

WILLIAM RAMOS DA SILVA

**FITOEXTRAÇÃO E BIOACESSIBILIDADE DE As, Cd, Pb E Zn EM SOLOS
CONTAMINADOS POR RESÍDUOS METALÚRGICOS**

RECIFE-PE

2015

WILLIAM RAMOS DA SILVA

**FITOEEXTRAÇÃO E BIOACESSIBILIDADE DE As, Cd, Pb E Zn EM SOLOS
CONTAMINADOS POR RESÍDUOS METALÚRGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

RECIFE-PE

2015

Ficha Catalográfica

S586f Silva, William Ramos da
Fitoextração e bioassebilidade de As, Cd, Pb e Zn em solos contaminados por resíduos metalúrgicos / William Ramos da Silva. – Recife, 2015.
57 f.: il.

Orientador(a): Clístenes Williams Araújo do Nascimento.
Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2015.
Inclui apêndice(s) e referências.

1. Solo – Contaminação 2. Metais pesados 3. Agentes quelantes I. Nascimento, Clístenes Williams Araújo do, orientador II. Título

CDD 631.4

WILLIAM RAMOS DA SILVA

Dissertação intitulada **Fitoextração e Bioacessibilidade de As, Cd, Pb E Zn em solos contaminados por resíduos metalúrgicos**, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Defendida e aprovada em 30 de Julho de 2015.

Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

Orientador

Prof^a. Dr^a. Caroline Miranda Biondi

Examinador

Dr. Felipe José Cury Fracetto

Examinador

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.”

Josué, 1-9

“A sabedoria é resplandecente e sua beleza é inalterável, mostra-se facilmente para aqueles que a amam. Ela se deixa encontrar por aqueles que a buscam. Ela se antecipa, revelando-se espontaneamente aqueles que a desejam. Quem por ela madruga não se cansa pois a encontrará sentada junto a porta.”

Sb 6, 12-1

Ao meu pai Severino Filho cuja vida se desfez antes de ver o sonho do filho se realizar pelo grande exemplo de simplicidade.

Com eterno carinho,

Ofereço.

A minha mãe Adeneuza, companheira, mãe e pai de todas as horas, por tudo que tivemos que enfrentar para que pudesse chegar até aqui.

Com grande amor e gratidão,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor da minha fé, a quem procuro buscar em todos os dias da minha vida. Pela presença constante me guiando e amparando para que pudesse sempre seguindo em frente no caminho da vida.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo da UFRPE, pela oportunidade para me tornar um mestre.

Ao CNPq pela concessão da bolsa para a realização do mestrado.

Ao Professor Clístenes Nascimento, pela orientação, confiança e apoio ao longo de todo o tempo em que estive no grupo de pesquisa em Química Ambiental do Solo. Pela oportunidade de poder trabalhar nesta área e de me fascinar por ela.

Aos professores ministrantes das disciplinas, por todo o conhecimento compartilhado em aulas e discussões que me fizeram crescer como profissional.

A todos os professores e funcionários do Programa, a Socorro secretária inesquecível, por todo profissionalismo e assistência prestados.

Ao Grupo de Pesquisa em Química Ambiental do Solo, pelo companheirismo, amizades conquistadas, por todo o trabalho árduo e aprendizado ao longo desses cinco anos. Aos amigos do tempo de estagio, Raíza, Neila, Allan, Luiz, Felipe, Albérico e Aline sem os quais não teríamos dado conta de tanto trabalho na época.

Aos amigos e “ex chefes” Hailson e Welka por todo carinho e amizade em todos os momentos de alegria vividos, os quais nunca esquecerei.

Aos amigos, companheiros de trabalho e discussão ao longo desse mestrado e agora vizinhos Bruno e Paula.

Aos outros dois membros do trio Juliet e Ítalo, que estiveram comigo desde o início da graduação e hoje também se tornam mestres. Por todo aperto que passamos juntos nas disciplinas e na realização de nossas pesquisas.

Aos amigos da pós Marcio, Agenor, Mayame, Vinícius, Carlos Vitor, Elis, Francis, Marília, João Paulo, Juscelia e tantos outros com quem partilhei momentos.

A minha querida e amada família, pequena, mas muito feliz. Mainha e minha irmã Bárbara duas mulheres da minha vida as quais Deus me permitiu amar incondicionalmente. Essa conquista é de nós três.

A vovó Sibiu (*In memoriam*) que me guiou nos primeiros passos em que me aventurei pelo mundo da agricultura. A vovó Odete por me aguentar em

minhas brincadeiras e travessuras que tem feito nossa vida mais divertida. E aos avôs João (*In memoriam*) e Severino homens que guiaram suas famílias com braço firme e amor.

Aos Tios e Tias paternos e maternos, são tantos, no entanto estão sempre todos ao meu redor, obrigado por tudo que vocês representam. E aos primos que são mais ainda com quem vivi e traquinei muito na infância e hoje já somos crescidos.

Aos meus amigos na caminhada da fé: Lili, Lene, Raphael, Liu, Baby, Djair, Vivi e Adilson, os que me motivam a rezar, por toda presença em minha vida seja qual for o momento, amo vocês.

Aos meus amigos Diógenes e Priscilla, os quais tenho grande carinho. Obrigado por serem amigos de todas as horas.

A minha namorada e amiga, Elissandra, que tem sido minha companheira de todas as horas e espero que assim continue, por todo carinho paciência e amor nesse tempo.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1. Introdução.....	14
1.1. Contaminação dos Solos.....	14
1.2. Caso Santo Amaro.....	15
1.3. Remediação de solos contaminados.....	17
1.4. Bioacessibilidade de Metais pesados.....	21
2. Material e Métodos.....	24
2.1. Modelo experimental e caracterização físico-química do solo contaminado.....	24
2.2. Execução do experimento em casa de vegetação.....	26
2.3. Extração sequencial de metais no solo.....	27
2.4. Testes de Bioacessibilidade.....	29
2.5. Determinação dos teores de As, Cd, Pb e Zn.....	30
2.6. Delineamento e Análises estatísticas.....	31
3. Resultados e Discussão.....	32
3.1. Fitoextração de As, Cd, Pb e Zn por milho e mamona em solo contaminado com aplicação de agentes quelantes.....	32
3.2. Bioacessibilidade de As, Cd, Pb e Zn em solo contaminado no município de Santo Amaro – BA.....	45
4. Conclusões.....	49
5. Referências bibliográficas.....	50

Lista de Figuras

- Figura 1.** Localização do município de Santo Amaro, perímetro urbano do município e área da antiga COBRAC.....24
- Figura 2.** Medição dos parâmetros fisiológicos: (A) analisador portátil de gases IRGA, (B) medição na cultura do milho e (C) medição na cultura da mamona.....28
- Figura 3.** Plantas de milho: controle, ácido cítrico e NTA, aplicação dos quelantes.....32
- Figura 4.** Plantas de mamona: controle, ácido cítrico e NTA, após aplicação dos quelantes.....34
- Figura 5.** Raízes de milho (A) e mamona (B): controle, ácido cítrico e NTA, após aplicação de 10 mmol L^{-1} de NTA e 60 mmol L^{-1} de ácido cítrico.....34
- Figura 6.** Remoção de As, Cd, Pb e Zn pelas culturas de mamona e milho após aplicação de 60 mmol^{-1} de ácido cítrico e 10 mmol^{-1} de NTA.....39
- Figura 7.** Valores médios de Fotossíntese, Condutância Estomática, Concentração de CO_2 e Transpiração em milho e mamona após aplicação de 10 mmol L^{-1} de NTA e 60 mmol L^{-1} 41
- Figura 8.** Distribuição de metais pesados (%) entre as frações trocável, carbonato, matéria orgânica (M.O.), óxido de ferro amorfo (Fe A.), óxido de ferro cristalino (Fe C.), sulfeto e residual após aplicação de NTA (10 mmol L^{-1}) e ácido cítrico (60 mmol L^{-1}).....44

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Características químicas e físicas do solo utilizado adjacente a indústria mineradora de Pb (Santo Amaro - BA).....25
- Tabela 2.** Peso da Matéria seca (g) da raiz e parte aérea de milho e mamona após adição de 10mmol L^{-1} de ácido cítrico e 60mmol L^{-1} de NTA ao solo.....35
- Tabela 3.** Teores de metais pesados na raiz e parte aérea de milho e mamona após aplicação de NTA (10mmol L^{-1}) e ácido cítrico (60 mmol L^{-1}).....37
- Tabela 4.** Teores de metais pesados ambientalmente disponível e total no solo após aplicação de NTA (10mmol L^{-1}) e ácido cítrico (60 mmol L^{-1}).....37
- Tabela 5.** Fator de translocação do milho e mamona cultivados em solo contaminado e após aplicação de 60 mmol^{-1} de ácido cítrico e 10 mmol^{-1} de NTA.....38
- Tabela 6.** Correlações colineares de Pearson entre os teores de metais ambientalmente disponível, total e disponível com os teores bioacessíveis pelo método gástrico.....43
- Tabela 7.** Teores ambientalmente disponíveis (AD), totais (T) e bioacessíveis das fases gástrica (G) e gastrointestinal (GI) de metais pesados e valores orientadores de qualidade do solo.....47
- Tabela 8.** Correlações Lineares de Pearson entre os teores de metais na fase gástrica e gástrica intestinal e os teores de metais entre as frações do solo....48

RESUMO

A geração de resíduos através da mineração representa um risco potencial de contaminação do solo, recursos hídricos, plantas e animais. Durante décadas, o município de Santo Amaro da Purificação – BA tem sofrido os impactos causados pela liberação indevida e inadequada de milhares de toneladas de escória de siderurgia, contaminada principalmente por Cd e Pb, e pela exposição destes contaminantes à população através da distribuição desse material para aterros em praças, ruas e residências. A cidade hoje é conhecida por apresentar a maior contaminação humana por Pb no mundo. Com a intenção de entender os impactos causados pelos resíduos nos solos, bem como os riscos de contaminação humana por solo contaminado, o presente trabalho objetivou estudar a fitoextração por milho e mamona como uma técnica para remediação desses solos e avaliar o risco de contaminação humana pelos metais pesados adicionados ao solo pelos resíduos. Para isto, foi realizado um experimento em casa de vegetação com a utilização das duas espécies vegetais e aplicação ao solo de agentes indutores da fitoextração (ácido cítrico e NTA). Após o período de cultivo, foram avaliados os teores de As, Cd, Pb e Zn no solo e na planta para avaliar o potencial da técnica de remediação. Fracionamento dos metais no solo e testes de bioacessibilidade para avaliar o risco de contaminação foram também efetuados. A aplicação dos agentes quelantes ácido cítrico e NTA aumentou a absorção de metais pesados por milho e mamona. Apesar da remoção dos metais com aplicação de ácido cítrico ser menor, este é mais indicado por apresentar maior degradabilidade e auxiliar na inibição da fitotoxicidade dos metais. O milho apresentou melhor capacidade fitoextratora para As, Cd, Pb e Zn no solo em estudo. A mamona, apesar de não ter translocado concentrações altas dos metais, apresentou acúmulo nas raízes, podendo ser utilizada como planta fitoestabilizadora e geradora de benefícios econômicos pela produção de óleo vegetal não comestível. A presença de metais contaminantes do solo de forma indiscriminada na área da antiga COBRAC apresenta risco elevado de contaminação dos seres humanos através da exposição dos metais.

Palavras chave: contaminação, metais pesados, agentes quelantes.

ABSTRACT

The generation of residues through mining is a potential risk of contamination of soil, water, plants and animals. For decades, the municipality of Santo Amaro da Purificação - BA has suffered the impacts caused by improper and inadequate release of thousands of tons of siderurgy slag contaminated mainly by Cd and Pb, and exposure of these contaminants to the population through the distribution of this material to landfills in squares, streets and homes. The city is now known for presenting the greatest human contamination by Pb in the world. In order to understand the impacts of residues in soil and the risk of human contamination from contaminated soil, this study investigated the phytoextraction by maize and castor as a technique for remediation of these soils and to evaluate the risk of human contamination by heavy metals added to the soil by waste. For this, an experiment was conducted in a greenhouse with the use of the two plant species and soil application of inducing agents Phytoextraction (NTA and citric acid). After the cultivation, they evaluated the levels of As, Cd, Pb and Zn in soil and plant to evaluate the potential remediation technique. Fractionation of metals in the soil and bioaccessibility tests to assess the risk of contamination were also performed. The application of chelating agents citric acid and NTA and increased absorption of heavy metals by maize and castor. Despite the removal of metals by application of citric acid is smaller, this is more suitable due to its higher degradability and assist in inhibiting the phytotoxicity of the metals. Corn showed better phytoextraction ability to As, Cd, Pb and Zn in the study. The castor, despite having high concentrations of metals translocated, presented accumulation in roots, can be used as phytoextraction plant and generating economic benefits for the production of non-edible vegetable oil. The presence of metal contaminants from the ground indiscriminately in the area of the former COBRAC presents a high risk of contamination of humans through exposure of metals.

Keywords: contamination, heavy metals, chelating agents.

1. Introdução

1.1. Contaminação dos Solos

Dentre os diversos contaminantes do solo, os metais pesados têm se tornado motivo de grande preocupação em todo o mundo por serem cofatores de inúmeros efeitos adversos à saúde humana, sendo alguns cancerígenos, associados à perda de biodiversidade e sustentabilidade dos diversos ecossistemas naturais (Sheng et al., 2012). Mesmo estando presente no solo de forma natural por meio do intemperismo de rochas, as atividades antropogênicas são as principais responsáveis pela liberação de grandes concentrações desses contaminantes ao solo (Zhuang et al., 2014; Yang et al., 2014; Lopes et al., 2015; Lu et al., 2015; Wahsha et al., 2015).

As atividades de mineração e fundição têm sido as principais fontes de contaminação por metais pesados no ambiente (Cai et al., 2015; Li et al., 2015; Lopes et al., 2015). Em vários países tem sido relatado o aumento dos teores de metais no ambiente sob influência da deposição de resíduos de mineração como a exemplo da China (Lu et al., 2015 & Zhuang et al., 2014), Itália (Wahsha et al., 2015), Espanha (Alvarez et al., 2012), EUA (Fayiga et al., 2011) e Brasil (Carvalho et al., 2003; Bosso & Enzweiler, 2008; Lopes et al., 2015). Estas atividades são responsáveis por anualmente milhões de toneladas de resíduos contaminados em todo o mundo. Como resultado incidente relacionados com a saúde humana causada pela poluição por metais pesados tem aumentado acentuadamente (Zhuang et al., 2014).

Em estudo realizado em solos contaminados através de atividades mineradoras na China e avaliando o risco desses contaminantes a saúde humana, Li et al. (2014) constataram que em solos contaminados por metais pesados existe um elevado risco a saúde principalmente de crianças que vivem nas imediações dessas áreas. Cai et al. (2015) relatam que metais como As, Cd e Pb são considerados potenciais agentes cancerígenos e cofatores de diversas doenças.

A recuperação dos solos contaminados por metais pesados, assim como a preservação das áreas isentas de contaminação, tem sido um grande desafio para a sociedade, sendo necessárias a implementação e aplicação de leis específicas que determinem as diretrizes quanto a contaminação de solos por metais pesados (CETESB, 2014; CONAMA, 2009). A resolução número 420 de 19 de dezembro de 2009, do Conselho Nacional do meio Ambiente (CONAMA), dispõe sobre critérios e valores quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias tóxicas, em decorrência de atividades antrópicas. Para isso são tomados como base os Valores de Referência de Qualidade (VRQs) que refletem os teores naturais de determinada substância química no solo. Valor de Prevenção (VP), que é a concentração limite dessas substâncias no solo para que ele possa manter suas funções. Valor de Investigação (VI) é o valor limite de concentração dessas substâncias capazes de causar efeitos deletérios a saúde humana e ao desenvolvimento dos organismos vivos. Nessas condições são necessárias medidas imediatas de forma a remediar e reduzir o risco a contaminação nessas áreas (CONAMA, 2009).

Em solos apresentando nível de contaminação por metais pesados que causem risco a saúde humana e ao ecossistema, análises mais específicas como a determinação dos teores bioacessíveis, extração sequencial e avaliação de risco são necessárias para melhor elucidar os potenciais riscos ambientais e à saúde pública que a contaminação representa.

A mobilidade e disponibilidade dos metais são controlados por muitos processos como a precipitação, dissolução, adsorção-dessorção, complexação-dissociação e oxidação-redução. Essas reações afetam a forma em que o metal está presente no solo e a interação entre o solo e o metal que podem ser determinadas pela extração sequencial. Esta técnica fornece informações sobre as concentrações em diferentes fases do solo (Lopes et al., 2015).

1.2. O Caso de Santo Amaro

O município de Santo Amaro está localizado no Recôncavo do Estado da Bahia, acerca de 70 km de Salvador. Possui uma área de 492 km² e uma população de cerca de 58.000 habitantes (IBGE, 2010). Sua economia esteve voltada a produção de cana de açúcar até meados da década de 1950 quando a Companhia Brasileira de Chumbo (COBRAC) foi instalada na cidade, gerando centenas de empregos (CETEM, 2012).

A COBRAC começou a funcionar em 1956 na fundição de Pb primário obtido principalmente da galena (Lima & Bernardez, 2011). O minério utilizado na fundição era proveniente de Boquira, onde era lavrado e beneficiado e transportado a Santo Amaro para produção de ligas de chumbo a 500 km de distância. Esta mina beneficiava dois concentrados: Pb e Zn (CETEM, 2012).

Poucos anos após a implantação da COBRAC começaram a surgir os primeiros sinais de contaminação, em áreas próximas à metalúrgica (Andrade & Moraes, 2013). Oliveira (1977) destaca que desde sua instalação, a metalúrgica foi alvo de denúncia da população, principalmente pecuaristas, pela morte de bovinos e equinos; foi solicitado um estudo em que a COBRAC foi responsabilizada pela contaminação de solo, ar, água e pela morte do gado.

Até o seu fechamento em 1993, a COBRAC produziu entre 11.000 e 32.000 toneladas de Pb por ano (Rabelo, 2010). Nos seus 33 anos de funcionamento foram gerados, como resíduo, 490.000 toneladas de escórias contaminadas, principalmente com Pb e cádmio (Andrade & Moraes, 2013).

Pode-se destacar como impactos ambientais causados pela metalúrgica, a contaminação das águas do rio Subaé, a poluição do ar pela fuligem da indústria, o depósito de resíduos sobre o solo, a distribuição da escória contaminada com 2% a 3% de Pb para uso como aterro pela população e pela prefeitura na pavimentação de ruas e construções públicas e a contaminação do solo por soluções contaminantes depositadas ao longo do tempo de funcionamento da fábrica (CETEM, 2012). Isso fez com que a área se tornasse a de maior contaminação urbana de Pb no mundo (Santos et al., 2014).

A deposição indiscriminada da escória em diversas áreas da cidade teve como consequência a contaminação da população local, dos ex-funcionários da metalúrgica, de solos, sedimentos e da flora e fauna do estuário do rio Subaé (Anjos & Sanchez, 2001). Um agravante dessa contaminação foi a doação de escória pela COBRAC utilizada na pavimentação de ruas, jardins e pátios da cidade. A constante remoção dessa pavimentação, devido às redes de abastecimento de água e esgoto, aumentou ainda mais a contaminação, expondo essa escória à superfície, assim como, nas proximidades das residências (Rabelo, 2010). Além da escória, emissões atmosféricas no período de funcionamento da fábrica liberaram material particulado composto por Pb, Cd, As e Zn (Magna, 2011).

Estudos realizados em Santo Amaro mostram que grande parte da população da cidade apresentou elevado grau de contaminação, acima dos índices permitidos pela Organização Mundial de Saúde - OMS (CETEM, 2012). Carvalho et al. (2010) constataram que a maioria das crianças residentes até 900 metros da chaminé da fábrica apresentaram teores elevados de Cd no sangue. Apesar da fábrica ter fechado há mais de duas décadas, o passivo de contaminação ainda continua um sério risco ambiental devido à desinformação sobre o perigo. Um exemplo disso é que, apesar da área do estuário do rio Subaé ter sido classificada como de risco à saúde humana, atividades pesqueiras ainda são realizadas colocando em risco a população (CETEM, 2012).

Devido ao grande potencial de contaminação gerado pelos resíduos liberados pela COBRAC, diversos estudos têm sido realizados visando avaliar a contaminação da população, solos e de recursos hídricos nas imediações da fábrica, assim como estudos buscando alternativas para remediação das áreas contaminadas (Andrade, 2012; Rabelo, 2010; Magna, 2011; Anjos, 2003; Santos et al., 2014).

1.3. Remediação de solos contaminados

A remediação de áreas contaminadas por metais pesados pode ser realizada através da aplicação de técnicas que visem remover ou imobilizar os metais pesados no solo. No entanto, problemas práticos e os elevados custos

tem se tornado um grande entrave para aplicá-las (Nascimento et al., 2009). Vários métodos de remediação *ex situ*, como lavagem e substituição do solo contaminado têm sido utilizados; porém, além desses métodos serem demorados e de custo elevado, necessitem da retirada do solo do local e uso de grande quantidade de água (Satpathy & Reddy, 2013).

Desse modo, a fitorremediação, que utiliza plantas para remover os contaminantes do solo (Gheju & Stelescu, 2013) tem se destacado como um método promissor, de baixo custo quando comparada as outras técnicas, ambientalmente mais seguro e de maior aceitação pela população (Nascimento et al. 2006), além de promover a manutenção e melhoria da estrutura física, fertilidade e biodiversidade do solo (Ehsan et al., 2014).

Dentre as diversas técnicas de fitorremediação, se destaca a fitoextração, que consiste no uso de plantas para a remoção de metais através da absorção pelas raízes, a fitoestabilização que visa a acumulação dos metais nas raízes ou a precipitação na rizosfera e a fitovolatilização que visa a absorção e volatilização de mercúrio e selênio pelas plantas (Nascimento et al., 2006). A fitoextração tem sido a mais promissora e a que tem despertado maior interesse dos pesquisadores (Freitas et al., 2009b).

A fitoextração utiliza plantas que acumulam concentrações de metais pesados em seus tecidos, sendo para o Zn e Mn maiores do que $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$, para Pb, Ni e Cu maior do que 1000 mg kg^{-1} e para o Cd de 100 mg kg^{-1} ; quando essas plantas se desenvolvem em solos com altos teores desses metais, e os acumulam naturalmente (sem adição de quelantes), são chamadas de hiperacumuladoras. Contudo essas plantas apresentam a desvantagem de produzir baixa quantidade de biomassa (Wang et al., 2014). Assim, tem se buscado como planta ideal para a fitoextração aquela que tenha como características a capacidade de acumular metais principalmente na parte aérea, tolerância a altas concentrações do metal no solo, rápido crescimento e alta produção de biomassa (Zhang et al., 2014). Plantas que apresentem essas características podem ser utilizadas, ainda que não sejam hiperacumuladoras de metais, desde que associadas ao uso de técnicas adicionais como o uso de agentes quelantes. A combinação do uso de plantas com alta produção de

biomassa e o uso de quelantes é chamada de fitoextração induzida, onde na aplicação desses quelantes os metais pesados passam de uma forma não disponível para disponível no solo ao mesmo tempo em que há um estímulo na absorção desses elementos pelas plantas (Wang et al., 2014).

Um entrave na fitoextração é a baixa mobilidade de alguns metais no solo, a exemplo do Pb. Neste caso, tornando-se necessária a utilização de agentes quelantes que são compostos possibilitam a dessorção do metal, formando um complexo solúvel, e aumento de sua absorção pelas plantas (Pereira et al., 2007). A formação de quelatos impede a adsorção específica dos metais com minerais da fração argila, aumentando sua solubilidade (Andrade et al., 2009).

Os quelantes podem ser naturais, que são compostos extraídos pelas plantas tais como ácido cítrico e ácido acético, ou sintéticos como ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) (Andrade et al., 2009). Diversos trabalhos têm demonstrado a eficiência desses compostos em disponibilizar os metais no solo (Freitas et al., 2013). Os quelantes sintéticos, apesar de mais eficientes, geram um problema ambiental decorrente da sua persistência no solo, fazendo com que os metais estejam disponíveis em altas concentrações por um longo período de tempo, aumentando o risco de lixiviação para as águas (Araújo et al. 2010). Dessa maneira o uso de quelantes biodegradáveis, com alta capacidade de quelatação e baixa fitotoxicidade a microorganismos e plantas, como o ácido nitilotriacético (NTA) e os ácidos orgânicos, como ácido acético e ácido cítrico têm sido bastante indicados, apesar da menor eficiência comparativamente ao EDTA (Freitas & Nascimento, 2009).

Freitas & Nascimento (2009), avaliando a capacidade dos quelantes EDTA e NTA em maximizar a fitoextração com o mínimo de solubilização de Pb no solo, observaram que as plantas de milho tratadas com NTA apresentaram menor toxidez ao Pb quando comparados com as tratadas com EDTA, conferindo-lhes maior capacidade de fitoextração. Resultados semelhantes foram observados por Melo et al. (2010), ao avaliar a eficiência na fitoextração de Cu, Pb e Zn induzida por EDTA, DTPA e NTA no milho.

As raízes das plantas promovem a exsudação de compostos orgânicos que influenciam a solubilidade e a absorção de metais pelas plantas. Esses compostos, ácidos orgânicos de baixo peso molecular como o ácido cítrico, formam complexos estáveis com os íons metálicos (Freitas et al., 2013). Melo et al. (2006), avaliando a eficiência de diferentes quelantes naturais, constataram que o ácido cítrico foi eficaz na indução da fitoextração de Pb, Cu e Zn pelo milho, corroborando os resultados encontrados por Araújo et al. (2010). Dessa forma, Freitas et al. (2013), testando doses crescentes de ácido cítrico para a fitoextração induzida de Pb por milho propôs a dose de 40 mmol kg⁻¹ do quelante para promover maior extração do metal.

A produção de clorofila e produção enzimática estão entre os processos diretamente afetados pela presença de altas concentrações de metal nos tecidos da planta. A redução da fotossíntese e condutância estomática são outros processos fisiológicos afetados pelo grande volume de metais absorvidos pela planta, causando deficiência desses elementos essenciais, pela inibição de absorção de (Guimarães et al., 2008 & Silva et al., 2012).

A cultura da mamoneira (*Ricinus communis* L.), se adapta bem as condições climáticas do Brasil, principalmente das regiões Norte e Nordeste do país, onde as condições são propícias ao pleno desenvolvimento da cultura (Vieira Neto, 2008). É uma planta oleaginosa, com sementes que podem ser empregadas para a produção de biodiesel. Além do uso da semente, o caule também pode ser utilizado para produção de náilon e plástico (Vieira Neto, 2008).

Olivares et al. (2013) constataram que plantas de mamona podem crescer naturalmente em minas de rejeitos com concentrações elevadas de Zn, Pb e Cd. Chavez et al. (2010) e Zhang et al. (2014) relatam ainda que apesar de não ser uma planta hiperacumuladora, a mamona pode apresentar grande potencial fitoextrator se aliado ao uso de agentes quelantes. Esses fatores, aliados à alta produção de biomassa, fazem com que a mamona seja uma candidata a fitoextração ou fitoestabilização de áreas contaminadas por metais (Santos et al., 2012).

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta anual, de ciclo curto e de alta produção de biomassa. Essas características fazem com que apresente grande potencial para uso na fitoextração de metais, apesar de não ser uma planta hiperacumuladora. O seu uso combinado com a aplicação de quelantes tem se mostrado bastante eficiente na absorção de metais pesados. Freitas et al. (2013), testando a eficiência em extrair Pb do solo milho com aplicação de ácido cítrico como agente quelante, observaram que esta espécie apresentou grande potencial de fitoextração. Avaliando o potencial fitoextrator do milho através da aplicação de ácido cítrico, NTA e EDTA como agentes quelantes, Araújo et al. (2010) observaram que o NTA foi mais eficiente em disponibilizar Pb, enquanto o ácido cítrico promoveu maior remoção do elemento pela planta. Outros trabalhos também têm sido realizados utilizando o milho como fitoextratora de metais (Araújo et al., 2011; Freitas et al., 2014; Melo et al., 2012), comprovando a eficiência desta espécie na fitoextração em áreas contaminadas por metais.

1.4. Bioacessibilidade de Metais pesados

A poluição de solos por resíduos de mineração afetam não somente os trabalhadores, como também a população residente ao redor dessas áreas, principalmente crianças. Essas pessoas podem ter acesso a esses metais através de várias vias de exposição, sendo elas de forma direta através da ingestão do solo e água, contato dérmico e inalação de poeira, ou indireta pelo consumo de plantas e animais contaminados. A ingestão do solo tem sido considerada a principal via de exposição de metais pesados para maioria das populações e em especial a população em estudo (Zhuang et al., 2014). Para avaliar a contaminação por ingestão são adotados testes *in vivo* ou *in vitro* que visem avaliar o teor do metal que pode ser absorvido pelo organismo.

A biodisponibilidade oral é definida como a fração da dose administrada que atinge a circulação sanguínea a partir do trato gastrointestinal (Bosso & Enzweiler, 2008). No entanto, os estudos de biodisponibilidade apresentam limitações de custo, longo período de tempo e o entrave dos testes serem realizados *in vivo*, em animais ou humanos (Ruby et al. 1999). Bosso & Enzweiler (2008) salientam que pode não haver relação entre o teor total do

metal no solo e sua concentração no sangue de pessoas expostas a ele, devendo-se levar em consideração as formas em que o elemento se encontra no solo.

A bioacessibilidade é uma técnica *in vitro* que apresenta maiores facilidades de aplicação em relação à biodisponibilidade por ter menores custos e tempo para obtenção dos resultados (Ruby et al. 1999). Ela baseia-se na fisiologia do trato gastrointestinal e simula as condições da digestão humana, utilizando soluções artificiais que simulam a saliva, o suco gástrico e o duodeno, considerando a temperatura e o tempo em que o solo permanece no organismo (Ono, 2009). Ruby et al. (1999) definem a bioacessibilidade de um elemento como a fração solúvel nas condições do trato gastrointestinal e que está disponível para absorção.

O teste *in vitro* de bioacessibilidade é utilizado para determinar a quantidade máxima de um contaminante solúvel e passivo de ser absorvido por ingestão de solo contaminado, podendo ser empregado como indicador chave de risco de metais pesados para a saúde humana (Ono, 2009). Kim et al. (2014), avaliando a bioacessibilidade em solos contaminados por As, relataram a importância de conhecer as formas do elemento no solo, e em que minerais estão presentes, para se entender melhor como ocorre a assimilação do metal pelo organismo humano.

Ao estudar a bioacessibilidade de Cd, Pb e Zn em rejeitos de mina de Oklahoma, Schaidler et al. (2007) encontraram um alto percentual bioacessível para estes elementos, associando esses valores a presença destes elementos na forma trocável e associados aos carbonatos. Navaro et al. (2006), avaliando solos de uma mina abandonada na Espanha, encontraram alta bioacessibilidade de Cd e Pb, com o pH do solo sendo o fator preponderante da disponibilidade destes metais. Ono et al. (2012), ao estudarem a bioacessibilidade de As em uma área de mineração de ouro no estado de Minas Gerais, encontraram baixo percentual bioacessível para este elemento.

Tendo em vista a contaminação no município de Santo Amaro, estado da Bahia, o risco de contaminação de metais pesados pela população e a

necessidade de remediação da área, objetivou-se avaliar os teores de As, Cd, Pb e Zn em solo de uma área adjacente à metalúrgica desativada, avaliar a bioacessibilidade desses metais para humanos e a fitoextração como uma técnica de remediação para a área. Adicionalmente, a determinação de parâmetros fisiológicos nas plantas foi utilizada para avaliar o estresse decorrente da aplicação dos quelatos e da absorção induzida dos metais.

2. Material e Métodos

2.1. Modelo experimental e caracterização físico-química do solo contaminado

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Para execução do experimento foi utilizado solo contaminado proveniente da área de descarte de resíduo da antiga fábrica COBRAC (Figura 1), localizada no município de Santo Amaro da Purificação, na camada de 0 – 0,2m de profundidade.

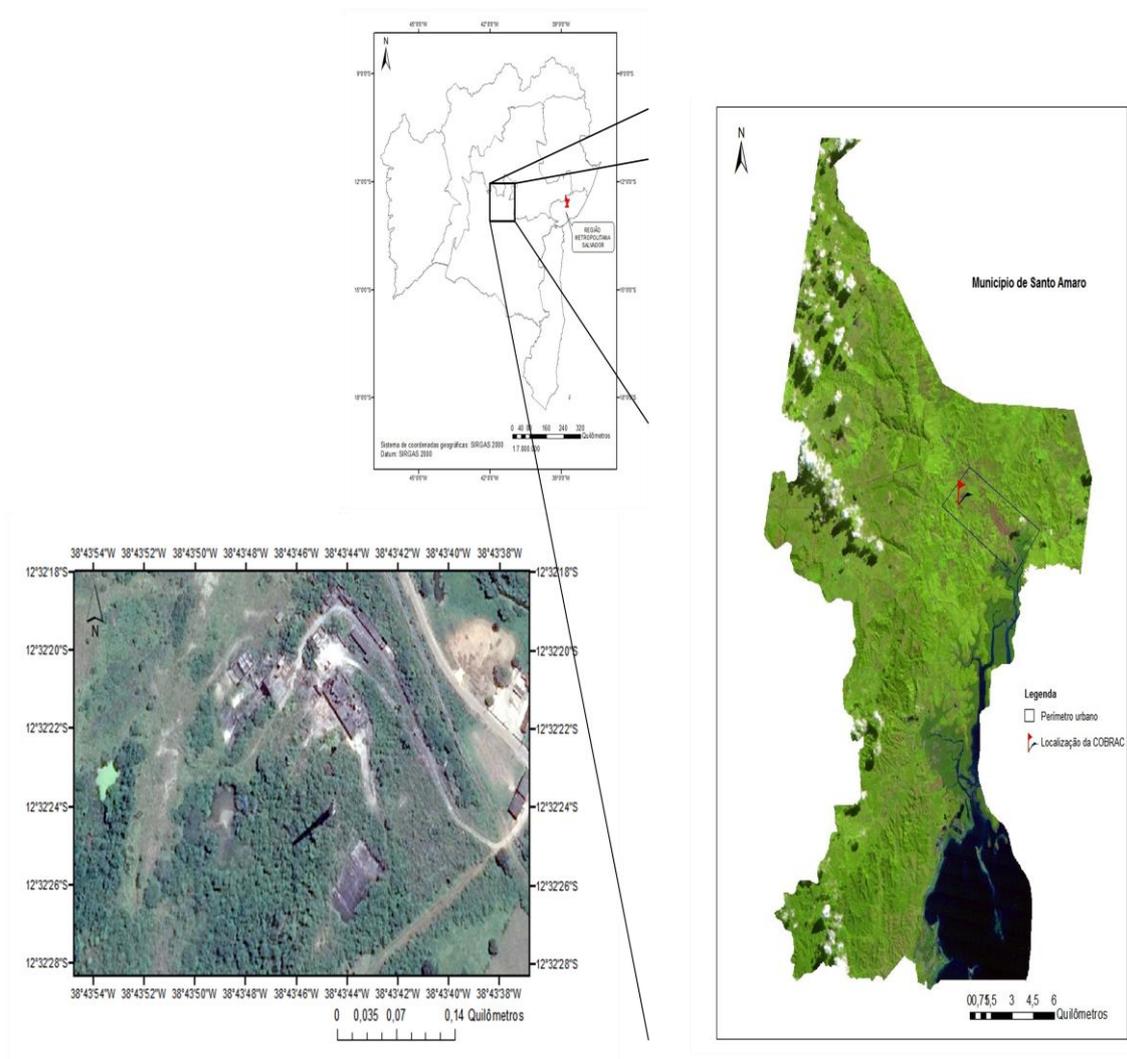


Figura 1. Localização do município de Santo Amaro, perímetro urbano do município e área da antiga COBRAC.

Amostras em triplicata desse solo foram secadas ao ar, destorroadas e peneiradas em peneira de abertura de 2 mm, obtendo-se a terra fina seca ao ar (TFSA). Esta fração foi utilizada para a determinação das características químicas do solo (Tabela 1), que consistiram da determinação de pH em água na relação solo:solução (1:2,5); K⁺ e Na⁺ trocáveis extraídos com a solução de Mehlich⁻¹ e determinados por meio de fotometria de emissão de chama; Ca²⁺ e Mg²⁺ trocáveis determinados pelo método volumétrico por titulação com EDTA após a extração desses cátions pela solução de cloreto de potássio (KCl) 1 mol L⁻¹; Al³⁺ trocável determinado pelo método volumétrico por titulação com hidróxido de sódio, após a extração com cloreto de potássio (KCl) 1 mol L⁻¹; H⁺ + Al³⁺ por titulação alcalimétrica do extrato após a extração com solução de acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹, com pH ajustado para 7,1 – 7,2; fósforo disponível por colorimetria após extração com a solução de Mehlich⁻¹ (Embrapa, 2013). O carbono orgânico (C.O.) foi determinado pelo método de Walkley-Black modificado (Silva et al., 1999). Determinação das características físicas de granulometria pelo método do densímetro (Bouyoucos modificado Almeida, 2008).

Os teores disponíveis de As, Cd, Pb e Zn no solo foram extraídos por meio da solução de CaCl₂ 10 mmol L⁻¹ (Melo et al., 2006), na relação solo:solução 1:10, agitadas por 2 horas, em tubos de centrifuga com capacidade de 50 mL. Em seguida a amostra foi centrifugada por 10 minutos a 1600 x g, e o sobrenadante filtrado (Novozamsky et al., 1993).

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo utilizado adjacente a indústria mineradora de Pb (Santo Amaro - BA)

pH	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	H ⁺ +Al ³⁺	M.O.
	-----cmol _c dm ⁻³ -----						g kg ⁻¹
7,7	0,0	17,1	4,9	0,21	0,31	0,7	19,7
P	As	Cd	Pb	Zn	Argila	Silte	Areia
	-----mg. kg ⁻¹ -----				-----g kg ⁻¹ -----		
43	0,11	1,45	1,11	0,79	654	381,5	153,5

Para extração dos teores ambientalmente disponíveis de As, Cd, Pb e Zn no solo, foram maceradas subamostras de TFSA em almofariz de ágata e passadas em peneira de abertura de 0,3 mm (ABNT n° 50), com malha de aço inoxidável. A digestão das amostras de solo foi baseada no método 3051A (USEPA, 1998). Foram utilizados 0,5 g de solo e adicionados 9 ml de ácido nítrico e 3 ml de HCl. A abertura das amostras foi realizada em forno de microondas (Mars Xpress), por 18 minutos até atingir a temperatura de 175° C, mantendo essa temperatura por 4 minutos e 30 segundos. As amostras digeridas foram vertidas para balões volumétricos e 25 ml e completado o volume com água ultrapura e os extratos filtrados em papel de filtragem lenta (Macherey Nagel®).

Para a extração dos teores totais de As, Cd, Pb e Zn no solo, amostras foram maceradas em almofariz de ágata passadas em peneiras de abertura de 0,150 mm de abertura. A digestão foi feita pesando-se 0,5 g da amostra pulverizada e transferindo para tubo de teflon com 6 mL de ácido nítrico, 3 mL de ácido fluorídrico e 2 mL de ácido clorídrico. As amostras foram mantidas em repouso por 16 horas e transferidas para forno de microondas a 195° C com rampa de aquecimento de 18 minutos. Após esse período e o resfriamento dos tubos foram adicionados 35 mL da solução de ácido bórico na concentração de 5% e aquecido novamente por 10 minutos a 100° C (Mineralogical methods – SSSA, 2008).

2.2. Execução do experimento em casa de vegetação

O solo utilizado no experimento foi posto para secar ao ar e passado em peneira de abertura de 4 mm. Cada parcela experimental consistiu de vaso contendo 6 kg de solo, onde foi realizada a adubação contendo N, P, K e S nas concentrações de 250, 240, 150 e 160 mg kg⁻¹, respectivamente, obtidos a partir de NH₄SO₂, NH₄H₂PO₄, e KNO₃ e micronutrientes Fe, Mn, B e Mo nas concentrações de 2, 4, 1 e 0,2 mg kg⁻¹ nas formas de FeSO₄.7H₂O, MnCl.4H₂O, H₃BO₃ e Na₂MoO₄.2H₂O, respectivamente (Nascimento et al., 2006). Os vasos foram irrigados diariamente com água destilada mantendo-se a capacidade de vaso em 80%, mediante pesagem e reposição da água perdida por evapotranspiração. Em cada vaso foram semeadas seis sementes

de milho (variedade *São José*) (ZM) ou mamona (variedade *Nordestina*) (RC) após sete dias da germinação foi feito o desbaste mantendo-se apenas duas plantas por vaso, sendo escolhidas as duas que estivessem apresentado desenvolvimento semelhante.

O experimento foi montado dispendo os tratamentos em Delineamento Inteiramente Casualizado, em esquema fatorial, utilizando milho e mamona sob a aplicação de dois agentes quelantes (ácido cítrico e NTA), com três repetições.

Os quelantes foram aplicados no milho 45 dias após o plantio e na mamona 70 dias após o plantio no período em que as plantas apresentassem maior desenvolvimento vegetativo. Os quelantes foram aplicados em duas doses parceladas de 30 mmol kg^{-1} para o ácido cítrico (A.C.) (Freitas e Nascimento, 2009) e de 5 mmol kg^{-1} para o NTA (Melo et al., 2010) com intervalo de oito dias entre as aplicações. Após a aplicação dos quelantes foi o acompanhamento das plantas para verificar o aparecimento de sintomas de toxidez.

Foram realizadas determinações dos parâmetros fisiológicos: assimilação de CO_2 (A), condutância estomática (g), transpiração (E) e concentração intercelular de CO_2 (C_i), utilizando um analisador portátil de gases IRGA (Infra Red Gas Analyser, Li-6400, Li-Cor inc., Lincoln, NE, USA). A densidade do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos foi ajustada em $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Figura 2). As avaliações ocorreram um dia antes e nos dias após aplicação do quelantes, até a coleta do experimento, no período entre as 9h e 11h, em folhas completamente expandidas.



Figura 2. Medição dos parâmetros fisiológicos: (A) analisador portátil de gases IRGA, (B) medição na cultura do milho e (C) medição na cultura da mamona.

A coleta das plantas foi feita aos 7 dias após a segunda aplicação de quelantes, com separação de parte aérea e raiz. As plantas foram lavadas com água destilada e secas em estufa com circulação de ar forçado a 60° C até peso constante, para a obtenção da matéria seca da parte aérea e raiz. Em seguida, as amostras vegetais foram moídas em moinho do tipo Wiley e digeridas utilizando o método 3051A (USEPA, 1998).

2.3. Extração sequencial de metais no solo

Na ocasião da coleta do experimento foram coletadas amostras de solos para a determinação dos teores totais, ambientalmente disponível e disponível de As, Cd, Pb e Zn após aplicação dos quelantes. Dessas amostras também foram determinados os teores desses metais nas frações do solo.

A extração sequencial foi utilizada visando estudar o efeito dos quelantes sobre a distribuição dos metais nas frações do solo, sendo baseado no método proposto por Silveira et al. (2006) adaptado por Perlatti et al. (2014) e foram diferenciadas sete frações do solo conforme descrito abaixo:

- **Fração Trocável:** foram adicionados em um tubo de polietileno 1 g de solo juntamente com 8 mL da solução extratora de MgCl_2 1 mol L^{-1} com pH ajustado para 7,0. As amostras foram agitadas por uma hora em temperatura ambiente e posteriormente centrifugadas a 3000 rpm por 15 min, sendo filtrado o sobrenadante. Em seguida foram adicionados 20 mL

de água destilada para a lavagem, agitando por 15 min e centrifugando por 10 min a 3000 rpm, evitando que resíduos da fração trocável contamine a próxima fração.

- **Fração Carbonato:** Na mesma amostra da fração anterior foram adicionados 30 mL da solução de NaOAc 1 mol L⁻¹ a pH 5,0. As amostras foram agitadas a 150 rpm em temperatura ambiente por 5 horas, centrifugadas e filtradas.
- **Fração Matéria Orgânica:** A extração desta fração foi realizada com a adição de 10 mL da solução de NaOCl 6% a pH 8,0 e agitadas a 150 rpm por 6 horas na temperatura de 25° C, centrifugada a 3000 rpm e filtradas. Este procedimento foi repetido três vezes juntando-se os três extratos.
- **Fração Óxido de Ferro Amorfo:** A extração foi feita com a adição de 30 mL da solução de ácido oxálico (0,2 mol L⁻¹) e oxalato de amônio (0,2 mol L⁻¹) a pH 3,0, agitadas por duas horas, centrifugadas e filtradas.
- **Fração Óxido de Ferro Cristalino:** Nesta fração foi adicionado 30 mL da solução de citrato de sódio (0,25 mol L⁻¹), bicarbonato de sódio (0,11 mol L⁻¹) e 3 g de ditonito de sódio, sendo agitadas as amostras por 30 min a 25° C, centrifugadas e filtradas.
- **Fração Sulfetos:** Foram extraídos com 30 mL da solução de HNO₃ 4 mol L⁻¹ em banho maria por 16 horas a 80° C agitando ocasionalmente.
- **Fração Residual:** O solo resultante das outras frações foi seco em estufa de circulação de ar forçado a 60° C e digerido com 9 mL de HNO₃ concentrado, 3 mL de HCl concentrado e 2 mL de HF (1 mol L⁻¹). As amostras foram digeridas em forno de microondas por 35 min a 200° C. Após o resfriamento foram adicionados 5 ml de ácido bórico a 5% e 1 mL de HF 1 mol L⁻¹ e aquecidos em forno de microondas por 15 min a 150° C. As amostras foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL completando-se o volume com água ultrapura.

2.4. Testes de Bioacessibilidade

A determinação dos teores bioacessíveis dos metais pesados no solo foi feita utilizando dois métodos. O primeiro ensaio de extração da bioacessibilidade *in vitro* levou em consideração apenas o sistema gástrico.

Neste método são extraídos os metais em condições que simulam os ácidos do estômago humano (Luo et al., 2012). A extração foi feita através da solução de 0,4 mol L⁻¹ de glicina com pH ajustado para 1,5 com HCl concentrado. Foram utilizados um grama de solo (TFSA) e 50 ml da solução extratora, agitados por uma hora a 30 rpm a temperatura de 37° C. Após esse período as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 min, filtradas e armazenadas para posterior determinação dos teores de metais.

O segundo ensaio levou em consideração o sistema gástrico e intestinal humanos, simulando as condições destes proposto por Ruby et al. (1997). A fase gástrica consistiu em um grama de solo adicionado a solução contendo 1,25 g de pepsina, 0,5 g de malato de sódio, 0,5 g de citrato de sódio, 210 mL de ácido láctico e 50 mL de ácido acético glacial com pH ajustado para 2,5 com HCl concentrado. As amostras foram agitadas por uma hora em mesa horizontal a 100 rpm na temperatura de 37° C. Após esse período as amostras foram centrifugadas por 10 min a 3000 rpm, o sobrenadante filtrado e solo decantado utilizado para a seção posterior. Para a fase intestinal foi utilizada a solução de 3,5 g de sais biliares e 1 g de pancreatina com pH ajustado para 7,0. As amostras foram submetidas à agitação a 100 rpm na temperatura de 37° C por um período de duas horas, sendo posteriormente centrifugadas e filtradas. Os teores dos metais pesados foram determinados para os dois sobrenadantes e somados, obtendo-se a bioacessibilidade gastrointestinal.

As porcentagens de As, Cd, Pb e Zn bioacessível para ambos os ensaios (G e GI) foram calculadas utilizando a seguinte equação:

$$\text{Bioacessibilidade do metal (\%)} = \frac{\text{bioacessibilidade (mg/kg)}}{\text{Teor total do metal no solo (mg/kg)}}$$

2.5. Determinação dos teores de As, Cd, Pb e Zn

Os teores de Cd, Pb e Zn, em todos os extratos obtidos, foram determinados por espectrometria de emissão ótica (ICP-OES/Optima 7000 Perkin Elmer). A determinação dos teores de As foi feita por espectrofotometria

de absorção atômica (AAAnalyst 800 Perkin Elmer), pela técnica de geração de hidretos.

O controle de qualidade da análise foi realizado utilizando amostra de solo com valor certificado de As, Cd, Pb e Zn, SRM 2711 *Montana soil (Moderately elevated trace element concentrations, National Institute of Standards and Technology)*. O controle de qualidade para a planta foi feito utilizando o padrão 1570A Trace Elements in Spinach Leaves (*National Institute of Standards and Technology*)

As concentrações de As, Cd, Pb e Zn na planta foram utilizadas para avaliar a eficiência das espécies em remover os metais do solo e os translocar da raiz para a parte aérea, estimados através do fator de translocação (FT) e da remoção do metal pela planta da seguinte maneira:

$$FT = \frac{\text{Concentração do elemento na parte aérea}}{\text{Concentração do elemento da raiz}}$$

$$\text{Remoção} = MP_{PA} \times MS$$

MP_{PA} = concentração do metal pesado na parte aérea

MS = Produção de Matéria seca

2.6. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos as análises de variância, Teste de Tukey e equações de correlação. As análises foram realizadas utilizando o software Statística (Versão 10.0 Stat Soft).

3. Resultados e Discussão

3.1. Fitoextração de As, Cd, Pb e Zn por milho e mamona em solo contaminado com aplicação de agentes quelantes

Produção de Matéria Seca

Os sintomas de toxidez em milho puderam ser observados no segundo dia após a primeira aplicação de NTA (5mmol L^{-1}), sendo observada clorose nas folhas mais novas. Após a segunda aplicação do quelante, as plantas apresentaram além de clorose, necrose na maior parte das folhas. Foi observado também encurtamento na distancia entre os internódios da planta (Figura 3). Freitas e Nascimento (2009) observaram sintomas de toxidez em milho no terceiro dia após a aplicação do quelante, enquanto Araújo e Nascimento (2010), utilizando a mesma espécie e uma dose de 10mmol L^{-1} de NTA observaram sintomas apenas após o sétimo dia de aplicação.

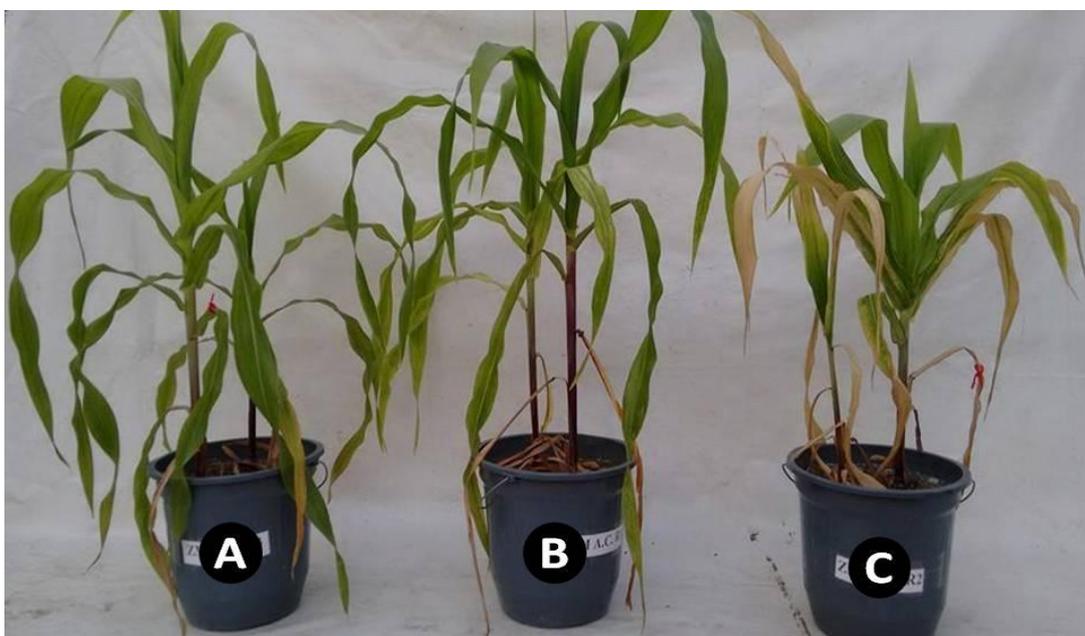


Figura 3. Plantas de milho: controle (A), ácido cítrico (B) e NTA (C), aplicação dos quelantes.

Nas plantas de milho com aplicação de ácido cítrico, não foram observados sintomas visuais de toxidez (Figura 3), mesmo após a aplicação da segunda dose do quelante (30 mmol L^{-1}), diferentemente do que foi observado por Freitas et al. (2009) e Araújo e Nascimento (2010), que constataram a fitotoxidez logo no primeiro e terceiro dias após a aplicação do quelante, respectivamente. Freitas et al. (2012) destacam que apesar dos ácidos orgânicos serem de rápida degradação no solo, diminuindo o risco de contaminação de mananciais, a solubilização continuada dos metais no solo é restrita, limitando a fitoextração.

Nenhum sintoma de toxidez foi observado nas duas espécies vegetais até a aplicação dos quelantes ácido cítrico e NTA, indicando a baixa solubilidade dos metais nas condições naturais do solo. Esse fato provavelmente se deve ao pH elevado (7,7) desse solo, com manutenção da forma precipitada dos metais, na forma de hidróxidos, carbonatos ou fosfatos. A aplicação dos quelantes nessa condição, portanto, promoveu a elevação da solubilidade desses elementos no solo possibilitando a absorção pelas plantas.

Na mamona, os sintomas começaram a surgir apenas após a segunda aplicação de NTA, sendo observadas ao final do período de cultivo clorose e necrose nas folhas das plantas. Sintomas não foram observados para o tratamento com ácido cítrico mesmo após a segunda aplicação do quelante (Figura 4). A ausência de sintomas de toxidez na mamona pode ter sido devido à compartimentalização do metal nas raízes. Este fato pode ser comprovado ao observar o baixo índice de translocação de metais da raiz para a parte aérea destas plantas (Tabela 3), sugerindo que a planta acumulou metais nas raízes como mecanismo de defesa. O não aparecimento de sintomas de toxidez corrobora os encontrados por Melo et al. (2012) e Zhang et al. (2015).



Figura 4. Plantas de mamona: controle (A), ácido cítrico (B) e NTA (C), após aplicação dos quelantes.

Nas raízes de ambas as espécies no tratamento com NTA foi observado escurecimento e menor desenvolvimento das raízes das plantas com a aplicação deste quelante (Figura 5). Este escurecimento é devido à morte das células a partir da absorção de metais pesados pelas culturas disponibilizados a partir da aplicação de NTA e ácido cítrico. Pode-se observar ainda que, para o tratamento com aplicação de 10 mmol L^{-1} , de NTA as raízes foram mais afetadas quanto aos sintomas de toxidez, a produção de matéria seca e a alta concentração de metais pesados.



Figura 5. Raízes de milho (A) e mamona (B): controle, ácido cítrico e NTA, após aplicação de 10 mmol L^{-1} de NTA e 60 mmol L^{-1} de ácido cítrico.

A matéria seca da raiz e parte aérea do milho e mamona não diferiram significativamente entre os tratamentos (Tabela 2). Isso pode ter acontecido devido ao tempo de cultivo que foi de 65 dias para o milho, e nesse período a planta já apresentava seu máximo desenvolvimento vegetativo. A mamona foi cultivada por 90 dias, e apesar desta espécie ser considerada perene e continuar seu crescimento, este se dá de forma mais lenta a partir dos 90 dias de germinação.

Tabela 2. Peso da Matéria seca (g) da raiz e parte aérea de milho e mamona após adição de 10mmol L⁻¹ de ácido cítrico e 60mmol L⁻¹ de NTA ao solo

	Raiz			Parte Aérea		
	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA
Milho	14,6aA	9,45aA	11,6aA	22,7aA	17,8aA	18,9aA
Mamona	21,1aA	23,7bA	21,3bA	34,8aA	47,1bA	39,6aA

Valores com letras iguais na linha e na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o Teste de Tukey com $p > 0,05$.

Concentrações de As, Cd, Pb e Zn nas plantas e remoção líquida

A aplicação dos quelantes não influenciou significativamente os teores de As e Zn na raiz e parte aérea de ambas as espécies estudadas. Apesar de estudos realizados demonstrarem a eficiência do NTA na fitoextração induzida de Zn, no presente estudo o quelante não apresentou efeito significativo para nenhuma das plantas (Zhao et al. 2012 & Lan et al. 2013). Teores semelhantes aos encontrados nas raízes foram encontrados por Melo et al. (2012), em solo com aplicação de doses crescentes de As utilizando a mamona e girassol como fitoextratoras. Os autores indicam ainda a utilização da mamona como planta fitoestabilizadora em áreas com contaminação acima do valor de investigação estabelecido pelo CONAMA (2009).

Os teores de Cd encontrados nas raízes das plantas não diferiram entre os tratamentos. Na parte aérea foi observada diferença significativa entre os três tratamentos, sendo encontrados teores médios de 49,6 e 26,6 mg kg⁻¹ no tratamento com 10 mmol L⁻¹ de NTA para milho e mamona, respectivamente (Tabela 3). A alta concentração de Cd encontrada na parte aérea de milho e

mamona com aplicação de NTA pode ser atribuída a mobilidade deste elemento tanto no solo quanto na planta.

Para o Pb, observou-se que a mamona apresentou maior capacidade em acumular o metal na raiz (Tabela 3), sugerindo-se um mecanismo de defesa da espécie a toxidez de Pb, o que explica o não aparecimento de sintomas visuais na parte aérea das plantas (Figura 3). Na parte aérea, quando comparadas as espécies com aplicação de ácido cítrico, os teores encontrados para o milho foram cerca de duas vezes maiores que na mamona; no entanto, quando comparado os tratamentos, com a aplicação de NTA foram encontrados teores de 858,5 e 831mg kg⁻¹ para milho e mamona respectivamente. Portanto, o NTA foi cerca de 10 a 20 vezes mais eficiente para acumular o Pb na parte aérea das plantas em estudo. Lan et al. (2013) observaram a maior eficiência de *Siegesbeckia orientalis* L. em absorver Pb em solo contaminado após aplicação de 20 mmol L⁻¹ de NTA. Estudos realizados por Zhao et al. (2012) também demonstram a eficiência do NTA na fitoextração induzida de Pb na parte aérea de uma espécie de grama, corroborando os resultados encontrados. Os teores de Pb na parte aérea de milho (85 mg kg⁻¹) com aplicação de 60 mmol L⁻¹ de ácido cítrico foram semelhantes aos encontrados por Freitas et al. (2013) em experimento realizado em solo contaminado após aplicação de mesma dose.

Os teores ambientalmente disponíveis e totais analisados após o experimento tiveram a mesma tendência para o As e Zn que os teores observados nas plantas de milho e mamona (Tabela 4). Diferenças significativas foram observadas nos teores de Cd e Pb, sendo estes inversamente proporcionais aos observados na parte aérea e raiz das plantas, comprovando a extração desses metais. Os teores de As, Cd, Pb e Zn encontrados demonstram a ação dos agentes quelantes em solubilizar os metais no solo possibilitando sua absorção pelas plantas. Os teores de Zn encontrados na parte aérea da mamona foram abaixo dos valores ideais para a nutrição da planta, que variam entre 300 e 500 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias e Pendias, 1992). Tal resultado se deve, provavelmente, ao pH do solo (7,7) e consequente redução da disponibilidade de metais pesados.

Tabela 3. Teores de metais pesados na raiz e parte aérea de milho e mamona em mg kg^{-1} após aplicação de NTA (10mmol L^{-1}) e ácido cítrico (60 mmol L^{-1})

Raiz												
	As			Cd			Pb			Zn		
	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA
Milho	25,27aA	15,58aA	21,78aA	325,5aA	222,83aA	352,16aA	1371,5aA	1970,3aA	2335,8aA	794,3aA	523,6aA	769,3aA
Mamona	27,79aB	19,17aA	14,65aA	521,3aB	424,6aA	330,5aA	6566,6bA	4785,5bA	5732,8bA	597,6aA	372,0aA	316,0aA

Parte Aérea												
	As			Cd			Pb			Zn		
	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA
Milho	2,29aA	2,85bB	1,49aA	20,1aB	18,5aA	49,6aC	70,8bA	85,0bB	858,5bC	149,5aA	171,83bB	275,0bC
Mamona	2,44aA	1,75aA	2,24aA	5,66aB	4,6bA	25,6bC	54,5aA	48,0aA	831,0aB	112,5aB	104,16aA	185,0aC

os valores com letras iguais na linha e na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o Teste de Tukey com $p>0,05$.

Tabela 4. Teores de metais pesados ambientalmente disponível e total no solo em mg kg^{-1} após aplicação de NTA (10mmol L^{-1}) e ácido cítrico (60 mmol L^{-1})

Ambientalmente Disponível												
	As			Cd			Pb			Zn		
	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA
Milho	47,9aA	39,2aA	42,3aA	90,3bA	85,3aA	81,3aA	4899,7aA	4624,3aA	5090,6bA	1765,0aB	1355,3aA	1432,3aA
Mamona	35,8aA	30,5aA	34,5aA	69,6aA	53,3aA	53,6aA	5056,3aB	3535,6aA	3140,3aA	1439,3aB	1030,3aA	1189,6aA

Total												
	As			Cd			Pb			Zn		
	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA	Testemunha	A.C.	NTA
Milho	80,4aA	74,1bA	79,3bA	104,0aA	101,5bA	97,0bA	5950,0aA	5462,0aA	5950,0bA	1924,8aA	1558,5aA	1522,0aA
Mamona	72,4aB	42,9aA	58,6aA	86,3aA	70,1aA	71,6aA	6058,3aB	4460,3aA	3994,3aA	1661,3aB	1176,7aA	1355,7aA

os valores com letras iguais na linha e na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o Teste de Tukey com $p>0,05$

O fator translocação (FT) mede a eficiência da planta em translocar um elemento da raiz para a parte aérea. Quando este fator é superior a 1, pode-se dizer que a planta é eficiente em translocar o metal, caracterizando-a como acumuladora. Sabe-se, portanto, que nenhuma das duas culturas estudadas apresenta esta característica. Contudo através desse fator pode-se observar que para o milho, quando aplicado o ácido cítrico ao solo, a eficiência em translocar As, Cd e Pb foi aumentada em 9%, 9% e 33%, respectivamente, quando comparados a testemunha (Tabela 5), comprovando a eficiência deste quelante em estimular o transporte de metais da raiz para a parte aérea. Estudos realizados anteriormente corroboram a eficiência na translocação de metais pesados na fitoextração induzida por ácido cítrico para a cultura do milho (Freitas et al., 2009, Freitas et al., 2012; Freitas et al., 2013; Araújo e Nascimento, 2010).

Resultados diferentes foram encontrados para a mamona, onde o cultivo com aplicação de NTA se mostrou mais eficiente em translocar As, Pb e Zn em cerca de duas vezes quando comparados a testemunha. No cultivo com aplicação de ácido cítrico, houve redução na translocação desses metais (Figura 6) mostrando que a espécie tende a acumular os metais nas raízes. Chaves et al. (2010), ao avaliar a fitoextração de Zn em doses crescentes pela mamona, observaram que esta espécie é eficiente em translocar o metal.

Tabela 5. Fator de translocação do milho e mamona cultivados em solo contaminado e após aplicação de 60 mmol⁻¹ de ácido cítrico e 10 mmol⁻¹ de NTA

Tratamento	Milho			
	As	Cd	Pb	Zn
Testemunha	0,09aA	0,06aA	0,06aA	0,43aA
Ác. Cítrico	0,18aB	0,15aB	0,39bB	0,41aA
NTA	0,07aA	0,01aA	0,01aA	0,3aA
Tratamento	Mamona			
	As	Cd	Pb	Zn
Testemunha	0,09aA	0,08aA	0,05aA	0,34aA
Ác. Cítrico	0,1aA	0,01aA	0,01aA	0,27aA
NTA	0,15aA	0,05aA	0,16aA	0,58aA

Valores com letras iguais na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o Teste de Tukey com $p > 0,05$.

A remoção de As foi relativamente maior em todos os tratamentos com a mamona, sendo significativo para o NTA. Assim como a translocação, a remoção de As pelas duas culturas foi relativamente baixa. Melo et al. (2012) relatam que para a maioria das espécies a remoção de As do solo é relativamente baixa devido a fatores como sua baixa disponibilidade no solo, restrição da absorção pelas raízes e baixa translocação para a parte aérea devido a toxidez. Os resultados encontrados por esses autores corroboram os encontrados no presente estudo.

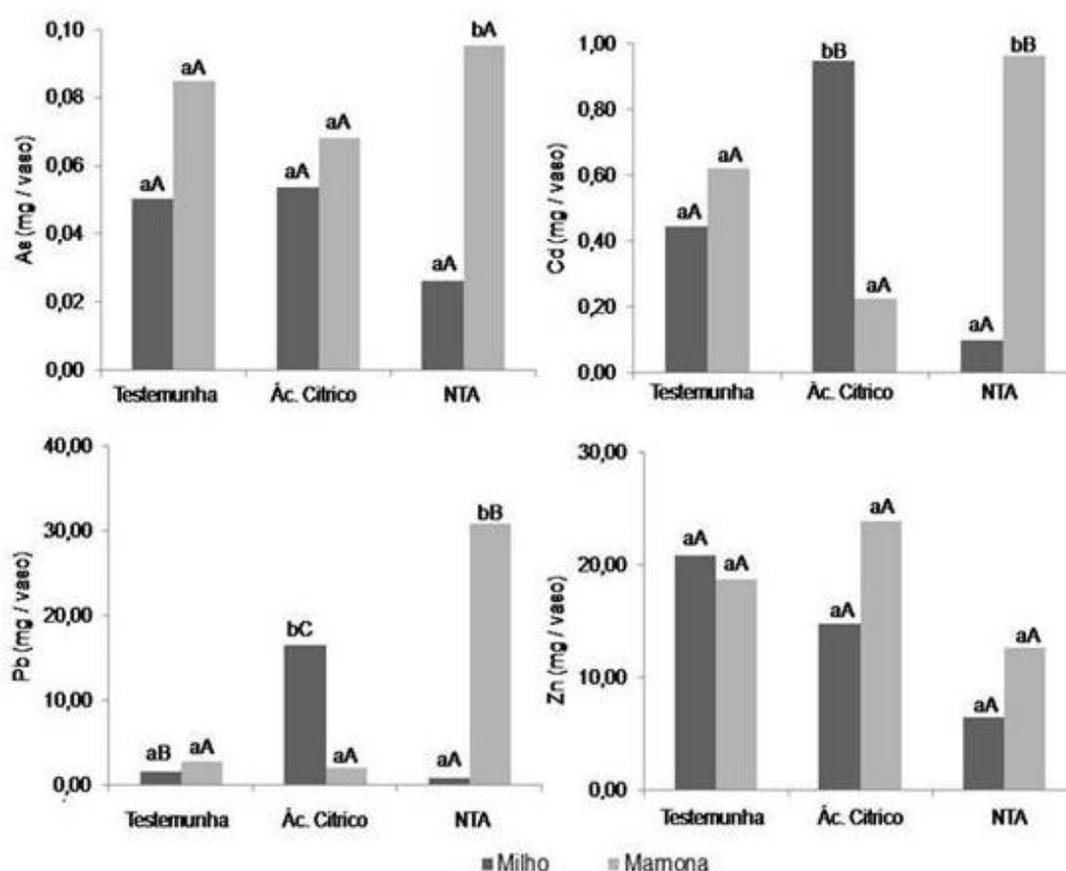


Figura 6. Remoção de As, Cd, Pb e Zn pelas culturas de mamona e milho após aplicação de 60 mmol^{-1} de ácido cítrico e 10 mmol^{-1} de NTA (Médias com letras iguais não diferem estatisticamente de acordo com o Teste de Tukey com $p > 0,05$).

Para o Cd, maior remoção foi observada no tratamento com ácido cítrico (60 mmol L^{-1}) para a cultura do milho. Ehsan et al. (2014), ao estudarem a fitoextração induzida de Cd por *Brassica napus* L., destacam que além de viabilizar a remoção do metal pela planta, o ácido cítrico age como agente amenizante à fitotoxidez da planta ao metal para a mamona. A remoção de Pb

pelas culturas ocorreu de forma semelhante ao Cd, o que sugere o uso de ácido cítrico para fitoextração com uso de milho e NTA para fitoextração com mamona desses dois metais.

Quando observados a translocação e remoção de As e Cd pelo milho pode-se notar que para estes elementos o milho pode ser utilizado como espécie fitoextratora para remediar o solo de Santo tendo em vista seu teores mais baixos no solo (79,9 e 92,1 respectivamente). Embora resultados satisfatórios também tenham sido observados para remoção e translocação de Pb e Zn pelas plantas a fitoextração se torna inviável devido as altas concentrações de metais encontradas nesse solo, sendo necessário o período muito de tempo para remedia-lo.

O Zn teve comportamento semelhante ao As, no entanto foram removidos teores bem mais elevados, provavelmente devida à essencialidade deste elemento para as plantas e aos seus maiores teores no solo. Zeitouni et al. (2007), ao estudar a absorção de metais por girassol, tabaco, mamona e pimenta, constataram que a mamona apresentou maior capacidade de absorção e translocação de Zn após aplicação de EDTA como agente quelante. Os teores do Elemento na parte aérea também apresentaram correlação negativa com o teor disponível no solo, o que significa que a mamona absorveu o metal e exportou para a parte aérea.

Parâmetros fisiológicos afetados pela toxidez de metais pesados

Apesar de não ter sido observada diferença significativa na fotossíntese do milho e da mamona nos diferentes tratamentos, pode-se notar uma redução na atividade fotossintética quando aplicado ácido cítrico e NTA (Figura 7). Quando a planta apresenta toxidez de metais pesados ocorre inibição da atividade fotossintética ocasionada pela inibição da cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto, de enzimas do ciclo de Calvin (Zancheta et al., 2011) e pela redução nos pigmentos de clorofila (Silva et al., 2012).

A condutância estomática também pode ser afetada, tendo em vista que a absorção de metais pela planta pode afetar absorção de nutrientes. Guimarães et al. (2008) relatam que o Cd pode induzir a liberação do Ca do retículo endoplasmático e vacúolo, aumentando o nível no citosol e diminuindo a aberturas dos estômatos. Essa diminuição afeta a disponibilidade de carbono para a fotossíntese, interferindo no desenvolvimento da planta. A mesma redução observada na fotossíntese ocorreu para a condutância estomática, no entanto, houve diferença significativa entre a mamona e o milho, destacando que a mamona por apresentar maior condutância que o milho tem maior potencial de reagir a fitotoxidez.

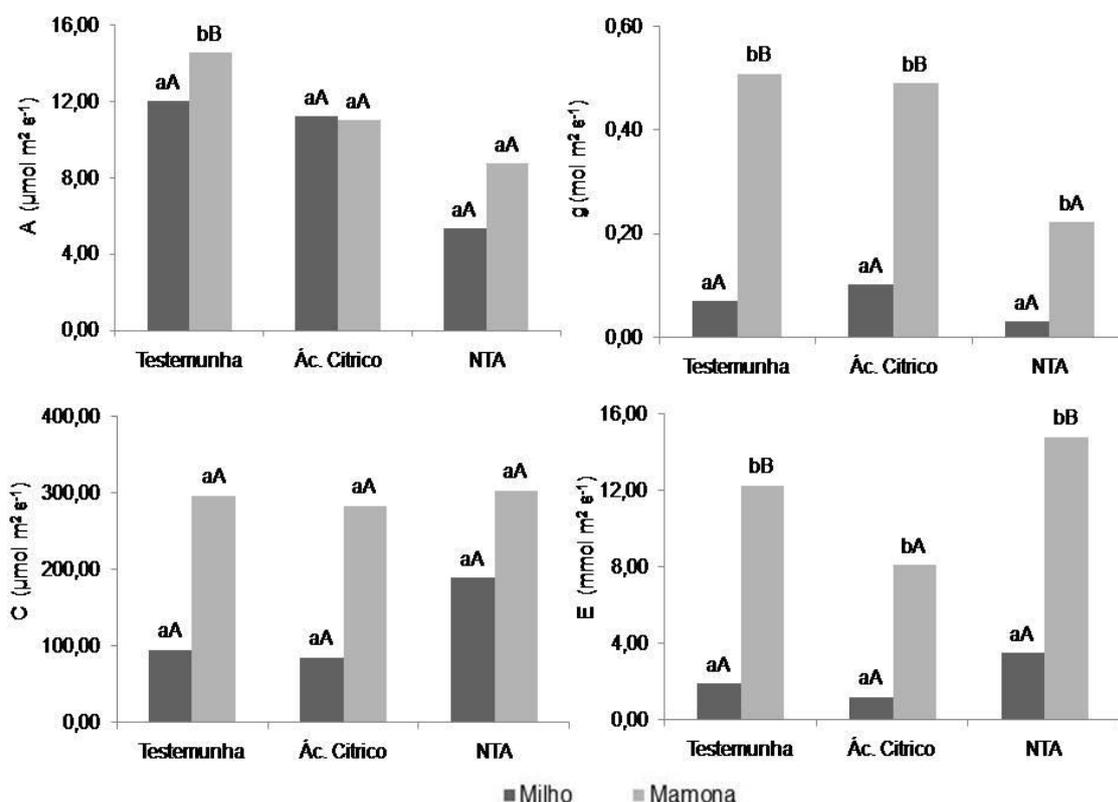


Figura 7. Valores médios de Fotossíntese Líquida (A), Condutância Estomática (g), Concentração de CO_2 (C) e Transpiração (E) em milho e mamona após aplicação de 10 mmol L^{-1} de NTA e 60 mmol L^{-1} . Os valores médios com letra minúscula entre as plantas e maiúsculas entre os quelantes não são diferentes significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Entre a concentração de CO_2 e a transpiração houve efeito inverso, ou seja, as maiores concentrações foram obtidas no tratamento com aplicação de

NTA, indicando que com a absorção de metais pelas plantas e a toxicidade causada por eles promoveu um maior gasto de energia pela planta, observado nos quatro parâmetros fisiológicos avaliados, pelo estresse causado pelos metais, e pelo próprio quelante, comprometendo o desenvolvimento da espécie.

Relação entre a disponibilidade do metal no solo e a absorção pela planta

Não foram observadas correlações significativas com os teores disponíveis, ambientalmente disponíveis ou totais de metais no solo e os teores nas plantas de milho. Correlações negativas foram observadas entre os teores de Cd ambientalmente disponível, total e disponível e os teores totais na raiz da mamona (Tabela 6). Dessa forma pode-se comprovar a ação dos agentes quelantes na disponibilidade do metal. A extração sequencial mostrou que a maior parte do Cd presente no solo está distribuído entre as frações trocável e carbonato, o que pode ter influenciado na disponibilidade e absorção do elemento pelas plantas. Isso ocorre devido a alta mobilidade do elemento no solo fazendo com que ele seja facilmente liberado para a fração trocável. A semelhança entre os raios iônicos do Cd^{2+} (0,97 Å) e Ca^{2+} (0,99 Å) faz com que esse metal esteja mais associado a fração carbonato (Lopes et al., 2015).

O Pb presente na raiz da mamona apresentou correlação negativa com os teores ambientalmente disponíveis. As concentrações de Pb encontradas nas raízes foram bastante elevadas, com variação de 4785,5 a 6566,6 mg kg^{-1} (Tabela 6) e a extração sequencial mostrou que os quelantes utilizados possibilitaram o acesso do metal de frações mais recalcitrantes para menos recalcitrantes (Figura 7) o que explica a correlação deste metal com os teores ambientalmente disponíveis.

Correlações significativas também foram observados entre os teores disponível no solo e parte aérea de mamona. Isto pode ser atribuído ao fato de que este elemento é essencial ao desenvolvimento da cultura e esta tende a translocá-lo para suprir suas necessidades.

Tabela 6. Correlações Lineares de Pearson entre os teores de metais pesados na raiz e parte aérea de mamona e os teores ambientalmente disponível, total e disponível de metais pesados no solo

	Raiz				Parte Aérea			
	As	Cd	Pb	Zn	As	Cd	Pb	Zn
Mamona	Ambientalmente disponível							
As	0,36 ^{ns}	-0,51 ^{ns}	-0,46 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,29 ^{ns}
Cd	0,84 ^{**}	-0,78 ^{**}	-0,70 [*]	0,11 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,19 ^{ns}	-0,39 ^{ns}	0,25 ^{ns}
Pb	0,83 ^{**}	-0,76 ^{**}	-0,68 [*]	0,57 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,57 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Zn	0,68 [*]	-0,80 ^{**}	-0,70 [*]	0,18 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,25 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	0,28 ^{ns}
	Total							
As	0,52 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,83 ^{**}	0,62 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,62 ^{ns}
Cd	-0,85 ^{**}	-0,84 ^{**}	-0,75 [*]	-0,82 ^{**}	0,39 ^{ns}	0,25 ^{ns}	-0,31 ^{ns}	0,29 ^{ns}
Pb	-0,81 ^{**}	-0,86 ^{**}	-0,65 ^{ns}	-0,72 [*]	0,20 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,57 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
Zn	-0,10 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,31 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,33 ^{ns}
	Disponível							
As	-0,39 ^{ns}	0,67 [*]	0,60 ^{ns}	0,28 ^{ns}	-0,58 ^{ns}	-0,72 [*]	-0,32 ^{ns}	-0,82 ^{**}
Cd	0,71 [*]	-0,85 ^{**}	-0,78 [*]	0,03 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,33 ^{ns}	-0,27 ^{ns}	0,49 ^{ns}
Pb	-0,66 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,52 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,33 ^{ns}	-0,28 ^{ns}
Zn	-0,33 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,71 [*]	0,16 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,52 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,74 [*]

** e * significativo a $p < 0,01$ e $p < 0,05$ respectivamente, ns: não significativo.

Distribuição de As, Cd, Pb e Zn nas diferentes frações do solo

Os resultados da extração sequencial mostraram a presença de metais principalmente nas frações carbonato e sulfeto (Figura 7). A presença em altos teores de As, Pb e Zn na fração sulfeto pode apresentar sério risco de contaminação do solo, pois estes quando exposto ao ar são oxidados disponibilizando os metais para o solo (Perlati et al., 2012). Cádmio e Pb também estão presentes em grande parte na fração carbonato do solo, fração esta, mantida em condições de pH alcalino e pouco estável em condições de redução de pH, tornando estes metais disponíveis no solo e com potencial risco de contaminação de mananciais de água. O Cd diferente dos demais metais estudados apresentou grande proporção na fração trocável no solo devida a alta mobilidade desse elemento fazendo com que este seja facilmente

disponibilizado ao solo. Em estudo realizado em solos de rejeito de mina de Zn no estado de Minas Gerais foram encontradas maiores associações do Cd com as frações trocável e carbonato do solo, sendo que neste estudo 70% do Cd foi liberado para a fração trocável (Lopes et al., 2015).

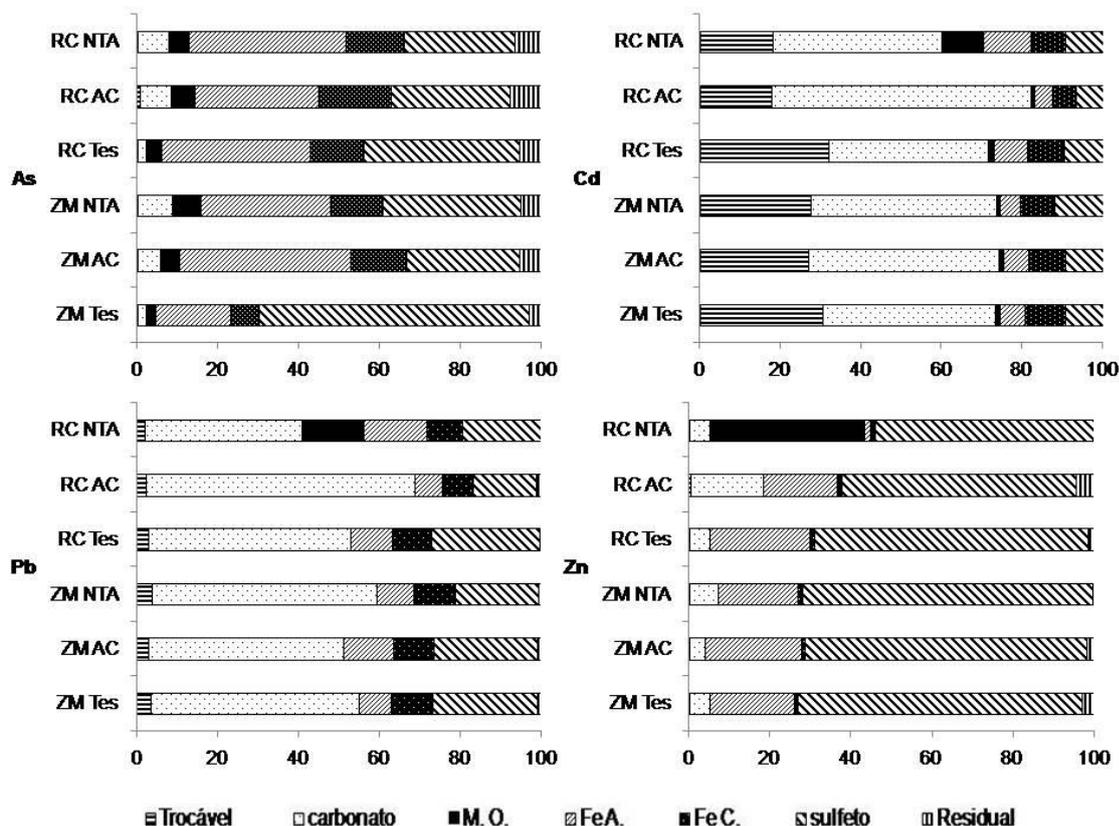


Figura 7. Distribuição de metais pesados (%) entre as frações trocável, carbonato, matéria orgânica (M.O.), óxido de ferro amorfo (Fe A.), óxido de ferro cristalino (Fe C.), sulfeto e residual após aplicação de NTA (10mmol L^{-1}) e ácido cítrico (60mmol L^{-1}) (AC) em milho (ZM) e mamona (RC).

O Pb apresentou maior associação com a fração carbonatos (38% a 66%), podendo desta forma ser facilmente disponibilizado no solo. Estudos realizados em solos de minas de Zn corroboram com os resultados encontrados, no entanto a proporção do metal nessa fração foi menor (22% na fração carbonato) do que a encontrada no solo de Santo Amaro da Purificação (Lopes et al., 2015).

Foram observadas altas associações de As, Pb e Zn com a fração sulfeto, provavelmente devido a presença de minerais primários no solo

estudado oriundos do rejeito de mineração ricos principalmente em PbS (galena) e ZnS (esfarelita) (Lima & Bernardez, 2011). Associações dos teores de Cd e Zn no solo e esses minerais foram encontradas em estudo realizados em áreas próximas a minas abandonadas na Itália (Wahsha et al., 2015).

Após aplicação dos agentes quelantes pode-se observar que não houve muita variação na distribuição dos metais pesados entre as frações do solo para os tratamentos com o cultivo de milho, exceto para o As, que foi deslocado da fração sulfeto para as frações óxido de ferro amorfo e carbonato, com aumento de 5% e 22% respectivamente. A aplicação de agentes quelantes possibilitou o acesso ao metal em frações mais recalcitrantes deslocando este para frações menos recalcitrantes. Isto pode ter ocorrido devida a desestabilização dos minerais pela aplicação dos quelantes aliado a atuação da planta no solo pela liberação de compostos orgânicos. Pode-se observar que essa variação é maior para mamona do que para milho, provavelmente a devido a liberação de compostos orgânicos de alto peso molecular produzidos por esta espécie fazendo com que este metal seja pouco acessado pela ação dos quelantes.

Para a mamona com aplicação de 10 mmol L⁻¹ de NTA, foi observado um aumento potencial de Cd, Pb e Zn na fração matéria orgânica, sendo estes valores 5%, 15% e 38% a mais do que os valores encontrados no solo cultivado com mamona sem aplicação de quelantes (Figura 7). Pode-se notar que esta variação ocorreu apenas para a mamona, que também apresentou maiores teores desses metais nas raízes (Tabela 4), sugerindo que estas plantas dispõem de mecanismos de defesa quando em condições de toxidez de metais pesados.

3.2. Bioacessibilidade de As, Cd, Pb e Zn em solo contaminado no município de Santo Amaro - BA

Os teores de As, Cd, Pb e Zn no solo estudado foram bem acima dos valores de prevenção estabelecidos pelo (CONAMA, 2009), tendo o Cd e Pb,

apresentado valores cerca de 70 e 76 vezes maiores que o VP, respectivamente (Tabela 2). Estas concentrações foram maiores, inclusive, do que o nível de investigação para solos contaminados, caracterizando a necessidade de remediar este solo. Como constatado por outros autores os teores total e ambientalmente disponível do solo não são indicados para estudos de risco à saúde humana, por superestimar esses valores, sendo a bioacessibilidade um método que determina o real risco desses contaminantes no solo causarem danos aos seres humanos através da ingestão do solo (Li et al., 2015; Lu, et al., 2012; Sanderson et al., 2012; Hu et al., 2012).

Quando avaliada a bioacessibilidade pelo método gastrointestinal observa-se que para Pb cerca de 80% do teor ambientalmente disponível pode ser absorvido. Os valores bioacessíveis de Pb corroboram os encontrados por Gutierrez et al. (2013). A bioacessibilidade de As, Cd, Pb e Zn pelo método que simulou a fase gástrica foi relativamente baixa, principalmente para o As e Cd, mas ainda apresentam sérios riscos a saúde humana devido aos altos teores desses elementos no solo (Tabela 7). Esses dados corroboram os encontrados por Hu et al. (2012), que estudaram a bioacessibilidade de As e Cd em solos de áreas urbanas e rurais contaminadas por rejeitos de mineração. Ao avaliar a bioacessibilidade na fase gastrointestinal em uma área contaminada por Pb e As, Sanderson et al. (2012) encontraram valores variando entre 46% e 70%, associando esses valores a propriedades do solo, como textura e pH. Os resultados de Pb bioacessíveis encontrados por Li et al. (2015) também corroboram os encontrados na fase gastrointestinal. Dessa forma, pode-se afirmar que apesar de ser mais simples de analisar, o método gástrico pode subestimar as concentrações de metais pesados que podem ser acessadas pelo organismo humano.

O Pb bioacessível obtido pelo método gastrointestinal apresentou correlação positiva com as frações trocável, carbonatos, matéria orgânica, óxido de Fe cristalino e sulfeto (Tabela 8). Sanderson et al. (2012) encontraram correlação do Pb bioacessível e as frações óxidos de Fe, carbonatos e matéria orgânica, enquanto que Fayiga et al. (2011) encontraram relação apenas com as frações carbonato e matéria orgânica. No método gastrointestinal foram observadas as mesmas correlações que no gástrico, exceto na fração sulfeto.

Esses dados mostram que, devido a abundância do Pb no solo, o elemento está presente em diversas frações do solo.

Tabela 7. Teores ambientalmente disponíveis (AD), totais (T) e bioacessíveis das fases gástrica (G) e gastrointestinal (GI) de metais pesados e valores orientadores de qualidade do solo

Metais	AD	T	G	GI	VP ^a	VI ^b
	-----mg kg ⁻¹ -----		----- % -----		-----mg kg ⁻¹ -----	
As	77,9	91,9	16,8	53,6	15,0	150,0
Cd	92,1	195,6	20,4	70,1	1,3	20,0
Pb	5515,0	6830,0	38,8	79,7	72,0	900,0
Zn	1511,0	1669,2	40,0	53,6	300,0	2000,0

(a) Valor de prevenção; (b) Valor de investigação para área industrial (CONAMA, 2009)

Os elementos Cd, Pb e Zn na fase gástrica, e o Pb na fase gastrointestinal, apresentaram correlação negativa com a fração matéria orgânica do solo (Tabela 8). No método da fase gastrointestinal houve correlação significativa apenas para o Pb devido aos altos teores encontrados para esse método. O que pode ser explicado pela forte ligação dos metais pesados a compostos húmicos presentes na matéria orgânica fazendo com que eles estejam retidos de forma mais recalcitrantes e, sendo assim, dificilmente acessados pelo organismo.

Dessa forma o estudo da bioacessibilidade de As, Cd e Pb tem grande importância para avaliar o potencial risco desses metais a saúde humana (Kim et al., 2014 & Ono et al., 2012), tendo em vista que estes são considerados potenciais agentes cancerígenos e estão associados a doenças cardiovasculares, da bexiga, fígado, rim, sistema nervoso, sangue e doenças ósseas (Cai et al., 2015).

Tabela 8. Correlações Lineares de Pearson entre os teores de metais na fase gástrica e gástrica intestinal e os teores de metais entre as frações do solo

	Gástrico				Gástrico intestinal			
	As	Cd	Pb	Zn	As	Cd	Pb	Zn
Fração Trocável								
As	-0,48*	-0,13 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	-0,51*	-0,49*	-0,53*
Cd	0,66**	0,42 ^{ns}	0,71**	0,28 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,72**	0,77**	0,61**
Pb	0,65**	0,33 ^{ns}	0,68**	0,26 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,74**	0,84**	0,67**
Zn	0,23 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,14 ^{ns}
Fração Carbonato								
As	-0,11 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,23 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,28 ^{ns}
Cd	0,18 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,21 ^{ns}
Pb	0,57*	0,17 ^{ns}	0,56*	-0,01 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,59**	0,63**	0,52*
Zn	-0,05 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,22 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Fração Matéria Orgânica								
As	0,15 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,54*	0,21 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,45 ^{ns}
Cd	-0,45 ^{ns}	-0,64**	-0,53*	-0,56*	-0,26 ^{ns}	-0,43 ^{ns}	-0,51*	-0,31 ^{ns}
Pb	-0,48*	-0,61**	-0,57*	-0,52*	-0,28 ^{ns}	-0,47*	-0,55*	-0,34 ^{ns}
Zn	-0,48*	-0,61**	-0,57*	-0,52*	-0,28 ^{ns}	-0,47*	-0,55*	-0,35 ^{ns}
Fração Óxido de Ferro Amorfo								
As	0,39 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,38 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,39 ^{ns}
Cd	-0,21 ^{ns}	-0,67**	-0,1 ^{ns}	-0,54*	0,01 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
Pb	0,11 ^{ns}	-0,47*	0,09 ^{ns}	-0,34 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Zn	0,43 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,59**	0,08 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,74**	0,67**	0,45 ^{ns}
Fração Óxido de Ferro Cristalino								
As	0,39 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,51*	0,74**	0,81**	0,42 ^{ns}
Cd	0,48*	0,18 ^{ns}	0,5*	-0,11 ^{ns}	0,14*	0,55*	0,49*	0,52*
Pb	0,59**	0,34 ^{ns}	0,66**	0,06 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,61**	0,58*	0,54*
Zn	0,61**	0,43 ^{ns}	0,59**	0,09 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,4 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,47 ^{ns}
Fração Sulfeto								
As	0,44 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,42 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,44 ^{ns}
Cd	0,46 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,49*	0,53*	0,62**
Pb	0,43 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,51*	-0,22 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,51*	0,43 ^{ns}	0,41 ^{ns}
Zn	0,58*	0,36 ^{ns}	0,57*	-0,04 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,52*	0,34 ^{ns}	0,59**
Fração Residual								
As	-0,11 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,04 ^{ns}
Pb	0,3 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,58*	0,61**	0,26 ^{ns}
Zn	0,16 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,04 ^{ns}

** e * significativo a p<0,01 e p<0,05 respectivamente, ns: não significativo.

4. Conclusões

Os teores ambientalmente disponível de Cd e Pb foram acima dos valores de investigação estabelecidos pelo CONAMA, sendo necessária a remediação do solo em Santo Amaro.

O milho se mostrou eficiente em translocar As, Cd, Pb e Zn, principalmente no tratamento com aplicação de 60 mmol L⁻¹ de ácido cítrico que provocou efeito amenizante a toxidez de metais favorecendo a fitoextração.

A mamona quando comparada ao milho não foi eficiente em translocar os metais para parte aérea, no entanto foram observados acúmulo de altos teores de Pb e Zn nas raízes destas plantas, sugerindo o uso desta espécie como planta fitoestabilizadora.

A toxidez causada por metais pesados as plantas influenciam negativamente a fotossíntese e transporte de nutrientes afetando o seu desenvolvimento.

As associações dos metais pesados ocorreram principalmente com o As e Zn com a fração sulfeto e Cd e Pb com a fração carbonato afetando a disponibilidade desses metais ao solo.

Maiores correlações com os teores bioacessíveis dos metais foram observados quando realizado o teste gastrointestinal, sugerindo que este teste é o que melhor estima o real risco a saúde humana pela ingestão de solo contaminado por metais pesados.

5. Referências bibliográficas

ALLOWAY, B.J. Heavy metals in soils. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1990.

ALVAREZ-AYUSO, E., OTONES, V., MURCIEGO, A. Antimony, arsenic and lead distribution in soils and plants of an agricultural area impacted by former mining activities. *Sci. Total Environ*, v.439, p.35–43, 2012.

ANDRADE, M. G.; MELO, V. F.; GABARDO, J.; SOUZA, L. C. P.; REISSMANN, C. B. Metais pesados em solo em área de mineração e metalúrgica de chumbo. I – Fitoextração. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.33, p.1879-1888, 2009.

ANDRADE, M. F. A contaminação por chumbo em Santo Amaro – BA: a ciência e o mundo da vida no estuário do rio Subaé. Dissertação (Saúde, ambiente e trabalho – Faculdade de Medicina – Universidade Federal da Bahia), Salvador, 2012.

ANDRADE, M. F.; MORAES, L. R. S. Contaminação por chumbo em Santo Amaro desafia décadas de pesquisas e a morosidade do poder público. *Ambiente & Sociedade*, v. 16, n.2, p.63-80, 2013.

ANJOS, J. A. S. A. Avaliação da eficiência de uma zona alagadiça (wetland) no controle da poluição por metais pesados: o caso da Plumbum em Santo Amaro da Purificação/BA. 2003. 301 f. Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2003.

ANJOS, J. A. S. A.; SÁNCHEZ, L. E. Plano de gestão ambiental para sítios contaminados por resíduos industriais – o caso da Plumbum em Santo Amaro da Purificação/BA (PURIFICA). *Bahia análise & dados*, v.10 n.4 p.306-309, 2001.

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

ARAÚJO, J. C. T.; NASCIMENTO, C. W. A.; CUNHA FILHO, F. F. Disponibilidade de silício e biomassa de milho em solo contaminado por

chumbo tratado com silicato. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v. 35, p. 878-883, 2011.

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

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2013. Toxicological Profile. [Http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles](http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles).

BOSSO, S. T. & ENZWEILER, J. Bioaccessible lead in soils, slag, and mine wastes from an abandoned mining district in Brazil. *Environ Geochem Health*, v.30, p.219–229, 2008.

CAI, L. M.; ZHEN, C. X.; JIAN, Y. Q.; ZHI, Z. F.; TING, S. X. Assessment of exposure to heavy metals and health risks among residents near Tonglushan mine in Hubei, China. *Chemosphere*, v.127, p.127–135, 2015.

CARVALHO, F. M.; CHAVES, C. R.; COSTA, A. C. A.; NASCIMENTO, L. D.; NETO, A. M. S.; REIS, M. A.; TAVARES, T. M. Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública*, Washington, v. 13, n. 1, p. 19 - 24, 2010.

CARVALHO, F. M.; SILVANY NETO, A. M.; TAVARES, T. M.; COSTA, A. C. A.; CHAVES, C. R.; NASCIMENTO, L. D.; REIS, M. A. Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, v.13, n.1, p.19-24, 2003.

CETEM - Centro de Tecnologia Mineral. Projeto Santo Amaro - BA: aglutinando idéias, construindo soluções. *Diagnósticos*. 2012.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Resíduos Sólidos. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>, acessado em 28 de março de 2014.

CHAVES, L. H. G.; MESQUITA, E. F.; ARAUJO, D. L.; FRANÇA, C. P. Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS paraguaçu e crescimento da planta. *Engenharia Ambiental*, v. 7, n. 3, p. 263-277, 2010.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 420, de 28 de dezembro de 2009.

EHSAN, S.; ALI, S.; NOUREEN, S.; MAHMOOD, K.; FARID, M. ICHAQUE, W.; SHAKOOR, M.; RIZWAN, M. Citric acid assisted phytoremediation of cadmium by *Brassica napus* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.106, p.164–172, 2014.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias. Manual de Métodos de Análise de Solo, 2ª Ed. 2013.

FAYIGA AO, SAHA U, MA LQ. Chemical and physical characterization of lead in three shooting range soils in Florida. *Chem Speciat Bioavailab*, v.23, p.163–169, 2011.

FREITAS, E. V.; NASCIMENTO, C. W.; SILVA, W. M. Citric Acid-Assisted Phytoextraction of Lead in the Field: The Use of Soil Amendments. *Water, Air and Soil Pollution (Dordrecht. Online)*, v. 225, p. 1796, 2014.

FREITAS, E. V. S.; NASCIMENTO, C. W. A. The use of NTA for lead phytoextraction from soil from a battery recycling site. *Journal of Hazardous Materials (Print)*, v. 171, p. 833-837, 2009.

FREITAS, E. V. S.; NASCIMENTO, C. W. A; SILVA, A. J.; DUDA, G. P. Indução da fitoextração de chumbo por ácido cítrico em solo contaminado por baterias automotivas. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, vol.33 n.2, p.467-473, 2009.

FREITAS, E. V. S. & NASCIMENTO, C. W. A. The use of NTA for lead phytoextraction from soil from a battery recycling site. *Journal of Hazardous Materials*, v.171, p.833–837, 2009b.

FREITAS, E. V. S.; NASCIMENTO, C. W. A; SOUZA, A.; SILVA, F. B. V. Citric acid-assisted phytoextraction of lead: A field experiment. *Chemosphere*, v.92 p.213–217, 2013.

Gheju, M. & Stelescu, I. Chelant-assisted phytoextraction and accumulation of Zn by *Zea mays*. *Journal of Environmental Management*, v.128, p.631-636, 2013.

GUIMARÃES, M. A.; SANTANA, T. A.; SILVA, E. V.; ZENZEN, I. L.; LOUREIRO, M. E. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, n.3, v.1, p.58-69, 2008.

GUTIERREZ, S. P. G.; PEREZ, C. I. G.; GONSEBATT, M.E.; FERNANDEZ, M. G. M. Arsenic and lead contamination in urban soils of Villa de la Paz (Mexico) affected by historical mine wastes and its effect on children's health studied by micro nucleated exfoliated cells assay. *Environ Geochem Health*, v.35, p.37–51, 2013.

HU, X., ZHANG, Y., DING, Z.H., WANG, H.Z., SUN, Y.Y., WU, J.C. Bioaccessibility and health risk of arsenic and heavy metals (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn and Mn) in TSP and PM_{2.5} in Nanjing, China. *Atmos. Environmental*, v. 57, p.146–152, 2012.

IBGE. Santo Amaro - BA. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Disponível em: <www.ibge.gov.br/cidades>. Acessado em 20 de maio de 2015.

JI, P.; SUN, T.; SONG, Y.; ACKLAND, M. L.; LIU, Y. Strategies for enhancing the phytoremediation of cadmium-contaminated agricultural soils by *Solanum nigrum* L. *Environmental Pollution*, v.159, p.762-768, 2010.

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

KABARA-PENDIAS, A.; SKIBNIEWSKA, K. A. *Fresenius Environmental Bulletin: Preface*, v. 19, 2010.

KIM, E. J.; YOO, J. C.; BAEK, K. Arsenic speciation and bioaccessibility in arsenic contaminated soils: Sequential extraction and mineralogical investigation. *Environmental Pollution*, v.186, p.29-35, 2014.

LAN, J.; ZHANG, S.; LIN, H.; LI, T.; XU, X.; LI, Y.; JIA, Y.; GONG, G. Efficiency of biodegradable EDDS, NTA and APAM on enhancing the phytoextraction of

cadmium by *Siegesbeckia orientalis* L. grown in Cd-contaminated soils. *Chemosphere*, v. 91, p.1362–1367, 2013.

LI, N.;KANG, Y.; PAN, W.; ZENG, L.; ZHANG, Q.; LUO, J. Concentration and transportation of heavy metals in vegetables and risk assessment of human exposure to bioaccessible heavy metals in soil near a waste-incinerator site, South China. *Science of the Total Environment*, v.521–522, p.144–151, 2015.

LIMA, L.R.P.A. & BERNARDEZ, L.A. Characterization of the lead smelter slag in Santo Amaro, Bahia, Brazil. *Journal of Hazardous Materials*, v.189, p.692–699, 2011.

LOPES, G.; COSTA, E. T. S.;PENIDO, E. S.; SPARKS, D. L.; GUILHERME, L. R. G Binding intensity and metal partitioning in soils affected by mining and smelting activities in Minas Gerais, Brazil. *Environ Sci Pollut Res*, 2015.

LU, H.; LI, Z.; FU, S.; GASGÓ, G.; PAZ-FERREIRO, J. Combining phytoextraction and biochar addition improves soil biochemical properties in a soil contaminated. *Chermosphere*, v.119, p. 209-216, 2015.

LUO, X.; YU, S.; LI, X. The mobility, bioavailability, and human bioaccessibility of trace metals in urban soils of Hong Kong. *Applied Geochemistry*, v. 27, p.995–1004, 2012.

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

MELO, E. C.; GUILHERME, LUIZ R. G.; NASCIMENTO, C. W. A.; PENHA, H. G. V. Availability and Accumulation of Arsenic in Oilseeds Grown in Contaminated Soils. *Water, Air and Soil Pollution (Dordrecht. Online)*, v.223, p.233-240, 2012.

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

METHODS OF SOILS ANALYSIS – Soil Science Society of America. Part 5 – Mineralogical methods SSSA. Book Series 5.A.L. Ulery & L.R. Drees (Editors); Madison, USA, Wisconsin, 2008.

NASCIMENTO, C. W. A. ; ACCIOLY, A. M. A.; BIONDI, C. M. Fitoextração de metais pesados em solos contaminados: avanços e perspectivas. In: Mateus Rosas Ribeiro; Clístenes Williams Araújo do Nascimento; Mateus Rosas Ribeiro Filho; José Ramon Barros Cantalice. (Org.). Tópicos em Ciência do Solo - Volume VI. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009, v. , p. 461-497.

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

NAVARRO, M.C.; PEREZ, C.; MARTI, M.J.; SANCHEZ, J. V.; MARIMON, J. Lead, cadmium and arsenic bioavailability in the abandoned mine site of Cabezo Rajao (Murcia, SE Spain). *Chemosphere*, v.63, p.484–489, 2006.

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

OLIVEIRA, E.R. Parecer técnico sobre a ampliação da Companhia Brasileira de Chumbo, em Santo Amaro, BA. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento – CEPED. Bahia: Camaçari, 1977.

ONO, F. B.; GUILHERME, L. R. G.; MENDES, L. A.; CARVALHO, G. S. Replicação do protocolo ivg para estimar arsênio bioacessível em matérias de área de mineração de ouro no Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.36, p. 1355, 2012.

ONO, F. B. Bioacessibilidade de arsênio em área de mineração de ouro, Paracatu (MG). Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo - Universidade Federal de Lavras). 2009.

PEREIRA, B. F. F.; ABREU, C. A.; ROMEIRO, S.; LAGÔA, A. M. M. A.; GONZÁLEZ, A. P. Pb-phytoextraction by maize in a Pb - edta treated oxisol. *Ciência Agrícola*, v.64, n.1, p.52-60, 2007.

PERLATTI, F.; OTERO, X. L.; MACIAS, F.; FERREIRA, T.O. Geochemical speciation and dynamic of copper in tropical semi-arid soils exposed to metal-bearing mine wastes. *Science of the Total Environment*, v.500–501, p.91–102, 2014.

RABELO, T. S. Estudo da contaminação remanescente de chumbo e cádmio no município de Santo Amro – BA. Dissertação (Engenharia Ambiental Urbana – Universidade Federal da Bahia), Salvador, 2010.

RUBY, M. V.; SCHOOF, R.; BRATTIN, W.; GOLDADE, M.; POST, G.; HARNOIS, M.; MOSBY, D. E.; CASTELL, W.; BERTI, W.; CARPENTER, M. Advances in Evaluating the Oral Bioavailability of Inorganics in Soil for Use in Human Health Risk Assessment. *Environmental Science & Technology*, v.33, n. 21, p.3697-3705, 1999.

RUBY, M. V. Determining the oral bioavailability of PAHs from soil. *ACS Division of Environmental Chemistry*, v.37, p.237-238, 1997.

SANDERSON, P.; NAIDU, R.; BOLAN, N.; BOWMAN, M.; MCLURE, S. Effect of soil type on distribution and bioaccessibility of metal contaminants in shooting range soils. *Science of the Total Environment*, v.438, p.452–462, 2012.

SANTOS, C. H.; GARCIA, A. L. O.; CALONEGO, J. C.; SPÓSITO, T. H. N.; RIGOLIN, I. M. Potencial de fitoextração de Pb por mamoneiras em solo contaminado. *Ciências Agrárias*, v.33, n.4, p.1427-1434, 2012.

SANTOS, N. M.; ACCIOLY, A. M. A.; Nascimento, C.; Santos, J.; SILVA, I. R. Ácidos húmicos e carvão vegetal ativado como amenizantes em solo contaminado por chumbo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo (Impresso)*, v. 38, p. 345-351, 2014.

SATPATHY, D.; REDDY, M.V. Phytoextraction of Cd, Pb, Zn, Cu and Mn by Indian mustard (*Brassica juncea* L.) grown on loamy soil amended with heavy

metal contaminated municipal solid waste compost. *Applied Ecology and Environmental Research*, v. 11, n.4, p.661-679, 2013.

SCHAIDER, L. A.; SENN, D. B.; BRABANDER, D. J.; MCCARTHY, K. D.; SHINE J. P. Characterization of Zinc, Lead, and Cadmium in Mine Waste: Implications for Transport, Exposure, and Bioavailability. *Environ. Sci. Technol.*, v.41, p.4164-4171, 2007.

SILVA, J. P. S. ; NASCIMENTO, C.W. A.; BIONDI, C. M. ; CUNHA, K. P. V. Heavy metals in soils and plants in mango orchards in Petrolina, Pernambuco, Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo (Impresso)*, v. 36, p. 1343-1354, 2012.

SILVA, A. C.; TORRADO, P. V.; ABREU JUNIOR, J. de S. Métodos de quantificação da matéria orgânica do solo. *R. Un. Alfenas*, v.5, p.21-26,1999.

SILVEIRA, M.L.; ALLEONI, L.R.F.; O'CONNOR, G.A.; CHANG, A.C. Heavy metal sequential extraction methods—A modification for tropical soils. *Chemosphere*, v.64, p.1929–1938, 2006.

USEPA (United States Environmental Protection Agency). Method 3051a – Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. 1998.

VIEIRA NETO, A. Produtor de Mamona. *Boletim Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias*, p.18, 2008.

WAHSHA, M.; GOKI, M. N.; BINI, C. Land contamination by toxic elements in abandoned mine areas in Italy. *J Soils Sediments*, 2015.

WANG, J.; FENG. X.; ANDERSON, C. W. N.; WANG, H.; WANG, I. Thiosulphate-induced mercury accumulation by plants: metal uptake and transformation of mercury fractionation in soil - results from a field study. *Plant Soil*, v.375, p.21–33, 2014.

YANG, G.; CHAOFENG, S.; MEITING, J. Heavy Metal Contamination Assessment and Partition for Industrial and Mining Gathering Areas. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, v. 11, p.286-303, 2014.

ZANCHETA, A. C. F.; ABREU, C. A.; ZAMBROSI, F. C. B.; ERISMANN, M. N.; LAGOA, A. M. M. A. Fitoextração de cobre por plantas cultivadas em solução nutritiva. *Bragantia*, v.4, p.737-744, 2011.

ZHAO, H.;XIA, B.;FAN, C.;ZHAO, P.; SHEN, S. Human health risk from soil heavy metal contamination under different land uses near Dabaoshan Mine, Southern China. *Science of The Total Environment*, v. 417–418, p.45–54, 2012.

ZEITOUNI, C. F.; BERTON, R. S.; ABREU, C. A. Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. *Bragantia*, v.66, n.4, p.649-657, 2007.

ZHANG, X; GAO, B.; XIA, H. Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of bana grass and vetiver Grass. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.106, p.102–108, 2014.

ZHUANG, P.; LU, H.; LI, Z.; ZOU, B.; McBride, m. b. Multiple Exposure and Effects Assessment of Heavy Metals in the Population near Mining Area in South China. *Plos*, v.9, p.484-495, 2014.