IRTELLI, B.; BAKER, A. J.M. & NAVARI-IZZO, F. The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata*. **Chemosphere**, 68:1920-1928, 2007.

REEVES, R.D., BAKER, A.J.M. Metal-accumulating plants. In: RASKIN, I., ENSLEY, B.D. (Eds.), Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-Up the Environment. John Wiley and Sons, New York, 2000. p. 193-230.

RIBEIRO FILHO, M.R.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.O.; DA MOTTA, P.E.F. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 23:453-464, 1999.

RIBEIRO FILHO, M.R.; SIQUEIRA, J.O.; CURI, N. & SIMÃO, J.B.P. Fracionamento e biodisponibilidade de metais pesados em solo contaminado, incubado com materiais orgânicos e inorgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 25:495-507, 2001.

SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation, **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v.49, p.643-668, 1998.

SALT, D.E.; PRINCE, R.C.; PICKERING, I.J. & RASKIN, I. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. **Plant Physiology**, 109: 1427–1433, 1995.

SCHOWANEK, D.; FEIJTEL, T.C.J.; PERKINS, C.M.; HARTMAN, FEDERLE, T.W. & LARSON, R.J. Biodegradation of [S,S], [R,R] and mixed stereoisomers of ethylene diamine disuccinic acid (EDDS), a transition metal chelators. **Chemosphere**, 34:2375-2391, 1997.

WATANEBE, M.E. Phytoremediation on the brink of commercialization. **Environmental Science and Technology**, 31:182-186, 1997.

WOWK, G.I.T.H. & MELO, V.F. Avaliação do nível de chumbo, em solo de várzea, proveniente da reciclagem de baterias. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 9:613-622, 2005.

WU, L.H.; LUO, Y.M.; CHRISTIE, P.; WONG, M.H. Effects of EDTA and low molecular weight organic acids on soil solution properties of a heavy metal polluted soil. **Chemosphere**, 50:819-822, 2003.

WU, L.H.; LUO, Y.M.; XING, X.R. & CHRISTIE, P. EDTAenhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leachingrisk. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 102:307-318, 2004.

- CAPÍTULO I -
DESSORÇÃO E LIXIVIAÇÃO DE CHUMBO EM SOLO TRATADO COM AGENTES
QUELANTES

RESUMO

A baixa degradabilidade no solo de quelantes sintéticos usados para induzir a fitoextração pode significar elevado risco ambiental pela lixiviação de metais pesados. Agentes quelantes naturais, mais rapidamente degradados no solo, podem ser uma alternativa para os quelantes sintéticos. Os objetivos do trabalho foram avaliar a capacidade de cinco agentes quelantes sintéticos e dois naturais de cadeia alifática na dessorção de Pb, além do risco de lixiviação desse metal promovida pelos quelantes em solo contaminado pela deposição de escórias resultantes da reciclagem de baterias automotivas. O trabalho compreendeu dois experimentos: (1) dessorção utilizando as concentrações de 0, 2, 5, 10, 20 e 30 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico e oxálico, EDTA, DTPA e NTA; (2) lixiviação de Pb realizada em colunas de PVC com concentrações de 0, 10 e 20 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico e oxálico, EDTA e NTA. O uso do EDTA promoveu elevada dessorção e lixiviação de Pb, não sendo recomendado o uso para programa de fitoextração na área em estudo. A elevada dessorção de Pb, aliada a baixa lixiviação promovida pelo NTA, qualifica o quelante para programa de fitoextração de Pb na área a qual as amostras de solo foram coletadas. Os quelantes orgânicos não apresentaram riscos para a lixiviação de Pb nas concentrações estudadas, mas parecem pouco promissores para a fitoextração de chumbo devido a baixa dessorção do metal.

Termos para indexação: risco ambiental; quelantes sintéticos; quelantes orgânicos; contaminação do solo.

DESORPTION AND LEACHING OF LEAD IN SOIL TREATED WITH CHELANT AGENTS

SUMMARY

Synthetic chelates used in phytoextraction, barely degradate in soil and pose a risk owing metal leaching. Natural organic acids can be an alternative to synthetic chelates thanks to their rapid biodegradability. The study was carried out aiming at evaluating the performance of three synthetic chelators and two natural aliphatic acids in desorbing Pb from a soil contaminated through recycling of battery wastes. Additionally, effects of the amendments on the Pb leaching from soil were also studied. The work comprised two experiments: (1) Pb desorption from soil using the rates of 0, 2, 5, 10, 20 and 30 mmol kg⁻¹ of citric acid and oxalic, EDTA, DTPA and NTA; (2) Pb leaching from soil columns by applying citric acid, oxalic, EDTA, and NTA onto soil at the 0, 10, and 20 mmol kg⁻¹ concentrations. EDTA promoted the highest desorption and leaching, hence is not recommended for phytoextraction programs in the area. High desorption of Pb along with low leaching, qualifies NTA as a potential Pb phytoextraction enhancer for the metal in the field condition. Neither citric acid nor oxalic acid posed risk regarding Pb leaching. On the other hand, they seem little promising for enhancing Pb phytoextraction due to the low metal concentration in soil solution.

Key words: environmental risk, synthetic chelants; organic chelants; soil contamination.

1. INTRODUÇÃO

A poluição do solo com metais pesados, devido a intensificação das atividades industriais, agrícolas e urbanização, é um problema crescente e responsável por sérios impactos ao ambiente. A poluição do solo com esses agentes são oriundas principalmente da mineração, indústria metalúrgica, disposição de resíduos tóxicos e práticas agrícolas, como aplicação de lodo e fertilizantes inorgânicos. A acumulação desses elementos em solos pode conduzir não apenas à diminuição da produtividade das culturas em decorrência de seus efeitos fitotóxicos, mas também a efeitos deletérios à saúde humana e animal.

Os solos contaminados por metais pesados exigem ação remediadora que diminua os teores desses poluentes em níveis ambientalmente seguros. A fitoextração é uma técnica que usa plantas capazes de acumular elevados teores de metais pesados nos seus tecidos. Devido ao baixo custo, a tecnologia tem um grande potencial para remediação *in situ* em grandes áreas com baixo ou médio nível de contaminação. Tem a vantagem de ser bem aceita publicamente já que é uma tecnologia verde que usa luz solar como a fonte principal de energia (Robinson et al., 2003). Para o emprego da fitoextração de Pb uma das principais dificuldades destacada é a manutenção de elevados teores do metal na solução do solo (Pereira et al., 2007). Para tanto, o uso de agentes quelantes sintéticos, tais como EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético), DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético) e NTA (ácido nitrilotriacético) podem ser utilizados para promover a dessorção de Pb ligado a matriz do solo, formando um complexo solúvel possível de ser absorvido pela planta (Shen et al., 2002). No entanto, a principal limitação para o uso de quelantes sintéticos no campo, especialmente EDTA, é sua baixa biodegradabilidade. Isto resulta na manutenção de elevados teores de metais solúveis no solo por longo período, o que aumenta os riscos de lixiviação (Meers et al., 2004).

Entre os quelantes sintéticos o NTA apresenta características favoráveis, tais como rápida degradação, promove baixa fitotoxicidade às plantas e tem alta habilidade de quelatação de metais pesados (Riley et al., 2006), que pode qualificá-lo para programas de fitoextração de campo com menores riscos ao ambiente. De acordo com Chiu et al. (2005) o NTA foi mais efetivo que EDTA e DTPA na extração de As e Zn em solo. Dadas as potencialidades do quelante, ainda são poucos os estudos realizados, especialmente para a fitoextração de Pb.

De acordo com Nascimento et al. (2006) ácidos orgânicos de baixo peso molecular, tais como ácido cítrico e oxálico, apresentam a vantagem de serem mais rapidamente degradados no solo quando comparados aos quelantes sintéticos, evitando contaminação dos lençóis freáticos. No entanto, sua eficiência na fitoextração de metais tem sido geralmente menor que a obtida pelo uso de quelantes sintéticos. De acordo com Quartacci et al. (2005) o NTA foi mais eficiente do que o ácido cítrico em aumentar a concentração de Cd na parte aérea das plantas de *Brassica juncea*. Jean et al. (2007) verificaram maior eficiência do ácido cítrico do que o EDTA na absorção de Cr por plantas de *Datura innoxia*. Alguns trabalhos mostraram que a aplicação de 10 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico não foi eficiente na remoção de Pb (Nascimento et al., 2006; Melo et al., 2006).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivos: a) avaliar a capacidade de cinco agentes quelantes, três sintéticos (EDTA, DTPA e NTA) e dois naturais de cadeia alifática (ácido cítrico e oxálico) na dessorção de Pb no solo; b) avaliar o risco de lixiviação desse metal após a aplicação dos quelantes, exceto DTPA em solo contaminado com Pb pela deposição de escórias resultantes da reciclagem de baterias automotivas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta, caracterização e preparação do solo

O estudo envolveu dois experimentos: dessorção e lixiviação promovida por agentes quelantes. Ambos os trabalhos foram conduzidos no laboratório de Fertilidade do Solo da UFRPE. O solo utilizado nos experimentos foi proveniente de uma área de deposição de escórias de uma empresa recicladora de baterias automotivas, localizada no município de Rio Tinto, Paraíba (Figura 1). O solo foi classificado de acordo com o SiBCS (2006) como Espodosolo, textura arenosa, o mesmo foi coletado na camada de 0-20 cm, seco ao ar, destorroado e peneirado em tamiz de 2 mm. Este solo (TFSA) foi caracterizado quimicamente (EMBRAPA, 1999) e fisicamente segundo métodos descritos em EMBRAPA (1997) (Quadro 1). O teor total de Pb no solo foi obtido por água-régia (Abreu et al., 2001).

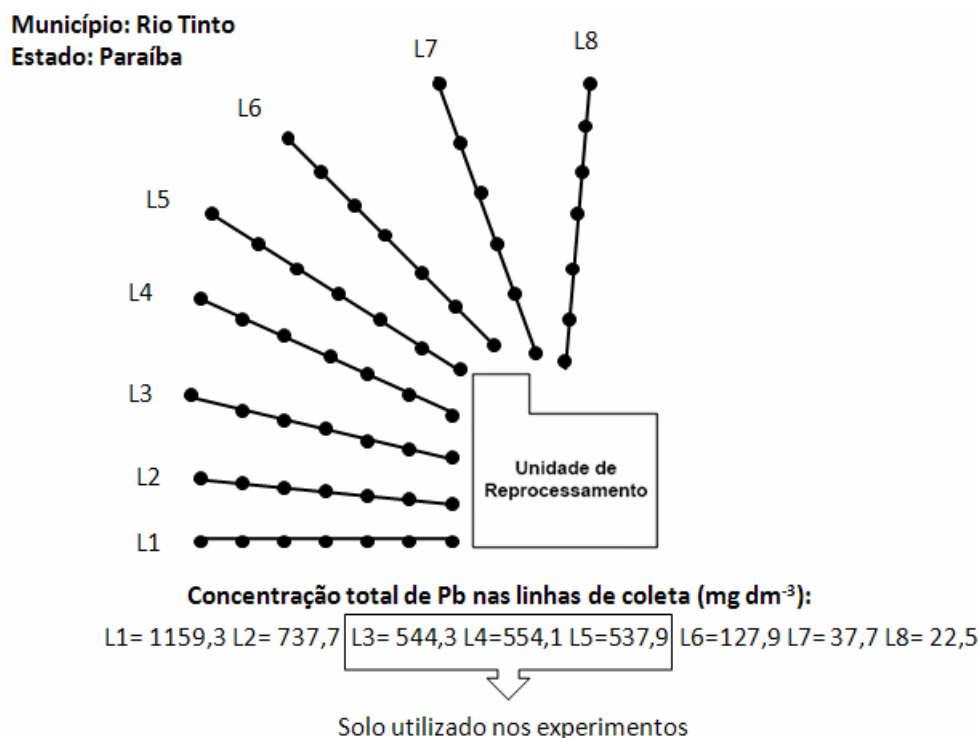


Figura 1. Representação da área entorno da empresa recicladora de baterias automotivas, onde a coleta do solo para o experimento foi realizada.

Quadro 1. Principais características químicas e físicas do solo utilizado nos experimentos

| Características | Valor |
|---------------------------------------------|--------------|
| pH (água 1:2,5) | 3,63 |
| Al (cmol _c .dm ⁻³) | 0,80 |
| Ca (cmol _c .dm ⁻³) | 0,65 |
| Mg (cmol _c .dm ⁻³) | 0,57 |
| P (mg. dm ⁻³) | 3,24 |
| K (cmol _c .dm ⁻³) | 0,03 |
| Na (cmol _c .dm ⁻³) | 0,27 |
| H+Al (cmol _c .dm ⁻³) | 5,06 |
| C.O. (g. kg ⁻¹) | 9,21 |
| Pb Total (mg dm ⁻³) | 544 |
| Areia (g kg ⁻¹) | 948 |
| Silte (g kg ⁻¹) | 22 |
| Argila (g kg ⁻¹) | 30 |
| ds (g cm ⁻³) | 1,64 |

Limite de Detecção (LD) de Pb = 0,01.

2.2 Experimento I: Dessorção de Pb no solo

Na dessorção de Pb foram utilizados agentes quelantes com diferentes características químicas: três quelantes sintéticos (EDTA - ácido etilenodiaminotetraacético, DTPA - ácido dietilenotriaminopentaacético e NTA - ácido nitrilotriacético) e dois naturais de cadeia alifática, (o ácido cítrico - AC e oxálico - AO). As Para avaliar o efeito dos quelantes na dessorção do metal foram utilizadas as doses 0, 2, 5, 10, 20 e 30 mmol kg⁻¹, aplicadas a 5 g do solo contaminado. Em seguida, foram adicionados 30 mL de uma solução de CaCl₂ 10 mmol L⁻¹ em tubos de centrífuga com capacidade para 50 mL (Nascimento, 2006).

Para promover a dessorção do metal as amostras foram dispostas em mesa horizontal e agitadas por um período de 24 horas a 200 rpm. Em seguida os tubos foram centrifugados em 1600 x g por 15 minutos, sendo o sobrenadante rapidamente filtrado para evitar que o metal fosse reabsorvido. Para a determinação da concentração do Pb, os extratos foram submetidos a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica.

Os dados foram submetidos à análise de variância (p<0,05). Equações de regressão foram ajustadas em função da concentração do quelante aplicado no solo e a concentração de Pb solubilizado, sendo a escolha do modelo feita com base na

significância dos estimadores dos parâmetros e maiores R^2 . As equações foram utilizadas para calcular a concentração de cada quelante que promoveu a maior taxa de dessorção do metal. As análises foram realizadas no software Statistical Analyses System – SAS (SAS, 1999).

2.3 Experimento II: Lixiviação de Pb em colunas de solo

O trabalho foi realizado em colunas de PVC com dimensões de 9 cm de diâmetro e 20 cm de altura, providas de coletor de lixiviado. As colunas foram verticalmente dispostas em suporte metálico (Figura 2). A camada de solo em cada coluna foi de 15 cm. Lãs de vidro foram posicionadas no fundo das colunas, para evitar perdas de solo. Durante o preenchimento das colunas foi promovido o mesmo nível de compactação do solo, utilizando-se método semelhante ao da proveta para determinação da densidade do solo da EMBRAPA (1997).



Figura 2. Disposição das colunas sobre suporte metálico na posição vertical para o experimento de lixiviação de Pb por agentes quelantes (ácidos cítrico e oxálico, EDTA e NTA).

O trabalho seguiu o delineamento experimental de blocos casualizados, com 4 repetições, disposto em um arranjo fatorial $(4 \times 2) + 1$, que corresponde a quatro quelantes: dois sintéticos (EDTA e NTA) e dois naturais (ácido cítrico e oxálico), nas concentrações de 10 e 20 mmol kg⁻¹ e mais um tratamento controle (solo contaminado,

sem aplicação de quelante), para avaliar o efeito dos mesmos na lixiviação de chumbo, totalizando 36 parcelas.

O solo foi previamente saturado com água destilada para 80 % da capacidade de campo. Em seguida completou-se a saturação para 100 % com uso das soluções contendo os quelantes. Antes da aplicação da lamina de água, outra camada de lã de vidro foi posicionada na superfície do solo, para evitar a formação de caminhos preferências da solução durante a percolação pela coluna de solo. A percolação da solução de Pb ocorreu durante um período de 4 a 5 horas, realizou-se a aplicação de um volume de água destilada de 1,80 L (Figura 2) armazenada em recipiente plásticos de 2 L, com uma vazão aproximada de 6-7 mL min⁻¹. O volume aplicado corresponde a uma lâmina média dos meses mais chuvosos (180 mm) da região de coleta do solo (Rio Tinto - PB), segundo dados da AESA (2006). Durante esse período, realizou-se 6 coletas de 50 mL e 15 coletas de 100 mL, totalizando 21 coletas de lixiviado. O teor de Pb na solução lixiviada foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica.

Nas colunas em que foram aplicadas as doses de 20 mmol kg⁻¹ dos quelantes, realizou-se a extração seqüencial baseada no método de Shuman (1985), com exceção da fração óxido de ferro amorfo que foi obtida através do método de Chao e Zhou (1983). Esse fracionamento separa o chumbo nas frações trocável, ligados à matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino, como descrito abaixo:

Fração Trocável (Tr) – Cinco gramas de TFSA e 20 mL de Mg(NO₃)₂ 1 mol L⁻¹ foram agitados por duas horas, em um tubo de centrífuga, com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e 20 mL de água destilada adicionada ao tubo. A amostra sofreu outra agitação por 3 min, sendo centrifugada e filtrada. Os dois sobrenadantes foram combinados para análise.

Fração Matéria Orgânica (MO) – Dez mililitros de NaClO 5-6 dag L⁻¹, pH 8,5 (ajustado imediatamente antes do uso em decorrência da sua alta instabilidade em relação ao pH), foram adicionados ao tubo de centrífuga, e a amostra, aquecida em banho-maria a 100° C, durante 30 min, ocasionalmente agitada. Em seguida, a amostra foi centrifugada, e o sobrenadante, filtrado. Esse procedimento foi repetido duas vezes, e os três filtrados combinados. Após adição de 10 mL de água destilada, a amostra no tubo de centrífuga foi agitada por 3 min, centrifugada, filtrada, e o filtrado, adicionado ao extrato de NaClO das extrações anteriores.

Fração Óxido de Ferro Amorfo (OxFeA) – Trinta mililitros de NH₂OH.HCl 0,25 mol L⁻¹ + HCl 0.25 mol L⁻¹ pH 3,0 foram adicionados à amostra no tubo de centrífuga, seguindo-se

agitação por 30 min. As amostras foram centrifugadas, filtradas e lavadas, como na extração anterior.

Fração Óxido de Ferro Cristalino (OxFeC) – Trinta mililitros de $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ + $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ + ácido ascórbico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,0 foram colocados em contato com a amostra de solo no tubo de centrífuga e aquecidos por 30 minutos a 100°C em banho-maria, sendo ocasionalmente agitados. Em seguida, as amostras foram submetidas à centrifugação e à filtragem. Todas as leituras dos extratos provenientes das quatro frações foram realizadas por meio de espectrofotometria de absorção atômica.

Os dados desse trabalho foram submetidos à ANOVA e o teste de Tukey a 5% foi utilizado para verificar a diferença entre os efeitos dos quelantes na distribuição de Pb nas diferentes frações do solo. Para cada dose dos quelantes, equações de regressão foram ajustadas em função do número de coletas e a concentração de Pb na solução lixiviada, sendo a escolha do modelo feita com base na significância dos estimadores dos parâmetros e maiores R^2 . As análises foram realizadas no software Statistical Analyses System – SAS (SAS, 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Experimento I: Dessorção de Pb promovida por agentes quelantes

Os quelantes sintéticos (EDTA, DTPA, e NTA) solubilizaram concentrações de Pb muito maiores que os quelantes orgânicos (Ácido Cítrico e Oxálico) (Figura 3). Nos quelantes sintéticos o nível de complexação é dependente principalmente da afinidade química entre o metal envolvido e o quelante, essa afinidade é especialmente maior nos sintéticos (Martell & Smith, 1974). Nos quelantes orgânicos o nível de complexação é dependente do número e proximidade dos grupos carboxílicos do ácido orgânico envolvido, do pH do solo e da concentração e do tipo de metal em questão (Pires & Mattiazzo, 2007). Com base na taxa de recuperação de Pb sugere-se a seguinte ordem na dessorção do metal: EDTA > DTPA > NTA > Ácido Cítrico > Ácido Oxálico (Quadro 2).

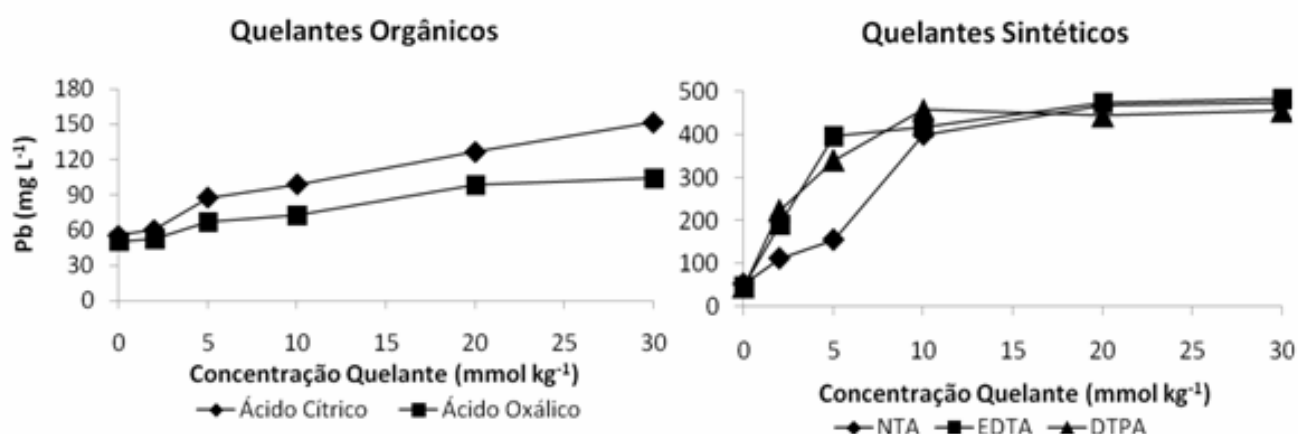


Figura 3. Efeito da aplicação dos quelantes (EDTA, NTA, DTPA, Ácido cítrico e Oxálico nas concentrações 0, 2, 5, 10, 20 e 30 mmol kg⁻¹) na dessorção de Pb (mg L⁻¹) no solo (LD = 0,01).

Nas concentrações de quelantes estudadas, a dessorção máxima de Pb no solo alcançou taxas de recuperação que variaram de 92 a 98 % com o uso dos quelantes sintéticos (Quadro 2). As taxas de recuperação de Pb com a utilização dos quelantes orgânicos foram bem inferiores, 19 e 23 %, respectivamente, para os ácidos oxálico e cítrico. A maior recuperação promovida pelo ácido cítrico se deve a maior habilidade dos grupamentos fenólicos (-OH) em participar das reações, visto que o ácido oxálico, mesmo apresentando maior densidade de carga, abrange apenas grupamentos carboxílicos (-COOH), menos lábeis nas reações de solubilização (Andrade et al., 2003). Essa menor

taxa de recuperação obtida pelos quelantes naturais não os desqualificam quanto a utilização como indutores da fitoextração, visto que a elevada dessorção promovida pelos quelantes sintéticos torna-se desnecessária pela impossibilidade das raízes absorverem uma quantidade tão elevada de Pb e pela contaminação de lençóis freáticos (Nascimento, 2006).

Quadro 2. Equações de regressão, dose para promover a máxima dessorção, quantidade estimada do metal chumbo em solução, bem como taxa de recuperação promovida pela dose de quelante em relação a contaminação inicial do solo (544 mg kg⁻¹)

| Equação | R ² | Dose | Solubilidade | Recuperação |
|-----------------------------------------------------|----------------|-----------------------|--------------------|-------------|
| | | mmol kg ⁻¹ | mg L ⁻¹ | % |
| Pb-Acido Cítrico = 3,14**x + 61,63 | 0,96** | 19,6 | 123,2 | 23 |
| Pb-Ácido Oxálico = 1,89*x + 53,10 | 0,76** | 28,1 | 106,2 | 19 |
| Pb-EDTA = -0,96**x ² + 40,43**x + 113,10 | 0,87** | 21,0 | 535,0 | 98 |
| Pb-NTA = -0,81**x ² + 38,81**x + 37,29 | 0,96** | 23,9 | 502,2 | 92 |
| Pb-DTPA = -0,99**x ² + 40,20**x + 115,8 | 0,88** | 20,2 | 522,3 | 96 |

** e * significativo a 1% a 5% respectivamente; (LD = 0,01).

A dessorção de Pb na solução do solo promovida pelos quelantes sintéticos foi notoriamente maior que a obtida com o uso dos quelantes naturais (Figura 3). Vários trabalhos já demonstraram a maior disponibilidade de Pb às plantas induzida por quelantes sintéticos quando comparados aos naturais (Gupta et al., 2000; Lombi et al., 2001; Kos & Lestan, 2004; Melo et al., 2006).

O Pb é fortemente retido no solo, apresentando baixa mobilidade, e muito pouco é transportado para águas superficiais ou profundas (Camelo et al., 1997; Abdel-Haleem et al., 2001). Portanto, a principal restrição quanto ao uso dos quelantes sintéticos (principalmente EDTA) em condições de campo é devido a alta persistência a biodegradação, o que aumenta enormemente os riscos de lixiviação do metal ao longo do perfil do solo (Madrid et al., 2003; Chen et al., 2004). Os valores estimados com o uso das doses de 21,0, 23,9 20,2 mmol kg⁻¹ dos quelantes, equivaleriam trazer concentrações de Pb para a solução do solo da ordem de 535,0; 502,2 e 522,3 mg L⁻¹, respectivamente para EDTA, NTA e DTPA (Quadro 2). Os níveis de metais na solução após a aplicação, no caso particular do estudo, os três quelantes sintéticos, podem superar a capacidade da planta absorver o metal (Madrid et al., 2003; Chen et al., 2004).

Os resultados mostram uma elevada dessorção de Pb promovida pelo NTA. Na concentração de 10 mmol kg^{-1} o quelante é tão eficiente quanto EDTA e DTPA (Figura 3). Aliado a características como baixa fitotoxidez nas plantas e pouca persistência relativa no solo (Ruley et al., 2006), o uso do NTA torna-se bastante promissor para programas de fitoextração na área em estudo. Quartacci et al. (2007) relataram que a adição de NTA aumentou a capacidade de *Brassica carinata* em acumular Cu, Pb e Zn.

Embora DTPA apresente uma constante de estabilidade com Pb ($\log K_s = 18,7$) superior à do EDTA ($\log K_s = 17,88$) (Martell & Smith, 1974) e NTA ($\log K_s = 12,27$) (Quartacci et al., 2007), para Nascimento et al. (2006), a eficiência do DTPA em solubilizar Pb pode ser reduzida graças à competição desse elemento com outros metais pela ligação ao quelante. Segundo os mesmos autores a elevada solubilização não garante uma fitoextração eficiente, o quelante deve ser capaz de aumentar a transferência de metais das raízes para a parte aérea. Lasat (2000) observou que a adição de 10 mmol kg^{-1} de EDTA em solo contaminado aumentou para 1,6 % a acumulação de Pb na parte aérea de milho. Segundo Wu et al. (2004), também a adição de 3 mmol kg^{-1} de EDTA aumentou as concentrações de Pb na parte aérea de *Brassica juncea*. De acordo com Melo et al. (2006), o NTA aumentou em até 13 vezes a concentração de Pb na parte de plantas de milho. É importante ressaltar que as concentrações usadas nos referidos trabalhos foram semelhantes as utilizadas em nosso estudo.

Os ácidos oxálico e cítrico promoveram uma significativa dessorção de Pb (Figura 3). A máxima dessorção do metal obtida com a aplicação de 30 mmol kg^{-1} dos ácidos orgânicos foi de 100,3 e 163,7 mg L^{-1} , respectivamente (Quadro 2). Vários trabalhos têm ressaltado a baixa eficiência dos ácidos orgânicos em solubilizar metais (Krishnamurti et al., 1997; Renella et al., 2004; Kos & Lestan, 2004). Resultados obtidos por Nascimento (2006) com o uso de uma dose máxima de 20 mmol kg^{-1} , demonstrou a baixa eficiência dos ácidos cítrico e oxálico (5 e 40 mg L^{-1} , respectivamente) em solubilizar chumbo. Uma questão importante que deve ser ressaltada no trabalho do referido autor, é que o solo utilizado apresentou um teor de argila de 360 g kg^{-1} , enquanto no nosso estudo o solo apresenta um teor de 30 g kg^{-1} , o que pode explicar o melhor desempenho dos ácidos (Figura 3), uma vez que ocorre um menor desgaste do quelante e uma menor adsorção de chumbo. Esse fato pode qualificar esses quelantes para a fitoextração de campo em solos com baixo teor de argila, desde que alguns questões relevantes sejam estudadas, com destaque para a fitotoxidez promovida pelos quelantes em doses mais altas que 10 mmol kg^{-1} (Turgut et al., 2004), e o parcelamento das doses podem aumentar o

período de disponibilidade dos metais para absorção pelas plantas (Nascimento et al., 2006).

Os tratamentos que receberam apenas aplicação da solução matriz (CaCl_2 na concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) apresentaram uma solubilização média de $50,1 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb. Valor bem acima do obtido por outros trabalhos (Melo et al., 2006; Nascimento, 2006) que utilizaram essa mesma concentração do extrator CaCl_2 em solos mais argilosos. Isso indica a necessidade de intensificar os estudos nessa área contaminada, visto que o sucesso de técnicas de fitoextração depende da combinação de diversos fatores que determinam a mobilidade do Pb no solo e sua absorção pelas plantas.

3.2 Experimento II: Lixiviação de Pb promovida por agentes quelantes

Os valores totais de Pb lixiviado promovido pela aplicação das doses dos quelantes sugerem a seguinte ordem de lixiviação do metal: EDTA > NTA > Ácido Cítrico > Ácido Oxálico (Quadro 3). Em relação a contaminação inicial do solo que foi de 544 mg kg^{-1} , a concentração mais elevada de cada quelante resultou na lixiviação de aproximadamente 83, 42, 3 e 1,5% do total de Pb do solo, respectivamente.

Quadro 3. Somatório total de Pb lixiviado promovido pela aplicação das doses de 0 (controle), 10 e 20 mmol kg^{-1} dos quelantes EDTA, NTA, Ácido Cítrico (Ác.Ci.) e Ácido Oxálico (Ác.Ox.) após a percolação de 1800 mL de água destilada na coluna de solo contaminado (544 mg kg^{-1} de Pb)

| Quelante | Concentração, mg L^{-1} | | |
|---------------|----------------------------------|-----|-----|
| | 0 | 10 | 20 |
| EDTA | 4 | 309 | 449 |
| NTA | 4 | 186 | 224 |
| Ácido Cítrico | 4 | 9 | 13 |
| Ácido Oxálico | 4 | 7 | 8 |

(LD = 0,01).

A aplicação dos ácidos cítrico e oxálico na concentração de 20 mmol kg^{-1} promoveu aumento da lixiviação de chumbo de 3 e 2 vezes, respectivamente quando comparados a média dos tratamentos que não receberam quelantes. Enquanto que a mesma dose de EDTA aumentou a concentração de Pb lixiviado em 112 vezes em relação a média do controle. Estes resultados mostram que o uso de quelantes orgânicos pode ser considerado ambientalmente seguro quando comparado aos quelantes sintéticos. O NTA

promoveu uma lixiviação de Pb 50 % a menos do que o EDTA (Quadro 3). Como o NTA tem uma persistência relativamente baixa no ambiente, esse problema poder ser contornado com o parcelamento das doses, evitando altos teores solúveis de metal na solução do solo prontos para lixiviar.

Nos tratamentos sem aplicação de quelantes, menos de um ponto percentual do Pb total foi lixiviado. Neste estudo, foi simulada uma chuva total correspondendo a 180 mm, e como o Pb é um elemento que apresenta baixa mobilidade, e muito pouco é transportado para águas superficiais ou profundas (Camelo et al., 1997; Abdel-Haleem et al., 2001), esses resultados sugerem que em condições naturais não há risco considerável de lixiviação do metal.

Com exceção da dose de 10 mmol kg⁻¹ de ácido oxálico (Figura 4) que apresentou diminuição linear dos teores de Pb lixiviado em função das 21 coletas, confirmando seu menor potencial de solubilização de Pb. Para os outros quelantes, a diminuição dos teores de Pb lixiviados apresentou comportamento quadrático. Os ácidos orgânicos demonstraram baixo risco de lixiviação de metais para o lençol freático, uma vez que os mesmos apresentaram baixa eficiência na solubilização de Pb. Toda a lixiviação promovida pelos ácidos orgânicos, como mencionado anteriormente, ocorre aproximadamente nos primeiros 300 mL de água percolada. As taxas do metal encontradas no lixiviado para o ácido cítrico variaram em média de 0,15 a 1,46 mg L⁻¹ e 0,15 a 2,10 mg L⁻¹ ao longo das 21 coletas, respectivamente para as doses de 10 e 20 mmol kg⁻¹. Comportamento muito semelhante foi observado para o ácido oxálico e para os tratamentos (controle) sem aplicação do quelante (Figura 4).

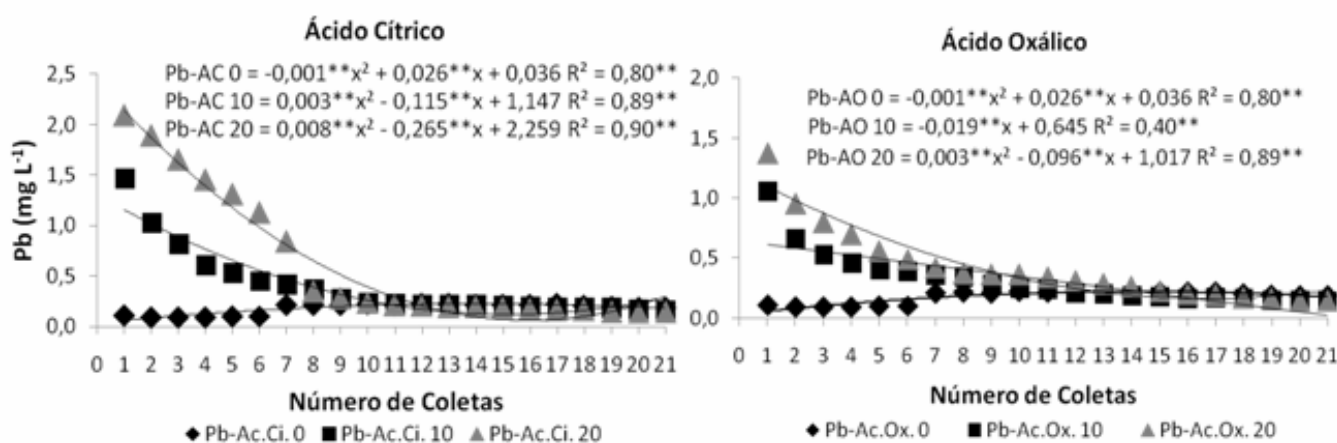


Figura 4. Concentração de Pb (mg L⁻¹) em função do número de coletas, após aplicação das doses (0, 10 e 20 mmol kg⁻¹) dos quelantes ácido cítrico e oxálico (LD = 0,01).

Houve um incremento na lixiviação de Pb em função do aumento das concentrações de todos os quelantes. Comportamento esse não observado para as coletas, visto que a concentração de Pb decresceu ao longo das mesmas, exceto para o NTA. Segundo Karhu et al. (1999) o NTA apresenta menor solubilidade ($\text{Log } S = 16,36$) quando comparado a outros quelantes sintéticos, EDTA e DTPA, que apresentam constante de solubilização de $\text{Log } S = 24,60$ e $30,43$, respectivamente. Ao contrário dos demais quelantes, o NTA apresentou uma elevação na taxa de lixiviação do metal da 1ª até 10ª e 1ª até a 11ª coleta, respectivamente para a dose 10 e 20 mmol kg^{-1} (Figura 5). Devido a maior solubilidade do EDTA, é possível perceber que a maior atuação deste ácido na lixiviação ocorreu nos primeiros 400 mL lixiviados com redução das taxas a partir da 2ª coleta.

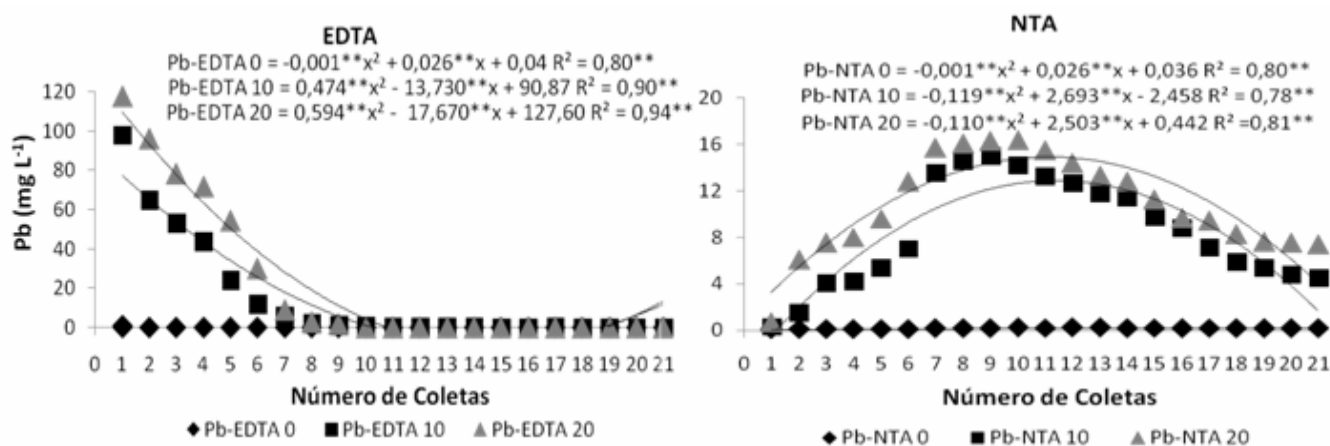


Figura 5. Concentração de Pb (mg L^{-1}) em função do número de coletas, após aplicação das doses (0, 10 e 20 mmol kg^{-1}) dos quelantes EDTA e NTA ($\text{LD} = 0,01$).

Na menor concentração, 10 mmol kg^{-1} de EDTA, os valores médios de Pb lixiviado foram de 98, 65, 53, 44, 24 e 12 mg L^{-1} , respectivamente para a 1ª, 2ª, 3ª, 4ª, 5ª e 6ª coletas (Figura 5). O que corresponde a 96% do total da lixiviação promovida por essa dose em apenas 300 mL de água percolada pela coluna de solo. Na seqüência, os níveis de Pb alcançaram um equilíbrio. Esse resultado corrobora os encontrados por Chen et al. (2004) que obtiveram as maiores concentrações de Pb solubilizadas pelo EDTA e nos primeiros 300 e 400 mL lixiviados, respectivamente, em colunas com e sem plantas de girassol. Realizando o somatório das referidas taxas tem-se um total de 296 mg L^{-1} de Pb lixiviado. Portanto, o uso de EDTA em condições de campo para a área da qual as amostras de solo foram coletadas, em condição de evento de precipitação normalmente observada na área, demonstra a possibilidade de grandes quantidades do metal

alcançarem o lençol freático, podendo atingir o valor de intervenção indicado pela CETESB (2005) que é de 10 ug L^{-1} em águas subterrâneas.

Os resultados demonstraram que no ponto de máxima lixiviação com NTA, a dose de 20 mmol kg^{-1} retirou apenas 15 mg L^{-1} de Pb, enquanto que o EDTA na mesma concentração no ponto máximo de lixiviação, que foi logo a primeira coleta, os teores de Pb no lixiviado foram 10 vezes maiores. Portanto, o uso de NTA, aliado a um manejo adequado, pode ser recomendado nas condições da área estudo, sem risco considerável de elevados teores de Pb alcançarem o lençol freático.

A percolação dos quelantes provocou significativas alterações na distribuição de Pb entre as frações do solo. Independentemente do quelante aplicado, as concentrações de Pb remanescentes após a lixiviação pelos ácidos foram sempre maiores na fração trocável (Quadro 4). Isso decorre dos baixos teores de matéria orgânica e óxidos do solo arenoso utilizado nesse estudo. Porém, os teores de Pb na fração trocável foram maiores para os solos tratados com os quelantes orgânicos quando comparados aos quelantes sintéticos. Os ácidos orgânicos também responderam pela maior retenção nas frações óxido de ferro amorfo e cristalino entre os quelantes, apenas o controle apresentou uma maior retenção.

Quadro 4. Concentração de Pb remanescente nas frações do solo (mg kg^{-1}): trocável (Tr), matéria orgânica (MO), óxido de ferro amorfo (OxFeA) e óxido de ferro cristalino (OxFeC) após a percolação de 20 mmol kg^{-1} dos quelantes (Ácido cítrico, oxálico, EDTA e NTA).

| Fração | Controle | Cítrico | Oxálico | EDTA | NTA |
|---------------|----------|---------|---------|-------|--------|
| Chumbo | | | | | |
| Tr | 222,6c | 234,9b | 265,3a | 26,5e | 170,7d |
| MO | 42,6a | 17,7b | 15,9c | 5,2d | 1,7e |
| OxFeA | 44,3a | 30,4b | 18,7c | 1,28e | 14,3d |
| OxFeC | 44,2a | 18,1a | 15,4c | 5,6e | 8,5d |

Os valores com letras iguais, na linha, não diferem estatisticamente de acordo com Teste Tukey com $p < 0,05$; (LD = 0,01).

A alta capacidade dos quelantes sintéticos, em especial do EDTA em formar complexos com metais lábeis e a extração de formas não disponíveis dos metais inclusive pela dissolução de óxidos de ferro (Chen et al., 2006) favorece o aumento da concentração de metais na solução do solo, com isso o quelante promoveu uma lixiviação total de 309 e 449 mg L^{-1} , respectivamente para as concentrações 10 e 20 mmol kg^{-1} (Quadro 3). Os ácidos orgânicos, por outro lado, apresentam baixa eficiência na

solubilização do metal para a solução do solo, a consequência direta foi a alta concentração de Pb remanescente no solo. Segundo Finzgar & Lestan (2007), significativa concentração de Pb e Zn normalmente permanecem no solo após a lixiviação.

Os resultados demonstraram que o após a percolação da dose de 20 mmol kg^{-1} dos quelantes, muito mais Pb permaneceu no solo com o uso de NTA em relação ao EDTA (Quadro 4). Isso pode ser explicado pela menor capacidade de solubilização do metal pelo NTA, bem como a rápida degradação do quelante no solo (Ruley et al., 2006). Indicando que o NTA pode ser utilizado na indução da fitoextração de Pb na área em estudo, com risco de lixiviação relativamente baixo.

4. CONCLUSÕES

O uso do EDTA promoveu elevada dessorção e lixiviação de Pb, não sendo recomendado o uso para programa de fitoextração na área em estudo;

A elevada dessorção de Pb, aliada a baixa lixiviação promovida pelo NTA, qualifica o quelante para programa de fitoextração de Pb na área no qual as amostras de solo foram coletadas;

Os quelantes orgânicos não apresentam riscos para a lixiviação de Pb nas concentrações estudadas, mas parecem pouco promissores para a fitoextração de chumbo devido a baixa dessorção do metal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HALEEM, A.S.; SCROON, A.; EL-BAHI, S.M.; ZOHNY, E. Heavy metals and rare earth elements in phosphate fertilizer components using instrumental neutron activation analysis. **Applied Radiation and Isotopes**, 55:569-573, 2001.

ABREU, M.F. de, ABREU, C.A., ANDRADE, J.C. Determinação de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês, zinco, níquel, cádmio, crômio e chumbo em ácido nítrico usando métodos da USEPA. In: RAIJ, B. van, ANDRADE, J.C. de, CANTARELLA, H., QUAGGIO, J.A. (eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. p. 251-261.

AGÊNCIA EXECUTIVA DE GESTÃO DAS ÁGUAS DO ESTADO DA PARAÍBA – AESA. Pluviometria média do estado da Paraíba - 2006. Disponível em: <http://www2.aesa.pb.gov.br/meteoro/pcdlmrs.shtml>, consultado em 03 de novembro de 2007.

ANDRADE, F. V.; MENDONÇA, E. S.; ALVAREZ V., V. H. & R. F. NOVAIS. Adição e ácidos orgânicos e húmicos em latossolos e adsorção de fosfato. . **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 27:1003-1011, 2003.

BLAYLOCK, M.J.; SALT, D.E.; DUSHENKOV, S.; ZAKHAROVA, O.; GUSSMAN, C.; KAPULNIK, Y.; ENSLEY, B.D. & RASKIN, I. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. **Environmental Science and Technology**, 31:860-865, 1997.

CAMELO, L.G.L.; MIGUEZ, S.R.; MARBÁN, L. Heavy metals input with phosphate fertilizers used in Argentina. **The Science of the Total Environment**, 204:245-250, 1997.

CHANEY, R.L.; MALIK, M.; LI, Y.M.; BROWN, S.L.; BREWER, E.P.; ANGLE, J.S. & BAKER, A.J.M. Phytoremediation of soil metals. **Current Opinion in Biotechnology**, 8:279-284,1997.

CETESB - Companhia de Tecnologia Ambiental do Estado de São Paulo. Áreas Degradadas. **Revista Saneamento Ambiental**, n. 195, 2005.

CHAO, T.T. & ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. **Soil Science Society of America Journal**, 47: 224-232, 1983.

CHEN, G.C.; HE, Z.L.; STOFFELLA, P.J.; YANG, X.E.; YU, S.; YANG, J.Y.; & CALVERT, D.V. Leaching potential of heavy metals (Cd, Ni, Pb, Cu and Zn) from acidic sandy soil amended with dolomite phosphate rock (DPR) fertilizers. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 20:127-133, 2006.

CHEN, Y.; XIANGDONG, L.; SHEN, Z. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. *Chemosphere*, v.57, p.187-196, 2004. **Geoderma**, 122:11-315, 2004.

COSTA, C. N.; MEURER, E. J.; BISSANI, C.A. & TEDESCO, M.J. Fracionamento sequencial de cádmio e chumbo em solos. **Ciência Rural**, 37:1323-1328, 2007.

EBBS, S.D. & KOCHIAN, L.V. Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental Science and Technology**, 32:802-806, 1998.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análises de solo**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1997. 212p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília, 2006. 301p.

FINZGAR, N. & LESTAN, D. Multi-step leaching of Pb and Zn contaminated soils with EDTA. **Chemosphere**, 66:824-832, 2007.

GLASS, D.J. Economical potential of phytoremediation. In: RASKIN, I. & ENSLEY, B.D., eds. **Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment**. New York, John Wiley & Sons, 2000. p.15-31.

GUPTA, S.K.; HERREN, T.; WENGER, K.; KREBS, R.; HARI, T. In situ gentle remediation measures for heavy metal-polluted soils. In: TERRY, N.; BAÑUELOS, G. (Ed.). **Phytoremediation of contaminated soil and water**. Boca Raton: Lewis Publisher, 2000. p.303-322.

HUANG, J.W. & CUNNINGHAM, S.D. Lead phytoextraction: Species variation in lead uptake and translocation. **New Phytologist**, 134:75-84, 1996.

HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R. & CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science and Technology**, 31:800-805, 1997.

JEAN, L.; BORDAS, F.; GAUTIER-MOUSSARD, C.; VERNAY, P.; HITMI, A. & BOLLINGER, J.C. Effect of citric acid and EDTA on chromium and nickel uptake and translocation by *Datura innoxia*. **Environmental Pollution**, 20:1-9, 2007.

KARHU, J.; HARJU, L. & IVASKA, A. Determination of the solubility products of nitrilotriacetic acid, ethylenediaminetetraacetic acid and diethylenetriaminepentaacetic acid. **Analytica Chimica Acta**, 380:105-111, 1999.

KOS, B.; LESTAN, D. Chelator induced phytoextraction and in situ soil washing of Cu. **Environmental Pollution**, 132:333-339, 2004.

KRÄMER, U. Phytoremediation: Novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinion in Biotechnology**, 16:1-9, 2005.

KRISHNAMURTI, G.S.R.; CIESLINSKI, G.; HUANG, P.M.; VAN PEES, K.C.J. Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: implication in cadmium availability. **Journal of Environmental Quality**, 26:271-277, 1997.

LASAT, M.M. Phytoextraction of metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. **Journal of Hazardous Substance Research**, 2:1-25, 2000.

LOMBI, E.; ZHAO, F.J.; DUNHAM, S.J. & McGRATH, S.P. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. **Journal of Environmental Quality**, 30:1919-1926, 2001.

MADRID, F.; LIPHADZI, M.S.; KIRKHAM, M.B. Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. **Journal of Hydrology**, 271:107-119, 2003.

MARTELL, W.E. & SMITH, W.M. **Critical stability constants**. Amino acids. New York, Plenum Press, 1974. 469p.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A. & SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:1051-1060, 2006.

MEERS, E.; HOPGOOD, M.; LESAGE, E.; VERVAEKE, P.; TACK, F.M.G. & VERLOO, M.G. Enhanced phytoextraction: In Search of EDTA Alternatives. **International Journal of Phytoremediation**, 6:95-109, 2004.

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N. & GIBBS, B.F. Remediation technologies for metal contaminated soils and groundwater: **An evaluation Engineering Geology**, 60:193-207, 2001.

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

NASCIMENTO, C.W.A.; AMARASIRIWARDENA, D. & XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, 140:114-123, 2006.

NASCIMENTO, C.W.A. Organic acids effects on desorption of heavy metals from a contaminated soil. **Scientia Agricola**, 63:276-280, 2006.

PIRES, A. M. M. & MATTIAZZO, M. E. Cinética de solubilização de metais pesados por ácidos orgânicos em solos tratados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 31:143-151, 2007.

PEREIRA, B.F.F.; ABREU, C.A.; ROMEIRO, S.; LAGÔA, A.M.M.A. & GONZÁLEZ, A.P. Pb-phytoextraction by maize in a Pb-EDTA treated Oxisol, **Scientia Agricola**, 64:52-60, 2007.

QUARTACCI, M.F.; BAKER, A.J.M. & NAVARI-IZZO, F. Nitrioltriacetate and citric acid assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, *Brassicaceae*). **Chemosphere**, 59:1249-1255, 2005.

RENELLA, G.; LANDI, L.L.; NANNIPIERI, P. Degradation of low molecular weight organic acids complexed with heavy metals in soil. **Geoderma**, 122:311-315, 2004.

ROBINSON, B.; FERNANDEZ, J.E.; MADEJÓN, P.; MARAÑHÓN, T.; MURILLO, J.M.; GREEN, S.; BRENT, C. Phytoextraction: an assessment of biochemical and economic viability. **Plant and Soil**, 249:117-125, 2003.

RULEY, A.T.; SHARMA, N.C.; SAHI, S.V.; SINGH, S.R. & SAJWAN, K.S. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. **Environmental Pollution**, 144:11-18, 2006.

SAS INSTITUTE. Statistical analysis system. Procedure guide for personal computer. Cary, 1999.

SHEN, Z.G.; LI, X.D.; WANG, C.C.; CHEN, H.M.; CHUA, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, 31:1893-1900, 2002.

SHUMAN, L.M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, 140:11-22, 1985.

TURGUT, C.; PEPE, M.K. & CUTRIGHT, T.J. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. **Environmental Pollution**, 131:147-154, 2004.

WU, J.; HSU, F.C. & CUNNINGHAM, S.D. Chelate-assisted Pb phytoremediation: Pb availability, uptake, and translocation constraints. **Environmental Science and Technology**, 33:1898-1904, 1999.

WU, L.H.; LUO, Y.M.; XING, X.R. & CHRISTIE, P. EDTA enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 102:307-318, 2004.

- CAPÍTULO II -
DOSES DE NTA E EDTA PARA A MAXIMIZAÇÃO DA FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO
POR MILHO

RESUMO

A utilização de ácidos aminopolycarboxílicos persistentes (APCAs) aumenta a disponibilidade de metais no solo e eleva sua concentração na parte aérea. No entanto, a baixa biodegradabilidade resulta em alto risco ambiental. O trabalho objetivou avaliar a capacidade dos quelantes EDTA e NTA aplicados em doses crescentes, visando encontrar uma dose que maximize a fitoextração com o mínimo de solubilização de chumbo no solo contaminado de uma empresa recicladora de baterias, localizada no município de Rio Tinto - PB. Os agentes quelantes foram aplicados nas concentrações de 0, 2, 5, 10 e 20 mmol kg⁻¹ no 30º dia de cultivo após o desbaste. As amostras de solo foram submetidas à extração química e fracionamento. Os quelantes EDTA e NTA foram eficientes na solubilização de Pb no solo. A distribuição de Pb nas frações do solo apresentou a seguinte ordem: Tr > MO > OxFeA > OxFeC. A aplicação da dose de 5 mmol kg⁻¹ de EDTA aumentou para 1,1% a acumulação de Pb na parte aérea de milho. Os resultados do trabalho indicam que a fitorremediação da área com o uso de 5 mmol kg⁻¹ de NTA (um agente de rápida degradação) poderia ser efetuada em período inferior a 5 anos.

Termos para indexação: risco ambiental; quelantes sintéticos; contaminação do solo.

SEARCHING THE SAFE DOSE OF NTA AND EDTA FOR MAXIMIZING Pb PHYTOEXTRACTION BY MAIZE

SUMMARY

The application of synthetic aminopolycarboxylic acids to soil increases metal solubility and therefore enhances phytoextraction. However, synthetic chelators barely degrade in soil and threaten human and animal health owing to metal leaching. The aim of this study is to search for the EDTA and NTA dose that maximizes phytoextraction while minimizing Pb mobilization from a soil contaminated as a consequence of battery recycling waste disposal. Each synthetic chelant was applied to soil at 0, 2, 5, 10, and 20 mmol kg⁻¹ concentrations on the 30th day of maize cultivation. Soil samples were submitted to chemical extraction with CaCl₂ and Pb fractionation. EDTA and NTA were highly effective in solubilizing Pb from soil. The Pb distribution in soil fractions followed the sequence: Tr > MO > OxFeA > OxFeC. The 5 mmol kg⁻¹ dose of EDTA increased Pb concentration in maize shoots by 1.1%. The results show that phytoremediation of the site using 5 mmol kg⁻¹ of NTA is feasible with no environmental constraints in a 5-year period.

Key words: environmental risk, synthetic chelants; soil contamination.

1. INTRODUÇÃO

O crescente desenvolvimento de atividades de industrialização, mineração e as práticas agrícolas, bem como a deposição inadequada dos rejeitos provenientes dessas atividades, ocorrido nas últimas décadas, tem contribuído enormemente para a adição de elementos químicos que representam uma ameaça à saúde humana, animal, bem como à biodiversidade dos ecossistemas.

Os metais pesados são o principal fator da contaminação de solos em todo mundo (Tong & Lam, 2000; Martley et al., 2004). Por metal pesado entende-se o elemento cuja densidade atômica é maior que 6 g cm^{-3} (Alloway, 1990). As plantas têm uma tendência natural para absorver metais, alguns desses metais, como Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn são essenciais para o crescimento das plantas, enquanto outros não o são, ou seja, não têm nenhuma atividade biológica. Entre estes elementos encontram-se o Pb, Cd, Hg e Cr (Lasat, 2002).

Dentre as técnicas de fitorremediação de solos contaminados, a fitoextração é uma das técnicas mais eficientes, envolve o cultivo de plantas que concentram metais pesados do solo na parte aérea, os quais podem então ser removidos da área (Krämer, 2005; Nascimento & Xing, 2006). Duas estratégias da técnica bastante citadas na literatura (Evangelou et al., 2007a; Chen et al., 2007; Murakami et al., 2007) podem ser utilizadas. O uso de plantas hiperacumuladoras, com capacidade excepcional de naturalmente acumular metais na parte aérea. Outra abordagem é a utilização de plantas que produzem elevada biomassa, sendo induzidas quimicamente com o uso de agentes quelantes para aumentar a capacidade de acumular metais pesados.

A utilização de ácidos aminopolicarboxílicos persistentes (APCAs), tal como o ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), têm sido extremamente usado em várias pesquisas para aumentar a eficiência da fitoextração (Evangelou et al., 2007a). O EDTA aumenta a mobilidade e a biodisponibilidade de metais no solo e, também, eleva a concentração de metais pesados acumuladas na parte aérea das plantas (Kos & Leštan, 2003; Chen et al., 2004). Trabalhos recentes (Pereira et al., 2007; Evangelou et al., 2007b) mostraram que o uso de EDTA não aumentou a eficiência da fitoextração de Pb em plantas de milho (*Zea mays* L.) e tabaco (*Nicotiana tabacum*). Somado a sua baixa biodegradabilidade, resultando em alto risco ambiental (Meers et al., 2004) pela manutenção de elevados teores de metais solúveis no solo, prontos para lixiviar, por um longo período, aumenta a restrição quanto ao seu uso.

A eficiência da fitoextração em solos com altas concentrações de metais pesados tem sido correlatada com a aplicação de elevadas doses de EDTA (Shen et al., 2002; Chen et al., 2004). Na maioria dos trabalhos descritos na literatura as doses de EDTA utilizadas variaram de 2,5 a 10 mmol kg⁻¹ (Blaylock et al., 1997; Epstein et al., 1999; Grčman et al., 2001; Shen et al., 2002; Chen et al., 2004). Como consequência ocorre elevado aumento da mobilidade e biodisponibilidade de metais, que ultrapassam a capacidade de absorção das plantas. Luo et al. (2006) observaram efeitos adversos no crescimento das plantas, principalmente nas raízes. Grčman et al. (2001) observaram que a adição de EDTA a uma taxa de 10 mmol kg⁻¹ em quatro aplicações promoveu uma remoção total de Pb uma a duas vezes menor do que essa mesma dose em uma única aplicação. Apesar da menor eficiência na fitoextração, o parcelamento da aplicação de EDTA pode reduzir os efeitos fitotóxicos nas plantas, aumenta a absorção de metais pelas raízes, evitando altos teores na solução do solo por longo período, prontos para lixiviar.

Como alternativa ao uso de EDTA, foi proposto o uso dos chamados APCAs naturais, como ácido etilenodiaminodisucinato (EDDS), ácido nitrilotriacético (NTA), agentes biodegradáveis, com alta habilidade de quelatação, de baixa fitotoxicidade para microrganismos e plantas (Ruley et al., 2006; Evangelou et al., 2007a). Embora NTA seja uma quelante menos eficiente do que EDTA, o mesmo apresenta-se altamente eficiente quando comparado com ácidos orgânicos de baixo peso molecular como ácidos cítricos e oxálicos (Quartacci et al., 2005; Ruley et al., 2006). Quartacci et al. 2007 relataram que a adição de NTA aumentou a capacidade de *Brassica carinata* em acumular Cu, Pb e Zn. Os mesmos autores observaram uma rápida degradação do quelante no solo. Segundo Meers et al. (2005) essa rápida biodegradação, reduz o risco de lixiviação de metais para o lençól freático.

Nos trabalhos pesquisados não foi encontrado relatos da aplicação de NTA na forma parcelada. As taxas de aplicação utilizadas do quelante para a fitoextração de solos contaminados têm variado desde 1,8 a 20 mmol kg⁻¹ (Robinson et al., 2000; Wenger et al., 2003; Meers et al., 2005; Melo et al., 2006; Quartacci et al. 2007). Os resultados referentes ao aumento da eficiência da fitoextração e o risco de lixiviação de metais têm variado não apenas em função das doses, mas também depende da tolerância das plantas a exposição a solos multicontaminados. No que se refere, a biodegradabilidade dos quelato-metal, esta depende fortemente do tipo de metal envolvido e não está relacionada a apenas com a constante de estabilidade (Vandevivere et al., 2001).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade dos quelantes EDTA e NTA, aplicados em doses crescentes, visando encontrar uma dose que maximize a fitoextração com o mínimo de solubilização de chumbo no solo contaminado por uma empresa de reciclagem de baterias automotivas, localizada no município de Rio Tinto - PB.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta, caracterização e preparação do solo

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Agronomia da UFRPE. O solo utilizado no experimento foi proveniente de uma área de deposição de escórias de uma empresa recicladora de baterias automotivas, localizada no município de Rio Tinto, Paraíba (Figura 1). O solo foi classificado de acordo com o SiBCS (2006) como Espodossolo, textura arenosa, o mesmo foi coletado na camada de 0-20 cm, seco ao ar, destorroado e peneirado em tamiz de 2 mm. Este solo (TFSA) foi caracterizado quimicamente (EMBRAPA, 1999) e fisicamente segundo métodos descritos em EMBRAPA (1997) (Quadro 1). O teor total de Pb no solo foi obtido por água-régia (Abreu et al., 2001).

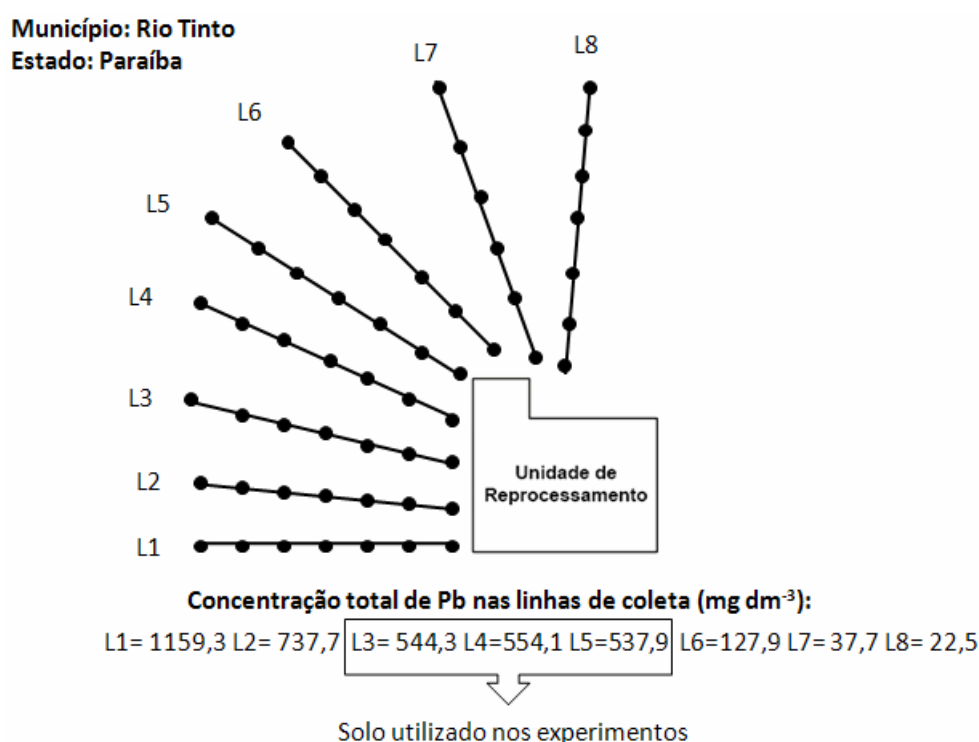


Figura 1. Representação da área entorno da empresa recicladora de baterias automotivas, onde a coleta do solo para o experimento foi realizada.

O solo seco ao ar, destorroado e homogeneizado foi passado em peneira de 2 mm de abertura de malha. A acidez foi corrigida para um pH na faixa de 6,0 - 6,2, utilizando-se carbonato de cálcio e óxido de magnésio P.A. (na proporção molar de 3:1), em quantidades previamente definidas em ensaio de incubação.

Quadro 1. Principais características químicas e físicas do solo utilizado no experimento

| Características | Valor |
|---------------------------------------------|--------------|
| pH (água 1:2,5) | 3,63 |
| Al (cmol _c .dm ⁻³) | 0,80 |
| Ca (cmol _c .dm ⁻³) | 0,65 |
| Mg (cmol _c .dm ⁻³) | 0,57 |
| P (mg. dm ⁻³) | 3,24 |
| K (cmol _c .dm ⁻³) | 0,03 |
| Na (cmol _c .dm ⁻³) | 0,27 |
| H+Al (cmol _c .dm ⁻³) | 5,06 |
| C.O. (g. kg ⁻¹) | 9,21 |
| Pb Total (mg dm ⁻³) | 544 |
| Areia (g kg ⁻¹) | 948 |
| Silte (g kg ⁻¹) | 22 |
| Argila (g kg ⁻¹) | 30 |
| ds (g cm ⁻³) | 1,64 |

Limite de Detecção (LD) de Pb = 0,01.

2.2 Condução do experimento em casa de vegetação

Após período de 22 dias incubado a 80 % da capacidade de campo para a correção da acidez do solo, seis sementes de milho do cultivar AG1051 foram semeadas em vasos plásticos com 2 dm³ de solo. Após o desbaste foram cultivadas duas plantas por vaso. A adubação foi parcelada aos 7 e 11 dias após a germinação, aplicando-se em cada vaso as seguintes doses de nutrientes: 200 mg dm⁻³ de N (KNO₃, (NH₄)₂SO₄ e (NH₄)₂HPO₄); 150 mg dm⁻³ de K (KNO₃ e KH₂PO₄); 400 mg dm⁻³ de P ([NH₄]₂HPO₄, KH₂PO₄ e CaHPO₄); 46 mg dm⁻³ de S (K₂SO₄ e (NH₄)₂SO₄); 3,664 mg dm⁻³ de Mn (MnCl₂ 4H₂O), 4 mg dm⁻³ de Zn (ZnSO₄ 7 H₂O), 1,329 mg dm⁻³ de Cu (CuSO₄), 4 mg dm⁻³ de Fe (FeSO₄ 7H₂O), 1 mg dm⁻³ de B (H₃BO₃) e 0,15 mg dm⁻³ de Mo (Na₂MoO₄ 2H₂O). Os vasos foram irrigados com água destilada diariamente, mantendo os solos a aproximadamente 80 % da capacidade de retenção de água, por meio de pesagens e reposição da água perdida por evapotranspiração.

Os tratamentos foram constituídos por dois agentes quelantes sintéticos (EDTA e NTA) aplicados nas concentrações de 2, 5, 10 e 20 mmol kg⁻¹ no 30° dia de cultivo após o desbaste, além de um controle (solo contaminado sem a adição de quelante).

2.3 Coleta das plantas

No 38º dia de cultivo após o desbaste, foi realizada a coletada das raízes e parte aérea das plantas. As raízes foram lavadas abundantemente em água de torneira e em água destilada. Em seguida, juntamente com a parte aérea, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 70° C até peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e da raiz, as quais foram em seguida trituradas em moinho tipo Wiley e submetidas à digestão nítrico-perclórica (EMBRAPA, 1999) para quantificação de chumbo.

A eficiência da espécie em absorver os metais pesados do solo foi avaliada pela remoção líquida dos metais. A remoção foi calculada da seguinte maneira:

$$\text{Remoção} = \text{PA} \times \text{MS} / 1000$$

$$\text{PA} = \text{Concentração na parte aérea (mg vaso}^{-1}\text{)}$$

$$\text{MS} = \text{Produção de matéria seca (g vaso}^{-1}\text{)}$$

2.4 Coleta do solo e extração de chumbo

Também no 38º dia de cultivo, realizou-se a coleta de amostras do solo, na seqüência foram postas para secagem ao ar, homogeneizadas e passadas em peneira de 2 mm de abertura de malha. Subamostras do solo foram retiradas para determinação do teor disponível de Pb por cloreto de cálcio. Para essa extração, foi utilizada uma solução de cloreto de cálcio, contendo 10 mmol L⁻¹, na relação solo:solução de 1:10, agitada por 2 horas, em um tubo de centrifuga com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 10 minutos a 1600 x g, o sobrenadante filtrado (Novozamsky et al., 1993). Este extrator foi escolhido devido a sua capacidade para extrair metais, apenas, da fase prontamente disponível (Melo et al., 2006). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica.

2.5 Fracionamento de Pb no solo

A extração seqüencial foi baseada no método de Shuman (1985), com exceção da fração óxido de ferro amorfo que foi obtida através do método de Chao e Zhou (1983). Esse fracionamento separa o Pb nas frações trocável, ligado à matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino, como descrito abaixo:

Fração Trocável (Tr) – Cinco gramas de TFSA e 20 mL de Mg(NO₃)₂ 1 mol L⁻¹ foram agitados por duas horas, em um tubo de centrifuga, com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e 20 mL de água destilada

adicionada ao tubo. A amostra sofreu outra agitação por 3 min, sendo centrifugada e filtrada. Os dois sobrenadantes foram combinados para análise.

Fração Matéria Orgânica (MO) – Dez mililitros de NaClO 5-6 dag L⁻¹, pH 8,5 (ajustado imediatamente antes do uso em decorrência da sua alta instabilidade em relação ao pH), foram adicionados ao tubo de centrífuga, e a amostra, aquecida em banho-maria a 100° C, durante 30 min, ocasionalmente agitada. Em seguida, a amostra foi centrifugada, e o sobrenadante, filtrado. Esse procedimento foi repetido duas vezes, e os três filtrados combinados. Após adição de 10 mL de água destilada, a amostra no tubo de centrífuga foi agitada por 3 min, centrifugada, filtrada, e o filtrado, adicionado ao extrato de NaClO das extrações anteriores.

Fração Óxido de Ferro Amorfo (OxFeA) – Trinta mililitros de NH₂OH.HCl 0,25 mol L⁻¹ + HCl 0.25 mol L⁻¹ pH 3,0 foram adicionados à amostra no tubo de centrífuga, seguindo-se agitação por 30 min. As amostras foram centrifugadas, filtradas e lavadas, como na extração anterior.

Fração Óxido de Ferro Cristalino (OxFeC) – Trinta mililitros de (NH₄)₂C₂O₄ 0,2 mol L⁻¹ + H₂C₂O₄ 0,2 mol L⁻¹ + ácido ascórbico 0,01 mol L⁻¹, pH 3,0 foram colocados em contato com a amostra de solo no tubo de centrífuga e aquecidos por 30 minutos a 100° C em banho-maria, sendo ocasionalmente agitados. Em seguida, as amostras foram submetidas à centrifugação e à filtragem. Todas as leituras dos extratos provenientes das quatro frações foram realizadas por meio de espectrofotometria de absorção atômica.

2.6 Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi montado em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial, utilizando-se dois quelantes sintéticos e cinco concentrações (0, 2, 5, 10 e 20 mmol kg⁻¹) com 3 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Equações de regressão para avaliar o efeito das doses dos quelantes foram escolhidas com base na significância dos estimadores do parâmetros e maiores R². As análises foram realizadas no software Statistical Analyses System – SAS (SAS, 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de matéria seca

A aplicação das doses dos quelantes EDTA e NTA promoveu acentuada influência na produção de matéria seca da parte aérea e raiz quando comparada ao solo contaminado (controle) sem adição de quelantes, com exceção da dose de 2 mmol kg^{-1} de ambos os quelantes na matéria seca da parte aérea e essa mesma dose da matéria seca da raiz no NTA. Importante ressaltar que a aplicação da dose de 5 mmol kg^{-1} da EDTA e NTA foi suficiente para causar a maior redução do crescimento das plantas, ou seja, semelhante as doses mais elevadas.

Nenhum sintoma visual de toxidez nas plantas foi observado durante todo o cultivo nos tratamentos sem adição de ácidos (Figura 2a). Por outro lado, todas as doses dos ácidos promoveram fitotoxidez nas plantas. Para as doses mais altas de EDTA, os sintomas foram observados logo no 1º dia após aplicação, tornando-se mais intenso ao longo do tempo (Figura 2b e 3a). Já para o NTA, mesmo nas doses mais altas, sintomas de fitotoxidez só foram observados no 3º dia após a aplicação do mesmo (Figura 3b). Como resultado, houve uma forte redução do sistema radicular, em média de 42 e 25% respectivamente para EDTA e NTA quando comparado ao controle.

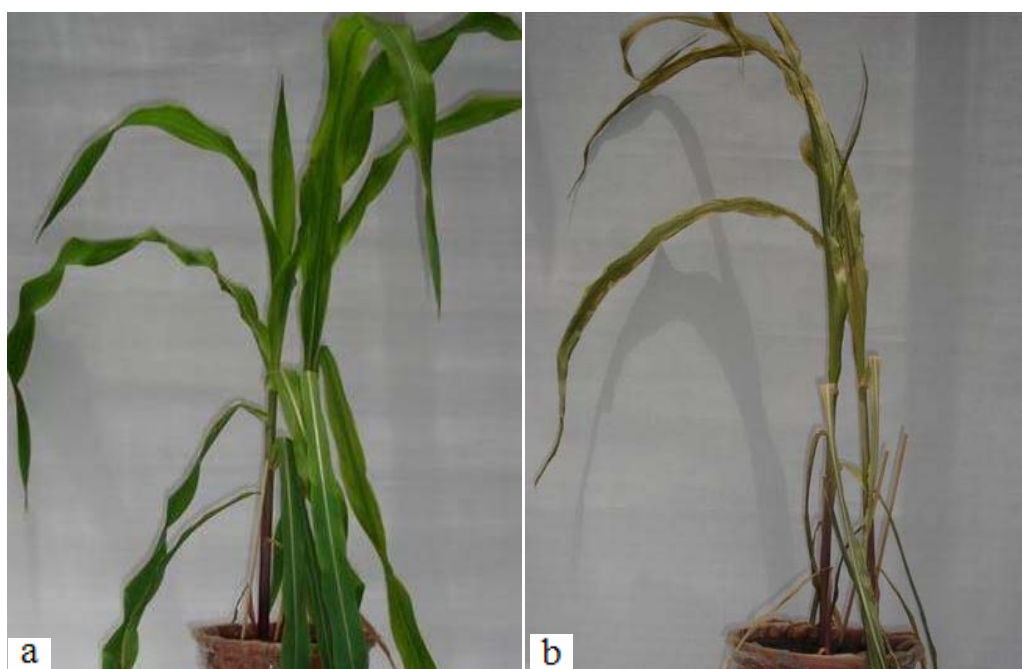


Figura 2. Plantas de milho: (a) controle (solo contaminado sem adição de ácidos) e (b) EDTA na dose de 20 mmol kg^{-1} no 1º dia após a aplicação.

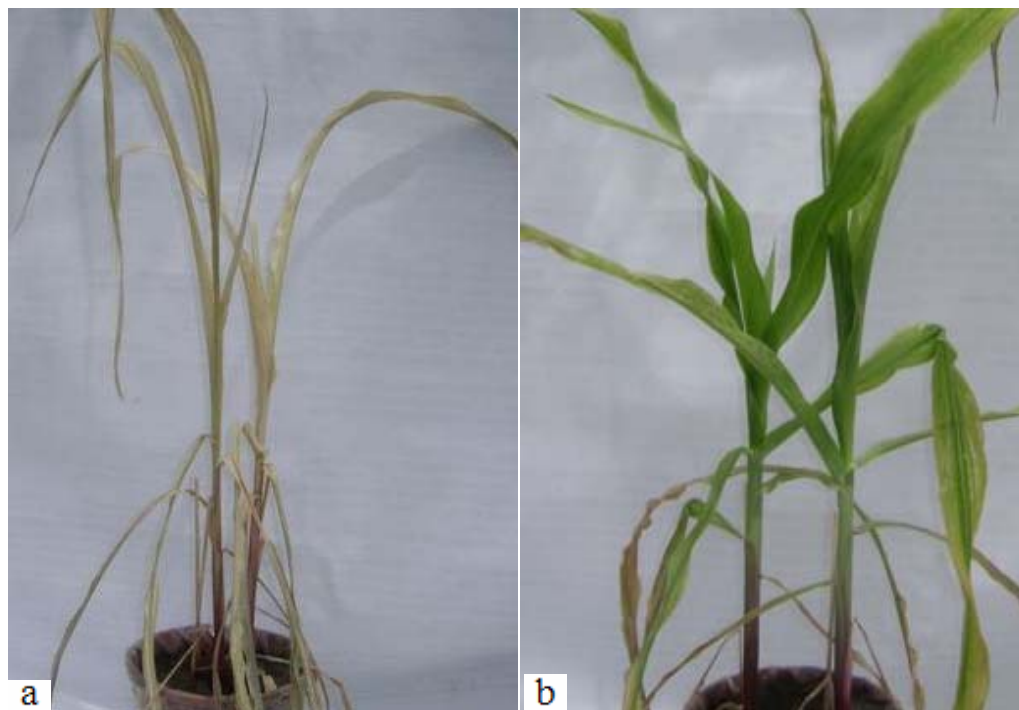


Figura 3. Plantas de milho: (a) EDTA na dose 20 mmol kg^{-1} no 8º dia após a aplicação e (b) NTA na dose de 20 mmol kg^{-1} no 3º dia após a aplicação.

Os quelantes EDTA e NTA promoveram uma redução média de 18 e 12%, respectivamente na produção de matéria seca da parte aérea quando comparado ao tratamento que não recebeu ácido. Os resultados de EDTA corroboram outros trabalhos (Cui et al., 2004; Pereira et al., 2007) que também observaram fitotoxidez promovida pelo quelante. Os resultados para o NTA corroboram os encontrados por Wenger et al. (2003), que propõem a utilização do NTA na fitoextração induzida devido à baixa fitotoxicidade do quelante.

As correlações negativas e altamente significativas entre os teores de Pb na fração trocável com a matéria seca da raiz e parte aérea (Quadro 2) indicam a eficiência dos quelantes na solubilização do metal, o que levou as plantas de milho a um maior estresse e conseqüente redução do desenvolvimento.

Quadro 2. Correlações de Pearson entre a produção de matéria seca (g vaso^{-1}), teor (mg kg^{-1}) e conteúdo (mg vaso^{-1}) de Pb na parte aérea e raiz das plantas de milho, e disponível com cloreto de cálcio - CaCl_2 (mg dm^{-3}) com as frações do solo (mg dm^{-3}) após a aplicação das doses de quelantes ao solo

| | Matéria Seca | | Teor | | Conteúdo | | CaCl_2 |
|-----------------|---------------|---------|---------|---------|----------|--------------------|-----------------|
| | PA | Raiz | PA | Raiz | PA | Raiz | |
| | Chumbo | | | | | | |
| Tr | -0,58** | -0,75** | 0,88** | 0,88** | 0,87** | 0,56** | 0,98** |
| MO | 0,62** | 0,75** | -0,80** | -0,86** | -0,79** | -0,63** | -0,92** |
| OxFeA | 0,52** | 0,67** | -0,76** | -0,87** | -0,77** | 0,64** | -0,94** |
| OxFeC | 0,62** | 0,77* | -0,79** | -0,86** | -0,80** | -0,64** | -0,91** |
| CaCl_2 | -0,52** | -0,69** | 0,83** | 0,93** | 0,84** | 0,64** | - |
| Teor PA | -0,67** | -0,87** | - | - | 0,99** | 0,26 ^{ns} | 0,83** |
| Teor Raiz | -0,39* | -0,53** | - | - | 0,71** | 0,84** | 0,93** |

** e * Significativo respectivamente a $p < 0,01$ e $p < 0,05$, ns: Não Significativo (LD = 0,01).

3.2 Efeitos dos quelantes na fitoextração de chumbo pelo milho

A adição de EDTA ou NTA influenciou significativamente o teor de chumbo na parte aérea e raiz das plantas de milho quando comparadas ao controle. O EDTA foi significativamente mais eficiente do que o NTA em aumentar a concentração do metal na parte aérea (Figura 4). A adição de EDTA é considerada a técnica de fitoextração mais efetiva para a remoção de Pb do solo (Huang et al., 1997; Tandy et al., 2004; Zhang & Lo, 2006; Chen et al., 2007; Vaxevanidou et al., 2008) em razão da sua capacidade em solubilizar o elemento.

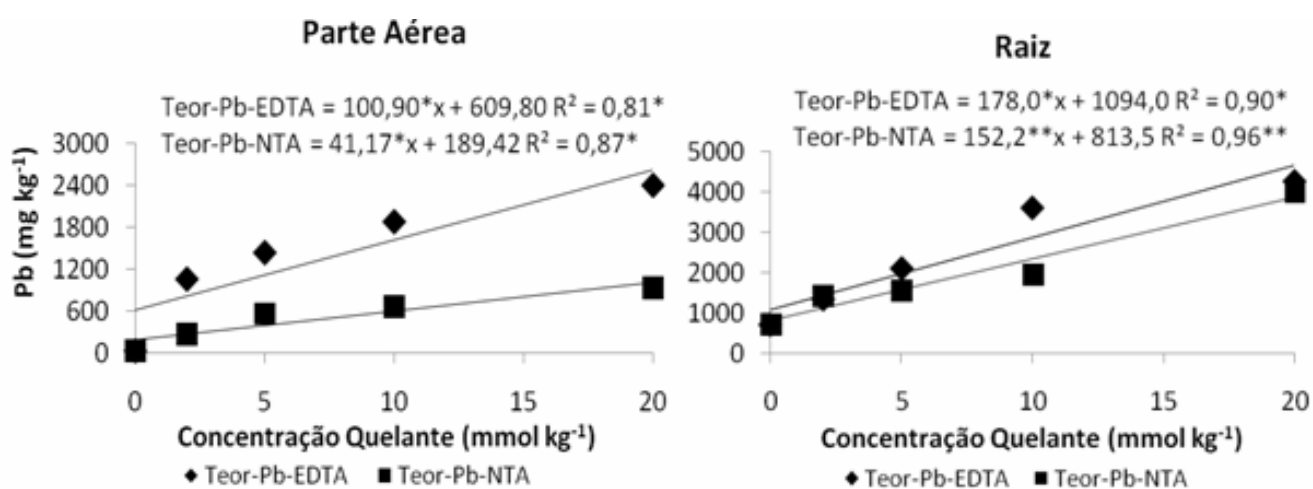


Figura 4. Concentração de Pb (mg kg^{-1}) na parte aérea e raiz no milho em solo aplicado as doses de 2, 5, 10 e 20 mmol kg^{-1} dos quelantes EDTA e NTA (LD = 0,01).

As doses de EDTA aumentaram em 36, 48, 63 e 81 vezes a concentração de Pb na parte aérea, respectivamente para as doses de 2, 5, 10 e 20 mmol kg⁻¹. Muitos estudos mostraram o aumento da absorção de Pb por plantas com o uso de EDTA para numerosas culturas: milho, ervilha, repolho, feijão, trigo, mostarda indiana e centeio (Huang et al., 1997; Blaylock et al., 1997; Shen et al., 2002; Schmidt, 2003; Hovsepyan & Greipsson, 2005). As doses de NTA ajustadas ao modelo quadrático aumentaram em 9, 19, 22 e 32 vezes, a concentração de Pb na biomassa aérea das plantas de milho, respectivamente para as doses 2, 5, 10 e 20 mmol kg⁻¹ (Figura 4).

Como exemplos de trabalhos que utilizaram o EDTA para induzir a fitoextração de Pb, temos Lasat (2000) citando que a adição de 10 mmol kg⁻¹ de EDTA em solo contaminado, aumentou para 1,6% a acumulação de Pb na parte aérea de milho. O mesmo autor relatam que *Brassica juncea* exposta a Pb e EDTA foi capaz de acumular mais de 1% de Pb na parte aérea. Wu et al. (2004) também relatam que a adição de 3 mmol kg⁻¹ de EDTA aumentou as concentrações de Cu e Pb na parte aérea de *B. juncea* em 0,44 e 0,39%, respectivamente em relação ao controle.

A concentração de 5 mmol kg⁻¹ de EDTA foi a única que se mostrou eficiente na translocação de Pb, pois a razão parte aérea/raiz foi superior a um unidade, aumentando a em 1,1% a acumulação do metal na parte aérea. A baixa eficiência na translocação de Pb da raiz para a parte aérea nas concentrações mais elevadas de EDTA pode ser decorrente da fitotoxidez das plantas de milho promovida pelo quelante. Os resultados corroboram os encontrados por Pereira et al. (2007) em estudo de fitoextração induzida de Pb por milho em solo tratado com EDTA. Tanto os resultados encontrados por estes autores como os do presente trabalho estão bem abaixo dos relatados por Henry (2000) para mostarda (*Brassica juncea*) com taxa de transferência de 1.7, considerada uma planta excelente para acumulação de Pb.

O sucesso da remoção de metais em solos contaminados deve ser visto como uma combinação de concentrações de metais suficientemente altos na parte aérea e alta produção de biomassa, ao invés de apenas um destes fatores isoladamente (Nascimento et al., 2006). Portanto, a eficiência de cada espécie em retirar os metais pesados do solo pode ser avaliada pela remoção líquida dos metais.

O incremento das doses de EDTA e NTA promoveu um aumento significativo e linear na remoção líquida de Pb pela parte aérea de milho, quando comparado aos tratamentos sem adição de quelantes (Figura 5). Os resultados mostram a maior eficiência do EDTA em relação ao NTA, na concentração mais elevada dos quelantes a

remoção de Pb pelo milho foi de 229 e 99 mg vaso⁻¹, respectivamente para o EDTA e NTA (Figura 5). Isto se deve, possivelmente, a mais alta disponibilidade no solo (Figura 6) e maior translocação na planta do metal promovida pelo EDTA.

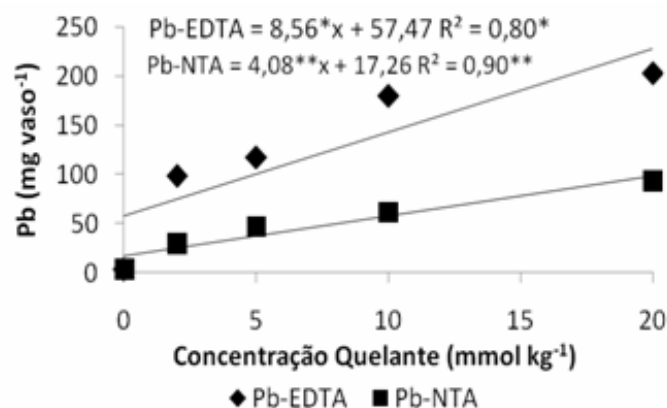


Figura 5. Remoção líquida de Pb pela parte aérea do milho em solo tratado com doses crescentes dos quelantes EDTA e NTA (LD = 0,01).

A aplicação de 5 mmol kg⁻¹ dos quelantes NTA ou EDTA removeram teores de Pb de 50 e 100 mg vaso⁻¹, respectivamente. Isso indica que seriam necessários 10 e 20 cultivos, respectivamente, para remover todo o Pb do vaso. Considerando quatro cultivos anuais de milho no solo, o tempo estimado para a limpeza completa das amostras de solo seria de dois anos e meio com o uso de EDTA e cinco anos com NTA. Considerando o valor aceitável de Pb em solos agrícolas, preconizado pela CETESB (2005), que é de 72 mg kg⁻¹, o tempo necessário para fitorremediação da área com 5 mmol kg⁻¹ de NTA poderia ser reduzido para menos de cinco anos. Em condições de campo o desenvolvimento das plantas de milho seria muito maior do que no vaso, o que poderia aumentar os teores de Pb removido por cultivo, reduzindo o tempo necessário para a completa descontaminação do solo.

Apesar da mais baixa remoção induzida pelo NTA, este quelante não pode ser desqualificado para a fitoextração, pois o mesmo combina alta biodegradabilidade com habilidade de quelatação. Em solo foi observada uma degradação tão rápida quanto ao ácido cítrico e também pode ser degradado rapidamente em condições de anaerobiose e a baixas temperaturas (Ward, 1986). Embora NTA seja uma quelante menos eficiente que EDTA, o mesmo apresenta-se altamente eficiente quando comparado com ácidos orgânicos de baixo peso molecular como ácidos cítrico e oxálico (Quartacci et al., 2005; Ruley et al., 2006).

Uma nova abordagem de estudo realizada por Chen et al. (2007) sugere o aquecimento da solução de EDTA antes da aplicação no solo, os resultados mostraram aumento significativo da remoção de Pb para a biomassa aérea de plantas de milho e ervilha. Essa estratégia pode reduzir as concentrações, não só de EDTA, mas também de NTA, adicionados ao solo na fitoextração de campo, o que conseqüentemente pode minimizar o risco potencial de lixiviação de metais pesados.

As correlações positivas e altamente significativas entre o conteúdo e teor de Pb na parte aérea com a fração trocável ($r = 0,87^{**}$ e $0,88^{**}$, respectivamente) e as altas correlações positivas também verificadas entre o Pb extraído com CaCl_2 , conteúdo e teor de Pb na parte aérea, respectivamente $0,84^{**}$ e $0,83^{**}$ (Quadro 2). Indicam que a maior parte do Pb presente nas amostras de solo encontra-se em forma biodisponível.

3.3 Efeitos dos quelantes na disponibilidade e nas frações do solo

Para os teores de Pb disponíveis extraídos por CaCl_2 foi observado aumento quadrático e significativo com o aumento das doses dos quelantes EDTA e NTA no solo quando comparados aos tratamentos que não receberam os ácidos (Figura 6). Esse resultado foi verificado devido a alta estabilidade entre o Pb e o agente quelante, favorecendo a solubilização do metal. Agentes quelantes sintéticos solubilizaram Pb em quantidade suficiente para ser acessado pelo cloreto de cálcio (Quartacci et al., 2007). Considerando a caracterização física do solo em estudo (Quadro 1) é provável que o baixo teor de argila, com baixa CTC e menor desgaste do extrator, explique os altos teores de Pb disponível.

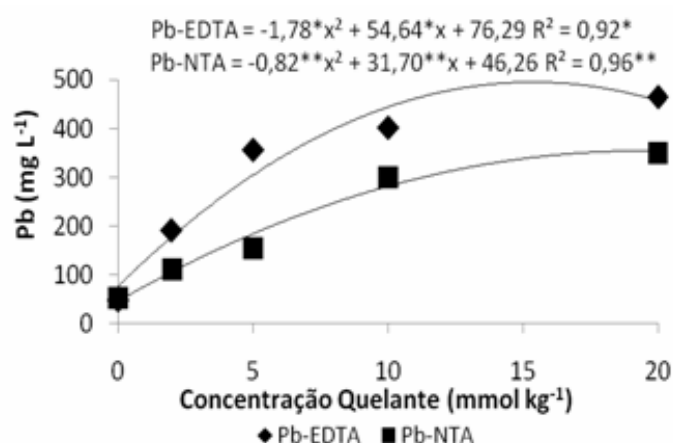


Figura 6. Teores de Pb extraído por CaCl_2 em solo contaminado, após aplicação das doses de 0, 2, 5, 10 e 20 mmol kg^{-1} dos quelantes EDTA e NTA (LD = 0,01).

Em todas as concentrações dos quelantes, a distribuição de Pb nas frações do solo foi predominantemente nas frações trocável e matéria orgânica (Figura 7). Mesmo no solo que não foi adicionado os ácidos essa distribuição foi verificada. Com o aumento das doses de EDTA no solo, observou-se uma tendência de aumento quadrático e significativo no Pb ligado a fração trocável com concomitante diminuição de Pb ligado as frações matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino, nessa ordem. Esse mesmo comportamento foi verificado para o NTA, no entanto os melhores ajustes foram linear para as frações trocável, matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e cristalino (Figura 7).

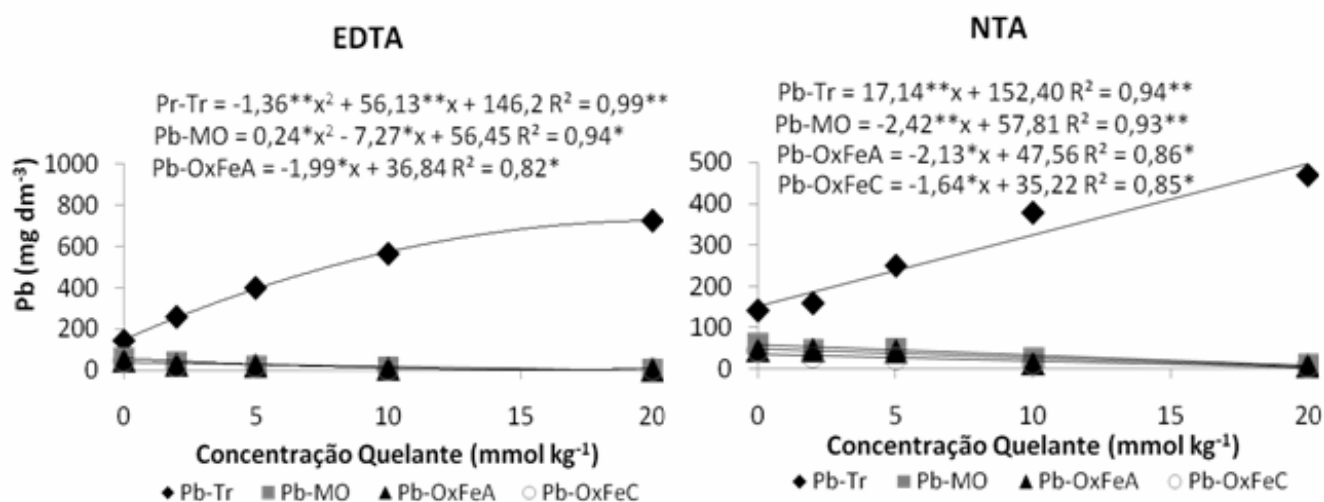


Figura 7. Concentração de metal nas frações do solo (mg dm⁻³): trocável (Tr), matéria orgânica (MO), óxido de ferro amorfo (OxFeA) e óxido de ferro cristalino (OxFeC) após aplicação das doses de 0, 2, 5, 10 e 20 mmol kg⁻¹ dos quelantes EDTA e NTA (LD = 0,01).

Em média 25% do total de Pb encontra-se ligado a fração trocável no solo sem aplicação dos quelantes. Com a adição das doses 2 e 5 mmol kg⁻¹ do quelante EDTA, a concentração na referida fração aumentou para 46 e 75%, respectivamente. O NTA induziu aumento de 29 e 46%, respectivamente. A elevada eficiência do EDTA em manter o Pb nas frações mais lábeis, fica mais uma vez evidenciada, já que a dose de 2 mmol kg⁻¹ promoveu o mesmo aumento que a dose 5 mmol kg⁻¹ do NTA. Esse desempenho superior e significativo do EDTA sobre o NTA foi verificado também para as demais concentrações do quelante. Isso pode ser explicado pela forte afinidade química (log Ks = 17,88) do EDTA com Pb (Luo et al., 2005) do que a afinidade do NTA com o elemento (log Ks = 12,27) (Quartacci et al., 2007).

Um questionamento sobre o método utilizado no trabalho para a determinação do teor total de Pb no solo se faz necessário. De acordo com Keller & Védý (1994), água régia extrai todos os metais presentes na fração residual do solo, exceto aqueles que ocorrem nos silicatos, com uma porcentagem de extração variando de 60-100%, dependendo do metal considerado. Segundo Anjos & Mattiazzo (2001) não foi possível quantificar o Pb extraído por água-régia em contaminação proveniente da aplicação total de 5000 mg vaso⁻¹ de Pb via biossólido.

A alta correlação diretamente proporcional e altamente significativa ($r=0,98^{**}$) entre o teor de Pb na fração trocável e a concentração desse metal extraído pelo CaCl₂ corrobora que o aumento das concentrações dos quelantes elevam o teor de Pb em solução (Quadro 2). Este resultado concorda com outros autores quanto a capacidade do CaCl₂ em estimar o teor de metais em solução (Reichman, 2002; Pueyo et al., 2004; Jin et al., 2005; Melo et al., 2006). Concomitante a esses resultados, observa-se uma redução nos teores de Pb nas frações matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino e aumento da concentração do metal avaliada pelo CaCl₂, o que pode ser evidenciado nas correlações negativas e altamente significativas (-0,92, -0,94 e -0,91, respectivamente) (Quadro 2).

4. CONCLUSÕES

Os quelantes EDTA e NTA, aplicados em doses crescentes foram eficientes na solubilização de Pb no solo;

A distribuição de Pb nas frações do solo após aplicação dos quelantes apresentou a seguinte ordem: trocável > matéria orgânica > óxido de ferro amorfo > óxido de ferro cristalino;

A aplicação da dose de 5 mmol kg^{-1} de EDTA aumentou para 1,1% a acumulação de Pb na parte aérea de milho;

Os resultados do trabalho indicam que a fitorremediação da área com o uso de 5 mmol kg^{-1} de NTA (um agente de rápida degradação) poderia ser efetuada em período inferior a 5 anos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M.F. de, ABREU, C.A., ANDRADE, J.C. Determinação de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês, zinco, níquel, cádmio, crômio e chumbo em ácido nítrico usando métodos da USEPA. In: RAIJ, B. van, ANDRADE, J.C. de, CANTARELLA, H., QUAGGIO, J.A. (eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. p. 251-261.

ALLOWAY, B.J. **Heavy Metals in Soils**. 1 ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 1990. 339p.

ANJOS, A.R.M. & MATTIAZZO, M. E. Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em latossolos tratados com bio-sólido e cultivados com milho. **Scientia Agricola**, 58:337-344, 2001.

BLAYLOCK, M.J.; SALT, D.E.; DUSHENKOV, S.; ZAKHAROVA, O.; GUSSMAN, C.; KAPULNIK, Y.; ENSLEY, B.D. & RASKIN, I. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. **Environmental Science and Technology**, 31:860-865, 1997.

CHAO, T.T. & ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. **Soil Science Society of America Journal**, 47:224-232, 1983.

CHEN, Y.; LI, X.; SHEN, Z. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process. **Chemosphere**, 57:187-196, 2004.

CHEN, Y.H.; MAO, Y.; HE, S.B.; GUO, P. & XU, K. Heat stress increases the efficiency of EDTA in phytoextraction of heavy metals. **Chemosphere**, 67:1511-1517, 2007.

CUI, Y.; WANG, Q.; DONG, Y.; LI, H.; CHRISTIE, P. Enhanced uptake of soil Pb and Zn by Indian mustard and winter wheat following combined soil application of elemental sulphur and EDTA. **Plant and Soil**, 261:181-188, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análises de solo**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1997. 212p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília, 2006. 301p.

EPSTEIN, A.L.; GUSSMAN, C.D.; BLAYLOCK, M.J.; YERMIYAHU, U.; HUANG, J.W.; KAPULNIK, Y. & ORSER, C.S. EDTA and Pb-EDTA accumulation in Brassica juncea grown in Pb-amended soil. **Plant Soil**, 208:87-94, 1999.

EVANGELOU, M.W.H.; EBEL, M. & SCHAEFFER, A. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. **Chemosphere**, 68:989-1003, 2007a

EVANGELOU, M.W.H.; BAUER, U.; EBEL, M. & SCHAEFFER, A. The influence of EDDS and EDTA on the uptake of heavy metals of Cd and Cu from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. **Chemosphere**, 68:345-353, 2007b.

GRČMAN, H.; VELIKONJA-BOLTA, S.; VODNIK, D.; KOS, B. & LEŠTAN, D. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching, and toxicity. **Plant Soil**, 235: 105-114. 2001.

HENRY, J.R. An overview of the phytoremediation of lead and mercury. Washington: National Network of Environmental Management Studies - NNEMS, 2000. 51p.

HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R. & CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science and Technology**, 31:800-805,1997.

JIN, C.W.; ZHENG, S.J.; HE, Y.F.; ZHOU, G.D. & ZHOU, Z.X. Lead contamination in tea garden soils and factors affecting its bioavailability. **Chemosphere**, 59:1151-1159, 2005.

KELLER, C.; VÉDY, J.C. Distribution of copper and cadmium fractions in two forest soils. **Journal of Environmental Quality**, 23:987-999, 1994.

KOS, B., LEŠTAN, D. Influence of a biodegradable ([S,S]-EDDS) and nondegradable (EDTA) chelate and hydrogel modified soil water sorption capacity on Pb phytoextraction and leaching. **Plant Soil**, 251:403-411, 2003.

KRÄMER, U. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinion in Biotechnology**, 16:1-9, 2005.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metal: a review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality** 31:109-120, 2002.

LASAT, M.M. Phytoextraction of metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. **Journal of Hazardous Substance Research**, 2:1-25, 2000.

LUO, C.; SHEN, Z. & LI, X. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. **Chemosphere**, 59: 1-11, 2005.

LUO, C., SHEN, Z., LOU, L. & LI, X. EDDS and EDTA-enhanced phytoextraction of metals from artificially contaminated soil and residual effects of chelant compounds. **Environmental Pollution**, 144:862-871, 2006.

MARTLEY, E.; GULSON, B.L. & PFEIFER, H.R. Metal concentrations in soils around the copper smelter and surrounding industrial complex of Port Kembla, NSW, Australia. **Science of the Total Environment**, 325:113-127, 2004.

MEERS, E.; HOPGOOD, M.; LESAGE, E.; VERVAEKE, P.; TACK, F. M. G. & VERLOO, M. G. Enhanced Phytoextraction: In Search of EDTA Alternatives. **International Journal of Phytoremediation**, 6:95-109, 2004.

MEERS, E.; RUTTENS, A.; HOPGOOD, M.J.; SAMSON, D. & TACK, F.M.G. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Chemosphere**, 58:1011-1022, 2005.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A. & SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:1051-1060, 2006.

MURAKAMI, M.; AE, N. & ISHIKAWA, S. Phytoextraction of cadmium by rice (*Oryza sativa* L.), soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), and maize (*Zea mays* L.) **Environmental Pollution**, 145:96-103, 2007.

NASCIMENTO, C.W.A; AMARASIRIWARDENA, D. & XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, 140:114-123, 2006.

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

NASCIMENTO, C.W.A. Organic acids effects on desorption of heavy metals from a contaminated soil. **Scientia Agricola**, 63:276-280, 2006.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.M. & HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 51:47-58, 1993.

PEREIRA, B.F.F.; ABREU, C.A.; ROMEIRO, S.; LAGÔA, A.M.M.A. & GONZÁLEZ, A.P. Pb-phytoextraction by maize in a Pb-EDTA treated Oxisol, **Scientia Agricola**, 64:52-60, 2007.

PUEYO, M.; RAURET, G.; LUCK, D.; YLI-HALLA, M.; MUNTAU, H.; QUEVAUVILLE, P.H. & LOPEZSANCHEZ, J.F. Assessment of CaCl_2 , NH_4NO_3 and NaNO_3 extraction procedures for the study of Cd, Pb and Zn extractability in contaminated soils. **Analytica Chimica Acta**, 504:217-226, 2004.

QUARTACCI, M.F.; BAKER, A.J.M. & NAVARI-IZZO, F. Nitriolotriacetate and citric acid-assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, Brassicaceae). **Chemosphere**. 59:1249-1255, 2005.

QUARTACCI, M.F.; IRTELLI, B.; BAKER, A. J.M. & NAVARI-IZZO, F. The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata*. **Chemosphere**, 68:1920-1928, 2007.

REICHMAN, S.M. The responses of plants to metal toxicity: a review focusing on Copper, Manganese and Zinc. **Australian Minerals & Energy Environment Foundation**, p. 8-14, 2002.

ROBINSON, B.H., MILLIS, T.M., PETIT, D., FUNG, L.E., GREEN, S.R., & CLOTHIER, B.E. Natural and induced cadmium-accumulation in poplar and willow: implications for phytoremediation. **Plant Soil**, 227:301-306, 2000.

RULEY, A.T.; SHARMA, N.C.; SAHI, S.V.; SINGH, S.R. & SAJWAN, K.S. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. **Environmental Pollution**, 144:11-18, 2006.

SAS INSTITUTE. Statistical analysis system. Procedure guide for personal computer. Cary, 1999.

SHEN, Z.G.; LI, X.D.; WANG, C.C.; CHEN, H.M.; CHUA, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, 31:1893-1900, 2002.

SHUMAN, L.M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, 140:11-22, 1985.

TANDY, S.; BOSSART, K.; MUELLER, R.; RITSCHER, J.; HAUSER, L.; SCHULIN, R.; NOWACK, B. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. **Environmental Science and Technology**, 38:937-944, 2004.

TONG, S.T.Y. & LAM, K.C. Home sweet home? A case study of household dust contamination in Hong Kong. **Science of the Total Environment**, 256:115-123, 2000.

VANDEVIVERE, P.C.; SAVEYN, H.; VERSTRAETE, W.; FEIJTEL, T.C.J. & SCHOWANEK, D.R. Biodegradation of metal-[S,S]-EDDS complexes. **Environmental Science and Technology**, 35:1765-1770, 2001.

VAXEVANIDOU, K.; PAPASSIOPI, N. & PASPALIARIS, I. Removal of heavy metals and arsenic from contaminated soils using bioremediation and chelant extraction techniques. **Chemosphere**, 70:1329-1337, 2008.

WARD, T.E. Aerobic and anaerobic biodegradation of nitrilotriacetate in subsurface soils. **Ecotoxicology Environmental Safety**, 11:112-125, 1986.

WENGER, K.; GUPTA, S.K.; FURRER, G. & SCHULIN, R. The role of nitrilotriacetate in copper uptake by tobacco. **Journal of Environmental Quality**, 32:1669-1676, 2003.

WU, L.H.; LUO, Y.M.; XING, X.R. & CHRISTIE, P. EDTA enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 102:307-318, 2004.

ZHANG, W.H., LO, I.M.C. EDTA-enhanced soil washing for remediation of Pb- or/and Zn-contaminated soils. **Journal of Environmental Engineering**, 132:1282-1288, 2006.

- CAPÍTULO III -
DOSES DE ÁCIDO CÍTRICO COM APLICAÇÃO TOTAL E PARCELADA PARA
INDUZIR A FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO POR MILHO

RESUMO

Fitoextração, o uso de plantas para extrair contaminantes do solo, é uma técnica promissora de recuperação de solos contaminados. Como alternativa aos quelantes sintéticos, os ácidos orgânicos naturais estão sendo propostos para fitoextração por serem rapidamente degradados no solo, evitando risco de poluição secundária. O trabalho objetivou avaliar a capacidade do ácido cítrico aplicado em doses crescentes, total e parceladamente, na fitoextração induzida de chumbo em solo contaminado da empresa recicladora de baterias, localizada no município de Rio Tinto - PB. O ácido cítrico foi aplicado nas concentrações de 0, 20, 40, 60 e 80 mmol kg⁻¹ aplicada total no 30º dia de cultivo e aplicação dessas mesmas doses de maneira parcelada no 30º e 34º dia de cultivo. Além destes, mais dois tratamentos fizeram parte do experimento: um controle (solo contaminado sem a adição do ácido) e o quelante EDTA na concentração 10 mmol kg⁻¹. As amostras de solo foram submetidas à extração química e fracionamento. Todas as doses aplicadas de ácido cítrico foram eficientes na solubilização de Pb no solo; Todas as doses aplicadas de ácido cítrico foram eficientes na solubilização de Pb no solo; no entanto, a aplicação de forma total e parceladamente do ácido não foi eficiente na fitoextração de Pb. A distribuição de Pb nas frações do solo apresentou a seguinte ordem: Tr > MO > OxFeC > OxFeA. Os resultados do trabalho indicam que a fitorremediação da área com o uso de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico (um agente que apresenta degradação rapidamente) poderia ser efetuada num período de 4 anos.

Termos para indexação: risco ambiental; quelantes orgânicos; contaminação do solo.

SINGLE AND SPLIT APPLICATIONS EFFECTS OF CITRIC ACID ON ENHANCING Pb PHYTOEXTRACTION BY MAIZE

SUMMARY

Phytoextraction of heavy metals is a green technology that extracts metals from soils and transfers them to plant shoots. It has been regarded as a promising technique to remediate moderately heavy metal contaminated soils. Natural organic acids are an alternative to synthetic chelants that pose environmental risks thanks to their low biodegradability. The study aimed at studying the performance of single and split applications of citric acid on enhancing Pb phytoextraction by maize plants (*Zea mays*) grown in soil samples from an area contaminated by Pb present in battery wastes. The citric acid was applied at the concentrations 0, 2, 5, 10, and 20 mmol kg⁻¹ either in a single dose at the 30th growing day or split at the 30th and 34th growing day. Soil samples were submitted to chemical extraction by CaCl₂ and fractionation. All the applied doses of citric acid were high effective in solubilizing Pb from soil. However, none of the application forms was efficient in boost the Pb phytoextraction. The Pb distribution into the soil fractions followed the sequence: Tr > MO > OxFeC > OxFeA. The results showed that the site phytoremediation by adding 40 mmol kg⁻¹ citric acid as a phytoextraction enhancer could be feasible in a 4-year framework.

Key words: environmental risk, organic chelants; soil contamination.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação do solo com metais é resultado, na maioria dos casos, de atividades antrópicas, especialmente aquelas relacionadas à mineração, descarte ou acidentes com resíduos industriais, aplicação agrícola de lodo de esgoto, fertilizantes e pesticidas.

As principais preocupações em relação à adição de metais pesados aos solos são: entrada destes na cadeia alimentar, redução da produtividade agrícola devido a efeitos fitotóxicos, acúmulo no solo, alteração da atividade microbiana e contaminação de recursos hídricos. Os processos que conduzem à solubilização dos metais no solo são os mais importantes em relação à disponibilidade e mobilidade desses elementos (Camargo et al., 2001).

Devido ao potencial tóxico e elevada persistência dos metais no ambiente, solos poluídos com estes elementos são um problema ambiental que requer uma solução efetiva e economicamente viável (Nascimento et al., 2006). Raskin et al. (1997) define a fitorremediação como a técnica que utiliza plantas para remover poluentes do ambiente ou os transformar em formas menos tóxicas. A indução química da fitoextração utilizando quelantes sintéticos, principalmente EDTA, é importante para aumentar a capacidade de acumulação de metais por plantas com elevada produção de biomassa. O uso do quelante é considerada a técnica mais efetiva, especialmente para fitoextração de Pb (Huang et al., 1997; Tandy et al., 2004; Zhang & Lo, 2006; Chen et al., 2007). No entanto, a principal desvantagem que restringe o uso de quelantes sintéticos, especialmente EDTA, é a sua baixa biodegradabilidade, resultando em alto risco ambiental (Meers et al., 2004) pela manutenção de elevados teores de metais solúveis no solo, prontos para lixiviar, por um longo período.

Devido à exsudação das raízes e à intensa atividade microbiana, a região que compreende a rizosfera, em relação ao solo como um todo, concentra a maior parte de compostos orgânicos, como aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, lipídeos, proteínas e enzimas (Ali et al., 2000). Esses compostos estão diretamente relacionados com os processos de acidificação, complexação, precipitação e oxirredução que ocorrem na rizosfera, influenciando a solubilidade e a absorção de metais pesados pelas plantas. Os ácidos orgânicos de baixo peso molecular, tais como ácidos cítrico, oxálico, láctico, succínico entre outros, são efetivos na solubilização de metais ligados a frações minerais pouco solúveis do solo, por formarem complexos estáveis com os íons metálicos (Alloway, 1995; Marschner, 1995; Krishnamurti et al., 1997; Chen et al., 2003).

Como alternativa ao uso dos quelantes sintéticos sugere-se a utilização de agentes quelantes naturais de baixo peso molecular. O ácido cítrico é um ácido orgânico tricarbóxico que pode ser utilizado como agente quelante natural, capaz de solubilizar componentes minerais do solo, tais como metais pesados (Wasay et al. 1998). Qin et al. (2004) avaliaram o efeito de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, em comparação com sais inorgânicos (CaCl_2 e NaNO_3), no tempo de residência e na dessorção de Cu, Cd e Pb de solos e concluíram que os ligantes orgânicos tiveram papel dominante na dessorção dos metais. Ácidos húmicos, por exemplo, foram eficientes na fitoextração de metais pesados do solo (Evangelou et al., 2004). Trabalhos recentes relataram a eficiência de ácido cítrico em aumentar a absorção de Cd pelas raízes de *Halimione portulacoides* (Duarte et al., 2007) e Jean et al. (2007) verificaram maior eficiência do ácido cítrico do que o EDTA na absorção de Cr por plantas de *Datura innoxia*.

Ácidos orgânicos naturais apresentam vantagem sobre os quelantes sintéticos, visto que são mais rapidamente degradados no solo, evitando efeitos de contaminação de lençóis freáticos. No que se refere à fitoextração de Pb os resultados encontrados por (Nascimento et al., 2006; Melo et al., 2006; Evangelou et al., 2006) demonstraram que o ácido cítrico não foi eficiente na remoção do metal.

Se por um lado, a rápida biodegradação dos quelantes orgânicos no solo evita problemas de lixiviação, por outro lado, dificulta a manutenção de altos teores de metais disponíveis na solução do solo. O parcelamento das doses de ácido cítrico é uma estratégia que pode ser adotada para evitar problemas de excessiva fitotoxidez nas plantas e prolongar o período de disponibilidade dos metais, aumentando a absorção pelas plantas. De acordo com Shen et al. (2002), deve haver um equilíbrio entre a quantidade de metais solúveis para evitar que a capacidade de absorção das plantas seja excedida.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade do ácido cítrico aplicado em doses crescentes, total e parcelado, na fitoextração induzida de chumbo em solo contaminado de uma empresa recicladora de baterias automotivas, localizada no município de Rio Tinto - PB.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta, caracterização e preparação do solo

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Agronomia da UFRPE. O solo utilizado no experimento foi proveniente de uma área de deposição de escórias de uma empresa recicladora de baterias automotivas, localizada no município de Rio Tinto, Paraíba (Figura 1). O solo foi classificado de acordo com o SiBCS (2006) como Espodosolo, textura arenosa, o mesmo foi coletado na camada de 0-20 cm, seco ao ar, destorroado e peneirado em tamiz de 2 mm. Este solo (TFSA) foi caracterizado quimicamente (EMBRAPA, 1999) e fisicamente segundo métodos descritos em EMBRAPA (1997) (Quadro 1). O teor pseudo total de Pb no solo foi obtido por água-régia (Abreu et al., 2001).

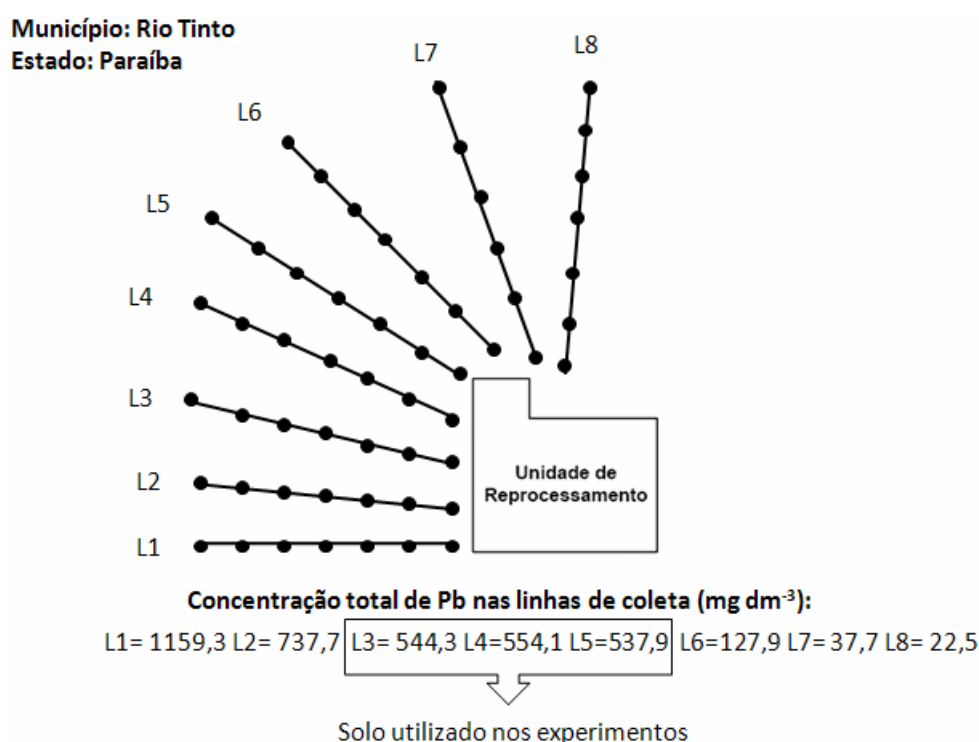


Figura 1. Representação da área entorno da empresa recicladora de baterias automotivas, onde a coleta do solo para o experimento foi realizada.

O solo seco ao ar, destorroado e homogeneizado foi passado em peneira de 2 mm de abertura de malha. A acidez foi corrigida para pH na faixa de 6,0 - 6,2, utilizando-se carbonato de cálcio e óxido de magnésio P.A. (na proporção molar de 3:1), em quantidades previamente definidas em ensaio de incubação.

Quadro 1. Principais características químicas e físicas do solo utilizado no experimento

| Características | Valor |
|---------------------------------------------|--------------|
| pH (água 1:2,5) | 3,63 |
| Al (cmol _c .dm ⁻³) | 0,80 |
| Ca (cmol _c .dm ⁻³) | 0,65 |
| Mg (cmol _c .dm ⁻³) | 0,57 |
| P (mg. dm ⁻³) | 3,24 |
| K (cmol _c .dm ⁻³) | 0,03 |
| Na (cmol _c .dm ⁻³) | 0,27 |
| H+Al (cmol _c .dm ⁻³) | 5,06 |
| C.O. (g. kg ⁻¹) | 9,21 |
| Pb Total (mg dm ⁻³) | 544 |
| Areia (g kg ⁻¹) | 948 |
| Silte (g kg ⁻¹) | 22 |
| Argila (g kg ⁻¹) | 30 |
| ds (g cm ⁻³) | 1,64 |

Limite de Detecção (LD) de Pb = 0,01

2.2 Condução do experimento em casa de vegetação

Após período de 22 dias de incubação a 80 % da capacidade de campo para a correção da acidez do solo, seis sementes de milho do cultivar AG1051 foram semeadas em vasos plásticos com 2 dm³ de solo. Após o desbaste foram cultivadas duas plantas por vaso. A adubação foi parcelada aos 7 e 11 dias após a germinação, aplicando-se em cada vaso as seguintes doses de nutrientes: 200 mg dm⁻³ de N (KNO₃, (NH₄)₂SO₄ e (NH₄)₂HPO₄); 150 mg dm⁻³ de K (KNO₃ e KH₂PO₄); 400 mg dm⁻³ de P ([NH₄]₂HPO₄, KH₂PO₄ e CaHPO₄); 46 mg dm⁻³ de S (K₂SO₄ e (NH₄)₂SO₄); 3,664 mg dm⁻³ de Mn (MnCl₂ 4H₂O), 4 mg dm⁻³ de Zn (ZnSO₄ 7 H₂O), 1,329 mg dm⁻³ de Cu (CuSO₄), 4 mg dm⁻³ de Fe (FeSO₄ 7H₂O) 1 mg dm⁻³ de B (H₃BO₃) e 0,15 mg dm⁻³ de Mo (Na₂MoO₄ 2H₂O). Os vasos foram irrigados com água destilada diariamente, mantendo os solos a aproximadamente 80 % da capacidade de retenção de água, por meio de pesagens e reposição da água perdida por evapotranspiração.

Os tratamentos foram constituídos pela aplicação de ácido cítrico nas concentrações de 20, 40, 60 e 80 mmol kg⁻¹ aplicada total no 30º dia de cultivo após o desbaste, aplicação dessas mesmas doses de maneira parcelada, metade no 30º e a outra metade no 34º dia de cultivo. Além destes, mais dois tratamentos fizeram parte do experimento: um controle (solo contaminado sem a adição do ácido) e o quelante EDTA na

concentração 10 mmol kg^{-1} , aplicado total no 30º dia de cultivo. Tomado como referência para a eficiência do ácido cítrico na fitoextração.

2.3 Coleta das plantas

No 38º dia de cultivo após o desbaste, foi realizada a coleta das raízes e parte aérea das plantas. As raízes foram lavadas abundantemente em água de torneira e em água destilada. Em seguida, juntamente com a parte aérea, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 70° C até peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e da raiz, as quais foram em seguida trituradas em moinho tipo Wiley e submetidas à digestão nítrico-perclórica (EMBRAPA, 1999) para quantificação de chumbo.

A eficiência da espécie em absorver os metais pesados do solo foi avaliada pela remoção líquida dos metais. A remoção foi calculada da seguinte maneira:

$$\text{Remoção} = \text{PA} \times \text{MS} / 1000$$

$$\text{PA} = \text{Concentração na parte aérea (mg vaso}^{-1}\text{)}$$

$$\text{MS} = \text{Produção de matéria seca (g vaso}^{-1}\text{)}$$

2.4 Coleta do solo e extração de chumbo

Também no 38º dia de cultivo, realizou-se a coleta de amostras do solo, na seqüência foram postas para secagem ao ar, homogeneizadas e passadas em peneira de 2 mm de abertura de malha. Subamostras do solo foram retiradas para determinação do teor disponível de Pb por cloreto de cálcio. Para essa extração, foi utilizada uma solução de cloreto de cálcio, contendo 10 mmol L^{-1} , na relação solo:solução de 1:10, agitada por 2 horas, em um tubo de centrifuga com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 10 minutos a $1600 \times g$, o sobrenadante filtrado (Novozamsky et al., 1993). Este extrator foi escolhido devido a sua capacidade para extrair metais, apenas, da fase prontamente disponível (Melo et al., 2006). As leituras foram realizadas em de espectrofotômetro de absorção atômica.

2.5 Fracionamento de Pb no solo

A extração seqüencial foi baseada no método de Shuman (1985), com exceção da fração óxido de ferro amorfo que foi obtida através do método de Chao e Zhou (1983). Esse fracionamento separa o Pb nas frações trocável, ligado à matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino, como descrito abaixo:

Fração Trocável (Tr) – Cinco gramas de TFSA e 20 mL de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 1 mol L^{-1} foram agitados por duas horas, em um tubo de centrífuga, com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada, o sobrenadante filtrado e 20 mL de água destilada adicionada ao tubo. A amostra sofreu outra agitação por 3 min, sendo centrifugada e filtrada. Os dois sobrenadantes foram combinados para análise.

Fração Matéria Orgânica (MO) – Dez mililitros de NaClO 5-6 dag L^{-1} , pH 8,5 (ajustado imediatamente antes do uso em decorrência da sua alta instabilidade em relação ao pH), foram adicionados ao tubo de centrífuga, e a amostra, aquecida em banho-maria a 100° C, durante 30 min, ocasionalmente agitada. Em seguida, a amostra foi centrifugada, e o sobrenadante, filtrado. Esse procedimento foi repetido duas vezes, e os três filtrados combinados. Após adição de 10 mL de água destilada, a amostra no tubo de centrífuga foi agitada por 3 min, centrifugada, filtrada, e o filtrado, adicionado ao extrato de NaClO das extrações anteriores.

Fração Óxido de Ferro Amorfo (OxFeA) – Trinta mililitros de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,25 mol L^{-1} + HCl 0.25 mol L^{-1} pH 3,0 foram adicionados à amostra no tubo de centrífuga, seguindo-se agitação por 30 min. As amostras foram centrifugadas, filtradas e lavadas, como na extração anterior.

Fração Óxido de Ferro Cristalino (OxFeC) – Trinta mililitros de $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol L^{-1} + $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol L^{-1} + ácido ascórbico 0,01 mol L^{-1} , pH 3,0 foram colocados em contato com a amostra de solo no tubo de centrífuga e aquecidos por 30 minutos a 100° C em banho-maria, sendo ocasionalmente agitados. Em seguida, as amostras foram submetidas à centrifugação e à filtragem. Todas as leituras dos extratos provenientes das quatro frações foram realizadas por meio de espectrofotometria de absorção atômica.

2.6. Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi montado em um delineamento blocos casualizados em esquema fatorial, utilizando-se o ácido cítrico em cinco concentrações (0, 20, 40, 60 e 80 mmol kg^{-1}), com e sem parcelamento, e um tratamento adicional (EDTA 10 mmol kg^{-1}) com 3 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Equações de regressão para avaliar o efeito das doses do quelante aplicadas total e parceladamente, foram escolhidas modelos de regressão com base na significância dos estimadores dos parâmetros e maiores R^2 . As análises foram realizadas no software Statistical Analyses System – SAS (SAS, 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de matéria seca

A aplicação do ácido cítrico promoveu uma acentuada influência na produção de matéria seca da parte aérea e raiz quando comparada ao solo contaminado (controle) sem adição do ácido. Não houve interação significativa entre as formas de aplicação do ácido cítrico e doses na produção de matéria seca da parte aérea e raiz, apenas o efeito dose foi significativo, no entanto nenhum dos modelos de regressão testado foi significativo. No geral, as doses de ácido cítrico, total e parceladamente, promoveram redução média de 57 e 52%, respectivamente, no desenvolvimento do sistema radicular quando comparado aos tratamentos sem aplicação de ácido.

A aplicação de 20 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico total promoveu redução bem maior na produção de biomassa aérea quando comparada as demais doses, exceto a dose de 40 mmol kg⁻¹. A dose de 20 mmol kg⁻¹ reduziu em média 20 % a matéria seca da parte aérea. O resultado apresentado corroboram os encontrados por Luo et al. (2005), onde a aplicação de ácido cítrico induziu baixa redução da produção de matéria seca da parte aérea de milho e feijoeiro.

O tratamento EDTA na concentração de 10 mmol kg⁻¹ promoveu uma redução bem maior na produção de matéria seca da parte aérea do que as doses de ácido cítrico na forma de aplicação total. A mesma dose de EDTA também foi responsável pela maior redução no desenvolvimento do sistema radicular das plantas de milho. O mesmo comportamento foi verificado para a forma de aplicação parcelada do ácido, exceto a concentração de 40 mmol kg⁻¹ na matéria seca da parte aérea e raiz, e a dose de 20 mmol kg⁻¹ do ácido na biomassa aérea. EDTA (10 mmol kg⁻¹) reduziu em média de 25 e 64% da matéria seca da parte aérea e raiz, respectivamente, quando comparado ao controle (solo sem adição de ácido).

Nenhum sintoma visual de toxidez nas plantas foi observado durante todo o cultivo nos tratamentos sem adição de ácidos (Figura 2a). Todas as doses do ácido em ambas a formas de aplicação promoveram fitotoxidez nas plantas (Figura 2b e 3a), e esses sintomas foram observados logo no 1º dia após aplicação, tornando-se mais intenso ao longo do tempo (Figura 3b).

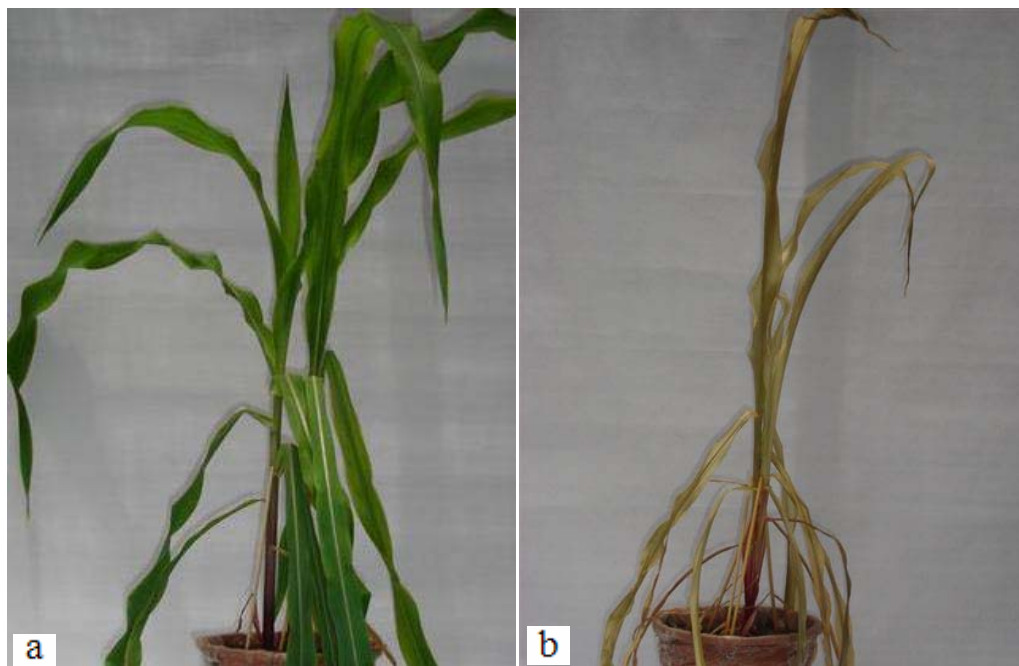


Figura 2. Plantas de milho: (a) controle (solo contaminado sem adição de ácido) e (b) ácido cítrico aplicado total na dose de 80 mmol kg^{-1} no 1º dia após a aplicação.

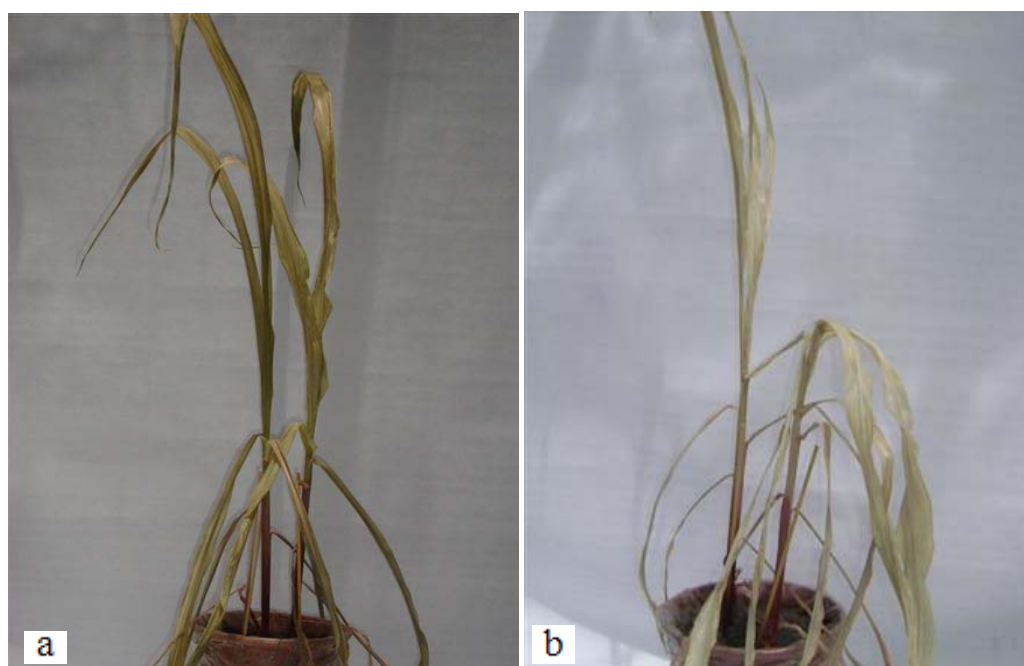


Figura 3. Plantas de milho: (a) ácido cítrico aplicado parcelado na dose de 80 mmol kg^{-1} no 1º dia após a aplicação e (b) o mesmo tratamento no 1º dia após a segunda aplicação.

As correlações negativas e altamente significativas entre os teores de Pb na fração trocável com a matéria seca da raiz e parte aérea podem indicar a solubilização do metal, o que levou as plantas de milho a um estresse adicional à aplicação do ácido e conseqüente redução do desenvolvimento (Quadro 2). De acordo com Turgut et al. (2004)

concentrações de quelantes orgânicos mais altas que 10 mmol kg^{-1} podem promover fitotoxidez nas plantas.

Quadro 2. Correlações de Pearson entre a produção de matéria seca (g vaso^{-1}), teor (mg kg^{-1}) e conteúdo (mg vaso^{-1}) da parte aérea e raiz das plantas de milho e disponível com CaCl_2 (mg dm^{-3}) com as frações do solo (mg dm^{-3}) após a aplicação das doses de ácido cítrico ao solo

| | Matéria Seca | | Teor | | Conteúdo | | CaCl_2 |
|-----------------------------------|--------------|---------------------|---------|---------|----------|---------------------|-----------------|
| | PA | Raiz | PA | Raiz | PA | Raiz | |
| Chumbo | | | | | | | |
| Tr | -0,89** | -0,54 ^{ns} | 0,85** | 0,73** | 0,84** | 0,47** | 0,90** |
| MO | 0,85** | 0,14 ^{ns} | 0,79** | -0,67** | -0,78** | -0,46* | -0,80** |
| OxFeA | 0,65** | -0,17 ^{ns} | -0,70** | -0,42* | -0,72** | -0,21 ^{ns} | -0,79** |
| OxFeC | 0,85** | 0,36* | -0,59** | -0,72** | -0,56** | -0,49** | -0,64** |
| CaCl_2 | -0,67** | 0,21 ^{ns} | 0,92** | 0,72** | 0,94** | 0,59** | - |
| Teor PA | -0,69** | 0,18 ^{ns} | - | - | 0,98** | 0,48** | 0,92** |
| Teor Raiz | -0,78** | -0,42* | - | - | 0,60** | 0,90** | 0,72** |

** e * Significativo respectivamente a $p < 0,01$ e $p < 0,05$, ns: Não Significativo (LD = 0,01).

3.2 Efeitos do ácido cítrico na fitoextração de chumbo pelo milho

A aplicação do ácido cítrico total e parceladamente influenciou significativamente o teor de chumbo na parte aérea e raiz das plantas de milho quando comparadas ao controle, a aplicação total foi significativamente mais eficiente em promover o acúmulo de Pb na parte aérea do que a aplicação parcelada (Figura 4).

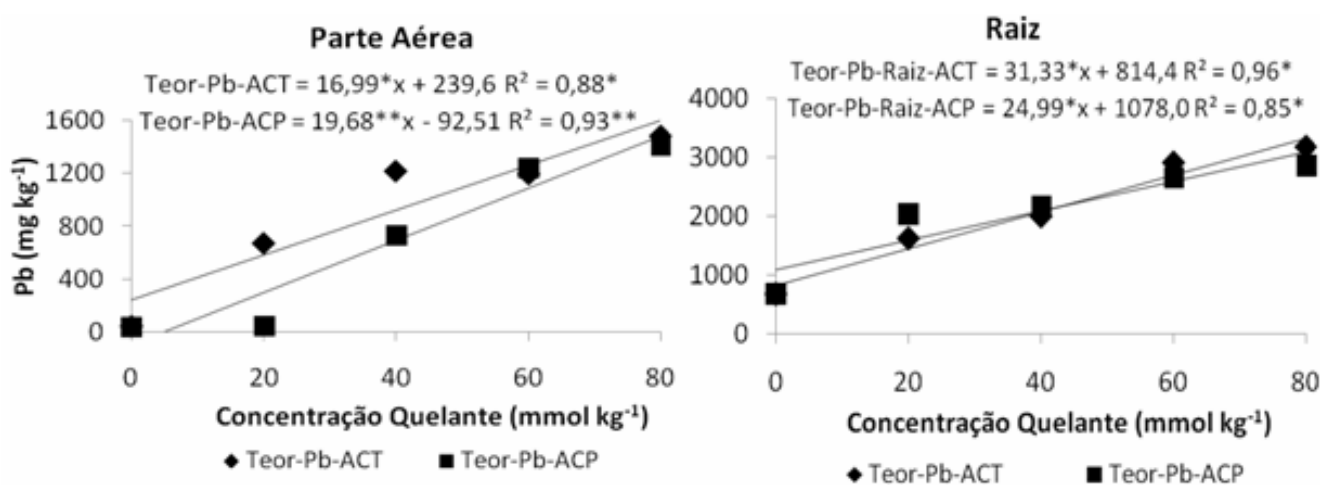


Figura 4. Concentração de Pb (mg kg^{-1}) na parte aérea e raiz do milho em solo após a aplicação de doses (0, 20, 40, 60 e 80 mmol kg^{-1}) de ácido cítrico total (ACT) e parceladamente (ACP); (LD = 0,01).

Independentemente da forma de aplicação do ácido cítrico os melhores ajustes entre a concentração de Pb na parte aérea e raiz e as doses foram modelos lineares (Figura 4). As doses do ácido cítrico aumentaram em 14, 22, 31 e 39 vezes a concentração de Pb na parte aérea das plantas de milho, respectivamente para as doses 20, 40, 60 e 80 mmol kg⁻¹ na aplicação total, quando comparado ao solo sem adição de ácido. A forma de aplicação parcelada também aumentou a concentração de Pb na parte aérea em 7, 17, 26 e 36 vezes em relação ao controle (Figura 4).

Os resultados mostram que mesmo as doses mais altas do ácido cítrico, nas duas formas de aplicação não superaram o aumento de concentração de Pb na parte aérea do milho promovida pelo EDTA 10 mmol kg⁻¹, que foi de aproximadamente 1620 mg kg⁻¹, que representa elevação de 42 vezes em relação ao controle.

A aplicação total de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico promoveu uma maior translocação de Pb quando comparada com as demais concentrações. No entanto, independentemente da forma de aplicação nenhum dos tratamentos foi eficiente na translocação de Pb, pois a razão parte aérea/raiz foi inferior a uma unidade. Resultado semelhante foi encontrado por Chen et al. (2003), Turgut et al. (2004), Luo et al. (2005), Meers et al. (2005), Melo et al. (2008) que também observaram baixa eficiência do ácido cítrico na absorção e translocação de metais pesados para parte aérea. O tratamento de EDTA na concentração de 10 mmol kg⁻¹ não se mostrou eficiente na translocação de Pb, pois a razão parte aérea/raiz foi abaixo (0,4) de uma unidade.

Na remoção de Pb pelo milho não houve interação significativa entre os fatores, formas de aplicação (total e parcelada) de ácido cítrico e as doses (Figura 5). No entanto o incremento das doses de ácido cítrico promoveu aumento significativo da remoção de Pb pelo milho. Os resultados apresentados discordam dos encontrados por Nascimento et al. (2006) que usou a concentração de 10 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico e não verificou eficiência na remoção de Pb. O valor estimado de uma dose de 10 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico (Figura 5) resultaria em uma remoção de Pb pelo milho de 21,08 mg vaso⁻¹, valor bem maior do que o encontrado pelos referidos autores. A remoção de Pb pelo milho induzida pelo tratamento adicional (EDTA na concentração de 10 mmol kg⁻¹) foi de 143 mg vaso⁻¹, valor superado pelas duas concentrações mais elevadas do ácido cítrico (Figura 5).

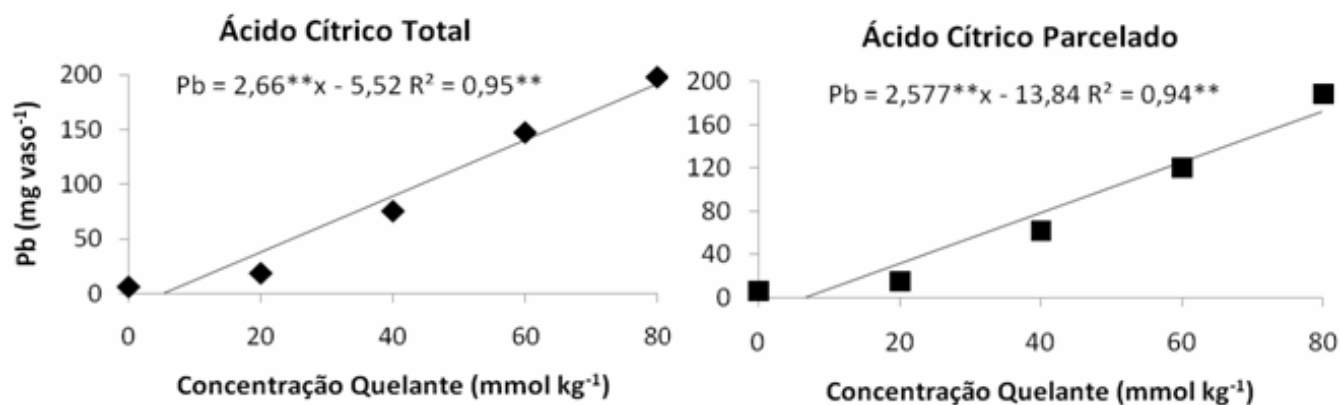


Figura 5. Remoção líquida de Pb pela parte aérea de milho (mg vaso^{-1}) após a aplicação de doses (0, 20, 40, 60 e 80 mmol kg^{-1}) de ácido cítrico total e parceladamente (LD = 0,01).

A dose de 40 mmol kg^{-1} do ácido cítrico aplicado total e parceladamente, removeu teores de Pb de 75 e 60 mg vaso^{-1} , respectivamente. Isso indica que seriam necessários 13,5 e 17 cultivos, respectivamente, para remover todo o Pb do vaso. Considerando quatro cultivos anuais de milho no solo, o tempo estimado para a limpeza completa das amostras de solo seria menos de três anos e meio com a aplicação total, e com a forma parcelada de aplicação do ácido seriam necessários quatro anos e meio. Considerando o valor aceitável de Pb em solos agrícolas, preconizado pela CETESB (2005), que é de 72 mg kg^{-1} , o tempo necessário para fitorremediação da área com 40 mmol kg^{-1} de ácido cítrico, poderia ser reduzido para três e quatro anos, respectivamente, para a forma de aplicação total e parcelada. Em condições de campo o desenvolvimento das plantas de milho seria muito maior do que no vaso, o que poderia aumentar os teores de Pb removido por cultivo, reduzindo o tempo necessário para a completa descontaminação do solo.

As correlações positivas e altamente significativas entre o conteúdo e teor de Pb na parte aérea com a fração trocável ($r = 0,85^{**}$ e $0,84^{**}$, respectivamente) não corroboram com a eficiência do ácido cítrico na translocação do metal. Altas correlações positivas também foi verificada entre o Pb extraído com CaCl_2 e conteúdo e teor de Pb na parte aérea, respectivamente $0,92^{**}$ e $0,94^{**}$ (Quadro 2).

3.3 Efeitos do ácido cítrico na disponibilidade e nas frações do solo

Independentemente da forma de aplicação, houve aumento linear e significativo dos teores de Pb extraídos com o uso da CaCl_2 em função das doses, quando comparado aos tratamentos sem adição de ácido (Figura 6).

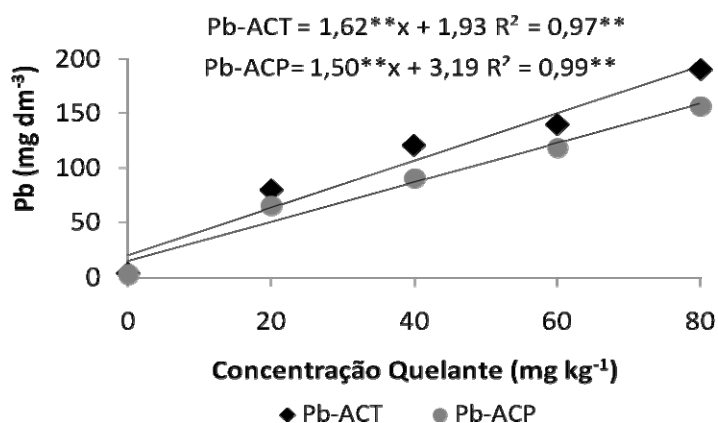


Figura 6. Teores de Pb extraído por CaCl_2 em solo contaminado, após aplicação de doses crescentes de ácido cítrico aplicado total e parcelado ($\text{LD} = 0,01$).

O tratamento adicional (EDTA na concentração de 10 mmol kg^{-1}), disponibilizou teor médio de Pb de 256 mg dm^{-3} na solução do solo, enquanto que a mais alta concentração de ácido cítrico aplicado total e parcelado, não ultrapassou a concentração 200 mg dm^{-3} de Pb disponibilizado para a solução do solo (Figura 6). Agentes quelantes sintéticos solubilizam Pb em quantidade suficiente para uma eficiente fitoextração (Quartacci et al., 2007).

A distribuição de Pb foi predominantemente na fração trocável para ambas as formas de aplicação (Figura 7). Essa distribuição aumentou de forma quadrática e significativa em função do aumento das doses do ácido cítrico aplicado total e parcelado. Os resultados discordam dos encontrados por Melo et al. (2008) em estudo de fitoextração induzida de Pb por quelantes orgânicos, essa divergência pode ser explicada pelas diferentes características físicas dos solos (Quadro 1) utilizados nos trabalhos.

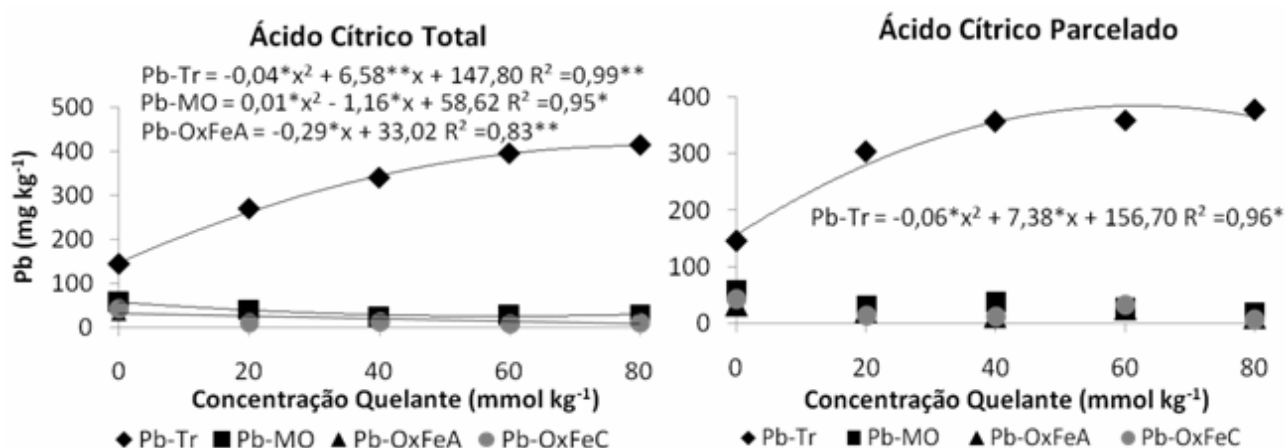


Figura 7. Concentração de metal nas frações do solo (mg dm^{-3}): trocável (Tr), matéria orgânica (MO), óxido de ferro amorfo (OxFeA) e óxido de ferro cristalino (OxFeC) após aplicação das doses (0, 20, 40, 60 e 80 mmol kg^{-1}) na forma total e parceladamente de ácido cítrico (LD = 0,01).

A adição de ácido cítrico na forma total reduziu significativamente a concentração de Pb ligado as frações matéria orgânica e óxido de ferro amorfo, descrevendo modelo quadrático e linear, respectivamente. Nenhum modelo pôde ser ajustado para o Pb ligado a fração óxido de ferro cristalino. Na forma de aplicação parcelada do ácido não foi possível ajustar nenhum modelo de regressão para as frações matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e cristalino (Figura 7). O tratamento adicional EDTA induziu o mesmo comportamento na distribuição de Pb nas frações que o ácido cítrico na forma total.

Segundo McBride et al. (1997), o elemento Pb apresenta afinidade por formas mais estáveis (óxidos de Fe/Mn e residual). No entanto devido as características físicas do solo (Quadro 1), o mesmo apresenta um elevado teor de areia (948 g kg^{-1}), o que sugere uma baixa concentração de matéria orgânica e óxidos. Isso explica as baixas concentrações de Pb ligado as estas frações.

A correlação diretamente proporcional e altamente significativa ($r=0,98^{**}$) entre o teor de Pb na fração trocável com o a concentração desse metal extraído pelo CaCl_2 corroboram que o aumento das concentrações de ácido cítrico elevam o teor de Pb em solução (Quadro 2). Concomitantemente a esses resultados, observa-se uma redução nos teores de Pb nas frações matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino e aumento da concentração do metal avaliada pelo CaCl_2 , o que pode ser evidenciado nas correlações negativas e altamente significativas, sendo -0,80, -0,79 e -0,64, respectivamente (Quadro 2). Esses resultados discordam do trabalho de Melo et al.

(2006) que usou o mesmo extrator na concentração de 10 mmol kg^{-1} . Essa divergência nos resultados ocorreu provavelmente por causa das diferentes características físicas dos solos.

4. CONCLUSÕES

Todas as doses aplicadas de ácido cítrico foram eficientes na solubilização de Pb no solo. No entanto, a aplicação de forma total e parceladamente do ácido não foi eficiente na fitoextração de Pb;

A distribuição de Pb nas frações do solo apresentou a seguinte ordem: trocável > matéria orgânica > óxido de ferro cristalino > óxido de ferro amorfo;

Os resultados do trabalho indicam que a fitorremediação da área com o uso de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico (um agente que apresenta degradação rapidamente) poderia ser efetuada num período de 4 anos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M.F. de, ABREU, C.A., ANDRADE, J.C. Determinação de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês, zinco, níquel, cádmio, crômio e chumbo em ácido nítrico usando métodos da USEPA. In: RAIJ, B. van, ANDRADE, J.C. de, CANTARELLA, H., QUAGGIO, J.A. (eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. p. 251-261.

ALI, I.A.; KAFKAFI, U.; YAMAGUCHI, I.; SUGIMOTO, Y. & INANAGA, S. Growth, transpiration, root-born cytokinins and gibberelins, and nutrient compositional changes in sesame exposed to low root zone temperature under different ratios of nitrate: ammonium supply. **Journal of Plant Nutrition**, 23:123-140, 2000.

ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. 2.ed. Glasgow, Blackie A&P, 1995. 368p.

CAMARGO, O.A.; ALLEONI, L.R.F. & CASAGRANDE, J.C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo. In: FERREIRA, M.E., ed. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura. Jaboticabal, CNPQ; FAPESP; POTAFOS, 2001. 599p.

CHAO, T.T. & ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. **Soil Science Society of America Journal**, 47:224-232, 1983.

CHEN, Y. X.; LIN, Q.; LUO, Y. M.; HE, Y. F.; ZHEN, S. J.; YU, Y. L.; TIAN, G. M. & WONG, M. H. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. **Chemosphere**, 50:807-811, 2003.

CHEN, Y.H.; MAO, Y.; HE, S.B.; GUO, P. & XU, K. Heat stress increases the efficiency of EDTA in phytoextraction of heavy metals. **Chemosphere**, 67:1511-1517, 2007.

DUARTE, B.; DELGADO, M. & CAÇADOR, I. The role of citric acid in cadmium and nickel uptake and translocation, in *Halimione portulacoides*. **Chemosphere**, 69:836-840, 2007.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análises de solo**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1997. 212p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília, 2006. 301p.

EVANGELOU, M.W.H.; DAGHAN, H. & SCHAEFFER, A. The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil. **Chemosphere**, 57:207-213, 2004.

EVANGELOU, M.W.H.; EBEL, M. & SCHAEFFER, A. Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. **Chemosphere**, 63:996-1004, 2006.

HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R. & CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science and Technology**, 31:800-805, 1997.

JEAN, L.; BORDAS, F.; GAUTIER-MOUSSARD, C.; VERNAY, P.; HITMI, A. & BOLLINGER, J.C. Effect of citric acid and EDTA on chromium and nickel uptake and translocation by *Datura innoxia*. **Environmental Pollution**, 20:1-9, 2007.

KRISHNAMURTI, G.S.R.; CIESLINSKI, G.; HUANG, P.M. & VAN REES, K.C.J. Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: implication in cadmium availability **Journal of Environmental Quality**, 26:271-277, 1997.

LUO, C.; SHEN, Z. & LI, X. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. **Chemosphere**, 59:1-11, 2005.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, Academic Press, 1995. 889p.

McBRIDE, M.B.; SAUVÉ, S. & HENDERSHOT, W.H. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. **European Journal of Soil Science**, 48:337-346, 1997.

MEERS, E.; HOPGOOD, M.; LESAGE, E.; VERVAEKE, P.; TACK, F. M. G. & VERLOO, M. G. Enhanced Phytoextraction: In Search of EDTA Alternatives. **International Journal of Phytoremediation**, 6:95-109, 2004.

MEERS, E.; RUTTENS, A.; HOPGOOD, M.J.; SAMSON, D. & TACK, F.M.G. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Chemosphere**, 58:1011-1022, 2005.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A. & SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:1051-1060, 2006.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; ACCIOLY, A.M.A. & SANTOS, A.C.Q. Phytoextraction and fractionation of heavy metals in soil after multiple applications of natural chelants. **Scientia Agricola**, 65: 61-68, 2008.

NASCIMENTO, C.W.A; AMARASIRIWARDENA, D. & XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, 140:114-123, 2006.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.M. & HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 51:47-58, 1993.

QIN, F.; SHAN, X. & WEI, B. Effects of low-molecular-weight organic acids and residence time on desorption of Cu, Cd and Pb from soils. **Chemosphere**, 57:253-263, 2004.

RASKIN, I.; SMITH, R.D. & SALT, D.E. Phytoremediation of Metals: Using Plants to Remove Pollutants from the Environment. **Current Opinion in Biology**, 8:221-226, 1997.

SAS INSTITUTE. Statistical analysis system. Procedure guide for personal computer. Cary, 1999.

SHEN, Z.G.; LI, X.D.; WANG, C.C.; CHEN, H.M.; CHUA, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, 31:1893-1900, 2002.

SHUMAN, L.M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, 140:11-22, 1985.

TANDY, S.; BOSSART, K.; MUELLER, R.; RITSCHER, J.; HAUSER, L.; SCHULIN, R.; NOWACK, B. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. **Environmental Science and Technology**, 38:937-944, 2004.

TURGUT, C.; PEPE, M.K. & CUTRIGHT, T.J. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. **Environmental Pollution**, 131:147-154, 2004.

WASAY, S.A.; BARRINGTON, S. & TOKUNAGA, S. Remediation of soils polluted by heavy metals using salts of organic acid and chelating agents. **Journal Environmental Technology**, 19:369-380, 1998.

ZHANG, W.H., LO, I.M.C. EDTA-enhanced soil washing for remediation of Pb- or/and Zn-contaminated soils. **Journal of Environmental Engineering**, 132:1282-1288, 2006.