

SEÇÃO IX - POLUIÇÃO DO SOLO E QUALIDADE AMBIENTAL

SOLUBILIDADE, FRACIONAMENTO E FITOEXTRAÇÃO DE METAIS PESADOS APÓS APLICAÇÃO DE AGENTES QUELANTES⁽¹⁾

Évio Eduardo Chaves de Melo⁽²⁾, Clístenes Williams Araújo do
Nascimento⁽³⁾ & Ana Cristiane Queiroz Santos⁽²⁾

RESUMO

A baixa biodegradabilidade de quelantes sintéticos usados para induzir a fitoextração resulta em alto risco ambiental pela possibilidade de lixiviação de metais pesados. Agentes quelantes naturais, mais rapidamente degradados no solo, podem ser uma alternativa para os quelantes sintéticos. O objetivo deste trabalho foi comparar a performance de ácidos orgânicos naturais (gálico, cítrico e oxálico) com ácidos sintéticos (EDTA, DTPA e NTA) na fitoextração induzida de metais. O solo foi contaminado com 500, 300 e 200 mg kg⁻¹ de Pb, Zn e Cu, respectivamente, e cultivado com milho (*Zea mays*) e mucuna preta (*Stizolobium aterrimum*). Os agentes quelantes, na dose de 10 mmol kg⁻¹, foram aplicados no solo sete dias antes da coleta das plantas. Amostras do solo foram submetidas à extração com CaCl₂ e fracionamento. Os teores dos metais na solução do solo foram também determinados. Os quelantes sintéticos EDTA, DTPA e NTA foram eficientes na solubilização dos metais pesados no solo. Dentre os ácidos orgânicos naturais, apenas o ácido cítrico foi eficiente na solubilização dos metais nas primeiras vinte e quatro horas após a sua aplicação. A distribuição dos metais entre as frações apresentou a seguinte ordem: Pb: matéria orgânica (MO) > óxido de Fe amorfo (OxFeA) > trocável (Tr) > óxido de Fe cristalino (OxFeC); Cu: MO > Tr > OxFeC > OxFeA; e Zn: MO > Tr > OxFeC > OxFeA. De modo geral, a adição dos quelantes sintéticos provocou aumento nos teores trocáveis de Pb e Cu e redução nos teores de Pb, Cu e Zn nas frações óxidos de Fe amorfo e cristalino. O extrator CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ pode ser utilizado para predição da concentração de Pb, Cu e Zn na solução do solo.

Termos de indexação: fitorremediação, quelantes sintéticos, ácidos orgânicos, extração seqüencial.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Mestrado do primeiro autor, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Recebido para publicação em março de 2006 e aprovado em outubro de 2006.

⁽²⁾ Pós-graduando em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. CEP 52171-900 Recife (PE). E-mail: emelo_ufla@yahoo.com.br; queirozana@hotmail.com

⁽³⁾ Professor do Departamento de Agronomia da UFRPE. Pesquisador do CNPq. E-mail: cwanascimento@yahoo.com

SUMMARY: SOLUBILITY, PHYTOEXTRACTION AND FRACTIONATION OF HEAVY METALS AS A FUNCTION OF CHELATING AGENTS APPLIED TO SOIL

*The low biodegradability of synthetic chelating agents used for phytoextraction poses a great environmental risk due to the potential for metal leaching. Natural chelating agents can be an alternative to synthetic chelates due to their rapid biodegradability. The study aimed to compare the performance of natural organic acids (gallic, citric, and oxalic) to synthetic chelates/acids EDTA, DTPA, and NTA for induced phytoextraction of Pb, Cu and Zn by corn (*Zea mays*) and velvetbean (*Stizolobium aterrimum*). Soil samples were contaminated to concentrations: 500 (Pb), 300 (Zn), and 200 (Cu) mg kg⁻¹, and cultivated for 35 days. The chelators were applied at 10 mmol kg⁻¹ seven days before harvest. Soil samples were submitted to chemical extraction by CaCl₂ and chemical fractionation. Heavy metal concentrations in the soil solution were also determined. EDTA, DTPA, and NTA were effective at solubilizing the heavy metals. Citric acid was efficient to solubilize metals in the first 24 h after application. The metal distribution across soil fractions followed the sequence: Pb: MO > OxFeA > Tr > OxFeC; Cu: MO > Tr > OxFeC > OxFeA; and Zn: MO > Tr > OxFeC > OxFeA. In general, synthetic chelators increased the exchangeable contents of Pb and Cu and decreased Pb, Cu, and Zn contents in the amorphous and crystalline iron oxides fractions. The extractant CaCl₂ 0.01 mol L⁻¹ can be used to predict Pb, Cu, and Zn concentrations in soil solution.*

Index terms: Phytoremediation, synthetic chelators, organic acids, sequential extraction.

INTRODUÇÃO

A contaminação de metais pesados no solo resulta, principalmente, da aplicação de resíduos urbanos e industriais e do uso de fertilizantes e pesticidas na agricultura. Concentrações elevadas de metais no solo podem afetar a produtividade, a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas, constituindo risco para a saúde dos seres humanos e animais (Sun et al., 2001). Portanto, solos contaminados por metais pesados exigem ação remediadora que diminua os teores desses poluentes em níveis ambientalmente seguros.

As técnicas de recuperação de solos poluídos por metais pesados, como escavação e substituição do solo ou tratamento químico *ex situ*, têm sido eficazes em pequenas áreas (Mulligan et al., 2001). No entanto, essas técnicas, além de caras, causam grande impacto visual no meio. A fitorremediação, uso de plantas para remediar solos poluídos, tem sido sugerida como alternativa viável às técnicas tradicionais em razão dos menores custos e da maior aceitação pelo público (Chaney et al., 1997; Glass, 2000). A fitoextração, que é uma das técnicas mais eficientes de fitorremediação, envolve o cultivo de plantas que concentram metais pesados do solo na parte aérea, a qual pode então ser removida da área (Krämer, 2005; Nascimento & Xing, 2006). O sucesso da fitoextração depende da habilidade das plantas em acumular concentrações de metais pesados na parte aérea que sejam suficientemente elevadas para reduzir a concentração de metais no solo em níveis toleráveis, com poucos cultivos.

Duas estratégias de fitoextração podem ser utilizadas. A primeira é o uso de espécies hiperacumuladoras, plantas capazes de naturalmente acumular elevados teores de metais pesados na parte aérea, sem desenvolver quaisquer sintomas de toxidez (Baker & Brooks, 1989). No entanto, a baixa produção de biomassa e a baixa habilidade em acumular diversos metais desqualificam a maioria das hiperacumuladoras para fitoextração comercial. A segunda estratégia envolve o uso de espécies produtoras de grande biomassa, que são quimicamente induzidas a aumentar a eficiência de fitoextração de metais pela aplicação de agentes quelantes ao solo.

Diversos trabalhos têm demonstrado que a adição de quelantes sintéticos, como EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético), DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético) e NTA (ácido nitrilotriacético), aumenta a disponibilidade no solo e eleva eficientemente a concentração de metais pesados na parte aérea das plantas (Huang & Cunningham, 1996; Blaylock et al., 1997; Huang et al., 1997; Ebbs & Kochian, 1998; Wu et al., 1999). No entanto, a principal limitação para o uso de quelantes sintéticos no campo, especialmente EDTA, é sua baixa biodegradabilidade. Isto resulta na manutenção de elevados teores de metais solúveis no solo por longo período, o que aumenta os riscos de lixiviação (Meers et al., 2004).

Ácidos orgânicos naturais de baixo peso molecular, como os exsudados pelas raízes das plantas, influenciam solubilidade de metais pesados e sua absorção mediante formação de complexos metálicos

e têm sido estudados para fitoextração (Turgut et al., 2004; Quartacci et al., 2005; Nascimento et al., 2006). Esses ácidos orgânicos apresentam a vantagem de serem mais rapidamente degradados no solo que os quelantes sintéticos, evitando contaminação de lençóis freáticos. No entanto, sua eficiência na fitoextração de metais tem sido geralmente menor que a obtida pelo uso de quelantes sintéticos.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi comparar a performance de ácidos orgânicos naturais (ácido gálico, cítrico e oxálico) com ácidos sintéticos (EDTA, DTPA e NTA) na fitoextração induzida dos metais Pb, Cu e Zn por milho (*Zea mays*) e mucuna preta (*Stizolobium aterrimum*).

MATERIAL E MÉTODOS

O solo utilizado no experimento, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico, foi coletado no Campus da UFRPE. Amostras do solo (TFSA) foram utilizadas para a caracterização química e física (Quadro 1), conforme Embrapa (1999).

O solo seco ao ar, destorroado e homogeneizado foi passado em peneira de 4 mm de abertura de malha. A acidez foi corrigida para pH em H₂O na faixa de 6,5–7,0, utilizando carbonato de cálcio e magnésio (na proporção molar de 3:1), em quantidades previamente definidas em ensaio de incubação. Os solos foram contaminados com soluções de (PbCO₃)₂.Pb(OH)₂, ZnCO₃ e CuCO₃.Cu(OH)₂, com vistas em elevar a concentração de metais no solo para 500, 300 e 200 mg kg⁻¹ de Pb, Zn e Cu, respectivamente. Após a adição das soluções, as amostras de solo permaneceram incubadas, durante 30 dias, e mantidas em umidade com 80 % da capacidade de campo. Após o período de incubação, foram fornecidos 250, 240, 150 e 100 mg kg⁻¹ de N, P, K e S, respectivamente, na forma

Quadro 1. Características químicas e físicas do solo utilizado no experimento

Característica	Resultado
pH (água 1:2,5)	4,3
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,82
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,55
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50
P (mg dm ⁻³)	12,00
K (cmol _c dm ⁻³)	0,05
Na (cmol _c dm ⁻³)	0,14
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	4,95
M. O. (g kg ⁻¹)	7,84
Areia (g kg ⁻¹)	566
Silte (g kg ⁻¹)	48
Argila (g kg ⁻¹)	386

de NH₄SO₂, NH₄H₂PO₄ e KNO₃. Os micronutrientes Fe (FeSO₄.7H₂O), Mn (MnCl₂.4H₂O), B (H₃BO₃) e Mo (Na₂MoO₄.2H₂O) foram aplicados em concentrações de 2, 4, 1 e 0,2 mg kg⁻¹, respectivamente. As amostras de solo foram então transferidas para vasos de 1 dm³, nos quais foram cultivados milho (*Zea mays*) e mucuna preta (*Stizolobium aterrimum*) por 35 dias. Durante o ensaio, as amostras foram mantidas com 80 % da capacidade de retenção de água, mediante pesagem e irrigação diárias com água destilada para complementação da água perdida por evapotranspiração.

Os tratamentos foram constituídos por seis agentes quelantes, sendo três ácidos orgânicos naturais (ácido gálico, cítrico e oxálico) e três agentes sintéticos (EDTA, DTPA e NTA) aplicados na concentração de 10 mmol kg⁻¹ sete dias antes da coleta das plantas. Um controle (solo contaminado sem a adição de ácido) e uma testemunha (vaso com solo não contaminado e sem a adição de ácido) foram usados para avaliar o efeito dos metais e dos ácidos na produção da matéria seca das plantas.

A avaliação dos efeitos dos quelantes na solubilização dos metais foi realizada a partir de duas coletas da solução obtida por um amostrador de solução do solo (Rhizon®, SMS: Eijkelkamp, The Netherlands), colocado no centro de cada pote. As amostras da solução foram obtidas por sucção, utilizando seringas no 1° e no 7° dia, após a aplicação dos ácidos.

Após a segunda coleta da solução, as raízes e a parte aérea das plantas foram coletadas. As raízes foram lavadas abundantemente em água de torneira e em água destilada. Em seguida, juntamente com a parte aérea, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C até peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e da raiz, as quais foram trituradas em moinho tipo Wiley e submetidas à digestão nítrico-perclórica (Embrapa, 1999) para quantificação dos teores de metais pesados por espectrofotometria de absorção atômica.

A remoção líquida dos metais do solo foi calculada pela seguinte fórmula: Remoção = PA x MS, em que PA = Concentração na parte aérea e MS = Produção de matéria seca.

As amostras do solo foram secas, homogeneizadas e passadas em peneira de 2 mm de abertura de malha. Subamostras do solo foram coletadas para determinação dos teores disponíveis de Pb, Cu e Zn por CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (Novozamsky et al., 1993). Este extrator foi escolhido graças à sua capacidade para extrair metais apenas da fase prontamente disponível.

A extração seqüencial foi baseada no método de Shuman (1985), com exceção da fração óxido de Fe amorfo, que foi obtida por meio do método de Chao & Zhou (1983). Esse fracionamento separou os metais nas frações trocáveis, ligados à matéria orgânica, óxido de Fe amorfo e óxido de Fe cristalino.

O ensaio foi montado em esquema fatorial, e distribuído segundo o delineamento de blocos casualizados, utilizando-se seis ácidos orgânicos e duas espécies vegetais, acrescidos de um tratamento-controle e uma testemunha, com três repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de média (Scott Knott a 5 %), utilizando-se o software SAEG 9.0 (Sistema para Análises Estatísticas) da Universidade Federal de Viçosa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição de metais pesados e as aplicações dos agentes quelantes tiveram forte influência sobre a produção de matéria seca de parte aérea e de raiz das duas espécies (Quadro 2). A produção de matéria seca foi significativamente menor no tratamento-controle (sem adição de ácido), comparativamente àquela obtida no solo não contaminado. A fitotoxicidade dos metais provocou redução de 92 e 85 % no crescimento radicular, e de 96 e 81 % na parte aérea das plantas de milho e mucuna, respectivamente.

Dentre os ácidos orgânicos, o ácido oxálico foi o mais tóxico, reduzindo significativamente a produção de matéria seca da parte aérea da mucuna preta 19 e 22 % em relação ao ácido gálico e o cítrico. Para os quelantes sintéticos, o DTPA e o NTA reduziram a biomassa da parte aérea em 12 e 22 % quando comparados com o EDTA. De modo geral, a menor produção de matéria seca da parte aérea foi obtida no tratamento com NTA. Este resultado discorda daqueles de Wenger et al. (2003), que propuseram a utilização do NTA na fitoextração induzida em razão da baixa fitotoxicidade do quelante. Para o milho, os ácidos naturais e sintéticos não apresentaram diferença significativa na produção de matéria seca da parte aérea e da raiz quando comparada à do controle.

A mucuna produziu maior quantidade de matéria seca de raiz e parte aérea que o milho, principalmente

nos tratamentos em solos contaminados (Quadro 2). Entre os ácidos orgânicos naturais, o oxálico provocou redução de 15 % na produção de biomassa da parte aérea da mucuna em relação ao controle, em razão da toxicidade do ácido. Com a aplicação do EDTA, as produções de matéria seca da raiz e parte aérea não apresentaram redução quando comparadas com as do controle, porém o DTPA e o NTA apresentaram reduções de 14 e 24 %, respectivamente, para a matéria seca da parte aérea.

O EDTA foi o quelante que solubilizou maior quantidade de metais para a solução do solo (Figura 1). A aplicação de EDTA tem-se mostrado altamente eficiente em aumentar a solubilidade de metais pesados (Blaylock et al., 1997; Lai & Chen, 2004; Nascimento et al., 2006). A concentração de Pb na solução aumentou 92 e 94 % no 1º e 7º dia, respectivamente, após a aplicação de EDTA. Em média, o EDTA provocou aumento de 97 e 64 % de Cu e Zn, respectivamente, na solução do solo. Essa alta eficiência, entretanto, deve ser confrontada com a elevada persistência do EDTA no solo. Lombi et al. (2001) encontraram o quelante na solução do solo cinco meses depois de sua aplicação. Nossos dados mostraram redução na concentração de metais na solução entre o 1º e o 7º dia após a adição do EDTA de 32, 11 e 58 % para o Pb, Cu e Zn, respectivamente. Mesmo assim, isso significa concentrações na solução do solo tão elevadas quanto 30, 36 e 63 mg L⁻¹ de Pb, Cu e Zn, respectivamente, o que indica alto risco de lixiviação de metais no perfil do solo.

A aplicação do ácido cítrico aumentou em 75, 92 e 52 % as concentrações de Pb, Cu e Zn na solução do solo. No entanto, reduziu em 87, 96 e 53 % as concentrações desses metais entre as coletas da solução do 1º para o 7º dia. Os outros ácidos naturais, como o gálico, apresentaram redução de 52, 33 e 33 % para Pb, Cu e Zn; e o oxálico, de 71, 80 e 40 % para Pb, Cu e Zn, respectivamente. Corroborando esses resultados, os dados de Ström et al. (2001) demonstram que um terço do ácido cítrico foi mineralizado no solo após 24 h,

Quadro 2. Matéria seca da raiz e parte aérea em milho e mucuna preta submetidas à aplicação de ácidos orgânicos (10 mmol kg⁻¹) em solo contaminado com Pb, Cu e Zn

Matéria seca	Testemunha	Controle	Gálico	Cítrico	Oxálico	EDTA	DTPA	NTA
g/vaso								
Milho								
Parte Aérea	8,38 a	0,31 b	0,41 b	0,30 b	0,30 b	0,34 b	0,32 b	0,36 b
Raiz	3,56 a	0,28 b	0,33 b	0,29 b	0,26 b	0,23 b	0,31 b	0,24 b
Mucuna Preta								
Parte Aérea	8,73 a	1,63 b	1,71 b	1,76 b	1,38 c	1,59 b	1,40 c	1,23 d
Raiz	3,51 a	0,51 d	0,68 b	0,74 b	0,59 c	0,57 c	0,63 c	0,42 d

Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P < 0,05).

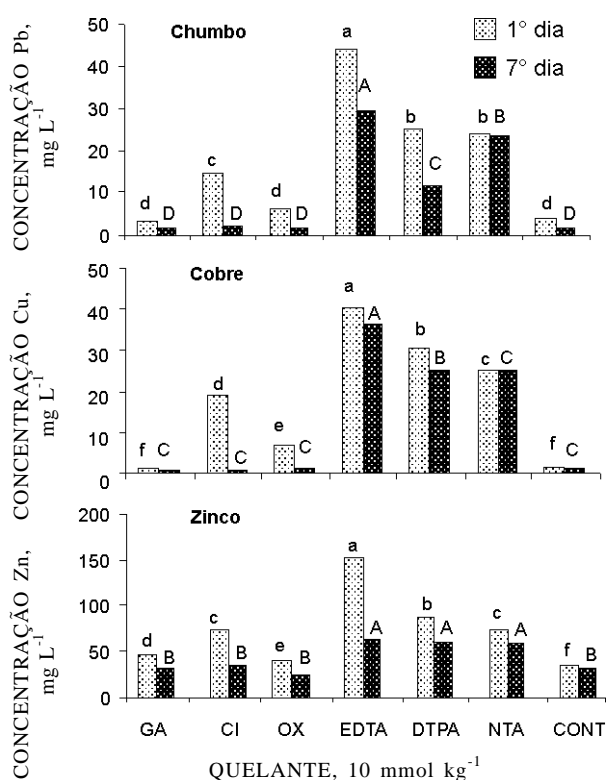


Figura 1. Concentração de Pb, Cu e Zn na solução do solo no 1º e no 7º dia após as aplicações dos quelantes. GA, ácido gálico; CI, ácido cítrico; OX, ácido oxálico; CONT, controle. As letras minúsculas comparam os tratamentos no 1º dia e as maiúsculas comparam os tratamentos no 7º dia. Letras iguais não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, $P < 0,05$).

enquanto apenas 7 % do ácido oxálico foi degradado no mesmo período. A menor taxa de degradação do ácido gálico observada neste trabalho parece ser devida ao seu caráter aromático, que o torna mais resistente à decomposição.

Vale a pena destacar que um ácido orgânico natural (ácido cítrico) apresentou alta habilidade em mobilizar metais no solo, embora seu rápido desaparecimento da solução não mantenha os metais solúveis por tempo suficiente para eficiente fitoextração (Figura 1). Portanto, estudos posteriores devem focar estratégias visando diminuir a rápida biodegradação desse ácido a taxas adequadas para fitoextração. O ácido oxálico, com exceção para o Pb, aumentou a concentração de metais na solução, quando comparado com o controle. O ácido gálico não apresentou efeito significativo no aumento das concentrações dos metais na solução, provavelmente em razão da sua baixa solubilidade.

Para o milho, com exceção do ácido gálico para o Cu e do oxálico para o Zn, a adição dos quelantes no solo aumentou significativamente a concentração de Pb, Cu e Zn na parte aérea, quando comparado com o controle, principalmente para os quelantes sintéticos (Quadro 3). Ao contrário do observado no milho, para mucuna preta, os quelantes não aumentaram a concentração de Zn na parte aérea, provavelmente em razão da alta mobilidade desse elemento na planta. Para Pb e Cu apenas os ácidos sintéticos apresentaram aumento significativo na concentração desses metais na parte aérea da mucuna (Quadro 4).

De modo geral, o EDTA foi o quelante mais eficiente para induzir a fitoextração de Pb, Cu e Zn para as duas espécies testadas. Os tratamentos com

Quadro 3. Concentração de metal pesado na parte aérea e raiz de milho em solo após aplicação de 10 mmol kg⁻¹ de quelantes

Controle	Gálico	Cítrico	Oxálico	EDTA	DTPA	NTA
mg kg ⁻¹						
Chumbo						
			Parte aérea			
83,9 f	174,4 e	307,0 d	357,4 d	2115,9 a	901,74 c	1057,3 b
			Raiz			
721,9 e	2108,8 c	1262,1 d	2035,6 c	4959,3 a	2704,0 b	1958,4 c
Cobre						
			Parte aérea			
310,2 e	375,6 e	1725,7 b	657,6 d	2974,9 a	1284,5 c	3218,9 a
			Raiz			
2256,8 d	3740,0 c	2699,6 d	3238,2 c	9610,6 a	3983,8 c	4826,2 b
Zinco						
			Parte aérea			
18074,4 c	24110,6 b	33910,1 a	17684,0 c	22021,2 b	20477,9 b	21747,7 b
			Raiz			
23490,0 b	27795,2 a	22443,4 b	21113,9 b	22748,5 b	19142,6 c	13732,5 d

Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, $P < 0,05$).

Quadro 4. Concentração de metal pesado na parte aérea e raiz de mucuna preta em solo após aplicação de 10 mmol kg⁻¹ de quelantes

Controle	Gálico	Cítrico	Oxálico	EDTA	DTPA	NTA
mg kg ⁻¹						
			Chumbo			
37,8 c	39,8 c	38,5 c	Parte aérea 46,5 c	415,4 a	160,0 b	100,7 b
			Raiz			
4566,9 c	4574,4 c	2318,3 e	2336,3 e	5047,7 b	5971,3 a	4123,4 d
			Cobre			
47,8 c	75,1 c	235,8 c	Parte aérea 72,8 c	762,1 a	1029,6a	464,5b
			Raiz			
18427,3 a	13388,6 b	13253,9 b	11306,5 c	8190,4 d	7901,3 d	103256,7 c
			Zinco			
11486,0 a	9662,3 a	8565,1 a	Parte aérea 7321,8 a	11626,5 a	11468,3 a	9417,5 a
			Raiz			
20540,1 b	25233,3 a	20346,4 b	20346,4 b	14608,8 c	13855,2 c	13906,3 c

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P < 0,05).

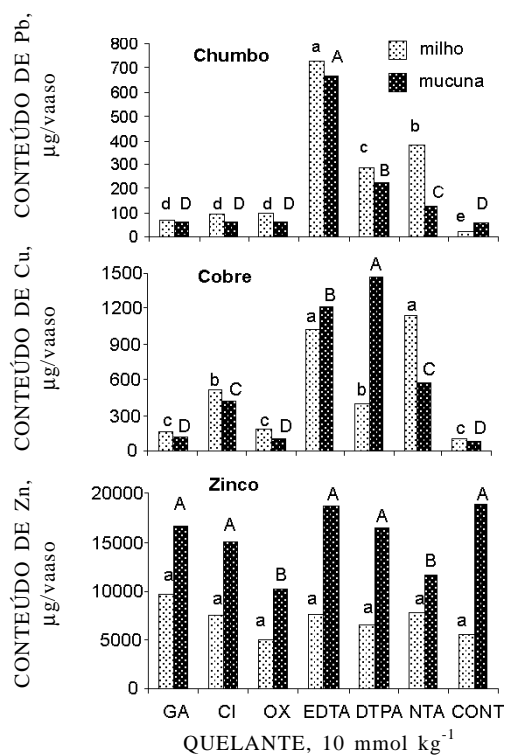


Figura 2. Remoção de Pb, Cu e Zn pela parte aérea do milho e da mucuna em solo tratado com 10 mmol kg⁻¹ de quelantes. As letras minúsculas comparam os tratamentos no milho e as maiúsculas, os tratamentos na mucuna preta. Letras iguais não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott, P < 0,05). GA = Ácido gálico; CI = Ácido cítrico; OX = Ácido oxálico; CONT = Controle.

aplicação de EDTA aumentaram aproximadamente 25, 10 e 1,3 vezes as concentrações de Pb, Cu e Zn, respectivamente, na parte aérea do milho (Quadro 3) e 11 e 16 vezes, respectivamente, as concentrações de Pb e Cu, na parte aérea da mucuna (Quadro 4). Em concordância com esses dados, Lasat (2000) observou que a adição de 10 mmol kg⁻¹ de EDTA em solo contaminado aumentou para 1,6 % a acumulação de Pb na parte aérea de milho. Segundo Wu et al. (2004), também a adição de 3 mmol kg⁻¹ de EDTA aumentou as concentrações de Cu e Pb na parte aérea de *Brassica juncea*.

O tratamento com EDTA foi superior em termos de solubilidade do Pb do solo para absorção de raiz e translocação para parte aérea em razão, provavelmente, de sua forte afinidade química ($\log K_s = 17,88$) com o elemento (Luo et al., 2005). Embora o DTPA apresente uma constante de estabilidade com Pb ($\log K_s = 18,7$) superior à do EDTA (Martell & Smith, 1974), para Nascimento et al. (2006), a eficiência do DTPA em solubilizar Pb pode ser reduzida graças à competição desse elemento com outros metais pela ligação ao quelante. O NTA aumentou de 13, 10 e 1,2 vezes a concentração de Pb, Cu e Zn na parte aérea do milho (Quadro 3). Para mucuna, o quelante aumentou de 3 e 10 vezes a concentração de Pb e Cu na parte aérea, não apresentando efeito sobre a concentração de Zn (Quadro 4).

O sucesso da remoção de metais em solos contaminados deve ser visto como uma combinação de concentrações de metais suficientemente altos na parte aérea e alta produção de biomassa, comparativamente a apenas um destes fatores

isoladamente (Nascimento et al., 2006). Portanto, a eficiência de cada espécie em retirar os metais pesados do solo pode ser avaliada pela remoção líquida dos metais.

Apesar de o milho apresentar maior concentração de metais pesados na parte aérea, os resultados mostraram que a mais alta produção de biomassa da mucuna compensou a baixa concentração de metais na parte aérea desta espécie. Isto resultou em maior remoção de metais pesados do solo pela mucuna que pelo milho (Figura 2).

Os ácidos orgânicos naturais não apresentaram resultado significativo para a remoção do Pb e Zn do solo pelas plantas (Figura 2). Apenas o ácido cítrico foi eficiente na remoção do Cu do solo quando comparado com o controle, corroborando os resultados encontrados por Nascimento et al. (2006) e a potencialidade deste quelante para futuros estudos sobre fitoextração de Cu.

Os teores de Pb, Cu e Zn extraídos por CaCl_2 aumentaram com a aplicação dos ácidos sintéticos no solo (Quadro 5). Esse resultado não foi verificado para os ácidos orgânicos provavelmente por terem os metais inicialmente solúveis sofrido re-precipitação e, ou, re-adsorção pelo solo, considerando a rápida biodegradação de tais compostos no longo período entre o final do experimento até à obtenção da amostra para a realização da extração, cerca de 15 dias.

As correlações positivas e significativas, a 1 % de probabilidade, entre os teores de metais extraídos por CaCl_2 e a solução do solo para as duas coletas mostram ser o extrator eficiente para estimar as concentrações de metais que estão disponíveis para serem absorvidos pela planta (Quadro 6). Pueyo et al. (2004) observaram que o CaCl_2 foi o extrator mais apropriado para avaliar a biodisponibilidade de Cd, Pb, Cu e Zn em solo contaminado. Neste trabalho, verificou-se que a solução de CaCl_2 pode ser útil, comparativamente a amostradores de solução do solo de custo elevado como o utilizado neste trabalho, para a concentração de metais na solução do solo.

Houve aumento significativo nos teores de Pb e Cu na fração trocável apenas com a adição dos quelantes sintéticos (Quadro 7). Este resultado indica que apenas os quelantes sintéticos são capazes de solubilizar

altos teores de metais pouco solúveis, tais como Pb e Cu, por períodos suficientemente longos para a absorção vegetal. Deve-se ressaltar, no entanto, que o fracionamento das amostras de solo foi efetuado após o final do experimento (15 dias após aplicação dos quelantes). Portanto, o efeito dos ácidos orgânicos naturais sobre a solubilidade havia desaparecido, conforme observado na figura 2. Isto sugere a necessidade de mais estudos sobre a cinética de solubilização e absorção de metais em solos tratados com esses ácidos.

O aumento do teor de Pb trocável após a adição dos quelantes sintéticos foi provavelmente causado pela transferência desse metal da fração residual (Sun et al., 2001). No caso do Cu, além da fração residual, as frações óxido de Fe amorfo, cristalino e matéria orgânica contribuíram para o aumento da concentração do elemento na fração trocável (Quadro 7).

A matéria orgânica foi a principal responsável pela retenção de Pb, Cu e Zn no solo. Os teores de Pb (exceto no tratamento com ácido gálico), Cu (exceto no tratamento com ácido cítrico) e de Zn ligados à fração matéria orgânica foram significativamente aumentados pela adição dos ácidos orgânicos (Quadro 7). Foram observadas altas correlações negativas entre os teores de Cu e Zn ligados à matéria orgânica e a concentração desses elementos na solução (Quadro 6). Isso sugere que Cu e Zn ligados a esta fração não estão pronta e imediatamente em equilíbrio com a solução do solo.

As frações de óxido de Fe amorfo e cristalino apresentaram os menores valores de retenção de Cu e Zn (Quadro 7), o que seria esperado para solos recentemente contaminados como o utilizado no presente trabalho. Todos os quelantes reduziram a concentração de Cu ligado à fração óxido de Fe amorfo, enquanto apenas os ácidos sintéticos (EDTA, DTPA e NTA) reduziram o teor de Zn nessa fração. Estes resultados demonstram que os quelantes são capazes de remobilizar metais de frações menos solúveis, tornando-os disponíveis para fitoextração.

Para a fração óxido de Fe cristalino, com exceção do ácido oxálico, os ácidos adicionados ao solo apresentaram significativa redução dos teores de Cu (Quadro 7). No entanto, os teores de Pb (exceto ácido oxálico, gálico e EDTA) e de Zn (exceto ácido oxálico) não apresentaram redução quando comparados aos do controle.

Quadro 5. Teores de metais extraídos por CaCl_2 em solo contaminado após aplicação de 10 mmol kg^{-1} de agentes quelantes

Metal	Controle	Gálico	Cítrico	Oxálico	EDTA	DTPA	NTA
	mg dm ⁻³						
Pb	0,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 d	24,8 a	7,3 b	5,5 c
Cu	3,5 b	1,7 b	1,5 b	3,7 b	54,2 a	57,4 a	55,5 a
Zn	74,1 c	79,5 c	72,5 c	58,0 d	85,51 b	106,5 a	87,2 b

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott com $P < 0,05$).

Quadro 6. Correlações de Pearson entre o disponível e as frações do solo (mg dm⁻³) com a solução do solo (mg L⁻¹) coletada no 1° e no 7° dia após a aplicação de quelantes ao solo

	CaCl ₂	Tr	MO	OxFeA	OxFeC
Chumbo					
CaCl ₂	-	0,42*	0,44*	NS	NS
Sol. do 1º dia	0,87**	0,55**	NS	NS	NS
Sol. do 7º dia	0,86**	0,67**	NS	NS	NS
Cobre					
CaCl ₂	-	0,95**	-0,99**	-0,82**	-0,89**
Sol. do 1º dia	0,85**	0,74**	-0,86**	-0,79**	-0,75**
Sol. do 7º dia	0,90**	0,80**	-0,88**	-0,75**	-0,78**
Zinco					
CaCl ₂	-	-0,70**	-0,84**	-0,67**	-0,83**
Sol. do 1º dia	0,47*	-0,42*	-0,40*	NS	NS
Sol. do 7º dia	0,77**	-0,70**	-0,80**	-0,64**	-0,58**

Trocável (Tr), matéria orgânica (MO), óxido de Fe amorfo (OxFeA) e óxido de Fe cristalino (OxFeC).
 P < 0,05; ** P < 0,01; NS: não-significativo.

Quadro 7. Concentração de metal nas frações do solo: trocável (Tr), matéria orgânica (MO), óxido de ferro amorfo (OxFeA) e óxido de ferro cristalino (OxFeC) após aplicação de 10 mmol kg⁻¹ de quelantes

Fração	Controle	Gálico	Cítrico	Oxálico	EDTA	DTPA	NTA
mg dm ⁻³							
Chumbo							
Tr	7,3 c	9,7 c	8,4 c	5,9 c	12,3 b	16,1 a	16,5 a
MO	68,2 c	79,2 c	126,9 b	182,0 a	185,7 a	106,7 b	53,5 c
OxFeA	8,6 a	12,7 a	3,9 a	7,5 a	13,2 a	3,8 a	3,3 a
OxFeC	4,4 b	6,3 a	3,8 b	5,6 a	6,4 a	4,0 b	4,2 b
Cobre							
Tr	10,0 c	6,9 e	7,0 e	8,0 d	14,0 b	16,8 a	14,6 b
MO	79,6 c	91,4 a	80,3 c	84,9 b	19,2 d	15,9 d	14,6 d
OxFeA	5,8 a	2,7 c	3,1 c	5,2 b	1,2 d	1,2 d	0,9 d
OxFeC	4,4 b	3,3 d	4,0 c	5,4 a	2,0 e	1,6 f	1,6 f
Zinco							
Tr	53,8 c	86,3 a	79,4 b	78,8 b	53,2 c	39,8 d	48 c
MO	72,1 b	98,2 a	94,4 a	97,7 a	64,0 c	26,0 e	40,5 d
OxFeA	1,1 a	1,2 a	1,4 a	1,4 a	0,8 b	0,4 b	0,3 b
OxFeC	1,4 b	1,2 b	1,3 b	1,7 a	1,3 b	1,0 c	1,3 b

Os valores com letras iguais, na linha, não diferem estatisticamente de acordo com Teste Scott-Knott com P < 0,05.

O resultado do fracionamento não coincide com a hipótese de Elliott & Shastri (1999) de que a adição de EDTA remove metais pesados das frações mais lábeis do solo (trocável, matéria orgânica e associadas a carbonato) e são ineficientes na remoção de metais de frações mais estáveis (óxidos de Fe/Mn e residual). A utilização do EDTA como quelante favorece o aumento da concentração de metais na solução do solo dada

a alta capacidade do quelante em formar complexos com metais lábeis e a extração de formas não-disponíveis dos metais, inclusive pela dissolução de óxidos de Fe. Isto possivelmente decorre do curto período de incubação utilizado neste trabalho. Para maiores tempos de contato entre solo e metais, provavelmente, as frações menos lábeis tornar-se-iam mais estáveis, com diminuição na eficiência de extração dos quelantes.

CONCLUSÕES

1. Os quelantes sintéticos EDTA, DTPA e NTA foram eficientes na solubilização dos metais pesados no solo. Dentre os ácidos orgânicos naturais, apenas o ácido cítrico foi eficiente na solubilização dos metais nas primeiras 24 h após sua aplicação.

2. A adição de quelantes sintéticos aumentou a concentração de Pb, Cu e Zn na parte aérea de milho e de Pb e Cu, em mucuna. Os ácidos orgânicos naturais não aumentaram a concentração de metais na parte aérea da mucuna; para milho, o ácido cítrico foi eficiente em induzir a fitoextração de Pb, Cu e Zn, enquanto os ácidos gálico e oxálico foram eficientes para Cu e Zn, respectivamente.

3. A distribuição dos metais entre as frações apresentou a seguinte ordem: Pb: MO > O_xFeA > Tr > O_xFeC; Cu: MO > Tr > O_xFeC > O_xFeA e Zn: MO > Tr > O_xFeC > O_xFeA. De modo geral, a adição dos quelantes sintéticos provocou aumento nos teores trocáveis para Pb e Cu; e redução nas frações óxidos de Fe amorfo e cristalino para o Pb, Cu e Zn.

4. O extrator CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ pode ser utilizado para predição da concentração de Pb, Cu e Zn na solução do solo.

LITERATURA CITADA

- BAKER, A.J.M. & BROOKS, R.R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1:81-126, 1989.
- BLAYLOCK, M.J.; SALT, D.E.; DUSHENKOV, S.; ZAKHAROVA, O.; GUSSMAN, C.; KAPULNIK, Y.; ENSLEY, B.D. & RASKIN, I. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, 31:860-865, 1997.
- CHANEY, R.L.; MALIK, M.; LI, Y.M.; BROWN, S.L.; BREWER, E.P.; ANGLE, J.S. & BAKER, A.J.M. Phytoremediation of soil metals. *Current. Opinion Biotechnol.*, 8:279-284, 1997.
- CHAO, T.T. & ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 47:224-232, 1983.
- EBBS, S.D. & KOCHIAN, L.V. Phytoremediation of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and Indian mustard (*Brassica juncea*). *Environ. Sci. Technol.*, 32:802-806, 1998.
- ELLIOTT, H.A. & SHASTRI, N.L. Extractive decontamination of metal-polluted soils using oxalate. *Water Air Soil Pollut.*, 110:335-346, 1999.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370 p.
- GLASS, D.J. Economical potential of phytoremediation. In: RASKIN, I. & ENSLEY, B.D., eds. *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment*. New York, John Wiley & Sons, 2000. p.15-31.
- HUANG, J.W. & CUNNINGHAM, S.D. Lead phytoextraction: Species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol.*, 134:75-84, 1996.
- HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W.R. & CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.*, 31:800-805, 1997.
- KRÄMER, U. Phytoremediation: Novel approaches to cleaning up polluted soils. *Cur. Opinion Biotechnol.*, 16:1-9, 2005.
- LAI, H. & CHEN, Z. Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc, and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass. *Chemosphere*, 55:421-430, 2004.
- LASAT, M.M. Phytoremediation of metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *J. Hazardous Subst. Res.*, 2:1-25, 2000.
- LOMBI, E.; ZHAO, F.J.; DUNHAM, S.J. & McGRATH, S.P. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *J. Environ. Qual.*, 30:1919-1926, 2001.
- LUO, C.; SHEN, Z. & LI, X. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere*, 59:1-11, 2005.
- MARTELL, W.E. & SMITH, W.M. Critical stability constants. Amino acids. New York, Plenum Press, 1974. 469p.
- MEERS, E.; HOPGOOD, M.; LESAGE, E.; VERVAEKE, P.; TACK, F.M.G. & VERLOO, M.G. Enhanced phytoextraction: In Search of EDTA Alternatives. *Inter. J. Phytorem.*, 6:95-109, 2004.
- MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N. & GIBBS, B.F. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: An evaluation. *Eng. Geol.*, 60:193-207, 2001.
- NASCIMENTO, C.W.A & XING, B. Phytoremediation: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Sci. Agric.*, 63:299-311, 2006.
- NASCIMENTO, C.W.A; AMARASIRIWARDENA, D. & XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environ. Pollut.*, 140:114-123, 2006.
- NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.M. & HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51:47-58, 1993.
- PUEYO, M.; RAURET, G.; LUCK, D.; YLI-HALLA, M.; MUNTAU, H.; QUEVAUVILLE, P.H. & LOPEZ-SANCHEZ, J.F. Assessment of CaCl₂, NH₄NO₃ and NaNO₃ extraction procedures for the study of Cd, Pb and Zn extractability in contaminated soils. *Anal. Chim. Acta.*, 504:217-226, 2004.

- QUARTACCI, M.F.; BAKER, A.J.M. & NAVARI-IZZO, F. Nitrilotriacetate and citric acid assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, Brassicaceae). *Chemosphere*, 59:1249-1255, 2005.
- SHUMAN, L.M. Fractionation method for soil microelements. *Soil Sci.*, 140:11-22, 1985.
- STRÖM, L.; OWEN, A.G.; GODBOLD, D.L. & JONES, D.L. Organic acid behaviour in a calcareous soil: Sorption reactions and biodegradation rates. *Soil Biol. Biochem.*, 33:2125-2133, 2001.
- SUN, B.; ZHAO, F.J.; LOMBI, E. & McGRATH, S.P. Leaching of heavy metals from contaminated soils using EDTA. *Environ. Pollut.*, 113:111-120, 2001.
- TURGUT, C.; PEPE, M.K. & CUTRIGHT, T.J. The effect of EDTA and citric acid on phyto remediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Environ. Pollut.*, 131:147-154, 2004.
- WENGER, K.; GUPTA, S.K.; FURRER, G. & SCHULIN, R. The role of nitrilotriacetate in copper uptake by tobacco. *J. Environ. Qual.*, 32:1669-1676, 2003.
- WU, J.; HSU, F.C. & CUNNINGHAM, S.D. Chelate-assisted Pb phyto remediation: Pb availability, uptake, and translocation constraints. *Environ. Sci. Technol.*, 33:1898-1904, 1999.
- WU, L.H.; LUO, Y.M.; XING, X.R. & CHRISTIE, P. EDTA-enhanced phyto remediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agric. Ecosys. Environ.*, 102:307-318, 2004.