**ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA: ASPECTOS
QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS E
FITODISPONIBILIDADE DE METAIS PESADOS
ORIGINÁRIOS DE BIOSSÓLIDOS**

ADRIANA MARLENE MORENO PIRES

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”,
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de Concentração:
Solos e Nutrição de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Janeiro - 2003

**ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA: ASPECTOS
QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS E
FITODISPONIBILIDADE DE METAIS PESADOS
ORIGINÁRIOS DE BIOSSÓLIDOS**

ADRIANA MARLENE MORENO PIRES

Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof^a Dra. **MARIA EMÍLIA MATTIAZZO-PREZOTTO**

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”,
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de Concentração:
Solos e Nutrição de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Janeiro - 2003

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Pires, Adriana Marlene Moreno

Ácidos orgânicos da rizosfera: aspectos qualitativos e quantitativos e
fitodisponibilidade de metais pesados originários de biossólidos / Adriana
Marlene Moreno Pires. - Piracicaba, 2003.

94 p.

Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.
Bibliografia.

1. Ácido orgânico 2. Lodo de esgoto 3. Metal pesado 4. Rizosfera I.

Título

CDD 631.46

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais

KLINGER e MARLENE,

por todos momentos felizes em minha vida,

DEDICO.

A DEUS,

pela **VIDA**, humildemente

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

À Prof^{ta} Maria Emília Mattiazzo, pela orientação e exemplo e à amiga Mila, pelos conselhos, pelo apoio e por tantos momentos felizes que passamos juntas;

Aos Profs. Chang e Page, pela orientação e sobretudo pelo respeito e carinho com que me acolheram em Riverside;

A coordenação do curso, pelo atual respeito aos alunos;

A FAPESP, pela concessão de bolsa;

A EMBRAPA, por permitir meu afastamento para o término do doutorado;

Ao Prof. Luiz Guilherme (Bebeto) e ao colega Giuliano pela paciência e apoio diante das minhas “limitações cromatográficas”;

Ao amigo “escravagista” Ronaldo Berton, (Boss) pelo apoio no presente estudo e por sempre ter acreditado na minha capacidade;

Ao Prof. Dr. Murilo e ao colega Amaral pelo auxílio “liofilizador”;

À Letícia, Ana Paula, Camila e Edna pelo auxílio no presente estudo e pela amizade;

À Natalie Krage e Juliana Workman pela amizade e, principalmente, pelas traduções simultâneas em Riverside;

Ao amigo Cristiano por ter sido o anjo bom que me auxiliou nos piores momentos;
Aos amigos Fábio, Barizon, Thiago, Geni, Tadeu e Ralf por terem sido minha família;

Àos amigos Katia, Doce, Titane, Cris, Arara, Janna, Jô, Ní, Lilis, Fê, Gláucia, Michel, Tathy, Marra, Camilo e José da Silva e ao meu irmão Jú, pela amizade de hoje e sempre;

Aos Profs. Rodella, Arquimedes e Libardi pela amizade e exemplo;

À todos os funcionários do setor de Química do Departamento de Ciências Exatas da ESALQ/USP e do Geology Department da UCR/Riverside pela convivência, amizade e paciência sempre que incomodados;

Aos amigos Ronessa, Nuno, Mariane, Francisco, Dejoel, Valter e Mesquita pela acolhida em Brasília;

Em fim, para todos aqueles que de alguma maneira colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Contextualização do problema.....	3
2.2 Normas regulamentadoras do uso agrícola de bioossólidos.....	5
2.3 Metais Pesados adicionados ao solo via bioossólidos.....	7
3 ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS E ABSORÇÃO DE METAIS PESADOS ORIGINÁRIOS DE BIOSSÓLIDOS.....	26
3.1 Introdução.....	27
3.2 Material e Métodos.....	29
3.3 Resultados e Discussão.....	35
3.4 Conclusões.....	43
4 ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA E CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DE Cr, Cu, Ni, Pb e Zn EM SOLOS TRATADOS COM BIOSSÓLIDOS.....	45
4.1 Introdução.....	46
4.2 Material e Métodos.....	47
4.3 Resultados e Discussão.....	50
4.4 Conclusões.....	57
5 ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA E AVALIAÇÃO DE TEORES FITODISPONÍVEIS DE Cd, Cu, Ni, Pb e Zn ORIGINÁRIOS DE BIOSSÓLIDOS.....	58

5.1 Introdução.....	59
5.2 Material e Métodos.....	61
5.3 Resultados e Discussão.....	66
5.4 Conclusões.....	70
6 CONCLUSÕES GERAIS.....	71
ANEXO.....	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
APÊNDICE.....	90

ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA: ASPECTOS QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS E FITODISPONIBILIDADE DE METAIS PESADOS ORIGINÁRIOS DE BIOSSÓLIDOS

Autora: ADRIANA MARLENE MORENO PIRES

Orientadora: Prof^ª Dr^ª MARIA EMÍLIA MATTIAZZO-PREZOTTO

RESUMO

A fitodisponibilidade de metais pesados em solos tratados com biossólido está relacionada com o processo de solubilização destes metais presentes, predominantemente, na fase sólida do resíduo. A formação de complexos solúveis entre metais e ácidos orgânicos liberados na rizosfera por plantas e microorganismos parece ter um importante papel na solubilização e, conseqüentemente, na fitodisponibilidade dos metais pesados. Ainda não foi estabelecido um método de extração eficiente para estimar teores fitodisponíveis destes metais, provavelmente por que os extratores geralmente utilizados não simulam reações que ocorrem próximas às raízes. O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar a composição de ácidos orgânicos na rizosfera de algumas espécies vegetais cultivadas na presença de biossólidos, estudar o potencial de dissolução de metais pesados originários de biossólidos por estes ácidos orgânicos e testar a viabilidade do uso de soluções de ácidos orgânicos como extratores de metais pesados fitodisponíveis. Braquiária, eucalipto, cana de açúcar e milho foram cultivadas em areia ou areia tratada com biossólido. Análises cromatográficas foram realizadas em amostras coletadas do sistema hidropônico utilizado, identificando-se os

ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico, respectivamente nas porcentagens de 43,21; 31,13; 20,41 e 5,25 calculadas em relação ao total de ácidos determinado. Os teores de ácido acético, láctico e oxálico no extrato correlacionaram com os teores de Cd, Cu, Ni e Zn na parte aérea das espécies vegetais estudadas. O teor de ácido cítrico não correlacionou com nenhum dos metais estudados. Considerando-se a somatória dos teores dos ácidos estudados obteve-se correlação com o teor de metais pesados nas plantas, evidenciando o efeito destes ácidos na fitodisponibilidade dos metais. O estudo de cinética foi realizado utilizando-se solução dos ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico, preparada de modo a se obter concentração final igual a 0,05 e 0,10 mol L⁻¹. A extração foi feita segundo o método do equilíbrio de batch. A solução de ácidos orgânicos de concentração 0,10 mol L⁻¹ extraiu maiores quantidades dos metais. A cinética de solubilização apresentou duas fases: uma inicial com rápida liberação dos metais, seguida de outra mais lenta tendendo ao equilíbrio. As constantes de velocidade mais altas foram observadas para Ni e Zn, seguidos de Cu, Cr e Pb. Os valores para o reservatório lábil não ultrapassaram 15% do total de metais presentes. A porcentagem referente ao reservatório lábil do metal em relação ao total presente obedeceu a ordem: Zn > Cu ≅ Ni > Cr ≅ Pb. Um método de extração de teores fitodisponíveis de metais pesados em solos tratados com biossólidos foi desenvolvido, sendo a solução extratora utilizada composta pelos ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico em concentrações de 1,00; 0,72; 0,49 e 0,12 mol L⁻¹, respectivamente. Amostras de terra e plantas provenientes de 3 experimentos de campo que apresentavam tipo de solo, espécie vegetal cultivada e origem do biossólido diferentes foram utilizadas para testar o método. As correlações entre os teores de Cu, Ni, Pb e Zn removidos pela solução de ácidos orgânicos e os teores destes metais no tecido vegetal foram significativas (1 %).

**ORGANIC ACIDS OF THE RHIZOSPHERE: QUALITATIVE AND
QUANTITATIVE ASPECTS AND PHYTOAVAILABILITY OF
SLUDGE-BORNE HEAVY METALS**

Author: ADRIANA MARLENE MORENO PIRES

Adviser: Prof^a Dr^a MARIA EMÍLIA MATTIAZZO-PREZOTTO

SUMMARY

Heavy metals phytoavailability in soils treated with biosolid is directly related with the solubilization process of these metals, which are predominantly present at the solid phase of the residue. Soluble complex formation between metals and organic acids liberated into the rhizosphere by plants and microorganisms, seems to have an important role at the solubilization, and consequently, at the heavy metals phytoavailability. It was not yet established an efficient extraction method to estimate phytoavailable concentrations of heavy metals, probably because the extractors generally used do not simulate the reactions that occurs close to the roots. The present study was done with the purpose of determining the composition of organic acids at rhizosphere of some vegetal species cultivated on the presence of biosolid, to study solubilization potential of heavy metals originated from the residue by these organic acids, and to test viability of using organic acids solution as extractors of phytoavailable heavy metals. Marandu grass, eucalyptus, sugar cane and corn were cultivated in sand or sand treated with biosolid. Chromatographic analyzes were done in solutions samples collected from the hydroponics system used, identifying the acetic, citric, lactic and oxalic acids, in the

percentages 43.21, 31.13, 20.41 and 5.25 respectively, calculated in relation to the determined total. Concentrations of acetic, lactic, and oxalic acids within the collected extract, significantly correlated with the concentrations of Cd, Cu, Ni and Zn with the shoot of the studied vegetal species. Citric acid concentration did not correlated with any of the studied metals. Considering the concentration sum of the studied acids, it was achieved a correlation with Cd, Cr, Cu, Ni e Zn concentration in the shoot of the plants, what makes evident the effect of these metals at heavy metal phytoavailability. The kinetics study of solubilization reaction of Cd, Cu, Cr, Ni, Pb and Zn in soils treated with biosolid was done using a solution of acetic, citric, lactic, and oxalic acids, prepared in such a way that a final concentration of 0,05 e 0,10 mol L⁻¹ was obtained. The extraction was done following the batch equilibrium method. The solution of organic acids with a concentration of 0,10 mol L⁻¹ extracted more quantities of Cu, Cr, Ni and Zn than the 0,05 mol L⁻¹ solution. The solubilization kinetics presented two phases: an initial one with fast liberation of metals, followed by a slower one tending for equilibrium. The higher velocity constants were observed for Ni and Zn, followed by Cu, Cr and Pb. The values calculated for the labile pool did not exceeded 15% of the present metals total. The percentage concerned to this pool related to the total, followed the order: Zn > Cu $\cong$ Ni > Cr $\cong$ Pb. An extraction method of heavy metals phytoavailable in soil treated with biosolid was developed, and the extractor solution used was composed by acetic, citric, lactic, and oxalic acids in concentrations of 1,00; 0,72; 0,49 and 0,12 mol L⁻¹, respectively. Samples of soils and plants from 3 (three) field experiments, which presented different type of soil, cultivated vegetal specie, and biosolid origin, were used to test the method. Correlation between Cu, Ni, Pb and Zn concentration removed by the solution of organic acids, and the concentration of these metals within the vegetal tissue were significant (1 %).

1 INTRODUÇÃO

Lodo de esgoto é o resíduo gerado no tratamento de águas residuárias de origem urbana acrescida ou não de esgoto industrial. Lodo de esgoto passa a ser denominado biossólido após devidamente condicionado de forma a possibilitar o seu uso racional em áreas agrícolas. No entanto, o uso agrícola de biossólidos é frequentemente limitado pela presença de patógenos, compostos orgânicos persistentes e metais pesados. No que se refere a metais pesados a Norma P4.230 (CETESB, 1999) limita o conteúdo em biossólidos e também limita as quantidades máximas de metais que podem ser adicionadas em áreas agrícolas em uma ou várias aplicações. Entretanto nessa norma não existe nenhum critério quanto a fitodisponibilidade desses metais em solos sendo uma preocupação da comunidade científica a passagem desses elementos para a cadeia alimentar via absorção pelas plantas.

A fitodisponibilidade de metais é, geralmente, avaliada pelas quantidades absorvidas pelas plantas sendo que Chang et al. (1997) estimam que menos que 1% do total adicionado a solos via biossólidos é absorvido pelas plantas. Entretanto, são poucos os trabalhos que avaliam fitodisponibilidade de metais em solos ácidos e altamente intemperizados como os existentes no Estado de São Paulo, de forma que existem muitas dúvidas a respeito se aquela quantidade encontrada por Chang et al. (1997) pode ser extrapolada para nossas condições de solo.

Outros autores têm se preocupado em propor metodologia de extração visando estimar quantidades fitodisponíveis antes do estabelecimento da cultura, uma vez que, dessa forma, seria possível conhecer de antemão a possibilidade de entrada de metais pesados na cadeia alimentar. Também é uma preocupação da comunidade científica conhecer processos que promovam a solubilização dos metais pesados adicionados a

solos via biossólidos uma vez que esses processos são importantes em estudos de fitodisponibilidade.

Visto o exposto e analisando as seguintes observações: (1) a formação de complexos solúveis entre metais pesados e ácidos orgânicos de baixo peso molecular, esses últimos comumente presentes na rizosfera, resultam no aumento da absorção destes elementos por plantas cultivadas em solos tratados com biossólidos (Mench & Martin, 1991; Koo, 2001), (2) os métodos de extração utilizados atualmente para estimar teores fitodisponíveis de metais pesados não têm sido eficientes quando são consideradas as seguintes variáveis: tipo de solo, espécie vegetal, origem do biossólido, metal pesado em questão, entre outras. Uma das falhas apontadas nesses extratores é que eles não simulam as reações que ocorrem na rizosfera (Mattiazzo et al., 2001), o presente estudo foi proposto com o objetivo principal de validar a hipótese de que os ácidos orgânicos influenciam na fitodisponibilidade dos metais pesados em solos tratados com biossólidos. Os objetivos específicos foram: determinar a composição de ácidos orgânicos na rizosfera de algumas espécies vegetais cultivadas na presença de biossólidos, estudar o potencial de dissolução de metais pesados originários de biossólidos por estes ácidos orgânicos e testar a viabilidade do uso de soluções de ácidos orgânicos como extratores de metais pesados fitodisponíveis.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Contextualização do problema

A parcela urbana da população brasileira cresceu de 36 % para 75 % entre as décadas de 50 e 90. O processo de urbanização ocorreu de maneira desorganizada e uma série de regras de proteção ao meio ambiente e ao cidadão foi desrespeitada. O resultado foi a formação de cidades sem infra-estrutura e sem disponibilidade de serviços urbanos capazes de comportar a população. Os grandes centros urbanos concentram também os maiores problemas ambientais, cuja complexidade exige tratamento especial e interdisciplinar. A degradação do meio ambiente não é um problema exclusivamente brasileiro, vários países passaram por problemas semelhantes e buscaram soluções que garantiram a qualidade de vida dos cidadãos sem prejudicar o desenvolvimento econômico. O Brasil começa a despertar para a necessidade de conservação do meio ambiente, implementando instrumentos legais para resolvê-los e incentivando atividades que resultem em ganhos ambientais.

Neste contexto, há alguns anos atrás, a maioria das cidades brasileiras jogava seu esgoto diretamente nas coleções hídricas, poluindo-as e resultando em situações caóticas como a do rio Tietê em São Paulo. Atualmente, 48 % das cidades brasileiras não apresentam sequer rede de coleta de esgotos sanitários (Filho, 2002). Para tentar reverter ou ao menos amenizar o problema, foram criadas políticas de incentivo ao saneamento básico e à instalação de Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) nas cidades, para que as águas residuárias sejam coletadas e tratadas devidamente antes da devolução aos mananciais. Uma importante tentativa nesse sentido foi o Projeto de Modernização do

Setor de Saneamento, que começou a ser implantado em meados de 1993, com recursos previstos na ordem de US\$ 500 milhões e com 50 % de financiamento do BIRD (International Bank for Reconstruction and Development). Recentemente, na conferência que ficou conhecida como Rio+10 em Joanesburgo, os países participantes estabeleceram metas a serem atingidas a respeito do aumento do tratamento de esgotos em prol da conservação do meio ambiente.

Com a instalação das ETEs, um novo problema ambiental é gerado: a disposição do lodo de esgoto, resíduo produzido durante o processo de tratamento das águas residuárias. Estima-se que a Região Metropolitana da cidade de São Paulo estará produzindo cerca de 785 toneladas (base seca) de lodo de esgoto por dia no ano de 2015 (Tsutiya, 2000). Na ETE de Barueri/SP, uma das principais ETEs desta região, estimou-se que a produção para os anos 2005, 2010 e 2015 será respectivamente de 227, 294 e 310 toneladas (base seca) por dia (Santos & Tsutiya, 1997). No Distrito Federal, a CAESB (Companhia de Águas e Esgotos de Brasília) está produzindo diariamente 30 toneladas (base seca) de lodo de esgoto por dia (Silva et al., 2002). No Brasil, a disposição final do lodo geralmente é o aterro sanitário. Além do alto custo, que pode chegar a 50 % do custo operacional de uma ETE, a disposição de um resíduo com elevada carga orgânica no aterro, agrava ainda mais o problema com o manejo do lixo urbano. Em países da Europa e América do Norte, o lodo geralmente é incinerado, depositado em aterros sanitários ou utilizado em áreas agrícolas, dependendo das características do resíduo. Nos Estados Unidos, durante o ano de 1998, 41 % do lodo produzido foi disposto em solos agrícolas e florestais (USEPA, 1999). Na maioria dos países existem normas que regulamentam o destino do lodo, garantindo uma disposição segura. A adição ao solo parece ser a melhor opção sob o ponto de vista econômico e ambiental, uma vez que apresenta o menor custo e promove a reciclagem de matéria orgânica e nutrientes. Matthews (1998) cita que futuramente a disposição do lodo deverá ser predominantemente em solos ou incineração.

O lodo de esgoto, tratado ou processado, que possui características que permitam sua reciclagem e uso agrícola de maneira ambientalmente segura é denominado biossólido. No Brasil o uso agrícola de biossólidos ainda não foi amplamente difundido, entretanto

já faz parte de programas nacionais de controle de impactos ambientais. A Agenda 21 Brasileira possui uma área temática intitulada “Agricultura Sustentável”, onde vários aspectos da atual situação da agricultura brasileira são abordados. A necessidade da recuperação de solos erodidos e empobrecidos é amplamente discutida. Uma das práticas para conservação e recuperação dos solos incentivada é o uso de lodo de esgotos domésticos em solos agrícolas, mediante a garantia de que não ocorram impactos ambientais negativos. Vários estudos no Brasil comprovaram a eficácia do uso agrícola de biossólidos (Silva et al., 2002; Oliveira et al., 1995; Melo et al., 1994; Berton et al., 1989). Entretanto, a possível presença de poluentes como metais pesados, patógenos e compostos orgânicos persistentes são fatores que podem provocar impactos ambientais negativos (Chaney & Ryan, 1993). O nitrato também representa um problema devido à falta de sincronismo entre sua mineralização e a absorção pelas plantas, resultando em risco de contaminação do lençol freático (Oliveira & Mattiazzo, 2001). Uma vez adicionados ao solo, alguns dos poluentes podem entrar na cadeia alimentar ou acumular-se no próprio solo, no ar, nas águas superficiais, nos sedimentos e nas águas subterrâneas (Logan & Chaney, 1984). Portanto, é necessária uma rigorosa regulamentação para a adição do resíduo ao solo, bem como estudos que determinem riscos ambientais a curto e longo prazos considerando os metais pesados.

2.2 Normas regulamentadoras do uso agrícola de biossólidos

Visto a necessidade de controle e monitoramento do uso agrícola de biossólidos, diversos países possuem normas técnicas regulamentando a maneira adequada de utilizar o resíduo. Nos Estados Unidos, o órgão responsável pelo controle de impactos ambientais, a *United States Environmental Protection Agency (USEPA)* desenvolveu normas regulamentando o uso e disposição seguros de lodo de esgoto, incluindo o uso agrícola. A Legislação Federal encoraja o uso racional de biossólidos, dispensando-os da jurisdição e regulamentação relativas a resíduos perigosos, mas assegurando-se da proteção à saúde humana e ao ambiente de qualquer efeito adverso previsto dos

poluentes presentes nestes resíduos. O Código Federal de Regulamentações, Título 40, Partes 257, 403 e 503 referem-se aos “Critérios para a utilização e disposição de lodo de esgoto” e foi finalizado em 1993 (USEPA, 1993).

Para elaboração destas normas utilizou-se como base uma aproximação da avaliação de risco do uso de biossólido, segundo programa desenvolvido pelo *National Research Council* em 1983. Para a aplicação no solo, assumiu-se que os poluentes introduzidos pela adição de biossólidos podem ser transportados através de várias rotas identificáveis, atingindo e afetando a população. Utilizando essa avaliação, foi possível estabelecer limites numéricos de concentração para vários poluentes, incluindo-se metais pesados. Foram adotados limites para 7 elementos metálicos (Cd, Cu, Mo, Hg, Ni, Pb e Zn) e 2 elementos não metálicos (As e Se), sendo que as taxas de poluentes permitidas estão entre 10 e 100 vezes maiores que os teores originais típicos destes elementos no solo.

No Brasil não existe uma lei federal que regule a disposição do resíduo no solo. O uso inadequado pode provocar impactos ambientais negativos, como contaminação do solo e de recursos hídricos e produção de alimentos contaminados por patógenos. Sem uma lei federal específica, o IBAMA e outros órgãos responsáveis pelo controle de poluição não tem como fiscalizar a sua aplicação, dificultando o monitoramento do impacto ambiental possível de ser gerado.

No Estado de São Paulo, a CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental), órgão vinculado à Secretaria do Meio Ambiente, estabeleceu em 1999 normas provisórias estaduais (Norma Técnica P4.230) que regulamentam o uso agrícola de lodos resultantes de tratamentos biológicos, incluindo o lodo de esgoto (biossólido). Os limites indicados nesta norma são os mesmos adotados pela USEPA, nos EUA. Entretanto, as condições edafoclimáticas brasileiras são diferentes, o que pode resultar em erros nesta medida regulamentadora. Vários pesquisadores estão realizando estudos com o intuito de validar tais limites para as condições brasileiras. No Estado do Paraná, a SANEPAR (Companhia de Saneamento do Paraná) elaborou um Manual Técnico visando orientar usuário do biossólido, os operadores de estações de tratamento e os tomadores de decisão sobre procedimentos de produção do lodo. No Distrito Federal, a

CAESB exige que os usuários do resíduo respeitem os limites sugeridos pela USEPA.

De acordo com o exposto, pode-se notar que os limites da USEPA estão sendo utilizados em vários estados brasileiros apesar das diferenças edafoclimáticas entre os dois países. Por isso, resultados de pesquisas gerados no Brasil são essenciais para subsidiar técnica e cientificamente uma normatização federal desta prática, evitando que impactos ambientais negativos sejam gerados.

2.3 Metais pesados adicionados ao solo via bio sólidos

Vários pontos ainda são pouco esclarecidos em relação aos efeitos da adição do bio sólido a solos, como taxa de mineralização de nitrogênio, qualidade e degradabilidade da matéria orgânica, viabilidade de patógenos, presença de compostos orgânicos persistentes nocivos aos vegetais e à saúde humana, disponibilidade e acúmulo de metais pesados.

No caso de estudos com metais pesados, as principais dificuldades encontradas são as limitações dos métodos analíticos em determinar as baixas concentrações presentes na solução e diferentes frações do solo e a escassez de dados envolvendo os metais pesados que não são micronutrientes.

Para descrever melhor as suposições que levaram à formulação da hipótese do presente trabalho será feita uma breve descrição de alguns aspectos teóricos e empíricos que influenciam diretamente no risco ambiental da adição de metais pesados aos solos, principalmente no que diz respeito à entrada na cadeia alimentar através das plantas.

2.3.1 Comportamento dos metais pesados no solo

O conhecimento das reações que governam o comportamento dos metais pesados no solo é essencial para avaliar os impactos que estes podem provocar no ambiente. As principais preocupações em relação à adição de metais pesados aos solos são: entrada na

cadeia alimentar, redução da produtividade agrícola devido a efeitos fitotóxicos, acúmulo no solo, alteração da atividade microbiana e contaminação de recursos hídricos. Os processos que conduzem à solubilização dos metais no solo são os mais importantes em relação à disponibilidade destes elementos e, conseqüentemente, para estudos ambientais. As reações de adsorção, precipitação, complexação e oxi-redução afetam a solubilização, bem como a cinética deste processo (Camargo et al., 2001). Alloway (1995) apresentou um fluxograma que resume os compartimentos em que podem estar presentes os metais pesados uma vez adicionados aos solos (Figura 1).

Adaptado de Alloway (1995).

Figura 1- Principais componentes do sistema solo-planta participantes da dinâmica de metais pesados presentes em solos.

As principais formas em que os metais pesados podem estar nos solos são sucintamente descritas a seguir (adaptado de Alloway, 1995 e Beckett, 1989):

a) Solúveis: íons livres, complexos solúveis com ânions inorgânicos ou ligantes orgânicos. Nesta forma os metais pesados são facilmente absorvidos pelas plantas e/ou lixiviados no solo. A medida dos teores solúveis é realizada

diretamente na solução; entretanto, existe dificuldade nesta determinação uma vez que a concentração normalmente é muito baixa. Atualmente têm sido bastante utilizados os modelos de especiação iônica que calculam a atividade e a concentração do metal em solução (Geochem, Minteq);

b) Trocáveis: adsorvidos por forças eletrostáticas em sítios carregados negativamente presentes na matéria orgânica ou em minerais, como argilas. Geralmente a energia de ligação envolvida é baixa, possibilitando uma troca rápida com a fração presente na solução do solo. A capacidade de troca catiônica (CTC) é um indicativo do potencial do solo em apresentar metais pesados na forma trocável; entretanto, devem ser levados em consideração entre outros fatores, a seletividade do metal, concentração de outros cátions, pH e atividade iônica da solução;

c) Adsorvidos especificamente: adsorvidos covalentemente a sítios específicos. A reação envolve alta energia de ligação, sendo que os metais são liberados de forma muito mais lenta do que na trocável;

d) Ligados a materiais orgânicos insolúveis: metais pesados complexados por materiais orgânicos resistentes à degradação microbiana ou presentes em células recentemente mortas;

e) Precipitados: na forma de carbonatos, sulfatos, fosfatos, hidróxidos, entre outros. Os metais pesados podem formar os precipitados diretamente com os ânions, ou ainda podem ser co-precipitados junto à componentes pouco solúveis de Ca, Mg, Fe e Al conforme estes vão sendo formados. Existe a possibilidade dos metais pesados serem adsorvidos na superfície amorfa destes precipitados, podendo passar para a forma trocável ou covalentemente adsorvida quando as camadas superficiais se cristalizarem. As reações de precipitação são previstas pela constante do produto de solubilidade.

É oportuno lembrar que a dinâmica das reações no ambiente é muito grande, de maneira que provavelmente ocorra no sistema uma coexistência entre as formas de metais pesados, bem como alterações constantes nestas. Por exemplo, a adsorção de

compostos orgânicos insolúveis em minerais de argila, que apresenta forças de ambos adsorventes agindo sobre os metais. Outro exemplo é um metal presente inicialmente na forma trocável em um precipitado ser, com o tempo, adsorvido especificamente (McBride, 1981; McLaren & Crawford, 1973). Os metais pesados mudam de forma no solo por diferentes vias e diversos níveis de energia, resultando em maior ou menor reversibilidade das reações e, conseqüentemente, com maior ou menor facilidade de alteração da espécie química apresentada.

No biossólido os metais apresentam-se em diferentes formas, estando predominantemente ligados à fração sólida do resíduo como, por exemplo, óxidos e matéria orgânica (Bertoncini, 2002). O tipo de tratamento dados às águas residuárias pode influenciar na forma em que os metais estarão no biossólido. Por exemplo, nas ETEs que apresentam digestor anaeróbico, nota-se que grande parte do material orgânico facilmente decomponível é degradado pela população de microorganismos anaeróbios presentes nesta fase do tratamento. Desta maneira, a matéria orgânica é predominantemente composta por biomassa fresca, resíduos resistentes de plantas e heteropolímeros estáveis. Os metais pesados presentes presentes na biomassa seca podem ser facilmente solubilizados com a degradação desta. Por outro lado, os metais no resíduos de plantas e heteropolímeros estáveis serão dificilmente solubilizados. Ainda no digestor anaeróbico, aliada a condições redutoras tem-se pH alto, resultando na precipitação de vários compostos. Durante a formação destes precipitados muitos cátions predominantes no meio, como Fe^{2+} , são substituídos por metais traços. Além disso, os metais pesados podem ser adsorvidos nas superfícies imperfeitas destes precipitados, podendo ficar oclusos com o desenvolvimento da rede cristalina (Beckett, 1989). Portanto, as mesmas reações que regem o comportamento dos metais pesados no solo irão governar este no resíduo.

2.3.2 Solubilização de metais pesados

As plantas absorvem os metais pesados na forma solúvel e esta é a principal via

de entrada destes na cadeia alimentar, além de consistir na fração com maior movimentação no perfil do solo. Portanto a forma solúvel, bem como os processos de solubilização são muito importantes em avaliações de risco ambiental.

A troca iônica é um processo regulador da concentração de metais pesados trocáveis. Entretanto, a influência deste processo na solubilização dos metais é limitada, uma vez que a troca iônica apresenta caráter não seletivo, ocorrendo competição entre os metais traço e elementos presentes em maiores concentrações na solução do solo, como Ca (Laterrel et al., 1978).

Os metais pesados na forma de precipitados devem ser considerados em estudos de solubilização, principalmente os hidróxidos. Nas ETEs em que cal e cloreto férrico são adicionados ao resíduo para aumentar a eficiência de prensagem, a precipitação se torna um processo ainda mais importante na solubilização de metais pesados.

É difícil estabelecer a real contribuição da matéria orgânica na solubilização dos metais pesados. Muitos pontos envolvendo os processos que ocorrem no solo entre a matéria orgânica e estes metais ainda não foram esclarecidos. Por exemplo, existe controvérsia em relação à ligação que ocorre entre metais pesados e ácidos húmicos, sendo considerada de caráter trocável por alguns e específico por outros. Além disso, materiais orgânicos podem formar complexos solúveis ou insolúveis com os metais, influenciando diretamente na sua disponibilidade (Stevenson, 1982).

A adsorção específica é considerada um dos principais processos reguladores da atividade e concentração dos metais pesados em solução (Alloway, 1995; Beckett, 1989). Particularmente para os metais originários do biossólido, este processo é ainda mais importante, já que grande parte destes elementos é adicionada adsorvida especificamente em minerais e matéria orgânica originários do próprio resíduo (Candalaria, 1995).

A concentração de metais pesados em solução geralmente é baixa, de maneira que o equilíbrio entre os metais presentes na fase sólida e os metais em solução analisado individualmente pode não ser o principal processo solubilizador de metais pesados. Outros fatores que perturbem este equilíbrio devem ser considerados, destacando-se, dentre eles, a formação de complexos solúveis com ligantes orgânicos

constantemente liberados na solução do solo por microrganismos e raízes. Para Laurie & Manthey (1994), um dos principais reguladores da solubilidade e disponibilidade dos metais pesados é a formação de complexos.

2.3.3 Reações de complexação entre ligantes orgânicos e metais pesados

A formação de complexos solúveis entre metais pesados e ligantes presentes no solo tem sido considerada um fator importante na solubilização de metais pesados (Stevenson, 1982). Stevenson & Ardakani (1979) dividiram os agentes complexantes presentes na natureza em dois grandes grupos:

- (1) Bioquímico: semelhantes aos que ocorrem em organismos vivos. Exsudatos de raiz, substâncias liberadas na decomposição da matéria orgânica e ligantes de origem microbiana;
- (2) Polímeros complexos: substâncias húmicas. É importante lembrar que entre as substâncias húmicas, a matéria orgânica dissolvida forma complexos metálicos solúveis.

A influência de agentes complexantes na solubilização ou retenção de metais pesados é dependente do tipo de complexo formado, podendo: (a) diminuir a adsorção em função da complexação dos metais pesados; (b) aumentar a retenção se ocorrer competição entre estes ligantes e os metais pelos sítios de adsorção e (c) ocorrer pouca variação na adsorção se o complexo formado apresentar alta afinidade com a superfície adsorvente e a energia de complexação for baixa (Huang & Lin, 1981).

Para estudar a complexação de metais pesados é essencial o conhecimento da química de coordenação. Compostos de coordenação são formados por um átomo de metal central ou um cátion metálico central, no qual se liga covalentemente um certo número de átomos ou moléculas. O número de ligações estabelecidas define o chamado número de coordenação do metal (geralmente 4 ou 6).

A espécie com função de ligante deve ter pelo menos um par de elétrons livres (ligante monodentado) ou mais (ligante polidentado) para oferecer em compartilhamento

ao íon metálico. Portanto, os ligantes são as bases de Lewis.

A formação dos complexos em solução é um processo termodinamicamente reversível, sendo que a reação pode ser descrita por uma constante de equilíbrio conhecida como constante de estabilidade.

$$K_{\text{est}} = \frac{[\text{M (H}_2\text{O)}_{x-n} \text{L}_n]}{[\text{M (H}_2\text{O)}_{x-(n+1)} \text{L}_{n-1}] [\text{L}]^n}$$

M (H₂O) é a representação da forma hidratada do metal, L do ligante, n do número de ligações com o metal (geralmente de 1 a 6, conforme o nº de coordenação) e K_{est} da constante de estabilidade.

Quanto maior for o valor da constante de estabilidade, maior a probabilidade de formação do complexo. Em geral, os ligantes polidentados apresentam constantes de equilíbrio mais elevadas. O uso de constantes de estabilidade no entendimento dos processos que regulam a disponibilização dos metais pesados é limitado, uma vez que existem poucos dados sobre estas constantes disponíveis na literatura. Para a maioria dos ligantes, os valores das constantes de equilíbrio seguem a ordem de Irving-Williams:

A reversibilidade da complexação permite que o princípio de Le Chatelier's seja aplicado: independente da estabilidade do complexo metálico, sempre existe algum íon metálico e ligante livres em equilíbrio com as espécies complexadas. As concentrações das espécies livres podem ser muito baixas, mas para qualquer alteração nestas, novo equilíbrio será estabelecido. Este conceito é importante no entendimento da disponibilização dos metais pesados na rizosfera. A absorção pelas raízes das plantas atua como dreno para os íons metálicos, mas o equilíbrio tende ser restabelecido, mantendo praticamente constante a concentração dos íons em solução, enquanto existir reserva passível de disponibilização no solo.

A cinética das reações geralmente é negligenciada nos estudos de avaliações de

riscos ambientais da adição de metais pesados ao solo, sendo que para várias reações a cinética ainda é desconhecida. As taxas em que a complexação ocorre são influenciadas, principalmente, pelo tipo de metal e ligante, além da concentração das espécies envolvidas (Laurie & Manthey, 1994).

2.3.4 Absorção de metais pesados pelas plantas

A absorção dos metais pesados pelas plantas ocorre a partir do contato do metal com as raízes, que se dá pela interceptação das raízes com o metal, fluxo de massa ou difusão. A interceptação apresenta pouca importância quando comparada aos outros dois processos; podendo-se, de forma geral, dizer que o movimento dos metais para a raiz é decorrente de fluxo de massa e difusão. Quando a quantidade de metais pesados fornecida por fluxo de massa é inferior à absorvida pelas plantas, a concentração em solução próxima das raízes diminui. Com isso, ocorre o processo de difusão em direção às raízes em função do gradiente de concentração gerado (Barber, 1995).

É interessante determinar qual o papel de cada um dos dois processos na absorção. Se o movimento por difusão for mais efetivo, fatores que reduzam a mobilidade difusiva do contaminante, como a complexação, devem reduzir também a absorção pelas plantas (McLaughlin, 1998). Se o fluxo de massa é predominante, o aumento da taxa de transpiração da planta pode resultar em maior absorção do contaminante, como o encontrado para Pb por Blaylock et al. (1997).

As vias de movimentação na planta são apoplásticas ou simplásticas (Taiz & Zeiger, 1998). No caso do apoplasto, muitas vezes o metal fica retido nas cargas negativas superficiais presentes nas paredes dos poros, não sendo realmente absorvido (Reid et al., 1996). Com isso, a quantidade total de metais pesados absorvida pelas plantas pode ser superestimada.

Ainda existe controvérsia a respeito dos mecanismos de absorção dos metais pesados e vários modelos já foram desenvolvidos no sentido de explicá-los (Barber, 1995). Welch & Norvell (1999) especulam que a entrada de metais divalentes talvez

ocorra através de um canal de Ca^{2+} ou Mg^{2+} localizados em proteínas intrínsecas da membrana. Kochian (1993) sugere que a redutase férrica estaria presente na membrana plasmática, facilitando a absorção de Fe em dicotiledôneas. Esta enzima seria a responsável pela abertura do canal de Ca^{2+} , permitindo a absorção do próprio ferro e de outros íons divalentes. Alguns autores citam a possibilidade de competição iônica em termos de absorção radicular, evidenciando que os transportadores não são altamente específicos (Reid et al., 1996; Cataldo et al., 1983). Adicionalmente, eles sugerem que o raio iônico efetivo do metal pesado é um parâmetro fundamental na competição, conforme o verificado para Cu^{2+} e Zn^{2+} .

Existem evidências de que complexos metálicos podem ser transportados através da membrana celular. Agentes complexantes liberados por raízes tiveram o carbono marcado (^{14}C) e, na presença de Zn, foi constatado que ocorreu transporte do complexo (fitometalóforo) para dentro de raízes de milho (von Wiren et al., 1996). A carga do complexo metálico parece estar diretamente relacionada com sua maior ou menor absorção. Iwasaki & Takahashi (1989) encontraram diferenças na absorção ao utilizar ligantes que formavam complexos com carga positiva, negativa ou sem carga. Em ambiente aquático, Campbell (1995) cita que complexos metálicos desprovidos de carga tendem a ser mais lipofílicos, o que favorece o transporte através da porção lipídica da membrana.

Vários autores constataram que a complexação dos metais pesados aumenta a absorção destes pelas plantas (Vassil et al., 1998; Blaylock et al., 1997; Wallace et al., 1977). O aumento pode estar relacionado com a manutenção dos metais em solução ou com maiores limitações na difusão do metal livre, em comparação aos complexos, para atingir os sítios de absorção, tendo em vista a forte ligação entre os metais e superfícies sólidas aliada ao alto grau de tortuosidade dos poros do solo (Huang et al., 1997; Barber, 1995).

Em alguns casos, foi constatado que quando a planta absorve metais pesados presentes em altas concentrações na solução, um processo de liberação destes pela célula é desencadeado. Desta maneira, tem-se um equilíbrio entre entrada e saída do metal, evitando que este se acumule na célula (Santa-Maria & Cogliatti, 1998;

Costa & Morel, 1993).

2.3.5 Fitodisponibilidade, fitotoxicidade e reservatório lábil de metais pesados originários de biossólidos

A principal via de entrada na cadeia alimentar de metais pesados adicionados a solos agrícolas é a absorção pelas plantas. Assim, o estudo de teores fitodisponíveis de metais pesados em solos tratados com biossólidos é essencial para se avaliar o risco ambiental decorrente do uso agrícola de resíduos contendo estes elementos. Alguns pontos da avaliação de risco utilizada no estabelecimento da norma americana que regulamenta o uso de biossólidos em solos agrícolas são bastante criticados (McBride, 1995). O problema central apontado nas críticas está relacionado com as suposições utilizadas em relação à disponibilização de metais pesados para as plantas.

Consideram-se metais pesados fitodisponíveis aqueles que potencialmente podem vir a ser absorvidos pelas plantas. Pode-se dizer que os teores fitodisponíveis de metais pesados são resultado da integração entre características do solo e do biossólido, atividade radicular e microbiana. A transferência dos metais pesados do solo para as plantas pode ser descrita simplificadamente por:

Fase sólida	Solução do Solo	Superfície Radicular	Célula Radicular
-------------	-----------------	----------------------	------------------

Alguns metais pesados apresentam pouco risco de entrar na cadeia alimentar, uma vez que o aumento da absorção provoca a morte da planta antes que o mesmo seja transferido para o próximo nível trófico. Chaney (1980) denomina este efeito de “barreira solo-planta”. Baseado na retenção do metal no solo e na sua translocação dentro da planta, este autor classificou os metais em quatro grupos:

- (a) Ag, Cr, Sr, Ti, Y e Zr: pequeno risco ambiental, por apresentarem baixa solubilidade e/ou alta retenção no solo;
- (b) As, Hg e Pb: risco mínimo, uma vez que são fortemente adsorvidos aos

colóides do solo e quando existem teores fitodisponíveis, estes não são prontamente translocados para a parte aérea da planta;

- (c) B, Cu, Mn, Ni e Zn: pouco risco para a saúde humana e/ou animal, pois embora sejam prontamente absorvidos pelas plantas, os danos por fitotoxicidade são comuns. Conceitualmente a “barreira solo/planta” evita a entrada na cadeia alimentar;
- (d) Cd, Co, Mo e Se: alto risco. Prejudicam a saúde humana e/ou animal em concentrações que normalmente não são fitotóxicas. Preocupante devido à possibilidade de acúmulo na cadeia trófica.

Outro aspecto interessante na avaliação do impacto ambiental provocado pela adição de metais pesados via biossólidos é a “fitodisponibilidade a longo prazo”, também conhecida como reservatório lábil. Este reservatório pode ser entendido como as quantidades de metais pesados fitodisponíveis e fitodisponibilizadas com o tempo por fatores como degradação da matéria orgânica, plantios consecutivos, entre outros. Neste caso, a determinação do reservatório lábil deve considerar vários ciclos de cultivo e o tempo até que todo metal passível de se tornar fitodisponível seja atingido. Koo (2001) demonstrou ser viável a utilização de estudos de cinética em solos tratados com biossólidos para a determinação do reservatório lábil.

Em termos de toxicidade, existem estimativas de faixa de concentração fitotóxica no tecido vegetal. Uma vez determinada esta concentração, é possível estimar a concentração crítica do metal pesado no solo e, conseqüentemente, a quantidade de biossólido a ser adicionada. Os problemas com este tipo de determinação são as variações de comportamento entre as espécies vegetais e das propriedades do solo e biossólido. Além disso, dados de teores fitotóxicos em solos tratados com biossólidos são ainda escassos na literatura (Chang et al., 1992). No caso de teores fitodisponíveis ainda existe controvérsia em relação a procedimentos de determinação.

2.3.6 Métodos para determinação de teores fitodisponíveis de metais pesados em solos tratados com bio sólidos

A absorção ocorre a partir da solução do solo e desta forma, o teor total de metais pesados no solo não é um bom indicativo da fitodisponibilidade. Geralmente sugere-se que a estimativa do teor fitodisponível seja feita utilizando-se a concentração de metal presente na solução do solo. Esta concentração é um parâmetro de difícil determinação, principalmente devido às condições originais se alterarem no processo de coleta da solução. Além disso, a concentração do metal pesado em solução geralmente é baixa, exigindo o uso de instrumentos analíticos com maior precisão e menores limites de detecção.

A especiação das espécies químicas em que os metais pesados se encontram na solução também podem ser utilizadas na avaliação da fitodisponibilidade. Entretanto, a determinação de cada espécie química solúvel do metal é analiticamente muito difícil em função das concentrações muito baixas. Atualmente modelos de especiação iônica, como Geochem e Minteq, têm sido utilizados para estimar estas concentrações. Outra dificuldade no estudo da composição real da solução consiste na dinâmica dos processos que ocorrem no solo, particularmente na rizosfera. Microorganismos e raízes estão constantemente alterando o equilíbrio estabelecido entre as diferentes formas de metal presentes na fase sólida e na solução do solo. Portanto, muitos métodos foram desenvolvidos na tentativa de estimar os teores fitodisponíveis, entretanto a eficiência é dependente da situação em que a metodologia de extração foi empregada. Para que um método de extração de teores fitodisponíveis de metais pesados seja validado, são necessárias correlações significativas entre as concentrações de metais extraídas do solo e as presentes nas plantas cultivadas no mesmo solo.

Lindsay (1974) citou a necessidade de que procedimentos de extração adotados empiricamente fossem substituídos por métodos fundamentados na idéia de que a absorção de íons da solução do solo deve ser controlada, ou pelo menos mediada, pelo próprio sistema radicular, ao liberar componentes específicos que se ligam a estes íons por reações de complexação.

Atualmente, a fitodisponibilidade de metais pesados originários de bio sólidos ainda é avaliada diretamente pelas concentrações do metal absorvido pela planta. Um método que estime o teor fitodisponível de metais antes da implantação da cultura ainda não foi adotado. As principais dificuldades são: variação da eficiência dos extratores testados em função da concentração do metal no bio sólido, do processo de obtenção do resíduo, do tipo de solo, da presença de outras espécies químicas, da espécie vegetal e do metal em questão. Mattiazzo et al. (2001) realizaram uma revisão sobre a eficiência dos extratores comumente utilizados e concluíram que ainda não existe um extrator que apresente boa correlação com as quantidades de metais absorvidas pelas plantas, considerando todas as variáveis anteriormente descritas.

Vários métodos de extração têm sido testados, envolvendo diferentes tipos de soluções. Sugere-se o uso de soluções neutras, com força iônica similar à do solo, como solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de CaCl_2 . Neste caso, metais pesados são extraídos na forma livre ou facilmente trocável. Contudo, esta concentração é muito baixa principalmente em solos ácidos e com altos teores de óxidos de ferro e alumínio, de maneira que somente técnicas analíticas mais refinadas seriam capazes de detectá-las.

Outra opção é o uso de soluções de ácidos fortes, como Mehlich-1 ou solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl . Estas soluções podem extrair quantidades de metais próximas do total, mas mesmo assim em algumas situações podem ser obtidas boas correlações com a quantidade absorvida pelas plantas (Barretto, 1995). Avaliando métodos de extração para teores disponíveis de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn para cana de açúcar cultivada em três diferentes solos tratados com bio sólidos, Bertoncini (1997) concluiu que o extrator $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi mais eficiente que o DTPA (pH 7,3) e que o Mehlich-3 para todos os metais, com exceção do Cu.

Soluções extratoras contendo agentes quelantes, como DTPA e EDTA, também são usadas para remover teores fitodisponíveis de metais pesados. Em alguns casos, como do Mehlich-3, a solução combina ácidos e quelantes. Seu uso se justifica pelo fato destes agentes extraírem parte dos metais ligados à matéria orgânica e a ligantes orgânicos livres. O DTPA (pH 7,3), desenvolvido por Lindsay & Norvell (1978), pode ser considerado como o mais utilizado em estudos de fitodisponibilidade de metais

pesados. Apesar de ter sido desenvolvido para estimar teores fitodisponíveis de micronutrientes em solos alcalinos, ou com pH próximo à neutralidade, o DTPA mostrou-se eficiente também para solos ácidos. Entretanto, a eficiência é baixa quando são considerados metais com maior potencial de fitotoxicidade, como Cd, Cr, Ni e Pb (Abreu et al., 1995). Resultado semelhante foi encontrado por Berton et al. (1997), que avaliaram a eficiência do DTPA em prever a disponibilidade de Cu, Ni e Zn para plantas de milho em Latossolos tratados com biossólidos. O extrator foi eficiente apenas para estimar a fitodisponibilidade de Cu e Zn.

Para solos alcalinos, altas correlações têm sido encontradas para diferentes extratores. Em solos tratados por cinco anos consecutivos com biossólidos, Xiu et al. (1991) observaram alta correlação entre os teores de Cd, Cu, Ni e Zn extraídos por DTPA, HCl e Mehlich-3 e os absorvidos por plantas de milho e sorgo.

Para as condições de acidez da maioria dos solos brasileiros, os resultados encontrados geralmente são pouco conclusivos na previsão da fitodisponibilidade (Anjos & Mattiazzo, 2001; Oliveira & Mattiazzo, 2001; Andrade & Mattiazzo, 2000). Presume-se que estas baixas correlações se devem ao fato de que os extratores não simulam as reações que ocorrem próximas às raízes (Berton, 2000).

2.3.7 Rizosfera e fitodisponibilização de metais pesados originários de biossólidos

As plantas modificam significativamente a solução do solo, alterando a disponibilidade de nutrientes e elementos tóxicos (Marschner, 1995). A maioria dos estudos realizados neste sentido abordam alterações na rizosfera que aumentam a disponibilidade de micronutrientes em situações de deficiência (Gries et al., 1995; Treeby et al., 1989; Merckx et al., 1986). Já o número de trabalhos em solos contaminados, avaliando as alterações que afetam a absorção e tolerância das plantas aos metais pesados é muito reduzido.

McLaughlin (1998) resumiu os principais processos que ocorrem na rizosfera em relação aos metais pesados presentes no solo da seguinte maneira: (a) a absorção de

metais pesados pela planta pode reduzir a atividade do íon, promovendo a dessorção destes das superfícies sólidas ou gerando o processo de difusão em direção à raiz; (b) as mudanças nas características químicas da rizosfera como pH, força iônica e concentração de macronutrientes alteram a adsorção dos metais pesados; (c) a liberação de ligantes orgânicos pode aumentar ou diminuir a concentração total de íons metálicos em solução dependendo do tamponamento da atividade do íon livre e (d) os materiais vivos ou mortos de planta na rizosfera constituem novas superfícies de adsorção de metais pesados e o estímulo à atividade microbiana pode afetar o comportamento dos mesmos.

Todos estes processos ocorrem com maior ou menor intensidade na rizosfera dependendo da variedade ou espécie vegetal, da idade fisiológica e do estágio metabólico das plantas. Outros fatores como umidade, temperatura, aeração e fertilidade do solo também afetam a rizosfera ao influenciar diretamente a população microbiana do solo e a exsudação pelas raízes (Hale & Moore, 1979). O pH e a presença de ligantes orgânicos na rizosfera destacam-se entre os fatores que influenciam a solubilização dos metais pesados (Stumm & Wollast, 1990).

Substâncias liberadas por microorganismos e raízes provocam alterações no pH da rizosfera, normalmente tornando-a de reação ácida (Marschner et al., 1986; Nye, 1981). O pH da rizosfera pode diferir em duas unidades ou mais em relação ao pH do solo, sendo que conforme aumenta a distância das raízes, o pH tende a aumentar (Marschner et al., 1987). Zhang & Pang (1999) demonstraram que o pH variou de 6,2 próximo à superfície para 5,0 a 6 cm de profundidade em solos cultivados. Esta variação não ocorreu para solos sem cobertura vegetal.

Exsudatos de raiz e substâncias similares liberadas por microorganismos rizosféricos apresentam em sua composição ligantes orgânicos, que são importantes solubilizadores de metais pesados na rizosfera, influenciando diretamente na fitodisponibilidade destes elementos (Marshner & Römheld, 1996; Laurie & Manthey, 1994; Uren & Reisenauer, 1988; Mench et al., 1988). A maioria dos estudos sobre disponibilização provocada por ligantes orgânicos naturalmente presentes na rizosfera é realizada com micronutrientes ou fósforo em situações de deficiência (Awad et al.,

1994; Hoffland, 1992; Takagi et al., 1988).

2.3.8 Ácidos orgânicos da rizosfera e fitodisponibilização de metais pesados originários de biossólidos

Plantas e microorganismos podem provocar, direta e/ou indiretamente, alterações físicas, químicas e biológicas na rizosfera. A rizosfera apresenta altas concentrações de compostos orgânicos em comparação com o resto do solo, devido à exsudação das raízes e intensa atividade microbiana. Entre estes compostos podem-se destacar: aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, lipídeos, proteínas, enzimas, entre outros (Ali et al., 2000).

Os exsudatos de raízes são compostos orgânicos liberados pelo sistema radicular na rizosfera. Estima-se que do total de massa seca produzida pela planta, de 1 a 20 % é liberado pelas raízes (Mench et al., 1988) na forma de exsudatos, que são compostos pelas mucilagens e solutos orgânicos de baixo peso molecular (Marschner & Römheld, 1996).

As mucilagens consistem em material gelatinoso com alto peso molecular, formada principalmente de polissacarídeos. Possuem várias funções biológicas, como proteção da zona apical das raízes e aumento do contato solo-raiz, principalmente em solos secos (Ray et al., 1988).

Os solutos orgânicos de baixo peso molecular, também conhecidos como “exsudatos livres”, são formados por açúcares, ácidos orgânicos (acético, butírico, láctico, málico, succínico, oxálico, cítrico, fumárico, entre outros), aminoácidos e compostos fenólicos (Lorenz et al., 1994). As concentrações e proporções destes constituintes podem variar consideravelmente conforme a espécie vegetal e características do meio. Eles possuem várias funções, destacando-se o papel de “fitodisponibilizadores” de nutrientes, como fósforo (Hoffland, 1992), ferro (Awad et al., 1994), manganês (Dinkelaker et al., 1989), zinco e cobre (Takagi et al., 1988).

Os aminoácidos não protéicos componentes de exsudatos foram bastante estudados quanto à capacidade de disponibilização de micronutrientes. Entre os

aminoácidos de baixo peso molecular presentes no solo, destaca-se o mugeínico (Romheld & Marschner, 1990). Treeby et al. (1989) relataram que em comparação com o citrato, a capacidade de formar complexos dos aminoácidos encontrados nos exsudatos de raiz é limitada. Os aminoácidos protéicos foram pouco estudados e geralmente não são detectados como componentes dos exsudatos de raiz, provavelmente por estarem presentes em concentrações muito baixas.

Quanto aos compostos fenólicos, o caso mais citado é o da soja, cujas radículas exsudam um composto fenólico redutor de Fe^{3+} dissolvido (Bell et al., 1988; Morse et al., 2000).

Ácidos orgânicos de baixo peso molecular como oxálico, láctico e succínico geralmente presentes na rizosfera são efetivos na solubilização de metais ligados a algumas das frações minerais dos solos (Marschner, 1995). Jones et al. (1996) sugeriram que a concentração de ácidos orgânicos da rizosfera dos solos é alta em relação a outros componentes de exsudatos de raiz, podendo ocorrer concentrações de até 50 mmol L⁻¹ a 1 mm da superfície radicular.

O nível de complexação entre o ácido orgânico e o metal pesado é dependente da estrutura do ácido envolvido (número e proximidade dos grupos carboxílicos), do pH da rizosfera, da concentração e do metal em questão. Este nível de complexação é dado pela constante de estabilidade da reação com cada um dos metais (Tabela 1).

Ainda não foi estabelecido um consenso sobre a composição dos ácidos orgânicos na rizosfera. Alguns autores citam o ácido cítrico como o mais abundante (Gardner et al., 1983; Li et al., 1997). Laheurte et al. (1990) determinaram a presença dos ácidos cítrico, málico, fumárico, glucônico, láctico e succínico na rizosfera de diferentes espécies, sendo que os mais abundantes foram fumárico, cítrico, málico, láctico e glucônico. Estudando a rizosfera de plantas de milho, Mench et al. (1988) apresentaram a seguinte ordem de concentração: succínico > cítrico > láctico > málico. Koo (2001) em estudos com diferentes espécies vegetais encontrou que os ácidos acético, láctico, butírico e oxálico foram responsáveis por 72 a 88 % do total de ácidos orgânicos coletados.

Tabela 1. Constantes de estabilidade de complexos formados por ácidos orgânicos de baixo peso molecular presentes na rizosfera e metais pesados.*

Ácido Orgânico	Fórmula	Constante de estabilidade = log K _{est}					
		Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
Acético	C ₂ H ₄ O ₂	1,93	1,25	2.22	1.43	2.68	1.57
Butírico	C ₄ H ₈ O ₂	1.25	-	2.14	2.14	2.13	0.98
Lático	C ₃ H ₆ O ₃	1.70	-	3.02	2.22	2.78	2.22
Málico	C ₄ H ₄ O ₄	2.40	-	3.40	2.00	2.75	2.00
Oxálico	C ₂ H ₂ O ₄	3.89	3.85	6.23	5.16	4.91	4.87
Propiônico	C ₃ H ₆ O ₂	1.19	-	2.22	0.78	2.08	0.85
Succínico	C ₄ H ₆ O ₂	2.72	-	3.28	1.60	5.64	2.52
Tartárico	C ₆ H ₆ O ₆	-	-	2.90	2.06	2.60	3.82

* Razão estequiométrica de 1:1:0 para metal, ligante e próton, respectivamente

Fonte: Martell & Smith (1989)

Vários artigos foram publicados envolvendo a disponibilização de fósforo, micronutrientes e elementos potencialmente tóxicos por exsudatos de raiz (Merckx et al., 1986; Mench et al., 1988; Crowley et al., 1992; Awad et al., 1994; Krafczyk et al., 1997; Li et al., 1997). Entretanto, o potencial de complexação dos componentes destes exsudatos, bem como de substâncias liberadas por microorganismos ainda não foi estudado detalhadamente. Alguns estudos pontuais vêm sendo realizados, destacando-se os de Mench & Martin (1991), de Krishnamurti et al. (1997) e de Koo (2001) para ácidos orgânicos.

Mench & Martin (1991) observaram que Cd, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn presentes no solo foram solubilizados por exsudatos de raiz de *Nicotiana tabacum* L., *N. rustica* L. e *Zea mays* L. A composição química dos exsudatos foi diferente para as três espécies, mas a concentração de metais extraída foi semelhante quando as espécies foram cultivadas no mesmo solo. Krishnamurti et al. (1997) concluíram que o Cd do solo é mobilizado por ácidos orgânicos de baixo peso molecular que são normalmente

encontrados nos exsudatos de raiz. Para a mesma concentração de ácido, a liberação de Cd seguiu a seguinte ordem: fumárico > cítrico > oxálico > acético > succínico. Os resultados obtidos para cinética de dissolução estavam de acordo com as quantidades de Cd solubilizadas pelos ácidos.

Koo (2001) avaliou a composição de ácidos orgânicos exsudados por raízes de diferentes espécies vegetais, em diferentes estágios de desenvolvimento, na presença ou ausência de biossólidos. A partir destes resultados, uma solução de ácidos orgânicos foi sintetizada para ser usada em estudos de cinética da reação de solubilização de metais pesados em solos tratados com biossólidos. O comportamento da cinética da reação de solubilização observado foi semelhante ao da absorção dos metais por plantas cultivadas nestes mesmos solos.

Os poucos estudos publicados sobre o assunto demonstram a importância da inclusão da complexação como um dos principais processos de fitodisponibilização de metais pesados em solos tratados com biossólidos, o que denota a importância a realização de estudos que utilizem ácidos orgânicos para a previsão da fitodisponibilidade de metais pesados originários de biossólidos.

3 ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS E ABSORÇÃO DE METAIS PESADOS ORIGINÁRIOS DE BIOSSÓLIDOS

Resumo

A fitodisponibilidade de metais pesados em solos tratados com biossólido está diretamente relacionada com o processo de solubilização destes metais presentes, predominantemente, na fase sólida do resíduo. A formação de complexos solúveis entre metais e ácidos orgânicos liberados na rizosfera por plantas e microorganismos parece ter um importante papel na solubilização e, conseqüentemente, na fitodisponibilidade dos metais pesados. Neste contexto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar ácidos orgânicos presentes na rizosfera de diferentes espécies vegetais cultivadas na presença ou ausência de biossólido, bem como avaliar a correlação entre o teor de ácidos e o teor de Cd, Cr, Cu, Pb, Ni e Zn na parte aérea das plantas. Braquiária, eucalipto, cana de açúcar e milho foram cultivadas em areia ou areia tratada com biossólido. Análises cromatográficas foram realizadas em amostras de solução coletadas do sistema hidropônico utilizado, identificando-se os ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico, respectivamente nas porcentagens de 43,21; 31,13; 20,41 e 5,25 calculadas em relação ao total determinado. Os teores de ácido acético, láctico e oxálico no extrato coletado correlacionaram significativamente com os teores de Cd, Cu, Ni e Zn na parte aérea das espécies vegetais estudadas. O teor de ácido cítrico não correlacionou com nenhum dos metais estudados. Considerando-se a somatória dos teores dos ácidos estudados obteve-se correlação com o teor de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn na parte aérea das plantas, o que evidencia o efeito destes ácidos na fitodisponibilidade dos metais pesados.

Summary

Heavy metals phytoavailability in soils treated with biosolid is directly related with the solubilization process of these metals, which are predominantly present at the solid phase of the residue. Soluble complex formation between metals and organic acids liberated into the rhizosphere by plants and microorganisms, seems to have an important role at the solubilization, and consequently, at the heavy metals phytoavailability. In this context, the present study was done with the purpose of determining organic acids present at the rhizosphere of different vegetal species cultivated with the presence, or absence of biosolid, and to evaluate the correlation between acids and Cd, Cr, Cu, Pb, Ni e Zn concentrations within the shoot of plants. Marandu grass, eucalyptus, sugar cane, and corn were cultivated in sand or sand treated with biosolid. Chromatographic analyzes were done in solutions samples collected from the hydroponics system used, identifying the acetic, citric, lactic, and oxalic acids, in the percentages 43.21, 31.13, 20.41 and 5.25 respectively, calculated in relation to the determined total. Acetic, lactic, and oxalic acids within the collected extract, significantly correlated with Cd, Cu, Ni and Zn concentrations in shoot of the studied vegetal species. Citric acid concentration did not correlated with any of the studied metals. Considering the concentration sum of the studied acids, it was achieved a correlation with Cd, Cr, Cu, Ni e Zn concentration in the aerial part of the plants, what makes evident the effect of these metals at the heavy metal phytoavailability.

3.1 Introdução

A presença de metais pesados em biossólidos é um dos fatores que pode limitar o uso deste resíduo no solo agrícola. A norma regulamentadora do uso agrícola de lodos de tratamento biológico (biossólidos) no Estado de São Paulo (CETESB, 1999) limita as concentrações máximas dos metais no resíduo, a taxa máxima de aplicação anual e acumulada com o objetivo de evitar danos ao ambiente. Nessa norma, conhecida como P4.230, foram utilizados os mesmos limites adotados nos Estados Unidos (USEPA,

1993) que foram obtidos a partir de um estudo conhecido como avaliação de risco (*National Research Council*, 1983) e onde foram avaliadas todas as possíveis rotas que os metais podem seguir ao serem adicionados ao solo. Apesar dos estudos envolvidos na avaliação de risco existem autores, dentre eles McBride (1995), que criticam as suposições adotadas, principalmente à respeito da fitodisponibilidade de metais pesados.

Grande parte dos metais pesados presentes em bioossólidos encontram-se adsorvidos especificamente em minerais e matéria orgânica originários do próprio resíduo, tendendo a permanecer em forma não fitodisponível após a adição ao solo (Bertoncini, 2002; Candalaria, 1995). Desta maneira, estima-se que menos de 1 % do total de metais pesados originários de bioossólidos são absorvidos pelas plantas (Chang et al., 1997).

A disponibilidade de metais pesados está diretamente ligada a processos de solubilização, uma vez que as plantas absorvem metais presentes em solução. Portanto, o equilíbrio entre os metais em solução e os associados à fase sólida, bem como a cinética das reações envolvidas devem ser considerados na previsão da fitodisponibilidade destes elementos (Sposito, 1981).

Considerando que as concentrações de metais pesados na solução do solo são baixas, perturbações no equilíbrio entre metais presentes na fase sólida e os em solução têm grande influência na disponibilidade de metais pesados para plantas (Koo, 2001). Neste contexto, a solubilização de metais pesados devido à formação de complexos solúveis pode ser um importante processo na sua disponibilidade. Ligantes orgânicos presentes na rizosfera como ácidos orgânicos e aminoácidos são considerados efetivos na solubilização de metais ligados a algumas das frações minerais dos solos (Marschner, 1995). Alguns autores obtiveram resultados positivos ao avaliar a fitodisponibilidade de metais pesados por ácidos orgânicos usualmente encontrados na rizosfera (Koo, 2000; Krishnamurti et al., 1997; Mench & Martin, 1991).

Mench & Martin (1991) observaram que Cd, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn presentes no solo foram solubilizados por exsudatos de raiz de *Nicotiana tabacum* L., *N. rustica* L. e *Zea mays* L. A composição química dos exsudatos foi diferente para as três espécies, mas a quantidade de metais extraída foi semelhante quando as espécies foram cultivadas

no mesmo solo. Krishnamurti et al. (1997) concluíram que o Cd do solo é solubilizado por ácidos orgânicos de baixo peso molecular (acético, cítrico, oxálico, fumárico e succínico) que são normalmente encontrados nos exsudatos de raiz. Para a mesma concentração de ácido, a liberação de Cd obedeceu a seguinte ordem: fumárico > cítrico > oxálico > acético > succínico. Os resultados obtidos para cinética de dissolução estavam de acordo com as quantidades de Cd solubilizadas pelos ácidos.

Ainda não há um consenso sobre a composição dos ácidos orgânicos na rizosfera. Alguns autores citam o ácido cítrico como o mais abundante (Li et al., 1997; Gardner et al., 1983). Laheurte et al. (1990) determinaram a presença dos ácidos cítrico, málico, fumárico, glucônico, láctico e succínico na rizosfera de diferentes espécies, sendo que os mais abundantes foram fumárico, cítrico, málico, láctico e glucônico. Estudando a rizosfera de plantas de milho, Mench et al. (1988) apresentaram a seguinte ordem de concentração: succínico > cítrico > láctico > málico. Koo (2001), em estudos com diferentes espécies vegetais, encontrou que os ácidos acético, láctico, butírico e oxálico foram responsáveis por 72 a 88% do total de ácidos orgânicos coletados.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo determinar a composição de ácidos orgânicos na rizosfera de diferentes espécies vegetais cultivadas na presença ou ausência do biossólido, bem como avaliar a relação destes com a concentração de metais pesados na parte aérea das plantas.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Localização e descrição do sistema hidropônico

O estudo foi realizado cultivando-se 4 espécies vegetais em vasos contendo 5 kg de areia ou areia tratada com biossólido. Os vasos foram dispostos na casa de vegetação localizada junto ao departamento de Ciências Exatas, setor de Química Ambiental da ESALQ/USP.

Cada conjunto de 4 vasos foi conectado a um galão contendo 50 L de solução

nutritiva. A adição da solução foi realizada automaticamente com o auxílio de um *timer*. No fundo de cada galão foi instalado um sistema de movimentação da solução nutritiva para promover a aeração da mesma, evitando a precipitação de nutrientes e formação de microambientes redutores.

3.2.2 Areia e Biossólido

Utilizou-se a areia isenta de matéria orgânica e argila. O biossólido usado, proveniente da Estação de Tratamento de Esgotos de Barueri/SP, foi obtido pelo processo de tratamento denominado digestão anaeróbica de lodo ativado com a fase de condicionamento químico realizada através da adição de polieletrólitos. Algumas propriedades químicas do biossólido, determinadas segundo Eaton et al. (1995), são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades químicas do biossólido.*

Propriedade	Valor
Umidade (g kg^{-1})	723,0
pH	8,7
C- orgânico (g kg^{-1})	373,5
N-Kjeldahl (g kg^{-1})	40,7
Fósforo (g kg^{-1})	25,4
Potássio (g kg^{-1})	1,0
Sódio (g kg^{-1})	0,3
Enxofre (g kg^{-1})	13,6
Manganês (mg kg^{-1})	266,2
Cálcio (g kg^{-1})	25,3
Magnésio (g kg^{-1})	4,3
Ferro (g kg^{-1})	32,0
Alumínio (g kg^{-1})	18,3
Boro (mg kg^{-1})	9,5
Cádmio (mg kg^{-1})	10,9
Chumbo (mg kg^{-1})	206,1
Cobre (mg kg^{-1})	879,5
Cromo (mg kg^{-1})	791,1
Níquel (mg kg^{-1})	395,1
Zinco (mg kg^{-1})	2827,3

* Os valores de concentração são dados com base na matéria seca.

3.2.3 Espécies vegetais

As seguintes espécies vegetais foram utilizadas: cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.) variedade IAC-87.3396 e eucalipto (híbrido de *Eucalyptus grandis* L. e *Eucalyptus erophylla* L.) devido ao potencial de utilização de biossólido no cultivo destas espécies, uma vez que não são culturas de consumo direto; braquiária brizantha (*Brachiaria brizantha* L.), por ter demonstrado certa tolerância à presença de metais pesados (Costa, 2000) e milho (*Zea mays* L.) variedade Traktor, pelo amplo uso desta espécie em trabalhos científicos sobre exsudatos de raiz (Krafczyk et al., 1984; Merckx et al., 1986; Lauheute et al., 1990; Mench & Martin, 1991; von Wiren et al., 1996).

3.2.4 Montagem do experimento

Os vasos com areia (3 kg) ou mistura de areia (3 kg) e biossólido (81 g) foram incubados por 30 dias com umidade correspondente à capacidade de campo. A dose de biossólido utilizada, correspondente a 80 Mg ha⁻¹, sendo calculada a partir do diâmetro do vaso (18,5 cm) e altura da camada de areia (7,5 cm). Os tratamentos adotados, com quatro repetições cada, foram:

- (1) Testemunha absoluta - areia sem planta;
- (2) Testemunha Biossólido - areia tratada com biossólido sem planta;
- (3) Braquiária cultivada em areia;
- (4) Braquiária cultivada em areia tratada com biossólido;
- (5) Cana cultivada em areia;
- (6) Cana cultivada em areia tratada com biossólido;
- (7) Eucalipto cultivado em areia;
- (8) Eucalipto cultivado em areia tratada com biossólido;
- (9) Milho cultivado em areia;
- (10) Milho cultivado em areia tratada com biossólido.

A partir deste ponto, os tratamentos 1, 3, 5, 7 e 9 serão considerados “testemunha” e os tratamentos 2, 4, 6, 8, e 10, “biossólido”.

Após o período de incubação promoveu-se a semeadura ou plantio das espécies vegetais usando por vaso 30 sementes, 2 toletes, 2 mudas e 6 sementes, respectivamente para braquiária, cana de açúcar, eucalipto e milho.

A cada galão foram adicionados 50 L de solução nutritiva (pH 6,0) com a seguinte composição em mol L^{-1} : $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 = 2,0$; $\text{KCl} = 1,0$; $\text{NaCl} = 0,1$; $\text{MgSO}_4 = 0,5$; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 0,02$; $\text{H}_3\text{BO}_3 = 0,01$; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 1,8$; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 = 0,0001$; $\text{Cu-EDTA} = 0,002$; $\text{Fe-EDTA} = 0,15$; $\text{Mn-EDTA} = 0,0006$; $\text{Ni-EDTA} = 0,0001$ e $\text{Zn-EDTA} = 0,012$. A composição da solução foi baseada no trabalho desenvolvido por Koo (2001). Para os tratamentos com biossólido foram excluídos da solução nutritiva apenas os micronutrientes. Desta maneira, a única fonte de Cu, Ni e Zn para plantas destes tratamentos foi o resíduo. A irrigação dos vasos com a solução nutritiva foi realizada em intervalos de duas horas.

Os valores de pH e condutividade elétrica da solução nutritiva foram monitorados a cada 5 dias, sendo que o pH 6,0 foi mantido constante pela adição de solução de $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ ou de $\text{NaOH } 1 \text{ mol L}^{-1}$, conforme a necessidade. Não foi necessária a reposição de nutrientes da solução, uma vez que não ocorreram variações significativas da condutividade elétrica.

3.2.5 Coleta de ácidos orgânicos presentes na rizosfera

Foram realizadas duas coletas de ácidos orgânicos em todos os vasos, inclusive dos tratamentos sem plantas, sendo a primeira aos 40 e segunda aos 45 dias após o plantio, por ocasião da colheita. O procedimento adotado para a coleta realizada aos 40 dias foi o mesmo de Koo (2001): os vasos foram desconectados do sistema de irrigação e 2 L de água bidestilada foram adicionados em cada vaso para retirar resíduos de exsudatos de origem vegetal ou microbiana, nutrientes e contaminantes. Esta lavagem foi repetida por três vezes. A seguir, as plantas ficaram por 6 horas expostas ao sol, maximizando a fotossíntese e, conseqüentemente, a exsudação. Água deionizada (2 L) foi adicionada a cada vaso e o líquido coletado recuperado foi congelado.

Na coleta realizada aos 45 dias o procedimento adotado foi: após a lavagem do

substrato contido nos vasos e a exposição das plantas ao solo, foram adicionados aos vasos 200 mL de água deionizada e depois de 10 minutos de retenção fez-se a coleta do líquido drenado. Imediatamente após a coleta foi feita a filtração deste líquido, seguindo-se a adição de 5 gotas de clorofórmio e posterior congelamento para inibir a presença de microorganismos.

O sistema de filtração utilizado para as amostras coletadas nos dois períodos foi o “Sterifil Aseptic” da Millipore com membrana da Schleicher & Schüll de 47 mm de diâmetro e poros de 0,2 μm , de maneira a reter os microorganismos.

3.2.6 Análise dos ácidos orgânicos

As amostras coletadas aos 40 dias foram descongeladas, filtradas e liofilizadas. O material obtido após a liofilização foi solubilizado em 1 mL de água deionizada. A análise qualitativa dos ácidos orgânicos presentes foi realizada em cromatógrafo do tipo DIONEX de troca aniônica com a coluna IonPac ICE-AS 11 tendo sido detectados os ácidos acético, butírico, cítrico, fumárico, glucônico, láctico, málico, oxálico, succínico e tartárico.

As análises quantitativas dos ácidos orgânicos, que foram detectados nas amostras obtidas na primeira coleta, foram realizadas por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), com detector de arranjo de diodos e coluna C_{18} , fase reversa (Zorbax / SB) nas amostras coletadas aos 45 dias. Detalhes das condições operacionais da análise cromatográfica são apresentados no Anexo. O nitrato presente nas amostras dificultou a quantificação dos ácidos orgânicos, indicando a necessidade de removê-lo previamente às análises cromatográficas.

Para tal, a resina de troca aniônica Dowex 2 (Sigma Chemical CO.) foi utilizada. Uma vez que no processo industrial de obtenção da resina não é realizada a sua purificação, o seguinte procedimento de limpeza foi adotado: hidratar a resina com água deionizada e deixar em repouso por 24 horas; remover o líquido sobrenadante e agitar por 8 horas a resina em solução NaOH 1 mol L^{-1} , na proporção 1:5; lavar a resina 5 vezes com água bidestilada adotando-se também a proporção 1:5; remover o líquido

sobrenadante e agitar a resina por 8 horas em solução de HCl 1 mol L⁻¹, na proporção 1:5. Lavar novamente a resina com água bidestilada por 5 vezes cada uma na proporção 1:5.

Como a Dowex 2 é uma resina de troca aniônica, os ácidos orgânicos, caso presentes na forma dissociada, também poderiam ficar retidos. De acordo com os valores de pKa dos ácidos analisados (acético = 4,76; cítrico = 3,14; 4,77 e 6,39; láctico = 3,08; oxálico = 1,23 e 4,19), se observou que o valor de pH da amostra ao entrar em contato com a resina foi próxima a 1,0; os ácidos estarão predominantemente na forma não ionizada, não sendo, portanto, retidos.

Para testar a eficiência do procedimento de remoção de nitrato, foram preparadas soluções padrão de ácidos orgânicos contendo quantidades variáveis de nitrato. Realizou-se a eliminação do nitrato e conferiu-se a concentração das soluções padrão e não foram observadas alterações na mesma. O procedimento adotado para a remoção do nitrato nas amostras é descrito a seguir: adicionar 25 mL de resina “limpa” a 100 mL de amostra; acidificar o meio com HCl (1+1) até atingir pH 1,0; agitar por 8 horas; centrifugar a 7000 rpm por 15 minutos para separar a resina da amostra e filtrar para obtenção do extrato.

Após o procedimento de remoção de nitrato, 150 mL de extrato foram liofilizados por 72 horas. O material obtido foi solubilizado em 10 mL de água deionizada e novamente filtrado para evitar a degradação por microorganismos.

3.2.7 Colheita das plantas e determinação de metais pesados

A colheita da parte aérea e raiz de todas as espécies vegetais foi realizada depois da segunda coleta de ácidos orgânicos (45 dias após o plantio). O material vegetal colhido foi lavado em água corrente, solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl e água deionizada. Após secagem em estufa a 65^o C, o material seco foi pesado e moído. A digestão da parte aérea foi realizada em microondas, utilizando-se 3 mL de ácido nítrico, 3 mL de água oxigenada e 2 mL de água deionizada. A determinação dos teores de Cd, Cr, Cu, Pb, Ni e Zn no extrato digerido foi feita por espectrofotometria de emissão atômica por

indução de plasma (ICP-AES).

3.2.8 Análises estatísticas

Os valores obtidos para produção de massa seca foram comparados pelo teste Tukey (5 %) separadamente para cada espécie. O mesmo teste foi aplicado para teores de metais pesados e ácidos orgânicos, porém foram considerados como fatores de variação: presença de biossólido e diferentes espécies vegetais, além da interação entre estes. Correlações lineares entre as quantidades de ácidos orgânicos e os teores de metais pesados na parte aérea das plantas foram realizadas.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Massa seca produzida e metais pesados nas plantas

A quantidade de massa seca produzida pela parte aérea das plantas não diferiu entre os tratamentos com e sem biossólido, com exceção da braquiária, o que pode ser explicado pelo reservatório disponível de nutrientes que foi fornecido às plantas em todos os tratamentos. Por outro lado, houve diferença entre a massa seca de raízes dos tratamentos testemunha e biossólido para todas as espécies, com exceção do eucalipto (Figura 2). Possivelmente, os vasos dos tratamentos biossólido apresentaram as seguintes vantagens em relação aos tratamentos testemunha: manutenção da umidade por maior período de tempo, melhor agregação do substrato, maior atividade microbiana, entre outros fatores. Em relação ao eucalipto, provavelmente o tempo experimental foi curto para as avaliações de produção de massa seca, pois as plantas desta espécie apresentaram visualmente tamanhos semelhantes na ocasião do transplante e da colheita.

Tratamentos com a mesma letra para cada espécie não diferem (Tukey, 5%)

Test: Areia pura Bio: Areia tratada com biossólido

Figura 2 - Massa seca produzida pela parte aérea e raízes de diferentes espécies vegetais cultivadas em areia ou areia tratada com biossólido.

Os fatores presença de biossólido e espécie vegetal, assim como sua interação, foram significativos para todos os metais determinados (Cd, Cr, Cu, Ni e Zn), com exceção dos teores de chumbo que estiveram abaixo do limite de detecção (0,01 mg L⁻¹) do instrumento analítico utilizado.

Para os tratamentos testemunha não ocorreram diferenças de teor de Cr e Ni entre as espécies estudadas (Tabela 3). Os teores de Cd, Cu e Zn variaram conforme a espécie, sendo que a cana apresentou os menores teores de Cu e eucalipto e braquiária os maiores de Zn.

As quatro espécies vegetais apresentaram maiores teores de metais pesados na parte aérea das plantas dos tratamentos biossólido, com exceção da cana para Cd, Cr e Ni e da braquiária para Cu. Este resultado evidencia a fitodisponibilidade dos metais presentes no biossólido que foi a única fonte dos mesmos para estas plantas.

De forma geral, os menores teores de metais pesados nos tratamentos biossólido ocorreram para as plantas de cana. Dados encontrados na literatura concordam com este resultado, demonstrando uma tendência desta espécie em absorver baixas quantidades de metais pesados em solos tratados com biossólidos. Silva (1995) detectou concentrações traços de Cd, Cr, Ni e Pb na parte aérea de cana cultivada em solos tratados com até 40 Mg ha⁻¹ de biossólido. Marques (1996) não detectou a presença destes metais em folhas de cana cultivadas em solos tratados com até 160 Mg ha⁻¹ do resíduo. Oliveira &

Mattiazzo (2001) avaliaram a absorção de metais pesados por cana de açúcar cultivada em um Latossolo tratado com biossólido por 2 anos consecutivos nas doses 90 e 110 Mg ha⁻¹ (base seca) e foi possível determinar apenas os teores de Cu e Zn, uma vez que Cd, Cr, Ni e Pb estavam abaixo do limite de detecção do método analítico empregado.

Dentre as espécies estudadas, as plantas de eucalipto cultivadas em areia tratada com biossólido apresentaram os maiores teores de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn. Andrade et al. (2000) encontrou resultado contrário ao avaliar a absorção destes elementos em plantas de eucalipto com aproximadamente 1 ano de idade, cultivadas no campo em um Latossolo tratado com biossólido nas doses 0, 10, 20 e 40 Mg ha⁻¹ (base seca). Os autores observam que Cd e Cr não foram detectados nas folhas coletadas. O aumento da dose de biossólido não resultou no aumento da absorção de Cu, Ni e Zn pelas plantas, indicando que nas condições estudadas, os metais não mostraram evidências de disponibilidade para o eucalipto. A diferença com o resultado de Andrade et al. (2000) pode ser atribuída ao curto período de duração do presente experimento e à aplicação do biossólido em superfície no referido trabalho.

Tabela 3. Teores de metais pesados na parte aérea de plantas de braquiária, cana, eucalipto e milho cultivadas em areia pura ou areia tratada com biossólidos.

Espécie	Cd		Cr		Cu		Ni		Zn	
	 mg kg ⁻¹									
	Test	Bio	Test	Bio	Test	Bio	Test	Bio	Test	Bio
Braquiária	0,12 Aab	0,46 Aab	0,10 Aa	0,22 Bb	7,60Aa	11,00 Bb	0,29 Aa	3,68 Bc	23,72b	130,46b
Desvio Padrão	0,04	0,09	0,02	0,08	2,20	0,88	0,04	0,44	2,15	6,14
Cana	0,07 Ab	0,15 Ac	0,00 Aa	0,08 Ac	1,63 Ab	2,85 Bc	0,10 Aa	0,52 Ad	11,75b	22,17d
Desvio Padrão	0,02	0,02	0,00	0,03	0,31	0,26	0,05	0,07	1,81	2,37
Eucalipto	0,26 Aa	0,59 Ba	0,11 Aa	0,28 Bab	10,97 Aa	23,88 Ba	0,97 Aa	6,59 Ba	45,07a	153,95a
Desvio Padrão	0,08	0,19	0,01	0,03	0,71	5,98	0,37	0,93	3,58	12,42
Milho	0,11 Aab	0,35 Bb	0,01 Aa	0,41 Ba	7,43 Aa	11,18 Bb	0,01 Aa	5,34 Bb	16,83b	97,94c
Desvio Padrão	0,02	0,12	0,00	0,17	1,57	2,99	0,01	0,87	1,79	9,11

Tratamentos com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem (Tukey, 5%)

Tratamentos testemunha e biossólido com a mesma letra maiúscula dentro de cada metal pesado e espécie não diferem (Tukey, 5%)

Test: Areia pura Bio: Areia tratada com biossólido

Os teores de Cu encontrados nas plantas estudadas estão dentro do intervalo de concentração normalmente encontrados na matéria seca, sendo que os teores podem variar entre extremos de 1 a 30 mg kg⁻¹ (Baker, 1990). Segundo Dechen et al. (1991), os teores de zinco na planta são variáveis, em função da espécie e do tipo de solo em questão. Com frequência encontram-se teores deste elementos nas plantas compreendidos no intervalo de 20 a 50 mg kg⁻¹, sendo comum o aparecimento de sintomas de deficiência quando a concentração nas plantas está abaixo de 20 mg kg⁻¹. Uma aproximação de classificação para os teores de zinco nas folhas (massa seca) em mg kg⁻¹, é a seguinte (Kiekens, 1990): deficiente: < 10-20, suficiente: < 25-150 e tóxico: > 400. Comparando-se os resultados obtidos com a classificação citada, tem-se que os teores de Zn nas plantas dos tratamentos com biossólido não são considerados tóxicos.

Em nenhum dos tratamentos foram observados sintomas de deficiência de micronutrientes ou de toxicidade por qualquer um dos metais pesados adicionados.

3.3.2 Ácidos Orgânicos

A análise qualitativa de ácidos orgânicos no extrato coletado aos 40 dias revelou a presença dos ácidos acético, láctico e oxálico e concentrações traço dos ácidos butírico, cítrico, fumárico, glucônico, málico, succínico e tartárico.

O ácido cítrico é citado por alguns autores como o mais abundante na rizosfera (Li et al., 1997; Gardner et al., 1983), sendo rapidamente degradado no solo ou convertido em outros metabólitos (Jones et al., 1996). A filtragem e adição de clorofórmio antes do congelamento das amostras poderiam reduzir estas perdas, evitando a degradação de pelo menos parte do ácido cítrico. Portanto, este procedimento foi adotado na coleta realizada aos 45 dias. Estas alterações do procedimento mostraram-se efetivas para a redução da degradação e/ou conservação do ácido cítrico, uma vez que este foi detectado e quantificado nos extratos obtidos na segunda coleta.

As espécies vegetais apresentaram semelhante composição de ácidos orgânicos, como pode ser observado na Figura 3.

Figura 3 - Composição de ácidos orgânicos na rizosfera de diferentes espécies vegetais na presença ou ausência de bioossólidos.

Para os tratamentos com bioossólido, as proporções entre os ácidos foram mantidas, mesmo quando foram consideradas as diferentes espécies. Em média, as porcentagens de cada ácido obtidas foram: 43,21; 31,13; 20,41 e 5,25 respectivamente para acético, cítrico, láctico e oxálico. Koo (2001) também não encontrou variações na composição de ácidos orgânicos exsudados por milho, trigo, colza, capim do Sudão, grão de bico e beterraba, sendo que os ácidos acético, láctico, butírico e oxálico foram responsáveis por 72 a 88% do total de ácidos orgânicos coletados. Cieslinski et al.

(1998) avaliaram a composição de ácidos orgânicos na rizosfera de trigo duro cultivados em três diferentes solos. Os ácidos oxálico, fumárico, succínico, málico, tartárico, cítrico, acético, propiônico e butírico foram identificados, com predominância dos ácidos acético e succínico.

Para a maioria das espécies vegetais estudadas, os tratamentos com biossólido apresentaram maior desenvolvimento do sistema radicular (Figura 2). Tendo como base um sistema radicular mais desenvolvido, espera-se maior exsudação de ácidos orgânicos e maior atividade microbiana que também é responsável pela liberação de ácidos orgânicos na rizosfera (Laurie & Manthey, 1994; Uren & Reisenauer, 1988; Mench et al., 1988). Os resultados obtidos foram concordantes com estas premissas, uma vez que os teores dos ácidos nos tratamentos biossólido foram superiores aos tratamentos testemunha para todas as espécies, com exceção dos teores de ácido acético, cítrico e total nos tratamentos sem planta (Tabela 4). Para os ácidos láctico e oxálico a interação entre os fatores presença de biossólido e espécie vegetal não foi significativa e os teores dos tratamentos testemunha foram inferiores aos obtidos para os tratamentos com o resíduo: ácido láctico - 0,47 e 0,38 e ácido oxálico - 0,12 e 0,08 mmol kg⁻¹ com e sem biossólido, respectivamente.

As quantidades de ácidos presentes na rizosfera das quatro espécies estudadas diferiram nos tratamentos com biossólido. A cana-de-açúcar foi a espécie que apresentou menor quantidade de ácidos orgânicos na rizosfera não diferindo, muitas vezes, do tratamento sem planta, o que evidencia a contribuição da microbiota. De maneira geral, as maiores quantidades foram observadas nos tratamentos com eucalipto seguido de milho. A maioria dos trabalhos publicados sobre composição de ácidos orgânicos na rizosfera estudam espécies vegetais isoladamente e a comparação entre resultados é dificultada pois as condições experimentais não são padronizadas.

Tabela 4. Comparação entre os teores de ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico coletados em meio cultivado com diferentes espécies vegetais.

Espécie	Acético		Cítrico		Lático ⁽¹⁾	Oxálico ⁽¹⁾	Total	
	Test	Bio	Test	Bio	mmol kg ⁻¹		Test	Bio
Sem Planta	0,02 Ab	0,08 Ad	0,02 Ab	0,09 Ad	0,22 c	0,02 d	0,18 Ab	0,52 Ac
Desvio Padrão	0,00	0,01	0,00	0,01	0,10	0,02	0,03	0,06
Braquiária	0,22 Aab	1,06 Bb	0,09 Ab	0,76 Bb	0,48 b	0,07 bc	0,81 Ab	2,42 Bb
Desvio Padrão	0,05	0,27	0,02	0,19	0,11	0,04	0,18	0,62
Cana	0,15 Aab	0,54 Bc	0,05 Ab	0,45 Bc	0,24 c	0,05 cd	0,45 Ab	1,29 Bc
Desvio Padrão	0,03	0,08	0,01	0,06	0,06	0,01	0,07	0,20
Eucalipto	0,40 Aa	1,39 Bab	0,56 Aa	1,05 Ba	0,73 a	0,26 a	1,93 Aa	3,44 Ba
Desvio Padrão	0,03	0,27	0,04	0,22	0,10	0,05	0,13	0,70
Milho	0,37 Aa	1,40 Ba	0,13 Ab	0,92 Bb	0,48 b	0,10 b	0,98 Ab	3,01 Bab
Desvio Padrão	0,04	0,15	0,01	0,10	0,21	0,02	0,09	0,33

⁽¹⁾ Interação entre fator presença de bioossólidos e espécies vegetais não significativa (5%)

Test: Tratamento testemunha (Areia pura)

Bio: Tratamento Bioossólido (Areia tratada com bioossólido)

Tratamentos com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem (Tukey, 5%)

Tratamentos testemunha e bioossólido com a mesma letra maiúscula dentro de cada espécie e ácido não diferem (Tukey, 5%)

3.3.3 Correlação entre teor de ácidos orgânicos e teor de metais pesados nas plantas

Os teores de todos os ácidos individualmente se correlacionaram com os teores de metais nas plantas, com exceção do ácido cítrico para todos os metais e os ácidos láctico e oxálico para Cr (Tabela 5). Mench & Martin (1991) obtiveram resultado semelhante ao concluírem que o ácido cítrico não seria indicado como um extrator de metais pesados que simule as reações que ocorrem na rizosfera, depois de testá-lo em solos tratados com biossólidos cultivados com milho.

Tabela 5. Coeficientes de correlação linear entre teores de metais pesados na parte aérea e concentração de ácidos orgânicos na rizosfera de braquiária, cana de açúcar, eucalipto e milho cultivados em areia ou areia tratada com biossólido.

	Acético	Cítrico	Lático	Oxálico	Total⁽¹⁾
Cd	0,60*	ns	0,35*	0,42*	0,66*
Cr	0,65*	ns	ns	ns	0,59*
Cu	0,46*	ns	0,57*	0,68*	0,61*
Ni	0,85*	ns	0,31*	0,36*	0,80*
Zn	0,79*	ns	0,36*	0,41*	0,80*

⁽¹⁾ Soma dos teores de ácido acético, cítrico, láctico e oxálico.

*Significativo a 5%

ns = não significativo a 5%

A soma dos teores de ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico se correlacionou com os teores de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn encontrados na parte aérea destas plantas. Este resultado é um indicativo que os ácidos orgânicos devem estar diretamente relacionados com a fitodisponibilização de metais pesados.

3.5 Conclusões

- Os ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico foram os principais ácidos encontrados

nos extratos coletados da rizosfera de braquiária, cana de açúcar, eucalipto e milho cultivados na presença ou ausência de biossólidos;

- A composição de ácidos orgânicos foi semelhante na rizosfera das diferentes espécies vegetais nos tratamentos biossólido, sendo que a porcentagem média de cada ácido foi: 43,21; 31,13; 20,41 e 5,25 respectivamente para acético, cítrico, láctico e oxálico;
- Os teores de ácido acético, láctico e oxálico correlacionaram significativamente com os teores de Cd, Cu, Ni e Zn na parte aérea das espécies vegetais;
- O teor total de ácidos encontrados na rizosfera de braquiária, cana de açúcar, eucalipto e milho cultivados na presença ou ausência de biossólidos se correlacionou com o teor de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn na parte aérea destas espécies.

4 ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA E CINÉTICA DE SOLUBILIZAÇÃO DE Cr, Cu, Ni, Pb e Zn EM SOLOS TRATADOS COM BIOSSÓLIDOS

Resumo

A formação de complexos solúveis é um importante processo na solubilização de metais pesados em solos tratados com bio sólidos. Ácidos orgânicos presentes na rizosfera têm sido considerados importantes agentes complexantes para esses metais. O presente estudo teve como objetivo determinar a cinética de solubilização de Cd, Cu, Cr, Ni, Pb e Zn em solos tratados com bio sólido utilizando solução contendo mistura de quatro ácidos orgânicos (acético, cítrico, láctico e oxálico) preparada de modo a se obter concentração final igual a 0,05 e 0,10 mol L⁻¹. A extração foi feita segundo o método do equilíbrio de batch. A solução de ácidos orgânicos de concentração 0,10 mol L⁻¹ extraiu maiores quantidades de Cu, Cr, Ni e Zn do que a solução 0,05 mol L⁻¹. A cinética de solubilização apresentou duas fases: uma inicial com rápida liberação dos metais, seguida de outra mais lenta tendendo ao equilíbrio. As constantes de velocidade de solubilização mais altas foram observadas para Ni e Zn, seguidos de Cu, Cr e Pb. Os valores para o reservatório lábil calculados não ultrapassaram 15% do total de metais presentes. A porcentagem referente ao reservatório lábil do metal em relação ao total presente obedeceu a ordem: Zn > Cu $\cong$ Ni > Cr $\cong$ Pb.

Summary

Formation of soluble complex is an important process within the heavy metal solubilization in soils treated with biosolid. Organic acids present at the rhizosphere have been considered as important complexing agents for these metals. The objective of

the present study was to determinate the solubilization kinetics of Cd, Cu, Cr, Ni, Pb and Zn in soils treated with biosolid using a solution containing a four organic acids mix (acetic, citric, lactic, and oxalic) prepared in such a way that a final concentration of 0,05 e 0,10 mol L⁻¹ was obtained. The extraction was done following the batch equilibrium method. The solution of organic acids with a concentration of 0,10 mol L⁻¹ extracted more quantities of Cu, Cr, Ni and Zn than 0,05 mol L⁻¹ solution. The solubilization kinetics presented two phases: an initial one with fast liberation of metals, followed by a slower one tending for equilibrium. The higher velocity constants were observed for Ni and Zn, followed by Cu, Cr and Pb. The values calculated for the labile pool did not exceeded 15% of the present metals total. The percentage concerned to this metal pool related to the total, followed the order: Zn > Cu $\cong$ Ni > Cr $\cong$ Pb.

4.1 Introdução

Plantas e microorganismos podem provocar, direta e/ou indiretamente, alterações físicas, químicas e biológicas na rizosfera. Nesta região, em relação ao solo como um todo, são encontradas maiores concentrações de compostos orgânicos devido à exsudação das raízes e intensa atividade microbiana. Dentre esses compostos orgânicos estão aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, lipídeos, proteínas e enzimas (Ali et al., 2000).

O uso de biossólidos em solos agrícolas têm gerado preocupação principalmente no que diz respeito à presença de metais pesados neste resíduo e possibilidade de sua absorção pelas plantas, com conseqüente transferência para a cadeia alimentar.

As plantas absorvem as diferentes espécies químicas presentes na solução do solo, portanto processos que conduzam a passagem do metal pesado para essa solução são fundamentais em estudos de fitodisponibilidade.

Ácidos orgânicos de baixo peso molecular presentes na rizosfera como oxálico, láctico, succínico, entre outros, são considerados efetivos na solubilização de metais ligados a algumas frações da fase sólida do solo por formarem complexos solúveis com

estes metais (Marschner, 1995).

Mench & Martin (1991) observaram que Cd, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn presentes no solo foram solubilizados por exsudatos de raiz de *Nicotiana tabacum* L., *N. rustica* L. e *Zea mays* L. Os exsudatos eram compostos por açúcares, aminoácidos, proteínas e ácidos orgânicos, sendo que as quantidades de cada componente foram diferentes para as três espécies vegetais. Krishnamurti et al. (1997) concluíram que o Cd do solo é mobilizado por ácidos orgânicos de baixo peso molecular (acético, cítrico, oxálico, fumárico e succínico) que são normalmente encontrados na rizosfera. Para a mesma concentração de ácido, a liberação de Cd obedeceu a seguinte ordem: fumárico > cítrico > oxálico > acético > succínico. Os resultados obtidos para cinética de solubilização foram concordantes com as quantidades de Cd solubilizadas pelos ácidos. Koo (2001) avaliou a cinética de solubilização de metais pesados em solos tratados com biossólidos e constatou semelhança entre o comportamento da absorção dos metais por plantas cultivadas nestes solos e a solubilização provocada pelos ácidos orgânicos.

O presente estudo teve como objetivo determinar a cinética de solubilização de metais pesados em diferentes solos tratados com biossólido na presença de ácidos orgânicos comumente encontrados na rizosfera.

4.2 Material e Métodos

- Solos

As amostras de solo utilizadas são provenientes de estudos realizados no Departamento de Ciências Exatas, Setor de Química Ambiental da ESALQ/USP. O experimento inicial foi montado a céu aberto em outubro de 1996, em vasos de amianto com capacidade para 0,5 m³ de terra. Os tratamentos consistiram de dois solos com texturas contrastantes (Latossolo Vermelho Amarelo distrófico-LVAd e Latossolo Vermelho distrófico-LVd) em ausência ou presença de biossólido. Maiores detalhes sobre a montagem dos vasos e do experimento podem ser encontradas em: Anjos (1999)

e Bertoncini (2002). As amostras de terra coletadas para no presente estudo foram obtidas em março de 1998 (dois anos após o término da aplicação do biossólido) e retiradas da camada de 0-0,25m de profundidade.

A análise granulométrica do solo, realizada de acordo com metodologia descrita em Camargo et al. (1986), apresentou os seguintes valores, em g kg⁻¹: 326 de areia grossa; 492 de areia fina; 31 de silte e 151 de argila para o LVAd e 90 de areia grossa; 208 de areia fina; 109 de silte e 593 de argila para o LVd. Algumas propriedades químicas dos solos (Raij & Quaggio, 1983) determinadas por ocasião da amostragem são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. Propriedades químicas dos solos.

Tratamento*	pH	N	C	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al
		.. g kg ⁻¹ ..		 mmolc dm ⁻³					
LVAd	5,8	0,5	5,8	16,3	1,0	7,3	4,0	1,0	14,6
LVAd+B	8,1	1,1	14,1	101,2	1,0	61,0	1,0	-	2,1
LVd	5,9	1,5	12,9	15,5	2,0	29,0	13,0	1,0	29,3
LVd+B	8,1	2,3	19,9	34,8	2,0	96,0	2,0	-	6,0

*LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho distrófico (testemunha) e +B refere-se a solos tratados com biossólidos.

O teor total de metais presentes nas amostras é apresentado na Tabela 7.

Tabela 7. Teor total* de metais presentes nas amostras de terra utilizadas.

Tratamento*	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
	 mg kg ⁻¹				
LVAd	24,6	6,1	nd	nd	8,8
LVAd+B	84,4	76,2	38,3	6,7	196,0
LVd	41,7	66,8	nd	nd	63,5
LVd+B	139,3	165,3	55,2	10,2	274,0

* Extraído de Bertoncini (2002)

nd = abaixo do limite de detecção

- Composição e concentração da solução de ácidos orgânicos

A composição da solução de ácidos orgânicos utilizada, baseada nos resultados obtidos no Capítulo 3, é descrita na Tabela 8. Para a definição da concentração final da solução dos ácidos a ser utilizada, foram realizados testes preliminares com soluções que apresentavam concentração final variando entre 0,01 e 0,20 mol L⁻¹. Uma vez que a maioria dos metais estudados, presentes nos extratos obtidos com o uso das soluções de concentrações menores que 0,05 mol L⁻¹, apresentavam-se abaixo do limite de detecção (0,01 mg L⁻¹) do equipamento de medida utilizado descartou-se o uso dessas soluções. Altos teores dos metais foram detectados com o uso das soluções de ácidos com concentrações maiores que 0,15 mol L⁻¹, entretanto nessas condições de extração a interferência de outras espécies químicas que também eram solubilizadas inviabilizava o uso dessas soluções. Os melhores resultados foram obtidos com o uso das soluções 0,05 (C₂) e 0,10 mol L⁻¹ (C₁) de ácidos orgânicos preparadas com água deionizada e contendo 0,4% de clorofórmio.

Tabela 8. Composição e concentração das soluções de ácidos orgânicos utilizadas.

ÁCIDO ORGÂNICO	%	Concentração (mol L ⁻¹)	
		C ₂	C ₁
Acético	43	0,0215	0,043
Cítrico	31	0,0155	0,031
Lático	21	0,0105	0,021
Oxálico	5	0,0025	0,005
TOTAL	100	0,0500	0,100

- Experimento de cinética

A seguinte marcha analítica foi utilizada para determinar a cinética da reação de solubilização dos metais Cd, Cu, Cr, Ni, Pb e Zn: adicionar 25 mL de solução de ácidos orgânicos a 5 g de amostra de T.F.S.A., agitar por 15 minutos (agitador horizontal Innova 2100 - 250 rpm), centrifugar (centrífuga Sorvall RC 5c Plus - 10000 rpm e 24⁰C), filtrar (filtro de papel Whatman nº 1) e reservar o extrato para a quantificação dos

metais. Os demais tempos de equilíbrio testados foram: 30 minutos, 1, 2, 6, 8, 12, 24 e 36 horas. Todas as determinações foram feitas em duplicata.

Durante todo o experimento manteve-se o pH da suspensão em 4,8 utilizando-se solução 1 mol L⁻¹ de HCl ou NaOH tendo em vista o pH observado na rizosfera, especificamente nas regiões mais próximas das raízes (1 mm) onde ocorre a absorção de nutrientes (Youssef & Chino, 1989; Fischer et al., 1989).

A quantificação de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn foi feita por espectrofotometria de emissão atômica por indução de plasma (ICP-AES)

Os resultados obtidos foram ajustados através do programa Curve Expert 1.3 ao seguinte modelo de cinética de primeira ordem:

$$M_t = M \times (1 - e^{-kt})$$

onde: M_t = concentração do metal na solução no tempo “t”; M = concentração passível de ser removida pela concentração de ácido orgânico presente na solução (reservatório lábil); k = constante velocidade da reação de solubilização também referida como taxa de solubilização.

A solubilização dos metais pesados originários do biossólido na presença de ácidos orgânicos foi avaliada pela comparação dos valores de k e M obtidos, bem como da porcentagem que o reservatório lábil representa em relação ao total adicionado.

4.3 Resultados e Discussão

Os teores de Cd nos extratos provenientes das amostras com e sem biossólido (testemunha) e os teores de Cr, Ni e Pb nas amostras dos tratamentos testemunhas (sem biossólido) apresentaram valores abaixo do limite de detecção do método analítico utilizado, impossibilitando proceder a modelagem para estes casos.

As quantidades de metais removidas foram superiores quando foi usada a solução 0,10 mol L⁻¹ (Tabela 8 e 9). O Pb foi exceção, pois o teor extraído após 36 horas de agitação pela solução 0,05 mol L⁻¹ foi superior ao da solução 0,10 mol L⁻¹. A diferença foi mais acentuada no solo argiloso (LVd), o que sugere a ocorrência de

alguma interação entre esse metal, minerais de argila, ácidos orgânicos e outras espécies químicas presentes no meio que resulte no menor teor solúvel de Pb na solução mais concentrada de ácidos orgânicos. Huang & Lin (1981) citam que pode ocorrer competição entre ligantes orgânicos e metais pesados pelos sítios de adsorção presentes na fração sólida dos solos, dependendo das propriedades do complexo formado.

O processo de solubilização obedeceu a mesma tendência para todos os metais estudados isto é, quando as amostras foram equilibradas com a solução de ácidos orgânicos, observou-se inicialmente uma liberação rápida dos metais em solução sob forma livre ou complexada. As quantidades de Cu e Zn solubilizados nas primeiras duas horas corresponderam, aproximadamente, a 75-90 % do total dissolvido. Para Cr, Ni e Pb foram necessárias entre 6 e 8 horas para solubilizar quantidades correspondentes a estas mesmas percentagens. Após este período a solubilização observada foi lenta com as quantidades removidas tendendo a um valor constante, o que caracteriza o estado de equilíbrio. As quantidades de metais pesados removidas, em mg kg^{-1} , são apresentadas no Apêndice.

Esses resultados sugerem que a solubilização dos metais Cu, Cr, Ni, Pb e Zn ocorre em duas etapas, uma mais rápida, onde provavelmente são dissolvidos as formas do metal mais facilmente removíveis e uma mais lenta onde são removidas menores quantidades do metal. Dessa forma, os vários reservatórios de metais pesados do solo explicam o fato da cinética de solubilização ter apresentado fases distintas. Sposito (1981) cita que as reações de troca iônica podem ocorrer em segundos, enquanto reações de sorção/dessorção podem levar horas, dias, meses ou até anos para atingirem o equilíbrio.

Tabela 8. Porcentagens de Cu e Zn extraídos de amostras de solo, com e sem biossólido, por soluções de ácidos orgânicos em relação ao total extraído em 36 horas. Resultados médios de 2 repetições.

Cu								
Tempo (horas)	LVAd		LVd		LVAd + B		LVd + B	
	C₁	C₂	C₁	C₂	C₁	C₂	C₁	C₂
	%							
0,25	47,1	35,54	35,5	24,6	23,3	23,1	20,95	28,4
0,5	69,7	68,92	68,9	40,7	42,4	45,4	38,61	48,9
1	89,1	75,99	76,0	54,8	57,4	62,7	57,01	62,7
2	93,0	82,69	82,7	68,7	73,1	77,2	67,93	72,3
6	96,1	86,85	86,9	78,7	83,9	91,6	76,87	81,0
8	98,4	90,78	90,8	84,6	93,1	95,7	85,19	86,1
12	100,0	94,68	94,7	89,7	98,0	99,1	91,58	90,5
24	100,0	97,56	97,6	94,8	99,3	99,3	93,83	95,3
36	100,0	100,00	100,0	100,0	100,0	100,0	100,00	100,0
Total*	0,07	0,25	2,51	1,97	10,35	7,06	7,59	5,51

Zn								
Tempo (horas)	LVAd		LVd		LVAd + B		LVd + B	
	C₁	C₂	C₁	C₂	C₁	C₂	C₁	C₂
	%							
0,25	43,8	14,7	43,4	41,7	36,2	32,0	41,0	34,2
0,5	57,8	26,5	58,8	59,8	57,9	58,0	66,3	63,0
1	67,6	85,9	70,4	66,4	71,7	76,8	81,7	79,0
2	76,6	89,2	81,1	73,7	85,3	89,6	86,6	82,5
6	83,2	93,0	87,1	83,9	91,7	96,8	90,0	87,3
8	88,9	96,0	92,7	90,0	94,4	98,1	94,7	90,5
12	94,8	97,0	93,4	91,4	99,1	99,3	99,4	94,4
24	94,8	98,9	97,3	96,3	99,6	99,5	100,0	98,1
36	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Total*	0,16	0,54	0,44	0,36	29,15	21,26	20,64	15,16

* Corresponde a quantidade extraída após 36 horas de equilíbrio, em mg kg⁻¹.

C₁ = Solução de ácidos orgânicos 0,10 mol L⁻¹ C₂ = Solução de ácidos orgânicos 0,05 mol L⁻¹
 LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico e + B
 refere-se a solos tratados com biossólidos.

Tabela 9. Porcentagens de Cr, Ni e Pb extraídos de amostras de solo tratados com biossólido por soluções de ácidos orgânicos em relação ao total extraído em 36 horas. Resultados médios de 2 repetições.

Tempo (horas)	Cr				Ni			
	LVAd + B		LVd + B		LVAd + B		LVd + B	
	C ₁	C ₂	C ₁	C ₂	C ₁	C ₂	C ₁	C ₂
	 %							
0,25	18,5	10,9	15,3	9,9	27,8	18,5	25,3	24,3
0,5	37,3	28,3	31,6	18,9	47,1	36,7	42,8	48,1
1	54,4	54,2	51,5	41,4	68,2	57,7	61,2	68,5
2	68,9	76,4	65,4	57,0	79,8	73,6	67,6	75,3
6	78,2	89,8	74,1	68,9	85,1	83,0	73,6	82,4
8	85,7	95,1	82,5	80,4	90,4	90,3	79,8	87,0
12	92,7	100,0	90,1	87,8	95,9	95,2	88,7	92,8
24	98,0	100,0	97,5	95,1	99,0	97,8	94,2	96,0
36	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Total*	8,13	5,94	6,60	3,95	4,57	4,26	3,75	2,42

Tempo (horas)	Pb			
	LVAd + B		LVd + B	
	C ₁	C ₂	C ₁	C ₂
	 %			
0,25	20,9	30,7	4,2	22,3
0,5	39,7	47,5	25,3	42,6
1	56,7	62,1	40,7	64,0
2	68,9	77,8	57,7	76,6
6	79,6	87,6	71,8	78,5
8	86,5	95,0	88,2	85,1
12	92,0	99,0	100,0	90,6
24	95,7	99,0	100,0	92,5
36	100,0	100,0	100,0	100,0
Total*	0,41	0,45	0,19	0,31

* Corresponde a quantidade extraída após 36 horas de equilíbrio, em mg kg⁻¹.

C₁ = Solução de ácidos orgânicos 0,10 mol L⁻¹ C₂ = Solução de ácidos orgânicos 0,05 mol L⁻¹
 LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico e + B
 refere-se a solos tratados com biossólidos.

Os maiores valores para a constante de velocidade da reação de solubilização (k) (Tabela 10) foram obtidos para Ni e Zn, seguidos de Cu, Cr e Pb. A alteração na concentração da solução de ácidos orgânicos não resultou em diferenças nos valores de k. Esses resultados são contrários aos obtidos por Koo (2001) ao utilizar soluções de ácidos orgânicos com concentrações variando entre 0,001 e 0,1 mol L⁻¹ para avaliar a cinética de solubilização dos metais. O modelo de cinética de primeira ordem Também foi usado pelo autor. Nesse estudo, os valores de k variaram de 5 a 10 vezes conforme a concentração da solução que foi utilizada para estudar a solubilização de metais em solos tratados com bioossólidos.

Os valores de k obtidos para Cu nos tratamentos testemunha foram duas vezes maiores do que os dos tratamentos com bioossólido o que pode ser explicado pela presença de Cu remanescente da adubação química feita por ocasião do plantio de milho que foi realizado nos vasos anteriormente à coleta feita para o presente estudo (Anjos & Mattiazzo, 2000). O Cu presente nos tratamentos testemunha estava presente numa forma mais disponível do que no bioossólido. Para Zn, os valores de k das testemunhas e tratamentos com bioossólido foram mais próximos.

Tabela 10. Parâmetros da equação de cinética do primeiro grau ($M_t = M \times (1 - e^{-kt})$) ajustada aos dados de solubilização de Cr, Cu, Ni, Pb e Zn por soluções de ácidos orgânicos em diferentes concentrações.

Cu						
Solução 0,05 mol L⁻¹				Solução 0,10 mol L⁻¹		
	M	k	r²	M	k	r²
LVAd	0,037	2,305	0,98	0,065	2,514	1,00
LVd	0,175	0,995	0,96	0,231	2,178	0,96
LVAd+B	6,802	1,053	0,94	9,753	0,960	0,98
LVd+B	4,908	1,316	0,96	6,746	0,965	0,96
Zn						
Solução 0,05 mol L⁻¹				Solução 0,10 mol L⁻¹		
	M	k	r²	M	k	r²
LVAd	0,533	1,141	0,94	0,146	1,956	0,94
LVd	0,320	1,942	0,94	0,401	1,948	0,96
LVAd+B	20,825	1,612	1,00	27,485	1,654	0,98
LVd+B	14,039	2,006	0,98	19,648	2,208	0,98
Cr						
Solução 0,05 mol L⁻¹				Solução 0,10 mol L⁻¹		
	M	k	r²	M	k	r²
LVAd+B	5,797	0,735	1,00	7,373	0,874	0,96
LVd+B	3,515	0,481	0,96	5,871	0,766	0,96
Ni						
Solução 0,05 mol L⁻¹				Solução 0,10 mol L⁻¹		
	M	k	r²	M	k	r²
LVAd+B	3,966	0,909	0,98	4,263	1,308	0,98
LVd+B	2,187	1,334	0,96	3,227	1,199	0,94
Pb						
Solução 0,05 mol L⁻¹				Solução 0,10 mol L⁻¹		
	M	k	r²	M	k	r²
LVAd+B	0,423	1,175	0,98	0,373	0,953	0,96
LVd+B	0,276	1,211	0,98	0,181	0,435	0,96

LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico e + B refere-se a solos tratados com biossólidos.

A concentração passível de remoção (M) foi maior no LVAd (solo arenoso) do que no LVd (solo argiloso) para todos os tratamentos com biossólido (Tabela 10). Uma vez que a mesma quantidade de metais pesados foi adicionada a cada um dos solos, via biossólido, a solubilização no solo arenoso foi mais pronunciada do que no argiloso. Os óxidos de Fe e de Al são considerados importantes adsorventes de metais pesados,

reduzindo a concentração destes em solução (Alloway, 1995; Ainsworth et al., 1994). Como os teores de Al_2O_3 e de Fe_2O_3 , em g kg^{-1} , nos solos estudados foram respectivamente: 38,8 e 22,5 para o LVAd e 158,7 e 96,1 para o LVd (Bertoncini, 2002), a maior remoção de metais nos tratamentos com LVAd era esperada.

A porcentagem de metais pesados passíveis de serem solubilizados pela concentração de ácidos orgânicos utilizada (M) em relação ao total presente no solo, foi inferior a 15 % (Tabela 11). As porcentagens obtidas para cada metal pesado estudado obedeceram a seguinte ordem: $\text{Zn} > \text{Cu} \cong \text{Ni} > \text{Cr} \cong \text{Pb}$. Tendo em vista a disponibilidade desses metais observada em experimentos utilizando solos tratados com biossólidos, já esperava-se os valores maiores para Zn e menores para Cu e Cr. Em solos tratados com biossólidos Ni geralmente apresenta-se mais disponível que o Cr e Cu (devido ao fato destes formarem complexos insolúveis com a matéria orgânica) e menos disponível que Zn (Logan & Chaney, 1984).

Tabela 11. Porcentagens de metais pesados passíveis de serem solubilizados (M calculado) em relação ao total presente no solo.

	Solução 0,05 mol L ⁻¹				
	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
			%		
LVAd+B	6,87	8,93	10,36	6,35	10,63
LVd+B	2,52	2,97	3,96	2,70	5,12
	Solução 0,10 mol L ⁻¹				
	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
			%		
LVAd+B	8,74	12,80	11,13	9,63	14,21
LVd+B	4,21	4,08	5,85	1,77	7,17

LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico e + B refere-se a solos tratados com biossólidos.

Pode-se, então sugerir que para as condições experimentais utilizadas menos que 15 % do total de metais pesados presentes poderiam ser fitodisponíveis. Chang et al. (1997) citam que menos de 1 % do total de metais pesados originários de biossólidos é absorvidos pelas plantas. Os maiores valores aqui observados são um indicativo de que as normas visando o uso de resíduos contendo metais pesados em solos agrícolas devem

ser mais restritivas quanto a presença desses elementos uma vez que para solos sob clima temperado há a possibilidade de maiores quantidades serem fitodisponíveis.

As soluções de ácidos orgânicos solubilizaram quantidades diferentes conforme sua concentração. Isto indica que o valor de M é dependente da concentração da solução. Para estimar o reservatório lábil de metais fitodisponíveis, bem como o tempo de residência destes no solo, seria necessária a determinação da concentração de ácidos orgânicos na rizosfera das plantas e da quantidade total liberada durante todo o ciclo da cultura, uma vez que continuamente esses ácidos são liberados na rizosfera e seu efeito na solubilização de metais nestas condições ainda não é conhecido.

4.4 Conclusões

- A solução de ácidos orgânicos $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ extraiu maior quantidade de metais pesados originários de solos tratados com biossólido do que a solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, com exceção do Pb;
- Para todos os casos estudados a solubilização apresentou uma fase inicial de liberação rápida dos metais em solução seguida de uma fase com liberação mais lenta tendendo ao equilíbrio;
- Maiores valores para a constante de velocidade da reação de solubilização foram obtidas para Ni e Zn, seguidos de Cu, Cr e Pb;
- A quantidade de metais pesados passível de ser solubilizada pela concentração de ácidos orgânicos utilizada não ultrapassou 15% do total de metais pesados adicionados;
- A porcentagem referente ao reservatório lábil de metal pesado em relação ao total presente no solo obedeceu a seguinte ordem: $\text{Zn} > \text{Cu} \cong \text{Ni} > \text{Cr} \cong \text{Pb}$.

5 ÁCIDOS ORGÂNICOS DA RIZOSFERA E AVALIAÇÃO DE TEORES FITODISPONÍVEIS DE Cd, Cu, Ni, Pb e Zn ORIGINÁRIOS DE BIOSSÓLIDOS

Resumo

Ainda não foi estabelecido um método de extração eficiente para estimar teores fitodisponíveis de metais pesados, provavelmente por que os extratores geralmente utilizados não simulam as reações que ocorrem próximas às raízes. Sugere-se que ligantes presentes na rizosfera, como os ácidos orgânicos de baixo peso molecular, são fitodisponibilizadores de metais pesados. O presente estudo teve como objetivo testar um método de remoção de teores fitodisponíveis de Cu, Ni, Pb e Zn presentes em solos tratados com bioossólidos, utilizando como extrator solução composta pela mistura dos ácidos orgânicos presentes na rizosfera. Os ácidos orgânicos componentes da solução extratora foram o acético, cítrico, láctico e oxálico em concentrações de 1,00; 0,72; 0,49 e 0,12 mol L⁻¹, respectivamente. Amostras de terra e de plantas provenientes de 3 experimentos de campo que apresentavam tipo de solo, espécie vegetal cultivada e origem do bioossólido diferentes foram utilizadas para testar o método. A avaliação do extrator foi feita a partir da análise dos coeficientes obtidos para a correlação entre os teores de metais pesados extraídos do solo e os teores determinados nas plantas. As correlações entre os teores de Cu, Ni, Pb e Zn removidos pela solução de ácidos orgânicos e os teores destes metais no tecido vegetal foram significativas (1 %), indicando a eficiência do extrator para todos os casos estudados.

Summary

It was not yet established an efficient extraction method to estimate concentrations of heavy metals phytoavailable, probably because the extractors

generally used do not simulate the reactions that occurs close to the roots. It is suggested that ligands present at the rhizosphere, as the organic acids of low molecular weight, can solubilize heavy metals. The present study had the purpose of testing a method of phytoavailable Cu, Ni, Pb and Zn removal, presents in soils treated with biosolid, using as an extractor a solution composed by organic acids mix present at the rhizosphere. The organic acids that composed the extractor solution were acetic, citric, lactic, and oxalic with concentrations of 1.00, 0.72, 0.49 and 0.12 mol L⁻¹, respectively. Samples of soils and plants from 3 (three) field experiments, which presented different type of soil, cultivated vegetal specie, and biosolid, were used to test the method. Extractor evaluation was done from analyzes of the obtained coefficients to correlate between heavy metals concentrations extracted from the soil, and concentrations determined on the plants. Correlation between Cu, Ni, Pb and Zn concentrations removed by the solution of organic acids, and concentrations of these metals within the vegetal tissue were significant (1 %), indicating the extractor efficiency for all the studied cases

5.1 Introdução

O teor fitodisponível de metais pesados presentes em solos tratados com biossólidos é um parâmetro fundamental na avaliação do risco de entrada destes elementos, potencialmente tóxicos, na cadeia alimentar. Atualmente, estima-se o teor fitodisponível através da determinação da quantidade do metal absorvida pela planta tendo em vista que ainda não foi estabelecida metodologia capaz de estimar teores fitodisponíveis de metais antes da implantação da cultura. A principal dificuldade, que tem sido observada na definição do extrator mais adequado, é a variação de sua eficiência conforme: a quantidade de metal presente no biossólido, o processo de obtenção do resíduo, o tipo de solo, a presença de outras espécies químicas, a espécie vegetal e o metal em questão. Mattiazzo & Andrade (2001) realizaram uma revisão sobre a eficiência dos extratores geralmente utilizados para estimar fitodisponibilidade e concluíram que, com exceção de Cu e Zn, ainda não existe um extrator que apresente

boa correlação com as quantidades de metais absorvidas pelas plantas considerando todas as variáveis anteriormente descritas.

Vários métodos de extração têm sido testados, envolvendo diferentes tipos de soluções. Alguns autores sugerem o uso de soluções neutras, com força iônica similar à do solo, como 0,01 M CaCl_2 . Neste caso, são extraídos metais pesados na forma livre ou facilmente trocável. Outra opção é o uso de soluções de ácidos fortes, como solução HCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e Mehlich-1. Estas soluções podem extrair quantidades de metais próximas ao total. Agentes quelantes também são usados, como EDTA e DTPA, ou soluções ácidas e quelantes como o Mehlich-3. O uso de se justifica pelo fato destes agentes extraírem parte dos metais ligados à matéria orgânica e a ligantes orgânicos livres. O DTPA (pH 7,3), desenvolvido por Lindsay & Norvell (1978), pode ser considerado como o mais utilizado em estudos de previsão da fitodisponibilidade. Embora esse extrator tenha sido desenvolvido para estimar teores fitodisponíveis de Cu, Mn e Zn em solos alcalinos ou com pH próximo à neutralidade, ele tem-se mostrado eficiente também para aqueles micronutrientes presentes em solos ácidos. Entretanto, a eficiência deste extrator é baixa quando são considerados metais com maior potencial tóxico, como Cd, Cr, Ni e Pb (Abreu et al., 1995). Para as condições de acidez da maioria dos solos brasileiros, os resultados encontrados geralmente são pouco conclusivos na previsão da fitodisponibilidade (Andrade, 1999; Oliveira, 2000; Anjos & Mattiazzo, 2001). Presume-se que as baixas correlações se devem ao fato de que os extratores usados não simulam as reações que ocorrem próximas às raízes (Berton, 2000).

As plantas absorvem metais pesados da solução do solo e estes estão presentes no solo predominantemente na fase sólida. Logo, o equilíbrio entre os metais na solução e os presentes na fase sólida é um dos principais reguladores da fitodisponibilidade de metais pesados. Como a concentração dos metais pesados em solução é baixa, alterações no equilíbrio podem resultar em maior solubilização dos metais. Portanto, a formação de complexos solúveis entre metais pesados e ligantes orgânicos presentes na rizosfera pode ser um importante processo fitodisponibilizador de metais pesados.

Vários artigos foram publicados envolvendo a disponibilização de fósforo, micronutrientes e elementos potencialmente tóxicos por ligantes orgânicos presentes em

exsudatos de raiz (Krafczyk et al., 1997; Li et al., 1997; Awad et al., 1994; Crowley et al., 1992; Mench et al., 1988; Merckx et al., 1986). Porém, poucos trabalhos abordam o potencial de complexação destes exsudatos, bem como de substâncias liberadas por microorganismos.

Ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como acético, butírico, cítrico, láctico, málico, oxálico, succínico e tartárico são encontrados na rizosfera em quantidades maiores do que outros componentes de exsudatos de raiz (Jones et al., 1996). Marschner (1995) cita que estes ácidos são efetivos na solubilização de metais ligados a fração sólida do solo. Dentre os poucos estudos realizados envolvendo fitodisponibilização de metais pesados presentes em solos tratados com biossólidos provocada por ácidos orgânicos, destacam-se os de Mench & Martin (1991) e o de Koo(2001).

Mench & Martin (1991) observaram que Cd, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn presente em solos tratados com biossólidos foram solubilizados por exsudatos de raiz de *Nicotiana tabacum* L., *N. rustica* L. e *Zea mays* L. A composição química dos exsudatos foi diferente para as três espécies, mas a quantidade de metais extraída foi semelhante quando as espécies foram cultivadas no mesmo solo. Koo (2001) avaliou a influência de ácidos orgânicos na cinética de solubilização de metais pesados presentes em solos tratados com biossólidos e concluiu que o comportamento da solubilização foi semelhante ao da absorção dos metais por plantas cultivadas nestes mesmos solos.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo testar o uso de uma solução de ácidos orgânicos geralmente encontrados na rizosfera como extratora de teores fitodisponíveis de metais pesados em solos tratados com biossólidos.

5.2 Material e Métodos

Como um método de extração de metais pesados de solos utilizando soluções de ácidos orgânicos ainda não foi desenvolvido, foi necessária a realização de vários testes preliminares antes de adotar um procedimento. Optou-se por não apresentar os dados

obtidos nestes testes, uma vez que o objetivo do presente estudo é avaliar a eficiência do método desenvolvido.

5.2.1 Desenvolvimento do método

A solução extratora foi composta pelos ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico nas respectivas percentagens: 43 %, 31 %, 21 % e 5 %, segundo resultados obtidos no Capítulo 3. Foram realizados vários testes preliminares avaliando razão solo:solução, tempo de agitação e concentração da solução extratora com o intuito de determinar o melhor procedimento de extração. A razão solo:solução foi escolhida em função da obtenção de maiores concentrações de metais pesados no extrato, haja visto as limitações que geralmente ocorrem na determinação analítica. O tempo de agitação foi escolhido baseado no tempo necessário para que o equilíbrio entre os metais em solução e os presentes na fase sólida fosse estabelecido. Quanto à concentração de ácidos orgânicos da solução extratora, primeiramente testaram-se concentrações próximas ao obtido no Capítulo 3. Entretanto, observou-se que os extratos obtidos utilizando estas concentrações apresentavam, na maioria dos casos, teores de metais pesados abaixo dos limites de detecção do instrumento analítico utilizado. Por isso, optou-se por testar soluções mais concentradas.

5.2.2 Método

A partir dos testes preliminares o seguinte procedimento foi adotado:

- Solução extratora: A concentração dos ácidos em solução foi calculada em função da concentração de ácido acético. A partir da constatação de que este ácido estava presente na solução numa porcentagem igual a 43, estabeleceu-se que sua concentração seria igual a 1 mol L^{-1} (Tabela 12). A solução foi preparada com água deionizada contendo 0,4% de clorofórmio para inibir a atividade microbiana.

- Marcha analítica:

- a) adicionar 20 mL de solução extratora a 5g de amostra de terra tratada com biossólido
- b) agitar a suspensão por -se por 6 horas (agitador horizontal Innova 2100 - 250 rpm).
- c) filtrar o extrato usando papel de filtro Whatmann nº 1.
- d) quantificar os metais Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn no extrato em espectrofotômetro de emissão atômica por indução de plasma (ICP-AES).

Tabela 12. Composição da solução extratora de metais pesados fitodisponíveis em solos tratados com biossólidos.

ÁCIDO ORGÂNICO	%	mol L ⁻¹
Acético	43	1,00
Cítrico	31	0,72
Lático	21	0,49
Oxálico	5	0,12

5.2.3 Amostras utilizadas

Amostras de experimentos desenvolvidos em solos de textura contrastante tratados com diferentes biossólidos e cultivados com diferentes espécies vegetais foram utilizados no presente estudo. O solo foi amostrado na ocasião do plantio para realização da remoção de metais pesados pela solução de ácidos orgânicos.

Amostras da parte aérea das plantas foram utilizadas para avaliação dos teores de metais pesados no tecido vegetal. O método para análise das plantas consiste na digestão nitro-perclórica das amostras em microondas (EPA 3052), seguida da quantificação dos metais no extrato obtido. A determinação dos metais Cd, Cu, Cr, Ni, Pb e Zn nos extratos de solo e de planta foi feita por espectrofotometria de emissão atômica por indução de plasma (ICP-AES).

Propriedades dos solos e biossólidos são apresentadas na Tabela 13 e 14, respectivamente. Alguns dados gerais dos experimentos são citados a seguir:

- Experimento 1:

Localização: Núcleo de Agronomia do Vale do Ribeira - Pariquera-Açu, SP

Solo: Latossolo Amarelo Distrófico típico

Cultura: Banana

Biossólido: Estação de Tratamentos de Esgotos de Bichoró

Doses: 0, 74, 147 e 294 Mg ha⁻¹ (base úmida), em uma única aplicação

- Experimento 2:

Localização: Estação Experimental do IAC localizada em Ubatuba/SP

Solo: Neossolo Quartzênico

Cultura: Pupunha

Biossólido: Estação de Tratamento de Esgoto de Bertioga

Doses: 0, 42, 84 e 168 Mg ha⁻¹ (base úmida), em uma única aplicação

- Experimento 3:

Localização: Fazenda Santa Elisa - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas/SP

Solo: Latossolo Vermelho distrófico

Cultura: Café

Biossólido: Estação de Tratamento de Esgoto de Barueri

Doses: 0, 30, 60 e 120 Mg ha⁻¹ (base úmida), em uma única aplicação

5.2.4 Análises estatísticas

A eficiência do método foi avaliada a partir da correlação entre os teores de metais pesados extraídos dos solos e os teores encontrados nas plantas.

Tabela 13. Propriedades dos solos.*

	pH (CaCl ₂)	MO g dm ⁻³	P _(resina) mg dm ⁻³	K mmol _c dm ⁻³	Ca	Mg	H+Al
Experimento 1	4,1	20	4	0,6	9	3	80
Experimento 2	4,2	28	18	2,4	12	3	64
Experimento 3	6,0	27	174	5,3	34	19	28

	Argila <0,002mm	Silte 0,053-0,002mm	Areia Total g kg ⁻¹	Areia Grossa 2,00-0,210mm	Areia Fina 0,210-0,053mm
Experimento 1	372	136	492	239	253
Experimento 2	176	223	601	201	400
Experimento 3	302	87	611	376	235

*Raij & Quaggio, (1983)

Tabela 14. Propriedades dos biossólidos utilizados.*

Propriedade	ETE Bichoró	ETE Bertioga	ETE Barueri
C orgânico (g kg ⁻¹)	307,0	232,2	302,0
pH	10,8	8,3	10,2
Umidade (%)	81,9	48,4	65,8
Sólidos Voláteis (%)	50,5	54,5	51,3
N Kjeldahl (g kg ⁻¹)	36,8	16,0	34,0
Fósforo (g kg ⁻¹)	23,8	7,9	12,5
Cálcio (g kg ⁻¹)	172,2	6,3	156,5
Ferro (g kg ⁻¹)	82,5	7,6	7,6
Alumínio (g kg ⁻¹)	7,4	4,9	7,4
Cádmio (mg kg ⁻¹)	1,0	0,4	0,9
Chumbo (mg kg ⁻¹)	61,7	12,5	45,8
Cobre (mg kg ⁻¹)	160,2	28,9	98,5
Cromo (mg kg ⁻¹)	61,7	17,4	41,21
Níquel (mg kg ⁻¹)	24,8	8,4	18,9
Zinco (mg kg ⁻¹)	559,0	112,2	478,6

*Os valores de concentração são dados com base na matéria seca.

5.3 Resultados e Discussão

Alguns dos metais pesados analisados nas plantas encontravam-se abaixo do limite de detecção do instrumento analítico utilizado, a saber: Cd e Cr nas folhas de banana (experimento 1); Cd, Cr e Ni nas folhas de pupunha (experimento 2) e Cr nas folhas de café (experimento 3). Para algumas repetições, o teor de Pb também estava abaixo do limite, sendo estas excluídas das correlações.

A eficiência do extrator em avaliar os teores fitodisponíveis de Cu, Ni, Pb e Zn nos experimentos utilizados foi constatada pela significância das correlações (Figuras 4, 5 e 6). Optou-se por não incluir Cd nesta lista, uma vez que este elemento apenas foi detectado nas plantas de café. O fato das correlações terem sido significativas para todos os experimentos avaliados, independente do metal pesado, espécie vegetal e tipo de solo considerado, parece ser uma vantagem do método de extração proposto e deve ser mais investigada, uma vez que a maioria dos extratores comumente utilizados têm sua eficiência alterada em função das variáveis já descritas (Mattiazzo et al., 2001).

Anjos & Mattiazzo (2001) avaliaram os extratores Mehlich 3, HCl 0,1 mol L⁻¹, DTPA e água régia para estimar teores fitodisponíveis de Cu e Zn para milho cultivado em Latossolos tratados com biossólidos. As correlações obtidas foram significativas para todos os extratores, com exceção do Cu extraído por HCl 0,1 mol L⁻¹. Por outro lado, Oliveira (2000) não encontrou correlação significativa para teores de Cu e Zn em folhas de cana cultivadas em Latossolo tratado com biossólido e teores destes metais extraídos do solo por HCl 0,1 mol L⁻¹, Mehlich 3 e DTPA-TEA. Em comparação com os dados existentes sobre extração de teores de micronutrientes em situações de deficiência, ainda é limitado o conhecimento sobre eficiência de extratores de Cd, Cr, Ni e Pb fitodisponíveis em situações de toxicidade.

* Significativo a 1%

Figura 4 - Correlações lineares entre concentração de Cu, Ni, Pb e Zn em folhas de banana e teores extraídos por solução de ácidos orgânicos de um Latossolo Amarelo distrófico tratado com biossólido.

* Significativo a 1%

Figura 5 - Correlações lineares entre concentração de Cu, Pb e Zn em folhas de pupunha e teores extraídos por solução de ácidos orgânicos de um Neossolo tratado com biossólido.

* Significativo a 1%

Figura 6 - Correlações lineares entre concentração de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn em folhas de café e teores extraídos por solução de ácidos orgânicos de um Latossolo Vermelho distrófico tratado com bio sólido.

O caráter complexante dos ácidos orgânicos deve ter contribuído para que o método fosse eficiente em estimar teores fitodisponíveis nos casos estudados. Em estudo sobre avaliação de fitodisponibilidade de Zn, Bataglia & Raij (1994) citam que o DTPA foi superior provavelmente por este ser um agente complexante, permitindo o acúmulo de metal pesado na solução extratora, apesar da baixa atividade destes elementos na solução do solo.

Acredita-se que o fato do método estar baseado em reações que ocorrem na rizosfera foi fundamental nos resultados positivos obtidos no presente estudo. O extrator utilizado é composto por substâncias que estão presentes na rizosfera e têm sido consideradas fitodisponibilizadoras de metais pesados em solos tratados com biossólidos (Mench & Martin, 1991). Com isso, a extração em laboratório se aproxima mais da que deve ocorrer na rizosfera. É interessante lembrar que o presente estudo apenas sugere e testa preliminarmente o método, sendo que ainda são necessárias avaliações de eficiência para o maior número possível de espécies vegetais, tipos de solos e biossólidos.

5.4 Conclusões

- A avaliação de teores fitodisponíveis de Cu, Pb, Ni e Zn originários de biossólidos utilizando-se como extrator uma solução de ácidos orgânicos comumente encontrados na rizosfera foi eficiente para os casos estudados;
- São necessários estudos envolvendo o maior número de espécies vegetais, tipos de solos e biossólidos possível para validar o método.

6 CONCLUSÕES GERAIS

- Os ácidos orgânicos determinados na rizosfera de braquiária, cana, eucalipto e milho foram: acético, cítrico, láctico e oxálico nas seguintes porcentagens em relação a concentração total dos ácidos determinados: 43, 31, 21 e 5, respectivamente;
- A cinética da reação de dissolução de metais pesados em solos tratados por biossólidos na presença de ácidos orgânicos apresenta uma fase inicial de liberação rápida dos metais em solução seguida de uma fase com liberação mais lenta tendendo ao equilíbrio;
- O método de remoção de teores fitodisponíveis de metais pesados em solos tratados com biossólidos utilizando solução de ácidos orgânicos como extrator foi eficiente para os casos estudados, sendo necessário testes com mais situações diferentes para validá-lo;
- Os ácidos orgânicos de baixo peso molecular presentes na rizosfera influenciam a fitodisponibilidade de metais pesados originários de biossólidos;

Anexo

**Detalhes das condições operacionais da análise cromatográfica quantitativa
dos ácidos acético, cítrico, láctico e oxálico**

- Cromatografia líquida de alta pressão (HPLC)
- Detector de arranjo de diodos (DAD)
- Coluna C₁₈, fase reversa (Zorbax / SB), 25 cm de comprimento e 3mm de diâmetro\
- Temperatura da coluna: 25⁰C
- Volume de injeção: 40 µL
- Fluxo: 0,4 mL min⁻¹
- Tempo de análise: 12 min
- Tempo pós-análise: 3 min
- Fase móvel:
 - A = Água deionizada (usada para limpeza)
 - B = H₂PO₄Na 0,5 mol L⁻¹ (pH = 3,2)
 - C = Metanol (limpeza)
 - D = H₂PO₄ 0,25 % v/v (pH = 2,0)
- Mistura da Fase Móvel:

Tempo (minutos)	% B	% D
5	20	80
11	20	80
12	100	0

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C.A. de; ABREU, M.F.de; RAIJ, B.van; SANTOS, W.R. Comparação de métodos de análise para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.19, p.463-468, 1995.
- AINSWORTH, C.C.; PILON, J.L.; GASSMAN, P.L.; van der SLUYS, W.G. Cobalt, cadmium and lead sorption to hydrous iron oxide: residence time effect. **Soil Science Society of American Journal**, v.58, p.1615-1623, 1994.
- ALI, I.A.; KAFKAFI, U.; YAMAGUCHI, I.; SUGIMOTO, Y.; INANAGA, S. Growth, transpiration, root-born cytokinins and gibberelins, and nutrient compositional changes in sesame exposed to low root zone temperature under different ratios of nitrate: ammonium supply. **Journal of Plant Nutrition**, v.23, p.123-140, 2000.
- ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. 2.ed. Glasgow: Blackie A&P, 1995. 368p.
- ANDRADE, C.A.; MATTIAZZO, M.E. Nitratos e metais pesados no solo e nas árvores após a aplicação de bio-sólido (lodo de esgoto) em plantações florestais de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Forestalis**, v.58, p.59-72, 2000.

- ANJOS, A.R.M. Lixiviação de espécies químicas em Latossolos sucessivamente tratados com biossólido e disponibilidade de metais pesados para plantas de milho. Piracicaba, 1999. 191p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- ANJOS, A. R. M.; MATTIAZZO, M. E. Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em Latossolos tratados com biossólidos e cultivados com milho. **Scientia Agricola**, v.58, p.337-344, 2001.
- AWAD,F.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. Effect of root exudates on mobilization in the rhizosphere and uptake of iron by wheat plants. **Plant Soil**, v.165, p.213-218, 1994.
- BAKER, D.E. Copper. In: ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1990. cap.8, p.152-176.
- BARBER, D.A.; GUNN, K.B. The effect of mechanical forces on the exudation of organic substances by the roots of cereal plants grown under sterile conditions. **New Phytologist**, v.73, p.39-45, 1974.
- BARBER, S.A. **Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach**. New York: John Wiley, 1995. 414p.
- BARRETTO, M.C. de. Degradação da carga orgânica de diferentes resíduos e seus efeitos em alguns atributos químicos e físicos do solo. Piracicaba, 1995. 106p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- BATAGLIA, O.C.; RAIJ, B. van Soluções extratoras na avaliação da fitodisponibilidade do zinco em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.19, p.457-461, 1994.
- BECKETT, P.H.T. The use of extractants in studies on trace metals in soils, sewage sludges and sludge-treated soils. **Advances in Agronomy**, v.9, p.143-176, 1989.
- BELL, P.F.; CHANEY, R.L.; ANGLE, J.S. Staining localization of ferric reduction on roots. **Journal of Plant Nutrition**, v.11, p.1237-1252, 1988.
- BERTON, R.S. Riscos de contaminação do agroecossistema com metais pesados. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2000. cap. 16, p.259-268.
- BERTON, R.S.; CAMARGO, O.A.; VALADARES, J.M.A.S. Absorção de nutrientes pelo milho em resposta à adição de lodo de esgoto a cinco solos paulistas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.13, n.2, p. 187-192, 1989.
- BERTON, R.S.; VALADARES, J.M.A.S.; CAMARGO, O.A.; BATAGLIA, O.C. Peletização do lodo de esgoto e adição de CaCO_3 na produção de matéria seca e absorção Zn, Cu e Ni pelo milho em três latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.685-691, 1997.
- BERTONCINI, E.I. Mobilidade de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. Piracicaba, 1997. 102 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- BERTONCINI, E.I. Comportamento de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn em Latossolos sucessivamente tratados com biossólido: extração sequencial, fitodisponibilidade e caracterização de substâncias húmicas. Piracicaba, 2002. 195p. Tese (Dotutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BLAYLOCK, M.J.; SALT, D.E.; DUSHENKOV, S.; ZAKHAROVA, O.; GUSSMAN, C.; KAPULNIK, Y.; ENSLEY, B.D.; RASKIN, I. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. **Environmental Science and Technology**, v.31, p.860-865, 1997.
- CAMARGO, O.A.; ALLEONI, L.R.F.; CASAGRANDE, J.C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo. In: FERREIRA, M.E. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPQ; FAPESP; POTAFOS, 2001. 599p.
- CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônômico**. Campinas: IAC, 1986. 94p. (Boletim Técnico, 106)
- CAMPBELL, P.G.C. Interactions between trace metals and aquatic organisms: A critique of the free ion activity model. In: TESSIER, A.; TURNER, D.R. (Ed.). **Metal speciation and bioavailability in aquatic systems**. New York: John Wiley, 1995. 696 p.
- CANDALARIA, L.M. Interactions of citric acid and synthetic hydroxy-aluminum montmorillonite. Riverside, 1995. 123p. Thesis (P.h. D.)-University of California.
- CATALDO, D.A.; GARLAND, T.R.; WILDUNG, R.E. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. **Plant Physiology**, v.73, p.844-848, 1983.

- CHANEY, R.L. Health risks associated with toxic metals in municipal sludge. In: BITTON, G.; DAMRO, D.L.; DAVIDSON, G.T.; DAVIDSON, J.M. (Ed.). **Sludge: health risks of land application**. Minnessota: Ann Arbor Science, 1980.
- CHANEY, R.L.; RYAN, A.J. Toxic metals and toxic organic pollutants in MSW-composts. In: HOITINK, H.A.; KEENER, H.M. (Ed.). **Research results on phyto-availability, bioavailability, fate, etc.** Worthington: Renaissance, 1993.
- CHANG, A.C.; GRANATO, T.C.; PAGE, A.L. A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel, and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludges. **Journal of Environmental Quality**, v.21, p.521-536, 1992.
- CHANG, A.C.; HYUN, H.; PAGE, A.L. Cadmium uptake for swiss chard grown on composted sludge treated field plots: Plateau or time bomb? **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.11-19, 1997.
- CIESLINSKI, G.; REES, K.C.J. van; SZMIGIELSKA, A.M.; KRISHNAMURTI, G.S.R.; HUANG, P.M. Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation. **Plant and Soil**, v.203, p.109-117, 1998.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Aplicação de biossólido em áreas agrícolas: critérios para projeto e operação**. São Paulo, 1999. 35p. (Manual Técnico).

- COSTA, F.G.; MATTIAZZO-PREZOTTO, M.E.; PACHECO, L.M.C.; TRUFFI, J. Disponibilidade de nutrientes e metais pesados adicionados a Latossolos via biossólidos para plantas de Braquiária (*Brachiaria brizantha*). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, REUNIÃO PAULISTA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA ESALQ. **Resumos**. Piracicaba:ESALQ,2000.
- COSTA, G.; MOREL, J.L. Cadmium uptake by *Lupinus albus* (L.): Cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance. **Journal of Plant Nutrition**, v.16, p.1921-1929, 1993.
- CROWLEY, D.E.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H.; SZANNISZLO, P.J. Root-microbial effects on plant iron uptake from siderophores or phytosiderophores. **Plant and Soil**, v.142, p.1-7, 1992.
- DECHEN, A. R.; HAAG, H.P.; CARMELLO, Q.A. de C. Micronutrientes na planta. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C. P. da. **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: POTAFOS, 1991. cap.3, p.65-75.
- DINKELAKER, B.; RÖMHELD, V. & MARSCHNER, H. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). **Plant, Cell and Environment**, v.12, p. 285-292, 1989.
- EATON, A.D.; CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.C. **Standards methods for the examination of water and wastewater**. 19 ed. Washington: American Public Health Association, 1995. 1082p.
- FILHO, F.A. País sujo. **Isto é**, n. 1696, p.74-80, abr. 2002.

- GARDNER, W.K.; BARBER, D.A.; PARBERY, D.G. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. III. The probable mechanism by which phosphorus movement in the soil/root interfaces is enhanced. **Plant and Soil**, v.70, p.107-124, 1983.
- GRIES, D.; BRUNN, S.; CROWLEY, D.E.; PARKER, D.R. Phytosiderophore release in relation to micronutrient metal deficiencies in barley. **Plant and Soil**, v.172, p.299-308, 1995.
- HALE, M.G.; MOORE L.D. Factors affecting root exudation II: 1970-1978. **Advances in Agronomy**, v.31, p.93-124, 1979.
- HODGSON, J.F.; LINDAY, W.L.; TRIERWEILER, J.F. Micronutrient cation complexing in soil solution. II. Complexing zinc and copper in displaced solution from calcareous soils. **Proceedings of Soil Science Society of America**, v.30, p.723-737, 1966.
- HOFFLAND, E. Quantitative evaluation of the role of organic acid exudation in the mobilization of rock phosphate by rape. **Plant and Soil**, v.140, p.279-289, 1992.
- HUANG, C.P.; LIN, Y.T. Specific adsorption of Co (II) and [Co(III)-EDTA] complexes on hydrous oxide surfaces. In: TEWARI, P.H. (Ed.). **Adsorption from aqueous solutions**. New York: Plenum Press, 1981.
- HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R.; CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science and Technology**, v.31, p.800-805, 1997.
- IWASAKI, K.; TAKAHASHI, E. Effects of charge characteristics of Cu-chelates on the Cu uptake from the solution by Italian ryegrass and red clover. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.35, p.145-150, 1989.

- JONES, D.L.; DARRAH, P.R.; KOCHIAN, L.V. Critical evaluation of organic acid mediated iron dissolution in the rhizosphere and its potential role in root ion uptake. **Plant and Soil**, v.182, p.221-228, 1996.
- KOCHIAN, L.V. Zinc Absorption from hydroponic solutions by plant roots. In: ROBSON, A.D. (Ed.). **Zinc in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer, 1993.
- KOO, B.J. Assessing bioavailability of metals in biosolid treated soils: root exudates and their effects on solubility of metals. Riverside, 2001. 261 p. Thesis (Ph.D.) - University of California.
- KRAFFCZYK, I.; TROLLDENIER, G.; BERINGER, H. Soluble exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, v.16, p.315-322, 1984.
- KRISHNAMURTI, G.S.R.; CIESLINSKI, G.; HUANG, P.M.; REES, K.C.J. van Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: implication in cadmium availability. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.271-277, 1997.
- LATERREL, J.J.; DOWDY, R.H.; LARSON, W.E. Correlations of extractable metals and metal uptake of snap beans grown on soil amended with sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, v.7, p.435-440, 1978.
- LAUHEURTE, F.; LEYVAL, C.; BERTHELIN, J. Root exudates of maize, pine and beech seedlings influenced by mycorrhizal and bacterial inoculation. **Simbiosis**, v.9, p.111-116, 1990.

- LAURIE S.H.; MANTHEY, J.A. The chemistry and role of metal ion chelation in plant uptake processes. In: MANTHEY, J.A.; CROWLEY, D.E.; LUSTER, D.G. (Ed.). **Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere.** Boca Raton: Lewis Publishers, 1994.
- LI, M.G.; SHINANO, T.; TADANO, T. Distribution of exudates of lupin roots in the rhizosphere under phosphorus deficient conditions. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.43, p.237-245, 1997.
- LINDSAY, W.L. The role of chelation in micronutrient availability. In: CARSON, E.W. (Ed.). **The plant root and its environment.** Virginia: University Press of Virginia, 1974.
- LINDSAY, W.L.; NORWELL, W.A. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. **Soil Science Society of America Journal**, v.42, p.421-428, 1978.
- LOGAN, T.J.; CHANEY, R.L. Metals. In: PAGE, A.L.; GEASON, T.L.; SMITH, J.E.; ISKANDAR, J.K.; SOMMERS, L.E. (Ed.). **Utilization of municipal wastewater and sludge on land.** Riverside: University of California, 1984. p. 235-326.
- LORENZ, S.E.; HERMON, R.E.; McGRATH, S.P. Differences between soil solution obtained from rhizosphere and nonrhizosphere soil by water displacement and soil centrifugation. **European Journal of Soil Science**, v.45, p.431-438, 1994.
- MARQUES, M.O. Incorporação de lodo de esgoto em solo cultivado com cana-de-açúcar. Jaboticabal, 1996. 111 p. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** London: Academic Press, 1995. 889p.
- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V. Root induced changes in the availability of micronutrients in the rhizosphere. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. **Plant roots: the hidden half.** New York: Marcel Dekker, 1996.
- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V.; KISSEL, M. Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. **Journal of Plant Nutrition**, v.9, p.695-713, 1986.
- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V.; CAKMAK, I. Root-induced changes of nutrient availability in the rhizosphere. **Journal of Plant Nutrition**, v.10, p.1175-1184, 1987.
- MARTELL, A.E.; SMITH, R.M. **Critical stability constants.** 6.ed. New York: Plenum Press, 1989. 662p.
- MATTHEWS, P. Sustainability in biosolids management. **Water Science Technology**, v.38, p.97-102, 1998.
- MATTIAZZO, M.E.; BERTON, R.S., CRUZ, M.C.P. Disponibilidade e avaliação de metais pesados potencialmente tóxicos. In: FERREIRA, M.E. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura.** Jaboticabal: CNPQ; FAPESP; POTAFOS, 2001. 599p.
- McBRIDE, M.B. Forms and distribution of Cu in solid and solution phases of soil. In: LONERAGAN, J.F. (Ed.). **Copper in soils and plants.** Sidney: Academic Press, 1981.

- McBRIDE, M.B. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: are USEPA regulations protective? **Journal of Environmental Quality**, v.24, p.5-18, 1995.
- McLAREN, R.G.; CRAWFORD, D.V. Studies on soil copper. I. The fractionation of Cu in soils. **Journal of Soil Science**, v.24, p.172-181, 1973.
- McLAUGHLIN, M.J.; SMOLDERS, E.; MERCKX, R. Soil-root interface: Physicochemical processes. In: HUANG, P.M. (Ed.). **Soil chemistry and ecosystem health**. Madison: Soil Science Society of America, 1998.
- MELO, W.J.; MARQUES, M.O.; SANTIAGO, G.; CHELLI, R.A.; LEITE, S.A.S. Efeito de doses crescentes de lodo de esgoto sobre frações de matéria orgânica e CTC de um latossolo cultivado com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p.449-455, 1994.
- MENCH, M.; MARTIN, M. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L., and *Nicotiana rustica* L. **Plant and Soil**, v. 132, p. 187-196, 1991.
- MENCH, M.; MOREL, J.L.; GUCKERT, A.; GUILLET, B. Metal binding with root exudates of low molecular weight. **Journal of Soil Science**, v. 39, p. 521-527, 1988.
- MERCKX, R.; VANGINKEL, J.H.; SINNAEVE, J.; CREMERS, A. Plant-induced changes in the rhizosphere of Maize and Wheat: II. Complexation of Cobalt, Zinc and Manganese in the rhizosphere of Maize and Wheat. **Plant and Soil**, v.96, p.95-108, 1986.

- MORSE, C.C.; YEVDOKIMOV, I.V.; DeLUCA, T.H. In situ extraction of rhizosphere organic compounds from contrasting plant communities. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.31, p.725-742, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Risk assessment and management:** framework for decision making. Washington: National Academy of Science Press, 1983. 1543p.
- NYE, P.H. Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. **Plant and Soil**, v.61, p.7-26, 1981.
- OLIVEIRA, F.C. Comportamento de metais pesados e formas nitrogenadas em solos tratados com lodo de esgoto. Piracicaba, 1995. 91 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- OLIVEIRA, F.C. Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo urbano num Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar. Piracicaba, 2000. 191p. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- OLIVEIRA, F.C.; MATTIAZZO, M.E. Metais pesados em latossolo tratado com lodo de esgoto e em plantas de cana de açúcar. **Scientia Agricola**, v.58, p.581-593, 2001.
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. **Métodos de análise química de solo para fins de fertilidade**. Campinas: IAC, 1983. 31p. (Boletim Técnico, 81)
- RAY, T.C.; CALLOW, J.A., KENEDDY, J.F. Composition of root mucilage polysaccharides from *Lepidium sativum*. **Journal of Experimental Botany**, v. 39, p.1249-1261, 1988.

- REID, R.; BROOKES, J.D.; TESTER, M.A.; SMITH, FA. The mechanism of zinc uptake in plants. **Planta**, v. 198, p.39-45, 1996.
- ROCA, J.; POMARES, F. Prediction of available heavy metals by six chemical extractants in a sewage sludge-amended soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.22, p.2129-2136, 1991.
- ROMHELD, V.; MARSCHNER, H. Genotypical differences among gramineous species in release of phytosiderophores and uptake of iron phytosiderophores. **Plant and Soil**, v.123, p. 147-153, 1990.
- SANTA-MARIA, G.E.; COGLIATTI, D.H. The regulation of zinc uptake in wheat plants. **Plant Science**, v. 137, p.1-12, 1998.
- SANTOS, H.F.; TSUTIYA, M.T. Aproveitamento e disposição final do lodo de esgoto de estações de tratamento do Estado de São Paulo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.2, n.2, p. 70-81, 1997.
- SILVA, F.C. Uso agronômico de lodo de esgoto: efeitos em fertilidade do solo e qualidade da cana-de-açúcar. Piracicaba, 1995. 170 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SILVA, J.E.; RESCK, D.V.S.; SHARMA, R.D. Alternativa agronômica para o biossólido produzido no Distrito Federal. Efeito na produção de milho e na adição de metais pesados em Latossolo no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.487-495, 2002.
- SMITH, W.H. Root exudates of seedling and mature sugar maple. **Phytopathology**, v.60, p.701-703, 1970.

- SPOSITO, G. Trace metals in contaminated waters. **Environmental Science and Technology**, v.15, p.396-403, 1981.
- STEVENSON, F.J.; ARDAKANI, M.S. Organic matter reactions involving micronutrients in soil. In: MORTVEDT, J.J.; GIORDANO, P.M.; LINDSAY, W.L. (Ed.). **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1979.
- STEVENSON, F.J. **Humus chemistry: genesis, composition, reaction**. New York: John Wiley, 1982. 496p.
- STUMM, W.; WOLLAST, R. Coordination chemistry of weathering-kinetics of the surface-controlled dissolution of oxide minerals. **Reviews of Geophysics**, v.28, p.53-69, 1990.
- TAKAGI, S.; KAMEI, S.; YU, M.-H. Efficiency of iron extraction from soil by mugineic acid family phytosiderophores. **Journal of Plant Nutrition**, v.11, p.643-651, 1988.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Massachusetts: Sinauer Associates, 1998. 690p.
- TREEBY, M.; MARSCHNER, H.; ROMHELD, V. Mobilization of iron and other micronutrient cations from a calcareous soil by plant-borne, microbial, and synthetic metal chelators. **Plant and Soil**, v. 114, p. 217-226, 1989.
- TSUTIYA, M.T. Alternativas de disposição final de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2000. cap.4, p.69-106.

UREN, N.C.; REISENAUER, H.M. The role of root exudates in nutrient acquisition. **Advances in Plant nutrition**, v.3, p. 79-114, 1988.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1993. 40 CFR Parts 257, 403 and 503. **Final rules: Standards for the use of sewage sludge**. Fed. Reg. v.58, n.32, p.9248-9415.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1999. EPA 530-R-99009. **Biosolids generation, use and disposal in the United States**. Solid Waste and Emergency Response (5306W), Office of Solid Waste, Washington. 74p.

VASSIL, A.D.; KAPULNIK, Y.; RASKIN, I.; SALT, D.E. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. **Plant Physiology**, v.117, p.447-453, 1998.

WALLACE, A.; ROMNEY, E.M.; ALEXANDER, G.V.; SOUFI, S.M.; PATEL, P.M. Some interactions in plants among cadmium, other heavy metals, and chelating agents. **Agronomy Journal**, v.69, p.18-20, 1977.

WELCH, R.M.; NORVELL, W.A. Mechanisms of cadmium uptake, translocation and deposition in plants. In: McLAUGHLIN, M.J.; SINGH, B.R. (Ed.). **Cadmium in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer, 1999. p.221-253.

WIREN, N. von; MARSCHNER, H.; ROMHELD, V. Roots of iron-efficient maize also absorb phytosiderophore-chelated zinc. **Plant Physiology**, v.111, p.1119-1125, 1996.

YOUSSEF, R.A.; CHINO, M. Root-induced changes in the rhizosphere of plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.35, p.461-468, 1989.

XIU, H.; TAYLOR, R.W.; SHUFORD, J.W.; TADESSE, W.; ADRIANO, D.C.
Comparison of extractants for available sludge-borne metals: a residual study.
Water, Air and Soil Pollution, v.57/58, p.913-922, 1991.

ZHANG, T.C.; PANG, H. Applications of microelectrode techniques to measure pH
and oxidation-reduction potential in rhizosphere soil. **Environmental Science and
Technology**, v.33, p.1293-1299, 1999.

APÊNDICE

Cu e Zn solubilizados por ácidos orgânicos em diferentes concentrações. Média de duas repetições.

Tempo (horas)	Solução 0,05 mol L ⁻¹		Solução 0,10 mol L ⁻¹	
Cu (mg kg⁻¹)	LVA _d	LV _d	LVA _d	LV _d
0,25	0,019	0,049	0,031	0,089
0,5	0,025	0,080	0,046	0,173
1	0,031	0,108	0,059	0,191
2	0,033	0,136	0,062	0,207
6	0,036	0,155	0,064	0,218
8	0,037	0,167	0,065	0,228
12	0,039	0,177	0,066	0,237
24	0,039	0,187	0,066	0,245
36	0,039	0,197	0,066	0,251
Zn (mg kg⁻¹)				
0,25	0,080	0,150	0,072	0,190
0,5	0,144	0,215	0,094	0,257
1	0,468	0,239	0,110	0,308
2	0,485	0,265	0,125	0,355
6	0,506	0,302	0,136	0,381
8	0,523	0,323	0,145	0,405
12	0,528	0,328	0,155	0,408
24	0,538	0,346	0,155	0,425
36	0,544	0,359	0,163	0,437

LVA_d= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (testemunha); LV_d = Latossolo Vermelho distrófico (testemunha).

Cu e Zn solubilizados por ácidos orgânicos em diferentes concentrações. Média de duas repetições.

	Solução 0,05 mol L ⁻¹		Solução 0,10 mol L ⁻¹	
Cu (mg kg⁻¹)	LVAd+B	LVd+B	LVAd+B	LVd+B
0,25	1,628	1,566	2,409	1,590
0,5	3,201	2,697	4,390	2,931
1	4,424	3,455	5,942	4,328
2	5,449	3,984	7,563	5,156
6	6,467	4,463	8,685	5,835
8	6,752	4,743	9,633	6,466
12	6,994	4,988	10,143	6,952
24	7,009	5,250	10,283	7,122
36	7,057	5,511	10,351	7,591
Zn (mg kg⁻¹)				
0,25	6,792	5,185	10,552	8,453
0,5	12,320	9,559	16,873	13,673
1	16,337	11,973	20,911	16,860
2	19,051	12,511	24,874	17,878
6	20,578	13,238	26,733	18,563
8	20,863	13,717	27,525	19,551
12	21,102	14,312	28,894	20,521
24	21,154	14,876	29,037	20,636
36	21,261	15,165	29,148	20,636

LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico e +B refere-se a solos tratados com biossólidos.

Cr e Pb solubilizados por ácidos orgânicos em diferentes concentrações. Média de duas repetições.

	Solução 0,05 mol L ⁻¹		Solução 0,10 mol L ⁻¹	
Cr (mg kg⁻¹)	LVAd+B	LVd+B	LVAd+B	LVd+B
0,25	0,647	0,393	1,508	1,006
0,5	1,684	0,749	3,033	2,083
1	3,220	1,638	4,421	3,395
2	4,543	2,255	5,607	4,315
6	5,334	2,725	6,357	4,887
8	5,650	3,180	6,972	5,442
12	5,943	3,471	7,540	5,941
24	5,943	3,761	7,972	6,431
36	5,943	3,954	8,134	6,596
Pb (mg kg⁻¹)				
0,25	0,136	0,069	0,086	0,008
0,5	0,211	0,132	0,164	0,048
1	0,277	0,199	0,234	0,077
2	0,346	0,237	0,285	0,109
6	0,390	0,243	0,329	0,136
8	0,423	0,267	0,358	0,167
12	0,440	0,281	0,380	0,190
24	0,441	0,287	0,396	0,190
36	0,445	0,310	0,413	0,190

LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico e +B refere-se a solos tratados com bio sólidos.

Ni solubilizado por ácidos orgânicos em diferentes concentrações. Média de duas repetições.

Ni (mg kg⁻¹)	Solução 0,05 mol L ⁻¹		Solução 0,10 mol L ⁻¹	
	LVAd+B	LVd+B	LVAd+B	LVd+B
0,25	0,789	0,587	1,273	0,947
0,5	1,563	1,162	2,154	1,605
1	2,459	1,655	3,119	2,294
2	3,137	1,819	3,648	2,537
6	3,535	1,991	3,890	2,760
8	3,847	2,100	4,133	2,993
12	4,059	2,242	4,388	3,327
24	4,166	2,318	4,529	3,534
36	4,262	2,415	4,574	3,751

LVAd= Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico e +B refere-se a solos tratados com biossólidos.