



ERIBERTO VAGNER DE SOUZA FREITAS



**BIODEGRADAÇÃO DE AGENTES QUELANTES E FITOEXTRAÇÃO
INDUZIDA EM ÁREA CONTAMINADA POR CHUMBO**

**RECIFE - PE
2012**

ERIBERTO VAGNER DE SOUZA FREITAS

**BIODEGRADAÇÃO DE AGENTES QUELANTES E FITOEXTRAÇÃO
INDUZIDA EM ÁREA CONTAMINADA POR CHUMBO**

Tese 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 Doutor.

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

Co-orientador: D.Sc. Adailson Pereira de Souza

RECIFE - PE
2012

Ficha catalográfica

F866b Freitas, Eriberto Vagner de Souza
Biodegradação de agentes quelantes e fitoextração
induzida em área contaminada por chumbo / Eriberto Vagner
de Souza Freitas – Recife, 2012.
98 f. : il.

Orientador: Clístenes Williams Araújo do Nascimento
Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco Departamento de Agronomia,
Recife, 2012.

Referências.

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

CDD 631.4

ERIBERTO VAGNER DE SOUZA FREITAS

Tese intitulada BIODEGRADAÇÃO DE AGENTES QUELANTES E FITOEXTRAÇÃO INDUZIDA EM ÁREA CONTAMINADA POR CHUMBO, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como exigência para obtenção do título de Doutor, e aprovada em 27 de fevereiro de 2012.

Clístenes Williams Araújo do Nascimento, D.Sc.

**PRESIDENTE DA BANCA EXAMINADORA
(ORIENTADOR)**

Cassio Hamilton Abreu Junior, D.Sc.

(EXAMINADOR)

Edivan Rodrigues de Souza, D.Sc.

(EXAMINADOR)

Évio Eduardo Chaves de Melo, D.Sc.

(EXAMINADOR)

Mateus Rosas Ribeiro Filho, D.Sc.

(EXAMINADOR)

Eu pedi forças..
e DEUS deu-me
dificuldades
para fazer-me forte.

Eu pedi prosperidade..
e DEUS deu-me
inteligência e disponibilidade física para trabalhar.

Eu pedi coragem..
e DEUS deu-me
obstáculos para superar.

Eu pedi amor..
e DEUS deu-me
uma família e amigos para amar.

Eu pedi favores..
e DEUS deu-me
oportunidades.

Eu posso não ter recebido tudo que pedi..
mas com certeza recebi
o que precisava até o momento.

Aos meus queridos e amados pais, Rita Lima e João
Martins, pelo grande amor, confiança e incentivo,
fundamentais para minha vida

A minhas queridas irmãs, Waléria e Valquíria, pela
nossa grande amizade e ajuda na minha formação

A minha querida e amada, vovó Maria, pelo amor,
carinho e preciosos ensinamentos

Com amor e dedicação,

OFEREÇO-LHES ESSE TRABALHO

Aos meus avôs, Raimundo Barreto e Damião Almino (*In memoriam*), pelo amor,
respeito, admiração, exemplo de grandes homens de caráter e honestidade

DEDICO ESTE TRABALHO

AGRADECIMENTOS

A DEUS pai glorioso, por ter me dado a vida, pela inspiração, honra e força para vencer os obstáculos de cada dia, por me dar serenidade e discernimento nos momentos de atribulações. Agradeço ao Pai por todas as conquistas e glórias alcançadas nos últimos quatro anos;

Aos meus queridos e amados pais, Rita Lima e João Martins, pelo amor incondicional, exemplos de honestidade e caráter, por tantas renúncias em nome da minha felicidade;

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

A minha querida e amada vovó Maria, pelo enorme amor, excelentes ensinamentos, que até hoje são de grande importância para os valores da nossa família;

Aos meus queridos e amados, tia Genisa e tio Anchieta, pelo grande amor, inspiração e por toda ajuda sempre;

As minhas queridas tias, Toinha, Vera, Neide, Beth e Marinhinha pelo carinho, atenção e respeito dedicados a mim;

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

Ao professor Clístenes Williams Araújo do Nascimento pela confiança, paciência e dedicação na transmissão de ricos e imprescindíveis conhecimentos, para a realização deste trabalho e enorme contribuição para 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 doutorado, na caminhada rumo à qualificação profissional;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, em especial ao professor Ângelo, pela dedicação ao ensino, fundamental para a formação e conclusão do curso de doutorado;

Ao professor Adailson Pereira de Sousa da Universidade Federal da Paraíba – Areia pela dedicação e colaboração nesta tese de doutorado;

Aos professores franceses Jean Martin e Lorenzo Spadini, pela ótima recepção em Grenoble, pelas excelentes discussões científicas durante o estágio doutoral na França;

A Wólmer, Lula, Wandinho, Cassinha, Carla, Janny, Mário Borgonha, Marta, Richelieu, Toninho, Edwigenes, Taiguara, Jaciguara, Ipojuca e Moisés pela grande amizade e companheirismo compartilhada nos últimos anos;

Aos amigos, Milton Cesar, Juninho, Allyson, Josimar e Michelangelo, 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 Grupo de Pesquisa em Química Ambiental de Solos, e Laboratório de Fertilidade do Solo, Josângela, Caroline Biondi, Tâmara, Évio, Agenor, João Paulo, Wellington, Fernando, Airon, Marise pela ótima convivência;

Aos grandes amigos, Hailson, Welka, Marcio, Edivan, Manuella Gondim, Cauê e Moacir, por toda ajuda, pelas discussões científicas, pelos excelentes momentos de diversão, paciência e dedicação, que foram fundamentais na realização desse trabalho;

Aos amigos, Bruno, Wildson, Joab e Sylvania, pela honra de trabalharmos juntos, pelo valioso auxílio na condução deste trabalho, seria impossível a conclusão do mesmo sem a grande colaboração de ambos;

Aos demais, mas não menos importantes colegas e companheiros de área de solos, Victor Piscoya, Daniela, Alexandre, Rodolfo, Artenisa, Guilherme, pela harmoniosa convivência;

Ao Doutor Tabosa do IPA, pela gentil colaboração na doação de sementes para o desenvolvimento desse trabalho;

A METAIS-PB, na figura de Marcos Aurélio, pela disponibilidade e apoio para a realização dos experimentos na área da empresa;

A insubstituível e muito querida, funcionária da UFRPE, Socorro Santana, pelo enorme carinho, paciência, por memoráveis momentos de alegria e força em horas difíceis.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	9
CHAPTER I - DEGRADABILITY OF AMINOPOLYCARBOXYLIC ACIDS AND NATURAL CHELATING AGENTS IN SOIL CONTAMINATED WITH LEAD.....	15
ABSTRACT.....	15
RESUMO.....	16
INTRODUCTION.....	17
MATERIAL AND METHODS.....	19
RESULTS AND DISCUSSION.....	21
CONCLUSIONS.....	29
REFERENCES	30
CAPÍTULO II - FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO EM CAMPO INDUZIDA POR ÁCIDO CÍTRICO.....	33
RESUMO.....	33
ABSTRACT.....	34
INTRODUÇÃO.....	35
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
CAPÍTULO III - SILÍCIO COMO ESTRATÉGIA PARA O USO DA FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO EM CAMPO INDUZIDA POR ÁCIDO CÍTRICO.....	61
RESUMO.....	61
ABSTRACT.....	62
INTRODUÇÃO.....	63
MATERIAL E MÉTODOS.....	65
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
CONCLUSÕES.....	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

INTRODUÇÃO GERAL

A poluição do solo com metais pesados é uma das mais importantes preocupações ambientais em todo o mundo. Embora uma pequena porção da quantidade de metais adicionados ao solo seja derivada de processos naturais, principalmente o intemperismo de rochas, a maior parte do crescente aumento das concentrações de metais tem origem antropogênica, como resultado da intensificação das atividades industriais, mineração, fundição, uso de fertilizantes minerais e pesticidas, aplicação de lodo de esgoto e a disposição inadequada de resíduos. A acumulação de metais pesados em solos pode conduzir não apenas à diminuição da produtividade das culturas em decorrência de seus efeitos fitotóxicos, mas também efeitos deletérios à saúde humana e ao ambiente.

O termo “metal pesado” é amplamente utilizado pela comunidade científica para definir um grupo de elementos que incluem metais, semimetais e não metais, cuja a densidade atômica é maior do que 6 g cm^{-3} (Alloway, 1990). Os metais pesados não estão sujeitos a processos de degradação e, portanto, permanecem quase indefinidamente no ambiente, embora a biodisponibilidade destes elementos possa mudar consideravelmente, dependendo das suas interações com os diferentes constituintes do solo (Doumet et al., 2008).

O Pb é um elemento metálico sólido, cinza azulado, biologicamente não essencial, extremamente estável no solo, sendo sua meia vida nesse meio estimada em até 5900 anos, e reconhecido a séculos como potencialmente tóxico para o ambiente. Dentre uma lista de 275 substâncias tóxicas consideradas prioritárias para controle nos EUA, o Pb ocupa lugar de destaque, sendo o segundo entre os metais pesados, que representam maior risco à população, principalmente crianças (ATSDR, 2011). A absorção do Pb pode ocorrer principalmente 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; Butcher, 2007).

Os principais minerais de Pb são a cerusita (PbCO_3), anglesita (PbSO_4) e galena (PbS), sendo este último o mais importante. O teor total do metal em solos varia principalmente em função da riqueza em Pb do material de origem: basalto e gabro (8 mg kg^{-1}); granito e riolito (20 mg kg^{-1}); xisto e argilitos ($15 \text{ a } 20 \text{ mg kg}^{-1}$) e calcários e arenitos ($7 \text{ a } 10 \text{ mg kg}^{-1}$). O processo de intemperismo químico de minerais e rochas, emissões atmosféricas de vulcões, poeiras transportadas pelo vento e materiais biogênicos são considerados importantes fontes

naturais de Pb (Hough, 2010). O valor médio global de Pb nos solos é estimado em 27 mg kg^{-1} (Kabata-Pendias, 2010), enquanto em solos de referência de Pernambuco, os teores naturais do elemento em Gleissolos, Espodossolos e Argissolos, são 1,55, 7,79 e $45,41 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente (Biondi, 2010).

O Pb apresenta alta afinidade pela matéria orgânica e forma complexos de esfera interna, que exerce elevada influência na sua solubilidade e é responsável pela acumulação do elemento em horizontes superficiais dos solos (Amaral Sobrinho et al. 2009; Kabata-Pendias, 2010). O Pb apresenta um caráter predominantemente covalente nas suas ligações, implicando, de maneira geral, numa baixa mobilidade, sendo fortemente retido nas cargas negativas dos colóides do solo. Com o tempo, pode haver difusão para dentro da estrutura do mineral, tornando-o ainda mais recalcitrante no solo.

A contaminação antrópica oriunda da reciclagem de metais pesados torna-se cada vez mais frequente e preocupante, principalmente quando seus efluentes são lançados sem tratamento no solo ou em lagoas sem impermeabilização, proteção ou contenção. O Pb pode ser reciclado seguidas vezes, obtendo-se um metal secundário similar ao primário. De acordo com Chen & Dutrizac (1996), uma típica sucata de bateria automotiva apresenta 3, 17, 32 e 36 %, respectivamente de PbO , PbO_2 , Pb e PbSO_4 , além de plásticos e componentes ácidos. Um dos processos para recuperação de Pb, a pirometalurgia em fornos tipo cuba, rotativos ou outros tipos de fornos, liberam gases SO_x e materiais particulados de Pb para a atmosfera, gerando até 25% de resíduos sólidos (escórias) da quantidade de Pb produzida. As baterias elétricas de Pb são consideradas resíduos perigosos pela legislação nacional e internacional e devem ser dispostas em aterro industrial classe 01. Existe insalubridade em grau máximo para os setores de fundição, modelagem das grades e misturador de óxido de Pb (Kabata-Pendias & Pendias, 1992).

O processo de reciclagem do Pb envolve várias etapas (esmagamento, fusão, redução e aperfeiçoamento), cada uma gerando, além do Pb, outros elementos potencialmente perigosos, tais como Cu, Zn, As, Sb, Sn, Bi e Ag (Cecchi et al., 2008). As emissões gasosas normalmente são lançadas diretamente para a atmosfera através de chaminés sem filtros. Já as escórias e efluentes líquidos oriundos do processo, quando lançados diretamente no solo, contaminam o próprio solo, a vegetação, as águas superficiais e subterrâneas e a população vizinha, principalmente em ambientes de várzea, devido ao elevado nível hidrostático. Horizontes superficiais dos solos são propícios para acumulação de Pb proveniente de deposições atmosféricas ou de fontes industriais e agrícolas devido, principalmente, à sua

baixa solubilidade e forte adsorção à matéria orgânica e minerais. Como consequência, teores tão altos quanto 1.830 mg kg^{-1} próximo de regiões agrícolas ou $39.250 \text{ mg kg}^{-1}$ em áreas próximas a cidades, ambas proveniente da atividade de reciclagem de Pb, são encontrados (Arshad et al., 2008).

No Brasil existem várias áreas contaminadas por chumbo. Por exemplo, em Santo Amaro da Purificação, Bahia, foi constatada contaminação humana e do solo nas antigas instalações de uma empresa de refinamento e a mesma empresa foi responsável pela contaminação de Pb em crianças no Vale do Ribeira (Paoliello et al., 2002). O grande crescimento mundial da indústria automobilística, com a concomitante ampliação do mercado para as baterias, que utiliza cerca de 70 % do Pb consumido mundialmente, tornou a reciclagem destas uma das principais formas de contaminação dos solos por Pb (Cecchi et al., 2008).

A legislação ambiental internacional apresenta ampla faixa de variação. Nos Estados Unidos e Holanda, os teor máximo permitido de Pb no solo é 300 mg kg^{-1} ; na Suíça corresponde a 500 mg kg^{-1} (King, 1996); na China, 350 mg kg^{-1} (Ren et al., 2006). No Brasil, o CONAMA (2009) estabeleceu valores de referência de metais pesados para contaminação de solo e águas subterrâneas. No caso particular do Pb, foi estabelecido como valores de investigação 180, 300 e 900 mg kg^{-1} respectivamente para áreas agrícolas, residencial e industrial. Já o valor de intervenção de Pb em águas subterrâneas corresponde a $10 \mu\text{g L}^{-1}$. 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). A determinação de teores totais ou pseudo totais, no entanto, tem sido considerada para a tomada de decisão quanto a necessidade de remediação de áreas e quanto a técnica a ser empregada. Uma melhor avaliação das formas de Pb no solo pode ser feita por meio de extrações seletivas sequenciais (Tessier et al., 1979), as quais se baseiam na solubilidade individual da fase sólida por reagentes seletivos (Han et al., 2003). Uma grande quantidade de procedimentos de extração sequencial estão disponíveis (Tessier et al., 1979; Chao & Zhou, 1983; Shuman, 1985; Ure et al., 1995; Quevauviller et al., 1996). No entanto, a distribuição dos metais pelos referidos métodos não necessariamente reflete a sua associação com a fase

mineral pretendida, mas é operacionalmente definida como método de extração (Bacon & Davidson, 2008).

A aplicação combinada de métodos diretos (extrações sequenciais) e indiretos, que corresponde ao uso de análise de microscopia eletrônica e difratometria de raios X para estudar a interação entre as fases minerais no solo e metais pesados representa uma nova e vantajosa ferramenta para estudo da especiação de metais pesados (Sipos et al., 2008). Os metais interagem com os constituintes do solo em várias frações sólidas, as quais governam a sua mobilidade e biodisponibilidade (Dumat et al., 2001). De acordo com Wu et al. (2003), os componentes do solo com maior capacidade em adsorver Pb são ácidos húmicos > goethita > montmorilonita > caulinita > feldspatos > quartzo. Porém, quando a concentração inicial de Pb está abaixo de 5 mg L^{-1} a goethita supera os ácidos húmicos. Sipos et al. (2008) relataram que estudos integrados dos métodos tem sido pouco utilizados para investigar a interação entre fases minerais e metais pesados.

A remediação de áreas contaminadas visando a redução desses poluentes a teores ambientalmente seguros é uma tarefa desafiadora para os cientistas de solos ligados as ciências ambientais. Várias técnicas convencionais de remedição de solos *in situ* e *ex situ* tais como escavação, aterramento, fixação e lixiviação têm sido empregadas, mas o elevado custo financeiro e os impactos visuais e nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo tornam essas técnicas de baixa aceitabilidade pública (Tanhan et al., 2007; Arshad et al., 2008). A seleção da tecnologia de remediação deve levar em consideração variáveis como tipo de solo, natureza do contaminante, nível de contaminação, finalidade da área após a recuperação e disponibilidade de recursos.

As técnicas de remediação *in situ*, tais como a fitorremediação, podem levar a redução nos custos de instalação, operação e monitoramento, pois tem se buscado soluções cada vez menos invasivas, ou seja, ambientalmente corretas e com maior aceitação pública. A fitorremediação se baseia no uso de plantas para remover, imobilizar ou tornar inofensivos ao ecossistema, contaminantes orgânicos e inorgânicos presentes no solo. A técnica apresenta potencial para a remediação de solos contaminados com metais pesados, como vem sendo demonstrado por vários trabalhos nos últimos 20 anos (Cunningham & Ow, 1996, Tanhan et al., 2007, Freitas et al., 2009a, Zhao et al., 2011).

Dentre as técnicas de fitorremediação, a fitoextração, que pode ser definida como a absorção e acumulação de metais na parte aérea das plantas, as quais são colhidas e removidas da área (Meers et al., 2007, Parra et al., 2008), é a técnica mais promissora e que tem

despertado maior atenção dos pesquisadores desde que foi proposta por Chaney (1983) como uma tecnologia de grande potencial para recuperar solos poluídos por metais.

A aplicação da fitoextração depende, entre outros fatores, do nível de contaminação do metal no solo, da biodisponibilidade dos metais e da capacidade das plantas para absorver e acumular na parte aérea os contaminantes do solo (Komárek et al., 2008; Kolbas et al., 2011). Duas abordagens têm sido usadas para atingir esta meta: uma consiste no uso de plantas com excepcional capacidade natural de acumulação de metal, as chamadas hiperacumuladoras ou também chamada de fitoextração contínua (Ebbs & Kochian, 1997; Sahi et al., 2002). No entanto, uma característica geral dessas espécies é o crescimento lento e a limitada produção de biomassa (Barrutia et al., 2009). A ideia 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 na sua parte aérea (Brooks, 1998). As plantas para serem consideradas hiperacumuladoras devem ser 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 (Sahi et al., 2002; McGrath & Zhao, 2003). Recentemente, Arshad et al. (2008) identificaram cultivares de *Pelargonium* com potencial para hiperacumulação de Pb. No Planalto Central brasileiro, Brooks et al. (1992) e Reeves et al. (2007) qualificaram as espécies *Pfaffia sarcophylla* e *Heliotropium salicoides* como hiperacumuladoras de Ni.

A outra abordagem que tem sido bastante estudada é a fitoextração induzida - técnica que utiliza plantas para remoção de metais de solos moderadamente poluídos com o auxílio de quelantes. Contudo, são poucos os exemplos de sua exequibilidade de utilização no campo. A indução química da fitoextração em plantas com elevada produção de biomassa (exemplo, *Brassica juncea*, *Zea mays*, *Helianthus annuus*, *Chrysopogon zizanoides*) utilizando quelantes sintéticos é considerada a técnica mais efetiva para elementos de baixa solubilidade, especialmente Pb (Huang et al., 1997; Chen et al., 2007; Neugschwandtner et al., 2008; Freitas et al., 2009a).

O uso de agentes quelantes sintéticos, principalmente o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) tem sido testado em vários trabalhos de fitoextração (Neugschwandtner et al., 2008; Weihong et al., 2009; Freitas & Nascimento, 2009; Araújo & Nascimento, 2010). O quelante quando adicionado no solo causa estresse nas plantas e danos nas membranas radiculares, quebrando as barreiras seletivas, o que resulta em maior absorção de metais (Schmidt, 2003). O EDTA tem reconhecida capacidade de solubilizar elevadas

quantidades de metais na solução do solo, o que aliado a sua baixa biodegradabilidade pode resultar em alto risco ambiental de lixiviação dos metais para águas subterrâneas e superficiais (Meers et al., 2004; Freitas et al., 2009b).

Os ácidos etilenodiaminodisucinato (EDDS) e nitrilotriacético (NTA), denominados por Evangelou et al. (2007) como aminopolicarboxílicos naturais ou *Transient Phytoextraction Agents* (TPA) por Parra et al. (2008), têm sido propostos como alternativa ao uso do EDTA, exatamente por apresentarem características desejáveis, tais como rápida biodegradação e baixa toxicidade para microrganismos e plantas. Os mesmos autores destacam que apesar das promissoras características do NTA, ainda são poucos os trabalhos realizados, especialmente para a fitoextração de Pb. Quartacci et al. (2007) e Parra et al. (2008) constataram que a adição de NTA e EDDS aumentou a capacidade de *Brassica carinata* e *Brassica juncea*, em acumular Pb, respectivamente. Meers et al. (2008) verificaram completa degradabilidade do EDDS no solo em um período de 54 dias.

Como alternativa ao uso dos quelantes sintéticos, sugere-se a utilização de ácidos orgânicos naturais de baixo peso molecular. Esses ácidos apresentam vantagem sobre os quelantes sintéticos, visto que são mais rapidamente degradados no solo, evitando contaminação de águas subterrâneas. O ácido cítrico, por exemplo, é um ácido orgânico tricarboxílico que pode ser utilizado como indutor da fitoextração. Várias plantas com alta produção de biomassa podem ser utilizadas, como milho (*Zea mays*), vetiver (*Chrysopogon zizanoides*), sorgo (*Sorghum bicolor*), girassol (*Helianthus annuus*) (Marchiol et al., 2007; Freitas et al., 2009a; Zhuang et al., 2009, Araújo et al., 2010). Polímeros naturais de ácido glutâmico tem sido testado para remoção de Pb em tratamentos de águas (Bodnar et al., 2008), no entanto, os relatos da aplicação em solos são muito incipientes (Schwab et al., 2008). Parra et al. (2008) verificaram maior solubilização de Pb com aplicação de ácido cítrico em relação ao EDTA, em solo com contaminação proveniente de munições. O uso do ácido cítrico para promover a fitoextração de Pb em solos arenosos pode ser tão eficiente quanto a utilização de quelantes sintéticos (Parra et al., 2008; Freitas et al., 2009a), com baixo risco de lixiviação do metal para o lençol freático (Schwab et al., 2008; Freitas et al., 2009b).

A fitoextração induzida de Pb com ácido cítrico apresenta algumas limitações que precisam ser superadas. Dentre essas, está a manutenção de elevados teores solúveis do metal na solução do solo, devido à baixa solubilidade natural do metal e a rápida biodegradação dos quelantes (Pereira et al., 2007). Portanto, é necessário estudar estratégias para reduzir a biodegradabilidade do quelante, mantendo o complexo solúvel e absorvível pela planta. Por

exemplo, Li et al. (2005) utilizaram o EDTA recoberto com silicatos e constataram uma efeito protetor em relação a biodegradação e uma lenta liberação do quelante para o solo. Outro aspecto bastante relevante para o uso em campo da fitoextração induzida com ácido cítrico, é o custo financeiro consideravelmente menor em relação aos quelantes sintéticos. Isto é ressaltado pela possibilidade de utilização de ácido cítrico comercial, comumente utilizado pela indústria alimentícia, e que apresenta um custo 20 vezes menor que o ácido cítrico na forma de reagente químico.

Os solos poluídos por escórias industriais frequentemente se caracterizam por apresentarem um baixo teor de matéria orgânica, nutrientes, pH, além de limitadas condições físicas para a percolação da água e desenvolvimento do sistema radicular (Chiu et al., 2006). Portanto, a melhoria das condições químicas do solo é fundamental para o desenvolvimento inicial do sistema radicular e o adequado estabelecimento das plantas. Além das melhorias no solo, a integração de áreas de pesquisas pode ser bastante vantajoso, por exemplo, os métodos biotecnológicos tem grande potencial e podem ser usados para aumentar a capacidade das plantas para a fitorremediação. De acordo com Pilon-Smits & Pilom (2000), dois tipos de estratégias podem ser utilizadas: a primeira consiste em aumentar a eficiência da absorção de metais pesados pelas raízes e translocação para parte aérea, através de vias já existentes na planta por meio da superexpressão de enzimas que controlam etapas limitantes do processo; a segunda é a introdução de vias inteiramente novas, pela inserção de genes exógenos. Bizily et al. (2000) introduziram uma via de detoxificação de mercúrio em plantas, as quais demonstraram tolerância aumentada ao mercúrio e converteram formas altamente tóxicas de mercúrio orgânico em mercúrio elementar, menos tóxico.

Para implementação de programa de fitoextração em solo é imperativo a adoção de práticas agronômicas tais como a calagem e adubação, que objetivam maximizar o crescimento vegetal e, conseqüentemente, a extração de metais. Além disso, estratégias que visem amenizar a toxicidade de metais pesados nas plantas podem ser utilizadas visando o aumento da produção de biomassa das plantas. Diversos materiais podem ser utilizados com essa finalidade, com destaque para silicatos na forma de escórias (Liang et al., 2007; Cunha et al., 2009; Araújo et al., 2011). O adensamento das plantas, com uso de espaçamentos menores que os convencionalmente utilizados, pode também auxiliar na maior extração de metais dada a maior exploração do solo pelo sistema radicular.

O tempo para a remediação de uma área poluída, sobretudo com Pb, pode se constituir em um fator limitante para a recomendação da fitoextração induzida. A técnica tem sido

recomendada para remediar solos moderadamente poluídos (Freitas et al., 2009a; Vangronsveld et al., 2009; Meers et al., 2010). No entanto, mesmo nesses solos, as concentrações de Pb podem limitar a eficiência da técnica e demandar um longo período para remediação a níveis regulatórios. Portanto, o estudo de novas técnicas que possam viabilizar a fitoextração como técnica remediadora são necessários.

HIPÓTESES

- A remediação da área contaminada com Pb utilizando a fitoextração induzida pela aplicação de agentes quelantes biodegradáveis é exequível em período relativamente curto e ambientalmente aceitável;
- A utilização de plantas com alta produção de biomassa aliada a aplicação de agentes quelantes podem aumentar a eficiência da fitoextração;
- O uso de agentes quelantes de rápida biodegradabilidade no solo é técnica e economicamente viável para recuperação da área em estudo.

Referências Bibliográficas

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES & DISEASE REGISTRY - ATSDR. Disponível em: < <http://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsearch.asp>> Acessado em 02 de fev. de 2011.

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.

AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; BARRA, C. M.; LÃ, O. R. Química dos metais pesados no solo. In: MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. (eds.). Química e Mineralogia do Solo. Parte II. Aplicações. 1 ed. Viçosa, MG: SBCS, 2009, p. 249-312.

ARAÚJO, J.C.T.; NASCIMENTO, C.W.A.; CUNHA FILHO, F.F. Disponibilidade de silício e biomassa de milho em solo contaminado por chumbo tratado com silicato. *Ciência e Agrotecnologia*, 35:878-883, 2011.

ARAÚJO, J.C.T.; NASCIMENTO, C.W.A. Phytoextraction of Lead from Soil from a Battery Recycling Site: The Use of Citric Acid and NTA. *Water, Air and Soil Pollution*, 211:113-120, 2010.

ARSHAD, M.; SILVESTRE, J.; PINELLI, E.; KALLERHOFF, J.; KAEMMERER, M.; TARIGO, A.; SHAHID, M.; GUIRESSE, M.; PRADERE, P.; DUMAT, C. A field study of lead phytoextraction by various scented Pelargonium cultivars. *Chemosphere*, 71:2187-2192, 2008.

BACON, J.R.; DAVIDSON, C.M. Is there a future for sequential chemical extraction? *Analyst*, 133:25-46, 2008.

BARRUTIA, O.; EPELDE, L.; GARCÍA-PLAZAOLA, J.I.; GARBISU, C.; BECERRIL, J.M. Phytoextraction potential of two *Rumex acetosa* L. accessions collected from metalliferous and non-metalliferous sites: Effect of fertilization. *Chemosphere*, 74:259-264, 2009.

BIONDI, C.M. Teores naturais de metais pesados nos solos de referência do estado de Pernambuco. 2010. 58 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

BIZILY, S.P.; RUGH, C.L.; MEAGHER, R.B. Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants. *Nat. Biotechnol.*, 18:213-7, 2000.

BODNÁR, M.; KJØNIKSEN, A.L.; MOLNÁR, R.M.; HARTMANN, J.F.; DARÓCZI, L.; NYSTRÖM, B.; BORBÉLY, J. Nanoparticles formed by complexation of poly-gamma-glutamic acid with lead ions. *J. Hazard. Mater.*, 153:1185-1192, 2008.

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

BROOKS, R.R.; REEVES, R.D.; BAKER, A.J.M. The serpentine vegetation of Goiás state, Brazil. In: BAKER, A.J.M.; PROCTOR, J. & REEVES, R.D. (eds) *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils*. Intercept, Andover, UK, 1992, p. 67-81.

BUTCHER, D.J. Environmental applications of arsenic speciation using atomic spectrometry detection. *Appl. Spectrosc. Rev.* 42:1-22, 2007.

CECCHI, M.; DUMAT, C.; ALRIC, A.; FELIX-FAURE, B.; PRADERE, P.; GUIRESSE, M. Multi-metal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. *Geoderma*, 144:287-298, 2008.

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

CHAO, T.T.; ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 47: 224-232, 1983.

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.

CHEN, T.T.; DUTRIZAC, J.E. The mineralogical characterization of lead acid battery paste. *Hydrometallurgy*, 40:175-199, 1996.

CHIU, K.K.; YE, Z.H.; WONG, M.H. Growth of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmites australis* on Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: a greenhouse study, *Bioresour. Technol.* 97:158-170, 2006

Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (2009). Valores orientadores para solos e águas subterrâneas. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>> . Acesso em 23 nov. 2011.

CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A. Silicon effects on metal tolerance and structural changes in maize (*Zea mays* L.) Grown on a cadmium and zinc enriched soil. *Water Air Soil Poll.*, 197:323-330, 2009.

CUNNINGHAM, S.D.; OW, D.W. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.*, 110:715-719, 1996.

DOUMETT, S.; LAMPERI L.; CHECCHINI L.; AZZARELLO E.; MUGNAI S.; MANCUSO S.; PETRUZZELLI G.; Del BUBBA M. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: Influence of different complexing agents. *Chemosphere*, 72:1481-1490, 2008.

DUMAT, C.; CHIQUET, A.; GOODDY, D.; AUBRY, E.; MORIN, G.; JUILLOT, F.; BENEDETTI, M.F. Metal ion geochemistry in smelter-impacted soils and soil solutions. *Bulletin de la Société Géologique de France*, 172:539-548, 2001.

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

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.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, A.J.; DUDA, G.P. Indução da fitoextração de chumbo por ácido cítrico em solo contaminado por baterias automotivas. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:467-473, 2009a.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; BIONDI, C.M.; SILVA, J.P.S.; SOUZA, A.P. Dessorção e lixiviação de chumbo em Espodossolo tratado com agentes quelantes. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:517-525, 2009b.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A. The use of NTA for lead phytoextraction from soil from a battery recycling site. *J. Hazard. Mater.*, 171:833-837, 2009.

HAN, F.X.; BANIN, A.; KINGERY, W.L.; TRIPLETT, G.B.; ZHOU, L.X.; ZHENG, S.J.; DING, W.X. New approach to studies of heavy metal redistribution in soil. *Adv. Environ. Res.*, 8:113-120, 2003.

HOUGH, R.L. Copper and Lead. In: HOODA, P. S. (ed.). *Trace Elements in Soils*. London: Wiley, 2010. cap. 18, p.441-460.

HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R.; CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.*, 31:800-805, 1997.

KABATA-PENDIAS, A. Trace Elements in Soils and Plants. 4. ed. Boca Raton: CRC press, 2010, p.333-352.

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

KING, L.D. Soil heavy metals. In: ALVAREZ V., V.H.; FONTES, L.E.; FONTES, M.P.F., eds. O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. p.823-836.

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

KOMÁREK, M.; TLUSTOŠ, P.; SZÁKOVÁ, J.; CHRASTNY, V. The use of poplar during a two-year induced phytoextraction of metals from contaminated agricultural soils. *Environ. Poll.*, 151:27-38, 2008.

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

LIANG Y, SUN W, ZHU Y.G. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. *Environ Pollut.*, 147: 422-428, 2007.

LI, H.; WANG, Q.; CUI, Y.; DONG, Y. & CHRISTIE, P. Slow release chelate enhancement of lead phytoextraction by corn (*Zea mays* L.) from contaminated soil - a preliminary study. *Sci. Tot. Environ.*, 339:179-187, 2005.

MARCHIOL, L.; FELLET, G.; PEROSA, D.; ZERBI, G. Removal of trace metals by *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in a site polluted by industrial wastes: a field experience. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45:379-387, 2007.

McGRATH, S.P.; ZHAO, F. Phytoextraction of Metals and Metalloids from Contaminated Soils. *Curr. Opin. Biotech.*, 14:277-282, 2003.

MEERS, E.; SLYCKEN, S.V.; ADRIAENSEN, K.; RUTTENS, A.; VANGROSVELD, J.; LAING, G. D.; WITTERS, N.; THEWYS, T.; TACK, F. M. G. The use of bio-energy crops (*Zea mays*) for 'phytoattenuation' of heavy metals on moderately contaminated soils: A field experiment. *Chemosphere*, 78:35-41, 2010.

MEERS, E.; TACK, F.M.G.; VERLOO, M.G. Degradability of ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) in metal contaminated soils: Implications for its use soil remediation. *Chemosphere*, 70:358-363, 2008.

MEERS, E.; VANDECASTEELE, B.; RUTTENS, A.; VANGROSVELD, J.; TACK, F.M.G. Potential of five willow species (*Salix* spp.) for phytoextraction of heavy metals. *Environ. Exp. Bot.* 60:57-68, 2007.

MEERS, E.; HOPGOOD, M.; LESAGE, E.; VERVAEKE, P.; TACK, F.M.G.; VERLOO, M.G. Enhanced phytoextraction: Search of EDTA Alternatives. *Int. J. Phytorem.*, 6:95-109, 2004.

NEUGSCHWANDTNER, R.W.; TLUSTOŠ, P.; KOMÁREK, M.; SZÁKOVÁ, J. Phytoextraction of Pb and Cd from a contaminated agricultural soil using different EDTA application regimes: laboratory versus field scale measures of efficiency. *Geoderma*, 144:446-454, 2008.

PAOLIELLO, M.M.B.; CAPITANI, E.M.; CUNHA, F.G.; MATSUO, T.; CARVALHO, M.F.; SAKUMA, A.; FIQUEIREDO, B.R. Exposure of children to lead and cadmium from a mining area of Brazil. *Environ. Res.*, 88:120-128, 2002.

PARRA, R.; ULERY, A. L.; ELLESS, M. P.; BLAYLOCK, M. J. Transient phytoextraction agents: establishing criteria for the use of chelants in phytoextraction of recalcitrant metals. *Int. J. Phytorem.*, 10:415-429, 2008.

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. *Sci. Agric.*, 64:52-60, 2007.

PILON-SMITS; L.; PILOM, M. Breeding mercury-breathing plants for environmental cleanup. *Trends Plant. Sci.*, 5:235-6, 2000.

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.

QUEVAUVILLER, P.; Vand Der SLOOT, H.A.; MUNTAU, H.; GOMEZ, A.; RAURET, G. Conclusion of the workshop: harmonization of leaching/extraction tests for environmental risk assessment. *Sci. Tot. Environ.*, 178:133-139, 1996.

REEVES, R.D.; BAKER, A.J.M.; BECQUER, T.; ECHEVARRIA, G.; MIRANDA, Z.J.G. The flora and biogeochemistry of the ultramafic soils of Goiás state, Brazil. *Plant Soil*, 293:107-119, 2007.

REN, H.M.; WANG, J.D.; ZHAN, X.L. Assessment of soil lead exposure in children in Shenyang, China. *Environ. Poll.*, 144:327-335, 2006.

SAHI, S.V.; BRYANT, N.L.; SHARMA, N.C.; SING, S.C. Characterization of a lead hyperaccumulator shrub, *Sesbania drummondii*. *Environ. Sci. Technol.*, 36:4676-4680, 2002.

SCHMIDT, U. Enhancing phytoextraction: The effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *J. Environ. Qual.*, 32:1939-1954, 2003.

SCHWAB, A.P.; ZHU, D.S.; BANKS, M.K. Influence of organic acids on the transport of heavy metals in soil. *Chemosphere*, 72:986-994, 2008.

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

SIPOS, P.; NÉMETH, T.; KIS, V.K.; MOHAI I. Sorption of copper, zinc and lead on soil mineral phases. *Chemosphere*, 73:461-469, 2008.

TANHAN, P.; KRUATRACHUE, M.; POKETHITIYOOK, P.; CHAIYARAT, R. Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by Siam weed [*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson]. *Chemosphere*, 68:323-329, 2007.

TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C.; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.*, 51:844-851, 1979.

URE, A.M.; DAVIDSON, C.M.; THOMAS, R.P. Single and sequential extraction schemes for trace metal speciation in soils and sediments. In: QUEVAUVILLER, P.; MAIER, E.A. & GRIEPINK, B. eds., *Quality Assurance for environmental analysis (BCR)*. Elsevier, 1995, p. 505-523.

VANGRONSVELD, J.; HERZIG, R.; WEYENS, N.; BOULET, J.; ADRIAENSEN, K.; RUTTENS, A.; THEWYS, T.; VASSILEV, A.; MEERS, E.; NEHNEVAJOVA, E.; VAN DER LELIE, D.; MENCH, M. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environ Sci Pollut Res.*, 16:765-794, 2009.

WEIHONG, X.; WENYI, L.; JIANPING, H.; SINGH, B.; ZHITING, X. Effects of insoluble Zn, Cd, and EDTA on the growth, activities of antioxidant enzymes and uptake of Zn and Cd in *Vetiveria zizanioides*. *J. Environ. Sci.* 21: 186-192, 2009.

WU, Z.; GU, Z.; WANG, X.; EVANS, L.; GUO, H. Effects of organic acids on adsorption of lead onto montmorillonite, goethite and humic acid. *Environ. Poll.*, 121:469-475, 2003.

ZHAO, S.; LIAN, F.; DUO, L. EDTA-assisted phytoextraction of heavy metals by turfgrass from municipal solid waste compost using permeable barriers and associated potential leaching risk. *Biores Technol.*, 102:621-626, 2011.

ZHUANG, P.; SHU, W.; LI Z.; LIAO, B.; LI, J.; SHAO, J. Removal of metals by sorghum plants from contaminated land. *Journal of Environmental Sciences* 21:1432-1437, 2009.

|| CHAPTER I ||

DEGRADABILITY OF AMINOPOLYCARBOXYLIC ACIDS AND NATURAL CHELATING AGENTS IN SOIL CONTAMINATED WITH LEAD

ABSTRACT

Study of the rate of degradation of chelating agents is important to identifying an environmentally appropriate inducing agent for *in situ* phytoextraction. Thus, the objective of the present study was to evaluate the degradation rate of the complexes formed between synthetic and organic chelating agents and Pb, with the goal of maximizing the efficiency of phytoextraction and reducing adverse effects resulting from the leaching of metals. Six different chelating agents with different chemical characteristics were investigated in this study: two low-molecular-weight organic acids, citric acid P.A. and commercial citric acid (to make application economically viable), and glutamic acid PA and monosodium glutamate. Two synthetic aminopolycarboxylic acids (NTA and EDTA), as well as a control treatment (contaminated soil without the addition of a chelating agent), were also studied. The chelators were applied at a concentration of 10 mmol kg⁻¹ in pots with 1 kg of soil contaminated with Pb, both with pH correction and without. The results of this study showed that commercial citric acid, which has a reduced acquisition cost compared to the P.A. composite, adequately solubilized Pb to levels suitable for plant uptake and showed relatively rapid biodegradation in soil. The synthetic chelating agents EDTA and NTA demonstrated Pb solubilization ability greater than the capacity for uptake by plants, as well as low rates of biodegradation. The commercial citric acid may be a highly promising alternative for phytoextraction studies in the field. The synthetic agents are not recommended for use in phytoextraction programs due to their high environmental impact.

Keywords Phytoremediation; Synthetic chelants; Organic acids; Soil contamination; Heavy metals; Degradation of chelating.

DEGRADABILIDADE DE ÁCIDOS AMINOPOLICARBOXÍLICOS E AGENTES QUELANTES NATURAIS EM SOLO CONTAMINADO COM Pb

RESUMO

A avaliação da taxa de biodegradação dos quelantes é importante para a identificação de agentes quelantes ambientalmente seguros para o uso na fitoextração *in situ*. O presente estudo objetivou avaliar a taxa de degradação do complexo formado entre agentes quelantes sintéticos e naturais com o Pb, visando a maximização da eficiência da fitoextração e reduzir efeitos adversos da lixiviação do metal. Seis agentes quelantes com diferentes características foram utilizados: dois ácidos orgânicos de baixo peso molecular, ácido cítrico reagente analítico (P.A.) e ácido cítrico comercial (com maior viabilidade econômica), e ácido glutâmico P.A. e glutamato monossódico. Dois ácidos aminopolicarboxílicos, etilenodiaminotetraacético (EDTA) e nitrilotriacético (NTA), como também um tratamento controle (solo contaminado sem adição de quelante). Os quelante foram aplicados na concentração de 10 mmol kg⁻¹ em 1 kg de solo contaminado com Pb, com e sem correção do pH do solo. Os resultados mostraram que o ácido cítrico comercial, que tem menor custo de aquisição em relação ao reagente analítico, solubiliza teores de Pb em quantidade adequada para absorção pelas plantas e apresenta uma biodegradação relativamente rápida. Os quelantes sintéticos (EDTA e NTA), demonstraram uma habilidade de solubilizar Pb maior que a capacidade das plantas absorverem em um único ciclo de cultivo, além de uma baixa taxa de degradação. Portanto, não são recomendados para programa de fitoextração *in situ*, devido ao alto potencial de promover lixiviação do metal. O ácido cítrico pode ser altamente promissor e uma excelente alternativa para estudos de fitoextração em campo.

Termos para indexação: Fitorremediação; Quelante sintético, Quelante orgânico; Metais pesados; contaminação do solo; degradação de quelante.

1 Introduction

Soil pollution has become one of the most recurrent environmental concerns because contamination generally interferes with soil, surface and ground water, air, wildlife and vegetation of the affected area. This pollution is also a potential origin of public health problems. In soil, pollution is determined based on quality criteria and by considering the presence of natural and man-made hazardous substances, such as heavy metals.

The use of chelating agents increases the bioavailability and/or translocation of metals, improving the efficiency of phytoextraction, and has been tested in several studies (Neugschwandtner et al. 2008; Freitas et al. 2009a; Freitas and Nascimento, 2009; Zhao et al. 2011). Synthetic aminopolycarboxylic acids (APCs), such as ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), have been proven to solubilize large amounts of metals in soil solution. Moreover, thanks to specific structural characteristics, the EDTA-metal complex is highly stable, resulting in low biodegradability and high levels of metals readily available for leaching into surface waters and groundwater (Meers et al. 2004).

Nitrilotriacetic acid (NTA), which according to Evangelou et al. (2007), belongs to the APCs, features desirable characteristics for use in phytoextraction, including rapid biodegradation and low toxicity to microorganisms and plants. This chelating agent possesses a tertiary amino group, but compared to other APCs, NTA is a simple complexing agent with a single N atom. In general, this molecule binds divalent metal ions in a 1:1 molar ratio and can be easily degraded by bacteria under both aerobic and anaerobic conditions (Nörtemann 2005).

Biodegradation of the chelate (complex formed between the metal and chelator) depends strongly on the type of metal involved (Van Devivere et al. 2001) and has a weak relationship with the stability constant of the complex (Luo et al. 2005). Another factor that may result in the reduction of the rate of biodegradation is the applied dose of chelators. This effect may be attributed to higher toxicity caused by increasing the concentration of available metal, reducing microbial activity (Meers et al. 2008).

Low molecular weight organic acids can be used as alternatives to APCs for phytoextraction of metals. These acids have an advantage over synthetic chelating agents because they are quickly degraded in soil, greatly reducing the potential risk of contamination to groundwater (Freitas et al. 2009b; Arwidssona et al. 2010). Citric acid, for example, is a tricarboxylic organic acid that can be used as an inducer of phytoextraction. The half-life of

this chelator is estimated between 1.5 to 5.7 days (Meers et al. 2005a). In addition, natural polymers of glutamic acid have been tested for removal of Pb in water treatment (Bodnár et al. 2008), but reports of its application in soils are incomplete.

Study of the degradation rate of chelating agents is important to identifying an environmentally appropriate chelant for *in situ* phytoextraction. Thus, the objective of the present study was to evaluate the degradation rate of the complexes formed between synthetic and organic chelating agents and Pb, with the goal of maximizing the efficiency of phytoextraction and reducing both costs and adverse effects resulting from the leaching of metals.

2 Material and methods

2.1 Soil sample and initial analysis

The soil used in the experiments, classified as Ferrihumiluvic Spodosol (EMBRAPA, 2006), with a sandy texture and originating from a slag deposit area of a company engaged in recycling of automotive batteries in Rio Tinto – PB, Paraíba state, Northeast Brazil (latitude 6°48'21.48" N and longitude 35°04'32.14" O), was collected in the 0-20 cm layer. This soil was chemically and physically characterized (Table 1) according to EMBRAPA (1997, 1999). The total content of Pb, Cd and Ni were determined by EPA Method 3051A in a microwave oven (Mars Xpress) with a ramp time of 8'40" to reach 175 °C, and then by maintaining this temperature for 4'30" (USEPA 1998). After cooling, the samples were transferred to 50-ml certified volumetric flasks (NBR ISO/IEC).

Table 1 Chemical and physical characteristics soil used in the experiment

pH	Al	Ca	Mg	K	Na	H+Al	P	Pb	Cd
H ₂ O 1:2.5	----- cmol _c dm ⁻³ -----					----- mg dm ⁻³ -----			
3.63	0.80	0.65	0.57	0.03	0.27	5.06	3.24	2,171	5.72
Ni	O.C.	Ca*	Mg*	Sand	Silt	Clay	Soil Density		
mg dm ⁻³	g kg ⁻¹	cmol _c dm ⁻³	----- g kg ⁻¹ -----			g cm ⁻³			
47.70	9.21	3.11	1.75	948	22	30	1.64		

O.C.: Organic Carbon. *Values to limed soil (pH 6.0).

2.2 Pot experiment and chemical analysis

Six different chelating agents with different chemical characteristics were investigated in this study: two low-molecular-weight organic acids, citric acid P.A. and commercial citric acid (to make application economically viable), and glutamic acid PA and monosodium glutamate (C₅H₈NNaO₄). Two APCs (NTA and EDTA), as well as a control treatment (contaminated soil without the addition of a chelating agent), were also studied. The chelators were applied at a concentration of 10 mmol dm⁻³ in pots with 1 dm³ of soil contaminated with Pb, both with pH correction and without. In half of the pots, the acidity was adjusted to a pH

between 6.0 and 6.2 using calcium carbonate and magnesium oxide P.A. (molar ratio of 3:1) in quantities previously defined in an incubation test.

The soil was previously watered with distilled water to 30% water holding capacity. Then, saturation was adjusted to 80% with solutions containing the chelators. Before applying the solution, a layer of glass wool was placed on the soil surface to prevent the formation of preferred pathways for solution infiltration into the soil. After the application of the chelators, three subsamples of soil were collected from each treatment every 24 hours. The fourth sample was taken 120 hours after application, and the following samples were taken at regular intervals of five days until a period of 45 days had elapsed. An additional subsample was taken six months after the application of the chelating agents. The content of soluble Pb was evaluated by extraction with calcium chloride (CaCl_2) at a concentration of 10 mmol L^{-1} in a soil:solution ratio of 1:10 (Novozamsky 1993).

All the measurements of extracts were performed by atomic absorption spectrophotometry (Perkin Elmer, Analyst 800). Quality control of the analysis was performed using a reference solution spiked with known concentrations of the metal. The spike was obtained from a 1000-mg L^{-1} Pb stock solution (TITRISOL[®], Merck). This spike was used after every 20 samples analyzed for the determination of Pb.

2.3 Statistical analysis

The experiment employed a completely randomized design with a factorial arrangement of $(6 + 1) \times 2$ corresponding to six chelating agents, one control treatment and two soil conditions, with three replicates for each combination. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA), and the standard deviations of the means were determined. The analyses were performed using the Statistical Analysis System (SAS) software 2.0.

3 Results and discussion

Evaluation of the degradation rate of chelating agents through the determination of the content of soluble Pb at certain periods of time is an indirect but satisfactory measure for evaluating the persistence of the chelate in soil. The reduction of Pb solubility as measured by CaCl_2 indicates the degradation of the chelating agents in the soil. Higher concentrations of available Pb were found in soils without pH correction ($\text{pH} = 3.63$) for both soils receiving the chelating agent and the control. The average content of soluble Pb in the control was 222.42 mg L^{-1} whereas, after adjusting the pH, it was 58.63 mg L^{-1} . As expected, the increase in pH decreased the solubility of the metal.

Table 2 Analysis of variance for chelants applied to soil with and without pH correction and different times of Pb solubility evaluation

Source	Mean Square					
	T24	T48	T72	T120	T240	T360
Correction	371929**	487199**	521495*	608384**	669415*	641865**
Chelant	2735904**	2627322*	2848131**	2139622**	2074238**	1817313**
Residue	812.70	825.44	828.89	904.53	796.13	839.54
C.V. (%)	4.09	4.89	4.55	5.54	5.52	5.97
	T480	T600	T720	T840	T960	T1080
Correction	530100**	428638*	405941*	384011**	385945*	481504**
Chelant	1524583**	1374995**	1129814*	1023866**	981218**	829960*
Residue	823.42	825.38	823.14	828.91	828.91	812.66
C.V. (%)	6.38	6.55	6.99	7.25	8.45	7.61

** , * , and ns: significant at <1%, <5%, and not significant, respectively.

Citric acid P.A. applied to the corrected and uncorrected soil released 1.5 times more Pb than the commercial citric acid (i.e., 149.93 and 102.97 mg L^{-1} of Pb, respectively) 24 hours after application (Fig. 1). The application of commercial citric acid resulted in a high content of soluble Pb after 48 hours in the corrected soil, but the reduction in the levels of the metal 72 and 120 hours was more gradual, at 126.27 and 89.37 mg L^{-1} of soluble Pb, respectively. Meanwhile, these values were 91.30 and 79.80 mg L^{-1} , respectively, for citric acid P.A. In the sampling performed at 240 hours, the average levels of Pb were 64.13 , 63.33 and 67 mg L^{-1}

for citric acid P.A., commercial citric acid and the control in the corrected soil, respectively. These data showed that the degradation of the chelating agent returned the metal solubility to that observed for original soil (without addition of chelating agents).

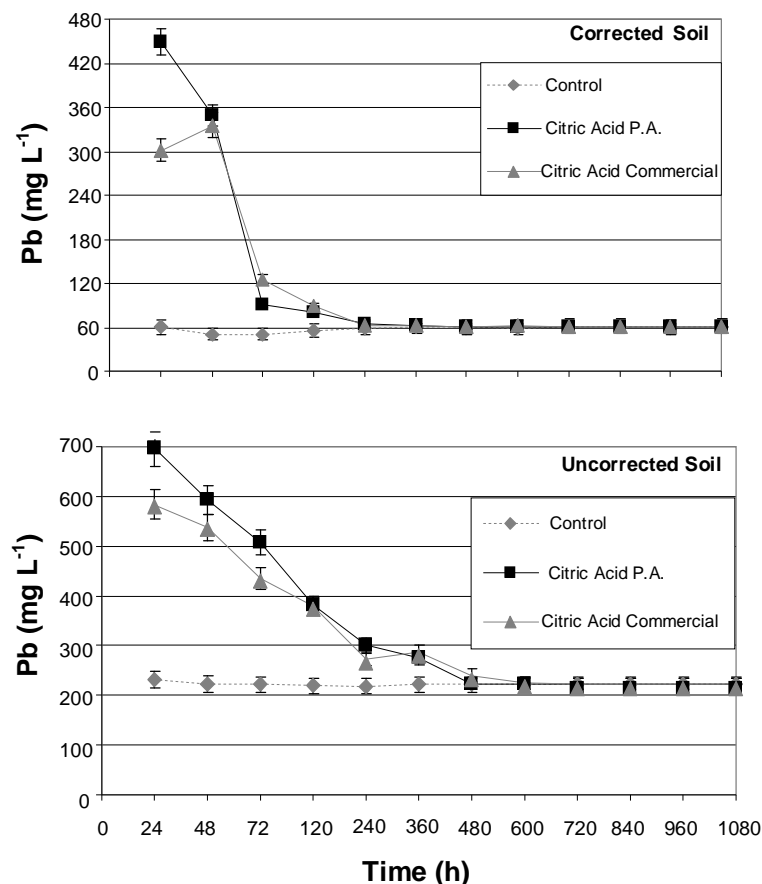


Fig. 1 Pb (mg L^{-1}) concentration available over 45 days (1,080 hours) after application of 10 mmol kg^{-1} of organic chelating agents in corrected and uncorrected soils. Data shown are means \pm standard deviation ($n = 3$).

Other studies have indicated that citric acid is an effective and environmentally safe chelating agent for use in the phytoextraction of metals (Parra et al. 2008; Liu et al. 2008; Freitas et al. 2009a). However, the economic cost of this chelator in the doses required for efficiency can make the process economically unviable. Results of the present study indicated that the efficiency of commercial citric acid is similar to that of citric acid P.A., thus making this commercial chelating agent highly promising for use in *in situ* phytoextraction programs.

The degradation of the chelating agents in both soil conditions occurred intensely after the first 24 hours of contact. In the corrected soil, complete degradation occurred roughly 240 hours after the application of both forms of citric acid. In the uncorrected soil, however, the

stabilization of soluble Pb levels was verified after 480 and 600 hours, respectively, for citric acid P.A. and commercial citric acid. This difference might possibly be explained by the lower biological activity in the soil. For comparison, Meers et al. (2005a) verified that total biodegradation of the chelating agent occurred between 1.5 and 5.7 days in soil. However, their experimental conditions differed from those of the present study, particularly the concentration of Pb (204 mg kg^{-1}) and content of clay in the soil (490 g kg^{-1}). Rapid biodegradation, combined with a lower solubility of Pb, indicated a low potential risk in the use of citric acid for phytoextraction in field conditions. Organic acids are rapidly degraded in soil, preventing groundwater contamination (Evangelou et al. 2006). Furthermore, in a study evaluating the leaching of Pb with the application of 10 mmol dm^{-3} citric acid, Freitas et al. (2009b) found soluble Pb to be only 9.01 mg L^{-1} in the leaching solution.

Glutamic acid was not effective in solubilizing Pb in the corrected soil throughout the evaluation period. In the first sample at 24 hours after application of the acid, the average content of soluble Pb was 55.27 mg L^{-1} , approximately the same as the control (Fig. 2). Where soil was not corrected, the performance of the acid was considerably lower than that of commercial and P.A. citric acids, with Pb levels 4.35 and 5.17 times lower, respectively.

In organic chelating agents, the level of complexation depends on the number and proximity of carboxylic and phenolic groups of the organic acid involved, the soil pH and the concentration and metal involved (Pires and Mattiazzo 2007). Citric acid has a greater capacity for complexation than glutamic acid due to its three carboxylate groups ($-\text{COOH}$) and four phenolic groups ($-\text{OH}$), which have a greater ability to increase solubility. In comparison, glutamic acid has only two phenolic groups (Bucheli-Witschel and Egli 2001; Andrade et al. 2003). Therefore, due to poor solubilization of Pb, glutamic acid may not be useful for phytoextraction programs for this element. Programs for Pb phytoextraction require not only rapid degradation of the chelator but also high complexing capacity and maintenance of relatively high soluble Pb levels.

In the corrected soil, the application of glutamate promoted immobilization of Pb at all times evaluated. In the last sample at 1080 hours, the mean level of remaining metal for the natural soil was equivalent to the control of 60 mg L^{-1} of Pb (Fig. 2). In the condition where the soil was not corrected, Pb levels remained below those of the control throughout the period studied. For the samples taken between 360 and 480 hours, there was an increase in the levels of soluble Pb, a trend that continued until the end of the evaluation period. However, these levels were still below the values obtained for the control.

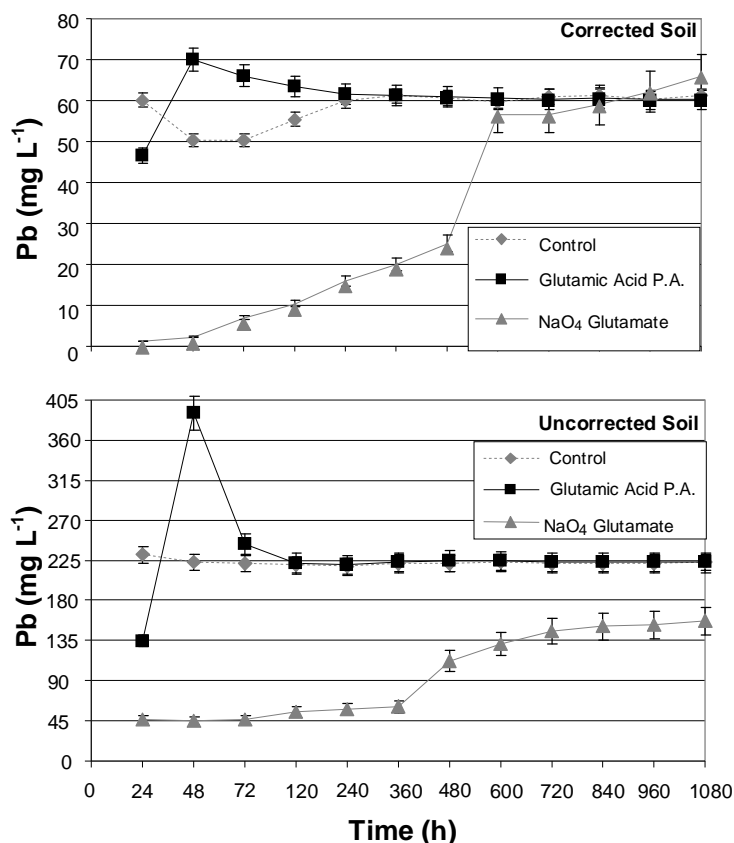


Fig. 2 Pb (mg L^{-1}) concentration available over 45 days (1080 hours) after application of 10 mmol kg^{-1} of glutamic acid and monosodium glutamate in corrected and uncorrected soils. Data shown are means \pm standard deviation ($n = 3$).

Several materials have been used to reduce mobility and toxicity of heavy metals, including limestone, gypsum, phosphates, Fe and Al oxides and organic compounds (Friesl et al. 2006; Pérez et al. 2007). In this context, glutamate may be promising as an alternative for the immobilization of Pb in the area under study because rehabilitation of a polluted area is highly complex and heterogeneous, requiring the application of two or more remediation techniques. Therefore, time of immobilization of the metal, as well as economic viability for application in the field should be further investigated.

The degradation rate of APCs was significantly lower than that of natural organic acids, as verified by high levels of soluble Pb over the 45th day of evaluation. For the synthetic chelating agents, the level of complexation was mainly dependent on chemical affinity between the metal involved and the chelating agent (i.e., stability constant). This affinity is especially high for synthetic organic chelating agents (Martell and Smith 1974). Thus, the application of EDTA and NTA at a dose of 10 mmol dm^{-3} promoted a sharp rise in the levels

of soluble Pb compared to the control and the other two chelating agents under all studied soil conditions (Fig. 3). Moreover, APCs have a known ability to solubilize high levels of heavy metals in soil, including Pb, which is extremely stable in this medium. For example, Freitas et al. (2009b), using a dose of 10 mmol kg^{-1} of NTA and EDTA, obtained 186 and 309 mg L^{-1} of Pb leached into solution, which represented 56 and 34% of the total contamination of the soil, respectively.

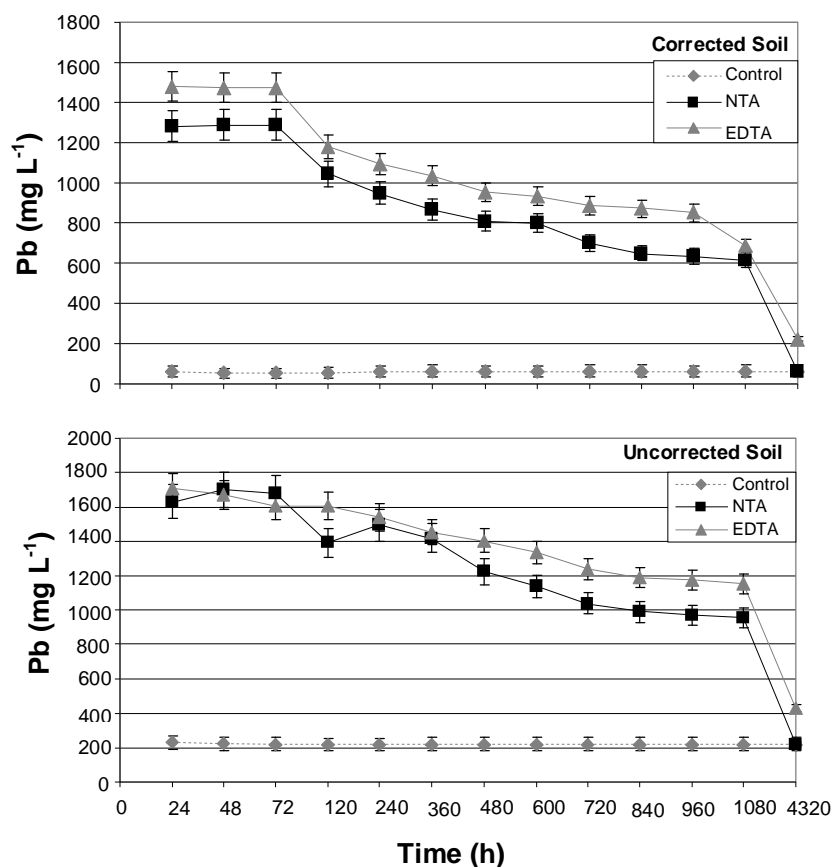


Fig. 3 Pb (mg L^{-1}) concentration available over 45 days (1080 hours) and one additional sample 6 months (4320 hours) after application of 10 mmol kg^{-1} synthetic chelating agents in corrected and uncorrected soils. Data shown are means \pm standard deviation ($n = 3$).

Chelation of Pb by EDTA was greater than NTA throughout the period evaluated. The soluble metal concentrations at 24, 48 and 72 hours corresponded to 1479.01, 1474.67 and $1472.33 \text{ mg L}^{-1}$ with EDTA, and 1281.67, 1290.00 and 1290 mg L^{-1} , respectively, for the NTA (Fig. 3). Soil pH correction, as for the other chelating agents, reduced mobilization of Pb across the experimental period for both chelators. Besides the formation of Pb carbonates and hydroxides at higher pH, increased levels of calcium and magnesium can compete with the complexation of Pb. For example, Meers et al. (2008) observed the interference of Ca with

the complexation of Pb, although the stability constants of Ca-EDTA ($\log K = 10.61$) and Ca-NTA ($\log K = 6.39$) were smaller than those for Pb with the same chelators used in the present study (Bucheli-Witschel and Egli 2001). In addition, the solubility of the metal was 5 and 4.3 times higher than commercial citric acid in corrected soil with application of EDTA and NTA, respectively.

The soil type and source of Pb contamination are important factors in the solubility of the metal (Parra et al. 2008). The same authors found different efficiencies for the solubilization and increased phytoextraction of metal by EDTA and citric acid depending on the source of contamination. When Pb contamination was from paint, EDTA was more efficient than citric acid in the solubilization and extraction of Pb, while when the contamination resulted from ammunition, citric acid was superior for the mobilization of soluble Pb.

The distinct performance of chelating agents might be explained by differences in soil properties and the chemical forms of Pb present. In the soil contaminated with paint, the Pb might be in the form of an oxide (Pb_3O_4), carbonate (PbCO_3), sulfate (PbSO_4), chromate (PbCrO_4) or silicate (PbSiO_3), all of which are stable forms of the metal in soil (Bataillard and Cambier 2003). In soil with fragments of ammunition, Pb is mainly encountered covered by cerussite and hydrocerussite. In the present study, soil contamination was due to the recycling of automotive batteries, so the Pb present in the slag was in the form PbS , formed from PbO and PbSO_4 during the smelting process (Lewis and Beautelement 2002). The presence of competitors on the surfaces of these different sorption components thus has a strong influence on the solubility and complexation of Pb by different chelating agents (Parra et al. 2008).

The synthetic chelating agents presented a similar rate of biodegradation. Degradation of EDTA and NTA, in accordance with reduced levels of soluble Pb, was almost unchanged in the first 72 hours after application to corrected soil (average of 1475 and 1287 mg L^{-1} of Pb, respectively). In the same soil conditions, intensification of the degradation rate of chelating agents occurred at 72 hours, but with maintenance of extremely high levels of soluble Pb throughout the evaluation period. As indicated by other studies (Nörtemann 2005; Evangelou et al. 2007), EDTA showed a lower degradation rate than that of NTA in both soil conditions. This was not surprising, as EDTA forms a highly stable chelate with Pb ($\log K = 17.9$) compared to NTA ($\log K = 11.3$) (Bucheli-Witschel and Egli 2001). The same authors indicated that the biodegradation of EDTA had little relevance as a mechanism for the

elimination of the chelating agent because it was toxic to microorganisms and, depending on the dose applied a reduction in the rate of biodegradation could be obtained.

At the penultimate time point (1080 hours) after application of NTA, the levels of Pb were 10 and 4.3 times higher in corrected and uncorrected soil, respectively when compared to control. These results were not in accordance with other works because the half-life of NTA in soil under aerobic conditions was estimated to be between 3 and 7 days (Shimp et al. 1994). Additionally, Meers et al. (2005b) verified that in soil treated with 1.8 mmol kg^{-1} of NTA, concentrations of soluble metals after 15 days did not differ significantly from the control. Ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS), also defined as a natural APC (Evangelou et al. 2007) with characteristics similar to NTA but with greater stability ($\log K = 12.7$) (Bucheli-Witschel and Egli 2001), was completely degraded 54 days after application (Meers et al. 2008). The authors noted that the experimental conditions acted as a stimulus to biological activity with the cultivation of corn in the soil before application of the chelating agent.

APCs have been recognized as being persistence in soil (Evangelou et al. 2007). In this context, an evaluation at 6 months (4320 hours) after application of EDTA and NTA in soils was performed. The results showed levels of soluble Pb with EDTA 3.6 and 2 times greater than the control, equivalent to 222 and 430 mg L^{-1} of metal, for corrected and uncorrected soils, respectively (Fig. 3). These data indicated the non-degradation of the Pb-EDTA chelate in the time period assessed. In soils with NTA, however, levels of soluble Pb were equivalent to the control, indicating complete degradation of the Pb-NTA chelate.

Photodegradation is identified as the main process responsible for degradation of EDTA in natural systems (Kari and Giger 1995). Under the experimental conditions of this study, the absence of photodegradation might have favored the slower degradation of EDTA and increased the residence time of this chelating agent in the soil. The use of EDTA for *in situ* phytoextraction programs may therefore maintain high levels of soluble Pb for a long period of time, greatly increasing the potential risks of leaching of the metal to groundwater (Meers et al. 2004; Freitas et al. 2009b).

4 Conclusions

The results of this study showed that commercial citric acid, which has a reduced acquisition cost compared to the P.A. composite, adequately solubilized Pb to levels suitable for plant uptake and showed relatively rapid biodegradation in soil, which is associated with a low risk of groundwater contamination. Therefore, this commercial product may be a highly promising alternative for phytoextraction studies in the field. As observed in other studies, the synthetic chelating agents EDTA and NTA demonstrated Pb solubilization ability greater than the capacity for uptake by plants, as well as low rates of biodegradation. Therefore, these agents are not recommended for use in phytoextraction programs due to their high environmental impact.

5 References

- Andrade FV, Mendonça ES, Alvarez V VH, Novais RF (2003) Addition of organic and humic acids to latosols and phosphate adsorption effects. *R Bras Ci Solo* 27:1003–1011 (in Portuguese)
- Arwidssona Z, Elgh-Dalgreenb K, Kronhelma T, Sjöbergc R, Allardb B, Hees P (2010) Remediation of heavy metal contaminated soil washing residues with amino polycarboxylic acids. *J Hazard Mater* 173:697–704
- Bataillard P, Cambier P, Picot C (2003) Short term transformations of lead and cadmium compounds in soil after contamination. *Eur J Soil Sci* 54:1365–2389
- Bodnár M, Kjøniksen AL, Molnár RM, Hartmann JF, Daróczy L, Nyström B, Borbély J (2008) Nanoparticles formed by complexation of poly-gamma-glutamic acid with lead ions. *J Hazard Mater* 153:1185–1192
- Bucheli-Witschel M, Egli T (2001) Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. *FEMS Microbiol Rev* 25:69–106
- Evangelou MWH, Ebel M, Schaeffer A (2007) Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere* 68:989–1003
- Evangelou MWH, Ebel M, Schaeffer A (2006) Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. *Chemosphere* 63:996–1004
- EMBRAPA (2006) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Brasília (in Portuguese)
- EMBRAPA (1999) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual of chemical analysis of soils, plants and fertilizers. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Brasília (in Portuguese)
- EMBRAPA (1997) Manual of chemical analysis of soils. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Brasília (in Portuguese)
- Freitas EVS, Nascimento CWA, Silva AJ, Duda GP (2009a) Citric acid enhances lead phytoextraction from a soil contaminated by automotive batteries. *R Bras Ci Solo* 33:467–473 (in Portuguese)

- Freitas EVS, Nascimento CWA, Biondi CM, Silva JPS, Souza AP (2009b) Lead desorption and leaching in a spodosol amended with chelant agents. *R Bras Ci Solo* 33:517–525 (in Portuguese)
- Freitas EVS, Nascimento CWA (2009) The use of NTA for lead phytoextraction from soil from a battery recycling site. *J Hazard Mater* 171:833–837
- Friesl W, Friedl J, Platzer K, Horak O, Gerzabek MH (2006) Remediation of contaminated agricultural soils near a former Pb/Zn smelter in Austria: Batch, pot and field experiments. *Environ Pollut* 144:40–50
- Kari FG, Giger W (1995) Modeling the photochemical degradation of ethylenediaminetetraacetate in the river Glatt. *Environ Sci Technol* 29:2814–2827
- Lewis AE, Beautement C (2002) Prioritising objectives for waste reprocessing: a case study in secondary lead refining. *Waste Manag* 22:677–685
- Liu D, Islam E, Li T, Yang X, Jin X, Mahmood Q (2008) Comparison of synthetic chelators and low molecular weight organic acids in enhancing phytoextraction of heavy metals by two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. *J Hazard Mater* 153:114–122
- Luo C, Shen Z, Li X (2005) Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59:1–11
- Martell WE, Smith WM (1974) Critical stability constants - Amino acids. Plenum Press, New York
- Meers E, Tack FMG, Verloo MG (2008) Degradability of ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) in metal contaminated soils: Implications for its use soil remediation. *Chemosphere* 70:358–363
- Meers E, Lesage E, Lamsal S, Hopgood M, Vervaeke P, Tack FMG, Verloo MG (2005a) Enhanced phytoextraction: I. Effect of EDTA and citric acid on heavy metal mobility in a calcareous soil. *Int J Phytorem* 7:129–142
- Meers E, Ruttens A, Hopgood MJ, Samson D, Tack FMG (2005b) Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere* 58:1011–1022
- Meers E, Hopgood M, Lesage E, Vervaeke P, Tack FMG, Verloo MG (2004) Enhanced phytoextraction: Search of EDTA Alternatives. *Int J Phytorem* 6:95–109

- Neugschwandtner RW, Tlustoš P, Komárek M, Száková J (2008) Phytoextraction of Pb and Cd from a contaminated agricultural soil using different EDTA application regimes: laboratory versus field scale measures of efficiency. *Geoderma* 144:446–454
- Nörtemann B (2005) Biodegradation of chelating agents: EDTA, DTPA, PDTA, NTA and EDDS. In: Nowack B, Vanbriesen JM (eds) *Biogeochemistry of chelating Agents*, American Chemical Society, Washington, pp 150–170
- Novozamsky I, Lexmond TM, Houba VJG (1993) A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. *Int J Environ Anal Chem* 51:47–58
- Parra R, Ulery A, Elless MP, Blaylock MJ (2008) Transient phytoextraction agents: establishing criteria for the use of chelants in phytoextraction of recalcitrant metals. *Int J Phytorem* 10:415–429
- Pérez AM, Madrid F, Cabrera F, Madejón E (2007) Amendments and plant cover influence on trace element pools in a contaminated soil. *Geoderma* 139:1-10
- Pires AMM, Mattiazzo ME (2007) Kinetics of heavy metal solubilization by organic acids in sludge-treated soils. *R Bras Ci Solo* 31:143–151 (in Portuguese)
- Shimp RJ, Lapsins EV, Ventullo RM (1994) Chemical fate and transport in a domestic septic system: Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and nitrilotriacetic acid (NTA). *Environ Toxicol Chem* 13:205–212
- USEPA (1998) United States Environmental Protection Agency. Method 3051A – Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://www.epa.gov/SW-846/pdfs/3051a.pdf>. Accessed 29 April 2011
- Van Devivere PC, Saveyn H, Verstraete W, Feijtel TCJ, Schowanek DR (2001) Biodegradation of metal–[S,S]-EDDS complexes. *Environ Sci Technol* 35:1765–1770
- Zhao S, Lian F, Duo L (2011) EDTA-assisted phytoextraction of heavy metals by turfgrass from municipal solid waste compost using permeable barriers and associated potential leaching risk. *Biores Technol* 102:621–626.

|| CAPÍTULO II ||

FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO EM CAMPO INDUZIDA POR ÁCIDO CÍTRICO

RESUMO

A contaminação antrópica dos solos com metais pesados tem se tornado um sério problema ambiental, fazendo com que sejam necessárias ações remediadoras para a recuperação de solos contaminados. Este trabalho objetivou avaliar o desempenho do milho (*Zea mays*) e vetiver (*Chrysopogon zizanoides*), em diferentes espaçamentos de cultivo, na fitoextração induzida de Pb por ácido cítrico em área contaminada por resíduos de baterias automotivas. Os tratamentos foram constituídos pelos espaçamentos de 0,80 m, 0,65 m e 0,50 m, entre linhas, para as plantas de milho e vetiver. O ácido cítrico (40 mmol kg^{-1}) foi aplicado em cada parcela experimental no 61º dia de cultivo visando solubilizar o chumbo. De modo geral, nos espaçamentos mais adensados, o ácido cítrico aumentou em 14 vezes o teor de Pb na parte aérea do milho em relação ao controle, que acumulou apenas $111,01 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb. No vetiver, o quelante promoveu um aumento na concentração de Pb de 7,2 e 6,7 vezes respectivamente nos espaçamentos 0,65 m e 0,50 m, em relação ao controle. A aplicação de ácido cítrico na dose de 40 mmol kg^{-1} de solo foi eficiente na solubilização do Pb do solo e na indução da absorção de Pb pelas espécies. Devido à economicidade e alta biodegradabilidade, o ácido cítrico comercial é indicado para uso na área. Devido a baixa solubilidade natural do Pb e ao elevado tempo requerido (mais de 150 anos), a fitoextração sem aplicação de quelantes não é viável para remediar a área em estudo. O espaçamento convencionalmente utilizado para as espécies estudadas (0,80 m) e o milho no espaçamento 0,65 m, aliados a aplicação de quelante, são os programas de fitoextração recomendados para a remediação de setores da área com contaminação moderada de chumbo. Para concentrações mais elevadas do metal, outras abordagens de remediação devem ser adotadas visando tornar o processo prático e economicamente viável.

Termos para indexação: fitorremediação; quelante orgânico; contaminação do solo.

ASSISTED PHYTOEXTRACTION OF LEAD BY CITRIC ACID: A FIELD EXPERIMENT

ABSTRACT

Soil contamination with heavy metal has become a serious environmental problem that requires affordable strategies of remediation. The work was carried out to assess the performance of maize (*Zea mays*) and vetiver (*Chrysopogon zizanoides*) used to phytoextract Pb from a soil contaminated by battery recycling activities. The treatments comprised the two species in different plant spacing between rows (0.80 m, 0.65 m, and 0.50 m). Citric acid (40 mmol kg⁻¹) was applied on each experimental parcel at the 61th day of cultivation in order to solubilize Pb and assist phytoextraction. The results showed that the chelant promoted a 14-fold increase in the Pb concentration in maize shoots as compared to control that accumulated only 111.01 mg kg⁻¹ of the metal. For vetiver, the citric acid induced a Pb concentration in shoots that was 7.2 and 6.7-fold higher than control at the 0.65 m and 0.50 m plant spacing, respectively. In general, using citric acid increased substantially the uptake and translocation of Pb to plants shoots regardless the plant spacing. Citric acid was efficient in solubilizing Pb from soil and inducing its uptake by both species. Owing to be environmental-friendly and cost effective, commercial citric acid is recommended for assisting Pb-phytoextraction in the area. Due to low natural solubility of Pb and the time frame higher than 150 years to accomplish the clean-up, phytoextraction with no chelant assistance is not recommended for the area. The regular plant spacing to the studied species (0.80 m) and the maize spacing of 0.65 m along with citric acid addition are the phytoextraction strategies indicated to remediate low-to-moderate Pb contamination subareas. Regarding high metal concentration in soil, others remediation approaches must be used.

Key words: Phytoremediation, organic chelants; soil contamination.

1. Introdução

A contaminação antrópica dos solos com metais pesados e outros poluentes ocorre cada vez mais frequentemente e tem se tornado um dos problemas ambientais mais preocupantes das últimas décadas. Diferentemente dos contaminantes orgânicos, os metais pesados não podem ser mineralizados ou decompostos, e uma ação remediadora de remoção pode ser exigida para garantir a funcionalidade dos ecossistemas.

O Pb é um dos mais frequentes poluentes inorgânicos em solos (Alkorta et al., 2004). O metal apresenta uma elevada persistência no solo e é potencialmente tóxico mesmo em baixas concentrações. Nos Estados Unidos, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) considera como sendo de alto risco para a saúde humana valores entre 400 e 500 mg kg⁻¹ de Pb no solo (USEPA, 2001). No Brasil, A resolução 420 do Conselho nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece 180, 300 e 900 mg kg⁻¹ de Pb como valores de investigação, respectivamente para áreas agrícolas, residencial e industrial (CONAMA, 2009).

Para ações remediadoras de solos contaminados por metais pesados, estão disponíveis técnicas convencionais, tais como escavação, aterramento, fixação, lixiviação e, alternativamente, tecnologias emergentes tais como fitorremediação, especialmente indicada para áreas moderadamente poluídas. Entre as técnicas de fitorremediação, a fitoextração, que remove metais do solo através da absorção e subsequente translocação das raízes para a parte aérea das plantas (Pivetz, 2001), frequentemente é proposta para a recuperação de solos contaminados por metais devido ao seu menor custo, aceitação pública e menor impacto ambiental.

A solubilização de metais pela aplicação de quelantes naturais ao solo aliada ao cultivo de plantas de alta produção de biomassa, como milho (*Zea mays*), mostarda da Índia (*Brassica Juncea*) e vetiver (*Chrysopogon zizanooides*), pode ser particularmente atrativa em virtude da amenização dos efeitos adversos relacionados aos quelantes sintéticos. Entre os quelantes naturais, o ácido cítrico tem sido um dos mais estudados para fitoextração. Os resultados de pesquisas, no entanto, são discordantes. Por exemplo, alguns trabalhos mostraram baixa eficiência do ácido cítrico na indução da fitoextração de Pb (Melo et al., 2006; Evangelou et al., 2006; Melo et al., 2008), enquanto outros indicaram uma promissora utilização do quelante como indutor da fitoextração de Pb em um solo contaminado por baterias automotivas (Freitas et al., 2009; Araújo & Nascimento, 2010). A divergência dos resultados podem ser decorrentes de diferentes condições de solo (teores, solubilidade e

número de diferentes metais contaminantes), da produção de biomassa e da capacidade de translocação de metais para a parte aérea das espécies fitoextratoras.

De qualquer maneira, os trabalhos de campo com fitoextração induzida, especialmente com ácidos naturais, são muito escassos e são essenciais para a avaliação da exequibilidade técnica e ambiental da tecnologia. Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar o desempenho do milho e vetiver na fitoextração induzida de Pb por ácido cítrico em campo, em uma área contaminada por resíduos de baterias automotivas. O trabalho também avaliou espaçamentos específicos para a técnica de fitoextração em campo, visando a otimização da distribuição do sistema radicular das plantas.

2. Material e Métodos

2.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi realizado em uma área de deposição de escórias no entorno da indústria METAIS PB – LTDA, que atua na reciclagem de baterias elétricas automotivas, localizada no Sítio Capim Azul, km 28 da BR 101, município de Rio Tinto, PB (Figura 1). A empresa está situada entre as coordenadas geográficas $06^{\circ}48'11''$ de latitude sul e $35^{\circ}04'50''$ de longitude oeste. A precipitação pluvial no período do experimento (meses de março até julho) foi de 22,7; 196,8; 78,8; 164,9; e 96,3 mm, respectivamente (AESAs, 2011).

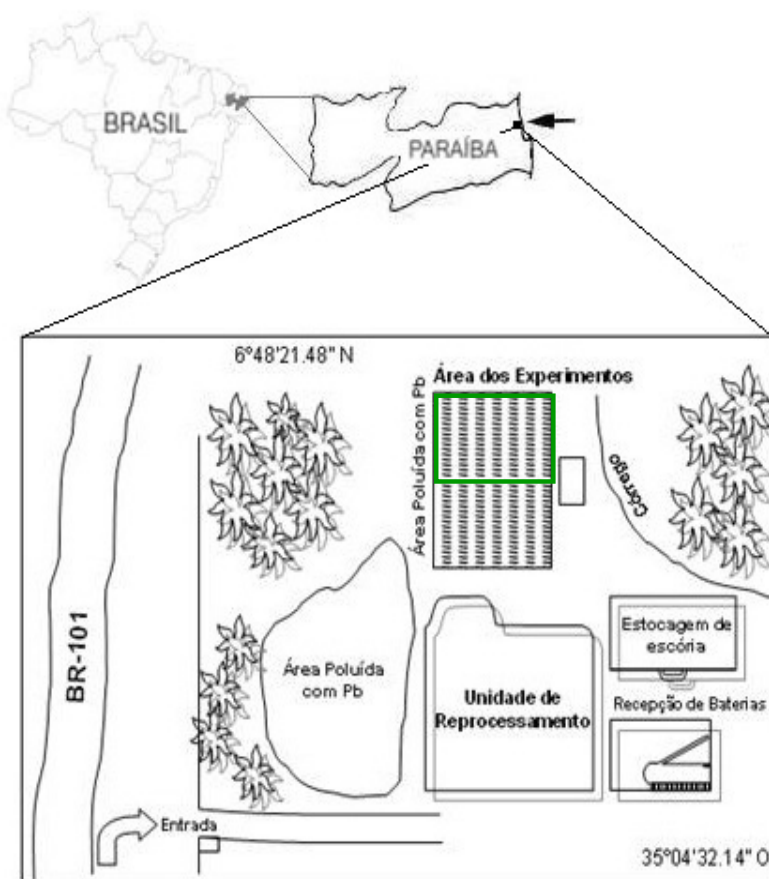


Figura 1. Representação e localização da área experimental.

2.2 Preparo do solo e amostragem

O solo da área foi classificado como Espodosolo Ferrihumilúvico (EMBRAPA, 2006). Foram realizadas quatro amostragens durante a condução do experimento, na parte central de cada parcela experimental. A primeira amostragem foi realizada antes da correção da acidez do solo, na camada de 0-20 cm, sendo as amostras secas ao ar, destorroadas e peneiradas em tamiz de 2 mm. A amostra de solo (TFSA) foi caracterizada química e fisicamente segundo EMBRAPA (1997, 1999) (Tabela 1). O Pb foi extraído pelo método EPA 3051A em forno de microondas (Mars Xpress), com um tempo de rampa de 8'40" para atingir 175°C, mantendo-se esta temperatura por mais 4'30" (USEPA, 1998).

Tabela 1. Principais características químicas e físicas do solo da área experimental

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

C.O.: Carbono Orgânico. *Valor médio (n = 32).

O preparo do solo consistiu na gradagem para incorporação dos restos vegetais e homogeneização da área, seguida da aplicação e incorporação manual de calcário dolomítico (Figura 2) na dose 4,74 t ha⁻¹ para suprir a carência de Ca e Mg e elevar o pH do solo para a

faixa de 6,0 – 6,2. A necessidade de calagem foi determinada previamente em ensaio de incubação. A quantidade aplicada de calcário foi determinada segundo Cavalcanti (2008).



Figura 2. Área experimental: a) antes do preparo do solo; b) Gradagem; c) área pronta; d) aplicação do calcário dolomítico.

2.3 Plantio e adubação das plantas

Para fitoextração foram utilizadas as espécies milho (*Zea mays* L.) e vetiver (*Chrysopogon zizanoides* (L.) Roberty). Aos 30 dias após a aplicação do calcário dolomítico foi realizado a semeadura do milho (cultivar AG 1051) utilizando uma plantadeira manual (Figura 3a). Na semeadura foram plantadas de 3 a 4 sementes/cova com um espaçamento na linha de 20 cm. Aos 10 dias após o plantio foi realizado um desbaste deixando apenas uma planta/cova, totalizando 5 plantas por metro linear. Para o plantio de vetiver foram utilizadas mudas com 30 dias de perfilhamento com tamanho médio das folhas de 12 cm. As mudas foram produzidas no viveiro de fruticultura do Centro de Ciências Agrárias da UFPB em Areia-PB. O vetiver foi plantado em covas, uma muda/cova, em um espaçamento entre plantas de 30 cm (Figura 3b).

Realizou-se uma adubação em sulcos paralelos as linhas de cultivo de 30 kg ha⁻¹ de N; 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 30 kg ha⁻¹ de K₂O para ambas as espécies de acordo com o manual de

recomendação de fertilizantes do estado de Pernambuco (Cavalcanti, 2008) (Figura 3c). Uma adubação de cobertura com 30 kg ha^{-1} de N foi realizada 35 dias após o plantio.

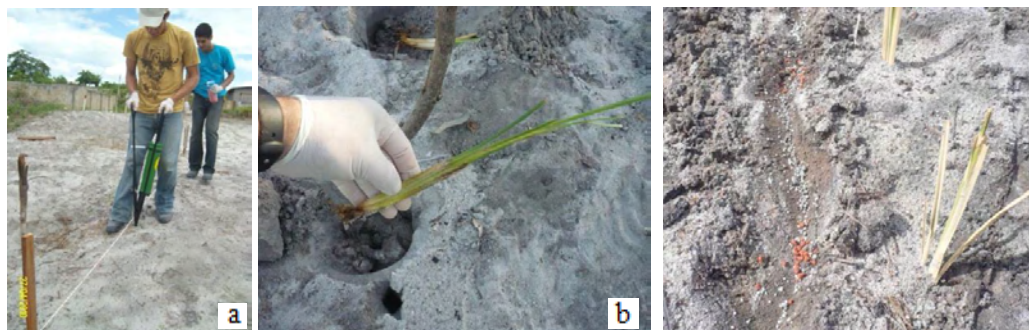


Figura 3. Representação do plantio do milho (a), vetiver (b) e adubação (c).

2.4 Condução e aplicação de quelantes

Os tratamentos foram constituídos por diferentes espaçamentos entre linhas: 0,80 m (com e sem aplicação de quelante), 0,65 m e 0,50 m. A utilização de espaçamentos mais adensados que os agronomicamente recomendados visa à maximização da distribuição do sistema radicular das plantas em relação ao volume de solo. A área ocupada por planta correspondeu a 0,16; 0,13 e 0,10 m^2 , equivalente às densidades de 62.500, 76.923 e 100.000 plantas ha^{-1} , respectivamente, para milho e, 0,24; 0,20 e 0,15 m^2 , equivalente às densidades de 41.667; 51.282 e 66.667 plantas ha^{-1} , respectivamente, para vetiver. O trabalho foi composto por 32 parcelas experimentais, com 15 m^2 de área, somado a distância entre parcelas, com um tamanho total de 600 m^2 (Figura 4a).

O ácido cítrico foi aplicado no solo na concentração de 40 mmol kg^{-1} no 61º dia de cultivo para ambas as espécies. A aplicação do quelante foi realizada manualmente utilizando um regador com capacidade para 12 litros de solução (Figura 4b). A escolha do quelante e dose foi baseada em ensaios prévios (Melo et al., 2008; Freitas et al., 2009). Foi utilizado um ácido cítrico comercial proveniente da indústria alimentícia, que apresenta capacidade de solubilizar Pb em quantidade adequada para a absorção das plantas e um baixo custo de aquisição em relação ao ácido cítrico reagente analítico (PA). Em testes de laboratório, esse produto apresentou a mesma eficiência de solubilização de Pb que o ácido cítrico PA. A dose do quelante em campo (DQC) em t ha^{-1} foi calculada pela seguinte equação:

$$DQC = [(Q_{SOLOH} \times V_{AP}) \div (A_{PP} \times ds \times p \times 10^{-3})] \times Q_{AcCi} \times 10^{-6} \quad (1)$$

Q_{SOLOH} = Quantidade de solo em 1 ha (kg);

V_{AP} = Volume de solução [40 mmol kg⁻¹] aplicado por planta, adotado 3 L de acordo com estudo de Freitas et al. (2009);

A_{PP} = Área ocupada por planta (cm²);

ds = Densidade do solo (g cm⁻³);

p = profundidade de solo considerada, 20 cm;

Q_{AcCi} = Quantidade de ácido cítrico (g) para preparar 1 L de solução na concentração de 40 mmol kg⁻¹;

As doses do quelante equivalente em campo em função da área ocupada por planta foram 1,58; 1,95; e 2,54 t ha⁻¹ para milho e 1,06; 1,30 e 1,69 t ha⁻¹ para vetiver, nos respectivos espaçamentos.



Figura 4. Representação da parcela experimental (a), aplicação do ácido cítrico (b) e coleta de plantas de milho (c).

2.5 Coleta de material e análises químicas

2.5.1 Planta

No 69º dia de cultivo foi realizada a coleta da parte aérea das plantas cortando-as na base, rente ao solo (Figura 4c). Em seguida as plantas foram acondicionadas em sacos plásticos para o transporte. No laboratório de Fertilidade do Solo da UFRPE, foi realizada a limpeza da parte aérea das espécies com água de torneira e, em seguida com água destilada. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea, a qual, após secagem em estufa à 65 °C, foi triturada em moinho tipo Wiley e submetida a digestão pelo método EPA 3051A em

forno de microondas (USEPA, 1998). Após resfriamento, as amostras foram transferidas para balões certificados (NBR ISO/IEC) de 50 mL.

Todas as leituras dos extratos provenientes da digestão foram realizadas por meio de espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer, AAnalyst 800). Para as análises de Pb foi realizado um controle de qualidade utilizando solução de referência (*spike*) com concentração conhecida do metal de 10 mg L⁻¹. O *spike* foi obtido a partir de solução-estoque de 1000 mg L⁻¹ (TITRISOL®, Merck), com concentração igual ao ponto central da curva de calibração do aparelho, para o metal. O controle (*spike*) foi utilizado a cada 10 amostras analisadas durante as leituras do Pb no absorção atômica.

A eficiência das espécies em absorver o Pb do solo foi avaliada pela Remoção Líquida (RL) do metal, expressa em g ha⁻¹, da seguinte maneira:

$$RL = [Pb]_{PA} \times MS \times 10^{-3} \quad (2)$$

$[Pb]_{PA}$ = Concentração de Pb na parte aérea (mg kg⁻¹);

MS = Produção de matéria seca da parte aérea (kg ha⁻¹).

A estimativa de tempo (t) para a recuperação da área foi calculado com base no teor total de Pb no solo em amostras coletadas antes do plantio, no Valor de Investigação de 900 mg kg⁻¹ de Pb para áreas industriais (CONAMA, 2009), como também no valor da RL promovida pelas plantas de milho e vetiver em um cultivo. A seguinte equação foi utilizada:

$$t = [((Q_{[Pb]_{solo}} - Q_{[Pb]_{VI}}) \div RL)] / \div c \quad (3)$$

t = tempo necessário para a recuperação da área (anos);

$Q_{[Pb]_{solo}}$ = Concentração total de Pb no solo (mg kg⁻¹);

$Q_{[Pb]_{VI}}$ = Valor de investigação do CONAMA;

c = Número de cultivos por ano, definido pela seguinte relação: 365 dias do ano \div 69 dias que foi a duração do experimento, resultando em 5 cultivos anualmente.

2.5.2 Solo

Como mencionado anteriormente, foram realizadas quatro coletas de solo ao longo da condução do experimento. As coletas visaram o acompanhamento da variação dos teores solúveis de Pb de acordo com as alterações químicas do solo. A primeira coleta foi realizada antes da calagem, a segunda 30 dias após a correção (plantio), a terceira no dia da aplicação

do quelante (61° DAP) e a quarta 8 dias (69° DAP) após a aplicação do ácido cítrico. Todas as coletas foram realizadas na posição central da parcela experimental, coletando-se cinco amostras simples na profundidade de 20 cm, que foram homogeneizadas para formação de uma amostra composta. Os teores solúveis de Pb no solo foram obtidos utilizando o cloreto de cálcio (CaCl_2) na concentração de 10 mmol L^{-1} , na relação solo:solução de 1:10 (Novozamsky et al., 1993). Este extrator foi utilizado por representar bem os teores de metais presentes na solução do solo (Melo et al., 2006).

Na quarta coleta, além dos teores solúveis de Pb, foi realizado uma extração sequencial do metal 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) e a determinação do teor total de Pb também nessa amostragem, utilizando o método EPA 3051A (USEPA, 1998). O 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 $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ 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 filtração. Todas as leituras dos extratos provenientes das quatro frações foram realizadas por meio de espectrofotometria de absorção atômica.

2.4 Delineamento e Análise estatística

Os tratamentos foram dispostos em um delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial, utilizando milho e vetiver em três diferentes espaçamentos, com quatro repetições. Os dados foram submetidos às análises de variância e teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o Programa SAEG 9.1 (UFV, 2007).

3. Resultados e Discussão

3.1 Concentração total, solúvel e distribuição do Pb nas frações no solo

Uma das limitações ao sucesso da fitoextração em condições de campo é a elevada variação na concentração dos metais no solo que torna a absorção pelas raízes muito desuniforme, mesmo em pequenas distâncias. Wowk & Melo (2005), avaliando a contaminação de Pb em solos de várzea de uma área que foi influenciada pela reciclagem de baterias automotivas, encontram concentrações de Pb que variaram de 87,4 à 2.399,60 mg kg⁻¹ na camada superficial de 0 - 10 cm. Para o caso da área em estudo, foi realizada uma gradagem com a finalidade de homogeneizar a área em relação à distribuição do Pb e tornar a remoção do metal mais eficiente. Apesar desse procedimento, ainda foi observada elevada heterogeneidade (medido pelo desvio padrão da média) nas concentrações de chumbo (Figura 5). As maiores concentrações médias de Pb ocorreram nas parcelas de milho no espaçamento 0,50 m e vetiver no espaçamento 0,65 m, com 2.228,84 e 1.553,02 mg kg⁻¹ do metal, respectivamente.

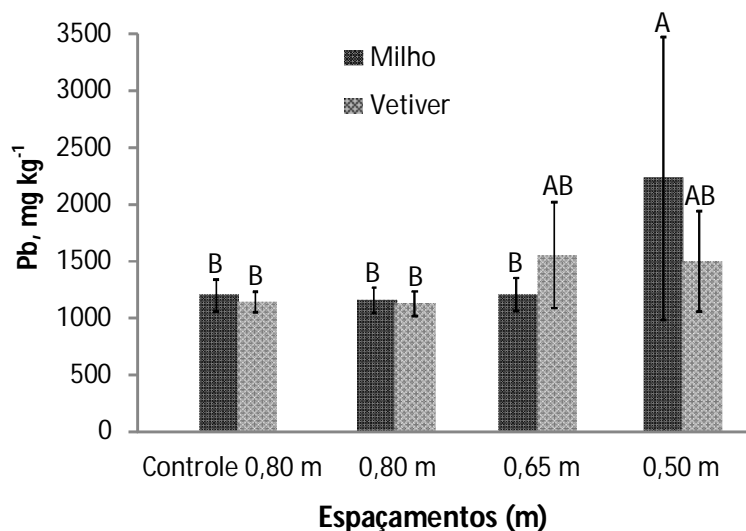


Figura 5. Concentração total de Pb no solo, cultivado com milho e vetiver em diferentes espaçamentos, após a aplicação de ácido cítrico. Médias com letra igual não diferem estatisticamente de acordo com o Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

A evolução dos teores solúveis de Pb no solo ao longo do experimento está apresentada na Figura 6. As maiores concentrações de Pb solúvel foram de 329,47 e 325,57 mg L⁻¹ no milho, espaçamento 0,50 m e vetiver, espaçamento 0,65 m antes da calagem (pH =

3,63), respectivamente. Em pH baixo, ocorre a predominância de cargas positivas no solo devido aos íons H_3O^+ ficarem adsorvidos na superfície dos coloides, o que inibe a adsorção de metais devido a repulsão entre o colóide e o metal, desfavorecendo as reações de adsorção e aumentando a biodisponibilidade dos metais. A calagem promoveu redução nos teores solúveis de Pb no solo em todas as parcelas. Por outro lado, a aplicação de 40 mmol kg^{-1} de ácido cítrico promoveu a elevação desses teores no solo. Por exemplo, no vetiver espaçamento 0,65 m, a solubilidade de Pb aumentou de $136,01 \text{ mg L}^{-1}$ para $314,01 \text{ mg L}^{-1}$. Sete dias após a aplicação do quelante, ocorreu uma redução acentuada dos teores solúveis de Pb, o que indica a degradação do ácido cítrico no solo. Os ácidos orgânicos apresentam uma rápida degradação no solo, o que evita efeitos de contaminação de lençóis freáticos (Evangelou et al., 2006) mas também limitam sua ação continuada na solubilização de metais no solo e, conseqüentemente, a fitoextração.

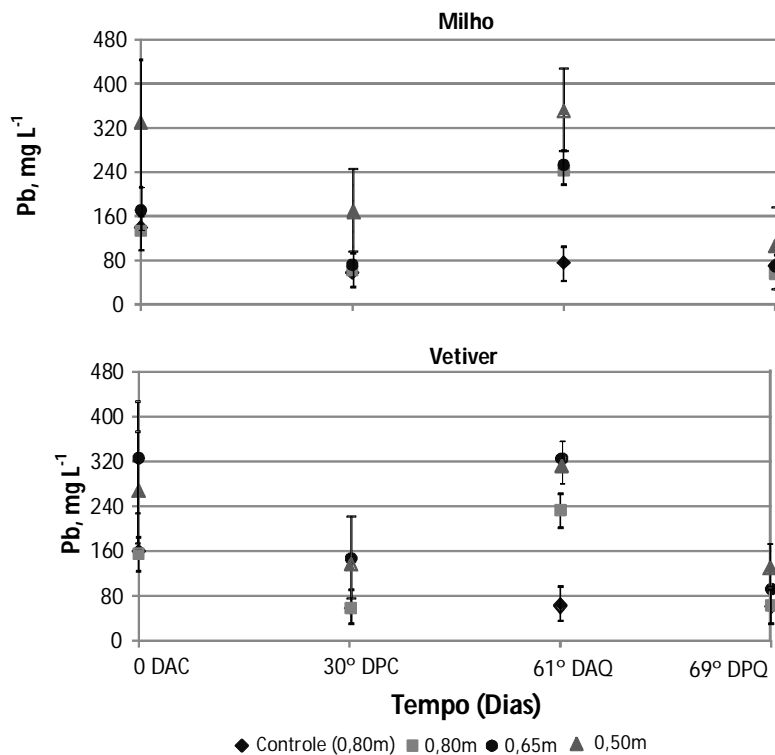


Figura 6. Evolução dos teores solúveis de Pb do solo extraído por $CaCl_2$ em função do tempo de cultivo das espécies vegetais nos espaçamentos. DAC: Dia antes da correção do solo; DPC: 30 dias pós-correção do solo; DAQ: 61 dias após o plantio, aplicação do quelante e DPQ: 69 dias após o plantio, pós-aplicação do quelante. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

Com relação à distribuição de Pb nas diferentes frações do solo, a fração trocável apresentou maiores teores do metal para todas as parcelas, independentemente dos

tratamentos (Tabela 3). Os resultados estão de acordo com Freitas et al. (2009), que encontram a mesma predominância da distribuição do Pb em solo coletado na mesma área. Os Espodossolos têm como material de origem quartzitos, arenitos ou sedimentos quartzosos, apresentando normalmente textura arenosa ao longo do perfil. Portanto, a capacidade de retenção de metais neste solo está condicionada principalmente pela matéria orgânica, visto que o teor de argila do solo estudado é de apenas 30 g kg⁻¹. Este resultado demonstra a possibilidade de labilidade do Pb neste solo, especialmente quando sob condições ácidas, e elevado risco de contaminação da cadeia trófica via absorção pelas plantas.

Tabela 3. Concentração de Pb nas frações do solo (trocável - Tr, matéria orgânica - MO, óxido de ferro amorfo - OxFeA e óxido de ferro cristalino – OxFeC), cultivado com milho e vetiver nos diferentes espaçamentos, aos 69 dias após o plantio

Fração	Controle	0,8 m	0,65 m	0,50 m
mg kg ⁻¹				
Milho				
Tr	683,12 B	665,89 B	688,15 B	2097,11 A
MO	168,21 B	162,46 B	169,62 B	515,23 A
OxFeA	108,45 B	104,78 B	109,49 B	331,54 A
OxFeC	72,67 B	69,86 B	72,27 B	221,72 A
Vetiver				
Tr	651,48 B	642,71 B	885,56 AB	1320,29 A
MO	160,55 A	158,42 A	217,86 A	210,26 A
OxFeA	103,25 A	101,63 A	140,52 A	135,52 A
OxFeC	69,85 A	68,26 A	93,89 A	90,24 A

Os valores com letras iguais, na linha, não diferem estatisticamente de acordo com Teste Tukey com p<0,05.

Considerando as diferenças nas características granulométricas dos solos, a distribuição de Pb encontrada por Wowk & Melo (2005) em um solo argiloso, constituído de minerais com maior atividade e capacidade de retenção de metais (Organossolo com 559 g kg⁻¹ de argila), também contaminado pela atividade de reciclagem de baterias automotivas, apresentou predominância do metal em frações mais recalcitrantes, oxídicas e residual. A mesma tendência de distribuição em frações menos solúveis foi observado por Neugschwandtner et al. (2008) em um solo com 418 g kg⁻¹ de argila e contaminado por

atividades de mineração e fundição. Neste caso, 68% do Pb estava ligado a fração óxido de Fe amorfo.

3.2. Produção de matéria seca das plantas

Os primeiros sintomas visíveis de fitotoxidez foram verificados nas plantas de milho apenas nos espaçamentos 0,65 m e 0,50 m no 50º dias após o plantio, manifestados na forma de leve clorose nas folhas (Figura 7a). Em trabalho *ex situ* com solo coletado na mesma área, Araújo & Nascimento (2010) não observaram sintomas visuais de fitotoxidez em 63 dias de cultivo de milho. Nenhum sintoma visual de toxidez foi observado nas plantas de vetiver antes da aplicação do quelante, até o 61º DAP, (Figura 7b). Isto corrobora os resultados (Antiochia et al., 2007; Alves et al., 2008; Marques et al., 2009) que verificaram alta tolerância de vetiver em condições de elevada contaminação de Pb.



Figura 7. Espécies vegetais: (a) clorose nas folhas de milho; (b) Vetiver no controle aos 45º DAP; (c) Milho no espaçamento 0,50 m, antes da aplicação do quelante no 61º DAP; (d) Milho (0,65 m), após a aplicação do quelante no 62º DAP; (e) Vetiver (0,65 m), antes da aplicação do quelante e (f) Vetiver (0,50 m), após a aplicação do quelante.

Para ambas as espécies nos diferentes espaçamentos, a aplicação de 40 mm kg⁻¹ de ácido cítrico promoveu elevada toxidez (Figuras 7d e 7f). Esses sintomas foram observados

logo no 1º dia após aplicação, tornando-se mais intenso ao longo do tempo (Figuras 7e e 7f). Os resultados corroboram Freitas et al. (2009), que verificaram elevados sintomas visuais nas plantas de milho a partir da dose de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico, no dia seguinte a aplicação. O mesmo não foi observado por Araújo & Nascimento (2010), que constataram sintomas visuais em plantas de milho apenas a partir do 7º dia após aplicação de 30 mmol kg⁻¹ do mesmo quelante.

A cultura do milho é tradicionalmente implantada no Brasil com espaçamentos agrônômicos entre linhas de 0,80 e 0,90 m. No cultivo de milho e vetiver, a produção de matéria seca foi significativamente maior quando ambas as plantas foram cultivadas nos espaçamento agrônômico (0,80 m) em relação aos espaçamentos mais adensados (0,65 e 0,50 m) (Figura 8). Gomes et al. (2011) observaram uma tendência geral de diminuição da massa de matéria seca da parte aérea da cultivar AG 1051 com o aumento da população de 30.000 para 90.000 plantas ha⁻¹. De modo geral, na medida em que se aumenta a densidade de plantio também se aumentava o índice de área foliar e a interceptação da luz e, conseqüentemente, reduz-se a capacidade fotossintética das folhas basais (Suwa et al., 2010). Não houve diferença na produção de matéria seca entre as parcelas do milho com 0,80 m de espaçamento que receberam a aplicação de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico e o controle.

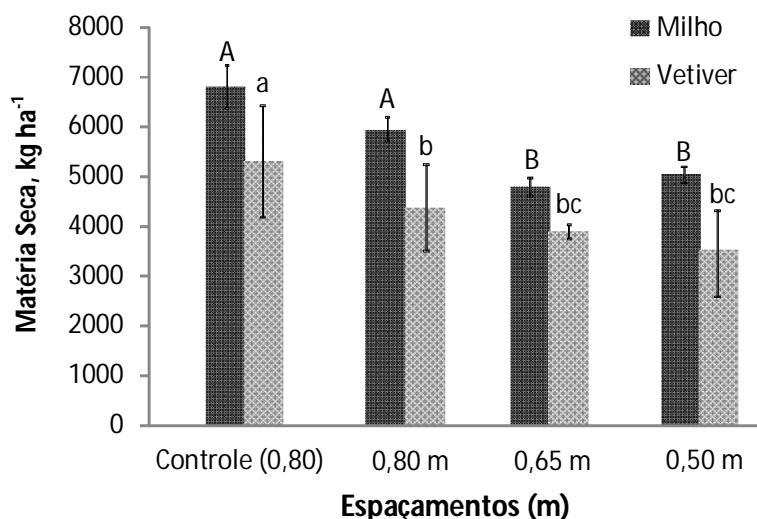


Figura 8. Produção de matéria seca da parte aérea de milho e vetiver nos espaçamentos 0,80, 0,65 e 0,50 m após a aplicação de ácido cítrico. Médias com letra igual não diferem estatisticamente de acordo com o Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

Nos espaçamentos 0,65 m e 0,50 m, a produção de biomassa do milho foi de 5.035,52 e 4.793,65 kg ha⁻¹, respectivamente, enquanto que no controle e no espaçamento 0,80 m com

aplicação de quelante, esta produção foi de 6.804,36 e 5.915,41 kg ha⁻¹. O número de trabalhos de fitoextração induzida de Pb em campo é bastante reduzido, como exemplo de aplicação, Neugschwandtner et al. (2008) avaliaram a fitoextração de Pb por milho com 90 dias de cultivo em campo com aplicação de doses crescentes de EDTA, e obtiveram uma produção de biomassa de 9.000 e 7.000 kg ha⁻¹, respectivamente, no controle e no tratamento que recebeu uma dose de 3 mmol kg⁻¹ de EDTA. Os mesmos autores reportaram que as doses de EDTA, mesmo para as menores concentrações, promoveram significativa redução da biomassa das plantas. Araújo & Nascimento (2010) não verificaram influencia na produção de matéria seca do milho com a aplicação de ácido cítrico em 63 dias de cultivo. Meers et al. (2010), avaliaram seis cultivares de milho em solo com concentração de 200 mg kg⁻¹ de Pb, limite regulatório para solos agrícolas na Bélgica, e obtiveram como melhor resultado, 4500 kg ha⁻¹ de biomassa aérea.

O vetiver apresentou uma produção de biomassa de 3515,18 e 3.894,49 kg ha⁻¹, nos espaçamentos 0,65 m e 0,50 m, respectivamente. Os resultados são maiores do que os encontrados por Marques (2009), trabalhando em área adjacente sem correção de pH ou adubação e com a mesma fonte de poluição de Pb no solo. Este autor obteve uma produtividade de 2.496,88 kg ha⁻¹ de vetiver em 60 dias de cultivo, utilizando um espaçamento de 0,4 m entre linhas, com uma densidade de 62.500 plantas ha⁻¹. A maior produção do vetiver nos espaçamentos estudados em nosso trabalho pode ser explicada pela adoção das práticas de correção e adubação do solo na área experimental, possibilitando um melhor desenvolvimento radicular e conseqüentemente maior de produção de biomassa. Este resultado evidencia que, em condições de solo ácido e pobre em nutrientes, práticas agrônômicas como correção e adubação do solo são necessárias para garantir o aumento de produção de matéria seca e conseqüente maior remoção do metal a ser extraído.

Apesar da menor produção de biomassa do milho e vetiver nos espaçamentos 0,65 m e 0,50, a utilização de espaçamentos mais adensados pode melhorar a fitoextração em campo. A maior densidade de plantas otimiza a distribuição do sistema radicular das plantas, permitindo a exploração de um maior volume de solo, além de um melhor aproveitamento dos nutrientes e água. Schonnor (1997) destaca que espécies com potencial para programas de fitorremediação devem apresentar uma produção de biomassa superior a 3 t ha⁻¹ ano⁻¹, o que foi superado por ambas as espécies em todos os espaçamentos.

A produção de matéria seca pelo milho foi 22, 36, 19 e 30 % superior ao vetiver, respectivamente para o controle, 0,80 m, 0,50 m e 0,65 m de espaçamento (Figura 8). Os resultados corroboram Nascimento (2011), em trabalho *in situ*, que verificaram maior

produção de biomassa do milho em relação ao vetiver com 60 dias de cultivo. A maior produção de biomassa no milho pode estar relacionada à sua relativa maior capacidade de resposta a calagem e adubação, aumentando sua tolerância à presença de concentrações moderadas de Pb no solo (Fellet et al., 2007; Meers et al., 2010).

3.2. Concentração de Pb nas plantas

Houve interação significativa entre os espaçamentos e plantas para o teor de Pb na biomassa aérea das plantas. A utilização de espaçamentos reduzidos não influenciou o teor de Pb nas plantas de milho. Para o vetiver, o aumento do adensamento de plantas promoveu uma redução no teor de Pb nas plantas em relação ao controle (Figura 9). A acumulação do metal nas partes aéreas do milho e vetiver foi significativamente maior nos tratamentos que receberam ácido cítrico em relação ao controle.

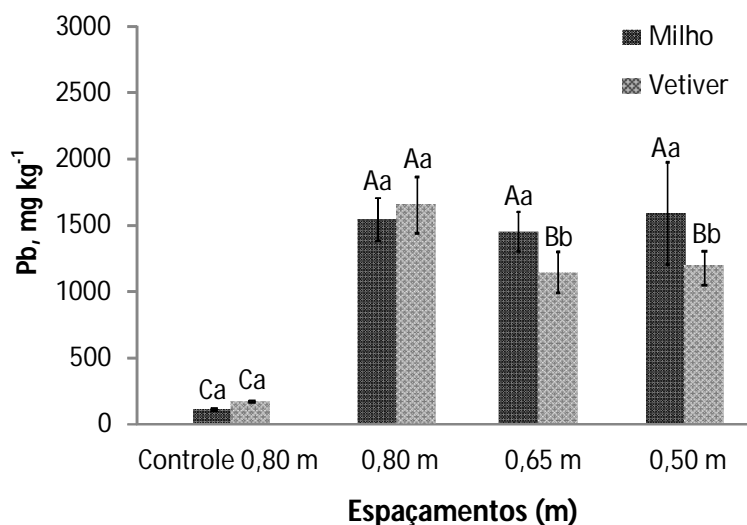


Figure 9. Teor de Pb na parte aérea de milho e vetiver nos espaçamentos 0,80, 0,65 e 0,50 m após a aplicação de ácido cítrico. Médias com a mesma letra maiúscula (espaçamentos) ou minúscula (planta), não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

De modo geral, o ácido cítrico aumentou em 14 vezes o teor de Pb na parte aérea do milho em relação ao controle, que acumulou apenas $111,01 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb. No vetiver, o quelante promoveu um aumento na concentração de Pb de 9,7, 7,2 e 6,7 vezes respectivamente para os espaçamentos 0,80 m, 0,65 m e 0,50 m, em relação ao controle, que acumulou apenas $171,72 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb (Figura 9). Os resultados estão de acordo com Freitas et al. (2009) e Araújo & Nascimento (2010), que obtiveram $919,21$ e $1828,90 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb,

respectivamente, na parte aérea de milho com a aplicação de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico. A importância da aplicação do quelante foi também evidente no trabalho de Meers et al. (2010), que verificaram uma absorção de apenas 10 mg kg⁻¹ Pb na parte aérea do milho em condições naturais.

O vetiver sem aplicação de quelante apresentou 1,61 vezes menos Pb na parte aérea do que o obtido por Marques (2009), que acumulou 2.660 mg kg⁻¹ de Pb na biomassa, também sem uso do quelante. Esta maior concentração pode ser atribuída a elevada acidez do solo (pH 3,9) favorecendo maiores concentrações de íons de Pb²⁺ em solução. A alta concentração de um metal na matéria seca da parte aérea não significa necessariamente eficiência da fitoextração; para o êxito da técnica, uma alta produção de biomassa também deve ser alcançada pela planta. No presente estudo, as plantas de vetiver atenderam a essa premissa, ou seja, a produtividade de matéria seca foi superior a obtida por Marques (2009), o que promoveu um efeito de diluição do Pb nas plantas.

3.2 Eficiência da fitoextração pelas espécies vegetais

O sucesso da fitoextração induzida de Pb, entre outros fatores, depende fundamentalmente de uma elevada acumulação de metal na parte aérea de plantas com alta capacidade de produção de biomassa. Para o cumprimento dessa finalidade, o quelante deve ter a capacidade de solubilizar concentrações do metal relativamente altas, mas compatíveis com a capacidade de absorção da planta em um único cultivo. Em trabalhos anteriores do nosso Grupo de Pesquisa, o ácido cítrico foi promissor no aumento da capacidade fitoextratora de plantas de milho no solo poluído com Pb da área em estudo (Freitas et al., 2009; Araújo & Nascimento, 2010).

Diversos métodos podem ser utilizados para avaliar a eficiência da técnica, entre eles a remoção líquida (Equação 2) utilizada no presente estudo (Figura 10). Para a remoção líquida de Pb, não houve interação significativa entre os espaçamentos e as espécies. A utilização do milho no espaçamento 0,80 m combinado com a aplicação de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico no 61° DAP resultou em um significativo aumento da remoção líquida de Pb, com uma eficiência de 13, 24 e 92 % superior aos espaçamentos 0,65 m, 0,50 m e controle, respectivamente.

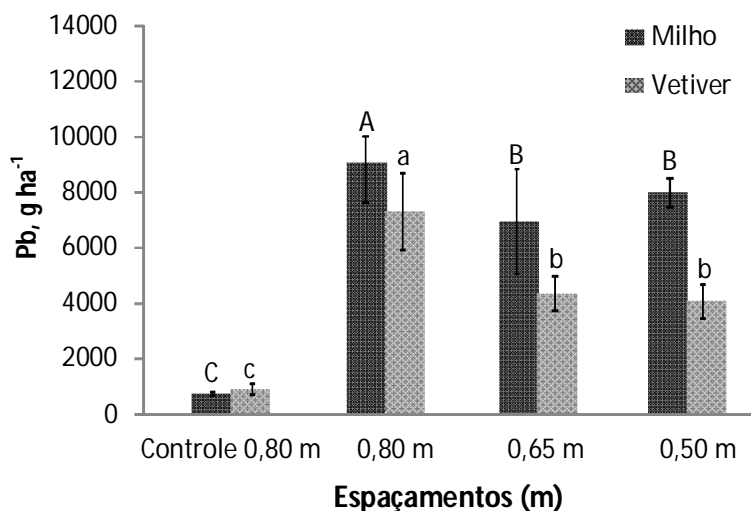


Figura 10. Remoção líquida de Pb por milho e vetiver em diferentes nos espaçamentos 0,80, 0,65 e 0,50 m após a aplicação de ácido cítrico. Médias com letra igual não diferem estatisticamente de acordo com o Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

A aplicação de ácido cítrico para milho no espaçamento 0,65 m promoveu uma remoção de $7.986,99 \text{ g ha}^{-1}$, enquanto que a remoção no controle foi de apenas $757,75 \text{ g ha}^{-1}$. Isto representa um aumento de 10,5 vezes na capacidade de remoção de Pb do solo, tornando a utilização do espaçamento reduzido promissor para programa de fitorremediação dessa área. Os resultados não corroboram Araújo & Nascimento (2010), que indicaram uma remoção de $11.846,14 \text{ g ha}^{-1}$ de Pb, com a aplicação de 30 mmol kg^{-1} de ácido cítrico. Nas condições de campo, a heterogeneidade das concentrações e distribuição do Pb no solo, a relativa menor exploração do solo pelo sistema radicular, além da maior fitotoxicidade do Pb, podem explicar a discordância dos resultados. O melhor resultado obtido por Neugschwandtner et al. (2008) com milho, foi com a aplicação de 9 mmol kg^{-1} de EDTA, parcelado em três vezes, removendo apenas $105,80 \text{ g ha}^{-1}$. As características do solo argiloso, com maior CTC, poderiam explicar essa diferença na eficiência da remoção. No entanto, os teores de Pb solúvel com a aplicação da dose do EDTA são superiores aos encontrados no presente estudo.

O vetiver foi menos eficiente do que o milho na remoção de Pb em todos os espaçamentos que receberam a aplicação do quelante. Esta menor eficiência não desqualifica a espécie para programas de fitoextração. O uso de espaçamentos menores entre as linhas reduziu significativamente a remoção de Pb pelo vetiver e este foi um fator importante na sua menor habilidade em remover Pb do solo em nosso estudo. Adicionalmente, o vetiver é uma planta perene, o que pode permitir cultivos sucessivos sem a necessidade de um novo plantio

a cada ciclo apresenta fácil manejo, excelente capacidade de adaptação a diferentes tipos de solo e tem alta tolerância e capacidade de absorver metais pesados (Xia, 2004; Tian et al., 2004; Xu et al., 2009).

Existem diferentes concepções na elaboração dos modelos matemáticos para estimar o tempo requerido para a recuperação pela fitoextração de um *site* contaminado. No presente trabalho foi utilizado o seguinte modelo: $t = [((Q_{[Pb]solo} - Q_{[Pb]VI}) \div RL)] \div c$, onde t = tempo necessário para a recuperação da área (anos); $Q_{[Pb]solo}$ = Concentração total de Pb no solo (mg kg^{-1}); $Q_{[Pb]VI}$ = Valor de investigação do CONAMA para área industriais (900 mg kg^{-1} de Pb) e c = Número de cultivos por ano, os resultados são mostrados na Figura 11. O número de cultivos foi definido pela seguinte relação: 365 dias do ano \div 69 dias que foi a duração do experimento, resultando em 5 cultivos anualmente. É importante ressaltar que as condições climáticas da região onde o experimento foi conduzido possibilitam cultivos sucessivos o ano inteiro.

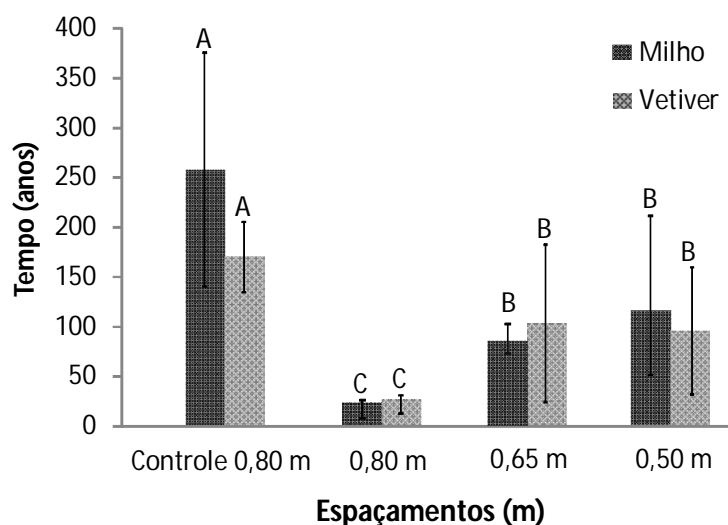


Figura 11. Tempo necessário para a fitoextração de Pb do solo atingir o valor de investigação do CONAMA, utilizando o milho e vetiver em diferentes nos espaçamentos 0,80, 0,65 e 0,50 m após a aplicação de ácido cítrico. Médias com letra igual não diferem estatisticamente de acordo com o Teste Tukey com $p < 0,05$. (Desvio padrão \pm da média, $n = 4$).

Apenas os espaçamentos apresentaram uma influência significativa na estimativa de tempo para a recuperação do solo da área. As melhores estimativas de tempo foram obtidas com ambas as espécies no espaçamento convencional, com 19 e 20 anos (Figura 11), o que representa uma necessidade de 95 e 100 cultivos de milho e vetiver, respectivamente. Os resultados corroboram Chantachon et al. (2004) que estimaram 25 anos para a recuperação de

um solo contaminado com Pb utilizando o vetiver em campo sem a aplicação do quelante, no entanto, a contaminação foi induzida via sistema de irrigação, em um solo ácido, o que provavelmente favoreceu a remoção do metal e reduziu a estimativa de tempo.

Considerando-se os espaçamentos adensados (0,65 e 0,50 m), o tempo estimado para remediar o solo seria demasiadamente longo (85 e 116 anos para milho e 104 e 94 anos com o vetiver, respectivamente). Deve-se observar, no entanto, que estes resultados não decorrem diretamente do espaçamento utilizado, mas sim do fato de que a concentração e heterogeneidade do Pb nas parcelas destes tratamentos foram maior que nos demais tratamentos (Figura 5). Estes dados ressaltam a importância da concentração do metal no solo na decisão de qual tecnologia de remediação deve ser utilizada em cada caso. A fitoextração induzida tem sido recomendada para a recuperação de solos moderadamente poluídos (Freitas et al., 2009; Vangronsveld et al., 2009; Meers et al., 2010). Portanto, um elevado teor total de Pb no solo pode limitar a eficiência da técnica e torná-la inviável em relação a outras abordagens de remediação.

4. Conclusões

1. A aplicação de ácido cítrico na dose de 40 mmol kg^{-1} de solo foi eficiente na solubilização do Pb do solo e na indução da absorção de Pb pelas espécies. Devido à economicidade e alta biodegradabilidade, o ácido cítrico comercial é indicado para uso na área. Devido a baixa solubilidade natural do Pb e ao elevado tempo requerido (mais de 150 anos), a fitoextração sem aplicação de quelantes não é viável para remediar a área em estudo.
2. O espaçamento convencionalmente utilizado para ambas as espécies estudadas (0,80 m) e o milho no espaçamento 0,65 m, aliados a aplicação de quelante, são os programas de fitoextração recomendados para a remediação de setores da área com contaminação moderada de chumbo. Para concentrações mais elevadas do metal, outras abordagens de remediação devem ser adotadas visando tornar o processo prática e economicamente viável.

5. Referências Bibliográficas

AGÊNCIA EXECUTIVA DE GESTÃO DAS ÁGUAS DO ESTADO DA PARAÍBA - AESA. Pluviometria média do Estado da Paraíba - 2010. Disponível em: <<http://www2.aesa.pb.gov.br/meteoro/pcdlmrs.shtml>> Acessado em 03 jan. de 2011.

ALVES, J.C.; SOUZA, A.P.; PÔRTO, M.L.; ARRUDA, J.A.; TOMPSON JÚNIOR, U.A. ; SILVA, G.B; ARAÚJO, R.C.; SANTOS, D. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 32:1329-1336, 2008.

ANTIOCHIA, R., CAMPANELLA, L., GHEZZI, P., MOVASSAGHI, K. The use of vetiver for remediation of heavy metal soil contamination Anal Bioanal Chem., 388:947-956, 2007.

ARAÚJO, J.C.T.; NASCIMENTO, C.W.A. Phytoextraction of Lead from Soil from a Battery Recycling Site: The Use of Citric Acid and NTA. Water, Air and Soil Pollution, 211:113-120, 2010.

ARSHAD, M.; SILVESTRE, J.; PINELLI, E.; KALLERHOFF, J.; KAEMMERER M.; TARIGO A.; SHAHID M.; GUIRESSE M.; PRADERE P. & DUMAT C. A field study of lead phytoextraction by various scented Pelargonium cultivars. Chemosphere, 71:2187-2192, 2008.

ALKORTA, I., HERNANDEZ-ALLICA, J., BECERRIL, J.M., AMEZAGA, I., ALBIZU, I., GARBIZU, C. Recent findings on the phytoremediation of soil contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic. Environ. Sci. Biotechnol. 3:71-90, 2004.

CAVALCANTI, F.J.A. Recomendações de Adubação para o Estado de Pernambuco. 2a aproximação, 3. ed. Recife: IPA, 2008. 212p.

CHANTACHON, S.; KRUATRACHUE, M.; POKETHITIYOOK, P.; UPATHAM, S.; YANYANASARIT, S.; SOONTHORNSARATHOOL, V. Phytoextraction and accumulation of lead from contaminated soil by vetiver grass: laboratory and simulated field study. Water, Air and Soil Pollution, 0:1-20, 2004.

CHAO, T.T.; ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. Soil Sci. Soc. Am. J., 47:224-232, 1983.

Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (2009). Valores orientadores para solos e águas subterrâneas. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>> . Acesso em 23 nov. 2011.

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

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.

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.

FELLET, G.; MARCHIOL, L.; PEROSA, D.; ZERBI, G. The application of phytoremediation technology in a soil contaminated by pyrite cinders. *Ecological Engineering*, 31:207-214, 2007.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, A.J. & DUDA, G.P. Indução da fitoextração de chumbo por ácido cítrico em solo contaminado por baterias automotivas. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:467-473, 2009.

GOMES, K.R.; AMORIM, A.V.; FERREIRA, F.J.; ANDRADE FILHO, F.L.; LACERDA, C.F. & GOMES-FILHO, E. Respostas de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 15:365-370, 2011.

MARQUES, L.F. Fitoextração de chumbo por girassol, vetiver, trigo mourisco, jureminha e mamona em áreas contaminadas. 2009, 48p. (Dissertação de Mestrado) UFPB, Areia. Disponível em: <<http://www.cca.ufpb.br/ppga/pdf/mestrado/Luciano%20Facanhas09.pdf>>. Acesso em 03 dez. de 2011.

MEERS, E.; SLYCKEN, S. V.; ADRIAENSEN, K.; RUTTENS, A.; VANGROSVELD, J.; LAING, G. D.; WITTERS, N.; THEWYS, T.; TACK, F. M. G. The use of bio-energy crops (*Zea mays*) for ‘phytoattenuation’ of heavy metals on moderately contaminated soils: A field experiment. *Chemosphere*, 78:35-41, 2010.

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. *Sci. Agric.*, 65:61-68, 2008.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A. & SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. R. Bras. Ci. Solo, 30:1051-1060, 2006.

NASCIMENTO, J.J.V. Espécies com potencial para fitoextração de chumbo no solo. 2011, 61p. (Dissertação de Mestrado) UFPB, Areia.

NEUGSCHWANDTNER, R.W.; TLUSTOŠ, P.; KOMÁREK, M. & SZÁKOVÁ, J. Phytoextraction of Pb and Cd from a contaminated agricultural soil using different EDTA application regimes: laboratory versus field scale measures of efficiency. Geoderma, 144:446-454, 2008.

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. Int. J. Environ. Anal. Chem., 51:47-58, 1993.

PIVETZ, B.E., 2001. Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Sites. Ground Water Issue, Environmental Protection Agency EPA/ 540/S-01/500, Washington, DC.

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

SCHNOOR, J.L. Phytoremediation: Ground-water remediation technologies analysis center (gwrtac) technology evaluation report TE-98- 01, p.7. 1997.

SUWA, R.; HAKATA, H.; HARA, H.; EL-SHEMY, H. A.; ADU-GYAMFI, J. J.; NGUYEN, N. T.; KANAI, S.; LIGHTFOOT, D.A.; MOHAPATRA, P.K.; FUJITA, K. High temperature effects on photosynthate partitioning and sugar metabolism during ear expansion in maize (*Zea mays* L.) genotypes. Plant Physiology and Biochemistry, 48:124-130, 2010.

TIAN, S.N.; LIU, D.Y.; PENG, S.L. The study on tolerance of *Vetiveria zizanioides* and *Roegneria kamoji* to heavy metal Cu, Pb, Zn and their mixed soluble. Journal of Biology, 21: 15-19, 2004.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. Pb, identification of dangerous levels, final rule. Code of Fed. Reg. 66, pp. 1206–1240, 2001.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. Method 3051A – Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges and soils. Washington, DC, 1998. 14p. Disponível em: <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>>. Acesso: em 30 nov. 2011.

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.

VANGRONSVELD, J.; HERZIG, R.; WEYENS, N.; BOULET, J.; ADRIAENSEN, K.; RUTTENS, A.; THEWYS, T.; VASSILEV, A.; MEERS, E.; NEHNEVAJOVA, E.; VAN DER LELIE, D.; MENCH, M. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environ Sci Pollut Res.*, 16:765-794, 2009.

XIA, H.P. Ecological rehabilitation and phytoremediation with four grasses in oil shale mined land. *Chemosphere*, 54:345-353, 2004.

XU, W.; LI, W.; HE, J.; BALWANT, S.; XIONG, Z. Effects of insoluble Zn, Cd, and EDTA on the growth, activities of antioxidant enzymes and uptake of Zn and Cd in *Vetiveria zizanioides* *Journal of Environmental Sciences*, 21:186-192, 2009.

|| CAPÍTULO III ||

ESTRATÉGIA PARA MELHORAR A FITOEXTRAÇÃO DE CHUMBO EM CAMPO INDUZIDA POR ÁCIDO CÍTRICO

RESUMO

O elevado desenvolvimento industrial e econômico ocorrido nas últimas décadas, sobretudo das atividades de mineração, agrícolas e reciclagem de metais, têm contribuído decisivamente no aumento das concentrações de metais pesados nos solos. O trabalho objetivou avaliar o desempenho do sorgo (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench) e vetiver (*Chrysopogon zizanooides* (L.) Roberty) na fitoextração induzida de Pb por ácido cítrico em campo, em solo corrigido com escória silicatada e calcário dolomítico, em uma área contaminada por resíduos de baterias automotivas. Para a fitoextração foram utilizadas plantas de sorgo e vetiver. Os tratamentos foram constituídos pelos tipos de correção do solo: com calcário dolomítico e a escória silicatada, com uma dose de 4,74 e 12,80 t ha⁻¹, respectivamente. O ácido cítrico (40 mmol kg⁻¹) foi aplicado em cada parcela experimental no 63° dia de cultivo visando solubilizar o chumbo. A aplicação da escória silicatada para correção da acidez do solo, e conseqüente fornecimento do Si, promoveu significativo aumento da produção de matéria seca, para ambas as plantas em relação a correção com calcário dolomítico. O sorgo em solo corrigido com a escória silicatada com aplicação do quelante, promoveu uma remoção de 13,25 kg ha⁻¹ de Pb. O ácido cítrico aplicado na dose de 40 mmol kg⁻¹ de solo foi eficiente na solubilização do Pb do solo e na indução da remoção de Pb pelas espécies. O ácido cítrico comercial é indicado para uso na área, em virtude do baixo custo financeiro e alta biodegradabilidade. Devido a baixa solubilidade natural do Pb e ao elevado tempo requerido (mais de 900 anos), a fitoextração sem aplicação de quelantes não é viável para remediar a área em estudo. O sorgo cultivado em solo corrigido com a escória silicatada, aliado a aplicação de quelante, são os programas de fitoextração recomendados para a remediação de setores da área com contaminação moderada de chumbo. Para concentrações mais elevadas do metal, outras abordagens de remediação devem ser adotadas visando tornar o processo prática e economicamente viável.

Termos para indexação: fitorremediação; quelante orgânico; poluição do solo.

STRATEGIES TO USE ASSISTED PHYTOEXTRACTION OF LEAD BY CITRIC ACID: A FIELD STUDY

ABSTRACT

Heavy metal pollution in soil systems usually is related to human activities such as industrialization, applications of fertilizer, mining and metallurgical processes, metals recycling and waste disposal. The work was carried out to assess the performance of sorghum (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench) and vetiver (*Chrysopogon zizanoides*) used to phytoextract Pb from a soil contaminated by battery recycling activities. The treatments comprised the two species in different plant and two types of soil amendment: the limestone and silicate slag, with a dose of 4.74 and 12.80 t ha⁻¹ respectively. Citric acid (40 mmol kg⁻¹) was applied on each experimental parcel at the 63th day of cultivation in order to solubilize Pb and assist phytoextraction. The silicate slag application for correction of soil acidity, promoted a significant increase in dry matter production to both plants in relation the correction with lime. The sorghum in soil amended with silicate slag with application of the chelant, promoted a removal of 13.25 kg ha⁻¹ for Pb. Acid citric was efficient at solubilizing Pb from soil and inducing its removal by both species. Owing to be environmental-friendly and low cost effective, commercial citric acid is recommended for assisting Pb-phytoextraction in the area. Due to low natural solubility of Pb and the time frame higher than 900 years to accomplish the clean-up, phytoextraction with no chelant assistance is not recommended for the area. Sorghum grown in soil amended with silicate slag, along with citric acid addition are the phytoextraction strategies indicated to remediate low-to-moderate Pb contamination subareas. Regarding high metal concentration in soil, others remediation approaches must be used.

Key words: Phytoremediation, organic chelants; soil pollution; citric acid.

1. Introdução

O elevado desenvolvimento industrial e econômico ocorrido nas últimas décadas, demanda uma intensificação da exploração de recursos naturais, através da mineração, atividade agrícolas e reciclagem de metais, contribuindo decisivamente no aumento das concentrações de metais pesados nos solos, seja pelo negligenciamento no tratamento antes da disposição final ou por acidentes cada vez mais frequentes.

Entre os vários poluentes existentes, o chumbo (Pb) é considerado o mais frequente contaminante inorgânico dos solos (Gratão et al., 2005) e o maior problema ambiental diante do mundo moderno (Shen et al., 2002) sendo, notoriamente, o metal que oferece maior risco para a saúde humana, especialmente às crianças (Lasat, 2002).

A fitorremediação apresenta potencial para a remediação de solos contaminados com metais pesados, como vem sendo demonstrado por vários trabalhos nos últimos 20 anos (Cunningham & Ow, 1996, Tanhan et al., 2007, Freitas et al., 2009a, Zhao et al., 2011). Como exemplo, o uso da fitoextração contínua com plantas hiperacumuladoras, encontra-se em plena aplicação comercial, com uma espécie de samambaia (*Pteris vitata*), que apresenta uma excepcional capacidade de acumular As. Esta planta pode acumular até 93% do As absorvido do solo em sua parte aérea (Ma et al., 2001). A *Alyssum murale*, hiperacumuladora de Ni, tem seu uso patenteado nos EUA, a mesma chega a acumular mais de 3% de Ni na parte aérea (Chaney et al., 2007; Cassina et al., 2011).

O grande desafio para os cientistas de solos ligados as ciências ambientais, é a fitorremediação de Pb, haja visto que a fitoextração contínua tem baixa eficiência e, portanto sugere-se, o uso da fitoextração induzida - técnica que utiliza plantas para remoção de metais de solos moderadamente poluídos com o auxílio de quelantes. O ácido cítrico para induzir a fitoextração de Pb em solos arenosos pode ser tão eficiente quanto a utilização de quelantes sintéticos (Freitas et al., 2009a, Araújo & Nascimento, 2010).

Os solos poluídos por escórias industriais, frequentemente se caracterizam por apresentarem, um baixo teor de matéria orgânica, nutrientes, pH, além de limitadas condições físicas, para a percolação da água e o desenvolvimento do sistema radicular (Chiu et al., 2006). Portanto, a melhoria das condições químicas do solo é uma questão de máxima relevância, para um adequado crescimento radicular e o estabelecimento das plantas fitoextratoras.

Práticas agronômicas, como calagem e adubação devem ser adotadas, visando maximizar o desenvolvimento do sistema radicular e crescimento das plantas e, conseqüentemente, o desempenho da fitoextração induzida *in situ*. Adicionalmente, a aplicação de silicatos promove os mesmos benefícios da calagem, além de está associado ao aumento da disponibilidade de silício (Si). Embora, os mecanismos pelos quais o Si aumenta a tolerância das plantas ainda não estejam completamente elucidados, de acordo com Zhang et al. (2008), o Si entre outros benefícios pode amenizar a fitotoxicidade promovida por metais pesados.

Na fitoextração induzida é imperativo a utilização de plantas com alta produção de biomassa. O vetiver (*Chrysopogon zizanoides* L.) apresenta essa característica, é uma planta perene, de fácil manejo, capacidade de adaptação a diferentes tipos e condições de solo, inclusive contaminado com metais pesados, acumulando altos teores na parte aérea (Xia, 2004; Tian et al., 2004; Marques, 2009).

Atualmente, há uma tendência do uso de plantas energéticas como fitoextratoras de metais pesados, com possibilidade de retorno econômico na conversão da biomassa em biocombustível (Ruttens et al., 2011). O sorgo (*Sorghum bicolor*) é uma cultura com elevado potencial para a produção de etanol e alguns estudos demonstraram que o mesmo apresenta habilidade para acumular metais pesados (An, 2004; Marchiol et al., 2007; Zhuang et al., 2009). Portanto, o presente estudo objetivou avaliar o desempenho do sorgo e vetiver na fitoextração induzida de Pb por ácido cítrico em campo, em uma área contaminada por resíduos de baterias automotivas. O trabalho também avaliou a aplicação de escória silicatada, como estratégia para amenizar a toxicidade de Pb para espécies vegetais, visando a maximização da técnica.

2. Material e Métodos

2.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi realizado em uma área de deposição de escórias no entorno da indústria METAIS PB – LTDA, que atua na reciclagem de baterias elétricas automotivas, localizada no Sítio Capim Azul, km 28 da BR 101, município de Rio Tinto, PB (Figura 1). A empresa está situada entre as coordenadas geográficas 06°48'11" de latitude sul e 35°04'50" de longitude oeste. A precipitação pluvial no período do experimento (meses de abril até agosto) foi de 196,8; 78,8; 164,9; 96,3 e 89,21 mm, respectivamente (AESA, 2011).

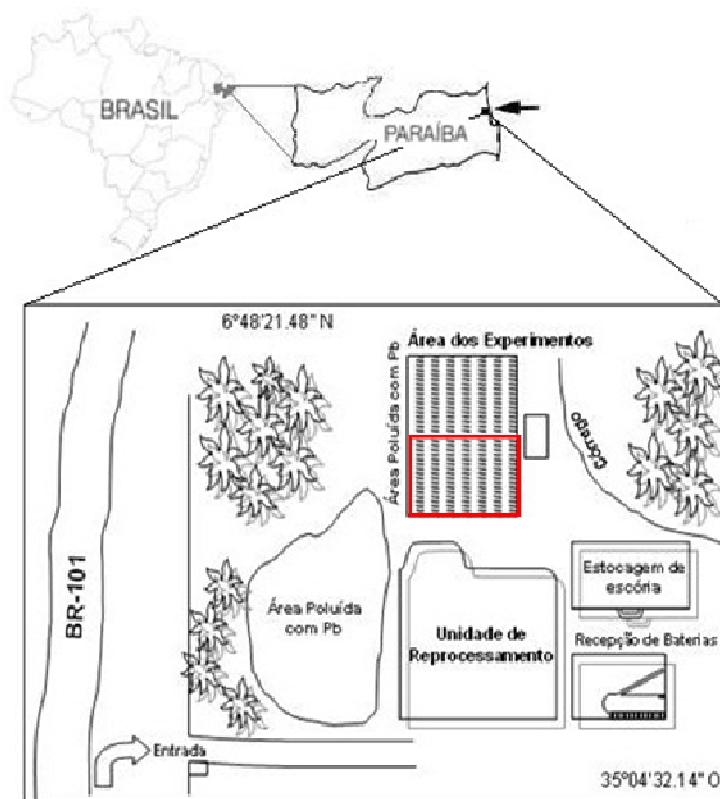


Figura 1. Representação e localização da área experimental.

2.2 Preparo do solo e amostragem

O solo da área foi classificado como Espodossolo Ferrihumilúvico (EMBRAPA, 2006). Foram realizadas quatro amostragens durante a condução do experimento, na parte central de cada parcela experimental. A primeira amostragem foi realizada antes da correção da acidez do solo, na camada de 0-20 cm, sendo as amostras secas ao ar, destorroadas e peneiradas em tamiz de 2 mm. A amostra de solo (TFSA) foi caracterizada química e fisicamente segundo EMBRAPA (1997, 1999) (Tabela 1). O Pb foi extraído pelo método EPA 3051A em forno de microondas (Mars Xpress), com um tempo de rampa de 8'40" para atingir 175°C, mantendo-se esta temperatura por mais 4'30" (USEPA, 1998).

Tabela 1. Principais características químicas e físicas do solo

pH	Al	Ca	Mg	K	Na	H+Al	P	Pb total*
H ₂ O 1:2,5	----- cmol _c dm ⁻³ -----					----- mg dm ⁻³ -----		
3,78	0,81	0,67	0,55	0,04	0,27	5,03	3,51	2.150
C.O.	Areia	Silte		Argila		Densidade do solo		
g kg ⁻¹	----- g kg ⁻¹ -----					g cm ⁻³		
9,32	948	22		30		1,64		

C.O.: Carbono Orgânico. *Valor médio (n=32).

O preparo do solo consistiu na gradagem para incorporação dos restos vegetais e homogeneização da área (Figura 2b e 2d), seguida da aplicação e incorporação manual de calcário dolomítico e escória silicatada, ambos para suprir Ca, Mg, além do Si, pela escória e elevar o pH do solo para a faixa de 6,0 – 6,2 (Figura 2e). A necessidade de calagem para ambos os corretivos foi determinada previamente em ensaio de incubação. As quantidades aplicadas dos corretivos foram determinadas segundo Cavalcanti (2008). A escória siderúrgica que foi utilizada no experimento (pó de aciaria de forno elétrico) foi passado em peneira de 2 mm e caracterizado quimicamente segundo métodos descritos pela Embrapa (1999) e Korndörfer et al. (2004) para determinação do silício e programa de aquecimento em forno de microondas pelo método EPA 3052 para determinação dos metais pesados (Tabela 2).

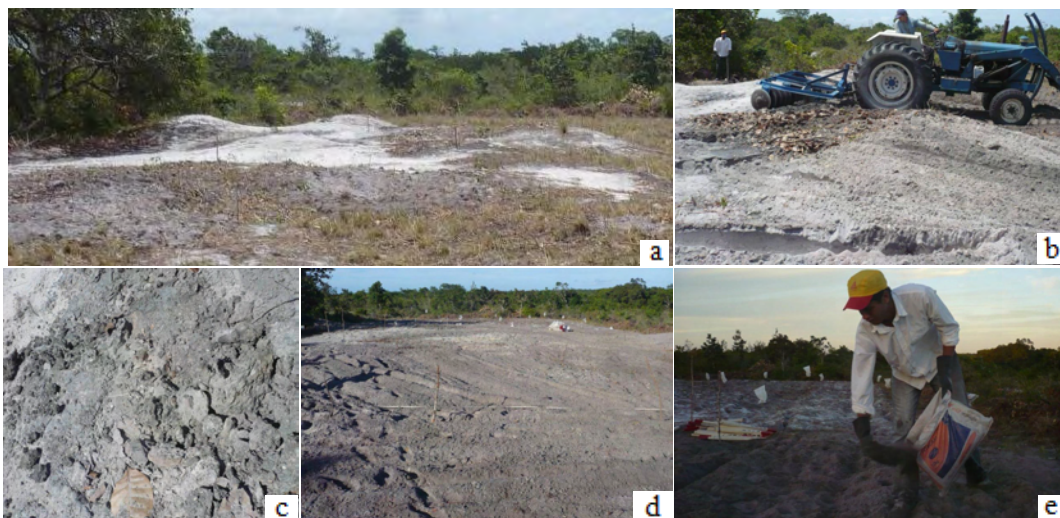


Figura 2. Área experimental: (a) antes do preparo do solo; (b) Gradagem; (c) camada resultante da deposição de rejeitos; (d) área pronta; (e) aplicação de escória silicatada.

Tabela 2. Principais características químicas da escória de aciaria

SiO ₂ total	SiO ₂ solúvel	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	Fe	Cu	Zn
----- g kg ⁻¹ -----								
198,00	6,30	2,71	1,41	131,00	75,00	20,11	0,96	0,24
Ni	Cd	Pb	PN	RE	PRNT			
----- g kg ⁻¹ -----			----- % -----					
0,07	0,01	0,33	67,40	66,40	45,00			

2.3 Plantio e adubação das plantas

Para a fitoextração foram utilizadas as espécies sorgo (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench) e vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty). Aos 30 dias após a aplicação do calcário dolomítico foi realizado o plantio do sorgo (cultivar SF-15), tipo forrageiro, com alta produção de biomassa, utilizando uma plantadeira manual (Figura 3a). Na semeadura foram plantadas de 3 a 4 sementes/cova com um espaçamento na linha de 20 cm. Aos 10 dias após o plantio foi realizado um desbaste deixando apenas uma planta/cova, totalizando 5 plantas por metro linear. Para o plantio de vetiver foram utilizadas mudas com 30 dias de perfilhamento com tamanho médio das folhas de 12 cm. As mudas foram produzidas no viveiro de

fruticultura do Centro de Ciências Agrárias da UFPB em Areia, PB. O vetiver foi plantado em covas, uma muda/cova, com espaçamento entre plantas de 30 cm (Figura 3b).

Uma adubação em sulcos paralelos as linhas de cultivo de 30 kg ha⁻¹ de N; 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 30 kg ha⁻¹ de K₂O para ambas as plantas de acordo com o manual de recomendação de fertilizantes do estado de Pernambuco (Cavalcanti, 2008) (Figura 3c). Uma adubação de cobertura com 30 kg ha⁻¹ de N foi realizada 35 dias após o plantio.

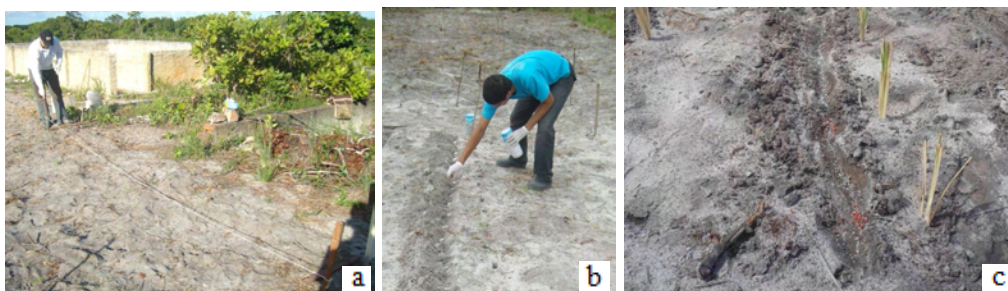


Figura 3. Representação da marcação da linha de plantio do sorgo (a), plantio do vetiver (b) e adubação (c).

2.4 Condução e aplicação de quelantes

Os tratamentos foram constituídos pelos tipos de correção do solo: com calcário dolomítico e a escória silicatada, com uma dose de 4,74 e 12,80 t ha⁻¹, respectivamente. O espaçamento utilizado entre linhas foi de 0,50 m, para as espécies vegetais. A área ocupada por cada planta correspondeu a 0,10 m² e 0,15 m², equivalendo a uma densidade de 100.000 e 66.667 plantas ha⁻¹, respectivamente, para o sorgo e vetiver. O trabalho foi composto por 32 parcelas experimentais, com 15 m² de área, somado a distância entre parcelas, com um tamanho total de 600 m² (Figura 4a).

O ácido cítrico foi aplicado no solo na concentração de 40 mmol kg⁻¹ no 63º dia de cultivo. A aplicação do quelante foi realizada manualmente utilizando um regador com capacidade para 12 litros de solução (Figura 4b). A escolha do quelante e dose foi baseada em ensaios prévios (Melo et al., 2008; Freitas et al., 2009a). Foi utilizado um ácido cítrico comercial proveniente da indústria alimentícia, que apresenta capacidade de solubilizar Pb em quantidade adequada para a absorção das plantas e um baixo custo de aquisição em relação ao ácido cítrico reagente analítico (PA). Em testes de laboratório, esse produto apresentou a mesma eficiência de solubilização de Pb que o ácido cítrico PA. A dose do quelante em campo (DQC) em t ha⁻¹ foi calculada pela seguinte equação:

$$DQC = [(Q_{SOLOH} \times V_{AP}) \div (A_{PP} \times ds \times p \times 10^{-3})] \times Q_{AcCi} \times 10^{-6} \quad (1)$$

Q_{SOLOH} = Quantidade de solo em 1 ha (kg);

V_{AP} = Volume de solução [40 mmol kg⁻¹] aplicado por planta, adotado 3 L de acordo com estudo de Freitas et al. (2009a);

A_{PP} = Área ocupada por planta (cm²);

ds = Densidade do solo (g cm⁻³);

p = profundidade de solo considerada, 20 cm;

Q_{AcCi} = Quantidade de ácido cítrico (g) para preparar 1 L de solução na concentração de 40 mmol kg⁻¹;

As doses do quelante equivalente em campo em função da área ocupada por planta foram 2,54 e 1,69 t ha⁻¹, respectivamente para sorgo e vetiver.



Figura 4. Representação da parcela experimental (a), aplicação do ácido cítrico no sorgo (b) e coleta de plantas de vetiver e sorgo (c) e (d).

2.5 Coleta de material e análises químicas

2.5.1 Planta

No 71º dia de cultivo foi realizada a coleta da parte aérea das plantas cortando-as na base, rente ao solo (Figura 4c). Em seguida as plantas foram acondicionadas em sacos plásticos para o transporte. No laboratório de Fertilidade do Solo da UFRPE, foi realizada a limpeza com água de torneira da parte aérea das espécies vegetais e, em seguida de água destilada. Após secagem em estufa à 65 °C, foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea, em seguida foi triturada em moinho tipo Wiley e submetida a digestão pelo método EPA 3051A em forno de microondas (USEPA, 1998). Após resfriamento, as amostras foram transferidas para balões certificados (NBR ISO/IEC) de 50 mL.

Todas as leituras dos extratos provenientes da digestão foram realizadas por meio de espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer, AAnalyst 800). Para as análises de Pb foi realizado um controle de qualidade utilizando solução de referência (*spike*) com concentração conhecida do metal de 10 mg L^{-1} . O *spike* foi obtido a partir de solução-estoque de 1000 mg L^{-1} (TITRISOL®, Merck), com concentração igual ao ponto central da curva de calibração do aparelho, para o metal. O controle (*spike*) foi utilizado a cada 10 amostras analisadas durante as leituras do Pb no absorção atômica.

A eficiência das espécies em absorver o Pb do solo foi avaliada pela Remoção Líquida (RL) do metal, expressa em g ha^{-1} , da seguinte maneira:

$$RL = [Pb]_{PA} \times MS \times 10^{-3} \quad (2)$$

$[Pb]_{PA}$ = Concentração de Pb na parte aérea (mg kg^{-1});

MS = Produção de matéria seca da parte aérea (kg ha^{-1}).

A estimativa de tempo (t) para a recuperação da área foi calculado com base no teor total de Pb no solo, em amostras coletas antes do plantio, Valor de investigação (900 mg kg^{-1} de Pb), Resolução 420 do CONAMA (2009) para áreas industriais, como também o valor da RL promovida pelas plantas de milho e vetiver em um cultivo. A seguinte equação foi utilizada:

$$t = [((Q_{[Pb]_{solo}} - Q_{[Pb]_{VI}}) / RL)] / c \quad (3)$$

t = tempo necessário para a recuperação da área (anos);

$Q_{[Pb]_{solo}}$ = Concentração total de Pb no solo (mg kg^{-1});

$Q_{[Pb]_{VI}}$ = Valor de investigação do CONAMA;

c = Número de cultivos por ano foi definido pela seguinte relação: $365 \text{ dias do ano} \div 73 \text{ dias que foi a duração do experimento}$, resultando em 5 cultivos anualmente.

2.5.2 Solo

Como mencionado anteriormente foram realizadas quatro coletas de solo ao longo da condução do experimento. As coletas visaram o acompanhamento da variação dos teores solúveis de Pb de acordo com as alterações químicas da área. A primeira coleta foi realizada antes da calagem, a segunda 30 dias após a correção (plantio), a terceira no dia da aplicação do quelante (63° DAP) e a quarta 8 dias (71° DAP) após a aplicação do ácido cítrico. Todas as coletas foram realizadas na posição central da parcela experimental, coletando-se cinco amostras simples na profundidade de 20 cm, que foram homogeneizadas para formação de

uma amostra composta. Os teores solúveis de Pb nas amostras de solo foram obtidos utilizando o cloreto de cálcio (CaCl_2) na concentração de 10 mmol L^{-1} , na relação solo:solução de 1:10 (Novozamsky et al., 1993). Este extrator foi utilizado por representar bem os teores de metais presentes na solução do solo (Melo et al., 2006). Nas amostras de solo coletadas na quarta amostragem, foi determinado também o teor total de Pb, utilizando o método EPA 3051A (USEPA, 1998).

2.4 Delineamento e Análise estatística

Os tratamentos foram dispostos em um delineamento experimental de blocos ao casualizados em esquema fatorial, utilizando sorgo e vetiver em dois tipos de correção do solo (calcário dolomítico e silicato de cálcio), com quatro repetições. Os dados foram submetidos às análises de variância e teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o Programa SAEG 9.1 (UFV, 2007).

3. Resultados e Discussão

3.1 Concentração total e solúvel de Pb no solo

A contaminação total de Pb no solo variou de 1.432,57 – 4.323,80 mg kg⁻¹ do metal. Nas parcelas controle de sorgo, corrigidas com calcário dolomítico (SCD_C) foram observados teores totais e de variabilidade de Pb (medido pelo desvio padrão da média), significativamente maiores em relação aos demais tratamentos, com a concentração média correspondendo exatamente ao maior valor mencionado. Os resultados apresentados na Figura 5 referem-se a uma amostragem realizada 30 dias após a aplicação dos corretivos no solo. Portanto, a heterogeneidade da contaminação total não pode ser atribuída ao efeito da aplicação de 40 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico que só ocorreu no 63º dia após o plantio (DAP). Para o caso da área em estudo, foi realizada uma gradagem com a finalidade de homogeneizar a área em relação à distribuição do Pb e tornar a remoção do metal mais eficiente. Apesar desse procedimento, ainda foi observada elevada heterogeneidade (medido pelo desvio padrão da média) nas concentrações de chumbo (Figura 5). Característica frequente desse tipo de atividade industrial, como verificado também por outros trabalhos (Leclerc et al., 2002; Wowk & Melo, 2005; Chiu et al., 2006).

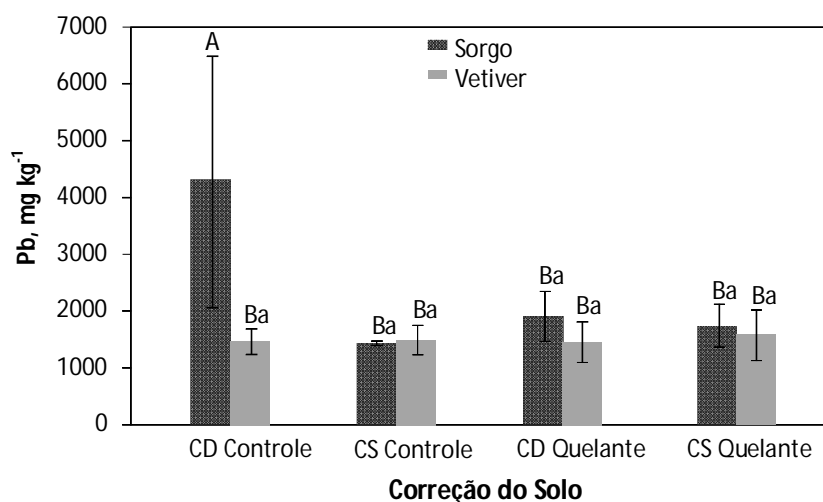


Figura 5. Concentração total de Pb no solo cultivado com sorgo e vetiver, corrigido com calcário dolomítico (CD) e silicato (CS), com e sem aplicação de ácido cítrico. Médias com a mesma letra maiúscula (correção) ou minúscula (planta), não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

A evolução dos teores solúveis de Pb no solo ao longo do experimento estão apresentados na Figura 6. As maiores concentrações de Pb solúvel foi observado antes da calagem em ambas as plantas, os teores variaram de 219,29 - 361,28 mg L⁻¹ nos tratamentos com sorgo e 247,17 e 287,53 mg L⁻¹ para o vetiver. Zaccheo et al. (2006), verificaram aumento da disponibilidade de metais com a redução do pH pela adição de (NH₄)₂SO₄ e (NH₄)₂S₂O₃ ao solo. No pH do solo de 3,78, antes da calagem, ocorre a predominância de cargas positivas no solo devido aos íons H₃O⁺ ficarem adsorvidos na superfície dos coloides, o que inibe a adsorção de metais devido a repulsão entre o colóide e o metal desfavorecendo as reações de adsorção, aumentando a biodisponibilidade dos metais.

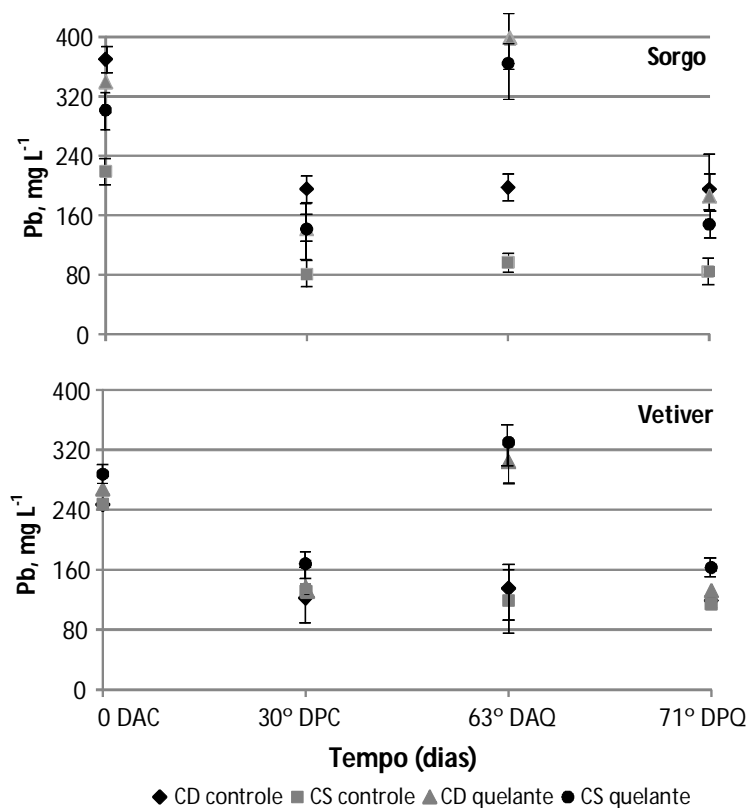


Figura 6. Evolução dos teores solúveis de Pb extraído por CaCl₂ em função do tempo de cultivo de milho e vetiver. DAC: Dia antes da correção do solo; DPC: 30 dias pós-correção do solo; DAQ: 63 dias de cultivo, aplicação do quelante e DPQ: 71 dias de cultivo, pós-aplicação do quelante. Desvio padrão ± da média (n = 4).

Os teores solúveis de Pb são fortemente reduzidos com a aplicação de ambos os corretivos. A escória silicatada apresentou uma capacidade levemente maior de reduzir os teores solúveis de Pb nas parcelas cultivadas com sorgo. Por exemplo, o teor solúvel de Pb passou a 141,47 mg L⁻¹ e nas parcelas de sorgo com calcário dolomítico foi de 167,94 mg L⁻¹.

A elevação do pH promovido pela aplicação dos corretivos, explica a redução da solubilidade do metal. Na escória silicatada além do efeito no pH, a precipitação de silicatos é relevante na redução dos teores solúveis de metais.

Sete dias após a aplicação do quelante ocorreu uma redução acentuada dos teores solúveis de Pb, o que indica a degradação do ácido cítrico no solo. Os ácidos orgânicos apresentam uma rápida degradação no solo, evitando a manutenção de elevados teores de metal solúvel prontamente disponível para contaminação de lençóis freáticos (Evangelou et al., 2006; Freitas et al., 2009b) mas também limitam sua ação continuada na solubilização de metais no solo e, conseqüentemente, a fitoextração. O cloreto de cálcio, tem mostrado eficiência em representar os teores de metais presentes na solução do solo (Melo et al., 2006).

3.2 Planta

3.2.1 Produção de matéria seca das plantas

As plantas de sorgo cultivadas no solo corrigido com calcário dolomítico, manifestaram leve sintomas visíveis de fitotoxidez na forma de clorose nas folhas, aos 47 DAP (Figura 7a). O resultado não corrobora Zhuang et al. (2009), que avaliaram três cultivares de sorgo (Keller, Mray e Rio) em campo, e não verificaram sintomas visíveis de fitotoxidez em 120 dias de cultivo, em solo multicontaminado, inclusive Pb, com 938 mg kg^{-1} . Para as plantas de sorgo no solo corrigido com a escória, não foi observado sintomas visuais até a aplicação do quelante (Figura 7). O que provavelmente corrobora outros trabalhos (Cunha et al., 2008; Zhang, et al., 2008; Araújo et al., 2011), quanto a capacidade de amenização da fitotoxidez de metais pelo aumento da disponibilidade de Si no solo, com o pH na faixa ideal para o desenvolvimento da cultura.

O vetiver apresenta alta tolerância e capacidade de acumulação de metais pesados, tais como Cu, Cd, Pb, Hg, Ni e Zn (Tian et al., 2004, Antiochia et al., 2007). Portanto, a tendência natural de tolerância foi corroborada e, nenhum sintoma visual de fitotoxidez foi observado nas plantas até o 63° DAP (Figura 7c), dia da aplicação do quelante. A aplicação de 40 mm kg^{-1} de ácido cítrico promoveu elevada fitotoxidez (Figuras 7d e 7f), e esses sintomas foram observados a partir do 4° dia após aplicação, em ambas as espécies, na correção com a escória silicatada. Os resultados corroboram Araújo & Nascimento (2010), em trabalho *ex situ*, que verificaram sintomas de fitotoxidez em plantas de milho a partir do 4° dia com aplicação de 30 mmol kg^{-1} de ácido cítrico. Nenhum sintoma visual de fitotoxidez foi verificado por Zhuang et al. (2009), em cultivares de sorgo mesmo com a aplicação de EDTA.



Figura 7. Plantas de sorgo (S) e vetiver (V): (a) clorose nas folhas do SCD; (b) plantas de SCS aos 60° DAP; (c) VCS, antes da aplicação do quelante no 63° DAP; (d) VCS, após a aplicação do quelante no 74° DAP; (e) plantas de VCS_C, aos 74° DAP e (f) SCS, após a aplicação do quelante.

A aplicação da escória silicatada para correção da acidez do solo, e consequente fornecimento do Si, de modo geral promoveu significativo aumento da produção de matéria seca, para ambas as plantas em relação a correção com calcário dolomítico (Figura 8). O emprego de práticas agronômicas ou estratégias, como adubação, adição de matéria orgânica, zeólitas, escórias siderúrgicas em geral são reportados como forma de aumentar a capacidade de produção de biomassa das plantas e consequente aumento da fitoextração (Pedron et al., 2009; Fellet & Marchiol, 2011; Araújo et al., 2011; Gabos et al., 2011). Em estudo *ex situ*, com milho cultivado em solo contaminado com Pb coletado na mesma área, Araújo et al. (2011), verificaram tendência de aumento da produção de matéria seca com aplicação de 100 mg kg^{-1} de Si, em relação ao controle. Os mesmos autores, verificaram uma redução da produção de biomassa aérea com o aumento das doses de Si, atribuído a elevação do pH ou precipitação de silicatos. É possível afirmar que é um resultado esperado, haja visto que o solo do referido trabalho foi previamente corrigido para pH na faixa de 6,0 – 6,2.

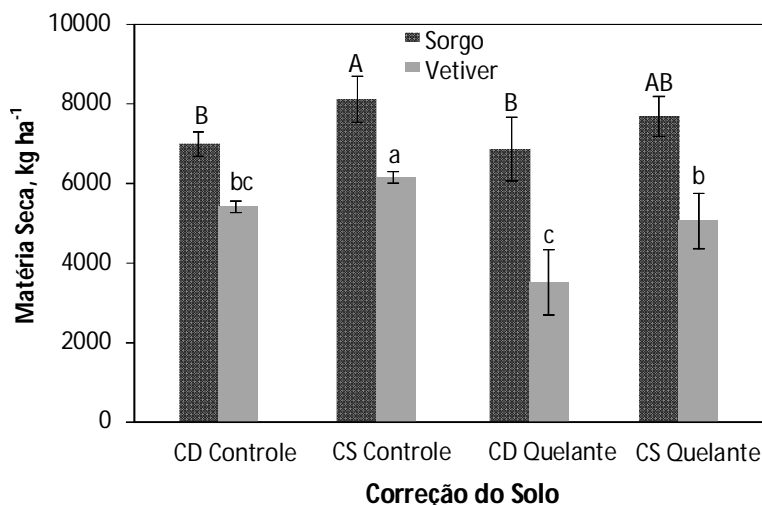


Figura 8. Produção de matéria seca da parte aérea de sorgo e vetiver em solo corrigido com calcário dolomítico (CD) e silicato (CS) sem aplicação (controle) e com aplicação (Quelante) de ácido cítrico. Médias com a mesma letra maiúscula (correção) ou minúscula (planta), não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

O sorgo cultivado em solo corrigido com a escória silicatada e aplicação de ácido cítrico, não apresentou diferença significativa na produção de matéria seca, em relação ao sorgo nas parcelas corrigidas com calcário dolomítico. No entanto, a produção de biomassa aérea do primeiro foi de $7.688,87 \text{ kg ha}^{-1}$ e as plantas do segundo tratamento produziram em média $6.864,95 \text{ kg ha}^{-1}$, o que representa um aumento de 12% de matéria seca. Marchiol et al. (2007), avaliando o sorgo no campo, em solo multicontaminado, obtiveram uma produção de 9.100 kg ha^{-1} em 84 dias de cultivo, com a adição de composto orgânico para amenizar a toxidez dos metais, representando uma produção cerca de 10 vezes superior a obtida no solo sem adição do composto. Schonnor (1997) destaca que as plantas com potencial para programas de fitorremediação devem apresentar uma produção de biomassa superior $3 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, o que foi superado em todos os tratamentos.

Nas plantas de vetiver, a correção com a escória silicatada, promoveu um aumento de 39,50 e 43,83 % na produção de biomassa, em relação aos tratamentos controle com calcário e silicato, respectivamente. A produção de capim-marandu, em trabalho *ex situ*, em solo não contaminado, aumentou 26 %, com a aplicação de escória (aciaria) de siderurgia em relação a correção com calcário dolomítico (Fonseca et al., 2009). A amenização da toxidez de metais por Si depende da espécie de planta e está relacionado a processos não completamente elucidados (Ma, 2004). A formação de complexos metal-silicato dentro da planta e

translocação para os vacúolos é apontado como um dos mecanismos de amenização da toxidez de metais (Neumann & Zur Nieden, 2001). Entre os benefícios do Si, podem ser destacados, o aumento da tolerância das plantas à toxidez de Mn, Fe, Pb, Cd e Zn (Shi et al., 2005; Cunha et al., 2008; Zhang et al., 2008; Araújo et al., 2011), além da redução do estresse a condições adversas do meio ambiente sobre algumas espécies (Ma & Yamaji, 2008; Accioly et al., 2009).

A aplicação da dose de 40 mmol kg^{-1} de ácido cítrico não influenciou significativamente na redução da produção de matéria para sorgo em solo com a escória silicatada em relação ao sorgo controle na mesmo tratamento, provavelmente pelo pouco tempo decorrido entre a aplicação e a coleta das plantas, que foi de apenas 8 dias. No entanto, o mesmo não foi observado para o vetiver, nas parcelas controle corrigidas com a escória silicatada, a produção foi de $6.155,30 \text{ kg ha}^{-1}$, enquanto que as parcelas com a mesma correção e com aplicação de ácido cítrico produziram em média $5.055,98 \text{ kg ha}^{-1}$, o que representa uma redução de 18 % da biomassa. Apesar da redução promovida pela aplicação do quelante, a produtividade foi maior do que a obtida por Marques (2009), trabalhando em área adjacente, com a mesma fonte de poluição de Pb no solo, que obteve uma produtividade de $2.496,88 \text{ kg ha}^{-1}$ de vetiver em 60 dias de cultivo. A maior produção do vetiver no presente trabalho, pode ser explicada pela adoção das estratégias de correção do solo, como também a prática de adubação do solo na área experimental, possibilitando um melhor desenvolvimento radicular e consequentemente maior de produção de biomassa.

3.2.2 Concentração de Pb nas plantas

Apenas para o fator planta foi observado efeito significativo nos teores de Pb na biomassa. A aplicação da dose de 40 mmol kg^{-1} de ácido cítrico no 63° DAP, para induzir a fitoextração de Pb, promoveu um significativo aumento na concentração do metal na biomassa das plantas de sorgo nas parcelas com escória silicatada em relação ao vetiver em ambas as correções e aos tratamentos controle. A acumulação foi de $1.717,34 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb no sorgo cultivado em solo com escória, representando um acúmulo 1,78 e 6,52 vezes superior ao vetiver que recebeu aplicação de ácido cítrico e controle no solo com escória silicatada, respectivamente (Figura 9). Apesar de não ter sido constatada diferença significativa, a concentração de Pb nas plantas de sorgo no solo com silicato e adição de ácido cítrico foi 35 % maior que as plantas de sorgo em solo corrigido com calcário dolomítico.

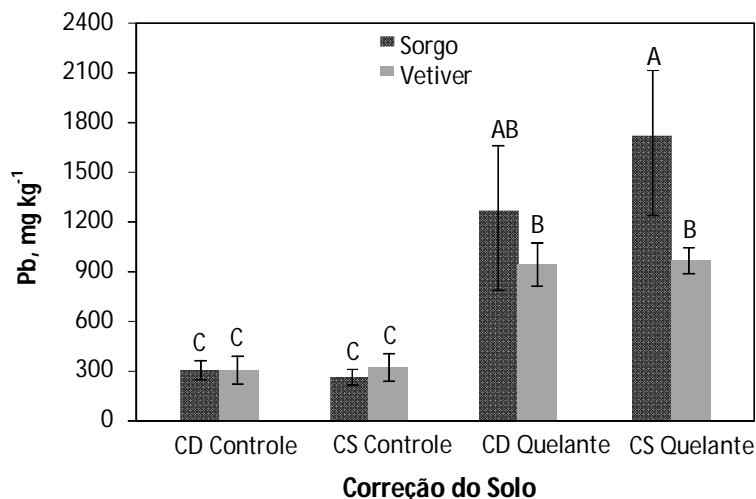


Figura 9. Teor de Pb na parte aérea de sorgo e vetiver em solo corrigido com calcário dolomítico (CD) e silicato (CS) sem aplicação (controle) e com aplicação (quelante) de ácido cítrico. Médias com a mesma letra maiúscula (correção) ou minúscula (planta), não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

A acumulação de Pb na parte aérea de sorgo em condições naturais pode ser considerada muito baixa, como verificado na Figura 9, as plantas de sorgo controle, solo com escória e calcário, acumularam 305,71 e 263,05 mg kg⁻¹ de Pb, respectivamente. Nos trabalhos de Marchiol et al. (2007) e Fellet & Marchiol (2011), ambos adotaram apenas as práticas agrônômicas, como fertilização mineral e compostos orgânicos na cultura, sem aplicação de quelante, e obtiveram reduzidas concentrações de Pb na parte aérea das plantas, de 22,71 e 60,11 mg kg⁻¹, respectivamente.

As plantas de vetiver apresentaram aumento significativo na acumulação de Pb com a aplicação do quelante. De modo geral, a concentração de Pb na biomassa foi 3 vezes maior nas parcelas que foi aplicado o ácido cítrico, com concentração de 954,16 mg kg⁻¹, em relação as parcelas controle com 314,36 mg kg⁻¹ do metal. O vetiver cultivado em área adjacente ao presente trabalho, acumulou 2.660 mg kg⁻¹ de Pb na biomassa, sem o uso do quelante (Marques, 2009) e 3.900 mg kg⁻¹ de Pb no trabalho em casa de vegetação (Antiochia et al., 2007). A menor acumulação de Pb no presente estudo, mesmo com a aplicação do quelante, poder ser explicado em parte pela correção do solo, que reduziu a disponibilidade do metal durante os 63 dias de cultivo, mas principalmente pelo efeito diluição, o vetiver apresentou maior produção de biomassa (Figura 8), em relação a Marques (2009), que obteve uma produtividade de 2.496,88 kg ha⁻¹ em 60 dias de cultivo de vetiver. Com relação a Antiochia

et al. (2007), a elevada acumulação pode ser explicada pelo fato da contaminação de Pb ter sido induzida e ainda aplicada na forma de solução. A alta concentração de um metal, na matéria seca da parte aérea, não significa necessariamente eficiência da fitoextração, para elevada eficiência da técnica, uma alta produção de biomassa também deve ser alcançada pela planta.

3.2.3 Eficiência da fitoextração do sorgo e vetiver

A fitoextração induzida, que tem como princípio conceitual, a utilização de plantas com alta capacidade de produção de biomassa, pode ser melhorada com a adoção de estratégias, tais como aplicação de escórias, compostos orgânicos, e diversos outros materiais com capacidade amenizante. No entanto, é importante ressaltar que plantas como milho, sorgo, vetiver, não apresentam uma capacidade natural de acumular razoáveis teores de Pb na parte aérea. Portanto, o outro princípio da técnica, que é a utilização de um quelante, exatamente para suprir a ausência da mencionada característica, é fundamental para o êxito da fitorremediação. O ácido cítrico tem se mostrado promissor em promover um aumento da capacidade fitoextratora de plantas de milho no solo poluído com Pb da área em estudo (Freitas et al., 2009a; Araújo & Nascimento, 2010).

A remoção líquida (equação 2), foi o modelo matemático escolhido para avaliar a eficiência da fitoextração induzida. Para a remoção líquida de Pb, apenas o fator planta foi significativo. A aplicação do quelante, na dose de 40 mmol kg^{-1} , promoveu significativo aumento da remoção de Pb, nas plantas de sorgo cultivadas no solo corrigido com a escória silicatada, em relação a todos os demais tratamentos, exceto o sorgo em solo com calcário dolomítico (Figura 10). Os resultados corroboram o princípio do modelo, em que as variáveis, produção de matéria seca e teor de Pb na biomassa são diretamente proporcionais a remoção líquida, então altos valores de ambos, resultam em elevada eficiência da fitoextração.

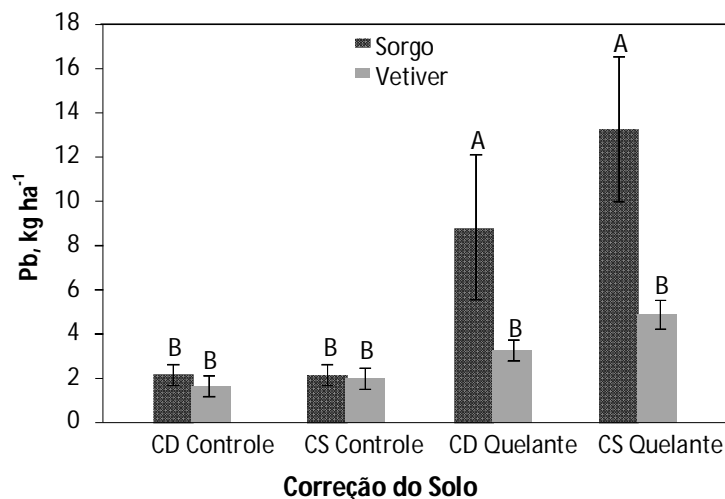


Figura 10. Remoção líquida de Pb por sorgo e vetiver em solo corrigido com calcário dolomítico (CD) e silicato (CS) sem aplicação (controle) e com aplicação (quelante) de ácido cítrico. Médias com a mesma letra maiúscula (correção) ou minúscula (planta), não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

As plantas de sorgo cultivada no solo com silicato, que receberam aplicação de ácido cítrico, não diferiu significativamente do sorgo com calcário dolomítico, mas promoveu uma remoção de $4,48 \text{ kg ha}^{-1}$ de Pb a mais do que o tratamento com calcário dolomítico, com um total de $13,25 \text{ kg ha}^{-1}$ de Pb, o que representa uma remoção 6,2 vezes superior as parcelas de sorgo com silicato controle (Figura 10). Não há registro na literatura da utilização da fitoextração de Pb, induzida por ácido cítrico em campo. Outros trabalhos (Marchiol et al., 2007; Fellet & Marchiol, 2011) sem aplicação de aplicação de quelante, obtiveram uma baixa remoção com sorgo, de apenas 86 e 390 g ha^{-1} de Pb, respectivamente.

A remoção de Pb promovida pela aplicação de ácido cítrico com sorgo em ambas as correções, foi significativamente maior que o vetiver nos mesmos tratamentos, de modo geral, as plantas de sorgo removeram 63 % a mais de Pb que o vetiver. A menor eficiência do vetiver em relação ao sorgo não o desqualifica para programa de fitoextração. A remoção líquida de Pb com uso de vetiver, aliada a aplicação de ácido cítrico (40 mmol kg^{-1}), foi de $4,87 \text{ kg ha}^{-1}$, ou seja, 2,45 vezes superior ao vetiver no tratamento com silicato controle, e que pode ser considerada relativamente alta. A planta apresenta uma característica bastante relevante para a fitoextração, como é perene, pode permitir cultivos sucessivos sem a necessidade de um novo plantio a cada ciclo, mas para tanto, novos estudos devem ser realizados.

Existem diferentes concepções na elaboração dos modelos matemáticos para estimar o tempo requerido para a recuperação pela fitoextração de um *site* contaminado. No presente trabalho foi utilizado o seguinte modelo: $t = [((Q_{[Pb]solo} - Q_{[Pb]VI}) \div RL)] \div c$, onde t = tempo necessário para a recuperação da área (anos); $Q_{[Pb]solo}$ = Concentração total de Pb no solo (mg kg^{-1}); $Q_{[Pb]VI}$ = Valor de investigação do CONAMA para área industriais (900 mg kg^{-1} de Pb) e c = Número de cultivos por ano, os resultados são mostrados na Figura 11. O número de cultivos foi definido pela seguinte relação: 365 dias do ano \div 73 dias que foi a duração do experimento, resultando em 5 cultivos anualmente. É importante ressaltar que as condições climáticas da região onde o experimento foi conduzido possibilitam cultivos sucessivos o ano inteiro.

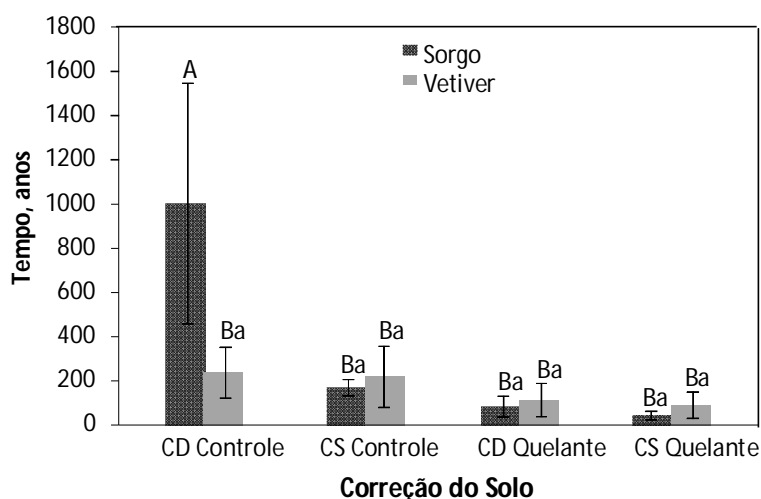


Figura 11. Tempo necessário para a fitoextração de Pb do solo atingir o valor de investigação do CONAMA, utilizando o sorgo e vetiver em solo corrigido com calcário dolomítico (CD) e silicato (CS) sem aplicação (controle) e com aplicação (quelante) de ácido cítrico. Médias com a mesma letra maiúscula (correção) ou minúscula (planta), não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey com $p < 0,05$. Desvio padrão \pm da média ($n = 4$).

A interação entre os fatores estudados apresentou efeito significativo com relação ao tempo necessário para a execução da fitoextração. A estimativa de tempo utilizando sorgo em solo corrigido com calcário, sem aplicação do ácido cítrico, supera 1000 anos. Mesmo com uma elevada remoção líquida observada na Figura 10, principalmente para sorgo no solo corrigido com silicato e aplicação de ácido cítrico, a estimativa de tempo pode ser relativamente alta. O menor tempo estimado para a fitorremediação da área com esse tratamento, corresponde a 43 anos, ou seja, seria necessários 215 cultivos. O tempo requerido com o uso de vetiver em solo com silicato e aplicação de ácido cítrico, é de 93 anos,

demandando 465 ciclos de cultivo, para reduzir a contaminação até o valor de investigação (VI) da resolução 420 do CONAMA (2009). Deve-se observar, no entanto, que estes resultados não decorre apenas do efeito dos tratamentos (correção com escória silicatada mais aplicação do ácido orgânico), mas pelo fato de que a concentração total do Pb na área é relativamente alta (Figura 5). Estes dados ressaltam a importância da concentração do metal no solo na decisão de qual tecnologia de remediação deve ser utilizada em cada caso.

O tempo necessário para atingir o nível regulatório no solo, tem sido apontado como um dos principais obstáculos para a recomendação da técnica de fitoextração (Arshad et al., 2008; Liang et al., 2009). A necessidade de muitos anos de cultivo, para a recuperação da área, pode tornar a implementação de um programa de fitoextração inviável economicamente.

4. Conclusões

1. O ácido cítrico aplicado na dose de 40 mmol kg^{-1} de solo foi eficiente na solubilização do Pb do solo e na indução da remoção de Pb pelas espécies. O ácido cítrico comercial é indicado para uso na área, em virtude do baixo custo financeiro e alta biodegradabilidade. Devido a baixa solubilidade natural do Pb e ao elevado tempo requerido, ou seja, mais de 900 anos, a fitoextração sem aplicação de quelantes não é viável para remediar a área em estudo.
2. O sorgo cultivado em solo corrigido com a escória silicatada, aliado a aplicação de quelante, são os programas de fitoextração recomendados para a remediação de setores da área com contaminação moderada de chumbo. Para concentrações mais elevadas do metal, outras abordagens de remediação devem ser adotadas visando tornar o processo prática e economicamente viável.

5. Referências Bibliográficas

ACCIOLY, A.M.A.; SOARES, C.R.F.S.; SIQUEIRA, J.O. Silicato de cálcio como amenizante da toxidez de metais pesados em mudas de eucalipto. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 44:1-9, 2009.

AGÊNCIA EXECUTIVA DE GESTÃO DAS ÁGUAS DO ESTADO DA PARAÍBA - AESA. Pluviometria média do Estado da Paraíba - 2010. Disponível em: <<http://www2.aesa.pb.gov.br/meteoro/pcdlmrs.shtml>> Acesso em 03 jan. de 2011.

AN, Y.J. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. Environmental Pollution, 127:21-26, 2004.

ANTIOCHIA, R., CAMPANELLA, L., GHEZZI, P., MOVASSAGHI, K. The use of vetiver for remediation of heavy metal soil contamination Anal Bioanal Chem., 388:947-956, 2007.

ARAÚJO, J.C.T.; NASCIMENTO, C.W.A. Phytoextraction of Lead from Soil from a Battery Recycling Site: The Use of Citric Acid and NTA. Water, Air and Soil Pollution, 211:113-120, 2010.

ARAÚJO, J.C.T.; NASCIMENTO, C.W.A.; CUNHA FILHO, F.F. Disponibilidade de silício e biomassa de milho em solo contaminado por chumbo tratado com silicato. Ciência e Agrotecnologia, 35:878-883, 2011.

ARSHAD, M.; SILVESTRE, J.; PINELLI, E.; KALLERHOFF, J.; KAEMMERER, M.; TARIGO, A.; SHAHID, M.; GUIRESSE, M.; PRADERE, P.; DUMAT, C. A field study of lead phytoextraction by various scented Pelargonium cultivars. Chemosphere, 71:2187-2192, 2008.

CASSINA, L. TASSI, E.; MORELLI, E.; GIORGETTI, L.; REMORINI, D.; CHANEY, R.L.; Barbafieri, M. Exogenous cytokinin treatments of an Ni hyper-accumulator, Alyssum Murale, grown in a serpentine soil: implications for phytoextraction. International Journal of Phytoremediation, v.13, p.90-101, 2011.

CAVALCANTI, F.J.A. Recomendações de Adubação para o Estado de Pernambuco. 2a aproximação, 3. ed. Recife: IPA, 2008. 212p.

CHANEY, R.; ANGLE, J.; BROADHURST, C.; PETERS, C.; TAPPERO, R.; SPARKS, D. Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. Journal Environmental Quality, 36:1429-1444, 2007.

CHIU, K.K.; YE, Z.H.; WONG, M.H. Growth of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmites australis* on Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: a greenhouse study, *Bioresour. Technol.* 97:158-170, 2006.

Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Valores orientadores para solos e águas subterrâneas. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>> . Acesso em 23 nov. 2011.

CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, A.J. Silicon alleviates the toxicity of cadmium and zinc for maize (*Zea mays* L.) grown on a contaminated soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171:849-853, 2008.

CUNNINGHAM, S.D. & OW, D.W. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.*, 110:715-719, 1996.

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

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.

EPA-3052. Disponível em: < <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3052.pdf> >. Acesso em 19 jan. de 2012.

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.

FELLET, G.; MARCHIOL, L. Towards Green Remediation: Metal Phytoextraction and Growth Analysis of *Sorghum bicolor* under Different Agronomic Management. *Low Carbon Economy*, 2:144-151, 2011.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, A.J. & DUDA, G.P. Indução da fitoextração de chumbo por ácido cítrico em solo contaminado por baterias automotivas. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:467-473, 2009a.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; BIONDI, C.M.; SILVA, J.P.S.; SOUZA, A.P. Dessorção e lixiviação de chumbo em Espodossolo tratado com agentes quelantes. R. Bras. Ci. Solo, 33:517-525, 2009b.

FONSECA, I.M.; PRADO, R. M.; VIDAL, A.A.; NOGUEIRA, T.A.R. Efeito da escória, calcário e nitrogênio na absorção de silício e na produção do capim-marandu. Bragantia, 68:221-232, 2009.

GABOS, M.B.; CASAGRANDE, G.; ABREU, C.A.; PAZ-FERREIRO, J. Uso da matéria orgânica como mitigadora de solo multicontaminado e do girassol como fitoextratora. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 15:1298-1306, 2011.

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

KORNDÖRFER, G. H. Elementos benéficos. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). Nutrição Mineral de Plantas. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 355- 374.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. Journal of Environmental Quality, 31:109-120, 2002.

LECLERC, N.; MEUX, E.; LECUIRE, J.M. Hydrometallurgical recovery of zinc and lead from electric arc furnace dust using mononitriiotriacetate anion and hexahydrated ferric chloride, Journal of Hazardous Materials, 91:257-270, 2002.

LIANG, H.M.; LIN, T.H.; CHIOU, J.M.; YEH, K.C. Model evaluation of the phytoextraction potential of heavy metal hyperaccumulators and nonhyperaccumulators. Environmental Pollution, 157:1945-1952, 2009.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. Cellular and Molecular Life Sciences, 65:3049-3057, 2008.

MA, J.F. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. Soil Science and Plant Nutrition, 50:11-18, 2004.

MA, L.Q.; KOMAR, K.M.; TU, C.; ZHANG, W.H.; CAI, Y.; KENNELLEY, E.D. A fern that hyperaccumulates arsenic. Nature, 409:579, 2001.

MARCHIOL, L.; FELLET, G.; PEROSA, D.; ZERBI, G. Removal of trace metals by *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in a site polluted by industrial wastes: a field experience. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45:379-387, 2007.

MARQUES, L.F. Fitoextração de chumbo por girassol, vetiver, trigo mourisco, jureminha e mamona em áreas contaminadas. 2009, 48p. (Dissertação de Mestrado) UFPB, Areia. Disponível em: <<http://www.cca.ufpb.br/ppga/pdf/mestrado/Luciano%20Facanha-ms09.pdf>>. Acesso em 03 dez. de 2011.

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. *Sci. Agric.*, 65:61-68, 2008.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes, *R. Brasi. Ci. Solo*, 30:1051-1060, 2006.

NEUMANN, D.; ZUR NIEDEN, U. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. *Phytochemistry*, 56:685-692, 2001.

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. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51:47-58, 1993.

PEDRON, F.; PETRUZZELLI, G.; BARBAFIERI, M. & TASSI, E. Strategies to use phytoextraction in very acidic soil contaminated by heavy metals. *Chemosphere*, 75:808-814, 2009.

RUTTENS, A.; BOULET, J.; WEYENS, N.; SMEETS, K.; ADRIAENSEN, K.; MEERS, E.; SLYCKEN, S. VAN.; TACK, F.; MEIRESONNE, L.; THEWYS, T.; WITTERS, N.; CARLEER, R.; DUPAE, R.; VANGRONSVELD, J. Short rotation coppice culture of willows and poplars as energy crops on metal contaminated agricultural soils. *International Journal of Phytoremediation*, 13:194-207, 2011.

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 Environmental Quality*, 31:1893-1900, 2002.

SHI, X.H.; ZHANG, C.C.; WANG, H.; ZHANG, F.S. Effect of Si on the distribution of Cd in rice seedlings. *Plant and Soil*, 272:53-60, 2005.

SCHNOOR, J.L. Phytoremediation: Ground-water remediation technologies analysis center (gwrtac) technology evaluation report TE-98- 01, p.7. 1997.

TANHAN, P.; KRUATRACHUE, M.; POKETHITIYOOK, P. & CHAIYARAT, R. Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by Siam weed [*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson]. *Chemosphere*, 68:323-329, 2007.

TIAN, S.N.; LIU, D.Y.; PENG, S.L. The study on tolerance of *Vetiveria zizanioides* and *Roegneria kamoji* to heavy metal Cu, Pb, Zn and their mixed soluble. *Journal of Biology*, 21: 15-19, 2004.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. Method 3051A – Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges and soils. Washington, DC, 1998. 14p. Disponível em: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>. Acesso: em 30 nov. 2011.

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.

XIA, H.P. Ecological rehabilitation and phytoremediation with four grasses in oil shale mined land. *Chemosphere*, 54:345-353, 2004.

ZACCHEO, P.; CRIPPA, L.; PASTA, V.D.M. Ammonium nutrition as a strategy for cadmium mobilisation in the rhizosphere of sunflower. *Plant and Soil*, 283: 43–56, 2006.

ZHANG, C.; WANG, L. NIE, Q.; ZHANG, W.; ZHANG, F. Long-term effects of exogenous silicon on cadmium translocation and toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 62:300-307, 2008.

ZHAO, S.; LIAN, F.; DUO, L. EDTA-assisted phytoextraction of heavy metals by turfgrass from municipal solid waste compost using permeable barriers and associated potential leaching risk. *Biores Technol.*, 102:621-626, 2011.

ZHUANG, P.; SHU, W.; LI Z.; LIAO, B.; LI, J.; SHAO, J. Removal of metals by sorghum plants from contaminated land. *Journal of Environmental Sciences* 21:1432-1437, 2009.