

**COMPORTAMENTO DE Cd, Cr, Cu, Ni E Zn EM LATOSSOLOS
SUCESSIVAMENTE TRATADOS COM BIOSSÓLIDO: EXTRAÇÃO
SEQÜENCIAL, FITODISPONIBILIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE
SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**

EDNA IVANI BERTONCINI

Engenheiro Agrônomo

Orientadora: Profa. Dra. **MARIA EMÍLIA MATTIAZZO-PREZOTTO**

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

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Janeiro – 2002

ERRATA

- 1- onde se lê **um ano e meio após a última aplicação** leia-se **sete meses após a última aplicação**.
- 2- Na Tabela 11, página 104, onde se lê **mg kg⁻¹** leia-se **g kg⁻¹**.
- 3- Nas Tabelas 17, 18, 19 e 20 (págs. 166,167, 169, 170, respectivamente), a unidade dos teores totais é **mg kg⁻¹**.
- 4- **SUMMARY** (páginas xiii, xiv e xiv), corrigido, segue abaixo:

BEHAVIOR OF Cd, Cr, Cu, Ni AND Zn IN OXISOLS SUCCESSIVELY TREATED WITH BIOSOLID: SEQUENTIAL EXTRACTION, PLANT AVAILABILITY AND HUMIC SUBSTANCES CHARACTERIZATION

The agricultural use of biosolid is recent in Brazil and some studies have been shown that this practice improves not only the soil fertility but also the crop production. However, the presence of heavy metals in sludges can represent a risk to the environmental quality, since these elements can be absorbed by plants and /or leached through the soil profile. The present work aimed at studying some aspects related to the consequences of biosolid disposal in Brazilian Oxisols. Specifically, the following topics were investigated: (1) plant availability of Cd, Cr, Cu, Ni and Zn in Oxisols treated with biosolid, (2) distribution of these metals on the soil solid phases after the biosolid application and (3) changes in the soil humic substances as a consequence of biosolid addition. The soils employed in this study, classified according to Brazilian classification in Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico (Typic Hapludox) and Latossolo Vermelho Distrófico (Rhodic Hapludox), were put in 0,5 m³ – vases, disposed outdoor, and treated with biosolid in a quantity equivalent to 388 Mg ha⁻¹ (dry basis), divided into five applications. The biosolid was proceeding from SABESP sewage treatment plant situated in Barueri (SP) where the sewage is submitted to aerobic and anaerobic digestions and the sludges are treated with Ca(OH)₂ and FeCl₃. Seven months after the last application of biosolid, the soil samples were collect in two layers: 0 – 0.25 m and 0.25 – 0.50 m. These samples were characterized in relation to their chemical, electrochemical and mineralogical properties. Besides, it was carried out the characterization of humic substances and the sequential extraction of Cd, Cr, Cu, Ni and Zn. Finally, sugarcane (RB72454 variety) was grown in the vases in order to evaluate the availability of those metals for this species and the effects of biosolid additions on the sugarcane production. The use of biosolid resulted in the increase of sugarcane production and there were no alterations in quality parameters such as: BRIX, POL%CA and total reducer sugar. However, the purity and the greater contents of reducer sugar were observed in plants grown in treated soils and the smaller fiber contents were associated to the canes produced in soils that received biosolid. The Cr, Cu, Ni and Zn leaf contents increased in soils treated with sludge while the Cd ones were not detected. It was not verified significant contents of Ni and Cd in the sugarcane juice obtained from treatments that received biosolid. In relation to Cr, it was detected high contents of this element in the sugarcane juice only for plants grown in Typic Hapludox treated with biosolid. There was no effect of treatments on Cu and Zn leaf contents, which were considered adequate. The characterization of humic acids isolated from biosolid showed that this sludge present a small degree of humification (low C/N and high H/C ratios, small quantities of free radicals). The addition of biosolid in soils reduced the humification degree of native humic acids. The presence of a great number of phenolic groups in biosolid, whose pKa are higher than soil pH values, probably explain the low effectiveness of this sludge in increasing the cation exchange capacities of treated soils. For the humic acids isolated from biosolid and treated soils, the low values for E4/E6 ratio and the presence C=O bands in FTIR spectra indicated the addition of aromatic compounds to soil humic acids. However, the fluorescence spectra showed that these aromatic compounds are lesser condensed than ones present in soils that did not received biosolid. In relation to interactions between humic substances and metals, the use of spectroscopic tools, specifically FTIR and fluorescence analyses, revealed the existence of bonds between metals and humic substances. Additionally, fluorescence analyses revealed differences between treated soils in relation to stability of humic substances – metals bonds. The sequential extraction of heavy metals showed that the Cd coming from biosolid was mainly associated to carbonates. It was also observed significant amounts of Ni and Zn in carbonate fraction. Thus, it is probable that the decrease in pH values of the studied soils can result in desorption of these metals. In the treated soils, the metals Cr, Cu and Ni were mainly associated to organic fraction. This indicates that in spite of the low humification degree of humic substances present in the biosolid, this fraction has an important role in metal retention. It was observed for both studied soils the possibility of Cr, Cu, Ni and Zn leaching to 0.25 – 0.50 m layer, probably as carbonates and/or associated with humic substances. In the treatments that didn't receive biosolid, it was observed that the metals were associated mainly to oxide fraction in Typic Hapludox and to residual fraction in Rhodic Hapludox.

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

Bertoncini, Edna Ivani

Comportamento de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn em latossolos sucessivamente tratados com biossólido : extração seqüencial, fitodisponibilidade e caracterização de substâncias húmicas / Edna Ivani Bertocini. -- Piracicaba, 2002.

195 p. : il.

Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.
Bibliografia.

1. Adubo de lodo 2. Latossolo 3. Metal pesado 4. Química do solo I. Título

CDD 631.44

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



Os sonhos verdadeiros são como a aurora, impossível detê-los.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Maria Emília Mattiazzo-Prezotto pela confiança e amizade.

A FAPESP, pela bolsa de doutorado, pelo auxílio à pesquisa, e pela viagem ao exterior, sem os quais este projeto seria inviável.

Ao Professor Arnaldo Antonio Rodella pela ajuda nos momentos críticos.

Aos funcionários do Departamento de Química pelo apoio e amizade, especialmente a Janaína Truffi e ao Carlos Rubini Jr. pela colaboração nas análises.

Ao Dr. Roberto Arevalo, a Dra. Raffaella Rossetto e aos funcionários do Centro de Cana-de-Ácúcar – IAC – Piracicaba, pela ajuda nas análises tecnológicas.

Ao Professor Nicola Senesi pela oportunidade do estágio na Università di Bari.

A doutoressa Valéria D'Orazio e a Donato Mondelli pelo apoio e amizade.

Aos meus amigos italianos: Vito, Patrizia, Raffaele, Cláudio, Manoella, Felippo, Giuseppe, Gennaro, Franco, Antonio, Nico, Bruna, Loretta, Laura, Federica, Luisa, Marco e Enzo, pela generosidade e carinho.

A Álvaro, Sueli e Vicente Mafra, pela convivência, e pelas aventuras divididas nella bella Itália.

Aos companheiros de curso: Marcelo E. Alves, Mônica Sartori, Silvino Guimarães, Oscarlina Weber, Milene Moreira, Marcos Nogueira, Fernando Oliveira, Cristiano Andrade, Adriana Pires, Fábio Prata, Tadeu Cavalcante, e tantos outros, pelas experiências que dividimos nestes anos todos.

A minha família pelo apoio e compreensão.

A Deus, pelos caminhos, pelas certezas e dúvidas, e pelas oportunidades de crescimento e mudanças.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	x
SUMMARY	xiii
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 O bioossólido como fonte de nutrientes	03
2.2 Origem, comportamento e disponibilidade de metais a plantas	07
2.3 Influência da mineralogia na retenção de metais pesados	15
2.4 Influência das substâncias húmicas na retenção de metais pesados	18
2.4.1 Definições, origem e método de extração das substâncias húmicas	18
2.4.2 Caracterização das substâncias húmicas	21
2.4.2.1 Análise elementar	21
2.4.2.2 Razão atômica	22
2.4.2.3 Grupos carboxílicos, fenólicos e acidez total	23
2.4.2.4 Espectroscopia UV – Vis (razão E4/E6)	24
2.4.2.5 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR)	25
2.4.2.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	28
2.4.2.7 Espectroscopia de fluorescência	30
2.5 Extração seqüencial de metais pesados	35

2.5.1 Definição e fatores que afetam a extração seqüencial	35
2.5.2 Métodos de extrações seqüenciais propostos	38
3 MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1 Solos estudados	45
3.1.1 Análise textural	45
3.1.2 Análises químicas	45
3.1.2.1 pH	45
3.1.2.2 Carbono oxidável e N-total	46
3.1.2.3 Complexo sortivo	46
3.1.2.4 Carbonato total	46
3.1.2.5 Ataque sulfúrico	47
3.1.2.6 Ferro e alumínio vinculados aos óxidos mal cristalizados	48
3.1.3 Caracterização eletroquímica	48
3.1.3.1 Condutividade elétrica em extrato saturado	48
3.1.3.2 Determinação da CTC	48
3.1.3.3 Determinação do ponto de efeito salino nulo (PESN)	49
3.1.4 Análises mineralógicas	50
3.1.4.1 Preparo das amostras e difrações de raios X – análises qualitativas	50
3.1.4.2 Análises mineralógicas semiquantitativas	51
3.2 Biossólido utilizado no experimento	52
3.2.1 Caracterização química do biossólido	52
3.3 Montagem do experimento	53
3.4 Plantio da cana-de-açúcar e condução do experimento	54
3.4.1 Colheita da cana-de-açúcar, análises tecnológicas e de produtividade	55

3.4.2 Extração de metais pesados nas folhas e caldo	55
3.5 Caracterização das substâncias húmicas	56
3.5.1 Extração e fracionamento das substâncias húmicas dos solos e do biossólido	56
3.5.2 Purificação dos ácidos húmicos	57
3.5.3 Análises químicas e espectroscópicas dos ácidos húmicos	57
3.5.3.1 Umidade	57
3.5.3.2 Cinzas	58
3.5.3.3 Composição elementar	58
3.5.3.4 Razão atômica	59
3.5.3.5 Acidez total e grupos funcionais ácidos	59
3.5.3.6 Razão E4/E6 com espectroscopia no ultravioleta - visível	60
3.5.3.7 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	60
3.5.3.8 Espectroscopia de fluorescência	61
3.5.3.9 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) ou spin eletrônica	61
3.6 Fracionamento de metais pesados	62
3.6.1 Teores totais	63
3.6.2 Fração trocável	64
3.6.3 Fração carbonato	64
3.6.4 Fração matéria orgânica	65
3.6.5 Fração óxidos de ferro	65
3.6.6 Fração residual	66
3.6.7 Determinação dos metais pesados	66
3.6.8 Análises estatísticas	66
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67

4.1 Caracterização do bio sólido	67
4.2 Caracterização dos solos	70
4.2.1 Análise textural	70
4.2.2 Análises químicas	70
4.2.3 Caracterização eletroquímica	75
4.2.4 Análises mineralógicas qualitativas e semiquantitativas	82
4.2.4.1 Análises qualitativas	82
4.2.4.1.1 Fração areia desferrificada	82
4.2.4.1.2 Fração silte desferrificada	83
4.2.4.1.3 Fração argila desferrificada	83
4.2.4.1.4 Fração argila concentrada em ferro	88
4.2.4.2 Análise semiquantitativa	91
4.3 Disponibilidade de metais a plantas de cana-de-açúcar	93
4.3.1 Produção da cana-de-açúcar	93
4.3.2 Análises tecnológicas	94
4.3.3 Metais pesados nas folhas e caldo da cana-de-açúcar	97
4.3.3.1 Metais pesados nas folhas da cana-de-açúcar	97
4.3.3.2 Metais pesados no caldo da cana-de-açúcar	100
4.4 Caracterização das substâncias húmicas	102
4.4.1 Análise elementar e razões C/N, C/H e O/C dos ácidos húmicos do bio sólido e dos solos estudados	102
4.4.2 Grupos carboxílicos, fenólicos e acidez total	105
4.4.3 Espectroscopia UV - Vis (razão E4/E6)	109
4.4.4 Radicais livres	111
4.4.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) ...	113

4.4.6 Espectroscopia de fluorescência	120
4.4.6.1 Espectroscopia de fluorescência – ácidos fúlvicos	120
4.4.6.1.1 Espectros de emissão	120
4.4.6.1.2 Espectros de excitação	126
4.4.6.1.3 Espectros de excitação com varredura sincronizada	126
4.4.6.2 Espectroscopia de fluorescência – ácidos húmicos	130
4.4.6.2.1 Espectros de emissão	130
4.4.6.2.2 Espectros de excitação	131
4.4.6.2.3 Espectros de excitação com varredura sincronizada	134
4.5 Extração seqüencial de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn	136
4.5.1 Considerações sobre o método utilizado	136
4.5.2 Cádmio	140
4.5.3 Crômio	144
4.5.3.1 Tratamentos testemunha	144
4.5.3.2 Solos tratados com biossólido	147
4.5.4 Cobre	153
4.5.4.1 Tratamentos testemunha	153
4.5.4.2 Solos tratados com biossólido	155
4.5.5 Níquel	160
4.5.6 Zinco	163
4.5.6.1 Tratamentos testemunha	163
4.5.6.2 Solos tratados com biossólido	167
5 CONCLUSÕES	172
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	174

**COMPORTAMENTO DE Cd, Cr, Cu, Ni E Zn EM LATOSSOLOS SUCESSIVAMENTE
TRATADOS COM BIOSSÓLIDO: EXTRAÇÃO SEQÜENCIAL,
FITODISPONIBILIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**

Autora: EDNA IVANI BERTONCINI

Orientadora: Profa. Dra. MARIA EMÍLIA MATTIAZZO-PREZOTTO

RESUMO

A utilização de bioossólidos na agricultura é recente no Brasil, e estudos indicam que o uso destes resíduos traz melhorias na fertilidade dos solos e na produção das culturas. Contudo, a presença de metais pesados nestes resíduos trazem preocupações ambientais, seja quanto à absorção pelas plantas e/ou sua lixiviação, seja quanto à liberação, a longo prazo, dos metais retidos aos constituintes dos solos. O presente estudo teve a finalidade de verificar o comportamento dos metais Cd, Cr, Cu, Ni e Zn em latossolos tratados repetidamente com bioossólido, de forma a contribuir na definição de normas para o uso e monitoramento de tais resíduos na agricultura. O experimento foi montado a céu aberto, em caixas de amianto com capacidade para 500 m³, utilizando-se dois latossolos com diferentes teores de argila e óxidos de ferro: Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico – LVAd e Latossolo Vermelho Distrófico – LVd. O bioossólido adicionado a estes solos foi obtido da ETE/Barueri/SABESP/SP, sendo digerido anaerobicamente e tratado com Ca(OH)₂ e FeCl₃ no tratamento terciário. A cada dois meses foi realizada uma incorporação de bioossólido aos solos, totalizando a incorporação de quantidade correspondente a 388,0 Mg ha⁻¹ do resíduo (base seca). Após um ano e meio da última incorporação, foram coletadas amostras de terra nas profundidades 0 - 0,25 m e 0,25 - 0,50 m. Nestas amostras foram realizadas análises texturais, químicas, eletroquímicas e mineralógicas. Foram, também, realizadas a

caracterização de substâncias húmicas e a extração seqüencial de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn. Em maio/98 foi realizado o plantio de cana-de-açúcar, variedade RB 72-454, deixando-se uma touceira por caixa. Em junho/99 realizou-se a colheita, juntamente com a pesagem dos colmos, análise das folhas e do caldo para metais e análises tecnológicas para avaliação de produtividade. A adição do bio sólido proporcionou aumento do número de colmos (perfilhamento), de gemas/colmo e peso dos colmos. Os parâmetros de qualidade, como o BRIX, POL%CA e açúcares redutores totais não diferiram significativamente entre os solos tratados e os tratamentos testemunha. A Pureza e os açúcares redutores mostraram-se maiores nos solos tratados com bio sólido, e a quantidade de fibras foi significativamente menor para os colmos produzidos nos solos tratados. Os teores de Cr, Cu, Ni e Zn aumentaram nas folhas das plantas tratadas com bio sólido, enquanto que não foi detectada a presença de Cd. No caldo, o Ni não foi detectado nos solos tratados com bio sólido. O Cr não foi detectado no tratamento LVd + B, porém no LVAd + B, o seu teor mostrou-se elevado. Os teores de Cu e Zn mantiveram-se constantes, e o Cd foi detectado, porém os teores foram baixos. A caracterização mineralógica revelou a predominância de caulinita na fração argila desferrificada para ambos os solos. O solo LVAd apresentou o mineral 2:1, illita, enquanto que o LVd apresentou gibbsita. A fração oxídica apresentou hematita, goethita e óxidos de titânio para os dois solos. No LVAd há domínio da goethita e no LVd predomina a hematita. Houve aumento nos teores de ferrihidrita dos solos tratados com bio sólido, podendo refletir em retenção de metais aos óxidos de ferro mal cristalizados. Os valores de pH para o PESN, para ambos os solos e profundidades ficaram na faixa de 3-4, e o pH dos solos tratados na faixa de 7,8-8,0, indicando domínio de cargas negativas nas superfícies adsorvedoras, e conseqüentemente maior possibilidade de retenção de metais pesados. A caracterização dos ácidos húmicos (AHs) isolados do bio sólido e tratamentos indicaram ser o bio sólido um resíduo ainda pouco humificado (baixa relação C/N, alta relação H/C, menores quantidades de grupos COOH e de radicais livres), e sua adição aos solos reduziu o grau de humificação dos AHs nativos. A incorporação de maior quantidade de grupos fenólicos, com pKa acima dos valores de pH destes solos explicam a baixa expressividade da matéria orgânica na elevação da CTC de solos tratados com bio sólido. A menor razão E4/E6 e bandas características de C=O aromático nos espectros FT-IR, para o bio sólido e solos tratados indicam a adição de

compostos aromáticos aos AHs dos solos, reflexo da decomposição aeróbica e anaeróbica pela qual passou o resíduo, restando material mais recalcitrante. Porém, os espectros de fluorescência mostram que estes compostos aromáticos são menos condensados que os presentes nos solos testemunha. A compostagem do resíduo e materiais vegetais (lignina) contribuiria no aumento da humificação destes AHs, e conseqüentemente aumentaria a estabilidade das ligações dos mesmos com metais pesados. Espectros FT-IR indicam ligações de metais com os AHs. Espectros de fluorescência indicam mudanças nos AHs do LVd, e nos AFs do LVAd, após o tratamento com biossólido, indicando ligações dos metais a estas frações nos respectivos solos, e ligações mais estáveis no primeiro caso. A extração seqüencial de metais pesados mostrou que o Cd encontra-se preferencialmente ligado aos carbonatos, podendo ser facilmente liberado. A fração carbonatada foi, também, expressiva na precipitação do Ni, e especialmente do Zn, indicando maior mobilidade e disponibilidade destes elementos, principalmente no solo LVAd tratado com biossólido. A redução de pH ao longo do tempo propiciará a liberação destes metais, que poderão ser readsorvidos por outras frações mais estáveis e/ou liberados à solução do solo. Nos solos tratados, os metais Cr, Cu e Ni são preferencialmente retidos na fração orgânica, indicando que a adição de material orgânico, apesar de pouco humificado, exerce papel fundamental na retenção de metais pesados. Verifica-se possível lixiviação de Cr, Cu, Ni e Zn, para a camada 0,25-0,50m, junto às frações carbonatada e orgânica, para ambos os solos tratados. No LVd tratado há uma maior participação da fração residual e dos óxidos na retenção de metais, especialmente o Cr e Ni. Com a ausência da carga orgânica, e dos carbonatos incorporados via resíduo, nos tratamentos testemunha, a tendência seria a ligação de metais a fração óxidos no LVAd e a fração residual no LVd.

**BEHAVIOR OF Cd, Cr, Cu, Ni AND ZINC IN LATOSOLS REPEATED AMENDED
WITH BIOSOLIDS: SEQUENTIAL EXTRACTION, PHYTOAVAILABILITY AND
HUMIC SUBSTANCES CHARACTERIZATION**

Author: EDNA IVANI BERTONCINI

Adviser: Prof. Dr. MARIA EMÍLIA MATTIAZZO-PREZOTTO

SUMMARY

The disposal biosolids in agriculture land, is recent in Brazil. Many studies showed that the residue provides improvement in soil fertility and plant production. Although, the heavy metal concentration in sludges may be of environmental concern, by plant uptake, and by metal releasing and mobility. The objective of this study was examine the Cd, Cr, Cu, Ni and Zn behavior in latosols repeated amended with sewage sludge, to define regulations for the land disposal sludge and its monitoring. The vase experiment was carried out, in vase with 500 m³, in two Latosols (dystrofic Yellow Red Latosol – LVAd, and dystrofic Red Latosol – LVd), which have different clays and iron oxides contents. The lime aerobic-anaerobic digested biosolid was obtained from ETE/Barueri/SABESP/SP treatment plant, and was stabilized with CaO and FeCl₃ on tertiary treatment. Biosolid was applied to soils every two months, in a total amount corresponding to 388,0 Mg ha⁻¹ (dry weight basis). Eighteen months after the last application, soil samples were taken from 0-0,25 and 0,25-0,50 m depths. Textural, chemical, eletrochemical and mineralogical properties were determined in this samples. Also, the humic substances characterization and the Cd, Cr, Cu, Ni and Zn sequential extraction, were carried out. After the incubation period and one corn cultivation, was

cultivated sugarcane, cv. RB 72-454. It was led one plant/vase. After one year the harvest was conducted. The results showed that the biosolid treatment increased the cane yield, stem number/plant and stem weight. The quality parameters as BRIX, POL%CA, reducible sugars were not statistically different between treated soils and control soils. Other parameters as purity juice and total reducible sugars were increased while the fibre quantities were reduced to amended soils. Cr, Cu, Ni e Zn contents of sugarcane leaves were increased with the treatment, while the Cd was not detected. In cane juice Ni was not detected in any of the treated. Highest Cr contents were observed in juice of LVAd treated, but this was not observed in LVd treatment. Cu and Zn contents juice of the amended soils were similar to those obtained in control soils. Low contents of Cd were found in juice, in two treated. The mineralogical characterization revealed predominance of kaolinita in clay fraction without iron in two soils. The LVAd presented illita and LVd gibbsite. In the iron fraction were identified haematite, goethite and titanion oxides in both soils. However, in LVAd there is predominance of goethite and LVd predominance of haematite. In the amended soils there was increase of ferrihydrite contents, showing possible retention of heavy metals by poorly ordered oxides. The PZSE (point of zero salt effect), for both soils, is around 3-4, and the pH of soil treated is around 7,8-8,0. Hence, there is predominance of negative charge in this colloid soil. The humic acids (AHs) isolated from biosolid and their treatment showed that residue AHs are less humified than native humic acid (lower C/N and H/C ratios, low contents of COOH groups and free radicals). The biosolid incorporated increased the quantities of phenolic groups, which have pKa higher than the soil pH, and this fact elucidate the lowest contribution of organic matter in these CEC (cation exchange capacity) soils. The low E4/E5 ratio and characteristic bands of C=O aromatic in FT-IR spectra indicate that the biosolid addition incorporated aromatic compounds in the native AHs. This is the reflect of anaerobic and aerobic decomposition process of this residue, but these aromatic compounds have lower degree of polycondensation as indicate the fluorescence spectra. The practice of biosolid composting with vegetal material (lignin) could improve the humification degree of AH, and the stability of bond with heavy metals. FT-IR spectra showed metals bonded with organic ligands. Fluorescence spectra indicate changes in LVd humic acids and LVAd fulvic acids, after the amended. This changes in fluorescence spectra also showed bonds more stable in humic acid of LVd. The heavy metal extraction showed

Cd preferentially associated with the carbonates as well as the Ni and Zn. This fact indicates that Cd, Ni and Zn may be potentially available for plant uptake and they have mobility in profile. In LVAd this mobility may be higher than in LVd. The pH reduction may represent release of these metals forms. The metals may be retained in more stable forms and/or released in solution soils. In amended soils, Cr, Cu and Ni were retained by organic matter. This indicates the agronomic and environmental function of organic matter addition although of its lower degree humification. It was observed mobility of Cr, Cu, Ni and Zn with carbonates and organic acids from 0-0,25 m to 0,25-0,50m depth. In LVd treatment there is great contribution of minerals (residual fraction) and iron oxides in Cr and Ni sorption. The results of control soils showed that in conditions of lower organic matter contents and carbonates absence, metals are retained by iron oxides in LVAd, and residual fractions in LVd.

1 INTRODUÇÃO

O uso do solo, como depurador de resíduos tem sido preconizado e podem representar fonte de matéria orgânica e de alguns nutrientes para as plantas. Atualmente, muitos estudos mostram os benefícios do uso de bio sólidos na agricultura, seja no aumento da produtividade de diversas culturas, seja dando destino adequado a uma grande quantidade de resíduos gerados nos centros urbanos.

Como problemas mais emergentes no uso agrícola do bio sólido, podemos citar a lixiviação de nitratos por causa da rápida degradação da carga orgânica, o desbalanceamento nutricional do resíduo, e a salinidade ocasionada aos solos quando o resíduo recebe o tratamento terciário com CaO e FeCl_3 .

Porém, a presença de metais pesados nos bio sólidos, provenientes de esgoto industrial que é descartado junto ao esgoto doméstico, é motivo de grande preocupação ambiental, e vem tornado-se um entrave na generalização do uso agrícola deste resíduo. Estudos têm mostrado que na maioria dos casos, a absorção de metais pesados pelas plantas, e conseqüentemente a sua distribuição na cadeia alimentar, pode ser considerada negligenciável. Também, a lixiviação de metais, a curto prazo, é de aproximadamente 1% do total dos metais adicionados, em solos com altos teores de argila e óxidos, e aos quais adicionou-se resíduo com pH próximo a 7,0.

No solo, os metais pesados adicionados via bio sólido, podem estar sob diferentes formas, disponíveis ou não às plantas e/ou sujeitos à lixiviação. As características mineralógicas e eletroquímicas dos solos, assim como a natureza das substâncias húmicas presentes, são elementos base na retenção de metais, e podem informar sobre a estabilidade das ligações formadas.

O objetivo principal deste estudo foi o de avaliar a que frações do solo os metais encontram-se preferencialmente retidos, sob que formas, e a possibilidade de

mudanças nas formas preferenciais de retenção ao longo do tempo. Cabe ressaltar que a dose de biossólido utilizada neste estudo é muito superior à dose agrônômica permitida, e foi escolhida de modo a simular sucessivas aplicações do resíduo, e de verificar o potencial de retenção de metais dos solos. A extração seqüencial de metais foi utilizada como ferramenta principal, aliada a estudos paralelos de disponibilidade de metais a plantas de cana-de-açúcar, a caracterização mineralógica, eletroquímica e das substâncias húmicas. Procura-se dessa forma responder algumas questões referentes ao uso de biossólido em solos agrícolas, como:

- Qual o impacto do uso de biossólido estabilizado com $\text{CaO} + \text{FeCl}_3$, na fertilidade e nas características eletroquímicas de latossolos com diferentes teores de argila e óxidos de ferro?;
- qual o impacto dessas mudanças na produção da cana-de-açúcar, após um ano e meio da última incorporação do resíduo, e de um cultivo de milho? quais os metais absorvidos e a forma de acúmulo na planta?;
- a que frações do solo os metais encontram-se preferencialmente retidos, e quais as possibilidades de dessorção e liberação dos mesmos para à solução do solo?;
- qual o papel da mineralogia e das substâncias húmicas na retenção de metais em solos sob clima tropical? qual a função agrônômica e as implicações ambientais desses grupos?
- qual o impacto da adição de biossólido nas substâncias húmicas dos solos tratados quando confrontadas com as substâncias húmicas nativas dos solos?

Pretendeu-se, dessa forma aprofundar os conhecimentos quanto ao comportamento de metais pesados, adicionados via resíduo, a latossolos, de forma a colaborar na definição de critérios que viabilizem o uso e o monitoramento da utilização de biossólidos em áreas agrícolas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O biossólido como fonte de nutrientes

Alguns estudos têm mostrado aumento na produtividade de culturas em função da aplicação de biossólidos. Em experimentos considerando três cultivos de cevada, aveia e trevo, com a aplicação de 0 e 160 Mg ha⁻¹ de biossólido, em solos argiloso e arenoso com e sem calagem, Sorteberg (1981) verificou que a quantidade de biossólido e calagem requerida para cada cultura é diferente, e que houve acúmulo de metais em folhas de trevo e nos grãos de cevada e aveia. No solo argiloso, as produções foram maiores e o acúmulo de metais menos significativo.

Berton et al. (1989) usando as doses 0, 40 e 80 Mg ha⁻¹ de biossólido (peso seco) em cinco solos representativos do Estado de São Paulo, registraram um aumento progressivo na produção de milho, enquanto que Silva et al. (1995) utilizando dose correspondente a 24 Mg ha⁻¹ de biossólido (80% de umidade) em Latossolo Vermelho, não obtiveram aumento de produtividade, nem elevação nos teores de N e P na matéria seca de plantas de milho, e não indicam o uso do biossólido como fonte de N e P para esta cultura.

Cabe salientar que muitos trabalhos consultados sobre a aplicação de resíduos em solos não apresentam a dose utilizada expressa com base na umidade do material, o que dificulta a comparação de resultados.

Os macronutrientes N, P e K, exigidos em maior quantidade pelas plantas, necessitam, invariavelmente, ser complementados com adubação mineral, quando o biossólido é utilizado com a finalidade de fertilização de plantas. Também, os teores de Mg tendem a ser baixos no resíduo.

Alguns estudos mostram o aumento na produtividade da cana-de-açúcar (Silva, 1995; Marques, 1996; Millioli et al., 1997; Oliveira, 2000), com a incorporação de

biossólidos urbanos a solos, principalmente quando o biossólido é suplementado com fertilizantes como é o caso do potássio.

Silva (1995) adotou a combinação das doses 0, 20 e 40 Mg ha⁻¹ de biossólido (62% de umidade) com adubação NP, NK, PK e NPK nas dosagens 60, 80 e 100 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente, em Podzólico Vermelho, textura arenosa/média, pH 4,3, verificando aumento linear na produção de cana-de-açúcar no primeiro ano de cultivo. Os aumentos nos teores de metais pesados no solo e nos colmos não ofereceram riscos à cadeia trófica nem de acumularem-se no produto final.

Marques (1996) trabalhando com cana-de-açúcar, utilizou quatro doses de biossólido (0, 40, 80 e 160 Mg ha⁻¹) combinadas com dois níveis de fertilização mineral, correspondentes a 50 e 100% da fertilização recomendada para o cultivar SP 70-1143, além da testemunha e do tratamento somente com fertilizantes minerais. Verificou que o biossólido possibilitava economia da ordem de 50% em fertilizantes minerais, e os melhores resultados foram obtidos com a incorporação de 80 Mg ha⁻¹ do resíduo. Fica evidenciado, também, que o biossólido não supre o fornecimento de potássio às plantas de cana, apesar de proporcionar melhorias gerais na fertilidade do solo. Os metais pesados e micronutrientes tiveram seus teores elevados no solo e nas plantas, proporcionalmente à dose aplicada, porém o cádmio não foi detectado nem no solo e nem nas plantas.

Ainda quanto ao uso de biossólido na cultura da cana-de-açúcar, Millioli et al. (1997) realizaram ensaios utilizando doses crescentes de lodo com 62% de umidade à Terra Roxa Estruturada (0, 15 e 30 Mg ha⁻¹ de biossólido aplicado nas entrelinhas) e Podzólico Vermelho (0, 20 e 40 Mg ha⁻¹ aplicado no sulco) suplementadas com NPK. A extração da quantidade de metais presentes nos solos foi realizada com solução de DTPA pH 7,3. Verificaram que houve um ligeiro aumento nos teores de Cu, Zn e Cd nos solos, enquanto que os teores de Ni, Cr, Pb, Fe e Mn não foram alterados. Entretanto, de acordo com os autores, esses teores encontrados no solo não oferecem riscos de veicular metais (Cd, Cr, Ni e Pb) ao sistema solo-planta, podendo o resíduo ser aplicado tanto no sulco como nas entrelinhas das soqueiras da cana.

Quanto aos fertilizantes minerais utilizados para complementar o uso de biossólido, Bertoncini (1997) observa que a utilização de materiais que contém cátions monovalentes como o K⁺, acompanhados dos ânions Cl⁻ e SO₄²⁻, podem provocar a mobilidade de alguns metais no solo, apesar desta mobilidade apresentar-se em torno

de 1% apenas do total adicionado. Mc Laughlin et al. (1994) verificaram, também, que a presença de Cl^- fornecido por meio de irrigação com águas salinas, mobilizou o Cd no solo, aumentando sua disponibilidade a plantas de batata. Altas concentrações de Cd foram encontradas nos tubérculos desta planta.

Muitos trabalhos são encontrados na literatura utilizando biossólido para a cultura do sorgo granífero, por ser considerada uma espécie tolerante à presença de metais pesados. Vanzolini (1994) considera que o biossólido apresenta composição química inadequada às exigências nutricionais da cultura, assim como Cripps & Matocha (1991) consideraram duvidoso o fornecimento de P pelo resíduo. Alguz (1993) e Warman (1986) relatam deficiência de K em plantas de sorgo fertilizadas com biossólido. Porém, todos os autores consideram que ocorreram melhorias nas condições gerais de fertilidade dos solos (CTC, SB, pH, teor de Ca, Cu, S, Zn e matéria orgânica). André (1994) ao estudar o efeito de doses crescentes de biossólido (0, 8, 16, 32 e 64 Mg ha^{-1}) percolado ou não com solução 2 meq L^{-1} de KCl, verificou que houve fornecimento de Ca, Cu e Zn ao sorgo granífero, assim como houve acúmulo de metais pesados (Pb e Cr) nos grãos de sorgo, apesar das plantas não apresentarem sintomas de toxicidade.

Kamogawa et al. (1997) utilizaram os tratamentos com 0,5 e 1% (m/m) de biossólido seco em Latossolo Vermelho distrófico, pH 6,4, efetuando-se três cultivos sucessivos de feijão. Observaram um aumento na produção de massa seca nos cultivos, sendo maior no primeiro. Os teores de Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb na parte aérea não aumentaram, apenas o teor de Zn teve elevação de 27,5%, mas este valor não ultrapassou os níveis toleráveis. Convém salientar que os autores não definem o que pode ser considerado nível tolerável.

A ação neutralizante dos biossólidos deve ser destacada, pois contribuem com a elevação do pH dos solos, seja pelas reações de degradação da carga orgânica do resíduo (Epstein et al. 1976; Logan et al. 1983), seja pela alcalinidade intrínseca do resíduo quando este é estabilizado com cal (Barreto, 1995; Silva, 1995; Basta & Sloam, 1999; Bertoncini, 1997; Anjos, 1999; Oliveira, 2000).

A estabilização do resíduo, no tratamento terciário, com $\text{CaO} + \text{FeCl}_3$, realizada em algumas ETEs, tem como finalidade estabilizar a grande massa de resíduo produzida, além de redução da carga patogênica. A precipitação de metais pesados, também, torna-se beneficiada com a elevação do pH do resíduo.

Basta & Sloam (1999) estudaram a biodisponibilidade de metais pesados em três solos ácidos, cultivados com alface, e tratados com bio sólidos alcalino e ácido, de excepcional qualidade, isto é com baixos níveis de metais pesados e patógenos. Verificaram que nos solos tratados com bio sólido ácido, os teores de Cd e Zn na solução do solo, assim como os teores absorvidos pelas plantas foram significativamente maiores que para os tratamentos com bio sólido alcalino. Os autores advertem que o uso de bio sólidos não alcalinos em solos ácidos aumenta consideravelmente os riscos de lixiviação e fitodisponibilidade de metais pesados, e esta prática deve ser evitada.

A neutralização da acidez de subsuperfície, também, pode ser verificada em solos tratados com bio sólidos alcalinos. Assim, Brown et al. (1997) verificaram que a decomposição do material orgânico de bio sólidos pode ocorrer em sítios anaeróbicos, gerando ácidos orgânicos, capazes de formar complexos com o cálcio. Esses complexos migram com facilidade para o subsolo, neutralizando a acidez de subsuperfície. Os autores sugerem que este efeito torna-se potencializado quando se aplica bio sólidos pouco digeridos e tratados com cal, onde a produção de ácidos orgânicos é maior, e quando utiliza doses elevadas do resíduo

Porém, o excesso de sais, proveniente das quantidades exageradas destes aditivos, pode ocasionar a salinidade após sucessivas aplicações do resíduo, prejudicando o desenvolvimento das plantas, devido a desequilíbrios nutricionais e às dificuldades de absorção de água e nutrientes (Bertoncini, 1997; Anjos, 1999 e Oliveira, 2000). Epstein et al. (1976) verificaram que um mês após a aplicação de 240 Mg ha⁻¹ de bio sólido a solos, o valor de condutividade elevou-se de 0,4 mS cm⁻¹ para 5,4 mS cm⁻¹, e após quinze meses, esse valor diminuiu para o valor de 1,5 mS cm⁻¹, devido à lixiviação de íons. Resultados semelhantes foram encontrados por Harding et al. (1985).

Espera-se, portanto, que imediatamente após a aplicação de bio sólido, a condutividade elétrica nos solos apresente valores não toleráveis às culturas, podendo ocasionar prejuízos quando o plantio é realizado logo em seguida.

Medidas vêm sendo tomadas pelas ETEs, no sentido de reduzir as quantidades de CaO + FeCl₃, apenas ao necessário para a destruição de patógenos, ou mesmo a substituição destes por polietrólitos, com o propósito de melhorar as características do resíduo, tornando-o apropriado para fins agrícolas. Porém, é importante ressaltar que o

uso de biossólidos não alcalinos em solos ácidos pode potencializar os riscos de contaminação ambiental.

2.2 Origem, comportamento e disponibilidade de metais a plantas

A origem dos metais pesados em solos pode ser tanto geoquímica quanto antrópica. Os metais pesados, ou elementos traços, são quase sempre constituintes de minerais primários de rochas ígneas e são incorporados na rede cristalina pelo processo de substituição isomórfica de elementos maiores (Al, Fe), no momento de cristalização (Pierrisnard, 1996). As rochas sedimentares e argilitos podem concentrar, também, grande quantidade de metais, enquanto que nos arenitos o teor é baixo. De forma antrópica, os metais chegam até os solos por meio do uso de fertilizantes, por meio de deposições atmosféricas e principalmente pelo uso de resíduos como o biossólido. Aplicações sucessivas de biossólidos podem conduzir ao acúmulo destes elementos no ambiente e a entrada na cadeia alimentar, através do caminho: biossólido \Rightarrow solo \Rightarrow planta \Rightarrow animal \Rightarrow homem (Kabata - Pendias & Pendias, 1984).

Assim, o Cd é encontrado principalmente nos minerais ZnS e ZnCO₃ em substituição ao Zn, visto que ambos têm estruturas iônicas e eletronegatividades semelhantes. Os teores médios de Cd nas rochas magmáticas, metamórficas e sedimentares variam em torno de 0,1-0,3; 0,1-1; e 1,0 mg kg⁻¹, respectivamente, e os maiores valores encontrados foram 5,0 mg kg⁻¹ (Alloway, 1995).

O uso de fertilizantes fosfatados pode introduzir Cd ao solo, e o teor nestes materiais varia em função da sua origem. Ramalho et al. (1999) verificaram acúmulo de Cd em Podzólico Amarelo, e em dois Latossolos Amarelos cultivados com cana-de-açúcar e tratados com fertilizantes fosfatados durante vinte e cinco anos. No entanto, os teores de Cd não atingiram níveis críticos. Os autores, também, verificaram elevação nos teores de Cd, Cr, Co, Cu, Ni e Pb em Cambissolo, também, cultivado com cana e irrigado com água do Rio Paraíba do Sul. Mulla et al. (1980) encontraram incrementos de até 100 g ha⁻¹ ano⁻¹ de Cd, em solos dos EUA, tratados com fertilizantes fosfatados. Também, as deposições atmosféricas em áreas urbanas são responsáveis por 3 g ha⁻¹ ano⁻¹, dados estes da Comunidade Europeia (Alloway, 1995).

Nos biossólidos, a presença de Cd é proveniente de esgoto industrial, da fabricação de plásticos, borrachas, radiadores, corantes e, principalmente, da galvanoplastia, e seu teor varia em função da origem do resíduo. No solo, seu teor é baixo, e pode formar os compostos CdCl^+ , CdOH^+ , CdHCO_3^+ , CdSO_4 e complexos orgânicos. Também, pode precipitar-se com carbonatos e fosfatos. A sorção do Cd à superfícies minerais pode ocorrer por meio de processos específicos e não específicos (Naidu et al., 1997). A competição por sítios de adsorção dos óxidos e matéria orgânica ocorre com o cálcio, crômio, níquel e chumbo.

O Cd não é um elemento essencial aos vegetais, mas é absorvido facilmente pelas raízes e translocado dentro da planta. Em solos tratados com biossólidos, concentrações de 0,1 a 1,1 mg kg^{-1} de Cd foram encontradas em grãos de cereais, e em folhas de milho, concentrações de até 35 mg kg^{-1} de material seco (Kabata-Pendias & Pendias, 1984). É considerado tóxico aos vegetais pois interfere em processos enzimáticos, altera a permeabilidade de membranas e interfere nos processos fotossintéticos. Os sintomas de toxidez são retardo no crescimento da planta, do crescimento radicular, clorose de folhas e coloração avermelhada na sua borda ou nervuras (Pierrisnard, 1996).

A detecção de Cd na solução de solos contaminados, assim como o teor no tecido vegetal, é dificultada pelas baixas concentrações do elemento, quase sempre abaixo dos limites de detecção do método utilizado. Também, os extratores utilizados nem sempre se mostram eficazes, e o mais indicado para extração do Cd seria o CaCl_2 , em virtude da grande afinidade do Cd pelo Cl^- , que formam complexos de alta estabilidade. Assim, Young et al. (2000) utilizaram o método da diluição isotópica para comparar com o extrator CaCl_2 1,0 mol L^{-1} na determinação do Cd-lábil, em solos tratados com biossólido e com resíduos de mineração. Verificaram que a extração do elemento com CaCl_2 1,0 mol L^{-1} , e a determinação por meio de espectrometria de absorção atômica acoplada a forno de grafite foi tão eficaz quanto o método da diluição isotópica para quantificar o Cd presente na solução do solo.

O método da diluição isotópica para determinação do Cd, também foi utilizado por Stacey et al. (2001) em solos tratados com biossólido de diferentes idades, e os autores verificaram que o elemento no solo encontra-se na forma disponível, e o seu comportamento reflete a forma com que este está presente no resíduo.

Nos solos tratados com biossólidos alcalinos, o Cd encontra-se preferencialmente retido na fração carbonatada (Emmerich et al., 1982; Chang et al., 1984; Hickey & Kittrick, 1984; Ramos et al., 1994; Taylor et al., 1995, e Ribeiro-Filho et al., 2000), e provavelmente na forma de CdHCO_3^+ . Porém, Lindsay (1979) cita a forma CdCO_3 (octavita), como reguladora da atividade de Cd^{2+} na solução do solo. A sua estabilidade é altamente dependente do pH do solo, de modo que sua solubilidade aumenta cem vezes para cada aumento de uma unidade de pH, acima de pH 7,5.

Hickey & Kittrick (1984) encontraram ligação do Cd aos carbonatos do solo, e citam que esta ocorre pela substituição do Ca^{2+} pelo Cd^{2+} na calcita. Porém Madrid & Barrientos (1992) não verificaram dessorção de cálcio com a retenção de Cd à carbonatos, e sugerem que a retenção se dá pela adsorção na superfície do mineral.

Soon (1981) comparou a ligação de Cd a carbonatos em solos tratados com biossólido e com fertilizantes minerais, e verificou que o Cd encontra-se preferencialmente ligado aos carbonatos, a partir de pH 7,6 e provavelmente, precipitado na superfície da calcita, na forma CdCO_3 . O autor, ainda, verificou que a complexação de Cd é reduzida em solos tratados com biossólido quando comparado à fertilização mineral, visto que outros metais mais abundantes no resíduo, ocupam os sítios de complexação em detrimento do Cd.

A origem geoquímica do crômio está nas rochas magmáticas, máficas e ultramáficas, ricas em Cr, cujas concentrações chegam a 3400 mg kg^{-1} . Pode estar associado, também, a turmalinas, granadas, micas e clorita, substituindo o Fe^{3+} e o Al^{3+} . Kotás & Stasicka (2000) citam que a principal fonte de Cr nos solos naturais é o intemperismo dos materiais de origem.

As deposições atmosféricas são provenientes da combustão do carvão, da produção de aço e ferro e de fontes naturais como os vulcões. Pode ser incorporado ao solo de forma antrópica pelo uso de calcáreo (Mc Graft, 1995), ou biossólidos.

No biossólido, é proveniente de esgoto industrial da fabricação de ligas de aço, fornos refratários, pigmentos, baterias e de curtumes. Existe sob duas formas de oxidação: Cr (VI) sob a forma de ânion, que é tóxico, porém menos estável nos solos; e Cr (III) a espécie mais reduzida e móvel. A forma hexavalente de Cr pode ser encontrada nos biossólidos, devido a reações de oxidação e redução que ocorrem nestes materiais. A forma CrO_4^{2-} pode ser adsorvida pela goethita, hematita, gibbsita e

outros colóides carregados positivamente, que podem estar presentes no biossólido (Kotás & Stasicka, 2000).

No solo, o Cr(VI), na presença de matéria orgânica, é facilmente reduzido à forma Cr(III), que forma complexos com ligantes orgânicos, ou é adsorvido a óxidos hidratados. Barlett & Kimble (1976) verificaram que em solos, a possibilidade do Cr estar na forma hexavalente é muito rara. Na solução do solo, pequena quantidade pode permanecer livre ou na forma de precipitados.

Nos vegetais, os sintomas de toxidez relacionam-se a lesões nas raízes e clorose de folhas jovens, visto que diminui a concentração de K, P e Fe na parte aérea das plantas e de Mg nas raízes. A concentração habitual de Cr nos vegetais é de 0,02 a 0,2 mg kg⁻¹, Em grãos de milho foram encontrados valores próximos a 0,15 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias & Pendias, 1984). As raízes das plantas têm mecanismos que parecem inibir a absorção do elemento, visto que não são capazes de estimular a redução do Cr³⁺ a Cr²⁺, que é a forma mais solúvel e possível de ser translocada. Dessa forma, o Cr concentra-se mais nas raízes das plantas do que nas folhas ou grãos. O transporte do Cr nos vegetais é semelhante ao transporte do Fe, através de complexos com citratos.

O cobre encontrado nos solos pode ser de origem geoquímica, em razão dos elevados teores presentes nas rochas basálticas, assim como nos piroxênios e argilitos. Nas rochas silicatadas e máficas, o Cu pode substituir o Fe²⁺ e o Mg²⁺. O aporte devido a deposições atmosféricas é da ordem de 307 x 10⁶ Mg, no mundo (Nriagu, 1989). Nos biossólidos a concentração varia de 240 a 1030 mg kg⁻¹, proveniente de resíduos da fabricação de fios elétricos e ligas de bronze e latão (Pierrisnard, 1996). Resíduos animais (suínos) contêm de 7 a 40 mg kg⁻¹ de Cu, em virtude da presença do elemento nas rações.

Nos solos encontra-se, principalmente, nas formas de complexos orgânicos, ou adsorvidos a óxidos de Fe e Al, nos complexos húmus-argila, ou na rede cristalina dos minerais. Pode estar precipitado na forma de carbonatos ou sulfatos, e a concentração na solução dos solos está na faixa de 20 a 40 mg kg⁻¹.

Stevenson (1994) cita que quando a concentração de Cu no solo é baixa, complexos com fortes ligações covalentes, podem ser formados entre o metal e grupos COOH das substâncias húmicas.

Egreja Filho (2000) encontra preferência de ligação do Cu à gibbsita e hematita, e a sua não retenção à goethita, contrariando a ordem de adsorção proposta por Cornell & Schwertmann (1996).

A adsorção de Cu aos carbonatos foi verificada por Madrid & Diaz-Barrientos (1992), em solos tratados com doses crescentes de CaCO_3 , onde ocorreu concomitantemente à dessorção de Ca e Mg, indicando a dissolução dos carbonatos com a substituição do Cu pelo Ca, ou a entrada do metal pesado na estrutura do mineral. Os prováveis minerais formados por este processo seriam a malaquita ($\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$) ou a azurita ($\text{Cu}_3(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_2$).

Alguns estudos encontraram o Cu preferencialmente retido à fração residual. Pierrisnard (1996) encontrou o Cu ligado à fração residual em superfície e profundidade de solos testemunha, assim como Bunzl et al. (1999) encontraram 20% do Cu ligado à fração residual em solos não contaminados. Ma & Rao (1997) encontraram 97% do Cu ligado à fração residual em cinco solos contaminados com metais, e em dois dos solos estudados, 35% Cu esteve associado à fração orgânica. Cabe salientar, que os autores utilizaram o método de extração seqüencial de Tessier et al. (1979), que usa o peróxido de hidrogênio para extração dos metais ligados à matéria orgânica. Sabe-se que este extrator não é eficiente na oxidação total da matéria orgânica e, dessa forma, os teores de Cu nesta fração podem estar subestimados, restando na fração residual, onde os teores estariam superestimados. Ma & Uren (1998) utilizando, também, o mesmo método de extração seqüencial acima citado, encontraram 86% do Cu adicionado à solos retido na fração residual, e atribuem esta retenção à difusão do metal da superfície do mineral para dentro de microporos de óxidos de Fe cristalinos e minerais silicatados.

O Cu é elemento essencial na nutrição de plantas, porém concentrações acima de 20 mg kg^{-1} são consideradas críticas, e os sintomas de toxidez relacionam-se a retardo de germinação de sementes e crescimento de raízes e cloroses. A absorção de Cu pelas raízes é ativa, porém a absorção passiva pode ocorrer na presença de grande quantidade do elemento na solução do solo. A absorção pode ocorrer tanto na forma do cátion dissociado ou na forma de complexos. Dentro da planta, é considerado pouco móvel, concentrando-se nas raízes e folhas. Nos cereais pode ser acumulado nos órgãos reprodutivos. Em grãos de milho foram encontrados valores de 2 mg kg^{-1} , e em solos tratados com biossólidos a maior parte do elemento encontra-se nas raízes

(Kabata-Pendias & Pendias, 1984). O Zn compete com a absorção radicular do Cu, e o Fe concorre com o transporte de Cu dentro da planta.

Quanto ao níquel, verifica-se que a sua origem geoquímica seria as rochas magmáticas (máficas e ultramáficas) que contêm até 3600 mg kg^{-1} do elemento. As rochas alcalinas e sedimentares têm baixos teores do metal. As emissões atmosféricas variam de 2 a $80 \text{ kg km}^{-2} \text{ ano}^{-1}$ (McGraft, 1995), provenientes da combustão do petróleo e carbono. McGraft (1995) cita que o Ni pode ser incorporado ao solo por meio da calagem e do uso de fertilizantes fosfatados, que podem conter até 300 mg kg^{-1} do metal. Nos biossólidos, sua presença deve-se ao esgoto proveniente de indústrias que o utilizam nas ligas metálicas, em baterias e compostos eletrônicos, cosméticos e como catalizadores.

Em solos ácidos e redutores encontra-se ligado ao sulfato, e em solos com pH até 8,0 encontra-se na forma de carbonatos e complexos orgânicos. O pH dos solos exerce grande influência na retenção do elemento, que facilmente se precipita na superfície de óxidos (McGraft, 1995).

Muitos trabalhos encontrados na literatura (Hickey & Kittrick, 1984; McGrath & Cegarra, 1992; Gomes, 1996; Pierrisnard, 1996) encontraram o níquel preferencialmente retido à fração residual. Porém, é necessário verificar que extratores foram utilizados na extração seqüencial, uma vez que o metal não sendo extraído com eficácia da fração orgânica e/ou óxidos, permanece na amostra até a extração da fração residual, gerando uma informação errônea com relação à distribuição do elemento nas diversas frações, assim como conseqüências ambientais em decorrência de decisões estabelecidas com base em estudos.

A ligação do Ni à carbonatos, também, é reportada na literatura, para solos tratados com biossólido alcalinos (McGrath & Cegarra, 1992). Pierrisnard (1996) cita que os carbonatos e bicarbonatos exercem papel importante na distribuição do Ni em solos alcalinos, e as espécies dominantes seriam NiCO_3 , NiHCO_3^+ e Ni(OH)^+ . Dessa forma, o pH do solo exerce papel fundamental na mobilidade do metal, tornando a porção do metal ligada à fração carbonatada susceptível a absorção pelas plantas e a lixiviação.

Senesi et al. (1989) e Egreja Filho (2000) salientam a grande afinidade do Ni a materiais orgânicos, principalmente quando estes estão são adicionados aos solos.

Dudley et al. (1987) ressalta que em solos tratados com bio-sólidos, o Ni encontra-se preferencialmente sob a forma de complexos orgânicos.

Recentemente, encontram-se, na literatura, alguns relatos que consideram o Ni como um elemento essencial para as plantas superiores (Dordas et al., 2001). Na planta, os mecanismos de toxidez do elemento são pouco conhecidos, sabe-se que altos teores do metal nos tecidos vegetais inibem a fotossíntese e respiração e os sintomas de toxidez relacionam-se a lesões nos tecidos, retardo de crescimento e cloroses (Kabata-Pendias & Pendias, 1984). O Ni na forma solúvel é rapidamente absorvido pelas raízes e é muito móvel na planta, acumulando-se nas folhas e grãos. O valor crítico de concentração para os vegetais seria em torno de 11 mg kg⁻¹ de matéria seca. Kabata-Pendias & Pendias (1984) citam que em solos não contaminados, o valor médio de Ni encontrado em grãos de milho foi de 0,22-0,34 mg kg⁻¹, e em solos tratados com bio-sólido, esses valores aumentaram para 1,6 a 5,2 mg kg⁻¹ de matéria seca.

O zinco é encontrado principalmente em rochas graníticas e basálticas, em concentrações de 40 a 100 mg kg⁻¹, respectivamente. Nas rochas sedimentares encontra-se em concentrações de 80 a 120 mg kg⁻¹, e nas calcárias e dolomíticas em concentrações de 10 a 30 mg kg⁻¹. O aporte atmosférico mundial, proveniente de combustão do carvão e indústrias que produzem aço e ferro, e a atividade vulcânica, é da ordem 1.372.000 Mg ano⁻¹. Os fertilizantes fosfatados contêm de 50 a 1450 mg kg⁻¹ de Zn, os calcários de 10 a 450 mg kg⁻¹, e os pesticidas de 1,3 a 25 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias & Pendias, 1984).

Nos bio-sólidos, as concentrações são altas e variadas em função da origem, e proveniente de indústrias farmacêuticas, de cosméticos, de tintas, pigmentos, borrachas, pilhas, galvanoplastia e fabricação de ligas metálicas.

No solo, encontra-se adsorvido a minerais e compostos orgânicos e, sobretudo, na forma de precipitados. Nos óxidos e argilas encontra-se na forma trocável, na matéria orgânica em forma de complexo ou trocável. Complexa-se facilmente aos ácidos fúlvicos, o que o torna muito móvel no solo (Sposito et al., 1981). Nas formas precipitadas como Zn(OH)⁺ abaixo de pH 7,0, ou como ZnHCO₃⁺ acima de pH 7,0, o elemento é muito móvel no solo.

O Zn nos vegetais é elemento essencial de nutrição, fazendo parte de ribossomos e de importantes enzimas. Estimula a permeabilidade de membranas e a

resistência das plantas a mudanças climáticas e pragas e doenças. O nível crítico nas plantas é de 20 mg kg^{-1} de matéria seca, e os sintomas de toxidez relacionam-se a clorose de folhas e retardo no crescimento das plantas. A mobilidade do Zn na planta ainda é muito discutida. Quando o elemento é abundante no solo, há migração das folhas velhas para as novas e acúmulo nos cloroplastos, vacúolos e paredes celulares. Pierrisnard (1996) não encontrou diferenças significativas entre os teores de Zn em grãos de milho de plantas cultivadas com e sem a adição de biossólido, porém encontrou acúmulo nas folhas e nos sabugos das plantas tratadas com biossólido.

Como já comentado, a absorção e translocação de metais ocorrem de forma diferente para cada metal e para cada espécie vegetal. Os elementos Cr e Ni acumulam mais nas raízes, enquanto Cd, Zn e Cu nas folhas. Foi verificado que o acúmulo de Cd em espinafre e tomate correlacionou-se com o teor presente no subsolo (van Lune & Zwart, 1997). Mahler et al. (1980) notaram em solos ácidos, que o acúmulo de Cd em acelga e em tomate foi 2 a 3 vezes maior que para o milho.

Boaretto et al. (1992) encontraram teores de $7,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ni nos grãos de feijão (na testemunha o teor foi de $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$), com aplicações acima de 10 Mg ha^{-1} de biossólido, enquanto que Wang et al. (1997) com a aplicação de 60 Mg ha^{-1} encontraram acúmulo de Ni em maior quantidade nas folhas e caule de plantas de trigo, seguido de acúmulo menor nas sementes.

A redução na nodulação da soja e aumento nos teores de Cd e Cu nas sementes foi constatada pelo uso de biossólido (Dowdt & Ham, 1977). Sintomas como clorose nas folhas velhas e redução de brotação de plantas de milho foram observados quando a concentração de Cd nas raízes foi de 33 mg kg^{-1} (Klein et al., 1979).

Saito & Takahashi (1979) estudaram a interação entre metais no solo e observaram que o maior teor de Cu no solo aumentou o teor de outros metais na planta e a toxicidade de Ni e Cu para a planta diminuiu na presença de Zn. De uma forma geral, a toxicidade de um metal é maior quando este se encontra em maior proporção na solução do solo (Smilde, 1981).

A redução no acúmulo de metais pesados em arroz e tomate com a elevação no teor de cálcio da solução do solo foi observada por Hosono et al. (1979) e o efeito da calagem na disponibilidade de metais pesados foi verificado em experimento realizado por Hooda & Alloway (1996) em solos tratados com lodo de esgoto e cultivados com trigo, cenoura e espinafre. Os resultados sugerem que a manutenção

do pH a 7,0 é mais garantida que a pH 6,5, pois uma pequena variação deste pode liberar metais ao solo. O valor de pH de solos tratados com resíduos contendo metais deve ser constantemente monitorado. Convém salientar que essa condição é difícil de ser mantida em solos sob clima tropical.

Na cultura da cana-de-açúcar, Marques (1990) encontrou teores de Zn, em folhas de cana cultivada em solo tratado com 160 Mg ha⁻¹ de bio-sólido (70% de umidade), na faixa de 20 a 23 mg kg⁻¹ e teores de Cu de 52,0 mg kg⁻¹. Enquanto que, Oliveira (2000) ajustando modelo para teor de Cu e Zn nas folhas +1, em solo tratado até a dose de 110 Mg ha⁻¹ de bio-sólido (base seca), encontrou a máxima absorção para o Cu de 6,7 mg kg⁻¹ e para o Zn de 19,9 mg kg⁻¹, na maior dose. A partir desses valores, não aumentava a absorção pela planta, indicando um limite de absorção, independentemente da concentração do elemento na solução do solo.

2.3 Influência da mineralogia na retenção de metais pesados

Entre os componentes do solo, sabe-se que além das substâncias húmicas, os minerais de argila, óxidos e sais como o carbonato, podem funcionar como adsorventes de metais pesados. Para os minerais, há dois tipos de superfície de cargas: as cargas denominadas permanentes, resultantes da substituição de cátions na estrutura do cristal quando as cargas não estão balanceadas, e que ocorre em minerais de estrutura 2:1; e as cargas denominadas variáveis ou dependentes de pH, que são resultantes da desprotonação dos grupos ácidos de superfície, principalmente AlOH, FeOH, SiOH e COOH, que desenvolvem cargas negativas ou positivas em função do pH e da força iônica da solução do solo. Assim, com a elevação do pH do solo, ocorre a desprotonação destes grupos e a superfície torna-se negativa podendo reter cátions metálicos. Com estas características encontramos os minerais de argila de estrutura 1:1, principalmente a caulinita e os óxidos de ferro, alumínio, manganês e titânio.

O Ponto de Carga Zero (PCZ) indica o valor de pH no qual a quantidade de cargas negativas equivale à quantidade de cargas positivas na superfície dos componentes do solo geradores de cargas. Valores de pH do solo acima do valor deste parâmetro indicam predomínio de cargas negativas. O PCZ da goethita e hematita, por exemplo estão na faixa de 7,0 a 9,0, o da gibbsita em torno de 9,0, e o da caulinita em

torno de 3,0 (Cornell & Schwertmann, 1996). Dessa forma, na maioria dos solos cultivados, é de se esperar que apenas na caulinita haja predomínio de cargas negativas, favorecendo retenções eletrostáticas de metais.

Porém, há vários mecanismos pelos quais os metais podem ligar-se aos minerais, e através de ligações mais estáveis que as ligações eletrostáticas citadas anteriormente. Entre eles podemos citar a difusão sólida de metais nos minerais, adsorções específicas, co-precipitações e adsorções de metais e ligantes orgânicos na superfície dos minerais.

Eick & Fendorf (1998) verificaram por meio de técnica de espectrometria de absorção de raios X com estrutura fina estendida, retenção diferenciada de Ni aos minerais, através de dissolução de um mineral, e formação de outro, incluindo o metal. Primeiramente, observaram a adsorção do Ni^{2+} a caulinita de forma eletrostática. Isto, provocaria aumento na dissolução da caulinita em meio alcalino (extrator), liberando Al^{3+} . Posteriormente, o Al^{3+} seria reabsorvido a fase sólida, na forma de hidróxido e uma parte do Ni estaria ligado sob a forma de hidróxido misto de Ni e Al.

Egreja Filho (2000) em experimentos de adsorção de metais à superfície de minerais sintetizados, observou forte afinidade do Ni a goethita e a gibbsita e cita que na goethita ocorre frequentemente a difusão do metal no interior do mineral devido a falhas ou poros na sua superfície. O metal alojado no interior do cristal pode torna-se menos disponível ainda, devido reprecipitações de íons de Fe^{3+} que selam os poros e falhas do cristal (Schwertmann et al., 1985).

Também, quanto ao processo de difusão sólida de metais em minerais, Brummer et al. (1988) verificou que existe uma grande afinidade do Zn^{+2} pela superfície da goethita, e a adsorção ocorre basicamente em três fases: adsorção do metal à superfície externa; difusão do metal para sítios no interior do mineral e a fixação do mesmo no interior da goethita. A etapa de adsorção acredita-se que seja rápida e as demais são mais lentas e dependentes do pH do meio e raio iônico do metal. Assim, quanto maior o pH do meio, mais lenta torna-se a difusão do metal no interior do cristal, visto que predominam processos de precipitação no seu exterior.

Outros metais como o Ni e Cd, também podem difundir-se para dentro da goethita. Desta forma, pode-se esperar que com o tempo os metais ligados às forma oxidicas tornem-se cada vez menos disponíveis, e são características como estas que tornam os latossolos bons adsorvedores de metais.

Adsorções específicas de metais a superfície dos óxidos de Fe são amplamente citadas na literatura, e como exemplo pode-se citar a adsorção de Cr à goethita, ou mesmo a óxidos amorfos como a ferrihidrita, que só se daria na faixa de pH de 2,5-4,0, em que não há predomínio de cargas negativas na superfície da goethita (Schwertmann & Cornell, 1996).

O recobrimento dos óxidos pela matéria orgânica do solo e a ligação entre estes e metais pode se dar através de ligantes orgânicos, como ácidos orgânicos, ácido fúlvico e DTPA, como propõe McGrath (1995), para as ligações do Cr aos oxihidróxidos de ferro.

Assim como ligantes orgânicos podem reter metais à superfície dos minerais, os metais também podem servir de ponte para a ligação de substâncias húmicas à superfície de óxidos. Varadachari et al. (1997) estudaram a complexação de substâncias húmicas a óxidos de ferro e alumínio sintéticos na presença de cátions mono, di e trivalentes. Verificaram que a goethita fixou maior quantidade de ácidos húmicos (AHs) na presença de cátions di e trivalentes; a hematita fixou AH com todas as formas testadas, e a fixação de AH a gibbsita foi drasticamente reduzida pela presença de todos os cátions testados. Concluindo-se, portanto, que para a hematita e goethita as ligações com AHs se dá através de metais (óxido-metal-AH), e para a gibbsita a ligação com os AH é direta.

Para os óxidos de ferro e alumínio, o grau de cristalinidade exerce maior influência na adsorção de metais do que a concentração total de óxidos do solo.

Desse modo, Shuman (1977) realizando experimento com adsorção de Zn em goethita e gibbsita de diferentes idades e graus de cristalinidade, verificaram que a retenção do Zn na forma mal cristalizada é dez vezes maior do que nas formas mais cristalizadas e que a força de ligação do metal ao óxido “amorfo” de alumínio (gibbsita) foi 3 vezes maior que a força de ligação ao óxido de ferro mal cristalizado.

A competição entre a adsorção específica de fosfatos e metais, na superfície dos óxidos foi estudada por Shuman (1977) e Li & Shuman (1996). Estes relatam que os óxidos de Fe e Mn são grandes adsorvedores de Zn, e que esta adsorção se dá de forma específica como ocorre com os fosfatos, podendo os últimos concorrer com a adsorção do metal na superfície dos óxidos. Porém, Kuo (1986) adicionando concomitantemente fosfato e os metais Ca, Zn e Cd a amostras de óxidos de ferro, verificaram que os óxidos são capazes de adsorver fosfatos e metais ao mesmo tempo

e que a idade do óxido só reduziu a retenção de Ca, enquanto que a retenção de fosfatos e dos outros metais não foi afetada.

2.4 Influência das substâncias húmicas na retenção de metais pesados

2.4.1 Definições, origem e método de extração das substâncias húmicas

O termo matéria orgânica do solo (MOS) engloba todo tipo de material orgânico presente no solo, desde a serrapilheira, as frações leves, a biomassa microbiana, os ácidos orgânicos solúveis e a matéria orgânica mais estabilizada, denominada de substância húmica (Stevenson, 1994).

De modo a simplificar este sistema complexo, a MOS foi dividida em dois grupos denominados de substâncias não húmicas e o grupo das substâncias húmicas. O grupo das substâncias não húmicas inclui os polissacarídeos, carboidratos, amino-açúcares, proteínas, aminoácidos, gorduras e graxas, lignina, resinas, pigmentos, ácidos nucléicos, hormônio e uma infinidade de ácidos orgânicos. A maioria destas substâncias são facilmente degradadas pelos microorganismos do solo, e o tempo de permanência no mesmo é curto. As substâncias húmicas (SHs), ao contrário, são formadas por uma mistura heterogênea de macromoléculas não inteiramente identificáveis quimicamente, sintetizadas no próprio solo, e resistente à degradação química e ao ataque microbiano.

Senesi & Lofreddo (1999) estimam que as substâncias húmicas perfazem em média 65% da matéria orgânica dos solos, o restante ficam divididos entre carboidratos (10%), grupos contendo N (10%) e lipídeos (15%). Cabe salientar, que estes valores variam em função do tipo de solo e da adição de material orgânico.

Uma definição mais completa das SHs seria “uma mistura química e fisicamente heterogênea de compostos com relativamente alto peso molecular, de coloração amarela a negra, amorfa, coloidal, de natureza alifática e aromática, formadas de reações de síntese secundárias (processo de humificação) durante o processo de decaimento e transformação de biomoléculas originadas da morte de organismos e da atividade microbiana (Senesi e Loffredo, 1999)”.

A formação das SHs é assunto controverso e muitos caminhos têm sido propostos, desde a clássica teoria que considera que as SHs são formadas a partir da

modificação das ligninas, até a teoria mais aceita atualmente, de que são formadas através de mecanismos envolvendo quinonas.

Stevenson (1994) descreve brevemente quatro caminhos básicos de formação dos ácidos húmicos (AHs) e ácidos fúlvicos (AFs), e salienta que um processo pode prevalecer sobre o outro, mas na prática todas as rotas devem ser consideradas juntas. Os processos estão abaixo citados:

- 1- Trata-se da teoria clássica de que as SHs são derivadas das ligninas. A lignina incompletamente degradada pelos microorganismos torna-se parte do húmus do solo. Esta lignina modificada inclui a perda de grupos OCH_3 e formação de o-hidroxifenóis, além de oxidação da cadeia alifática para a formação dos grupos COOH . Como as SHs podem ser consideradas polímeros, o produto inicial formado seria a humina, e após oxidações e fragmentações se formariam primeiramente os AHs e depois os AFs.
- 2- Este processo de formação considera a lignina como precursora, porém neste caso considera-se que a lignina atacada pelos microorganismos libera ácidos e aldeídos fenólicos, os quais são convertidos em quinonas por meio de enzimas. Estas quinonas polimerizam-se na presença ou ausência de compostos aminos formando as macromoléculas húmicas.
- 3- É semelhante ao processo anterior, apenas não considera que os polifenóis são sintetizados a partir de fontes que não contêm lignina, como a celulose, por exemplo.
- 4- De acordo com este conceito, as SHs são formadas a partir da redução de açúcares e aminoácidos, resíduos do metabolismo microbiano, que passam por polimerização não enzimática (reação de Maillard) formando polímeros nitrogenados.

De qualquer modo, um processo pode estar predominando sobre o outro, ou todos podem estar ocorrendo ao mesmo tempo. Em solos mal drenados talvez a teoria da lignina esteja predominando; a síntese de polifenóis pode ser importante em solos florestais; e em locais onde haja flutuação de umidade e temperatura pode estar ocorrendo a síntese de SHs através da condensação de aminoaçúcares. Os AHs podem ser originados de polifenóis de plantas ou microorganismos, enquanto que os AFs da condensação de aminoaçúcares (caminho 4).

No solo, as SHs estão presentes associadas com os minerais, com metais e materiais não humificados. Para o estudo dos detalhes estruturais e químicos das SHs,

é necessário separá-la dos demais componentes do solo, e em seguida proceder seu fracionamento, para redução da heterogeneidade físico-química dos compostos obtidos.

Com base na solubilidade em ácidos e bases, as SHs foram divididas em três principais frações: os ácidos húmicos (AHs), que são solúveis em soluções alcalinas e precipita-se em soluções ácidas (pH próximo a 2,0); os ácidos fúlvicos (AFs), que são solúveis a qualquer valor de pH; a humina, que é insolúvel a qualquer valor de pH. Estes termos são apenas operacionais e usados para definir as frações analiticamente fracionadas das SHs, porém não têm valor prático, nem definem compostos identificáveis (Senesi & Loffredo, 1999).

A escolha de um extrator para as SHs e de procedimentos de fracionamento é limitada, devido à heterogeneidade do material. Um extrator ideal envolveria a isolamento dos materiais de forma que não os alterasse, nem o contaminasse. Infelizmente, os processos usados promovem alguma alteração no material, exemplo disso seria o rompimento de ligações com íons metálicos, e co-extração de compostos inorgânicos e orgânicos não humificados. Isso prejudicaria o estudo de interações de metais e ácidos húmicos, visto que o objetivo seria extrair os complexos intactos. Porém, não seria possível a realização de muitas análises espectroscópicas se não houvesse a separação da fração mineral das SHs. Contudo, hoje, há avançados métodos analíticos como a espectroscopia de massa e a ressonância magnética nuclear do ^{13}C no estado sólido (RMN), que permitem analisar as SHs sem separá-las dos minerais. Inúmeros métodos de extração e fracionamento das SHs são encontrados na literatura, o que dificulta o confronto dos resultados. A Sociedade Internacional das Substâncias Húmicas (IHSS) propõe um método para padronizar estes procedimentos: As amostras de terra ou sedimentos podem ser pré-tratadas com solução de HCl de modo a romper as pontes entre minerais e SHs e eliminar fragmentos de plantas e raízes. Após este pré-tratamento, as SHs são extraídas com NaOH e pirofosfato, ou solventes dipolares apróticos, e em seguida as frações são separadas através de acidificação até pH 2,0 com solução de HCl 1+1, onde os AHs precipitam-se e são separados por centrifugação. A parte insolúvel seria a humina e a parte solúvel, os ácidos fúlvicos. A partir daí, as frações são purificadas através de resinas trocadoras de íons para os AFs, e para os AHs através de repetidas dissoluções com solução de NaOH e precipitações com solução de HCl. No final, realiza-se a diálise e liofilização das

frações. O processo de purificação é fundamental para eliminar impurezas, como sais, argilas, óxidos e substâncias orgânicas não húmicas, de modo a não interferir nas análises espectroscópicas. Canellas et al. (2000), também, salientam a necessidade de purificação de AHs para análises de FT-IR.

2.4.2. Caracterização das substâncias húmicas

Após o fracionamento das SHs, as suas características podem ser estudadas com base na composição elementar, no arranjo destes elementos na estrutura e nos tipos e localizações dos grupos funcionais na estrutura da molécula.

Dessa forma, métodos analíticos e espectroscópicos têm sido usados como ferramenta para o estudo das substâncias húmicas isoladas de resíduos, solos e sedimentos.

2.4.2.1 Análise elementar

A análise elementar é o método mais usado para a caracterização das SHs e informa sobre a quantidade dos componentes maiores formadores das SHs (C, H, N, O, S). Com os dados da análise elementar não é possível se chegar a fórmula molecular de AHs ou AFs, mas fornece uma noção da composição geral da molécula, e é muito utilizada para explicar a geoquímica das SHs. Pode ainda ser interpretada para diferenciar as classes das SHs, e dá um indicativo da eficiência do processo de purificação.

Um dos principais problemas para confronto de resultados das análises dos elementos maiores dos AHs, é a falta de reprodutividade dos resultados analíticos, devido às diversas formas adotadas para extração e purificação das SHs. Resultados de análises interlaboratoriais de ácidos húmicos padrões indicam que a umidade é o fator que mais interfere na diferença entre os dados obtidos, e assim este parâmetro deve ser cuidadosamente determinado e devem ser feitas as correções sobre os dados da análise elementar.

Outro fator que interfere nos resultados são os elevados teores de cinzas, resultantes de um processo de purificação mal conduzido. Também, este fator deve ser

cuidadosamente avaliado, e devem ser feitas as correções para a expressão dos resultados.

A composição das SHs é afetada por diversos fatores, como pH, material de origem, vegetação e uso do solo. Assim, solos neutros apresentam uma faixa estreita de valores para C, H, N, enquanto que solos ácidos apresentam uma faixa mais larga. Os AFs são mais ricos em O e S, enquanto que os AHs são mais concentrados em C, H e N (Senesi & Loffredo, 1999).

De um modo geral, os AHs dos biossólidos apresentam altos teores de N e S, devido a decomposição de proteínas e surfactantes contendo enxofre.

2.4.2.2 Razão atômica

A partir dos dados da análise elementar, é possível calcular as razões atômicas C/N, H/C e O/C, que são úteis para identificar os tipos de SHs, monitorar mudanças nas suas estruturas e fornecer dados para estabelecer fórmulas estruturais para as moléculas.

As razões O/C e H/C para os AHs estão em torno de 0,5 e 1,0, respectivamente, enquanto que para os AFs estão em torno de 0,7 e 1,4. Maior razão O/C pode indicar a presença de maiores quantidades de grupos funcionais oxigenados.

A razão C/N fornece informações sobre o processo de humificação das substâncias húmicas, assim reduções da relação C/N podem indicar menor grau de humificação do composto, visto que ainda há bastante N e pouco material contendo C para ser decomposto. Por outro lado, significa que o composto já está maduro, isto é, que a maioria das reações de oxidação do C orgânico já ocorreram.

Menores valores de C/H indicam grande contribuição de compostos alifáticos ou aromáticos insaturados. A razão H/C também pode informar sobre o grau de humificação das SHs, menores relações indicam maior grau de humificação, isto é o processo de humificação é definido como o enriquecimento das SHs em estruturas aromáticas recalcitrantes (condensadas) (Zech et al., 1997).

Dick (1997) estudando, também, AHs de um Latossolo Vermelho, com alta razão C/N e baixa razão H/C, encontrou por meio de RMN C^{13} , que os AHs deste solo apresentam baixo grau de aromaticidade e maiores quantidades de estruturas

alifáticas, indicando que estas razões relacionam-se bem com o grau de aromaticidade das SHs.

Os AHs dos biossólidos apresentam razão H/C menores que os do solo e menores teores de COOH, indicando menor grau de condensação das estruturas aromáticas. Apresentam, por outro lado, também, menores razões E4/E6, indicando maior presença de estruturas aromáticas quando comparados aos solos, porém estas estruturas não são muito condensadas, e são pouco humificadas. Os biossólidos, portanto, apresentam SHs recém-formadas, com material pouco humificado, com poucas estruturas lignificadas (Senesi et al.1996). A compostagem de biossólido com materiais vegetais melhoraria a qualidade do composto, o grau de humificação e a estabilidade das ligações das SHs com metais pesados.

2.4.2.3 Grupos carboxílicos, fenólicos e acidez total

Os AHs e AFs comportam-se como ácidos, polieletrólitos fracos, e podem ser examinados por técnicas baseadas na ionização dos grupos funcionais. Os maiores grupos funcionais contendo oxigênio nas SHs são os carboxílicos (COOH), fenólicos (OH), álcoois, hidroxilas, carbonilas e metoxilas (Stevenson, 1982). Os principais grupos ácidos em AHs e AFs são os carboxílicos e os fenólicos, que representam sítios de cargas negativas, que abilitam a matéria orgânica a reter cátions metálicos.

O comportamento ácido das SHs é uma mistura de ácidos fortes (maioria dos carboxílicos) e ácidos fracos (maioria dos fenólicos). O pK_a (valor de pH no qual 50% dos grupos apresentam-se desprotonados) destes grupos ácidos estão ao redor de $pH=4,5$ e $pH=10$, respectivamente (Swift, 1996).

Nas SHs dos biossólidos, verifica-se uma maior quantidade de grupos fenólicos quando comparados aos carboxílicos, e, portanto, é de se esperar que os grupos carboxílicos estejam dissociados, no pH da maioria dos resíduos e solos ($pH < 10,0$). Como os grupos COOH encontram-se em menores proporções, a quantidade de cargas geradas também é menor, refletindo em menor elevação de CTC dos solos tratados com biossólido quando comparada à elevação de CTC gerada pela adição de outros resíduos orgânicos mais humificados.

Os AFs de modo geral apresentam maiores quantidades de COOH que os AHs, e a maior porcentagem de O ocorre nesta forma. Menores teores de oxigênio nas SHs

dos biossólidos indicam menor predominância de grupos COOH. Stevenson (1994) afirma que a quantidade de grupos COOH é inversamente proporcional ao peso da molécula, e portanto, os AFs têm menor peso molecular que os AHs.

Durante a humificação ocorre um aumento dos grupos COOH e redução dos grupos OH, de modo que baixos teores indicam menor grau de humificação das SHs.

A determinação dos grupos ácidos das SHs é muito discutida na literatura e há muitas fontes de erros nestes procedimentos, e, portanto, estes parâmetros servem como uma boa aproximação da realidade.

Swift (1996) considera que a maior fonte de erro está na determinação da acidez total por titulometria, uma vez que o reagente Ba(OH)₂ precipita-se facilmente e a determinação precisa ser rápida e em ausência de oxigênio, reduzindo a precisão dos resultados.

2.4.2.4 Espectroscopia UV-Vis (razão E4/E6)

A absorção de radiação nas regiões UV (200-400 nm) e VIS (400-800 nm) do espectro eletromagnético aumenta as transições eletrônicas do estado fundamental para o estado excitado. Nas moléculas orgânicas como as SHs, estas transições estão associadas à presença de cromóforos, que são grupos funcionais contendo duplas ligações conjugadas e átomos S, N e O₂ com orbitais eletrônicos deslocalizados. Os cromóforos, são responsáveis pela coloração escura das SHs. As mais fortes bandas de absorção UV-VIS estão associadas a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ (vários orbitais), e as mais fracas a transições $\pi \rightarrow n$ (um único par de orbitais). Podem ocorrer nos orbitais moleculares do cromóforo, com a transferência de elétrons de um cromóforo para outro ou para um não cromóforo, como as hidroxilas e os grupos amina, neste caso estes grupos afetariam a absorção de energia (Senesi & Loffredo, 1999).

Kononova (1966) relaciona a razão E4/E6 (absorbância medida a 465 e 665 nm) ao grau de humificação das SHs, sendo que baixas relações estariam relacionadas a uma maior cadeia aromática condensada, e a uma alta relação estaria associada a grandes estruturas alifáticas.

Outros autores, entretanto, não relacionam a razão E4/E6 a cadeias aromáticas e condensadas, mas apenas à presença de cadeias aromáticas. A razão H/C,

espectros de fluorescência absorvendo a menores comprimentos de onda e estudos com RMN C^{13} poderiam indicar melhor a presença de estruturas condensadas e o grau de humificação entre SHs isoladas de materiais diversos.

Assim, Chen et al. (1977) relaciona a razão E4/E6 ao tamanho e ao peso molecular das SHs, e não a relaciona à concentração de anéis aromáticos condensados. Baes & Bloom (1990) relacionam a relação E4/E6 apenas a absorção de fótons por grupos cromóforos, e conseqüentemente à quantidade destes. Colnago et al. (1997) estudando a correlação entre a relação E4/E6 e aromaticidade dada por RMN C^{13} em amostras de AHs de Latossolo Vermelho, observaram uma correlação positiva (0,677) entre E4/E6 e aumento de aromaticidade ou diminuição de alifaticidade, porém concluem que esta razão relaciona-se a presença de anéis pouco ou muito condensados na molécula e não à aromaticidade total da molécula.

Kononova (1966); Chen et al. (1977) e Stevenson (1994) observam que a razão mais comumente encontrada para AHs seria $< 5,0$, e para AFs essa razão seria $> 5,0$, o que caracterizaria a razão E4/E6 como indicadora do grau de humificação da amostra.

A determinação desta razão é afetada pelo pH e pela concentração de sais da solução, e espera-se um decréscimo da razão, com a elevação destes dois fatores (Senesi e Loffredo, 1999). Assim, os autores recomendam o uso de solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaHCO_3 a pH 8,0, que minimizaria estes efeitos e tornaria mais seguro o confronto com dados gerados em outros materiais.

2.4.2.5 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR)

A técnica de EPR pode informar sobre a natureza e concentração dos radicais livres orgânicos e inorgânicos, assim como da interação destes com íons metálicos paramagnéticos nas formas livres ou complexadas. Os radicais livres são caracterizados pela presença em sua estrutura de um ou mais elétrons não pareados, são paramagnéticos e portanto podem ser determinados por EPR. As SHs são conhecidas por conter radicais livres, que são alheios a sua estrutura e podem estar envolvidos a processos químicos, bioquímicos e fotoquímicos que ocorrem no solo e na água (Senesi e Loffredo, 1999). Riffaldi & Schnitzer (1972) ressaltam a importância dos radicais livres como catalisadores nas reações de polimerização de SHs, e Steelink & Tollin (1985) enfatizam a importância dos mesmos na germinação de

sementes e no crescimento de raízes. Stevenson (1994) cita as quinonas presentes nos AHs como a principal fonte de radicais livres nas SHs.

Riffaldi & Schnitzer (1972) afirmam que os radicais semiquinonas são formados a partir da remoção de H dos grupos OH dos fenóis, e que portanto, quanto maior a concentração de fenóis no material de origem maior a concentração de spins nos AHs formados a partir deles.

De acordo com Senesi (1989), a origem dos radicais semiquinonas nas SHs é atribuída principalmente a processos de remoção do H dos grupos OH, NH₂ ou SH aromático, isto é a reações de ruptura de ligações na matriz polímera ou de ligantes, durante o processo de humificação. Outra origem destes radicais seria a degradação de substâncias orgânicas xenobióticas, como os pesticidas.

O princípio da técnica baseia-se no efeito Zeeman, que envolve a interação entre o spin de um elétron não pareado e um campo magnético externo. Aplicando-se uma radiação eletromagnética de determinada frequência perpendicular ao campo magnético, onde está inserida a amostra, ocorre a condição de ressonância, isto é, elétrons localizados em um menor nível de energia passam para nível superior, e isto é imediatamente seguido pela emissão de energia de mesma frequência por elétrons do nível superior que passam para um menor nível, e há uma radiação de absorção líquida, que é detectada. Contudo, o mecanismo de relaxação, ou seja, a dissipação da energia dos elétrons do nível superior para rede (moléculas vizinhas), quando retornam ao menor nível energético, só ocorre quando a população no menor nível energético é mantida maior que a população no nível mais elevado. Os espectrômetros de EPR operam na região das microondas do espectro eletromagnético (9 a 35 GHz) e com frequência na banda X. A princípio as amostras permaneceriam em uma cavidade dentro de um campo magnético estático (10 KG) e seriam irradiadas por uma fonte de microondas, até a condição de ressonância. Na prática, porém, a frequência de microondas é mantida constante, ao redor de 9,5 GHz, e o campo magnético externo é continuamente mudado, até a condição de ressonância ocorrer. O sinal de detecção é melhorado pelo aumento da intensidade de absorção pela modulação do campo magnético. Este sinal detectado pelos sistemas detector e amplificador, aparece como a primeira derivada da absorção, caracterizados para os radicais livres de AHs e AFs como uma simples linha de ressonância, isenta de estrutura hiperfina.

Os espectros de EPR podem fornecer basicamente quatro informações úteis: o valor g , que é o fator espectroscópico que pode ser comparado com o de um padrão conhecido (N,N, difenilpicrolidazil – DPPH diluído em KCl), cujo g é 2,0036; o comprimento da linha de absorção, que é a separação pico-pico da primeira derivada, medido em Gauss ou Tesla; a separação entre as linhas hiperfinas, também medidas em Gauss ou Tesla; e a concentração de elétrons não pareados, expressa em spins g^{-1} , que é estimada pela comparação da área do sinal da amostra com a área do sinal para o padrão, e que contem um número conhecido de centros paramagnéticos.

O valor g pode informar sobre a natureza química do radical e expressa na maioria das vezes para as SHs, os radicais semiquinonas conjugados a anéis aromáticos. As linhas de separação entre os picos de absorção e das estruturas hiperfinas permitem verificar a interação do radical semiquinona com elétrons e metais. Porém, a concentração de radicais livres é provavelmente a mais importante informação obtida dos espectros de EPR. Maiores informações sobre as possibilidades do método podem ser encontradas em Senesi & Loffredo (1991)

A informação sobre a quantidade de spins têm sido relacionada com a razão H/C, dados de ^{13}C RMN, e comprimento de onda de emissão das SHs, de modo a caracterizar o grau de humificação destas.

Assim, Riffaldi & Schnitzer (1972) indicam correlações entre maior concentração de radicais livres, baixas razões H/C e aromaticidade medida por RMN.

Senesi & Loffredo (1999) relacionam maiores concentrações de spins nas SHs a menores % H, baixas razões H/C e O/C, altas quantidades de fenólicos, alta razão E4/E6, intensas absorções de IR devido a estruturas aromáticas, evidenciando que a concentração de radicais livres nas SHs está diretamente relacionada a coloração escura, ao grau de aromaticidade, peso molecular e complexidade das moléculas.

Martin Neto et al. (1994) realizando estudo de caracterização nas frações de matéria orgânica de um Molissol, sob pradaria virgem, sob dez anos de monocultura de soja e 80 anos de rotação milho, trigo/soja, encontraram altas concentrações de radicais semiquinonas, detectados por EPR, correlacionando com menores valores de razão C/N da fração orgânica avaliada, e associa estas características ao maior grau de humificação do AH.

2.4.2.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) é uma ferramenta que permite informar sobre a natureza, reatividade e arranjo estrutural de grupos funcionais contendo oxigênio; a presença de proteínas e carboidratos; e a eficiência do processo de purificação da amostra quanto a contaminantes como argila, metais e sais (Stevenson, 1982). Os espectros de infravermelho podem revelar as interações entre grupos orgânicos, como os carboxílicos e metais pesados, visto que a coordenação dos grupos funcionais orgânicos com metais provoca deslocamento na frequência de absorção das ligações do íon carboxilato, o que permite a identificação da natureza (iônica ou covalente) da ligação organometálica (Vinkler, et al. 1976; Hernandez et al., 1993).

A região do espectro eletromagnético mais interessante na região do infravermelho para o estudo das SHs, é entre 4000 e 400 cm^{-1} (2,5 e 25 nm). A energia absorvida pela molécula orgânica, nesta região, é convertida em energia de vibração molecular, que pode produzir mudanças no comprimento da ligação entre os átomos, longitudinalmente ao eixo da ligação (“stretching”); e deformações (“bending”) que envolvem mudanças no ângulo das ligações. Os espectros de infravermelho são obtidos irradiando a amostra com radiação IR (2,5 a 25 nm), e a quantidade de radiação transmitida ou absorvida é medida versus o número de ondas ou o comprimento de onda, pelo espectrômetro, de forma que tais espectros para as SHs consistem de bandas vibracionais. Cada banda de absorção corresponde a uma vibração particular de uma determinada ligação e ocorre a uma determinada frequência. A frequência ou λ de absorção de um grupo funcional específico depende do modo de vibração, da força das ligações envolvidas e da massa dos átomos. Enquanto que, a intensidade de absorção depende de mudanças no momento dipolar envolvidos nas ligações e, portanto, das ligações e grupos polares. Ligações envolvendo átomos de O, dão as mais fortes absorções em IR. Dessa forma, com a posição e a intensidade da banda de absorção pode-se identificar a presença de um grupo funcional ou estrutural da molécula (Senesi e Loffredo, 1999).

A técnica da transformada de Fourier na leitura dos espectros de infravermelho (FTIR) proporciona maior velocidade nas leituras, pois permite a somatória de muitos

espectros (converte interferogramas em espectros normais), aumentando a resolução, diminuindo a proporção sinal-ruído, enfim melhorando a definição dos sinais.

Stevenson (1994) cita que o maior problema da técnica FT-IR seria a absorção de umidade pelos discos de KBr, que produziria bandas em $3300-3000\text{ cm}^{-1}$ e $1720-1500\text{ cm}^{-1}$. Para eliminar estas bandas de absorção OH devido à água, o autor cita o aquecimento dos discos a 100° C por duas horas, o que poderia causar danos à estrutura das SHs se tais condições fossem ultrapassadas, ou utilizar a técnica da refletância difusa FT-IR, que subtrai digitalmente estas bandas. Outra técnica seria a deuterização.

Outro inconveniente seria a presença de impurezas (sais, argilas,...) nas SHs, que geram picos que podem intererir nos picos desejados. Benites (1998) verificou que a presença de impurezas nos AHs isolados de latossolos tornou os picos referentes as ligações C-H alifáticas ($2918, 2850, 1452$ e 1384 cm^{-1}) e aos polissacarídeos (1544 e 1068 cm^{-1}) pouco evidentes. O autor enfatiza que a purificação dos AHs é essencial para eliminar impurezas minerais, principalmente nos solos tropicais, onde os metais fazem a ponte de ligação entre as moléculas orgânicas e a superfície mineral, ou os ligantes orgânicos fazem a ponte entre metais e a superfície mineral. A não eliminação das cinzas pode dificultar ou até impedir a interpretação dos espectros, pois picos referentes às estruturas orgânicas ficam encobertos pelos picos das impurezas.

Para os AHs de biossólidos, algumas bandas comuns têm sido encontradas por diversos autores. Giusquiani et al. (1994) cita a presença da amida II em AHs de biossólidos, na faixa de $1540-1510\text{ cm}^{-1}$ e a relaciona às maiores quantidades de N e S e a baixa razão C/N, e a menor concentração de radicais livres. Hernandez et al. (1993) sugerem que esta banda é resultante de peptídeos presentes nas bactérias que participaram dos processos de decomposição do resíduo, e dos polissacarídeos que estariam presentes dentro de suas células, indicando a presença de material protéico do qual o resíduo é rico.

A banda característica da presença de polissacarídeos, citada pelos autores acima, aparece nos espectros de AHs a $1080-1030\text{ cm}^{-1}$ (Boyd et al., 1980). Hernandez et al. (1993) e Canellas et al. (2000) encontram esta banda em AHs isolados de biossólidos e de solos tratados com biossólidos.

Os biossólidos apresentam, também, bandas referentes a grupos alifáticos a $2840\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$, provavelmente na forma de estruturas alifáticas de ácidos graxos e gorduras, os quais são componentes do resíduo.

A banda principal referente a $\text{C}=\text{O}$ aromático apresenta-se nos biossólidos a 1624 cm^{-1} , indicando, também, a presença de estruturas aromáticas. Nos solos tem-se apresentado a 1720 cm^{-1} , juntamente com outras, a 1624 e 1650 cm^{-1} .

Senesi (1992) e Stevenson (1994) observam que na região de 1720 cm^{-1} encontram-se as informações e evidências da formação de complexos de metais com as SHs, principalmente o Cu. Com a retenção de metais, a banda a 1710 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ de COOH) tende a diminuir e/ou desaparecer e surgem novas bandas a frequências de 1600 e 1380 cm^{-1} , para o íon carboxilato, COO^- simétrico e assimétrico. Como no biossólido, a banda aparece geralmente a 1600 cm^{-1} , conclui-se que os AHs dos biossólidos estariam ligados a metais. Comprovando estas informações, Baes & Bloom (1989) usando FT-IR com reflectância difusa encontraram que a frequência em 1600 cm^{-1} de estiramento COO^- mudou para 1624 cm^{-1} , indicando a formação de complexos Cu-humato.

Espectros FT-IR de SHs de biossólidos compostados com materiais orgânicos apresentam diminuição das bandas correspondentes aos compostos alifáticos, amidas, carboidratos e grupos carboxílicos e cetônicos, indicando menores quantidades de grupos contendo N, cadeias alquís e carboidratos e um acréscimo no caráter aromático (Giusquiani et al., 1994; Senesi et al, 1996; Miikki et al., 1997).

2.4.2.7 Espectroscopia de fluorescência

A fluorescência molecular consiste em processo fotoradioativo que baseia-se na emissão de um fóton quando um elétron excitado passa de um primeiro estado excitado singlet para um estado excitado singlet de menor energia. Os elétrons da molécula de interesse são previamente excitados, por uma radiação eletromagnética incidente, que é absorvida, e ocorre a transferência de elétrons de um estado de orbital molecular de baixa energia para orbitais “nonbonding” e “bonding”, de um estado excitado. Estas transições envolvem a passagem de elétrons disponíveis dos orbitais n ou π para π^* . O retorno dos elétrons ao estado fundamental envolve processo radiativo de fluorescência e fosforescência. O processo de fluorescência envolve a emissão de

fótons menos energéticos (maior λ) do que aqueles absorvidos para produzir o estado excitado, é um processo rápido, que dura de 10^{-9} a 10^{-6} s.

Nas SHs, esses processos são muito prováveis de ocorrer, pois estas têm pares de elétrons sozinhos, como o O e N, e sistemas aromáticos e/ou conjugados alifáticos, capazes de um alto grau de ressonância, ou seja de deslocamento de elétrons capazes de fluorescer (Senesi, 1992). Essas estruturas fluorescentes nativas ou incorporadas às SHs, constituem apenas uma pequena porção da macromolécula húmica, entretanto sua variedade e a dependência de suas propriedades de parâmetros moleculares e ambientais moleculares, permitem a obtenção de informações sobre seu comportamento fluorescente e sobre a natureza química das SHs (Senesi & Loffredo, 1999). O comportamento fluorescente médio da molécula é o resultado da soma de todos os espectros individuais dos diferentes fluoróforos da molécula.

Muitos fatores interferem no comportamento fluorescente da molécula, reduzindo a energia da molécula excitada e a intensidade fluorescente. Um deles é a interação com outros solutos, como o oxigênio molecular dissolvido (extinção estática), ou com íons metálicos (extinção dinâmica), que são de mais alto estado excitado. Os íons metálicos são hábeis para reduzir a fluorescência de ligantes orgânicos, devido ao aumento na proporção de processos não radioativos que competem com a fluorescência. Metais paramagnéticos de transição, como o Cu^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} e Cr^{3+} , entre outros, têm o nível d de energia menor que o estado excitado “singlet”, e pode reduzir efetivamente a fluorescência dos ligantes das SHs, via transferência de energia intramolecular.

Os espectros de fluorescência podem ser obtidos de três modos: emissão, excitação e excitação com varredura sincronizada. Os espectros de emissão são obtidos medindo a intensidade de radiação emitida como função do comprimento de onda, mantendo fixo o λ de excitação, enquanto que os espectros de excitação são obtidos pela medida da intensidade de emissão, fixando o seu λ e variando o λ de excitação. Os espectros de excitação com varredura sincronizada são obtidos medindo a intensidade de fluorescência, quando a molécula é varrida por ambos os λ , mas mantendo uma diferença, de $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{exc}$, entre eles. Quando essa diferença é

usada, esta técnica pode aumentar a intensidade de alguns picos, aumentando a sensibilidade do método.

Alguns autores citam a técnica de fluorescência para as SHs como promissora (Miano et al., 1988; Senesi & Loffredo, 1996; Zsolnay et al, 1999; Kalbitz et al., 2000), visto ser uma técnica sensível, não invasiva, requer um preparo mínimo da amostra, demanda pequena quantidade de amostra, e a análise pode ser feita em curto espaço de tempo. Porém, há algumas limitações, como por exemplo a pequena quantidade de estruturas fluorescentes presentes nas SHs, o que dificulta a observação da fluorescência. Também, a fluorescência observada não representa a total fluorescência da molécula, devido à dificuldade de se varrer o espectro para todos os comprimentos de onda. Outros aspectos como pH, valores de comprimento de onda ideais para uma boa resolução dos espectros e mudanças nos espectros devido a interações com íons metálicos, têm sido estudadas nas últimas décadas.

Os espectros de fluorescência podem auxiliar na distinção entre AHs e AFs de diversas fontes. Senesi et al. (1991) investigaram espectros em modo de emissão, excitação e síncrono de SHs de várias origens e naturezas, verificando as diferenças nos comprimentos de ondas, intensidade, grau de condensação e possíveis estruturas associadas aos máximos comprimentos de onda de emissão e excitação.

Assim, a principal diferença entre os espectros de emissão de AHs e AFs é que os AHs apresentam espectros com altos valores de $\lambda_{\text{emissão}}$ e baixos valores de intensidade (Miano et al., 1988; Senesi et al. 1991). Maiores valores de $\lambda_{\text{emissão}}$ estão relacionados a estrutura mais condensada, maiores substituições nos anéis aromáticos da estrutura dos AHs (Miano et al., 1988; Zsolnay et al., 1999), e portanto maior grau de humificação e estabilidade.

Os espectros de emissão dos AHs são bem simples quando comparados aos dos AFs, e apresentam para os solos, um pico máximo a um maior λ , porém com I.R.F. menor, isto é florescem menos que os AFs (Senesi 1990; Senesi et al., 1991; Senesi et al., 1996; Senesi & Loffredo, 1999).

A localização do espectro de emissão pode indicar o grau de humificação das substâncias analisada, como indicavam os primeiros trabalhos com fluorescências em SHs.

Zsolnay et al. (1999) em experimentos com solos úmidos e depois secos, desenvolveram um índice de humificação baseado na localização do espectro de fluorescência no modo de emissão. Este índice considera a área do pico a 435-480nm e a divide pela área do pico a 300-445 nm, quando os espectros forem obtidos através de excitação a 254 nm e pH da solução igual a 2,0. Dessa forma, verificaram que quanto maior a área na região de maiores comprimentos de onda, maior seria o índice de humificação. Os resultados coincidiram com menores valores razões H/C e, portanto com maior grau de humificação das SHs analisadas. Os autores citam a técnica como promissora, visto que é mais rápida e menos custosa que as técnicas de FT-IR ou RMN, e dependendo da amostra não são necessárias a concentração e separação dos componentes.

Kalbitz et al (2000) utilizaram a técnica de fluorescência em modo de excitação com varredura sincronizada, em amostras de água de lagos, sem nenhuma preparação, e compararam os resultados com os AFs extraídos e fracionados das mesmas amostras. Verificaram que os resultados foram similares, o que significa que não havia necessidade de extração e fracionamento das SHs quando o teor de carbono orgânico dissolvido fosse menor que $3,0 \text{ mg C L}^{-1}$, o que facilitaria na obtenção de resultados como a presença de estruturas aromáticas e o grau de humificação. Também, observaram que como nos espectros de emissão, mudanças para maiores comprimentos de onda nos espectros scan síncronos indicam aumento do número de núcleos aromáticos condensados e maior humificação das SHs analisadas.

Portanto, mudanças nos espectros de emissão e scan síncrono de SHs, para maiores comprimentos de onda, ao longo do tempo ou após a adição de resíduos orgânicos a solos, indicam maior humificação das SHs nativas ou incorporação de compostos mais aromáticos e condensados à estrutura das SHs nativas.

Outra informação que pode ser extraída dos espectros de fluorescência seria a interação das SHs com cátions metálicos, que promove mudanças no λ da máxima emissão de fluorescência e/ou nos picos de excitação, sugerindo que alguns complexos metal-SHs podem envolver uma transição entre dois níveis energéticos do metal ou entre um nível energético do metal o nível energético π do ligante (Senesi, 1992).

Dessa forma, Provenzano et al. (1994) aplicando a espectroscopia de fluorescência em duas dimensões (emissão, excitação) para solução de matéria orgânica natural e para extrato orgânico, verificaram a formação de complexos com alumínio, através de mudanças observadas nos espectros, como aumento da intensidade fluorescente e mudanças para maiores comprimentos de onda.

Ghosh & Schnitzer (1981) verificaram aumento no comprimento de onda do pico característico de excitação de AFs com a adição de Cu ou Fe à Podzóis, indicando que os grupos fluoróforos dos AF estão interagindo com metais.

Senesi (1990) relata dois possíveis mecanismos de adsorção de Cu aos AFs, em função do pH e da razão metal/AF: a neutralização de cargas onde ocorre transferência de energia de anéis fenólicos para o Cu, provavelmente adsorvido por ligações eletrostáticas, e a reação protolítica, que resulta na complexação do metal.

Em experimentos onde foi observada redução na intensidade de fluorescência e redução do pH da solução, após a adição crescente do metal, observou-se em um primeiro momento, quando a razão Cu/AF foi aumentada para 0,6, houve uma redução rápida de pH e 60% da fluorescência total foi inibida, sugerindo a ocorrência de reações protolíticas e processo de complexação do metal aos AFs. Aumentando a razão de 0,6 para 1,1, houve um lento aumento de pH e a intensidade de fluorescência permaneceu constante, indicando predomínio de processos de neutralização de carga e de adsorção por mecanismos eletrostáticos. Desta forma, nos tratamentos onde a I.R.F. manteve-se constante ou aumentou, talvez possamos sugerir predominância de mecanismos de complexação do metal ao AF, e no tratamento LVd + B, onde houve redução da I.R.F., talvez haja um predomínio de adsorção eletrostática de metais. Cabe ressaltar que o Cu forma complexo forte com os AFs e que tanto o Fe como o Al podem competir com o Cu pelos sítios de adsorção nos AFs, e reduzir a I.R.F.

2.5 Extração seqüencial de metais pesados

2.5.1 Definição e fatores que afetam a extração seqüencial

Os bioossólidos contêm metais pesados e poluentes orgânicos, em concentrações diversas, de acordo com sua origem, com a época em que é coletado e com os tratamentos de degradação da carga orgânica e dos tratamentos terciários utilizados para estabilização da massa produzida e redução de patógenos.

No solo, estes poluentes podem gerar problemas de contaminação das águas subterrâneas e podem entrar na cadeia alimentar via absorção pelas plantas. A mobilidade de metais pesados neste sistema depende do resíduo adicionado e do substrato que o recebe. A composição do resíduo e as propriedades físico-químicas do substrato que o recebe é de fundamental importância na retenção de metais. Quanto aos bioossólidos, Pierrisnard (1996) enfatiza a importância do material coagulante utilizado no tratamento terciário (cloreto férrico, cal, polieletrólitos,...) na retenção de metais, ainda no próprio resíduo.

Fatores do solo, entre eles, pH, CTC, teor de matéria orgânica, textura e composição das argilas, potencial redox, temperatura e atividade microbiana, além da competição com outros metais pelos sítios de adsorção e quelatação controlam os processos de degradação do resíduo e a consequente solubilidade e mobilidade de metais no solo (Lindsay, 1979).

O fracionamento, ou extração seqüencial, ou especiação de metais pesados, é uma ferramenta para avaliar o comportamento destes elementos no ambiente, no que diz respeito à mobilidade e disponibilidade às plantas. De acordo com Logan & Chaney (1983), desde 1973 vem sendo discutida a questão das formas que os metais assumem em solos tratados com bioossólidos.

Os termos fracionamento, extração seqüencial e especiação têm sido utilizados para descrever o mesmo processo, isto é a retirada de metais de cada fração do solo através de extratores químicos, e a sua determinação. Estes termos são discutidos por diversos autores exaustivamente.

Viets (1962) cita que o princípio do fracionamento seria que elementos cada vez mais imóveis podem ser extraídos por reativos cada vez mais potentes. Tessier et al. (1979); Shuman (1985); Miller et al. (1986) consideram ser o fracionamento a

determinação das formas químicas de metais em solos ou sedimentos, enquanto que Ure (1991) considera que o método trata do fracionamento do solo através de reativos químicos ou solventes, denominados extratores, para extrair elementos ligados ou associados a uma fase ou composto particular do solo.

Os conceitos de fracionamento e especiação de metais pesados, também são confundidos, de um modo geral, e há muita discussão na literatura a este respeito.

Desse modo, Sposito & Mattigod (1980) citam que especiação é a técnica que distingue grupos ligantes. Dados termodinâmicos, modelos de adsorção e dados de fracionamento são fornecidos a programas computacionais (GEOCHEM, SOILCHEM) que indicam o estado de oxidação do elemento, de acordo com as características físico-químicas do meio. Amaral Sobrinho (1993) concorda com os autores acima, de que a especiação seria a determinação da forma química precisa, do estado de oxidação do elemento no meio, e prefere o termo fracionamento para exprimir a presença de metais nas diversas frações do solo. Lake et al (1984) afirmam que extração química não representa método de especiação.

Mas há autores que preferem usar o termo especiação, como Pierrisnard (1996) que discute os dois termos e chega a conclusão que não há diferenças entre eles, preferindo usar o termo especiação. Também, Emmerich et al. (1992) consideram que a especiação determina a mobilidade de metais adicionados via biossólido e seu potencial de contaminação de águas subterrâneas.

Neste trabalho, optou-se por utilizar o termo extração seqüencial de metais, visto que as extrações foram realizadas sucessivamente em uma única amostra de terra, e considera-se que cada extrator retirou ou dissolveu a fração para a liberação dos metais, não se dividiu o solo em partes e depois retirou de cada parte os metais a ela ligados. Além disso, o teor de metais em uma fração depende da eficiência de extração nas frações anteriores.

Há, basicamente, três tipos de extrações que podem ser conduzidas e Pierrisnard (1996) discutiu as vantagens, desvantagens e a praticidade de cada uma. Assim, pode-se realizar em amostras de terra, a extração única, que envolve uma amostra de terra e um extrator ou uma mistura de extratores. São extrações rápidas, econômicas e dão uma noção do teor de metais extraído com aquele extrator. As desvantagens seriam que as reações são influenciadas pela razão sólido:extrator, tempo de extração e mudanças de pH. Também, pode ocorrer a reabsorção ou

precipitação de metais durante a extração. As extrações paralelas consistem de várias amostras de terra tratadas com diversos extratores, e apresenta como vantagem principal o fato de que não há acúmulo de erros da extração anterior. Como desvantagem pode-se citar a necessidade de realizar várias extrações dos teores residuais, e a prática têm mostrado que os resultados das extrações paralelas não diferem dos resultados encontrados nas extrações seqüenciais. As extrações seqüenciais são as mais utilizadas para metais pesados, e consistem em extrações sucessivas realizadas em uma única amostra, com extratores cada vez mais efetivos. Os extratores atuam modificando as propriedades de cada constituinte do solo, responsável pela interação do metal a fase sólida, solubilizando-o de forma que os metais possam ser determinados pelos métodos analíticos adequados. A vantagem deste tipo de extração seria que fornece informação mais precisa a respeito da distribuição de metais em cada fração de interesse, e, conseqüentemente, sobre a sua disponibilidade. As desvantagens seriam que esses métodos são dispendiosos em reagentes e tempo; deve-se obedecer uma ordem de extração; e para cada solo é necessário estabelecer um método, de acordo com as suas características e as do resíduo adicionado. Inúmeros fatores interferem nos métodos de fracionamento de metais pesados, como: razão sólido:extrator, a seqüência de extração, a seletividade dos extratores escolhidos, o tempo de contato da amostra com o extrator, a forma de agitação, a temperatura, as perdas de terra durante a extração; a reabsorção ou precipitação de metais durante o processo de extração, entre outros fatores (Ross, 1994).

A escolha de extratores seletivos e a marcha de extração são de extrema importância no desenvolvimento de método. A baixa seletividade dos extratores que ataca mais de uma fração ao mesmo tempo, e interferem no equilíbrio das extrações posteriores, é um dos maiores problemas nos métodos de fracionamento, prejudicando a eficiência da extração e a confiabilidade dos resultados obtidos (Sposito et al., 1982; Ross, 1994).

Desde a década de 70, inúmeros procedimentos vêm sendo testados, e até o momento não existe um procedimento padrão para seguir, o que dificulta o confronto de resultados. Essa diversidade de métodos deve-se a dificuldade de se obter um procedimento único para materiais com características físico-químicas muito diversas, como diversos tipos de solos, sedimentos e aerossóis. Assim, na maioria dos trabalhos

sobre fracionamento, verificamos que há apenas uma adaptação de outros métodos, desenvolvidos, talvez, para outras matrizes sólidas. É necessário conhecer as características do resíduo e da matriz onde o resíduo contendo metal foi depositado. As características mineralógicas, eletroquímicas, químicas e a qualidade e teor da matéria orgânica presente em solos, devem ser conhecidas para a escolha ou adaptação do método a ser utilizado.

2.5.2 Métodos de extrações seqüenciais propostos

Um dos primeiros trabalhos para extração seqüencial de metais apresentado foi o de Stover et al. (1976). Os autores apresentaram uma técnica de fracionamento que determinava a fração trocável (removida por solução 1 mol L⁻¹ de KNO₃), adsorvida (removida por solução 0,5 mol L⁻¹ de KF), orgânica (removida por solução 0,1 mol L⁻¹ de Na₄P₂O₇), carbonatada (removida por solução 0,1 mol L⁻¹ de EDTA) e residual (removida por solução 1 mol L⁻¹ de HNO₃), sendo que a fração residual foi considerada como estando ligada aos sulfatos e fosfatos, considerados como fase sólida do solo. Através do método proposto, os autores concluíram que os metais nos solos tratados com biossólidos encontram-se nas mesmas formas que estavam no resíduo, isto é, nas formas de carbonatos e sulfatos, e grande parte na forma orgânica. Nota-se, porém, a baixa seletividade dos extratores (ex: KF) e a ordem de extração (carbonatos devem ser extraídos primeiro que a fração orgânica, visto que são praticamente solúveis) equivocada.

Silviera & Sommers (1977) realizaram uma extração sequencial de metais no solo com as soluções 1 mol L⁻¹ de KNO₃, 0,005 mol L⁻¹ de DTPA e 1 mol L⁻¹ de HNO₃, e encontraram que a quantidade de metal extraída em cada fração foi proporcional ao total de metal adicionado ao solo através do biossólido, e em geral a solução HNO₃ extraiu 50% do metal adicionado. Observa-se que a marcha apresentada não possibilita a distinção clara das principais frações envolvidas na retenção de metais.

Shuman (1979) realizou um estudo de fracionamento de metais com 8 diferentes tipos de solos do sudoeste dos Estados Unidos, através das extrações da fração trocável (MgCl₂), orgânica (H₂O₂), óxidos de Fe (oxalato de NH₄ - ácido oxálico) e residual (HNO₃), também separou os metais ligados às frações argila, silte e areia. Constatou que grandes quantidades de Cu e Zn estavam presentes na fração argila

nos solos de textura fina, enquanto que em solos de textura grosseira a maior quantidade destes metais encontravam-se ligados à matéria orgânica.

Shuman (1977) estudando o papel dos óxidos na retenção de metais, verificou que as formas mal cristalizadas de óxidos de ferro e alumínio adsorvem dez vezes mais metais que as formas cristalinas, e que a CTC das formas cristalinas é cem vezes menor que a CTC das formas mal cristalizadas. Assim, o autor, testou vários extratores para separar os óxidos dos constituintes do solo e seguir com a análise de metais (Shuman, 1981). O uso de ditionito (Mehra & Jackson, 1960) para a remoção das estruturas cristalinas mostrou-se inviável, devido à contaminação natural do reagente com Zn e devido a precipitações dos metais na forma de sulfatos. Outro problema do ditionito seria a alta força iônica do extrator que obstruía o queimador nas análises com espectrometria de absorção atômica. Um bom extrator para o ferro, segundo o autor seria aquele composto de um agente redutor e de um agente complexante, garantindo que o ferro não precipitasse. Testando vários extratores, o autor sugere o uso da hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) para os metais ligados aos óxidos de Mn, o uso de solução de oxalato pH 3,0 no escuro para ferro amorfo e ácido oxálico mais ácido ascórbico para os óxidos de ferro cristalinos.

Em 1985, o autor sugere um método mais completo que contempla: teores trocáveis: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ pH 7,0; orgânica: NaOCl pH 8,5; óxidos de Mn: $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ pH 2,0; Fe mal cristalizado: $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ pH 3,0; Fe cristalino: $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O} +$ ácido ascórbico, e salienta que este método apresenta-se satisfatório para uma ampla faixa de solos. Verifica-se que para a fração orgânica houve a substituição do peróxido de hidrogênio pelo hipoclorito, visto a maior eficiência de extração deste último. O pirofosfato de sódio foi testado como extrator para a matéria orgânica, porém apresenta os inconvenientes de solubilizar pequenas quantidades de óxidos de ferro mal cristalizados e a eficiência na extração também é menor que a do hipoclorito.

Um dos primeiros métodos desenvolvidos, e o mais citado e usado, é o de Tessier et al. (1979), que utiliza a seguinte marcha de extração: fração trocável: MgCl_2 pH 7,0; carbonatos: NaOAc/HOAc pH 5,0; óxidos de Fe, Mn: $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ em 25% de HOAc pH 2,0; orgânica: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{HNO}_3$ pH 2,0 - NH_4Oac ; residual: $\text{HF} + \text{HClO}_4$. Este método foi desenvolvido para sedimentos e tem sido usado para os mais variados tipos de materiais. Apresenta alguns inconvenientes como a extração dos óxidos de Fe e Mn

antes da fração orgânica, e sabe-se que a hidroxilamina retira o Mn ligado a matéria orgânica, superestimando os teores encontrados fração óxidos. Também, verifica-se que o uso de peróxido de hidrogênio não é eficaz na oxidação total da matéria orgânica, superestimando os teores de metais na fração seguinte, que é a residual. Para solos com elevados teores de óxidos de ferro e alumínio, como os solos sob clima tropical, a hidroxilamina talvez não seja eficiente na extração dos metais ligados a esta fração. A mistura ácido oxálico, oxalato e ácido ascórbico proposta por Shuman (1985), provavelmente seja a mais indicada.

Amaral Sobrinho et al. (1997) realizaram fracionamento de metais pesados de acordo com metodologia proposta por Tessier et al. (1979) - modificada, em amostras do horizonte Bt de um Podzólico Vermelho Amarelo tratado com resíduo siderúrgico alcalino (pH 12,5) e resíduo ácido (pH 5,3) em doses equivalentes a 25, 50 e 100 Mg ha⁻¹. Verificaram que após dezoito meses de incubação houve um decréscimo na solubilidade de todos os metais, indicando que ocorreu uma passagem da forma trocável para formas menos trocáveis (óxido e residual), e maiores quantidades de Ni, Cd e Cu das amostras tratadas com o resíduo alcalino foram encontradas na fração residual, devido à elevação do pH do solo. O único inconveniente do método, segundo os autores, teria sido a extração do Pb da fração óxidos de Fe, Mn pelo extrator NaOAc pH 5,0, subestimando o teor do metal na fração óxidos.

Emmerich et al. (1982) propuseram a seguinte extração sequencial: KNO₃, H₂O, NaOH, EDTA e HNO₃ para determinar a fração trocável, solúvel em água, orgânica, carbonatada e residual, respectivamente. Taylor et al. (1995) realizaram o fracionamento do Cd, Cu, Ni, Pb e Zn presentes em um solo de textura argilosa, pH 6,2, tratado com biossólido digerido anaerobicamente, utilizando-se desta técnica. Os tratamentos constaram de aplicações de 20 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ durante cinco anos e de 100 Mg ha⁻¹ em uma única aplicação; tratamento com fertilizante somente e testemunha. Cultivaram-se sorgo de sequeiro e cevada neste experimento. A análise de metais presentes no solo após nove anos da aplicação inicial, revelou que as quantidades de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn extraídas deste solo por KNO₃ (trocáveis) e H₂O (solúvel) foram menores que 1% do total aplicado, sugerindo que estes metais foram removidos pelas culturas, lixiviados e/ou transformados em formas não extraíveis ao longo do tempo. As concentrações de Ni, Cu, Zn e Cd foram maiores no tratamento onde houve o parcelamento da aplicação (20 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ durante cinco anos) do que em uma única

aplicação de 100 Mg ha⁻¹. O Cu foi encontrado na fração orgânica e Cd, Ni, Pb e Zn na fração carbonatada. Os autores concluíram que após dez anos da aplicação do biossólido, os metais remanescentes no solo são mantidos na forma lábil, podendo estar biodisponíveis ou serem mobilizados para a solução do solo.

Dada a falta de um método padrão de extração seqüencial de metais e conseqüentemente a dificuldade de comparação de resultados obtidos por métodos diferentes, o Bureau de Referência da Comunidade Européia (BCR) propôs uma marcha com quatro etapas: solúvel em ácido (HOAc 0,11 mol L⁻¹, por 16 horas); redutível (NH₂OH.HCl 0,1 mol L⁻¹ pH 2,0, por 16 horas); oxidável (H₂O₂) e residual (HCl/HF/HNO₃). Miller et al. (1986) descrevem esta metodologia em detalhes, e citam que o reduzido número de etapas deste método, evita o acúmulo de erros de uma extração para a outra, quando comparados a outras metodologias que utilizam até nove passos para fracionar o material.

Mann & Ritchie (1993) desenvolveram a seguinte seqüência de extração para Cd: solúvel: KCl; trocável: BaCl₂ 0,1 mol L⁻¹; orgânica NaOCl pH 8,5; óxidos de Fe: oxalato de amônio + ácido oxálico + ácido ascórbico pH 3,0; residual: HNO₃+ HClO₄+HF+HCl.

Gomes et al. (1997) utilizaram a metodologia proposta por Mann & Ritchie (1993), incluindo as soluções de NaOH e de ditionito para a retirada dos metais ligados aos óxidos de alumínio, e de ferro, respectivamente. A extração foi realizada nos horizontes A e B de um Latossolo Vermelho Amarelo, textura muito argilosa, tratado com sais metálicos. Os autores encontraram o Cd nas fases solúvel e trocável, o Cr nas formas químicas mais estáveis, óxidos de Fe e caulinita. O Ni foi encontrado nas fases óxidos de Fe e residual, enquanto que o Pb apresentou afinidade com a matéria orgânica e o Cu com os óxidos de Fe. Os autores sugerem mudanças na metodologia utilizada para a extração e citam como exemplo a deficiência de oxidação da matéria orgânica com o uso de NaOCl, refletindo em extratos de coloração amarronzada na fração ligada aos óxidos de alumínio, com isso além da extração do Cu ligado a fração óxidos de alumínio foi extraída também a fração ligada a matéria orgânica. Também a extração dos metais ligados aos óxidos de Fe e Al com ácido ascórbico e ditionito de sódio mostrou-se problemática. A extração com NaOH para retirada de metais ligados aos óxidos de Al mais cristalizados (gibssita), também, não foi bem sucedida,

provavelmente devido a reações de precipitação e readsorções de metais propiciadas pelo extrator alcalino. Até o momento, parece não haver nenhum método desenvolvido para a extração de formas cristalinas de Al, e os metais ligados a esta fração só serão solubilizados na fração residual.

Chang et al. (1984) propuseram uma marcha adaptada de Shuman (1985) e de Mann & Ritchie (1993), mais adequada a solos tropicais ricos em óxidos. A marcha proposta consiste das seguintes etapas: extração dos teores trocáveis (solúvel + trocável) com solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, visto ser o Sr um cátion pouco comum no solo, o que facilitaria os processos de troca; extração dos metais ligados à fração carbonato com $\text{NaOAc } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0 acertado com ácido acético; metais ligados a matéria orgânica são extraídos com $\text{NaOCl } 5\%$, ajustado a pH 8,5 com $\text{HCl } 1+1$, mantendo-se a temperatura a 95°C durante 30 minutos; metais ligados aos óxidos extraídos com uma mistura de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de oxalato de amônio, $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido oxálico e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ascórbico, ajustada a pH 3,0 com NH_4OH , a 95°C , durante 30 minutos; fração residual $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$. As lavagens entre uma extração e outra são feitas com solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl , e os extratos são acidificados com 1% (v/v) de HNO_3 concentrado. Verifica-se que a ordem de extração deste método é adequada, e a chance de um extrator estar retirando metais de outras frações é mínima. O hipoclorito mostra-se mais eficiente na destruição da matéria orgânica do que o peróxido de hidrogênio e o pirofosfato, o único inconveniente seria a obstrução do queimador se a análise for realizada por espectrometria de absorção atômica. Os extratores para os óxidos parecem ser os mais apropriados de acordo com Shuman (1981), apesar de serem necessárias várias extrações quando comparado ao ditionito.

Apenas as frações residuais e totais podem ficar subestimadas, visto que a digestão nítrico-perclórica extrai no máximo 70% dos metais presentes na amostra. Este método foi testado por vários autores que o consideraram adequado (Chang et al., 1984; Beckett, 1989; Bell et al., 1991; Shuman, 1991).

Wang et al. (1997) realizaram o fracionamento do Ni em solos irrigados com efluente de lodo de esgoto e com o biossólido durante 40, 30 e 15 anos. A extração seqüencial de Ni dos solos seguiu o procedimento: trocável (solução 1 mol L^{-1} de MgCl_2 pH 7,0); carbonatada (solução 1 mol L^{-1} de NaOAc pH 5,0); óxidos de Fe-Mn (solução $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{NH}_2\text{OH-HCl} + 25\% \text{ HOAc- v/v}$); orgânica (30% H_2O_2 pH 2,0) e residual (digestão com $\text{HCl-HNO}_3\text{-HClO}_4$). No solo tratado com efluente de lodo de

esgoto, o Ni encontrou-se retido nas frações óxidos e carbonatada, enquanto que no solo tratado com bio sólido houve uma maior quantidade do elemento retido nas frações óxidos, carbonatada e trocável.

A quantidade de métodos de extração seqüencial de metais propostos na literatura é muito grande, porém, verifica-se que o princípio básico para retirada de metais de cada fração é quase sempre o mesmo. Ou seja, para a extração dos teores solúveis ou facilmente trocáveis de metais utilizam-se soluções salinas diluídas trocadoras de cátions, como $MgCl_2$, $CaCl_2$, NH_4NO_3 , $Sr(NO_3)_2$ ou NH_4 -acetato. As frações orgânicas são liberadas através de agentes oxidantes como o pirofosfato, o peróxido de hidrogênio e o hipoclorito de sódio. Os metais ligados ao ferro são liberados através da dissolução dos óxidos por agentes redutores como o oxalato de amônio, e os teores residuais são liberados através de ácidos fortes como HNO_3 , HCl , $HClO_4$ e HF capazes de romper as estruturais minerais.

Egreja Filho (2000) com base em misturas ternárias de reagentes desenvolveu método de extração seqüencial com oito etapas, testado em quatro latossolos incubados com sais de Cd, Ni, Pb, Zn na forma de nitratos e Cu na forma de cloreto. A marcha de extração foi primeiramente testada em óxidos de ferro e alumínio naturais, e sintetizados, assim como em caulinita e ácidos húmicos. Os resultados indicam que os metais apresentaram comportamentos diversificados frente aos extratores e não foi conseguida uma mistura de extratores 100% adequada a todos os metais testados. Também, verificou que a destruição de uma determinada fase sólida não representa que os metais ligados a ela serão detectados, visto problemas de precipitação e reabsorção. Assim, o ditionito mostra-se muito eficiente na dissolução de óxidos de ferro, porém mostra-se ineficiente na recuperação dos metais. O autor considera que a metodologia proposta foi satisfatória a todos os metais testados, exceto para o Pb, e enfatiza que não existe um método adequado para todos os tipos de solos e metais, sendo necessária a adequação para cada caso, que pode ser feita com a utilização de planejamentos com misturas extratoras e componentes-modelo adequados.

Em recente trabalho, Shiowatana et al. (2001) desenvolveram um sistema extrator de metais com fluxo contínuo, de forma a automatizar o processo de extração seqüencial. A extração ocorre em uma câmara fechada, onde fica a amostra, e os extratores passam por ela, seqüencialmente, com auxílio de uma bomba peristáltica. Os extratos são, então, coletados, e os metais determinados por espectrometria de

absorção atômica. Os autores concluem que o sistema é simples, rápido, há menores riscos de contaminação das amostras e pode aumentar a eficiência da extração de metais.

Os métodos de fracionamento de metais são lentos, demorando uma semana para conclusão das extrações, e dessa forma estão mais sujeitos a contaminações, que dificultam a repetição dos resultados. O uso de microondas para a extração dos teores totais e residuais tem reduzido estes problemas. As extrações que demoravam uma semana, são feitas em algumas horas e as possibilidades de contaminação são mínimas visto que os frascos são fechados e isolados entre si. Alguns trabalhos estão sendo realizados a fim de realizar todo o processo de extração em fornos de microondas (Real et al., 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido, a céu aberto, em área do setor de Química do Departamento de Ciências Exatas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP, em Piracicaba - SP.

3.1 Solos utilizados

As amostras de terra foram coletadas em áreas produtoras de cana-de-açúcar, do município de Piracicaba, SP, nas camadas de 0-0,30 m e 0,30-0,60 m. Os solos utilizados no experimento foram escolhidos em função dos teores de argila e óxidos de ferro, e são classificados como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico – LVAd, , contendo 150 e 15 g kg⁻¹ de argila e óxidos de ferro, respectivamente, e Latossolo Vermelho distrófico – LVd, com teores de 600 e 120 g kg⁻¹ de argila e óxidos de ferro, respectivamente. Nas amostras desses solos foram realizadas as análises textural, química, eletroquímica e mineralógica.

3.1.1 Análise textural

As proporções de areia grossa, fina, silte e argila foram determinadas nos solos testemunha em superfície e profundidade, de acordo com Camargo et al. (1986).

3.1.2 Análises químicas

3.1.2.1 pH

O pH foi determinado em suspensões de terra na proporção 1:2,5 (m/v), em água, em solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ e em solução de KCl 1 mol L⁻¹.

3.1.2.2 Carbono oxidável e N-total

A determinação do C-oxidável foi realizada de acordo com o método Walkey-Black a frio, usando 1,5 g de terra para os solos testemunha e 1,0 g para os solos tratados com bio sólido, adicionando 10 mL de dicromato de potássio ($49,053 \text{ g L}^{-1}$) e 20 mL de ácido sulfúrico concentrado (meio ácido). Após 30 min. cessou-se a reação de oxidação com água. Acrescentaram-se 5 mL de ácido fosfórico e 0,5 mL de difenilamina (indicador), e a titulação foi conduzida com solução de sulfato ferroso amoniacal ($196,02 \text{ g} + 15 \text{ mL de H}_2\text{SO}_4 \text{ L}^{-1}$), até a viragem do violeta para o verde.

O N-total foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl (Sarruge & Haag, 1974).

3.1.2.3 Complexo sortivo

A extração de Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} (acidez trocável) foi efetuada com solução extratora 1 mol L^{-1} de KCl pH 7,0. A determinação dos cátions Ca^{2+} e Mg^{2+} foi realizada por espectrometria de absorção atômica, e do Al^{3+} por titulação potenciométrica com solução de NaOH $0,02 \text{ mol L}^{-1}$. A extração de $\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$ (acidez potencial) foi realizada com solução de acetato de cálcio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0, e realizou-se a determinação por titulação potenciométrica com solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH (Embrapa, 1997). Com base nestes resultados foram calculadas a soma de bases (SB) e a capacidade de troca catiônica (T).

Para extração de P e K^+ utilizou-se solução H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O potássio foi determinado por fotometria de emissão, e o P por método colorimétrico adicionando-se a uma alíquota de 5 mL do extrato, 10 mL de solução sulfobismuto e 1 mL de ácido ascórbico 3%.

3.1.2.4 Carbonato total

Foram, também determinados os teores de carbonato total nos tratamentos testemunha e nos solos tratados com bio sólido. Na faixa de pH de 7,5 a 8,5, encontra-se a presença de carbonato nos solos, e tal determinação é necessária. Para esta determinação, utilizou-se 1,0 g de terra para os solos testemunha e 5,0 g para os solos

tratados, e 10 mL de solução de HCl 1+1 (v.v). Após 3 min. de reação, o volume de CO₂ liberado da reação foi medido por aparelho calcimetro Dietrich-Fruechling, e transformado para teor de carbonato, em g kg⁻¹. A leitura realizada 1 a 3 min. após a mistura do ácido fornece o resultado do teor de calcita, enquanto que após uma hora de reação, fornece o teor de carbonato resultante da dissolução da calcita e da dolomita, cuja solubilidade é cem vezes inferior ao da calcita.

3.1.2.5 Ataque sulfúrico e ataque alcalino

A determinação dos teores totais de óxidos contribui na compreensão do nível de intemperização dos solos sob clima tropical, por meio da estimativa da perda de SiO₂ e da persistência de F₂O₃ (hematita e goethita) e de Al₂O₃. A alta superfície específica e a presença de grupos funcionais OH⁻, características destes materiais, favorecem a retenção de metais pesados.

Para a extração sulfúrica, foi transferido 1,0 g de terra para erlenmeyer de 500 mL, adicionaram-se 20 mL de H₂SO₄ 50% e ferveu-se em sistema com refluxo durante 30 min. O extrato filtrado foi transferido para balão volumétrico de 250 mL, no qual foram determinados Al₂O₃, Fe₂O₃, e MnO por espectrometria de absorção atômica, utilizando-se mistura ar-acetileno para determinação do Fe e Mn, e a mistura óxido nitroso-acetileno para determinação do Al.

O resíduo do papel de filtro foi transferido para erlenmeyer por meio de jatos de água destilada e procedeu-se o ataque alcalino com a adição de 4mL de NaOH 30%, fervendo-se por 1 min. em sistema de refluxo. O extrato filtrado foi transferido para frasco plástico, e o teor de SiO₂ foi determinado por método colorimétrico. Transferiram-se 10 mL do extrato para balão volumétrico de 100 mL, completando o volume. Retirou-se uma alíquota de 5 mL, transferindo-a para copo plástico e adicionando 2,5 mL de H₂SO₄ 1 mol L⁻¹, 5 mL de molibdato de amônio 5%, com espera de 30 min., adicionando-se 5 mL de ácido tartárico e 1 mL de solução saturada de ácido bórico. Transferiu-se a solução do copo plástico para balão de 250 mL e efetuou-se a leitura da absorbância, utilizando-se comprimento de onda de 800 nm (Embrapa, 1997).

3.1.2.6 Ferro e alumínio vinculados aos óxidos mal cristalizados

A extração dos teores de Fe e Al vinculados aos óxidos mal cristalizados foi realizada de acordo com Buurman et al. (1996). Em tubos de polipropileno, utilizou-se 0,5 g de terra e 25 mL de solução extratora $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de oxalato de amônio + $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido oxálico, pH 3,0. A extração foi realizada no escuro, com agitação durante 4 horas. Após centrifugação, determinaram-se os teores de Al_2O_3 e Fe_2O_3 nos extratos, por espectrometria de absorção atômica, utilizando-se mistura ar-acetileno para determinação do Fe e mistura óxido nitroso-acetileno para determinação do Al.

O teor de ferrihidrita foi estimado multiplicando-se o teor de Fe pelo fator 1,7 (Parfitt & Childs, 1988).

3.1.3 Caracterização eletroquímica

Com a finalidade de aprofundar os conhecimentos sobre a natureza físico-química dos solos empregados no experimento, verificar as transformações ocorridas com o uso de biossólido, e possivelmente correlacionar tais características com o estudo de fracionamento de metais, foram realizadas algumas análises eletroquímicas, que seguem abaixo:

3.1.3.1 Condutividade elétrica em extrato saturado

A determinação da condutividade elétrica nos solos foi feita em extrato saturado, utilizando-se aproximadamente 150 g de terra e água, até a obtenção de pasta homogênea. A extração do filtrado foi realizada sob pressão de 39,2 Pa (4 kgf cm^{-2}) de N_2 , em pilastra de aço. Nos extratos, assim obtidos, foram determinados os valores de condutividade elétrica.

3.1.3.2 Determinação da CTC

Para a determinação da CTC dos solos, empregou-se o método de Gillman & Sumpter (1986) modificado. Foram pesados 2,0 g de terra, transferidos para tubos de centrífuga, sendo feita saturação do complexo de troca com o uso de solução 0, 1 mol

L^{-1} de $BaCl_2$ e $0,1 \text{ mol } L^{-1}$ de NH_4Cl . A troca de ligantes foi realizada com solução $0,05 \text{ mol } L^{-1}$ de $MgSO_4$. A determinação da CTC foi obtida por diferença entre a quantidade de Mg adicionada e a retida pelo solo. Determinou-se o Mg por espectrometria de absorção atômica, chama ar-acetileno.

3.1.3.3 Determinação do ponto de efeito salino nulo (PESN)

O PESN corresponde ao ponto de carga zero (PCZ) dos solos, foi proposto por Schofield (1949), e representa o pH onde a carga líquida de um solo é igual a zero. Raij & Peech (1972) propuseram o método de titulação potenciométrica, para determinação do PESN em solos com cargas variáveis. O método contempla, além da variação de pH, também a variação da força iônica do meio. A determinação do PESN compreende a titulação da amostra com H^+ e OH^- em diferentes concentrações salinas. A determinado pH, os valores de H^+ e OH^- adsorvidos são os mesmos, independentemente da concentração salina, e as curvas de titulação interceptam-se. O termo ponto de efeito salino nulo (PESN) foi proposto recentemente por Alleoni & Camargo (1994) para expressar o valor de pH obtido pelo cruzamento das curvas de titulação potenciométrica. Se o pH do solo estiver acima do valor do PESN, indica que a carga líquida do solo é negativa, favorecendo a adsorção de metais, via ligações eletrostáticas.

Preliminarmente à determinação do PESN, foram realizadas determinações do pH em água e do pH em solução de $KCl \text{ } 1 \text{ mol } L^{-1}$ dos solos do experimento. A estimativa do balanço de cargas do solo foi obtida pela diferença entre $pH \text{ } KCl \text{ } 1 \text{ mol } L^{-1}$ e $pH \text{ } H_2O$ (ΔpH), como proposto por Mekarú & Uehara (1972). A partir desses valores, foi estimado o ponto de carga zero (PCZ), através da equação proposta por Keng & Uehara (1974): $PCZ = 2 \text{ } pH \text{ } KCl \text{ } 1 \text{ mol } L^{-1} - pH \text{ } H_2O$.

O PESN foi determinado, em duplicatas, pelo método de titulação potenciométrica descrito por Raij & Peech (1972). Utilizaram-se 4,0 g de terra, adicionando-se 20 mL de cada uma das soluções com concentrações de $KCl \text{ } 0,1$; $0,01$ e $0,001 \text{ mol } L^{-1}$ e as diferentes concentrações de $HCl \text{ } 0,002$, $0,004$ e $0,006 \text{ mol } L^{-1}$ e de $NaOH \text{ } 0,002$; $0,004$ e $0,008 \text{ mol } L^{-1}$. Os solos foram agitados em agitador circular e deixados em equilíbrio por 24 horas. Procedeu-se a leitura de pH, e os dados foram submetidos à análise pelo Programa PESN versão 1.0 para Windows (Alves et al.,

2002), o qual ajusta cada curva isoeletrica ao modelo polinomial de quarto grau e calcula a interseção entre elas (PESN).

3.1.4 Análises mineralógicas

A mineralogia dos solos, especialmente sob clima tropical, exerce papel fundamental na retenção de metais pesados. Com a finalidade de reconhecimento da natureza mineralógica dos solos empregados, foram conduzidas análises mineralógicas qualitativas e semiquantitativas de acordo com os seguintes métodos.

3.1.4.1 Preparo das amostras e difrações de raios X – análises qualitativas

Inicialmente, realizou-se a remoção da matéria orgânica dos solos com peróxido de hidrogênio, após sua pré-acidificação com acetato de sódio pH 5,0, de forma a promover a efetiva oxidação do material orgânico. Esta etapa mostrou-se essencial, visto que a matéria orgânica, nos solos tratados com biossólido, funciona como agente cimentante, dificultando a separação dos materiais. Após a remoção da matéria orgânica, os solos foram secos em estufa e procedeu-se a separação das frações argila, silte e areia por meio de dispersão com NaOH 1 mol L⁻¹, separação da areia em peneira de 0,053 mm e da argila e silte através de provetas de sedimentação (Embrapa, 1997).

As frações areia e silte foram desferrificadas pelo método do DCB (citrato-bicarbonato de sódio-ditionito) a frio, de acordo com Buurman et al. (1996). Após a completa remoção dos óxidos de ferro, as frações foram secas em estufa e prepararam-se as lâminas com material em pó, usando-se tetracloreto de carbono como fixador. As lâminas foram levadas a aparelho de raios X Philips Analytical, com anodo de CuK α , operando a uma tensão de 40kV, corrente de 40 mA, e foram irradiadas a um intervalo de 3 a 60 °2 θ .

A fração argila foi separada em duas partes, uma na qual foram concentrados os minerais de argila por meio da destruição dos óxidos de ferro pelo método DCB, acima citado, e outra em que foram concentrados os óxidos de ferro por meio da destruição dos minerais de argila com NaOH 5 mol L⁻¹.

Uma parte da fração argila desferrificada foi saturada com KCl 1 mol L⁻¹ e outra parte com MgCl₂. Procedeu-se metodologia proposta por Jackson (1975), de preparo das lâminas de argila saturadas, através de tratamentos com K 25°C, com Mg 25°C, aquecimento de lâmina de K a 350°C para certificar-se da presença da gibbsita, aquecimento da lâmina de argila saturada com K a 550°C para certificar-se da presença de caulinita, e a solvatação com glicerol da lâmina saturada com Mg para detectar a presença de minerais expansivos (2:1). As lâminas foram montadas com suspensão do material, secas a temperatura ambiente, levadas a aparelho de raios X e irradiadas nas mesmas condições citadas para as frações areia e silte, exceto quanto ao intervalo utilizado. As lâminas de argila saturadas com K e Mg a 25°C foram irradiadas no intervalo de 3 a 90 °2θ, enquanto que nos demais tratamentos esse intervalo foi de 3 a 30 °2θ. As difrações de raios X das frações areia, silte e argila desferrificados foram realizadas no NUPEGEL (Núcleo de Pesquisa em Geologia, ESALQ/USP, Piracicaba, SP).

As amostras de argila não desferrificadas foram submetidas a tratamento para destruição dos minerais de argila com NaOH 5 mol L⁻¹ e concentração de hematita, goethita e anatásio, através de método proposto por Kämpf e Schwertmann (1982). Tal tratamento é realizado na medida em que estes óxidos apresentam picos de pequena intensidade e de difícil reconhecimento, que muitas vezes coincidem com picos de outros minerais da fração argila. As difrações de raios X dos óxidos de ferro foram realizadas no Laboratório de Ensaio Cerâmicos, do Instituto de Geociências e Ciências Exatas, UNESP, Rio Claro, SP. As lâminas foram montadas com material em pó e levadas a aparelho de raios X, com anodo de CoK α , operando-se a uma tensão de 35 kV, corrente de 25 mA, e foram irradiadas a um intervalo de 20 a 45 °2θ.

3.1.4.2 Análises mineralógicas semiquantitativas

As análises semiquantitativas da fração argila desferrificada e concentrada em óxidos de ferro, também foram realizadas no Laboratório de Ensaio Cerâmicos, do Instituto de Geociências e Ciências Exatas, UNESP, Rio Claro, SP.

Para a quantificação dos teores de caulinita e gibbsita na fração argila desferrificada, utilizou-se as amostras saturadas com Mg. Essas amostras foram

submetidas à análise térmica diferencial (ATD), sob atmosfera de N_2 , utilizando-se padrões dos minerais caulinita e gibbsita para determinação da curva de calibração, e como material inerte o Al_2O_3 calcinado. Com o aquecimento das amostras e do material inerte, o diferencial de temperatura entre eles aumenta devido às reações endotérmicas, originando picos característicos de destruição de cada mineral. O pico da gibbsita é evidente em $350^\circ C$ e para a caulinita em $550^\circ C$.

3.2 Biossólido utilizado no experimento

O biossólido utilizado no experimento foi proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto da SABESP, em Barueri, SP. É originário do esgoto doméstico e industrial produzido na grande São Paulo, após digestão aeróbica, anaeróbica e do tratamento terciário realizado com $Ca(OH)_2$ e $FeCl_3$. O biossólido proveniente de uma única partida, foi armazenado a céu aberto, em pilha, e a cada nova aplicação aos vasos, era retirada a quantidade necessária à aplicação, misturada, e retirada uma amostra composta de 5 amostras simples.

3.2.1 Caracterização química do biossólido

Foram realizadas análises sucessivas do biossólido utilizado no experimento, uma vez que a aplicação foi parcelada em cinco vezes. A cada nova aplicação, separava-se o resíduo que seria utilizado, homogeneizava-o e coletavam-se amostras para análise, de forma que os resultados apresentados são a média das análises das 5 aplicações, e de 3 repetições. As análises seguiram método proposto por Eaton et al. (1995).

A determinação do C-oxidável foi realizada por meio de procedimento idêntico ao realizado para os solos, como citado anteriormente, modificando apenas a quantidade de massa utilizada. Utilizaram-se 0,1 g de resíduo seco a $65^\circ C$, em estufa de circulação forçada.

Os teores de C e N totais do biossólido foram, também, analisados por meio de Analisador Automático. Para tanto, foi necessário obter o teor de carbonato do biossólido, para desconto do C presente neste. O teor de carbonato foi determinado como para os solos, através de método citado anteriormente.

O teor de matéria orgânica no resíduo foi determinado gravimetricamente após incineração, em mufla, a 440° C durante 2 h.

Para a determinação dos metais e macronutrientes, realizou-se a digestão nítrico-perclórica (1+3), de 0,5 g do resíduo seco e moído, com aquecimento simples, em bloco digestor. Os teores totais de metais foram determinados diretamente no extrato, por espectrometria de absorção atômica. Nas alíquotas do extrato obtido, o P-total foi determinado pelo método colorimétrico, o K-total por fotometria de emissão. O N-total foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl (Sarruge & Haag, 1974).

A condutividade elétrica no biossólido foi determinada em extrato aquoso filtrado, após 6 h de repouso da mistura resíduo-água, na proporção 1:10.

3.3 Montagem do experimento

O experimento foi montado em 19 de outubro de 1996, em caixas de cimento amianto de 0,5 m³, a céu aberto. Seguiu o esquema fatorial 2x2: sendo dois solos (Latosolo Vermelho Amarelo distrófico – LVAd e Latossolo Vermelho distrófico - LVAd) e duas doses de biossólido (0 e 388,0 Mg ha⁻¹ de biossólido, base seca), com 4 repetições, totalizando 16 parcelas. Cada parcela foi composta pela caixa de amianto, com capacidade para 0,5 m³, preenchida a partir do fundo com uma tela de plástico de malha fina, 0,04 m de pedra britada lavada número 1, novamente tela fina de plástico, 0,02 m de areia, 0,3 m de solo retirado da profundidade 0,30-0,60 m e 0,3 m de solo retirado da profundidade 0-0,30 m. Assim, cada caixa recebeu 555,9 kg do solo LVAd e 486,1 kg do solo LVd.

A aplicação do resíduo foi parcelada em cinco vezes, de forma a simular sucessivas aplicações, com a incorporação sendo realizada nos primeiros 0,20 m. A cada dois meses era realizada uma incorporação deste material aos solos. A primeira aplicação foi correspondente a 72,0 Mg ha⁻¹ de biossólido (23/11/96), a segunda aplicação foi de 75,3 Mg ha⁻¹ (08/02/97), a terceira de 77,4 Mg ha⁻¹ (11/04/97), a quarta aplicação de 83,0 Mg ha⁻¹ (16/06/97) e a quinta aplicação foi correspondente a 80,0 Mg ha⁻¹ (16/08/97), totalizando, desse modo, a incorporação de quantidade correspondente a 388,0 Mg ha⁻¹ do resíduo (base seca) ou 34,23 kg por caixa.

Durante o período de aplicação do biossólido, monitoraram-se os teores de metais pesados e de nitrato nos lixiviados coletados de cada caixa. Após a última

aplicação do biossólido, realizou-se um plantio de milho com colheita de folhas, raízes, colmos e grãos e análises do teor de metais nestes compartimentos. Os resultados destas análises, assim como da análise dos lixiviados, encontram-se em Anjos (1999).

O atual projeto começa em março de 1998, com a amostragem dos solos contidos nas caixas, nas profundidades de 0-0,25 e 0,25-0,50 m. A amostragem foi realizada com trado de mão e foram coletadas vinte amostras simples de cada profundidade, unidas em uma única amostra para cada profundidade. Foram secas ao ar, destorroadas, e posteriormente secas em estufa de circulação forçada a 65°, até peso constante. Após secagem em estufa, foram moídas em gral, desfazendo assim os pequenos grumos formados pelo biossólido e solo. Tais amostras foram reservadas para as análises textural, química, eletroquímica, mineralógica e para o fracionamento de metais pesados e caracterização das substâncias húmicas.

3.4 Plantio da cana-de-açúcar e condução do experimento

Os solos foram preparados para o plantio da cana-de-açúcar, retirando-se as raízes da cultura anterior (milho), de modo que houvesse a mínima movimentação de terra entre as camadas.

O plantio da cana-de-açúcar, variedade RB 72-454, foi realizado em maio/98, através de gemas. Após a brotação, foi realizado desbaste deixando-se apenas uma planta (touceira) por caixa. Durante todo período do cultivo, as plantas foram irrigadas semanalmente, até a saturação do solo, mas de modo que não houvesse lixiviação.

No sétimo mês após o plantio, verificou-se deficiência de potássio nas plantas de cana nos tratamentos com lodo (folhas velhas amarelas e secas). Realizou-se, então, adubação com KCl na dose correspondente a 60 kg ha⁻¹, na forma de cloreto de potássio. No décimo mês, após plantio, notou-se a persistência da deficiência em potássio, e novamente foi realizada adubação, na dose correspondente a 90 kg ha⁻¹.

3.4.1 Colheita da cana-de-açúcar, análises tecnológicas e de produtividade

A colheita da cana crua, prevista no cronograma para outubro/99, juntamente com a pesagem dos colmos, análise das folhas e do caldo para metais e análises tecnológicas para avaliação de produtividade, foi antecipada para junho/99, devido ao amadurecimento precoce apresentado pelo cultivar nas condições de vaso.

As folhas secas da base dos colmos foram coletadas e pesadas para facilitar a colheita. As folhas - diagnósticos (+1 e +2) foram coletadas, lavadas com água, com HCl 0,1 mol L⁻¹ e posteriormente lavadas com água destilada, secas em estufa, pesadas e moídas para a análise dos metais pesados.

Os colmos foram cortados na base, realizando-se a contagem do número de gemas por colmo, o número de colmos produzido em cada caixa, além da pesagem dos colmos e a verificação da altura média dos colmos em cada tratamento.

As análises tecnológicas foram realizadas na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar, do IAC/Piracicaba, SP. Amostras de caldo foram coletadas e congeladas até o procedimento de digestão.

3.4.2 Extração de metais pesados nas folhas e caldo

A extração de metais pesados das folhas e caldo foi feita por meio de digestão nítrico-perclórica, utilizando-se 2,0 g do material vegetal moído das folhas e 50 mL de caldo de cana, com recuperação do extrato final em 20 mL. A determinação dos metais Cd, Cr, Cu, Ni e Zn foi realizada por espectrometria de emissão por indução de plasma de argônio. Inicialmente foi realizada a extração em 1,0 g do material vegetal e recuperação do extrato em balão volumétrico de 50 mL. Porém, dessa forma, os teores de metais obtidos ficaram abaixo do limite de determinação do método. Também para o caldo de cana, estes valores ficaram abaixo do limite de determinação, quando a recuperação do extrato foi realizada em balão de 50 mL.

3.5 Caracterização das substâncias húmicas

A caracterização das substâncias húmicas do bio sólido e dos tratamentos dos solos LVAd e LVd, foi realizada no Instituto de Chimica Agraria, Università di Bari, Bari, Itália, sob orientação do Dr. Nicola Senesi. Os métodos empregados seguem-se abaixo.

3.5.1 Extração e fracionamento das substâncias húmicas dos solos e do bio sólido

Os ácidos húmicos (AHs) utilizados neste experimento foram isolados de acordo com a técnica de extração, fracionamento e purificação recomendada pela International Humic Substances Society (IHSS) (Schnitzer, 1982).

Brevemente, o procedimento adotado foi o seguinte: Para a extração das substâncias húmicas dos solos do experimento, foram utilizados dois recipientes com capacidade para 1L. Em cada recipiente foram colocados 100 gramas de TFSE e 500 mL da solução extratora $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1} + \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \text{ } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (relação sólido:extrator 1:5), e agitados durante 24 h em agitador circular, de forma que garantisse um contato máximo entre a fase sólida e a fase líquida. Após este período, foi feita a centrifugação a 6000 rpm por 20 min., a filtração do sobrenadante sob vácuo com filtro GF/C, recolhendo-se o filtrado I, que foi conservado em béquer sob atmosfera de N_2 . Foram realizadas mais duas extrações, com razão sólido:extrator 1:2, sendo que na segunda extração o tempo de agitação foi de 12 h e na terceira de 6 h.

Após a centrifugação e filtração, os filtrados foram juntados ao primeiro filtrado e sempre conservados sob atmosfera de N_2 . A fase sólida (humina) foi eliminada, e a solução alcalina (substâncias húmicas), assim obtida, foi acidificada com HCl concentrado até pH 1,0 - 1,5, e deixada em repouso durante 24 h para floculação e precipitação dos ácidos húmicos. Foi realizada centrifugação a 6000 rpm durante 20 min para separação dos ácidos húmicos (AHs) e ácidos fúlvicos (AFs). Uma alíquota da solução de AF foi conservada para posterior analisada por espectroscopia de fluorescência.

O procedimento de extração dos ácidos húmicos do bio sólido foi efetuado de maneira semelhante, exceto quanto à relação sólido:solução extratora, que foi alterada para 1:20, utilizando-se 10 g de bio sólido e 200 mL de solução extratora.

3.5.2 Purificação dos ácidos húmicos

Os ácidos húmicos seguiram para um processo de purificação branda, com a finalidade de eliminar possíveis impurezas minerais. Foram dissolvidos em 50 mL da solução extratora, agitados por 3 h em agitador circular e centrifugados a 6000 rpm durante 20 min. O sobrenadante foi recolhido e novamente acidificado com HCl concentrado até pH 1,0, e deixado em repouso por 12 h. O material precipitado (impurezas) foi descartado. Foi realizada a centrifugação como já descrito e repetiu-se novamente o processo a partir da dissolução dos ácidos húmicos na solução extratora. Foram, então, realizadas três lavagens com 30 mL de água bidistilada, acidulada com HCl até pH 3,0, agitação manual e centrifugação. Os ácidos húmicos foram dissolvidos em 100 mL de água bidistilada, agitados durante duas horas e transferidos para membrana semipermeável (Spectrapor membrane, cut off 6-8000 MWCO), e seguiu-se a diálise durante quatro a cinco dias, com o propósito de eliminação de íons, principalmente o cloreto. Após a diálise, foram congelados e liofilizados.

3.5.3 Análises químicas e espectroscópicas dos ácidos húmicos

3.5.3.1 Umidade

A determinação do teor de água dos ácidos húmicos é fundamental para conhecer o peso seco do material e para avaliar corretamente a sua composição elementar e os grupos funcionais.

A umidade foi determinada utilizando-se cadinhos de platina, colocados em estufa a 105° C por diversas horas, até peso constante, com uma tolerância de $\pm 0,0005$ g. Nos cadinhos foram pesados cerca de 50 mg de amostra dos AHs, colocados em estufa por uma noite, até peso constante. As amostras foram colocadas em dessecador, e depois pesadas. O teor de água, dado em porcentagem foi determinado da seguinte forma:

$$U\% = \frac{[(\text{perda peso}) / (\text{peso amostra})]}{100}$$

em que: perda peso = peso amostra (50 mg) – peso após aquecimento

3.5.3.2 Cinzas

As mesmas amostras utilizadas para determinação do teor de água foram colocadas em mufla a 550° C por uma noite. Os cadinhos foram resfriados em dessecador e depois pesados. O teor de cinzas foi calculado da seguinte forma:

$$\text{Cinzas}\% = \frac{[(\text{peso resíduo}) / (\text{peso amostra} - U\%)]}{100}$$

em que: peso resíduo = peso final; peso amostra – U% = 50 mg – teor de água

3.5.3.3 Composição elementar

Os teores de C, H, S e N nas amostras de AHs foram determinados utilizando-se cromatografia gasosa, com um analisador automático CHNS – Analyzer, Modelo EA 1108, da Fisons Instruments. As porcentagens dos elementos na amostra, foram calculadas como para o carbono, na fórmula abaixo, com a correção nos teores de água e cinzas, anteriormente calculados. A porcentagem de oxigênio foi obtida por diferença de 100% dos demais elementos.

$$\%C_{\text{corrigida}} = \frac{\%C_{\text{não corrigida}}}{(100 - \text{umidade} - \text{cinzas})} \times 100$$

em que: % C não corrigida = teor de C fornecido pelo equipamento

3.5.3.4 Razão atômica

Os cálculos das razões atômicas C/N, C/H e O/C foram efetuados a partir dos percentuais de C, H, N e O, e o peso atômico do elemento, aplicando as seguintes razões:

$$\frac{C}{N} = \frac{(C\% / \text{pesoatômico}C)}{(N\% / \text{pesoatômico}N)} \qquad \frac{C}{H} = \frac{(C\% / \text{pesoatômico}C)}{(H\% / \text{pesoatômico}H)}$$

$$\frac{C}{O} = \frac{(C\% / \text{pesoatômico}C)}{(O\% / \text{pesoatômico}O)}$$

3.5.3.5 Acidez total e grupos funcionais ácidos

A acidez total e os grupos carboxílicos (COOH) foram determinados de acordo com metodologia convencional (Schnitzer, 1982), enquanto que a quantidade de grupos fenólicos (OH) foi calculada por diferença entre a acidez total e a quantidade de grupos carboxílicos.

A acidez total, expressa em $\text{mmol}_c \text{ kg}^{-1}$, foi determinada utilizando-se 50 mg de AHs, exatamente pesados e 20 mL de solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, agitados mecanicamente à temperatura ambiente durante 24 h. O procedimento de preparo da solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$, adição da solução e o processo de agitação foram conduzidos eliminando o CO_2 pela adição de N_2 . Após a agitação, a suspensão foi filtrada, e o resíduo lavado com poucos mL de água destilada. O filtrado total foi titulado com uma solução padrão de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ até pH 8,4. Paralelamente foram conduzidas provas em branco. O cálculo utilizado para obtenção dos resultados é o seguinte:

$$\frac{\text{meqAcTotal}}{\text{gAH}} = \frac{(V_{\text{branco}} - V_{\text{amostra}} \times N_{\text{HCl}}) \times 1000}{\text{massa amostra (mg)}}$$

em que: V_{branco} = volume gasto na titulação da prova em branco (mL); V_{amostra} = volume gasto para a titulação da amostra; N_{HCl} = normalidade da solução de HCl = $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; massa amostra = 50 mg; a acidez é dada por $\text{meq g}^{-1} \times 1000 = \text{mmol}_{(c)} \text{ kg}^{-1}$ de AH.

A determinação dos grupos carboxílicos, também expressos em $\text{mmol}_{(c)} \text{kg}^{-1}$, foi realizada adicionando-se 50 mg de AHs, exatamente pesados em um béquer, 10 mL de solução 1 mol L^{-1} de $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ e 40 mL de água deionizada. A suspensão foi agitada mecanicamente durante 24 h, filtrada e o resíduo lavado com água bidestilada. O filtrado total foi titulado com uma solução padrão de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até pH 9,8. Paralelamente foram conduzidas provas em branco. A quantidade de grupos carboxílicos foi calculada da seguinte forma:

$$\frac{\text{meqCOOH}}{\text{gAH}} = \frac{(V_{\text{amostra}} - V_{\text{branco}}) \times N_{\text{NaOH}} \times 10}{\text{massa amostra (mg)}}$$

em que: V_{branco} = volume gasto na titulação da prova em branco (mL); V_{amostra} = volume gasto para a titulação da amostra; N_{NaOH} = normalidade da solução de NaOH = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; massa amostra = 50 mg; a quantidade de COOH é dada por $\text{meq g}^{-1} \times 1000 = \text{mmol}_{(c)} \text{kg}^{-1}$ de AH.

3.5.3.6 Razão E_4/E_6 com espectroscopia no ultravioleta - visível

Foram pesados exatamente 3 mg de AHs, dissolvidos em uma solução de NaHCO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e completou-se o volume a 10 mL com a mesma solução. Os espectros UV-Vis foram medidos em um campo de 200 a 700 nm, utilizando-se um espectrofotômetro modelo Lambda 15 UV-Vis Perkin Elmer. A razão E_4/E_6 corresponde à relação entre absorvância medida a 465 e 665 nm.

3.5.3.7. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

As amostras de AHs foram preparadas para as análises de FT-IR, utilizando-se a técnica da pastilha de KBr anidro. Foram pesados exatamente 1 mg de amostra de AHs e pulverizado em gral de ágata juntamente com 400 mg de KBr anidro. A mistura obtida foi transferida para prensa Perkin Elmer de 15 Mg cm^{-2} , operando sob vácuo durante 5 min. e depois por outros 5 min. sob uma pressão de 11 Mg cm^{-2} , obtendo-se uma pastilha sobre a qual foi feita a análise. Estas operações foram efetuadas em um

menor tempo possível, de forma a evitar a absorção de umidade do ambiente, visto a alta higroscopicidade do KBr. A pastilha assim obtida foi analisada utilizando um espectrofotômetro FT-IR Nicolet 5 PC, operando em um intervalo de comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , dotado de um sistema computadorizado, com o software Omnic versão 1.20.

3.5.3.8. Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de fluorescência das amostras de AHs foram obtidos de acordo com Senesi et al. (1991). Foram pesados exatamente 2,5 mg de AHs, dissolvidos em algumas gotas de NaOH 0,01 mol L^{-1} , e acrescentaram-se cerca de 15 mL de água deionizada, acertou-se o pH a 7,0 e deixou-se em agitação por uma noite. O pH foi, então, acertado a 8,0, sempre com NaOH 0,01 mol, completando-se o volume a 25 mL, e obtendo-se uma solução de AHs concentrada a 100 mg L^{-1} .

Os espectros de fluorescência foram obtidos em três modos principais de emissão, excitação e excitação de varredura sincronizada, em um espectrofotômetro de luminescência Hitachi, modelo F-4500, conectado a um Data Station Perkin Elmer 3600. Os espectros de emissão foram recuperados no campo de 380 a 550 nm, mantendo-se um comprimento de onda constante de excitação de 360 nm. Os espectros de fluorescência em excitação foram recuperados no intervalo de varredura de 300 a 500 nm, medindo a radiação emitida ao comprimento de onda constante de 520 nm. Os espectros de fluorescência de varredura sincronizada foram obtidos fazendo-se variar simultaneamente o comprimento de onda de excitação e de emissão, e recuperados em campo de varredura de 290 a 550 nm, mantendo-se uma diferença constante entre os comprimentos de onda de emissão e de excitação de $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ecc} = 18 \text{ nm}$, de forma a melhorar a resolução espectral (Senesi et al., 1991).

3.5.3.9 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) ou spin eletrônica (ESR)

Os espectros de EPR foram obtidos a temperatura ambiente, nas amostras de AHs secas, pulverizadas e colocadas em tubos de quartzo apropriados para a técnica. Foi utilizado um espectrômetro ESR Bruker modelo ER 200D, que operou na frequência de banda X (microondas), 9,77 GHz, e uma modulação de frequência do

campo magnético de 100 kHz. Durante as medidas foram usados valores constantes da modulação de frequência, igual a 6,3 Gauss e da potência de microondas, de 10 mW.

Os espectros foram registrados em um intervalo de varredura do campo magnético de 3.840 Gauss, centrado ao redor do valor do campo de ressonância do elétron livre ($g = 2,0023$) dos radicais livres orgânicos, e o fator de expansão foi de 100.

As concentrações de radicais livres orgânicos (spins g^{-1}) nos AHs foram estimadas confrontando-se a área destes com a área do sinal de ESR da amostra padrão, da qual sabe-se exatamente a concentração de radicais livres, fornecida pela empresa do equipamento (Bruker), de acordo com a seguinte equação (Senesi, 1996):

$$\left(\frac{\text{spins}}{g} \right)_c = \frac{(\text{spins g}^{-1})_p \times (hw^2)_a \times (\text{gain})_p}{(hw^2)_p \times (\text{gain})_a \times (q)_a}$$

em que: **a** refere-se a amostra e **p** ao padrão; **hw²** representa a área do sinal de primeira derivada; **gain** é o fator de expansão usado durante a análise; **q** é a quantidade de amostra exatamente pesada e corrigida pelos teores de água e cinzas.

3.6 Fracionamento de metais pesados

O método utilizado é a modificação de alguns métodos, sendo os mais recentes Chang (1984), Beckett (1989), Shuman (1991); Mann & Ritchie (1993), e consiste na extração seqüencial de metais na seguinte ordem: extração dos metais presentes na solução do solo e trocáveis; extração dos metais ligados à fração carbonato; extração de metais ligados à matéria orgânica; extração de metais ligados aos óxidos de ferro, alumínio e manganês e, finalmente, a extração dos metais remanescentes na fase sólida e resistente ao ataque dos extratores anteriormente utilizados. Inicialmente, realizou-se a extração dos teores totais de metais presentes no solo, de forma a nortear o procedimento de extração e verificar a sua eficácia.

3.6.1 Teores totais

A extração dos teores totais de metais pesados foi conduzida, inicialmente, com metodologia adaptada de Soltanpour et al. (1992), utilizando-se 1,0 g de terra e a mistura digestora 10 mL de HNO_3 + 4 mL de HClO_4 + 10 mL de HF, em tubos de teflon fechados e aquecidos em bloco de areia.

Posteriormente, realizou-se a extração dos teores totais e residuais por meio de aparelho de microondas com a mistura HNO_3 -HCl-HF. Foram testadas diversas misturas de ácidos e condições de pressão e tempo de irradiação das amostras, de forma a obter a digestão total da amostra. Para os teores totais nas amostras de terra, utilizou-se 0,5 g de terra e a mistura 3 mL de HNO_3 + 4 mL de HCl + 5 mL de HF, em tubos de teflon fechados, ACV, que suportam pressões de 200 psi. As amostras foram irradiadas em forno microondas CEM 2000, em duas etapas. A primeira etapa consistiu na irradiação das amostras até atingir-se a pressão de 170 psi, e com a potência de 630 W. A pressão de 170 psi era atingida em 15 min. e posteriormente mantida por mais 30 min., totalizando 50 min. Para a extração de metais na fração residual, adotou-se o mesmo procedimento, apenas a mistura digestora foi modificada para 2 mL de HNO_3 + 3 mL de HCl + 5 mL de HF, visto que o material orgânico já havia sido extraído da amostra. A segunda etapa consistiu na eliminação do excesso de HF e dissolução de complexos pouco solúveis que eventualmente tenham sido formados. Nesta etapa foram adicionados 3 mL de H_3BO_3 5%, e a amostra foi submetida a uma segunda irradiação, com a programação de 630 W de potência, pressão limite de 170 psi, durante 15 min.

Os extratos foram transferidos com água deionizada para tubos plásticos e o volume dado por pesagem. A transferência dos extratos foi realizada com o mínimo necessário de água, evitando dessa forma diluições desnecessárias que inviabilizam as determinações de alguns metais por espectrometria de absorção atômica.

A determinação dos metais Cd, Cr, Cu, Ni e Zn foi realizada por espectrometria de absorção atômica, utilizando-se curvas padrões com a exata composição dos extratos, de modo a aproximar o máximo possível da composição dos extratos.

Para a extração dos teores totais de Cd, utilizou-se o método denominado via seca, método este modificado do método da ignição (Saunders & Willians, 1955). Incinerou-se em mufla, 5,0 gramas de TFSE, a temperatura de 500°C por 2 h.

Acrescentaram-se, a seguir, 20 mL de HCl (1+1) e aqueceu em banho maria até a secagem. Adicionaram-se mais 20 mL de HCl concentrado, os quais aqueceram-se até a secagem. Posteriormente retomaram-se com mais 20 mL de HCl (1+9). Transferiu-se o material filtrado para recipiente plástico, com o mínimo de água necessária. A determinação de metais pesados nos extratos foi realizada por espectrometria de absorção atômica.

3.6.2 Fração trocável

A extração seqüencial foi conduzida, utilizando-se 2,5 g de solo, em tubos de centrifuga de 50 mL, em 3 repetições.

A fração trocável + solúvel dos metais, foi extraída adicionando-se 15 mL de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ 0,1 mol L^{-1} aos tubos, agitando-se por 2 h a baixa velocidade. Realizou-se a centrifugação a 18.000 rpm por 10 min. e o sobrenadante, filtrado com papel de filtro Whatmann 42, foi transferido para frasco pré-pesado. Repetiu-se a operação. As amostras foram lavadas com 5 mL de NaCl 0,1 mol L^{-1} , em seguida foram centrifugadas e o sobrenadante foi recolhido no frasco. O objetivo desta lavagem é de remoção de metais extraídos e eliminação de extrator utilizado naquela fase. Adicionou-se aos extratos 1% (v/v) de HNO_3 concentrado, como conservante. Os frascos foram novamente pesados para os cálculos da concentração de metais, e conservados em geladeira.

3.6.3 Fração carbonato

Em seguida realizou-se a extração da fração ligada aos carbonatos, para todos os tratamentos. Fizeram-se duas extrações com NaOAc 1,0 mol L^{-1} , pH 5,0 acertado com ácido acético, agitando-se por 2 h a baixa velocidade. Centrifugou-se a 15.000 rpm durante 10 min, e o sobrenadante, filtrado com papel de filtro Whatmann 42, foi transferido para frasco pré-pesado, contendo 1 % de HNO_3 (v/v). Lavou-se a amostra com solução NaCl 0,1 mol L^{-1} , pesou-se os frascos, e os extratos foram conservados em geladeira.

Cabe salientar que apesar das altas rotações utilizadas na centrifugação, ocorreram perdas de terra nestas duas primeiras frações extraídas, principalmente

para as amostras do solo LVA, menos argiloso. Para estimar esta perda, de forma a corrigir a quantidade de terra de que se partiu em cada extração, optou-se por realizar a pesagem de todos os filtros utilizados antes e após a filtração dos extratos. Para cada bateria de amostras realizadas foram conduzidas, sempre, três provas em branco, de forma que o peso do sal, proveniente do reagente que permanecia no filtro, foi descontado utilizando a média dos valores dos pesos finais destes filtros.

3.6.4 Fração matéria orgânica

Os metais pesados ligados à fração orgânica foram extraídos utilizando-se 5 mL de solução NaOCl 5%, ajustado a pH 8,5 com HCl 1+1. Os tubos foram levados a agitação mecânica, em banho maria, mantendo-se a temperatura a 95°C durante 30 min. As amostras foram sempre centrifugadas a 5.000 rpm por 10 min. Este procedimento foi repetido quatro vezes, até a queima da matéria orgânica, que ocorre quando cessa a formação de espuma. Os sobrenadantes foram recolhidos em frascos pré-pesados, contendo 1 % de HNO₃ (v/v). Lavou-se o solo com solução 0,1 mol L⁻¹ de NaCl, pesou-se os frascos, e os extratos foram conservados em geladeira.

3.6.5 Fração óxidos de ferro

Para a extração dos metais ligados aos óxidos de Fe, as amostras foram tratadas com 20 mL de uma mistura de 0,2 mol L⁻¹ de oxalato de amônio, 0,2 mol L⁻¹ de ácido oxálico e 0,1 mol L⁻¹ de ascórbico, ajustada a pH 3,0 com NH₄OH. Os tubos foram aquecidos a 95°C, em banho maria e agitados durante 30 min. Centrifugou-se a 5.000 rpm durante 10 min, e o sobrenadante foi recolhido em frasco pré-pesado. Foram feitas cinco extrações, até que a cor do solo permanecesse cinza (sem ferro) e o sobrenadante amarelado. Lavou-se o solo com NaCl 0,1 mol L⁻¹, e recolheu-se o sobrenadante. Os frascos foram novamente pesados e o extrato foi conservado em congelador, dado o favorecimento do extrator ao crescimento de microrganismos

3.6.6 Fração residual

Após a última extração, as amostras foram secas em estufa de circulação forçada, a 65°C, até peso constante. Foram pesadas, para se estimar o quanto de terra foi perdida durante todo processo de extração, e moídas em gral para completa homogeneização. Foi pesado 0,5 g de cada amostra e feita digestão em forno microondas como descrito no item 3.6.1.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A água utilizada para preparo de soluções foi destilada e deionizada em aparelho Millipore. A vidraria utilizada, sempre, lavada com água, detergente, água, solução HCl 1+4, e quatro lavagens com água deionizada.

3.6.7 Determinação dos metais pesados

A determinação foi realizada através de espectroscopia de absorção atômica, chama ar-acetileno, utilizando-se para cada extrato uma curva de calibração feita exatamente com a mesma solução extratora. Para os teores trocáveis foi utilizada a espectroscopia de emissão de plasma (ICP).

3.6.8 Análises estatísticas

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com 2 solos, duas doses de resíduo, e quatro repetições, totalizando 16 parcelas. As análises de variância e teste de comparação de médias (Tukey 5%) foram analisadas a partir do programa estatístico SANEST (Zonta et al., 1984). O teste t ($p < 0,05$) para comparação de médias duas a duas foi executado pelo programa estatístico SAS, "Statistical Analytical System" (SAS, 1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do Biossólido

O resíduo adicionado aos solos foi obtido da ETE/Barueri/SABESP/SP, tendo sido digerido aeróbica e anaerobicamente, e tratado com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e FeCl_3 , no tratamento terciário. A cada dois meses realizou-se uma incorporação deste material aos solos, totalizando a incorporação de quantidade correspondente a $388,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ do biossólido (base seca). A caracterização química do biossólido encontra-se na Tabela 1, e é resultado da média de amostragens das cinco aplicações, e de 3 repetições.

Nota-se o elevado teor de água do biossólido, em torno de 50%, o que de certa forma dificulta o transporte do resíduo para aplicação em áreas agrícolas não muito próximas às estações de tratamento de esgoto.

Pelos valores de pH e teor de carbonato, verifica-se a ação neutralizante do biossólido, que contribui na elevação do pH dos solos, seja pelas reações de degradação da carga orgânica do resíduo seja pela alcalinidade intrínseca do resíduo quando este é estabilizado com cal. Basta & Sloam (1999) ressaltam a importância do uso de biossólidos tratados com cal em solos ácidos, de modo a minimizar os riscos de absorção de metais pesados pela planta, assim como a movimentação destes no perfil do solo. Os autores advertem que biossólidos não alcalinos, mesmo que de excelente qualidade (baixos níveis de metais e patógenos) não devem ser utilizados em solos ácidos.

O biossólido apresentou, também, valor elevado de condutibilidade elétrica (CE), provavelmente pelo excesso de cálcio incorporado no tratamento terciário. O excesso de sais pode prejudicar o desenvolvimento das plantas, devido a desequilíbrios nutricionais e dificuldades de absorção de água e nutrientes.

Observa-se, em termos nutricionais, quantidades razoáveis de N, P, Mg e S, elevado teor de cálcio e baixo teor de potássio, o que requer adubação potássica complementar quando o resíduo é utilizado para fins agrícolas. Nota-se, também, um desequilíbrio na relação Ca:Mg.

A relação C/N, em torno de 12, é típica de material parcialmente decomposto através dos processos aeróbios e anaeróbios. Nota-se que após um ano e meio da incorporação da última parcela do biossólido, ainda havia nos solos, resquícios do resíduo, com pequenos e fortes agregados de material orgânico, provavelmente mais recalcitrantes, misturado aos minerais. Maiores informações sobre o grau de humificação do biossólido serão apresentadas no tópico 4.4.

Na Tabela 1, também, encontram-se os resultados de C e N determinados pelo Analisador Automático. Os resultados de C e N apresentam-se maiores quando comparados aos métodos tradicionais de determinação, e a relação C/N é discretamente alterada para 12,5, isto é o aumento nos teores de C e N foram proporcionais, com a mudança de método de determinação. Verifica-se que para o C a diferença entre os métodos é maior que para o N.

Quanto aos teores totais de metais presentes no resíduo, verifica-se que os teores de todos os metais estão abaixo das concentrações máximas estipuladas pela USEPA (1993), que são Cd = 39; Cr = 1200; Cu = 1500; Ni = 420; Pb = 300 e Zn = 2800 mg kg⁻¹ de biossólido seco, para o biossólido considerado de categoria 1, isto é, que não possui restrições quanto às doses aplicadas ao solo. Apesar do resíduo ser proveniente do tratamento de esgoto urbano e industrial de região muito industrializada, verifica-se, mesmo assim, que os teores de metais encontram-se dentro dos limites permitidos pela EPA, e, espera-se que, em regiões menos industrializadas o potencial de utilização de biossólidos na agricultura possa aumentar.

Porém, sucessivas aplicações do biossólido apresentado, podem levar à saturação dos sítios adsorvedores dos solos e à entrada de metais pesados na cadeia alimentar e/ou contaminação de lençóis freáticos. Outro fator limitante no uso do biossólido seria a lixiviação de nitratos, devido à degradação rápida da carga orgânica. Cabe salientar, portanto, que apenas o monitoramento constante das áreas onde se aplicam tais resíduos possa garantir redução dos riscos de contaminação ambiental.

Tabela 1. Caracterização química do resíduo utilizado. Resultado⁽¹⁾ médio de cinco amostragens e três repetições.

Características	Biossólido
Umidade % (65° C)	48,3
pH (CaCl ₂ 0,01 mol L ⁻¹)	7,4
Condutibilidade Elétrica (mS cm ⁻¹)	1,51
	g kg⁻¹
Matéria orgânica (440° C/2h)	204,3
Carbonato total	198,2
C-oxidável	115,1 ⁽²⁾
	129,2 ⁽³⁾
N – total	12,2 ⁽³⁾
	9,6 ⁽⁴⁾
H – total	20,7 ⁽³⁾
P – total	19,9
K – total	1,9
Ca – total	132,6
Mg – total	2,6
S – total	7,2
Na - total	0,32
Relação C/N	12,0
Relação C/P	5,8
	mg kg⁻¹
Cd – total	20,3
Cr – total	477,7
Cu – total	754,1
Ni – total	355,3
Zn – total	1926,9
Pb - total	155,8

⁽¹⁾ Resultados expressos em base seca, exceto o valor de pH. ⁽²⁾ Walkey Black ⁽³⁾ Analisador Automático

⁽⁴⁾ método semi-micro Kjeldahl (Sarruge & Haag, 1974).

4.2 Caracterização dos Solos

Os solos utilizados no experimento são classificados como Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho Distrófico (LVd), e os tratamentos com biossólido serão citados como LVAd+B e LVd+B. A seguir serão apresentados os resultados das análises textural, químicas, eletroquímicas e mineralógicas dos solos do experimento.

4.2.1 Análise textural

Os resultados da análise granulométrica dos tratamentos testemunha encontram-se na Tabela 2. Os solos foram escolhidos em função dos diferentes teores de argila e de óxidos apresentados, de modo a representar o comportamento de metais em classes texturais extremas. O solo LVAd tem aproximadamente 80% de areia, predominantemente na fração areia grossa e apenas 15-16% de argila, enquanto que o LVd apresenta 20% de areia, predominante na fração areia fina e praticamente 60% de argila.

Tabela 2. Granulometria dos solos utilizados na montagem do experimento.

Amostras ⁽¹⁾	Areia Grossa	Areia Fina	Areia total	Silte	Argila
	-----g kg ⁻¹ -----				
LVAd 0-0,30 m	326	492	818	31	151
LVAd 0,30-0,60m	304	528	832	7	161
LVd 0-0,30 m	90	208	298	109	593
LVd 0,30-0,60m	67	209	276	108	616

⁽¹⁾LVAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico; LVd = Latossolo Vermelho Distrófico

4.2.2 Análises químicas

Os resultados da análise química de terra das amostras coletadas um ano e meio após a última aplicação de biossólido, e antes do plantio da cana-de-açúcar encontram-se na Tabela 3.

Os valores de pH dos tratamentos testemunha encontram-se em uma faixa superior à encontrada para latossolos, visto que eles foram coletados de áreas agrícolas onde se realizava correção periódica de acidez. Há uma elevação no valor do pH determinado em água, dos solos tratados quando comparado aos tratamentos testemunha, de pelo menos 2,0 unidades. Os novos valores de pH apresentados ficam acima dos valores encontrados normalmente pela maioria dos solos cultivados.

O efeito neutralizante do biossólido pode ser verificado pela redução nos valores de H+Al, em ambos os solos, tanto em superfície, onde o resíduo foi aplicado, como em profundidade. Brown et al. (1997) verificaram que a decomposição do material orgânico de biossólidos pode se dar em sítios anaeróbicos, gerando ácidos orgânicos, capazes de formar complexo com o cálcio adicionado via resíduo. Esses complexos migram com facilidade para o subsolo, neutralizando a acidez de subsuperfície. Os autores sugerem que este efeito torna-se potencializado quando se aplicam biossólidos pouco digeridos e tratados com cal, onde a produção de ácidos orgânicos é maior, e quando utiliza-se doses elevadas do resíduo, como a utilizada neste experimento. Também, para maiores valores de pH ocorre maior complexação de metais com ácidos fúlvicos, e é possível que o mesmo mecanismo que facilita o movimento do cálcio, possa facilitar o movimento de metais pesados para o subsolo.

O aumento nos teores de N, são resultantes da aplicação do equivalente a 3.996 kg ha⁻¹ de N, via resíduo. Uma pequena parcela do N adicionado, foi lixiviada na forma de N-NO₃ (Anjos, 2000). A concentração máxima de N-NO₃ encontrada nos lixiviados foi 96 mg L⁻¹, excedendo o limite de 10 mg L⁻¹ estabelecido para água potável e contaminação de aquíferos (USEPA, 1993), evidenciando que a lixiviação de nitratos, deve ser critério para o uso de resíduos, em solos sob clima tropical onde ocorre intensa mineralização da matéria orgânica.

A adição do biossólido propiciou aumento nos teores de N, P, C e Ca nos solos tratados. Verifica-se maior teor de N total no solo argiloso (LVd) quando comparado ao solo menos argiloso (LVAd) tratado com biossólido, devido a maior lixiviação de NO₃²⁻ ocorrida no solo menos argiloso, detectada por Anjos (2000), e a menor taxa de decomposição do material orgânico ocorrida no LVd. Este fato está relacionado à forma diferencial de degradação do material orgânico entre solos arenosos e argilosos. Os processos de decomposição do material orgânico, liberação de nutrientes e formação de substâncias húmicas, são mais lentos em solos argilosos, devido à

interação com minerais e cátions polivalentes que protegem o material orgânico do decaimento rápido (Stevenson, 1994). A menor elevação nos valores de SB e CTC calculadas para o LVd tratado com biossólido, também pode ser explicada por este fato. Cabe salientar que os valores de CTC calculados aqui apresentados não condizem com a realidade, e no item 4.2.3 estão apresentados os valores determinados de CTC.

A adição de biossólido não proporcionou elevação nos teores de K dos solos tratados, confirmando-se a necessidade de suplementação potássica. Valores de K entre 0,8 a 1,5 mmol_(c)kg⁻¹ são considerados baixos (Raij et al, 1996) e, portanto, durante a condução do experimento com a cana-de-açúcar foram necessárias duas adubações potássicas complementares. Os baixos teores de K encontrados são resultantes da baixa concentração de K presente no resíduo (Tabela 1), assim como da lixiviação de 10 a 15% do elemento, verificada nos solos tratados, durante o período de incubação, (Anjos, 2000).

Tabela 3. Análise química de terra antes do plantio da cana-de-açúcar. Resultados médios de três repetições.

Tratamento ⁽¹⁾	pH H ₂ O	N	C	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB ⁽²⁾	CTC ⁽²⁾
<i>Superfície (0– 0,25 m)</i>											
LVA _d + B	8,1	1,1	14,1	101,2	1,0	61,0	1,0	-	2,1	63,0	65,1
LVA _d	5,8	0,5	5,8	16,3	1,0	7,3	4,0	1,0	14,6	12,3	26,9
LV _d + B	8,1	2,3	19,9	34,8	2,0	96,0	2,0	-	6,0	105	111,0
LV _d	5,9	1,5	12,9	15,5	2,0	29,0	13,0	1,0	29,3	78,0	107,3
<i>Profundidade (0,25 – 0,50 m)</i>											
LVA _d + B	7,9	0,9	8,6	102,4	1,0	72,0	1,0	-	2,0	74,0	76,0
LVA _d	5,7	0,5	5,5	8,9	1,0	6,0	4,0	1,0	15,0	11,0	26,0
LV _d + B	7,9	2,1	19,4	42,6	1,0	131,0	2,0	-	8,0	134	142,0
LV _d	5,8	1,2	13,6	13,0	2,0	100,0	11,0	1,0	37,0	113	150,0

⁽¹⁾ LVA_d = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV_d = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

⁽²⁾ Calculados: SB = Ca + Mg + K , e CTC = SB + H + Al

Observa-se, também, a redução no teor de Mg nos solos tratados com biossólido, indicando o desbalanço na relação Ca:Mg proporcionado pela incorporação do resíduo. A lixiviação de Mg foi constatada a partir da segunda aplicação do biossólido (Anjos, 1999), e nota-se que a adição de 1.173 kg ha^{-1} de Mg via resíduo, não foi suficiente para elevar o teor do elemento na forma trocável. Na literatura, encontramos muita controvérsia a respeito da importância da relação Ca:Mg no desenvolvimento das plantas, assim como do valor ideal para esta relação em diferentes culturas. Raij et al. (1996) comentam que a relação Ca:Mg pode variar de 0,5 a 30:1, desde que os teores dos dois elementos encontrem-se em níveis adequados à necessidade da cultura. Raij (1991) considera que as exigências de Mg pela maioria das culturas são modestas, em torno de $10 \text{ a } 40 \text{ kg ha}^{-1}$ de Mg.

A análise do teor de carbonato total destes solos revela que este esteve presente apenas nos solos tratados com biossólido, LVAd superfície (4%) e LVd superfície (5%) e profundidade (2%). O menor teor de carbonato em superfície e sua ausência em profundidade no tratamento LVAd + B, indica a sua provável lixiviação para fora das caixas. Anjos (2000) acompanhou a lixiviação de K, Ca e Mg, durante as cinco aplicações do biossólido neste experimento, verificando que esta foi sempre maior no LVAd + B. Cabe salientar que não foi verificada a lixiviação de metais pesados nos solos tratados com biossólido durante este período.

Os resultados do ataque sulfúrico (teores de Al, Fe e Mn), ataque alcalino (Si), teores de Fe e Al mal cristalizados, e estimativa dos teores de ferrihidrita encontram-se na Tabela 4. Verifica-se que a soma dos teores totais de Al_2O_3 , Fe_2O_3 , MnO, SiO_2 fica bem próxima aos teores de argila dos solos (Tabela 2). Apenas para o LVd esta diferença é maior, por causa da presença de TiO_2 que não foi determinado, mas que sua presença é verificada nos difratogramas de raios X que serão apresentados no tópico 4.2.4. Também, o maior teor total de Al_2O_3 encontrado no LVd quando comparado ao LVAd, refere-se à presença de gibbsita, como mostra os difratogramas de raios X na Figura 7.

Com a adição de biossólido verifica-se uma discreta redução nos teores totais de Al, exceto para o LVAd + B em profundidade, e uma ligeira elevação nos teores totais de Fe, exceto para o tratamento LVAd + B, em superfície. A elevação nos teores totais de Fe nos solos tratados, provavelmente deva-se à presença de Fe no resíduo, proveniente do tratamento terciário com FeCl_3 . Nestes solos, os teores de Mn são

baixos, e praticamente não foram alterados pela adição de biossólido. Desta forma pode-se inferir que os óxidos de Mn praticamente não contribuem na retenção de metais pesados.

Verificou-se aumento nos teores de SiO_2 em todos os tratamentos, exceto no LVAd profundidade, após a incorporação do biossólido, indicando pequena incorporação de sílica via resíduo. Em profundidade verifica-se elevação no teor de sílica em ambos os tratamentos, porém para o tratamento LVAd+B, este aumento foi maior, indicando migração de sílica do horizonte superior para o inferior.

Tabela 4. Teores de Al_2O_3 , Fe_2O_3 , MnO, SiO_2 e ferrihidrita (g kg^{-1}). Média de quatro repetições.

Tratamento ⁽¹⁾	Al_2O_3	Fe_2O_3	MnO	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	Ferrihidrita
	-----total-----				-----mal cristalizados-----		
-----(g kg^{-1})-----							
<i>Superfície (0– 0,25 m)</i>							
LVAd + B	38,8	22,5	0,7	117	1,6	5,3	9,0
LVAd	41,1	14,3	0,4	98	1,4	1,0	1,7
LVd + B	158,7	96,1	0,8	170	3,8	8,5	14,5
LVd	165,6	123,3	0,7	189	4,0	4,7	8,0
<i>Profundidade (0,25 – 0,50 m)</i>							
LVAd + B	50,0	18,5	0,5	185	1,8	4,5	7,7
LVAd	52,2	15,1	0,4	119	1,2	1,1	1,9
LVd + B	161,2	123,9	0,7	203	3,7	8,2	13,9
LVd	157,0	120,3	0,6	196	3,9	4,9	8,3

⁽¹⁾ LVAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

Quanto aos teores de óxidos de Fe e Al mal cristalizados, nota-se que a adição de biossólido praticamente não alterou os teores de Al em todos os tratamentos, enquanto que os teores de Fe foram aumentados em todos os tratamentos. Maiores aumentos de Fe na forma de óxidos mal cristalizados foram verificados nos tratamentos LVAd quando comparado ao LVd. A ferrihidrita é o principal mineral de Fe, “mal cristalizado”, formado em solos, e a adição de biossólido contribuiu no aumento da concentração deste mineral nestes solos, como pode ser verificado na Tabela 4.

Cornell & Schwertmann (1996) informam que a formação de ferrihidrita ocorre à medida que aumentam os teores de matéria orgânica e ferro no solo. Em condições opostas a estas prevalece a formação da goethita. Os autores ressaltam que as substâncias orgânicas impedem o processo de cristalização dos óxidos de ferro. Também, Sweegers et al. (2001) citam que o crescimento de cristais de gibbsita é inibido pela presença de compostos orgânicos, que causam mal acabamento dos cristais, ausência de faces, delgamento dos cristais formando lâminas, ou alongamento formando prismas, citam que este fato ocorre também com óxidos de ferro. Dessa forma, a maior mineralização da matéria orgânica em LVAd, e conseqüentemente a presença de compostos orgânicos livres, pode explicar a maior presença de ferrihidrita neste solo quando comparado ao LVd. É interessante ressaltar, que as formas mal cristalizadas têm maior superfície específica que as formas cristalinas, e, portanto, contribuem de forma significativa na retenção de metais pesados. O significado da cristalização dos óxidos foi discutido por Shuman (1977), que verificou retenção dez vezes maior do Zn a óxidos de ferro e alumínio mal cristalizados quando comparado às formas cristalizadas. O autor verificou, também, que a força de ligação do metal ao óxido de alumínio mal cristalizado foi três vezes maior que a força de ligação ao óxido de ferro mal cristalizado.

4.2.3 Caracterização eletroquímica

Com a finalidade de aprofundar os conhecimentos sobre a natureza eletroquímica dos solos empregados no experimento, verificar as transformações ocorridas com o uso do biossólido, e possivelmente correlacionar tais características com o estudo de fracionamento de metais, foram realizadas análises relacionadas às cargas dos solos, como a determinação da CTC e do PESN (Ponto de Efeito Salino Nulo). Os resultados da determinação de pH_{H_2O} , $pH_{KCl\ 1\ mol\ L^{-1}}$, ΔpH , PESN estimado, CTC determinada e condutividade elétrica encontram-se na Tabela 5.

Há uma elevação no pH determinado em água, dos solos tratados quando comparada aos tratamentos testemunha, de pelo menos 2,0 unidades. O pH do resíduo, em torno de 7,0 promove está elevação no pH dos solos tratados, elevando-o acima dos valores encontrados em solos cultivados. Quando se compara o pH

determinado em solução de KCl 1 mol L^{-1} dos solos tratados e testemunha, nota-se que a elevação de pH está em torno de 3,0 unidades.

A aplicação do biossólido proporcionou aumento, também, na condutividade dos solos, visto que o resíduo apresenta condutividade elétrica elevada, o que poderia ser atribuída ao elevado teor de Ca presente no resíduo (Tabela 1). Os valores de condutividade elétrica, encontrados, um ano e meio após a última aplicação, são toleráveis para a maioria das culturas e, portanto não se pode atribuir a eles possíveis prejuízos ao rendimento da cultura. Jones Jr. (1983) indica que valores de condutividade elétrica acima de $2,0 \text{ mS cm}^{-1}$, determinada em extrato saturado, caracteriza o solo como salino. Porém, durante o período de aplicação do biossólido foram encontrados valores máximos de condutividade elétrica nos líquidos percolados de $2,2 \text{ mS cm}^{-1}$ para o LVAd + B, após a quarta aplicação de biossólido, e de $1,4 \text{ mS cm}^{-1}$ para o tratamento LVd + B, após a quinta aplicação do resíduo. Para os tratamentos testemunha, durante todo o período de coleta de lixiviado, os valores foram menores que $0,5 \text{ mS cm}^{-1}$. Este aumento na CE dos lixiviados correlacionou-se positivamente com os teores de Ca, Mg e K lixiviados (Anjos, 2000). Rodella (1996), também encontrou correlação positiva entre aumento da condutividade elétrica e teores de Ca e Mg nos lixiviados de solo tratado com turfa e fertilizante mineral (NPK) incubados por 30 dias.

Epstein et al. (1976) encontraram a mesma situação quanto à condutividade elétrica em solos tratados com 240 Mg ha^{-1} de biossólido. Um mês após a aplicação o valor de condutividade elevou-se de $0,4 \text{ mS cm}^{-1}$ para $5,4 \text{ mS cm}^{-1}$ e, após 15 meses, esse valor diminuiu para $1,5 \text{ mS cm}^{-1}$, devido à lixiviação de íons. Resultados semelhantes foram encontrados por Harding et al. (1985).

No solo, durante o período de aplicação do biossólido, verificou-se que a CE foi sempre maior no tratamento LVd + B, quando comparado ao LVAd + B, em razão do maior acúmulo de sais no solo mais argiloso. No entanto, após um ano e meio da última aplicação de biossólido, verifica-se que os valores de CE dos dois solos tratados apresentam-se iguais, indicando uma situação de equilíbrio, dos sais na solução do solo (Tabela 5). Nota-se, também que a condutividade elétrica aumenta consideravelmente em profundidade tanto para o LVAd como para o LVd tratado com biossólido, confirmando a lixiviação de sais. No LVAd, estes valores mostram-se menores, indicando uma maior lixiviação ao longo do tempo do que no LVd. Os valores

de soma de bases (Tabela 3), também indicam um caminhamento de sais no perfil. No solo menos argiloso estes sais foram lixiviados para fora da profundidade maior analisada (0,50 m).

Quanto à determinação da CTC, verifica-se uma discreta elevação dos valores com a adição de biossólido, quando comparado à adição de outros resíduos orgânicos a solos. Verifica-se, também, uma pequena redução da CTC dos solos tratados na camada 0,25-0,50 m quando comparado à camada superficial, indicando uma contribuição não muito expressiva da matéria orgânica do biossólido na elevação da CTC dos solos. A natureza das substâncias húmicas do biossólido certamente difere de outros resíduos orgânicos. A quantidade de ácidos carboxílicos é reduzida nos biossólidos, em virtude da ausência de material lignificado nestes materiais. Desse modo, há predomínio dos grupos fenólicos, em detrimento dos grupos carboxílicos, e no pH apresentado pelos solos tratados ($\approx 8,0$) apenas os grupos carboxílicos encontram-se dissociados. Como se encontram em menor proporção, a elevação da CTC dos solos com a adição do biossólido não teve aumentos substanciais como ocorre com a adição de outros resíduos, mais lignificados e com maior teor de grupos carboxílicos, potenciais geradores de cargas na faixa de pH da maioria dos solos. Discussão mais aprofundada sobre CTC e quantidade de grupos carboxílicos e fenólicos encontra-se no item 4.4.2.

O processo de compostagem do resíduo com materiais vegetais melhoraria sua qualidade, aumentando a quantidade de grupos COOH e a retenção de metais em solos tratados. Amalfitano et al (1992) relataram aumento substancial no teor de matéria orgânica, na quantidade de substâncias húmicas, de grupos carboxílicos e estruturas aromáticas em Andissol arenoso, de área vulcânica, que continha baixos teores de matéria orgânica, através da incubação durante três anos de palhada de trigo + uréia. Análises espectroscópicas reconheceram que a lignina presente na palhada foi precursora das substâncias húmicas formadas, além de proporcionar elevação na quantidade de COOH presente nos ácidos húmicos do solo.

Outra explicação seria a de que os sítios incorporados pela adição do material orgânico estariam ocupados com cátions metálicos, por meio de ligações estáveis (Rosell et al., 1989), de modo que tanto a determinação potenciométrica dos grupos carboxílicos, assim como, a determinação da CTC não foi eficiente para quantificá-los, e valores de COOH e CTC estariam subestimados. Estes sítios já poderiam estar

ocupados ainda no resíduo, por meio da complexação de metais com os ligantes orgânicos, de modo que a quantidade de COOH e os valores de CTC determinados representam apenas os sítios de troca possíveis de reatividade.

Tabela 5. Características eletroquímicas dos solos estudados. Média de quatro repetições.

Tratamento ⁽¹⁾	pH	pH	Δ pH	PESN estimado	CTC ⁽²⁾ mmol _c kg ⁻¹	CE (mS cm ⁻¹)
	H ₂ O	KCl 1 mol L ⁻¹				
<i>Superfície (0 – 0,25 m)</i>						
LVAd	6,0	4,8	- 1,2	3,7	18,7	0,4
LVAd+ B	8,2	7,8	- 0,4	7,5	33,7	0,7
LVd	6,0	5,1	- 0,9	4,0	41,2	0,3
LVd + B	8,0	7,5	- 0,5	7,1	48,6	0,7
<i>Profundidade (0,25 – 0,50 m)</i>						
LVAd	5,8	4,5	- 1,3	3,4	16,5	0,3
LVAd + B	8,0	7,7	- 0,3	7,6	32,6	1,0
LVd	5,9	5,1	- 0,8	4,1	40,6	0,3
LVd + B	7,8	7,5	- 0,3	7,1	49,5	1,0

⁽¹⁾ LV = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com bio sólido.

⁽²⁾ CTC determinada pelo método de Gillman & Sumpter (1986).

A elevação da CTC nos solos tratados com bio sólido talvez possa ser mais bem explicada pela elevação do pH, uma vez que ocorre geração de cargas negativas na mineralogia predominante caulínica e oxidica. A pequena contribuição da matéria orgânica na geração de cargas negativas em solos tratados com bio sólido e a maior contribuição do pH na geração destas cargas, foram, também, observadas por Oliveira (2000). Por outro lado, o recobrimento da superfície dos óxidos e argilas pela matéria orgânica talvez tenha minimizado o efeito do pH na elevação da CTC dos solos tratados. Evans & Russel (1959) verificaram que tanto a caulinita quanto os óxidos de ferro e alumínio adsorvem ácidos húmicos e fúlvicos, promovendo a redução da CTC destes minerais. Verifica-se que houve uma menor elevação da CTC no solo com maiores teores de argila e óxidos – LVd, quando comparado ao LVAd, e isto pode ser explicado pela menor mineralização do material orgânico no LVd, e, portanto, maior ação da matéria orgânica no recobrimento das superfícies de cargas.

Outro fato que merece ser observado é a diferença entre os valores de CTC determinados e os valores calculados pela $SB + H^+ + Al^{3+}$ (Tabela 3). Acredita-se que os primeiros estejam mascarados pelo excesso de sais presentes na solução do solo e, desse modo, a determinação da CTC faz-se necessária em solos tratados com resíduos.

Os resultados estimados da determinação do Ponto de Efeito Salino Nulo (PESN), encontram-se na Tabela 5 e os valores determinados para o PESN dos solos LVAd superfície e profundidade, e LVd superfície e profundidade encontram-se nas Figuras 1 e 2 e, 3 e 4, respectivamente. Para os tratamentos com biossólido serão apresentados apenas os valores da estimativa do PESN, uma vez que o excesso de sais provenientes dos tratamentos, exclui o fator força iônica empregado na metodologia, dificultando a observação do ponto de cruzamento das curvas de titulação potenciométrica. Pode-se observar que os valores de PESN estimados por cálculo (Tabela 5) estão bem próximos dos determinados pelo cruzamento das curvas para os tratamentos testemunha, sugerindo que a estimativa pode ser utilizada nestes casos. Comparando-se as Figuras 1 e 2, e 3 e 4, verifica-se, que para os latossolos não ocorre reversão no balanço de cargas ao longo do perfil, indicando que a adsorção de metais, ocorrerá, também, de forma semelhante tanto em superfície quanto em profundidade.

O PESN do solo reflete a média de todos os seus componentes, orgânicos e minerais. O PCZ das SHs é em torno de 2,0-3,0, enquanto que o PCZ da goethita e hematita, por exemplo, estão na faixa de 7,0 a 9,0, o da gibbsita em torno de 9,0, e o da caulinita em torno de 3,0 (Cornell & Schwertmann, 1996). Provavelmente, o alto teor de caulinita na fração argila dos solos estudados esteja contribuindo de forma significativa para o valor de PESN, em torno de 3,0-4,0. Como o pH dos solos testemunha está em torno de 5,8, é de se esperar que esteja ocorrendo a predominância de cargas negativas na superfície da caulinita, dos óxidos e das SHs, favorecendo a retenção de cátions, como indicam os valores de ΔpH . A elevação do pH do solo, aumentaria ainda mais a geração de cargas negativas na superfície destas partículas. Porém, observa-se que os valores de ΔpH apresentados pelos solos tratados com biossólido não seguem esta tendência, isto é, não há acréscimo de cargas negativas com a adição do material orgânico.

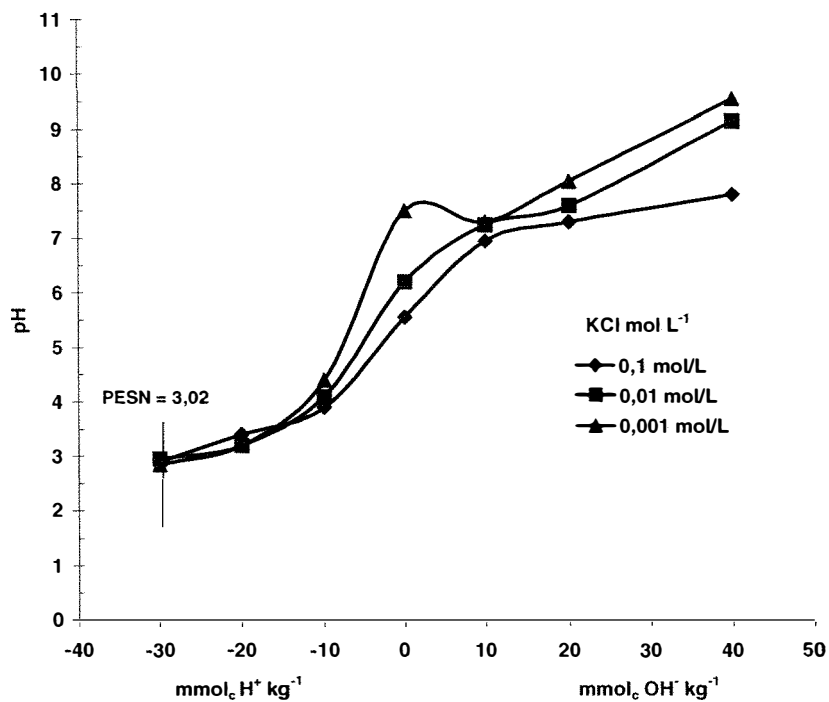


Figura 1 - Ponto de Efeito Salino Nulo da camada 0-0,25 m do LVAd.

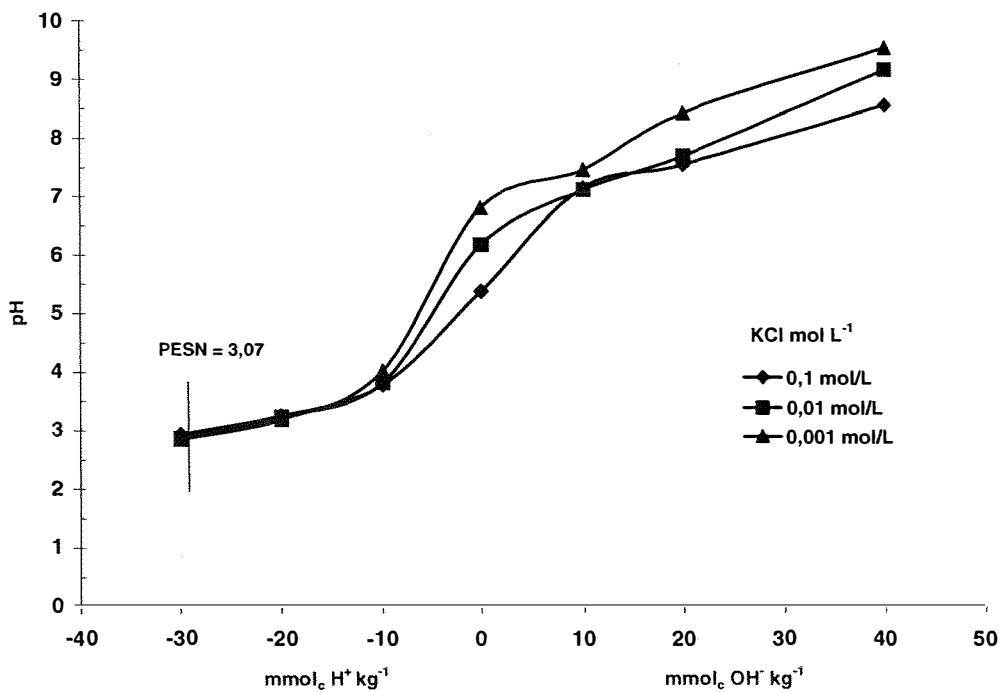


Figura 2 - Ponto de Efeito Salino Nulo da camada 0,25-0,50 m do LVAd.

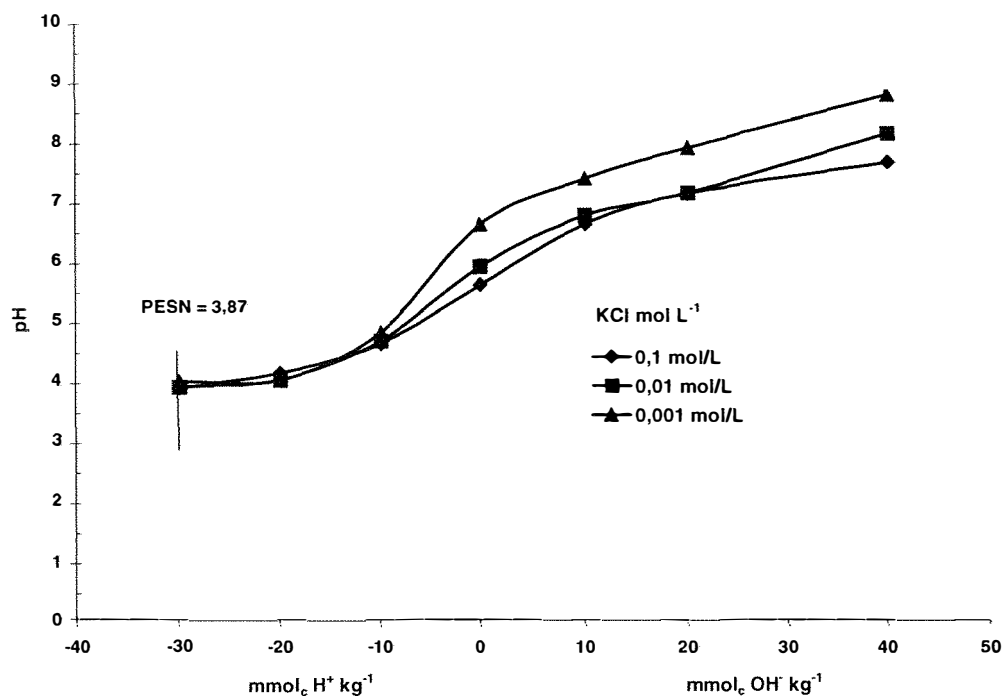


Figura 3 - Ponto de Efeito Salino Nulo da camada 0-0,25 m do LVd.

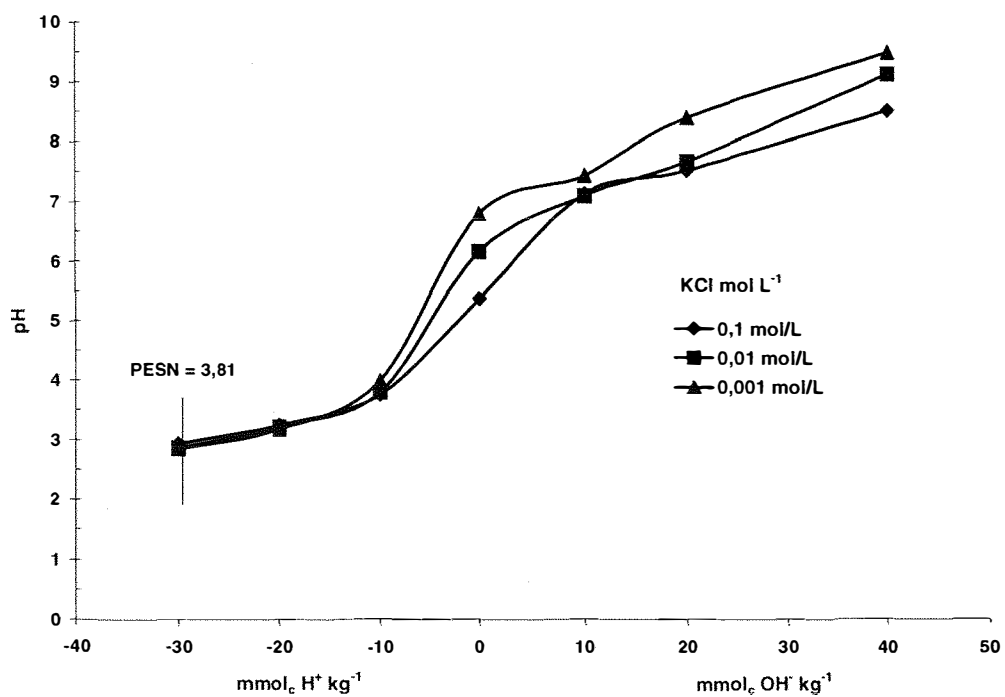


Figura 4 - Ponto de Efeito Salino Nulo da camada 0,25-0,50 m do LVd.

Era de se esperar, também, que a adição de material orgânico reduzisse os valores de PESN, devido à presença principalmente de grupos carboxílicos que iniciam a dissociação a baixos valores de pH, e devido ao recobrimento das superfícies minerais pela matéria orgânica que poderiam anular as cargas positivas, como observado por Benites & Mendonça (1998). Nota-se, entretanto, que não houve redução nos valores de PESN, nem para os valores estimados nem para os valores determinados, após a adição de grande quantidade de material orgânico, via bio sólido. Portanto, questiona-se essas formas de determinação para PESN, para solos tratados com resíduos orgânicos, com elevados teores de sais, como o bio sólido utilizado neste estudo.

Cabe ressaltar que cada constituinte do solo exibe um comportamento diante da elevação do pH, e a retenção de metais depende de inúmeros fatores, entre eles, o teor do metal adicionado, a qualidade das substâncias húmicas formadas, a competição por sítios de adsorção com outros cátions e a afinidade entre superfície adsorvedora e o metal em questão. O parâmetro PESN do solo, orienta para o que possa estar ocorrendo em termos de cargas de superfícies, e oferece uma noção da potencialidade de retenção de cátions e ânions.

4.2.4 Análises mineralógicas qualitativas e semiquantitativas

4.2.4.1 Análises qualitativas

4.2.4.1.1 Fração areia desferrificada

Os difratogramas de raios X da fração areia desferrificada não serão apresentados, visto a simplicidade dos espectros. Em todos os difratogramas da fração areia sem ferro, encontram-se todos os picos característicos do quartzo: o pico de intensidade 100 representado pela distância 0,334 nm, seguido pelos picos de menor intensidade representados pelas distâncias 0,426, 0,245, 0,228, 0,228, 0,213, 0,198, 0,182, 0,167 e 0,166 nm. Também, não ocorreram variações na mineralogia entre horizontes superficiais e subsuperficiais, e nem entre os solos testemunha e tratados com bio sólido. As Figuras 10 e 11 mostram a presença de picos de baixa intensidade para o ortoclásio, no LVd testemunha, tratado, superfície e profundidade, com picos

representados pelas distâncias 0,276 e 0,212 nm, indicando menor intemperização deste solo quando comparado ao LVAd. Os minerais, quartzo e ortoclásio não apresentam contribuição para as cargas elétricas dos solos.

4.2.4.1.2 Fração silte desferrificada

O difratograma de raios X da fração silte desferrificada dos solos LVAd e LVd em superfície e profundidade encontra-se na Figura 5. Para os solos tratados com biossólido não houve diferenças nos picos apresentados em comparação aos solos testemunha.

A fração silte destes solos é composta basicamente por quartzo. Verifica-se nas distâncias de 0,426, 0,334, 0,246, 0,228, 0,213, 0,198, 0,182 e 0,1,67 nm, sendo o pico de maior intensidade o de 0,336, seguido de 0,426nm. Provavelmente, o mineral de quartzo da fração silte esteja em uma fase denominada extinção por tamanho, ou seja, fase em que o mineral é pequeno de forma que o intemperismo já não age mais sobre o mesmo. A fração silte não contribui em termos de cargas para estes solos.

4.2.4.1.3 Fração argila desferrificada

Os difratogramas de raios X da fração argila desferrificada estão representados nas Figuras 6 e 7. Verifica-se a presença da caulinita em todos solos, em superfície e em profundidade, nos picos de máxima intensidade, representados pelas distâncias 0,714 e 0,356 nm. Os picos aparecem em todos os tratamentos das lâminas e são confirmados pelos seus desaparecimentos no tratamento K 550°C, em que a caulinita é destruída. Os espectros dos tratamentos K 25° C; K 350° C; K 550° C e Mg glicol foram suprimidos visto que não traziam informações adicionais.

Nos valores de pH apresentados pelos tratamentos, a caulinita provavelmente esteja contribuindo com cargas negativas no complexo de troca, favorecendo a retenção de cátions, como os metais pesados. A CTC da caulinita varia entre 30 a 150 mmol_c kg⁻¹.

A gibbsita aparece apenas no LVd, nos solos testemunha e tratados, superfície e profundidade (Figura 7), nos espaçamentos característicos 0,480 e 0,340 nm, desaparecendo nas lâminas tratadas com K 350°C, confirmando dados do ataque

sulfúrico que indicava maior teor de Al_2O_3 neste solo. De acordo com Hsu (1977), o ponto isoelétrico da gibbsita é de aproximadamente 9,2, e todos os tratamentos apresentam valores de pH abaixo desse valor, o que significa que a gibbsita, que é um mineral de carga variável, nestes solos, apresenta carga positiva, favorecendo a retenção eletrostática e/ou específica de ânions e cátions.

Observa-se, desse modo, que em termos qualitativos, o tratamento com biossólido não promoveu mudanças na fração argila desferrificada destes solos.

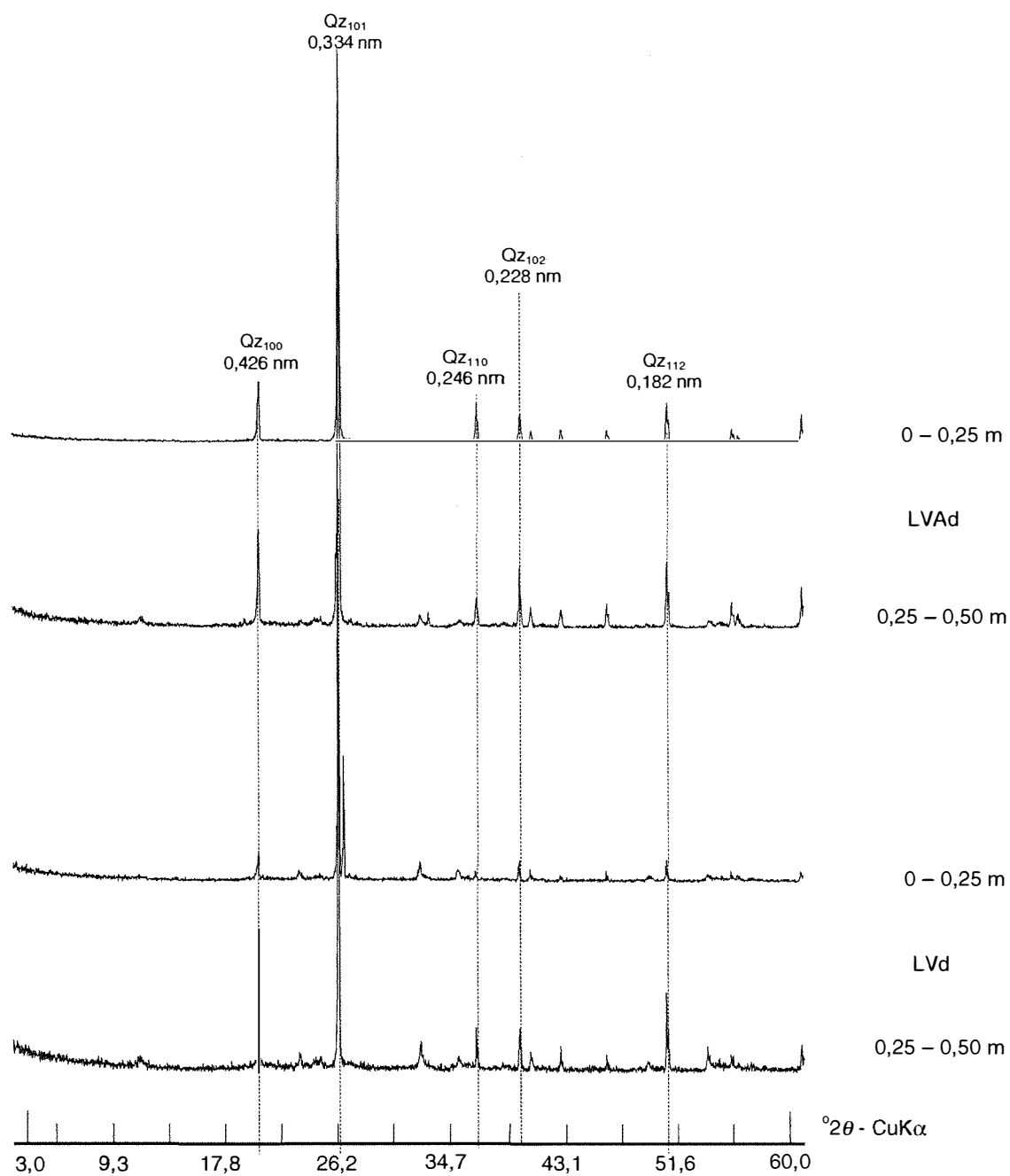


Figura 5 - Difratoigramas de raios X da fração silte das camadas superficial (0 - 0,25 m) e subsuperficial (0,25 - 0,50 m) do Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico (LVAd) e do Latossolo Vermelho Distrófico (LVd). Qz = quartzo

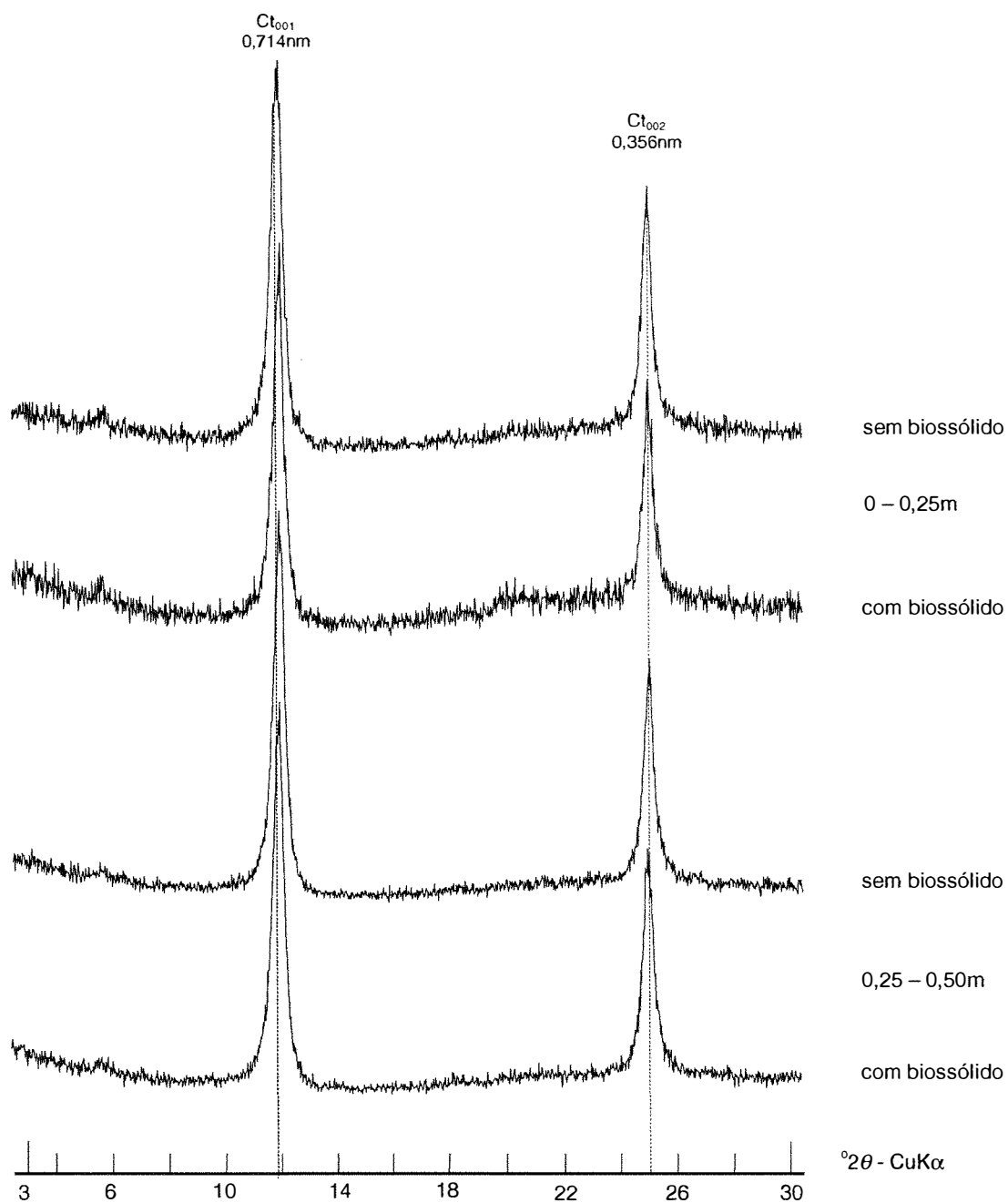


Figura 6 - Difratogramas de raios X da fração argila desferrificada e saturada com magnésio das camadas superficial (0-0,25m) e subsuperficial (0,25 – 0,50m) do Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico, com e sem a adição de biossólido. Ct = caulinita.

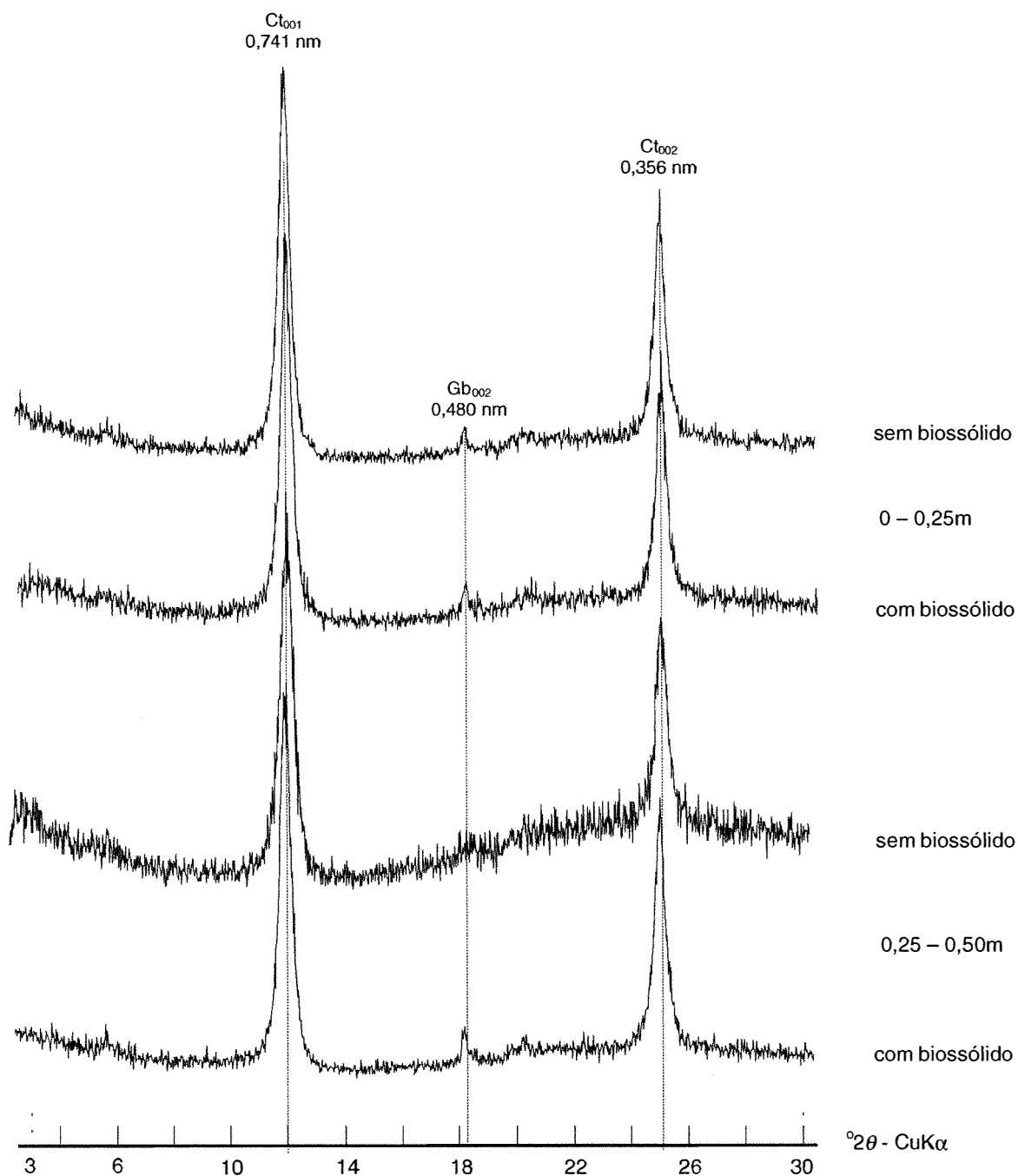


Figura 7 - Difratoigramas de raios X da fração argila desferrificada e saturada com magnésio das camadas superficial (0-0,25m) e subsuperficial (0,25-0,50m) do Latossolo Vermelho Distrófico sem e com a adição de biofósido. Ct = caulinita, Gb = gibbsita.

4.2.4.1.4 Fração argila concentrada em ferro

Os difratogramas de raios X da fração argila concentrada em óxidos de ferro estão representados nas Figuras 8 e 9, para os tratamentos LVAd e LVd, respectivamente.

Verifica-se em todos os tratamentos, e em todas as profundidades, a presença de goethita nos espaçamentos característicos de 0,418, e 0,245 nm, que são os picos de maior intensidade. O mesmo ocorre com a presença de hematita, apresentando picos característicos nos espaçamentos 0,367, 0,269 e 0,251 nm, com as intensidades de 25, 100 e 50, respectivamente. As diferenças de intensidade nos picos da hematita e goethita para o solo LVAd e LVd são nítidas, refletindo o maior teor de goethita no solo LVAd, e o maior teor de hematita no solo LVd.

De uma maneira geral, não se observam alterações na mineralogia dos solos com a adição de biossólido, tanto no solo LVAd como no solo LVd. Possivelmente, ocorram diferenças nas quantidades destes minerais e no seu grau de cristalinidade, que pode ser observada pela resolução do pico (picos bem definidos - melhor grau de cristalinidade do mineral).

A natureza química, e geralmente a alta superfície específica dos óxidos de ferro, tornam tais materiais potenciais adsorvedores de metais pesados. Schwertmann & Taylor (1977) indicam que o valor médio do PCZ, tanto da hematita quanto da goethita sintéticas, está em torno de 7,5 a 9,5 e que estes minerais naturais apresentam valores de PCZ um pouco inferiores. Desta forma, estes óxidos, nos tratamentos testemunha, provavelmente estejam contribuindo com cargas positivas, favorecendo a adsorção de ânions, mas não se pode descartar a adsorção específica de cátions metálicos a estes minerais. No caso dos solos tratados com biossólido, o pH está próximo a 8,0, estando na faixa do PCZ destes óxidos, ou um pouco acima, podendo não estar gerando cargas, ou estar gerando cargas negativas que podem adsorver metais de forma eletrostática. A adsorção específica de metais pesados aos óxidos pode ser evidenciada, quando há uma grande liberação de metais, após tratamentos de remoção dos óxidos dos solos. Os autores acima também sugerem a adsorção de ânions orgânicos, como citratos, oxalatos,..., provavelmente presentes no biossólido, à superfície dos óxidos. Esses ânions fortemente adsorvidos podem estar revestindo a superfície dos óxidos, subestimando os valores de CTC destes materiais.

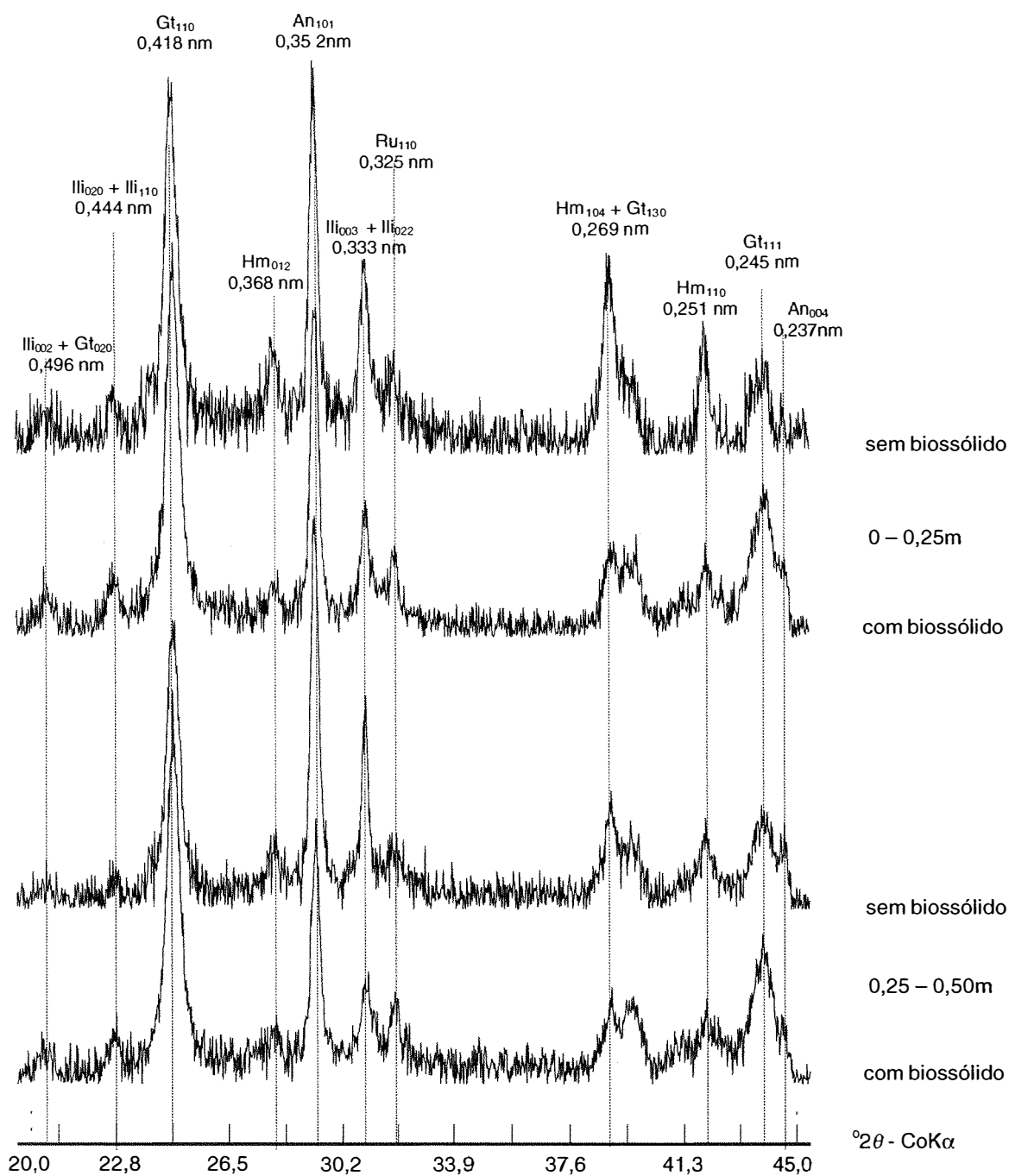


Figura 8 - Difratomogramas de raios X da fração argila concentrada em óxidos de ferro das camadas superficial (0 – 0,25m) e subsuperficial (0,25 – 0,50m) do Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico, com e sem a adição de biofósforo. Ili = ilita, Gt = goethita, Hm = hematita, An = anatásio. Ru = rutilo.

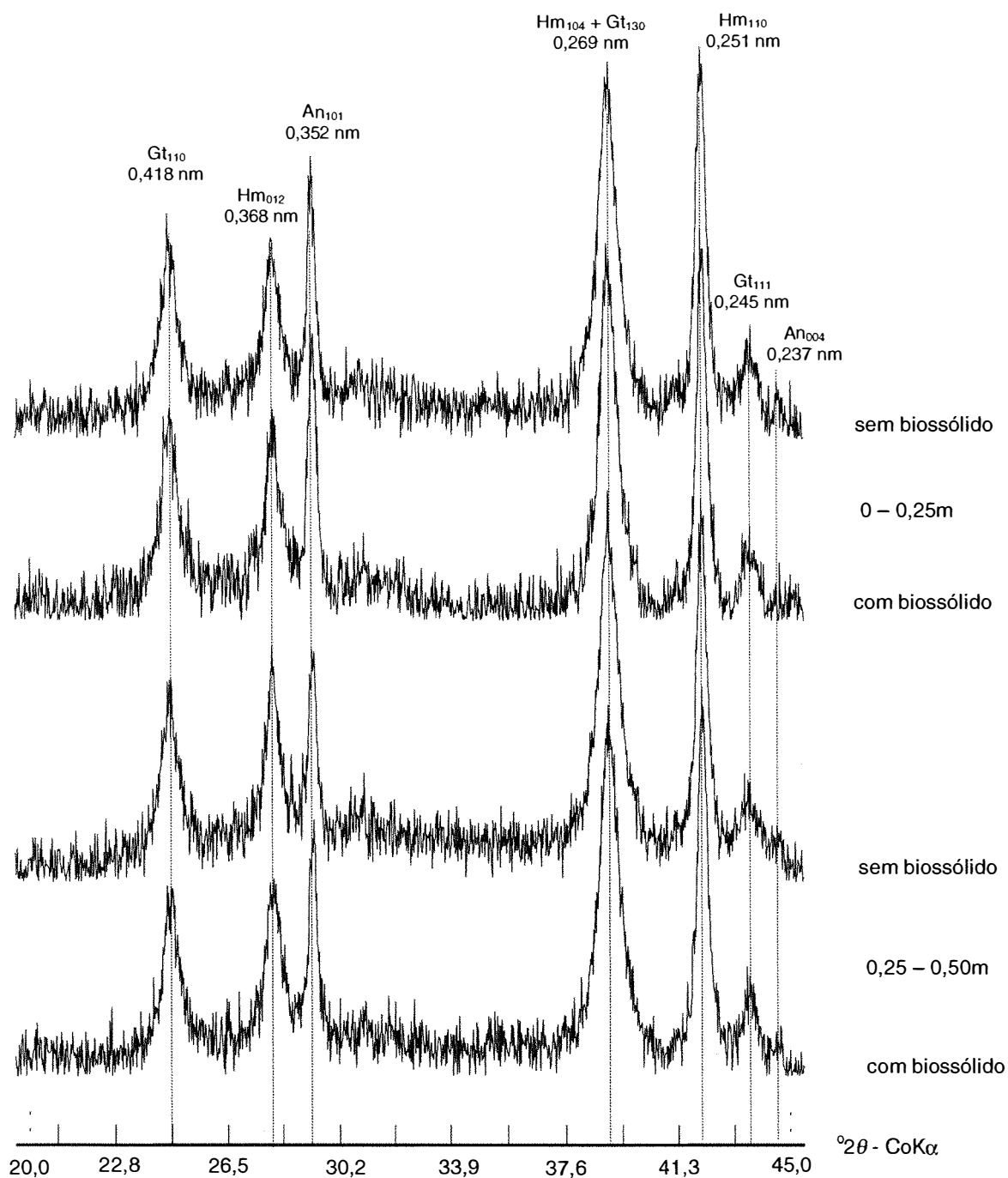


Figura 9 - Difratomogramas de raios X da fração argila concentrada em óxidos de ferro das camadas superficial (0–0,25m) e subsuperficial (0,25–0,50m) do Latossolo Vermelho Distrófico sem e com a adição de bio sólido. Gt = goethita, Hm = hematita, An = anatásio.

A presença do mineral 2:1, ilita pode ser verificada nos difratogramas da fração argila concentrada em ferro, dos solos LVAd - testemunha e tratados com biossólido, (Figura 8), nos picos característicos 0,496, 0,444 e 0,333 nm, sendo que o pico de maior intensidade é o de distância 0,333 nm. A pequena expressividade de minerais 2:1 nestes solos, deve-se ao fato do elevado grau de intemperização pelo qual passaram durante o desenvolvimento, mas cabe salientar que pequenas quantidades destes minerais podem representar grande contribuição nas cargas permanentes dos solos.

Verifica-se, também, a presença de óxidos de titânio ($\text{Fe}_2\text{Ti}_3\text{O}_9$), podendo estar representado pelo rutilo e anatásio, em todos os tratamentos. Para todos os tratamentos do LVAd, o anatásio aparece em 0,352, e 0,237 nm e o rutilo em 0,325 nm. Os tratamentos do LVd apresentam apenas anatásio nas mesmas distâncias citadas para o LVAd. O pico de maior intensidade para o anatásio é o de 0,352 nm.

4.2.4.2 Análise semiquantitativa

Os resultados da análise térmica diferencial na fração argila desferrificada encontram-se na Tabela 6. Observa-se a predominância de caulinita em ambos os solos e seus tratamentos. No solo LVAd e seus tratamentos há um maior teor de caulinita quando comparado aos tratamentos do LVd, tanto em superfície quanto em profundidade.

Comparando os teores de gibbsita encontrados na análise térmica diferencial e os valores de Al_2O_3 do ataque sulfúrico (Tabela 4), verifica-se que o alumínio no LVAd testemunha ou tratado, em superfície, não se encontra fazendo parte da estrutura da gibbsita. Uma pequena parte encontra-se na forma mal cristalizada (Tabela 4), uma outra parte, pequena, na forma trocável (Tabela 3) e provavelmente a maior parte fazendo parte da estrutura da caulinita. Em profundidade, com a adição de biossólido observa-se um aumento no teor de gibbsita.

Quanto ao solo LVd, confirma-se a presença de gibbsita como já indicava os difratogramas da fração argila desferrificada (Figura 7). Notam-se maiores teores de gibbsita em superfície, e comparando-se com os teores totais de Al_2O_3 do ataque sulfúrico, verifica-se que apenas 20% do alumínio não fazem parte da estrutura da gibbsita. Em profundidade, a adição do biossólido proporcionou um aumento de

aproximadamente 50% no teor de gibbsita quando comparado ao tratamento testemunha. Verifica-se que o teor total de Al_2O_3 não foi aumentado em relação à superfície (Tabela 4), e talvez seja possível inferir que a adição de biossólido propiciou condições para a síntese do mineral, ou o mineral estava presente no biossólido e foi incorporado ao solo. Sweegers et al. (2001) indicam que a síntese de gibbsita ocorre na presença de Al e altas concentrações de OH^- . Dessa forma, o elevado pH do biossólido e dos solos tratados, poderia propiciar o crescimento dos cristais. Outra explicação para este fato, seria erro no preparo da amostra ou na curva de calibração. Este fato ocorreu, também, com menor intensidade no solo LVAd tratado com biossólido, em profundidade, porém não foi detectada a presença de gibbsita nos difratogramas de argila desferrificada deste tratamento (Figura 6).

Tabela 6. Teores de caulinita e gibbsita (g kg^{-1}) na fração argila desferrificada dos solos do experimento.

Tratamento ⁽¹⁾	caulinita	gibbsita
-----g kg ⁻¹ de argila desferrificada-----		
<i>Superfície (0– 0,25 m)</i>		
LVAd	933	-
LVAd + B	869	-
LVd	749	156
LVd + B	745	168
<i>Profundidade(0,25 – 0,50 m)</i>		
LVAd	879	4
LVA + B	857	16
LVd	762	83
LVd + B	697	171

¹⁾ LVAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

Observando os difratogramas da fração argila desferrificada do solo LVd (Figura 7), nota-se que os picos a 0,480 nm, característico da gibbsita, têm praticamente a mesma intensidade em superfície, e em profundidade sua intensidade é aumentada no solo tratado com biossólido, confirmando os dados da análise térmica diferencial. Aparentemente, os picos do mineral, em superfície têm bases mais estreitas e são bem

definidos, e portanto mais bem cristalizados, e em profundidade a base é mais larga e subdividido, indicando a presença de material recém formado e menos cristalizado.

De qualquer modo, o teor de gibbsita próximo a 20% no LVd, pode representar um diferencial em termos de cargas, e de retenção de metais para este solo quando comparado ao LVAd, predominantemente caulinítico na fração argila desferrificada.

4.3 Disponibilidade de metais a plantas de cana-de-açúcar

O plantio de cana-de-açúcar nas caixas de cimento amianto, após a coleta de solo para fins de extração seqüencial e caracterização das substâncias húmicas, foi realizado apenas com a finalidade de acompanhar a fitodisponibilidade de metais, assim como as conseqüências do desbalanço nutricional do bio sólido na produção das culturas, ao longo do tempo. Após a última aplicação de bio sólido, houve o cultivo de milho (Anjos, 1999), seguido do plantio da cana-de-açúcar, cujos resultados serão aqui apresentados, e, atualmente (anos 2001/2002), a condução do experimento prossegue com o cultivo de *Brachiaria decumbens*. Ressalta-se que a dose de resíduo utilizada é muito superior à dose agrônômica permitida, e às condições de fertilidade apresentadas pelos solos após um ano e meio da última aplicação de bio sólido não são as usuais para o cultivo da cana-de-açúcar.

4.3.1 Produção da cana-de-açúcar

A colheita da cana-de-açúcar ocorreu antes do previsto, em virtude do amadurecimento precoce da variedade em condições de vaso. A Figura 10 mostra o aspecto geral do experimento por ocasião da colheita. Apesar do desbalanço na relação Ca/Mg, e dos valores de pH dos solos tratados apresentarem-se acima da faixa indicada para a cultura, como já discutido no item 4.2.2, verifica-se que a adição do resíduo propiciou condições para a expressão do potencial genético do cultivar (Figura 11, Tabela 7).

Observa-se que o número de colmos por touceira (perfilhamento), o número de gemas/colmo e o peso dos colmos, foram significativamente maiores nos solos tratados com bio sólido, concomitantemente com a melhoria na fertilidade destes

solos, como mostram os dados de análise de terra após a adição do bio-sólido (Tabelas 7 e 2).

Os parâmetros número de colmos e número de gemas por colmo, diretamente relacionados à produtividade da cultura, foram significativamente maiores para os solos tratados com bio-sólido (Tabela 7, Figura 11). Entre os solos não houve diferenças significativas para os fatores de produção. A análise estatística mostra que não houve interação significativa para os fatores solos e doses. A altura das plantas não foi afetada pela adição de bio-sólidos aos solos, foi igual, tanto para os tratamentos testemunha como para os solos tratados.

Tabela 7: Resultados de produção da variedade RB 72-454. Média de quatro repetições⁽¹⁾.

Tratamento ⁽²⁾	Número de colmos/vaso	Número de gemas/colmo	Peso/vaso (kg)	Altura (m)
LVAd	5,3b	11,8b	4,3b	1,9a
LVAd + B	9,3a	14,3a	13,1a	1,9a
LVd	4,8b	11,8b	4,8b	1,9a
LVd + B	10,3a	12,5 ^a	13,9a	1,9a
CV (%)	30,6	7,4	11,0	5,7

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra entre doses não diferem entre si (Tukey 5%).

⁽²⁾ LVAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com bio-sólido.

O aumento na produção de cana-de-açúcar com a aplicação de bio-sólido, tem sido verificado por alguns autores entre eles Silva (1995) e Oliveira (2000), enquanto que Marques (1996) não observa aumentos significativos na produtividade da cana-de-açúcar, mesmo na maior dose aplicada (160 Mg ha⁻¹).

4.3.2 Análises tecnológicas

A Tabela 8 mostra os resultados das análises tecnológicas realizadas nos colmos de cana. Verifica-se que parâmetros de qualidade como o BRIX, POL%CA e ATR (açúcares redutores totais) não diferiram significativamente entre solos tratados e testemunha. A Pureza e os AR (açúcares redutores) mostraram-se maiores nos solos

tratados com biossólido, enquanto que a quantidade de fibra foi significativamente menor nos tratamentos, indicando maior quantidade de caldo produzido. Marques (1986), também, observa maiores valores de açúcares redutores com a aplicação de biossólido e redução do teor de fibra da cana com o aumento da dose de resíduo aplicada. Enquanto que, Turner et al. (1991) relatam decréscimo na qualidade da cana, e redução no teor de sacarose, com a aplicação de 200 Mg ha⁻¹ quando comparado a fertilização mineral.

Tabela 8. Resultados das análises tecnológicas da variedade RB 72-454. Média de quatro repetições⁽¹⁾.

Tratamento ⁽²⁾	BRIX	BRIX%CA	POL CE	POL%CA	Fibra	Pureza	AR	ATR
LVA _d	14,5a	12,2a	12,1a	10,2a	12,2a	77,7b	1,0b	103,4a
LVA _d + B	13,8a	11,8a	10,7b	9,2a	11,1b	83,3a	1,5a	98,8a
LV _d	14,7a	11,4a	12,4a	8,6b	12,3a	75,3b	0,9b	104,8a
LV _d + B	13,2a	12,4a	10,0b	10,4a	10,9b	84,1a	1,8a	95,5a
CV (%)	7,5	7,6	10,7	10,9	5,7	6,3	34,0	7,3

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra entre doses não diferem entre si (Tukey 5%).

⁽²⁾ LVA = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

Nota-se que o uso de biossólido na cultura da cana-de-açúcar, quando complementado com adubação potássica, traz melhorias em termos nutricionais, elevando a produção e melhorando parâmetros de qualidade do caldo. Cabe ressaltar, que apesar de não aparecerem sintomas de deficiência de Mg nas plantas (pontuações necróticas nas folhas e bainhas), seria interessante adubar estes solos com Mg para reduzir a alta relação Ca/Mg promovida pela incorporação de grande quantidade de Ca aos solos, via biossólido.



Figura 10 – Aspecto geral do experimento por ocasião da colheita. AII = LVAd + B, BII = LVAd, CII = LVd + B, DII = LVd. B = biossólido

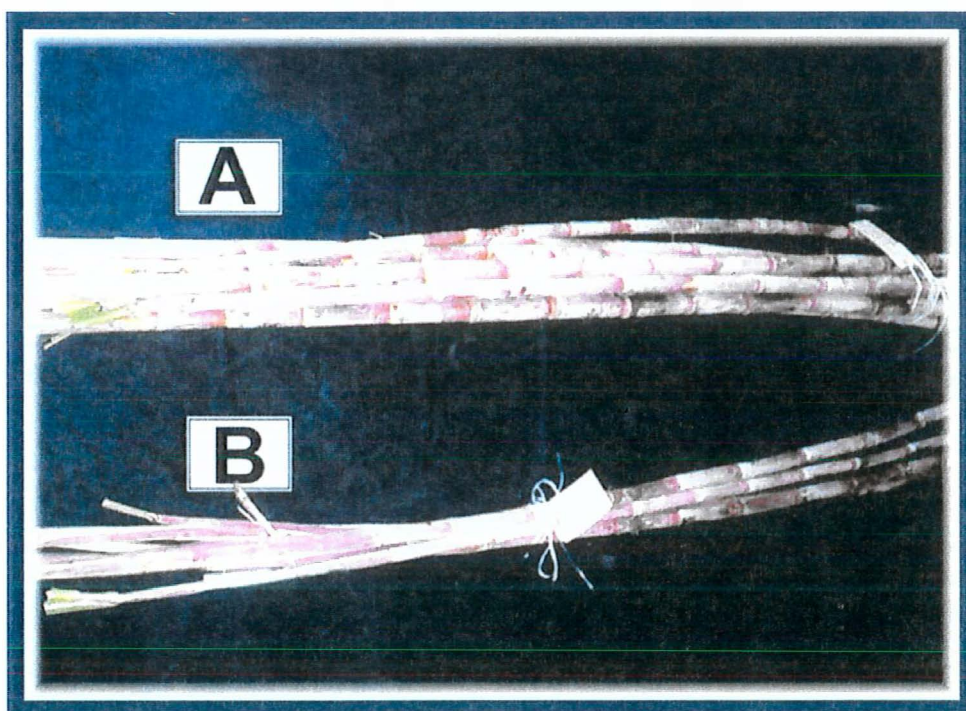


Figura 11 – Aspecto dos colmos colhidos no tratamento LVAd + biossólido (A) e LVAd (B). Colmos colhidos em uma das parcelas de cada tratamento.

4.3.3 Metais pesados nas folhas e caldo da cana-de-açúcar

4.3.3.1 Metais pesados nas folhas da cana-de-açúcar

Os resultados da determinação de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn, nas folhas de cana, encontram-se na Tabela 9. Verifica-se que o Cd foi o único elemento não detectável pelo método de determinação empregado, não indicando que o mesmo encontra-se ausente nas folhas de cana.

O teor de Cu foi na planta foi maior nos solos tratados com biossólido e a elevação no seu teor foi praticamente igual entre os solos. Dos resultados da extração seqüencial de metais, que serão apresentados no item 4.5, verifica-se que o teor de Cu na fração trocável foi de 0,5, e 0,2 mg kg⁻¹ para os tratamentos LVAd+B e LVd+B, respectivamente, na camada 0-0,25 m. O teor de Cu no solo LVAd foi de 0,2 mg kg⁻¹ e no solo LVd não foi detectado. Em superfície, o Cu esteve preferencialmente ligado à matéria orgânica em todos os tratamentos, exceto no solo LVd, em que esteve preferencialmente ligado à fração residual. Secundariamente esteve ligado aos carbonatos no tratamento LVAd+B e ligado a forma residual nos demais tratamentos. De modo que, provavelmente, o teor de Cu encontrado nas folhas de cana, esteja sendo liberado da fração orgânica no LVA tanto para a testemunha como para o tratado. No tratamento LVAd+B, está sendo liberado preferencialmente da fração carbonatada, e no LVd pode estar sendo liberado da fração orgânica, e/ou de ligações fracas do elemento com a caulinita e óxidos.

Tabela 9. Teores de metais pesados (mg kg⁻¹) nas folhas de cana. Média de quatro repetições*.

Tratamento ⁽¹⁾	Cd*	Cr*	Cu*	Ni*	Zn*
	-----mg kg ⁻¹ -----				
LVAd	nd ⁽²⁾	2,3	2,4	nd	11,7
LVAd + B	nd	7,7	7,1	4,5	29,4
LVd	nd	2,5	3,1	nd	11,4
LVd + B	nd	3,3	9,0	2,1	28,0

⁽¹⁾ LVAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido. ⁽²⁾ nd = Abaixo do limite de detecção do método utilizado.

O teor de Zn, como o de Cu, foi maior nos solos tratados quando comparado aos solos testemunha. Nos solos tratados com bioossólido provavelmente o Zn esteja sendo liberado para a solução do solo, principalmente da fração carbonato, visto que o metal não foi detectado na fração trocável. Apenas no LVAd superfície detectou-se, aproximadamente, 1,0 ppm de Zn na fração trocável, e a absorção de Zn pela planta, pode estar sendo suprida pelo teor trocável e/ou o Zn pode estar sendo liberado da fração orgânica. No LVd, o Zn encontra-se preferencialmente na fração residual e pode estar sendo liberado de ligações fracas do elemento com a caulinita, além das frações óxido e orgânica.

Zambello & Orlando Filho (1979) encontraram teores foliares médios de Cu e Zn para cana-de-açúcar cultivada no Estado de São Paulo, de 8 a 9 e 24 a 27 mg kg⁻¹, respectivamente. Estes teores de Cu e Zn são compatíveis com os teores encontrados neste experimento, mesmo para os solos tratados, indicando que apesar da elevada quantidade destes metais incorporados aos solos via bioossólido, a planta absorveu apenas o necessário para o seu desenvolvimento.

Oliveira (2000) ajustando modelo para teor de Cu e Zn nas folhas +1 de cana, em solo tratado até a dose de 110 Mg ha⁻¹ de bioossólido (base seca), encontrou uma concentração platô para o Cu de 6,7 mg kg⁻¹ e para o Zn de 19,9 mg kg⁻¹, nas maiores doses. Marques (1990) encontrou teores de Zn, em folhas de cana cultivada em solo tratado com 160 Mg ha⁻¹ de bioossólido (70% de umidade), na faixa de 20 a 23 mg kg⁻¹ e teores de Cu atingindo valores de 52,0 mg kg⁻¹. Nota-se que apenas os teores de zinco dos solos tratados esteve acima da faixa encontrada pelos autores. Entretanto, é necessário salientar que a dose de bioossólido utilizada (388,0 Mg ha⁻¹ - base seca) neste experimento é bem maior que a utilizada pelos autores acima citados, e que a planta foi cultivada em condições de vaso.

△ Kabata Pendias & Pendias (1984) estabelecem os valores de 20 e 200 mg kg⁻¹ como níveis críticos no tecido vegetal, para o Cu e Zn, respectivamente. Os teores encontrados nos tratamentos com bioossólido estiveram abaixo destes valores, não proporcionando danos à cultura. Cabe salientar que tanto o Cu como o Zn concentram-se preferencialmente nas raízes, estruturas não analisadas neste experimento, e em que possivelmente a concentração destes metais seja maior que nas folhas.

Quanto aos teores de Cr nas folhas de cana, nota-se que foram maiores apenas no tratamento LVAd + B. No LVd tratado com bioossólido os teores foram

praticamente iguais aos do tratamento testemunha, indicando que as ligações que este metal forma preferencialmente com a matéria orgânica e óxidos foram suficientes para retê-lo. No tratamento LVAd, o Cr pode estar sendo liberado da fração carbonatada e orgânica.

Observa-se que, mesmo nos tratamentos testemunha ocorre absorção de Cr pelas plantas, e essa absorção é praticamente igual nos dois solos. O metal nestes casos é originário do material de origem dos solos, e proporcionalmente ao teor original encontrado (Tabela 17 , Item 4.5) mostrou-se menos disponível no solo LVd, em que se concentra na fração residual. No LVAd encontra-se na fração orgânica, podendo ser mais facilmente liberado para a solução do solo.

Os teores observados para o Cr nas folhas de cana são superiores às concentrações habituais encontradas nos tecidos vegetais, que estão na faixa de 0,02 a 0,2 mg kg⁻¹ de material seco (Kabata Pendias & Pendias, 1984). Porém não foram observados os sintomas de toxidez do elemento nas folhas de cana, que caracterizam-se por clorose e pontas avermelhadas, assim como não houve redução na produção de colmos, ou na qualidade do caldo, indicando talvez ser a cana, planta tolerante aos teores de Cr encontrados neste experimento.

O Ni não foi detectado nas folhas de cana dos tratamentos testemunha, em conformidade com os dados de sua ausência nestes solos (Tabela 9). Nos solos tratados com biossólido, houve aumento no seu teor nas folhas de cana, e esse aumento foi maior no tratamento LVAd+B. Nestes tratamentos, o elemento estaria sendo liberado preferencialmente das frações carbonatada, visto que na fração trocável houve ausência do elemento, como mostra os dados do item 4.5. Os teores de Ni estiveram abaixo dos níveis críticos para o tecido vegetal citados , na faixa de 10-100 mg kg⁻¹). Recentemente, há na literatura alguns relatos que consideram o Ni como um elemento essencial para as plantas superiores (Dordas et al., 2001).

Pode-se concluir, dessa maneira, que a adição consecutiva de biossólido, aumentou os teores de Cr, Cu, Ni e Zn em todos os tratamentos, com exceção do Cr no tratamento LVd+B. Porém, todos os teores encontrados ficaram abaixo dos níveis críticos encontrados na literatura, exceto para o Cr em todos os tratamentos.

4.3.3.2 Metais pesados no caldo da cana-de-açúcar

Os teores de metais pesados no caldo de cana encontram-se na Tabela 10. Observa-se que os teores de Cd, Cr e Ni, encontrados no caldo da cana, foram muito baixos, e para aumentar a confiança nestes resultados seria interessante realizar estas análises com forno de grafite acoplado ao espectrofotômetro de absorção atômica.

Observa-se que apesar do Cd não ser detectado na parte aérea das plantas de cana, o metal apareceu em pequenas concentrações no caldo. Pierrisnard (1996) cita que o Cd é facilmente absorvido pelas raízes e translocado rapidamente dentro da planta, e em cereais concentram-se nos grãos. As concentrações encontradas em grãos, colhidos de solos contaminados, estão na faixa de 0,1 a 1,1 mg kg⁻¹, valores próximos aos encontrados no caldo para os tratamentos LVAd+B e LVd+B. Também, Dordas et al. (2001) consideram que o Cd pode ser prontamente absorvido pela planta, acumulado nos tecidos e/ou remobilizado para outras partes, entrando dessa forma na cadeia alimentar. Segundo os autores, o Cd é transportado como complexo Cd-fitoquelatina no xilema, e este processo pode ser promovido pela transpiração.

Os teores totais de Cd nestes solos foram de 1,4, e 2,2 mg kg⁻¹ para os solos LVAd e LVd tratados com bio-sólido, em superfície, e verifica-se que no solo onde havia maior teor total do elemento o teor do metal no caldo foi também maior. O Cd nestes solos encontra-se na fração carbonatada (Item 4.5), e, portanto, é facilmente liberado à solução do solo e disponível às plantas. É importante ressaltar que a redução do pH destes solos, ao longo do tempo, pode contribuir para rápida liberação do metal, tornando-o livre para absorção radicular e/ou lixiviação, ou pode ser reabsorvido em outras frações mais estáveis.

Sabe-se que não somente o uso de resíduos na agricultura pode incrementar os teores de Cd e outros metais nos solos. Ramalho et al. (1999) verificaram acúmulo de Cd em Podzólico Amarelo e em dois Latossolos Amarelos cultivados com cana-de-açúcar e tratados com fertilizantes fosfatados durante vinte e cinco anos. No entanto, os teores de Cd não atingiram níveis críticos. Os autores verificaram, também, elevação nos teores de Cd, Cr, Co, Cu, Ni e Pb em Cambissolo cultivado com cana e irrigado com água do Rio Paraíba do Sul. Mulla et al. (1980) encontraram incrementos de até 100 g ha⁻¹ ano⁻¹ de Cd, em solos dos EUA, tratados com fertilizantes fosfatados.

Tabela 10. Teores de metais pesados (mg L^{-1}) no caldo de cana. Média de 4 repetições*.

Tratamento ⁽¹⁾	Cd*	Cr*	Cu*	Ni*	Zn*
	----- mg L^{-1} -----				
LVAAd	nd ⁽²⁾	0,3	0,4	nd	2,8
LVAAd + B	0,08	1,1	0,6	nd	2,5
LVd	nd	nd	0,4	nd	1,9
LVd + B	0,14	nd	0,6	nd	2,2

⁽¹⁾ LVAAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha) e + B refere-se aos mesmos solos tratados com bioossólido.

⁽²⁾ nd = Abaixo do limite de detecção do método utilizado.

Quanto ao Cr, a elevação no seu teor foi maior apenas no LVAAd tratado com bioossólido. Este resultado é similar ao encontrado nas folhas de cana, isto é, no tratamento LVAAd+B, o metal foi absorvido em maiores concentrações e translocado para as folhas e colmos. O teor de aproximadamente 1,0 ppm encontrado no caldo da cana do tratamento LVAAd+B pode ser considerado alto quando comparado aos valores habituais encontrados na matéria seca de tecidos vegetais ($0,02\text{-}0,2 \text{ mg kg}^{-1}$). A translocação no Cr dentro da planta é semelhante à do ferro, isto é, o transporte ocorre através de complexos com citratos.

Os teores de Ni no caldo, nos solos tratados com bioossólido, ficaram em torno $0,05 \text{ mg L}^{-1}$, que pode ser considerado abaixo do limite de detecção do método empregado. Oliveira (2000) encontrou resultado semelhante em caldo de cana cultivada em solos tratados com bioossólido e composto de lixo.

Os teores de Cu e Zn no caldo da cana não foram praticamente alterados com a adição de bioossólido, em ambos os solos. Estes elementos são micronutrientes de plantas e a preocupação seria quanto à absorção destes elementos em quantidades que causassem fitotoxicidade às plantas e/ou que promovessem desequilíbrios nutricionais pela absorção destes em detrimento de outros elementos essenciais. No caldo da cana, a presença de metais pesados e mesmo de nutrientes desbalanceados, poderiam trazer conseqüências mais sérias à levedura, no processo de fermentação alcoólica. Estudos devem ser conduzidos para verificar a presença de metais no caldo da cana e a eficiência dos processos fermentativos na sua presença.

Além das folhas e caldo, as raízes e colmo também podem acumular metais pesados, e assim como as folhas, as raízes permanecem no solo após a colheita, de forma que os metais presentes nestas estruturas permanecem no sistema ao longo dos anos.

Os resultados apresentados neste estudo refletem uma condição não usual de bio sólido na agricultura, mas sinalizam para que haja um monitoramento constante das áreas que utilizam tais resíduos. Também, deve-se persistir na busca por métodos de extração mais eficientes e métodos de determinação de metais mais sensíveis, e confiáveis.

4.4 Caracterização das substâncias húmicas

As substâncias húmicas (SHs) representam a parte mais reativa da matéria orgânica do solo e, portanto, os efeitos da humificação nas suas estruturas moleculares, e a sua funcionalidade ou reatividade foram estudados por meio de análises elementares, análise dos grupos funcionais, e por técnicas espectroscópicas como a fluorescência no visível, FT-IR, EPR e UV-Vis, e serão a seguir apresentados. Os ácidos húmicos (AHs) foram analisados por todas as técnicas acima citadas; os ácidos fúlvicos (AFs) foram analisados apenas pela técnica da fluorescência e a fração humina não foi analisada.

4.4.1 Análise elementar e razões C/N, C/H e O/C dos ácidos húmicos do bio sólido e dos solos estudados

A Tabela 11 mostra os dados da composição dos elementos maiores dos ácidos húmicos isolados do bio sólido, e dos tratamentos dos solos LVAd e LVd. Os teores de cinzas e água variáveis apresentados entre os materiais, indicam não somente a presença destes na amostra, mas também a variação na eficiência dos processos de purificação e liofilização dos mesmos. Estas variações foram consideradas, de forma a homogeneizar o material de partida para as análises.

Observa-se aumento nos teores de C, H, N e S nos AHs dos solos tratados com bio sólido em relação aos solos testemunha, entretanto a adição do resíduo promove

efeito contrário nos teores de O. O teor de C dos AHs do bioossólido é próximo ao teor nos AHs dos solos testemunhas, e a adição do resíduo proporciona aumento no teor de C dos AHs dos solos tratados. Esse aumento foi proporcional para todos os solos e tratamentos, exceto para o tratamento LVAd + B em profundidade. Christl et al. (2000) investigaram a heterogeneidade química das SHs de solos em relação ao peso molecular, por meio da divisão dos AHs e AFs extraídos, em quatro frações utilizando a técnica da ultrafiltração. Os resultados nas frações de AHs mostraram uma clara tendência de que há uma diminuição no peso molecular da fração com o aumento nos teores de C, H e N e com a diminuição no teor de O. A diminuição no peso molecular total da amostra de AH está relacionada a moléculas menores, mais aromáticas, com maiores quantidades de grupos funcionais e cargas geradas. Dessa forma, a adição de bioossólido parece ter modificado as estruturas dos AHs, de forma a incorporar moléculas com menor peso molecular aos AHs nativos, trazendo implicações no comportamento ambiental dos mesmos.

Os teores de H, N e S dos AHs isolados do bioossólido são maiores que os valores encontrados nos solos testemunhas, e de uma forma geral houve um enriquecimento destes elementos nos AHs dos solos tratados. Os teores de N apresentaram-se menores nos tratamentos LVd superfície e profundidade quando comparado ao LVAd. O teor de S no tratamento LVAd + B ficou muito próximo ao teor apresentado pelos AHs do bioossólido. Também, os teores de O nos AHs isolados do bioossólido são menores que os AHs isolados dos solos testemunhas, mas após o tratamento os teores ficaram mais próximos do teor encontrado no resíduo.

Conclui-se, desta forma, que a adição de bioossólido proporcionou mudanças na composição química do material humificado dos solos tratados, após um ano e meio da última incorporação, e a tendência foi sempre de acompanhar os teores apresentados pelos AHs do bioossólido. Os maiores teores de N, H e S, teores de C flutuantes em torno ao teor de C dos solos e teores menores de O, apresentados pelos AHs do bioossólido quando comparados aos dos solos, são amplamente citados na literatura para AHs isolados de bioossólidos.

Como consequência, os valores das razões C/N e C/H dos AHs do bioossólido apresentam-se menores que os dos solos, como podem ser verificados na Tabela 12. Os altos teores de N e S, incorporados às macromoléculas dos AHs, deve-se à decomposição de proteínas e polipeptídeos de tecidos de microrganismos, e a

resíduos surfactantes contendo S presentes, que são incorporados aos AHs nativos do solo em formas resistentes à decomposição (Senesi et al., 1996).

Tabela 11. Resultados da análise elementar dos ácidos húmicos do bioossólido e dos tratamentos ⁽¹⁾. Média de quatro repetições.

Amostra	Umidade	Cinza	Um+Cinza	C	H	N	S	O
-----mg kg ⁻¹ -----								
Bioossólido	70	27,0	97,0	566,0	74,0	82,0	15,0	264,0
<i>Superfície (0-0,25 m)</i>								
LVAAd + B	91,0	37,0	128,0	632,0	63,0	47,0	13,0	245,0
LVAAd	84,0	28,0	112,0	588,0	45,0	36,0	1,0	330,0
LVd + B	100,0	25,0	125,0	602,0	54,0	47,0	7,0	289,0
LVd	74,0	25,0	99,0	554,0	37,0	40,0	1,3	368,0
<i>Profundidade (0,25-0,50 m)</i>								
LVAAd + B	88,0	23,0	114,0	589,0	52,0	55,0	6,0	298,0
LVAAd	94,0	18,0	111,0	579,0	41,0	34,0	1,0	346,0
LVd + B	57,0	98,0	155,0	603,0	52,0	43,0	9,0	293,0
LVd	60,0	3,0	63,0	554,0	37,0	40,0	1,3	368,0

⁽¹⁾ LVAAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com bioossólido.

A razão C/N do bioossólido está em torno de 12 (Tabela 1) e a dos seus AHs em torno de 8,0, indicando que há mais N nas estruturas húmicas quando comparado à matéria orgânica total do solo (ácidos fulvicos, humina, biomassa microbiana, carboidratos, lipídeos).

A incorporação do bioossólido promoveu redução na relação C/N do tratamento LVAAd em superfície e profundidade, enquanto que para o solo LVd a relação permaneceu praticamente constante. Estes resultados sugerem que a mineralização do N foi mais rápida que a do C para o LVAAd, menos argiloso que o LVd. O maior teor de argila no LVd protege a matéria orgânica do rápido decaimento (Stevenson, 1982).

Praticamente não houve mudanças na razão O/C dos AHs dos solos tratados quando comparada aos AHs dos tratamentos testemunha, indicando que não houve redução na quantidade de grupos funcionais oxigenados.

A razão C/H dos AHs do bioossólido é menor que a dos solos, e a adição de bioossólido proporcionou uma discreta redução desta nos solos tratados. Menores

razões C/H ou maiores razões H/C podem indicar predominância de materiais alifáticos e/ou material aromático pouco condensado. A maior razão H/C indica menor grau de humificação dos AHs do biossólido quando comparada aos AHs dos tratamentos testemunha. Tanto os AHs dos solos testemunhas como a matéria orgânica dos solos onde estes foram formados apresentam maior grau de humificação e estabilidade que os AHs e a matéria orgânica do biossólido, como foi observado por Baranciková et al. (1997), em AHs extraídos de diferentes solos.

Tabela 12. Razões C/N, C/H e O/C dos AHs isolados do biossólido e dos tratamentos ⁽¹⁾

Amostra	C/N	C/H	O/C
Biossólido	8,1	0,6	0,4
		<i>Superfície (0-0,25 m)</i>	
LVA _d + B	15,8	0,8	0,3
LVA _d	18,9	1,1	0,4
LV _d + B	15,0	1,0	0,4
LV _d	15,6	1,2	0,5
		<i>Profundidade (0,25-0,50 m)</i>	
LVA _d + B	12,4	0,9	0,4
LVA _d	20,0	1,2	0,5
LV _d + B	16,3	1,0	0,4
LV _d	16,2	1,3	0,5

⁽¹⁾ LVA_d = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV_d = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

Hernandez et al. (1993) encontraram em AHs isolados de biossólido tratado anaerobicamente, teores de C, H, N e S e razões C/N, C/H e O/C muito parecidos com os valores encontrados para o resíduo utilizado neste experimento.

4.4.2 Grupos carboxílicos, fenólicos e acidez total

As substâncias húmicas (SHs) apresentam comportamento ácido que pode ser considerado uma mistura de ácidos fortes (maioria dos carboxílicos) e ácidos fracos (maioria dos fenólicos). O pK_a (pH em que 50% dos grupos apresentam-se desprotonados) destes grupos ácidos está ao redor de pH=4,5 e pH=10, respectivamente (Swift, 1996). Assim, na faixa de pH dos tratamentos testemunha e

tratados (5,8-8,0), maiores quantidades de grupos carboxílicos estariam dissociados, e essa dissociação seria maior nos solos tratados, contribuindo com a retenção de metais pesados.

Os mais importantes grupos funcionais contendo oxigênio nas SHs são os carboxílicos (COOH), fenólicos (OH), álcoois, hidroxilas, carbonilas e metoxilas (Stevenson, 1982), enquanto que nos AHs e AFs são os carboxílicos e os fenólicos, que representam sítios de cargas negativas, o que habilita a matéria orgânica a reter cátions metálicos. Durante o processo de humificação ocorre um aumento dos grupos COOH e redução dos grupos OH. Os dados de titulação potenciométrica para determinação da acidez total, grupos carboxílicos e fenólicos, dos AHs do biossólido e dos tratamentos encontram-se na Tabela 13.

Quanto aos solos testemunha, observa-se que a quantidade de COOH é praticamente igual para o LVAd e LVd, tanto em superfície quanto em profundidade, assim como a quantidade de COOH é maior em profundidade quando comparada à superfície em ambos os casos. Com a adição de biossólido, que apresenta menor quantidade de COOH que os solos, houve uma redução na quantidade de COOH em todos os tratamentos, exceto no tratamento LVd + B em superfície. Essa redução em COOH talvez possa indicar que a adição do resíduo proporcionou aumento da atividade microbiana de forma que até mesmo o carbono presente nestes grupamentos foram oxidados. No solo LVd tratado, em que a mineralização da matéria orgânica é mais lenta, podendo ter ocorrido incorporação de pequena parte destes grupamentos aos AHs nativos do solo.

Outra explicação para a redução na quantidade de COOH dos solos tratados, mesmo com a presença destes nos AHs do resíduo incorporado, seria a baixa reatividade de partes destes grupos que estariam bloqueados pela ligação com íons metálicos (Rosell, 1989), de forma que a saturação com acetato de cálcio e titulação com hidróxido de sódio não foram eficientes para determiná-los. Assim, a quantidade de grupos COOH determinados nos solos tratados podem estar subestimados, pois estariam ligados à cátions metálicos, de forma complexada. A quantidade de COOH determinada (Tabela 13) talvez esteja refletindo sítios de cargas não preenchidos e/ou preenchidos de forma menos estável, que permitem a troca com a solução de acetato de cálcio utilizada.

Baranciková et al. (1997) encontraram quantidades de grupos COOH determinados por ^{13}C NMR muito maiores que as determinadas potenciométricamente, para as mesmas amostras de AHs, e sugerem que estes grupamentos talvez encontrem-se em estruturas internas nos polímeros da molécula e sejam difíceis de determiná-los quimicamente, ou estejam bloqueados em fortes ligações metálicas, de modo que o método químico utilizado não mostrou-se eficiente. A técnica de ^{13}C NMR talvez seja a mais indicada para a determinação dos grupos COOH, principalmente nos casos em que há maior concentração de metais no meio, e, portanto, maiores possibilidades de ligações estáveis destes com tais grupamentos.

Tabela 13. Resultados das análises dos grupos carboxílicos, fenólicos e acidez total dos ácidos húmicos isolados do bioossólido e dos tratamentos ⁽¹⁾. Média de três repetições.

Amostra	COOH	OH fenólico	Acidez Total
	-----mmol _c kg ⁻¹ de AH-----		
Bioossólido	3120	5460	8580
	<i>Superfície (0-0,25 m)</i>		
LVAAd + B	4490	1760	6250
LVAAd	4750	2010	6760
LVd + B	4900	3660	8560
LVd	4760	2950	7710
	<i>Profundidade (0,25-0,50 m)</i>		
LVAAd + B	4310	4650	8900
LVAAd	4940	6580	11.520
LVd + B	3920	6680	10.600
LVd	5000	4020	9020

⁽¹⁾ LVAAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com bioossólido.

A quantidade de grupos fenólicos do bioossólido é maior que a de carboxílicos, e maior que a quantidade de fenólicos dos solos. Para os dois solos e seus tratamentos verifica-se maior quantidade de fenólicos em profundidade, e maior quantidade no LVAAd, menos argiloso, visto que pode estar ocorrendo lixiviação destes grupos para a camada 0,25-0,50 m.

A incorporação de biossólido reduziu a quantidade de fenólicos no tratamento do LVAd e aumentou em LVd, em superfície e profundidade. A maiores valores de pH ocorre uma maior formação de complexos de metais (principalmente com o cálcio) e ácidos fúlvicos, e estes migram com facilidade, como verificado por Brown et al. (1997).

A formação destes complexos pode estar ocorrendo nos dois solos, podendo estar relacionada ao cálcio livixiado durante o período de aplicação do biossólido (Anjos, 1999). Entretanto, no solo menos argiloso (LVAd) a movimentação destes complexos pode estar ocorrendo com maior intensidade, resultando em menores quantidades de grupos fenólicos neste solo. Também, foi verificada maior lixiviação de cálcio no tratamento com o LVAd quando comparado ao LVd. Nota-se, também, que, assim como, quanto à quantidade de carboxílicos, os AHs isolados do LVd mostraram-se mais resistente ao impacto da adição de resíduo de composição diversa como o biossólido, incorporando sempre parte das estruturas dos AHs do resíduo.

A acidez total do biossólido mostrou-se maior que a dos solos em superfície e menor em profundidade, apresentando predominância dos grupos fenólicos. Quanto aos solos, a adição de biossólido aumentou a acidez total no solo LVd, superfície e profundidade, onde foram incorporados grupamentos fenólicos em superfície e profundidade, além de grupamentos COOH em superfície. Nos solos LVAd tratados, a acidez total foi reduzida, por causa da redução até mesmo dos grupos COOH e OH nativos, pela rápida decomposição do material orgânico e maior lixiviação de fenólicos.

A menor quantidade de grupamentos COOH presentes no biossólido e menores razões C/H e O/C, quando comparada aos solos, indicam que as SHs no biossólido são apenas formadas, e os materiais são pouco humificados. A compostagem deste resíduo com materiais vegetais aumentaria a quantidade de grupamentos COOH, reduzir os teores de N e H dos AHs, propiciando a formação de um material mais condensado, oxidado e aromático, e portanto mais estável (Senesi et al.1996).

Resultados semelhantes quanto aos teores de C, H, N, S, O, razões C/N, C/H, O/C e grupamentos carboxílicos, fenólicos e acidez total foram encontrados por diversos autores (Boyd et al., 1980; Sposito et al. 1982; Senesi et al. 1989), para AHs isolados de biossólidos e diversos solos tratados com os resíduos.

A adição de biossólido não proporcionou aumento substancial na CTC dos solos (Tabela 5), como ocorre por ocasião da adição de outros resíduos orgânicos, e esse aumento foi ainda menor no solo LVd quando comparado ao solo LVAd. Isto pode

ser explicado pela adição de maiores quantidades de grupamentos fenólicos provenientes do resíduo, que possuem pK_a acima dos valores de pH apresentados pelos solos, e, que, portanto não estariam contribuindo em termos de cargas elétricas. Apenas os grupos carboxílicos estariam desprotonados e contribuindo com a CTC destes solos. No LVAd tratado houve redução dos grupos COOH e OH, porém a redução dos grupos fenólicos foi maior que a dos carboxílicos. Enquanto que, no solo LVd, houve maior aumento dos grupos fenólicos, que não contribuem, nesta situação, com cargas.

Deve-se considerar, também, que a quantidade de COOH, determinada potenciométricamente, pode estar subestimada, assim como os valores de CTC destes solos, devido à ligação destes grupos com metais pesados, ainda no resíduo, como discutido no Item 4.2.3. No LVd a quantidade de COOH pode estar mais subestimada que no LVAd, visto que o maior teor de argila e óxidos podem favorecer ligações mais estáveis entre metais e os grupos carboxílicos. Dessa forma, em LVd tratado com bio sólido ocorreram os menores aumentos nos valores da CTC quando comparado ao LVAd.

4.4.3 Espectroscopia UV - Vis (razão E4/E6)

Neste estudo verifica-se que a razão E4/E6 dos AHs do bio sólido apresenta-se menor que às dos solos (Tabela 14). O LVd apresenta maior razão E4/E6, tanto em superfície quanto em profundidade, quando comparado ao solo LVAd. A adição de bio sólido reduziu a razão em todos os solos, sendo que a maior redução ocorreu no LVd (superfície e profundidade), em que esta razão foi inicialmente maior.

De acordo com a interpretação de Kononova (1966), os AHs isolados do bio sólido apresentariam maior quantidade de grupos aromáticos quando comparados aos AHs dos solos. Também, originalmente, o LVd apresentaria menor quantidade de grupos aromáticos que o LVAd. Dick (1997) estudando, também, AHs de um solo LV, com razões C/N, H/C e O/C semelhante às deste estudo, encontrou por meio de RMN C^{13} , que os AHs deste solo apresentam baixo grau de aromaticidade e maiores quantidades de estruturas alifáticas, concordando com os dados encontrados para o LVd deste experimento.

Porém, a maior quantidade de grupos aromáticos, não significa que estes estejam condensados e que o grau de humificação seja maior. O processo de humificação é definido como o enriquecimento das SHs em estruturas aromáticas recalcitrantes (condensadas) (Zech et al., 1997). É provável que a razão E4/E6 esteja relacionada à presença de anéis pouco ou muito condensados na molécula e não se relacione com a aromaticidade total da molécula, conforme mostram estudos de Colnago et al. (1997).

Os valores da razão C/H (Tabela 12) são menores para o bioossólido e solos tratados quando comparados aos valores dos tratamentos testemunha, indicando material pouco condensado. Confrontando os resultados obtidos das razões C/H, quantidade de COOH e OH e razão E4/E6, pode-se chegar a um consenso de que os AHs do bioossólido apresentam maiores quantidades de estruturas alifáticas e aromáticas pouco condensadas quando comparado aos AHs dos solos.

Outra interpretação que poderia ser dada à razão E4/E6 seria quanto ao peso molecular e tamanho da molécula (Chen et al. 1977; Christl, 2000). Moléculas menores estariam relacionadas a menores pesos moleculares e ao caráter mais aromático (menor E4/E6). Desta forma, os AHs do bioossólido e do LVAd teriam menores pesos moleculares, e as moléculas seriam menores, enquanto que os AHs do LVd originalmente seria composto de moléculas maiores, com maior peso molecular, menores porcentagens de carbono, H, N, e maior de O (Tabela 11).

Os valores de E4/E6 encontrados para os AHs isolados do bioossólidos e dos tratamentos são diversos dos normalmente encontrados para AHs, que seriam valores < 5. Stevenson (1994) observa que a razão mais comumente encontrada para AHs seria < 5,0, e para AFs essa razão seria >5,0, o que caracterizaria a razão E4/E6 como indicadora do grau de humificação da amostra.

Esta razão é afetada pelo pH e pela concentração de sais da solução, e espera-se que um decréscimo nesta razão com a elevação destes dois fatores (Senesi e Loffredo, 1999). Na determinação da razão E4/E6 foi adotado procedimento (uso de 0,05 mol L⁻¹ de NaHCO₃, pH 8,0) que minimiza estes efeitos, visto que os elevados valores de pH e concentração salina do bioossólido e dos solos tratados (Tabelas 1 e 2) poderiam interferir na determinação.

Tabela 14. Razão E4/E6 e quantidade de spins de ácidos húmicos isolados do bioossólido e dos tratamentos estudados.

Amostra ⁽¹⁾	E ₄ /E ₆	RLU (spins g ⁻¹ x 10 ¹⁷)
Bioossólido	6,9	0,5
<i>Superfície (0-0,25 m)</i>		
LVA _d + B	6,6	1,6
LVA _d	7,7	1,5
LV _d + B	8,0	1,9
LV _d	9,8	1,9
<i>Profundidade (0,25-0,50 m)</i>		
LVA _d + B	7,5	1,4
LVA _d	8,3	1,5
LV _d + B	8,0	1,7
LV _d	10,2	1,6

⁽¹⁾LVA_d = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV_d = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha) e + B refere-se aos mesmos solos tratados com bioossólido.

4.4.4 Radicais livres

Verifica-se que a concentração de radicais livres nos AHs do bioossólido é de aproximadamente 1/3 daquela apresentada pelos solos LVA_d e LV_d, tanto em superfície quanto em profundidade (Tabela 14). Riffaldi & Schnitzer (1972) afirmam que os radicais semiquinonas são formados a partir da remoção de H dos grupos OH dos fenóis e, que, portanto, quanto maior a concentração de fenóis no material de origem maior a concentração de spins nos AHs formados a partir deles. Desta forma, verifica-se que o bioossólido apresenta quantidades baixas de fenóis quando comparados à matéria orgânica original dos solos estudados.

Entre os solos, verifica-se uma maior concentração de radicais livres no LV_d, principalmente em superfície. Davies et al. (1964) relatam que condições de distrofismos, e a presença de alumínio (LV_d apresenta maiores teores de óxidos de Fe e Al) podem influenciar mecanismos fisiológicos de produção de polifenóis, como taninos e flavonóides, alterando a composição da matéria orgânica nestes solos.

A incorporação de bioossólidos praticamente não alterou a concentração de radicais livres nos solos tratados. Senesi et al. (1989) encontraram redução de até

metade na concentração de radicais livres de solo tratado com quantidades sucessivas e progressivas de bio sólido, quando comparada ao tratamento testemunha. Entretanto, Marques et al. (1997) observaram comportamento contrário para concentração de radicais livres em AHs isolados de um LV, isto é, a aplicação de bio sólido aumentou a concentração de radicais livres de $6,96 \times 10^{17}$ spins g^{-1} no LV testemunha para $1,4 \times 10^{18}$ spins g^{-1} no mesmo solo tratado com bio sólido.

Senesi & Loffredo (1999) relacionam maiores concentrações de spins nas SHs a menores porcentagens de H, baixas razões H/C e O/C, altas quantidades de fenólicos, alta razão E4/E6, intensas absorções de IR devido a estruturas aromáticas, evidenciando que a concentração de radicais livres nas SHs está diretamente relacionada à coloração escura, ao grau de aromaticidade, peso molecular e complexidade das moléculas. Relacionando estas características, verifica-se que neste estudo, os AHs do bio sólido e do LVAd possuem maiores % de H e menores concentrações de spins que os do LVd. O bio sólido, também, apresenta alta razão H/C e menor relação E4/E6 quando comparado ao LVd, por exemplo, refletindo em menor concentração de spins. Apenas a quantidade de grupos fenólicos não reflete maiores concentrações de spins para o bio sólido. Desta forma, nem todas as características relacionadas pelos autores refletem na menor concentração de spins encontrada nos AHs do bio sólido utilizado neste estudo.

Riffaldi & Schnitzer (1972) indicam correlações entre maior concentração de radicais livres, baixas razões H/C e aromaticidade medida por RMN. Como os AHs do bio sólido apresentam razão H/C maior que as dos solos, isto confirmaria sua menor concentração em radicais livres e possivelmente o menor grau de condensação dos compostos aromáticos dos AHs dele isolados. O processo de digestão anaeróbica do resíduo, proporciona maior mineralização de estruturas alifáticas e resta o material mais recalcitrante à decomposição, mais aromático, como confirmado pela razão E4/E6, porém este material ainda não se apresenta muito condensado (alta H/C e menor quantidade no número de spins).

Martin Neto et al. (2000) encontraram altas concentrações de radicais semiquinonas, detectados por EPR, correlacionando com menores valores de razão C/N da fração orgânica avaliada, e associa estas características ao maior grau de humificação do AH. Isto, pode também, ser confirmado pela menor relação C/N, maior razão H/C (Tabela 12), menor quantidade de spins do bio sólido (Tabela 14), e

menores quantidades de COOH (Tabela 13), no bioossólido e solos tratados quando confrontados com os tratamentos testemunha.

Ao incorporar o resíduo ao solo, verifica-se que para o LVd em superfície não ocorreram mudanças, e em profundidade houve diminuição da razão C/N e aumento nas concentrações de radicais livres, ou seja, o efeito da adição do resíduo sobre a humificação dos AHs deste solo foi positivo em profundidade, e manteve-se constante em superfície.

Entretanto, para o LVAd, o impacto da adição do bioossólido sobre o grau de humificação foi maior, isto é, em superfície houve aumento da razão C/N e pequeno aumento na quantidade de radicais livres, e em profundidade, houve redução de C/N, mas também de radicais livres, indicando menores graus de humificação.

Provavelmente, os maiores teores de argila e óxidos de ferro do LVd, associados à menor mineralização da matéria orgânica, restringe mudanças significativas no grau de humificação dos AHs, com a incorporação de um resíduo com baixo grau de humificação como o bioossólido.

4.4.5 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier - FTIR

Os espectros na região do infravermelho obtidos para os AHs isolados do bioossólido e dos tratamentos LVAd e LVd, encontram-se nas Figuras 12 e 13, respectivamente. A Tabela 15 mostra as regiões observadas, a descrição das bandas e as referências bibliográficas.

Comparando os espectros entre os solos verifica-se que as feições são similares, com picos de algumas regiões variando em intensidade e com algumas variações nas frequências de absorvância. Confrontando os picos do bioossólido e dos solos verifica-se a mesma tendência, porém algumas regiões são diversas para estes materiais.

Pode-se verificar que a banda em 3750 cm^{-1} aparece em todos os espectros, com mesma intensidade para o bioossólido e os tratamentos de LVAd e LVd. Benites (1998) verificou a redução de picos nesta banda após a purificação dos AHs. Russel (1987) descreve estes picos como estiramento e deformações de ligações O-H e Si-O em minerais secundários. Essa banda não interfere nas demais, e está reduzida

quando comparada com as de AHs não purificados (Benites, 1998), revelando que a purificação dos AHs deste experimento foi eficiente.

Em uma região de alta frequência, ao redor de 3428 cm^{-1} , verifica-se uma banda larga, comum em AHs, que se refere a estiramento de O-H de H ligados a grupos OH, e nota-se que no bioossólido e nos solos tratados esta apresenta-se mais pronunciada. No bioossólido esta banda está a 3428 cm^{-1} , enquanto que nos solos está a 3436 cm^{-1} . Piccolo & Stevenson (1982) observaram o mesmo comportamento com a adição em doses crescentes de metais a AHs e AFs, e por meio da retirada da água das pastilhas de KBr aquecidas a 100°C durante 24 horas, confirmaram a formação de complexos, principalmente com o Cu, e com a participação de moléculas de água (complexos de esfera externa). Este fato confirma que grupos OH de fenólicos e/ou álcoois também participam juntamente com os grupos carboxílicos da complexação de metais.

A 3072 cm^{-1} aparece uma banda correspondente ao estiramento C-H aromático, é pequena no bioossólido e tratamentos testemunha e aumenta com a adição do bioossólido, refletindo pequena contribuição em componentes aromáticos com a incorporação de bioossólido.

A banda dos alifáticos ocorre em $2920\text{-}2928\text{ cm}^{-1}$ e em $2850\text{-}2855\text{ cm}^{-1}$ para estiramento assimétrico e simétrico, respectivamente, de C-H alifático. Analisando as Figuras 12 e 13, nota-se que estas bandas são mais intensas nos solos tratados com bioossólido, e mais no LVAd que no LVd. No tratamento LVAd + B em superfície, estas bandas apresentaram-se muito pronunciadas, e no bioossólido a intensidade destes picos foi intermediária entre os tratamentos testemunha e os solos tratados. A adição de bioossólido representa, portanto, uma contribuição em compostos alifáticos aos AHs do LVA, em superfície.

Uma pequena banda ocorre na faixa de absorção de $2500\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$, correspondente a estiramento axial de OH de grupo carboxílico, sendo pouco intensa no bioossólido. Nos AHs dos tratamentos testemunha apresenta-se mais intensa e bem definida, especialmente no LVd superfície e profundidade, enquanto que nos solos tratados é subdividida em 2658 e $2589\text{-}90\text{ cm}^{-1}$, indicando mudanças com a adição do bioossólido. Apenas para o bioossólido há uma banda a 2104 cm^{-1} , que se refere a estiramento de NH^+ de vários grupos amoniacais, indicando a incorporação de aminoácidos e peptídeos via bioossólido.

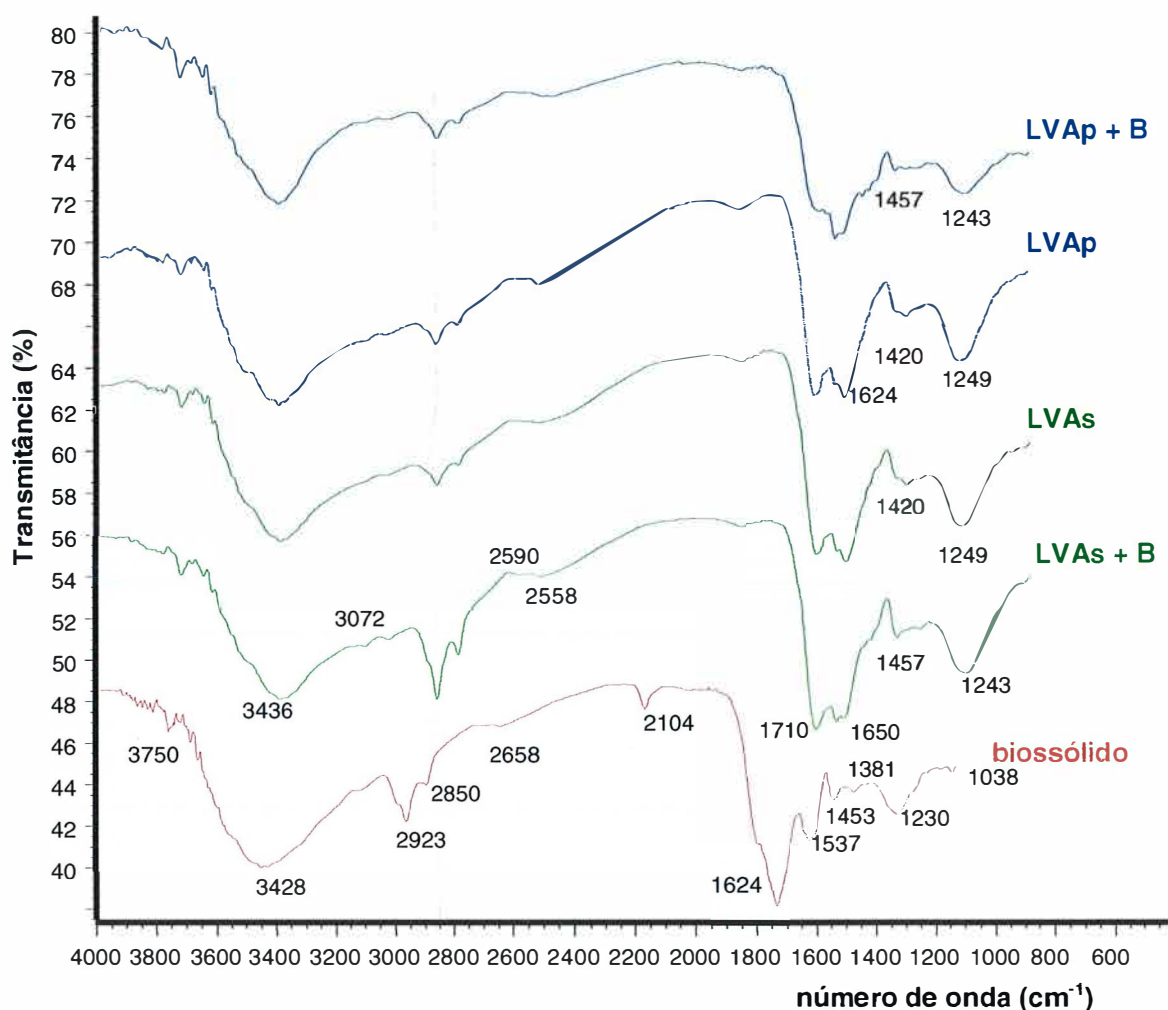


Figura 12 - Espectros FT-IR dos ácidos húmicos isolados do biossólido e dos tratamentos do Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVAd).
s = 0 - 0,25 m; p = 0,25 - 0,50 m, e + B = adição de biossólido

A 1710 cm^{-1} , verifica-se a presença da banda correspondente a estiramento C=O de COOH, aldeídos e cetonas, apenas para os solos. Sua intensidade é ligeiramente mais pronunciada nos solos tratados com biossólido, principalmente em superfície (Figura 12). O biossólido não apresentou absorção nesta banda. Piccolo & Stevenson (1982) observaram que não houve redução desta banda quando o pH foi aumentado de cinco para dez, como era de se esperar, visto a maior desprotonação destes grupos a maiores valores de pH, sugerindo incompleta ionização dos grupos COOH mesmo a

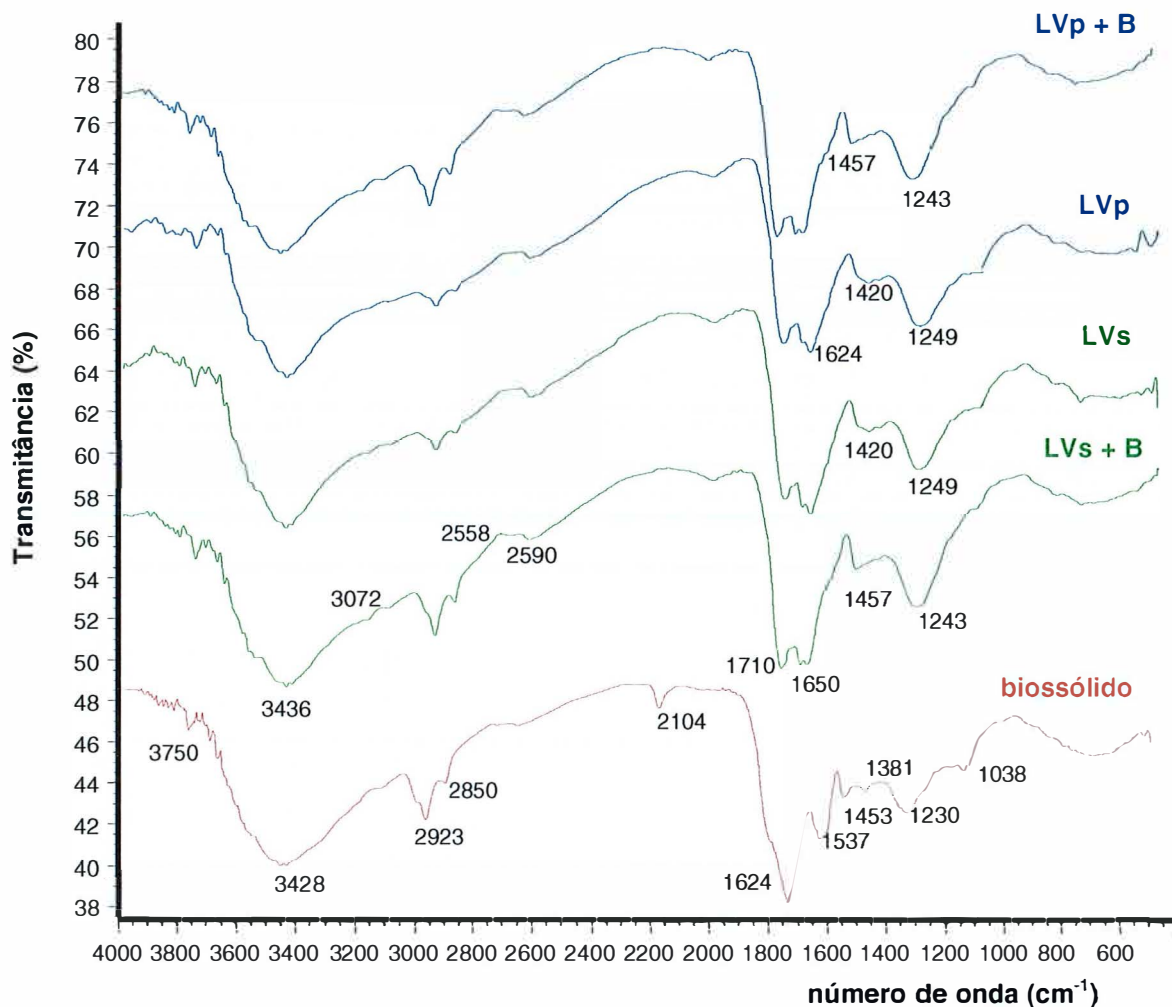


Figura 13 - Espectros FT-IR dos ácidos húmicos isolados do biossólido e dos tratamentos do Latossolo Vermelho Distrófico (LVd).

s = 0 - 0,25 m; p = 0,25 - 0,50 m, e + B = adição de biossólido

elevados valores pH. O desaparecimento desta banda estaria relacionado à formação de complexos de COOH com metais. Aparentemente, nem todos os grupos COOH estariam reagindo com metais, mas deve-se considerar que a grande concentração de metais e outros cátions que competem pelos sítios de adsorção, podem estar mascarando os sítios complexados. No entanto, a presença pronunciada de bandas representando a dissociação do íon COOH nos solos tratados e no resíduo, confirma que a dissociação ocorre e há formação de complexos com metais.

Tabela 15. Bandas de absorção observadas nas amostras de AHs isolados do bioossólido e dos tratamentos de LVAd e LVd.

Frequência (cm⁻¹)	Descrição	Referência
3750-3400 (3750)*	Estiramento e deformação de O-H e Si-O em minerais secundários	Russel (1987)
3450-3300 (3428)	Estiramento de O-H de H ligados inter e entre moléculas	Senesi & Loffredo (1999)
3080-3030 (3072-3080)	Estiramento C-H aromático	Senesi & Loffredo (1999)
2920-2928 (2923)	Estiramento assimétrico de C-H alifático	Senesi & Loffredo (1999)
2850-2855 (2851/4)	Estiramento simétrico de C-H alifático	Senesi & Loffredo (1999)
2500-2600 (2578-2598)	Estiramento axial de OH em grupo carboxílico	Baes & Bloom (1989)
2104	Estiramento de NH ⁺ de vários grupos contendo nitrogênio	Senesi & Loffredo (1999)
1725-1710 (1710)	Estiramento C=O de COOH, aldeídos e cetonas	Senesi & Loffredo (1999)
1660-1630 (1650)	Estiramento assimétrico de COO ⁻	Stevenson (1994)
1620-1600 (1624)	Estiramento C=O aromático, estiramento simétrico COO ⁻	Stevenson (1994)
1540-1510 (1537)	Deformação N-H e estiramento C=N (amida II), estiramento C=C aromático	Senesi & Loffredo (1999)
1460-1440 (1453/1420)	Deformação C-H alifática	Senesi & Loffredo (1999)
1400-1380 (1381)	Deformação OH e estiramento de fenóis OH, deformações de grupos CH ₂ e CH ₃ , e estiramento antisimétrico de COO ⁻	Senesi & Loffredo (1999)
1260-1200 (1243/1230)	Estiramento C-O e deformação OH de COOH, estiramento C-O de aril éteres e fenóis	Senesi & Loffredo (1999)
1080-1030 (1038)	Estiramento C-O de polissacarídeos.	Senesi & Loffredo (1999)

(*)* banda apresentada no espectro

O biossólido apresenta banda intensa a 1624 cm^{-1} que representa vibração de estrutura de $\text{C}=\text{C}$ aromático, indicando forte presença de estruturas aromáticas no resíduo. A 1537 cm^{-1} , há uma banda presente também apenas no biossólido, referente à deformação de N-H , banda amida II, refletindo novamente a presença de proteínas e peptídeos no resíduo. Giusquiani et al. (1994) relaciona este pico amida II em biossólidos, a maiores quantidades de N e S e a baixa razão C/N, e a menor concentração de radicais livres.

Uma banda a 1650 cm^{-1} aparece apenas nos solos tratados, quase desaparecendo nos tratamentos testemunha, e refere-se ao estiramento assimétrico de íons carboxilatos (COO^-). Diversos autores sugerem que na presença de metais pesados, uma quantidade dos grupamentos COOH (banda a 1710 cm^{-1}) transforma-se em COO^- , indicando a formação de complexos, e em especial com o Cu. A 1624 cm^{-1} há uma banda nos tratamentos testemunha, quase desaparecendo nos solos tratados, e referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ aromático e estiramento simétrico COO^- .

Senesi (1992) e Stevenson (1994) observam que na região de 1720 cm^{-1} encontram-se as informações e evidências da formação de complexos de metais com as SHs, principalmente o Cu. Com a retenção de metais, a banda a 1710 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ de COOH) tende a diminuir e/ou desaparecer e surgem novas bandas a freqüências de 1600 e 1380 cm^{-1} , para o íon carboxilato, COO^- simétrico e assimétrico, respectivamente. Os solos deste experimento apresentam a banda 1710 cm^{-1} e há surgimento das bandas a 1650 cm^{-1} , e a 1624 cm^{-1} . Essa mudança de absorção de 1600 para 1650 cm^{-1} para estiramento assimétrico, representa a formação de complexos com metais através de ligações covalentes, e é mais evidente nos solos tratados com biossólido. Baes & Bloom (1989) usando FT-IR com reflectância difusa encontraram que a freqüência em 1600 cm^{-1} de estiramento COO^- mudou para 1624 cm^{-1} , indicando a formação de complexos Cu-humato. Nos tratamentos testemunha, a banda a 1624 cm^{-1} é mais evidente e a banda a 1650 cm^{-1} é ainda insipiente.

Dessa forma, talvez seja possível definir a formação de complexos mais estáveis (ligações coordenadas) de metais com íons carboxílicos para os solos tratados com biossólido e nos solos testemunhas uma maior predominância de metais ligados na forma iônica.

Os tratamentos testemunha apresentam uma banda a 1420 cm^{-1} , que passa para $1450\text{-}53\text{ cm}^{-1}$ nos solos tratados e no bio sólido, correspondente a deformação OH e estiramento C-O dos grupos fenólicos.

Outra posição que aparece somente no bio sólido é a de 1381 cm^{-1} , referente ao estiramento assimétrico de COO^- e deformações de CH de grupos CH_2 e CH_3 .

A banda de 1249 cm^{-1} que aparece nos tratamentos testemunha muda para a posição 1243 cm^{-1} nos solos tratados, e para 1230 cm^{-1} no bio sólido, e corresponde a estiramento C-O e deformação de OH de COOH.

A presença de polissacarídeos no bio sólido é notada pela banda a 1038 cm^{-1} , referente a estiramento C-O. Nos solos esta banda quase desaparece, sendo mais pronunciada apenas no LVAd tratado e testemunha, e em profundidade.

Após um ano e meio da última aplicação de bio sólido aos solos, pode-se verificar algumas diferenças na intensidade de alguns picos entre os tratamentos testemunha e solos tratados. As bandas a 3072 e 2923 e 2854 , referentes ao C-H aromático e alifático apresentam-se mais intensas após o tratamento com bio sólido, indicando a incorporação de componentes aromáticos e alifáticos aos solos. Nota-se que a intensidade da banda aromática é maior que a da banda alifática no bio sólido e esta característica tornou-se presente nos solos tratados, confirmando os resultados da razão E4/E6. A intensa banda a 1624 cm^{-1} representando vibração de estrutura de C=C aromática, confirma a natureza mais aromática dos AHs isolados do resíduo, porém a razões C/N, H/C e as menores quantidades de COOH e spins, indicam que estas estruturas são pouco condensadas e o material ainda pouco humificado.

Algumas mudanças foram verificadas nas frequências das bandas 2590 ; 1420 e 1249 cm^{-1} dos solos tratados quando comparadas aos solos testemunhas. Próximo à absorção a 2590 , houve o aparecimento de uma absorção 2657 cm^{-1} nos solos tratados. A banda a 1420 passou 1456 e a 1249 desceu para 1230 nos solos tratados, indicando absorções sempre mais próximas às encontradas no resíduo.

Nos solos tratados verifica-se maior intensidade de absorção a 1650 cm^{-1} e nos tratamentos testemunha maior intensidade da banda a $1624\text{ }1650\text{ cm}^{-1}$, provavelmente indicando diferentes formas de retenção de metais ao íon COO^- .

Quanto às diferenças entre os solos e bio sólido verifica-se, além de absorções significativas em faixas indicando C=C aromático, a presença de bandas características de proteínas e peptídeos (2140 e 1537 cm^{-1}) confirmando os dados da

análise elementar e da menor relação C/N do bioossólido. Também, a presença de polissacarídeos pode ser destacada na absorção a 1038 cm^{-1} , apenas para o bioossólido. Senesi et al. (1989), Hernandez et al. (1993) e Giusquiani et al. (1994) encontraram essas mesmas absorções para bioossólidos de diferentes origens, e Hernandez (1993) sugerem que estes peptídeos são resultantes das bactérias que participaram dos processos de decomposição do resíduo, e dos polissacarídeos que estariam presentes dentro de suas células.

Os radicais carboxílicos e fenólicos, no bioossólido, apresentam-se em várias absorções ($3428, 2500\text{-}2600, 1710, 1650, 1624, 1420, 1230\text{ cm}^{-1}$), presentes de forma alifática ($2923; 2854; 1453\text{ cm}^{-1}$) ou aromática ($3072; 1624; \text{cm}^{-1}$), predominando as estruturas aromáticas. A dissociação dos grupos carboxílicos ($\text{pH}_a \approx 4,5$) pode ser verificada no bioossólido e principalmente nos solos tratados (pH entre 7,0 e 8,0), pela presença de íons COO^- em diferentes absorções, indicando sítios adsorvedores de metais.

4.4.6 Espectroscopia de fluorescência

4.4.6.1 Espectroscopia de fluorescência – ácidos fúlvicos

A Tabela 16 traz o comprimento de onda de máxima emissão e a relativa intensidade de fluorescência para os AHs e AFs isolados dos tratamentos e do bioossólido, e as Figuras de 14 e 15 mostram os espectros de emissão, excitação e excitação com varredura sincronizada para os AFs. As Figuras 16 e 17 mostram as imagens em 3D, ou seja, espectros de luminescência total dos AFs (emissão, excitação e intensidade), com a localização do grupo fluoróforo característico.

4.4.6.1.1 Espectros de emissão

Os espectros de emissão sempre apresentam uma única banda larga (Figuras 14 e 15). Nota-se que o máximo comprimento de onda de emissão para o AH do bioossólido é sempre menor que para todos os solos, enquanto que para os AFs é similar e em alguns casos maior (Tabela 16), porém em ambos os casos a intensidade relativa de fluorescência para o bioossólido é sempre menor. A principal diferença entre

os espectros de emissão de AHs e AFs é que os AHs apresentam espectros com altos valores de λ emissão (Ver Figuras 17 e 19, e 18, 20) e baixos valores de intensidade. O fenômeno de fluorescência a altos comprimentos de onda como os apresentados pelos AHs e AFs dos tratamentos, é típico das substâncias húmicas terrestres, com unidades aromáticas policondensadas, substituições aromáticas, com grupos doadores de elétrons e/ou conjugados, sistemas insaturados, capazes de alto grau de ressonância (Miano et al., 1988; Ewald et al., 1988; Miano et al., 1990; Zsolnay et al., 1999).

A emissão máxima para os AFs do bioossólido, e solos foi na faixa de 466-480 nm (Figura 14), revelando a mesma natureza dos grupos fluoróforos detectados. Quanto à intensidade relativa de fluorescência (I.R.F.), verifica-se que para todos os solos houve aumento com a adição de bioossólido, exceto para o LVd. Isto indica que a adição de bioossólido aumentou a quantidade dos grupos fluoróforos desta faixa de emissão para o tratamento LVAd superfície e profundidade e LVd profundidade. A redução da I.R.F. em LVd tratado, talvez indique a complexação de metais com os fluoróforos, visto que a presença de metais paramagnéticos aumenta os processos não radiativos que competem com a fluorescência.

Porém, mesmo com a redução na I.R.F. no caso do LVd tratado, nota-se que os AFs do LVd fluorescem mais que os do LVAd. A I.R.F., como pode ser verificada nas Figuras 16 e 17 pelo espaçamento entre as linhas que formam os espectros de emissão e excitação. Verifica-se que para o bioossólido e tratamentos do LVAd as linhas estão mais distanciadas que para tratamentos do solo LVd, indicando menor I.R.F.

Christl et al. (2000) observaram acréscimo no comprimento de onda de máxima emissão e excitação com a redução do peso molecular de frações de ácidos húmicos e fúlvicos, obtidas por ultrafiltração. Dessa forma, os menores comprimentos de onda e maiores intensidades de fluorescência dos AFs quando comparado aos AHs, estavam sempre relacionados à presença de moléculas de maior peso molecular, com pequeno grau de policondensação, pequena quantidade de cromóforos conjugados e a presença de substituintes doadores de elétrons.

Dessa forma, os menores comprimentos de onda de emissão observados nos AFs do LVAd, após a adição de bioossólido, indicam a incorporação de moléculas com menor peso molecular e menor grau de aromaticidade aos AFs nativos, apesar do bioossólido apresentar λ emissão igual ao dos solos testemunha. Os autores sugerem

que espectros de fluorescência nos modos de emissão e excitação, portanto, trazem informações mais precisas sobre o grau de condensação dos anéis aromáticos do que os estudos de ^{13}C RMN, que verificam apenas a porcentagem de carbono aromático.

Tabela 16. Comprimento de onda da máxima emissão e intensidade relativa de fluorescência (I.R.F.) dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos isolados do bio sólido e dos tratamentos dos solos estudados.

Tratamento ⁽¹⁾	$\lambda_{em} - \text{AH}$ (nm)	I.R.F - AH	$\lambda_{em} - \text{AF}$ (nm)	I.R.F - AF
Bio sólido	461	158	480	186
		<i>Superfície (0-0,25 m)</i>		
LVA d + B	548	239	467	450
LVA d	549	284	479	384
LV d + B	542	333	466	735
LV d	548	411	466	824
		<i>Profundidade (0,25- 0,50 m)</i>		
LVA d + B	547	335	466	423
LVA d	547	293	479	369
LV d + B	546	287	479	691
LV d	546	310	479	679

⁽¹⁾LVA d = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV d = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com bio sólido.

Senesi (1990) relata dois possíveis mecanismos de adsorção de Cu aos AFs, em função do pH e da razão metal/AF: a neutralização de cargas onde ocorre transferência de energia de anéis fenólicos para o Cu, provavelmente adsorvido por ligações eletrostáticas, e a reação protolítica, que resulta na complexação do metal. Aumentando a razão Cu/AF para 0,6, o autor verificou a redução de 60% da intensidade de fluorescência e rápida redução do pH, sugerindo a ocorrência de reações protolíticas e processo de complexação do metal aos AFs. Aumentando a razão de 0,6 para 1,1, houve um lento aumento de pH e a intensidade de fluorescência permaneceu constante, indicando predomínio de processos de neutralização de carga e de adsorção por mecanismos eletrostáticos. Desta forma, nos tratamentos onde a I.R.F. manteve-se constante ou aumentou, talvez seja possível sugerir a predominância de mecanismos de complexação do metal ao AF, e no LV d + B, onde

houve redução da I.R.F., talvez haja um predomínio de adsorção eletrostática de metais. Cabe ressaltar que o Cu forma complexos fortes com os AFs, e que tanto o Fe como o Al podem competir com o Cu pelos sítios de adsorção nos AFs, e reduzir a I.R.F.

Zsolnay et al. (1999) relatam que a localização do espectro de emissão pode indicar o grau de humificação da substância analisada, visto que mudanças no espectro para maiores comprimentos de onda são resultantes de maior condensação de moléculas aromáticas, fato este confirmado pela razão H/C. Os autores desenvolveram um índice de humificação baseado na razão: área do banda no máximo λ emissão (435-480nm) e área no menor comprimento de emissão (300-445 nm), isto quando o comprimento de onda de excitação foi de 254 nm. O comprimento de onda de excitação utilizado neste experimento foi de 360 nm, e foi observado um único pico na faixa de 467-480, de modo que não foi possível utilizar esta relação.

Outros autores (Miano et al., 1990; Yang et al. 1994; Baranciková et al. 1997; e Miano et al., 1990), também observaram mudanças para comprimentos de onda próximos ao vermelho, indicam maior grau de humificação da molécula. Observa-se que a adição de biossólido não proporcionou aumento no comprimento de onda de emissão nem dos AHs nem dos AFs (Tabela 16). Ao contrário, o comprimento de onda de emissão foi reduzido nos AHs no tratamento LVd + B – superfície, e nos AFs no tratamento LVAd + B superfície e profundidade, indicando redução no grau de humificação nestes casos. Nos demais casos, o comprimento de onda manteve-se constante, não alterando aparentemente a humificação das SHs analisadas.

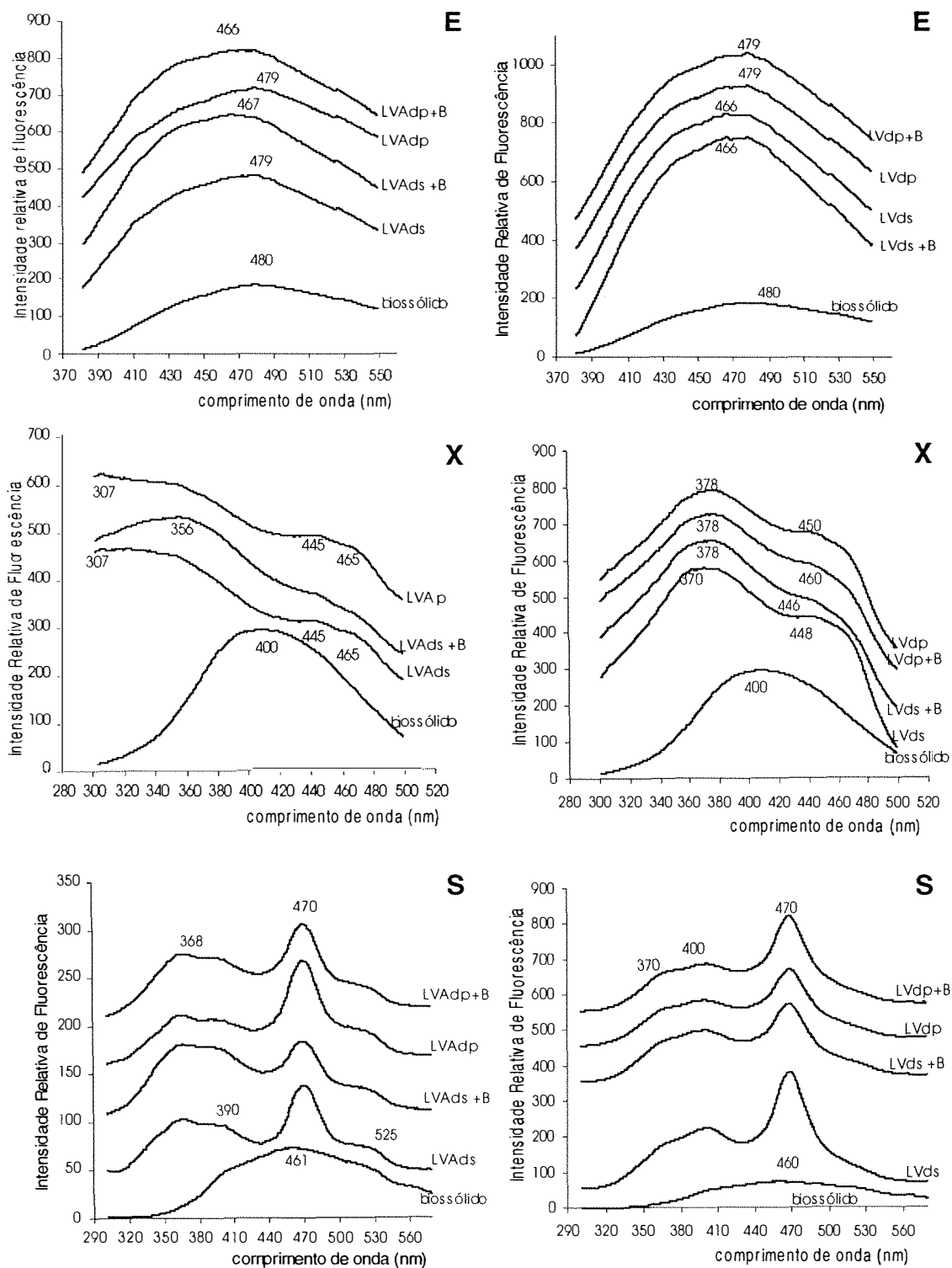


Figura 14 - Espectros de fluorescência de ácidos fúlvicos isolados do biossólido e dos solos estudados. s = 0-0,25 m; p = 0,25-0,50 m, e + B = adição de biossólido. E = emissão; X = excitação; S = varredura sincronizada.

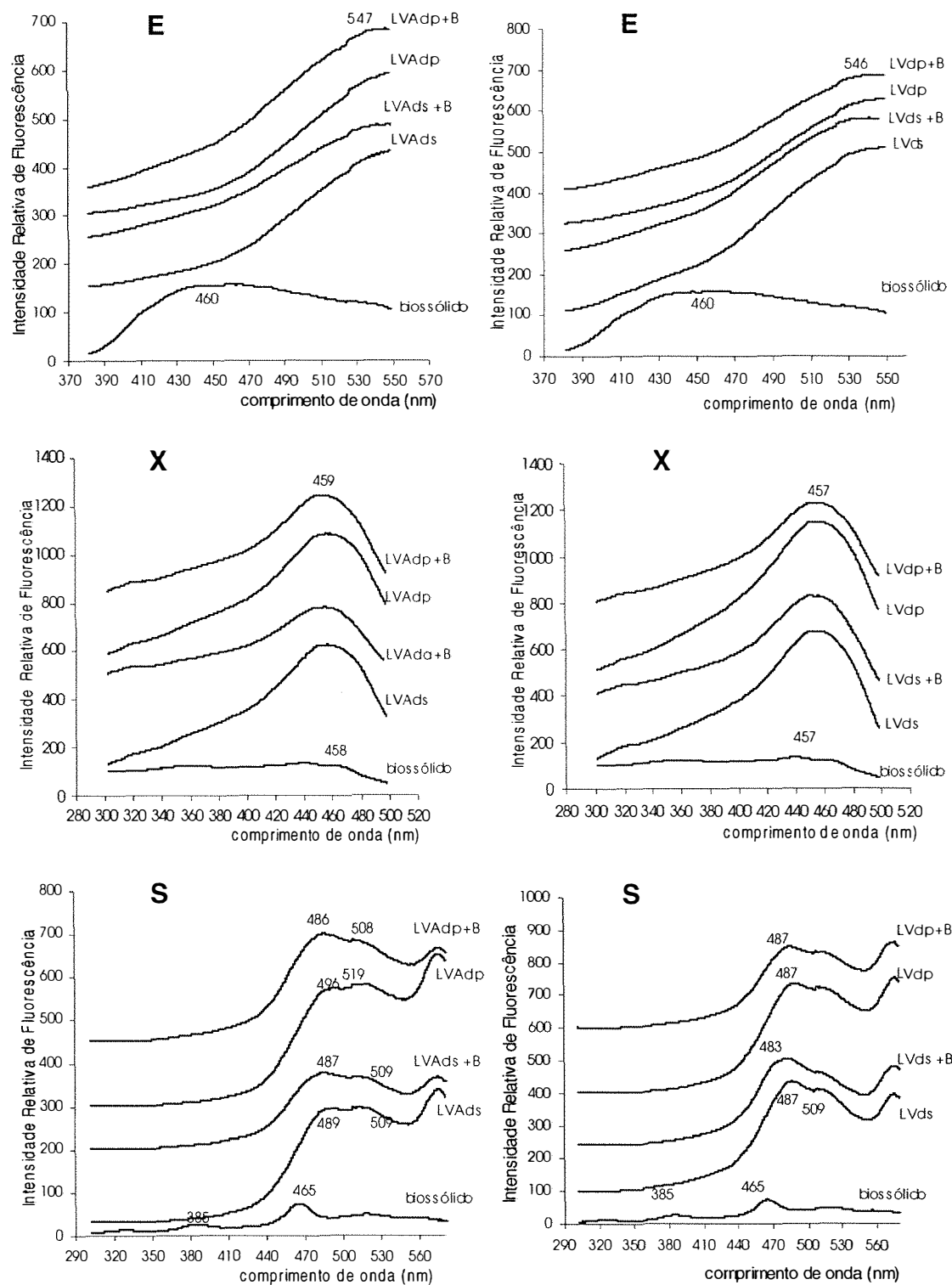


Figura 15 - Espectros de fluorescência de ácidos húmicos isolados do biofertilizante e dos solos estudados. s = 0-0,25 m; p = 0,25-0,50 m, e + B = adição de biofertilizante. E = emissão; X = excitação; S = varredura sincronizada.

4.4.6.1.2 Espectros de excitação

Os espectros de excitação das SHs apresentam, geralmente, maior resolução que os de emissão, e são caracterizados por um maior número de picos ou bandas.

De acordo com as Figuras 14 e 15, verifica-se que estes picos encontram-se em duas regiões de comprimento de onda: para o LVAd, curto (307 nm) e longo (445 e 465 nm); e para o LVd, longo (446-460 nm) e intermediário (370-378 nm). O biossólido apresentou pico de máxima excitação em uma região intermediária (400nm), com I.R.F. de 296, menor que a dos solos. O LVd apresentou maiores I.R.F. que o solo LVAd, como nos espectros de emissão. A intensidade máxima de fluorescência, ocorre tanto para os AFs do biossólido como para os dos solos em regiões de baixo e intermediário comprimento de onda, o que os diferencia dos AHs.

O pico de máxima excitação para LVAd testemunha foi próximo a 300 nm, enquanto que para o solo tratado a maior excitação ocorreu próximo a 356 nm, (Figura 17), indicando mudança nos principais grupos de fluoróforos com a adição do biossólido. O mesmo não foi verificado para o LVd. Ghosh & Schnitzer (1981) verificaram aumento no comprimento de onda do pico característico de excitação de AFs com a adição de Cu ou Fe a Podzóis, indicando que os grupos fluoróforos dos AF estão interagindo com metais.

4.4.6.1.3 Espectro de excitação com varredura sincronizada

Os espectros de varredura sincronizada de AFs do solo, geralmente apresentam uma banda larga bem definida a 470 nm e bandas menores de ambos os lados (Figuras 14 e 15), enquanto que os do biossólido não são bem definidos, e apresentam maior I.R.F. a valor menor de λ (461 nm).

Verifica-se que a adição do biossólido reduziu a máxima I.R.F. para os tratamentos LVAd + B em superfície e profundidade, enquanto que para o solo LVd notamos em superfície uma redução da intensidade e em profundidade aumento, quando comparado aos tratamentos testemunha. Apenas em superfície, a adição de biossólido afetou a intensidade de fluorescência dos grupos do AF do solo LVd. Como para os espectros de emissão e excitação, o solo LVd apresentou em todas as situações maior I.R.F. que o LVAd, e este último maior valor que o biossólido.

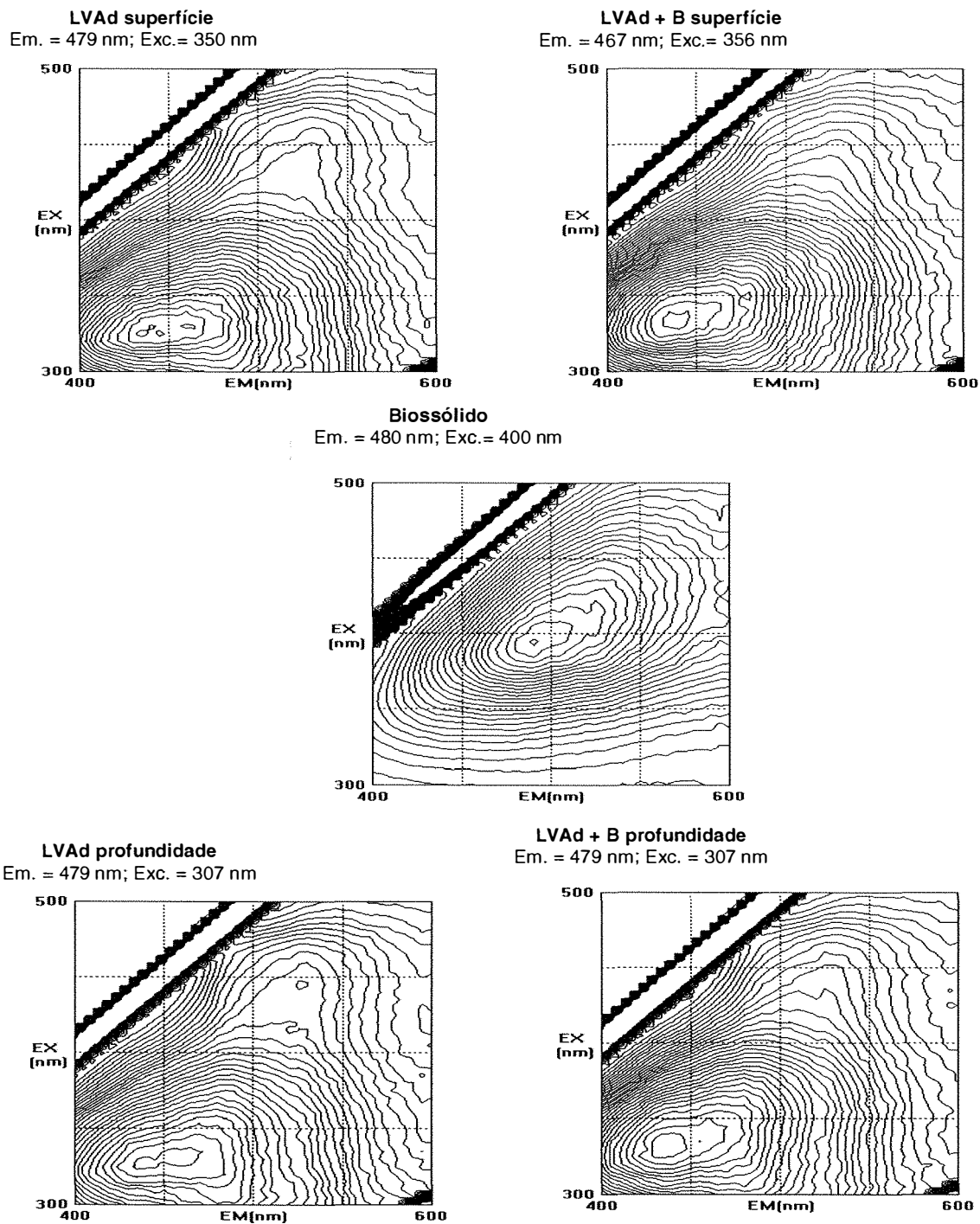


Figura 16 - Espectros 3D de fluorescência de ácidos fúlvicos isolados do biossólido e do Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVAd). + B = com adição de biossólido; Em. = emissão; Exc = Excitação.

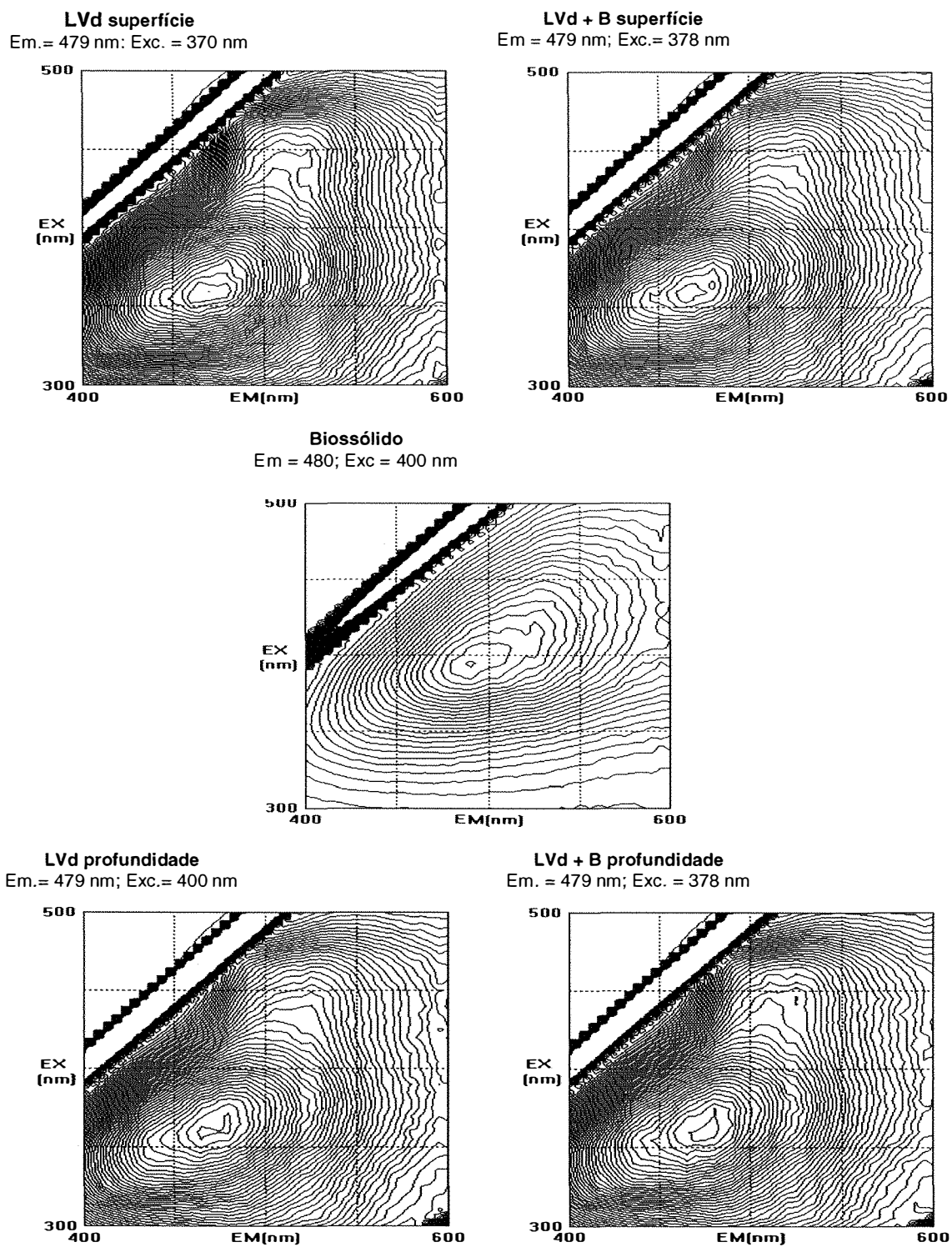


Figura 17 - Espectros 3D de fluorescência de ácidos fúlvicos isolados do biossólido e do Latossolo Vermelho Distrófico (LVd). + B = adição de biossólido; Em. = emissão; Exc. = excitação

Tanto os espectros de AFs do LVAd quanto os do LVd apresentaram uma banda principal a 470 nm. O solo LVAd apresentou pequenas bandas a 368, 390 e 525 nm, enquanto que o LVd apresentou apenas bandas à esquerda do pico de 470 nm (370 e 400 nm) para todos os tratamentos.

Kalbitz et al. (2000) relatam que bandas ao redor de 360 e 400 nm e uma espala a 470 nm são comuns nos espectros de excitação com varredura sincronizada de AFs, e que mudanças na máxima intensidade de fluorescência de menor para maior comprimento de onda podem estar associadas a um aumento no número de núcleos aromáticos altamente substituídos. Nota-se que os espectros scan síncrono dos AFs isolados dos tratamentos dos dois solos não mudaram as bandas de absorção. A adição de biossólido não modificou os comprimentos de onda para maiores valores nos modos de emissão, excitação e síncrono, não indicando aumento de aromaticidade dos mesmos após os tratamentos. Apenas a I.R.F foi aumentada com a adição do biossólido, exceto para o tratamento LVd + B, em superfície, indicando acréscimo de grupos fluorescentes semelhantes aos já encontrados nos AFs do solo.

Os espectros de fluorescência em modo excitação scan síncrono permitem uma melhor resolução dos picos que os convencionais modos de emissão e excitação, fornecendo melhores parâmetros para uma identificação das estruturas moleculares responsáveis pela fluorescência (fluoróforos). Na literatura encontram-se tabelas de identificação de componentes puros, que provavelmente fazem parte da estrutura das SHs, onde é possível identificá-los pelo λ de emissão e excitação máximo. Porém, o espectro observado é provavelmente a soma de diferentes fluoróforos presentes na molécula, em virtude dessa heterogeneidade e complexidade molecular das SHs, é difícil identificar com precisão os mais relevantes componentes estruturais e funcionais.

Porém, as maiores intensidades de fluorescência e menores comprimentos de ondas dos AFs do solo quando comparados aos AHs (Figuras 16, 17, 18, 19), indicam a presença de compostos com baixo peso molecular, a presença de doadores de elétrons, além de um menor grau de condensação aromática e de cromóforos conjugados (Senesi & Loffredo, 1999).

4.4.6.2 Espectroscopia de fluorescência – ácidos húmicos

4.4.6.2.1 Espectros de emissão

A Figura 15 mostra os espectros de fluorescência dos ácidos húmicos isolados do bio sólido e dos tratamentos dos solos estudados, nos modos emissão, excitação e varredura sincronizada.

Os espectros de emissão dos AHs são bem simples quando comparados aos dos AFs, e apresentam para os solos, um pico máximo a um maior λ , porém com I.R.F. menor, isto é florescem menos que os AFs (Senesi 1990; Senesi et al., 1991; Senesi et al., 1996; Senesi & Loffredo, 1999).

Para os AHs do bio sólido o λ emissão assim como a I.R.F. são menores que para os AFs, o que pode indicar que no resíduo os AHs são menos humificados que os AFs. Verifica-se, também, que o λ de máxima emissão dos AHs do bio sólido (480 nm) é bem menor que o encontrado para os AHs do solo, indicando a presença de estruturas aromáticas menos condensadas. Isto confirma os resultados encontrados para os AHs do bio sólido: menor razão C/N, menor razão H/C, predominância de grupos fenólicos em detrimento dos carboxílicos e menor quantidade de spins, confirmando a presença de estruturas aromáticas (menor razão E4/E6; presença de C=O aromático em FT-IR), porém estas estruturas ainda são pouco condensadas, refletindo menor humificação dos AHs do bio sólido quando comparado aos dos solos.

Nota-se que os picos de máxima emissão para todos os tratamentos está em torno de 550 nm, enquanto que o bio sólido apresenta uma única banda em comprimento de onda muito menor, 461 nm (Figuras 15). A I.R.F. para o bio sólido é de 158, e para os solos está entre 200 e 410. A adição de bio sólido reduziu a I.R.F. para todos os solos, exceto para o tratamento LVAd + B. ?

As Figuras 18 e 19 mostram as Figuras 3D dos espectros dos AHs. Nota-se a diversidade de localização dos fluoróforos entre os AHs isolados dos solos e do bio sólido. A posição do fluoróforo principal do bio sólido encontra-se a menores comprimentos de onda de emissão. O espectro, também, mostra a presença de outras estruturas fluorescentes no bio sólido, a maiores comprimentos de onda de emissão, mas com menores I.R.F. (linhas mais alargadas), refletindo uma maior

heterogeneidade de grupos fluorescentes associados a unidades estruturais simples (menor λ), e com menores graus de condensação e aromaticidade (Senesi & Loffredo, 1999).

Os AHs dos dois solos apresentam as mesmas estruturas fluorescentes, mas no LVd estas se encontram em maiores quantidades, como pode ser observado nas Figuras 18 e 19. Comparando-se as distâncias entre as linhas, verifica-se que para os tratamentos do LVAd as linhas são mais espaçadas que para o solo LVd, indicando menor I.R.F., e portanto maior quantidade de estruturas fluorescentes neste último. Este comportamento fluorescente de solos argilosos foi verificado, também, por Senesi et al. (1991).

A adição de bio sólido reduziu o comprimento de máxima emissão apenas para o LVd em superfície (Tabela 16). Esta redução pode significar a complexação do grupo fluorescente do AH com metais, visto que a presença de metais concorre com o fenômeno fluorescente, ou a predominância de compostos fluorescentes menos condensados com a adição do bio sólido (Zsolnay et al., 1999). O maior espaçamento entre as linhas nos espectros 3D das Figuras 18 e 19, indica a menor I.R.F. para um mesmo grupo fluorescente para LVAd e LVd, após o tratamento com bio sólido. A adição do resíduo praticamente não alterou a composição dos fluoróforos dos AHs, apenas a quantidade.

4.4.6.2.2 Espectro de excitação

Os espectros de excitação dos AHs para todos os tratamentos dos dois solos mostram apenas uma banda larga na região de comprimento de onda longo (457-458 nm) (Figura 15). Diferem dos picos de excitação dos AFs, pois os últimos apresentam maior número de picos a menores comprimentos de onda, indicando que nos AHs há menor número de estruturas fluorescentes diferentes.

O comprimento de onda para o pico de excitação do bio sólido não diferiu dos tratamentos testemunha e dos tratamentos com o resíduo, indicando que a natureza dos fluoróforos do resíduo é semelhante a dos solos.

A I.R.F. para o pico de máxima excitação foi maior para o LVd que para o LVAd, em todos os casos, como ocorreu para os AFs, reflexo da maior quantidade de estruturas fluorescentes excitadas naquele solo.

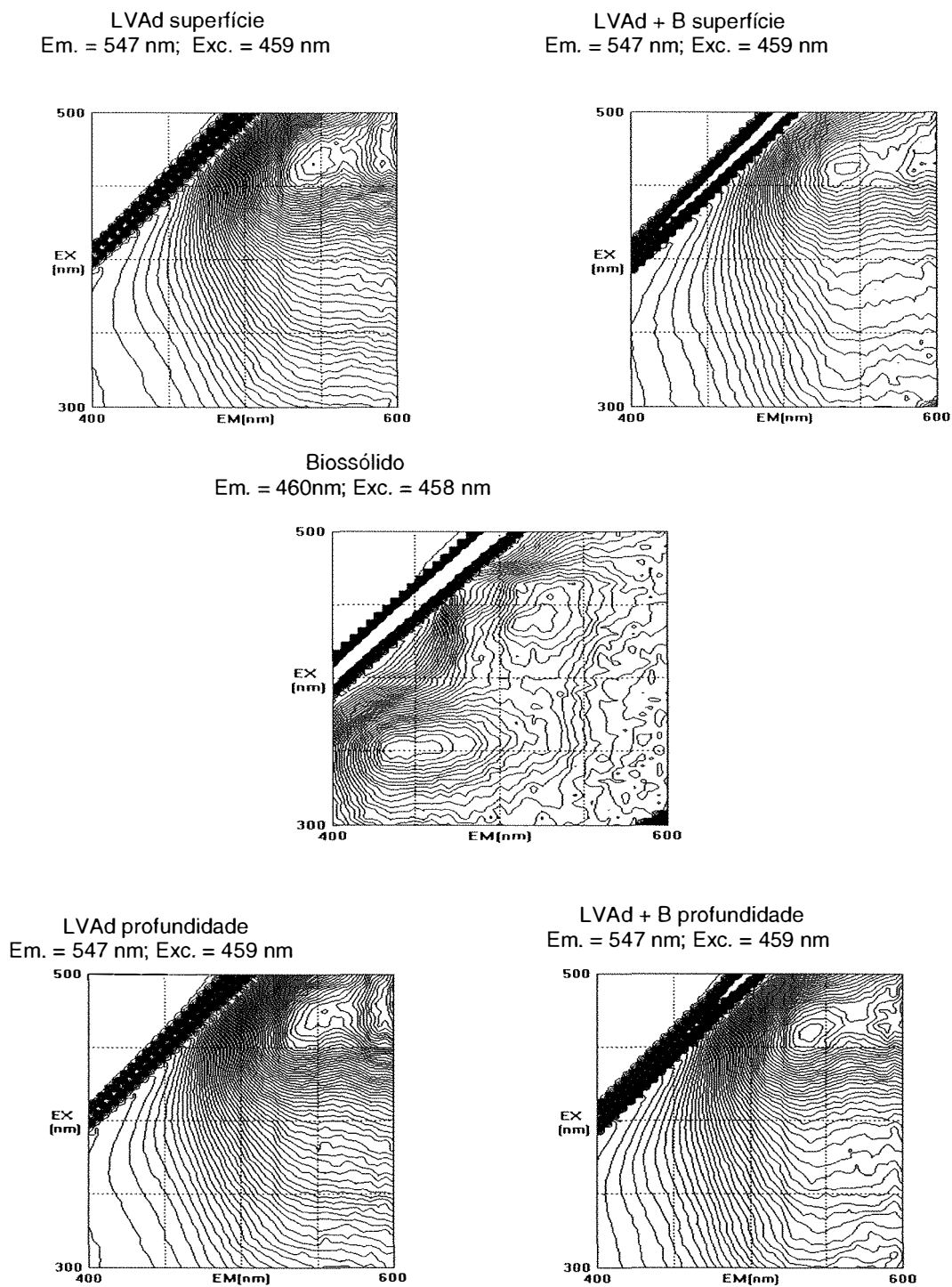


Figura 18 - Espectros 3D de fluorescência de ácidos húmicos isolados do biossólido e do Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVAd). + B = adição de biossólido.
Em. = emissão; Exc. = excitação.

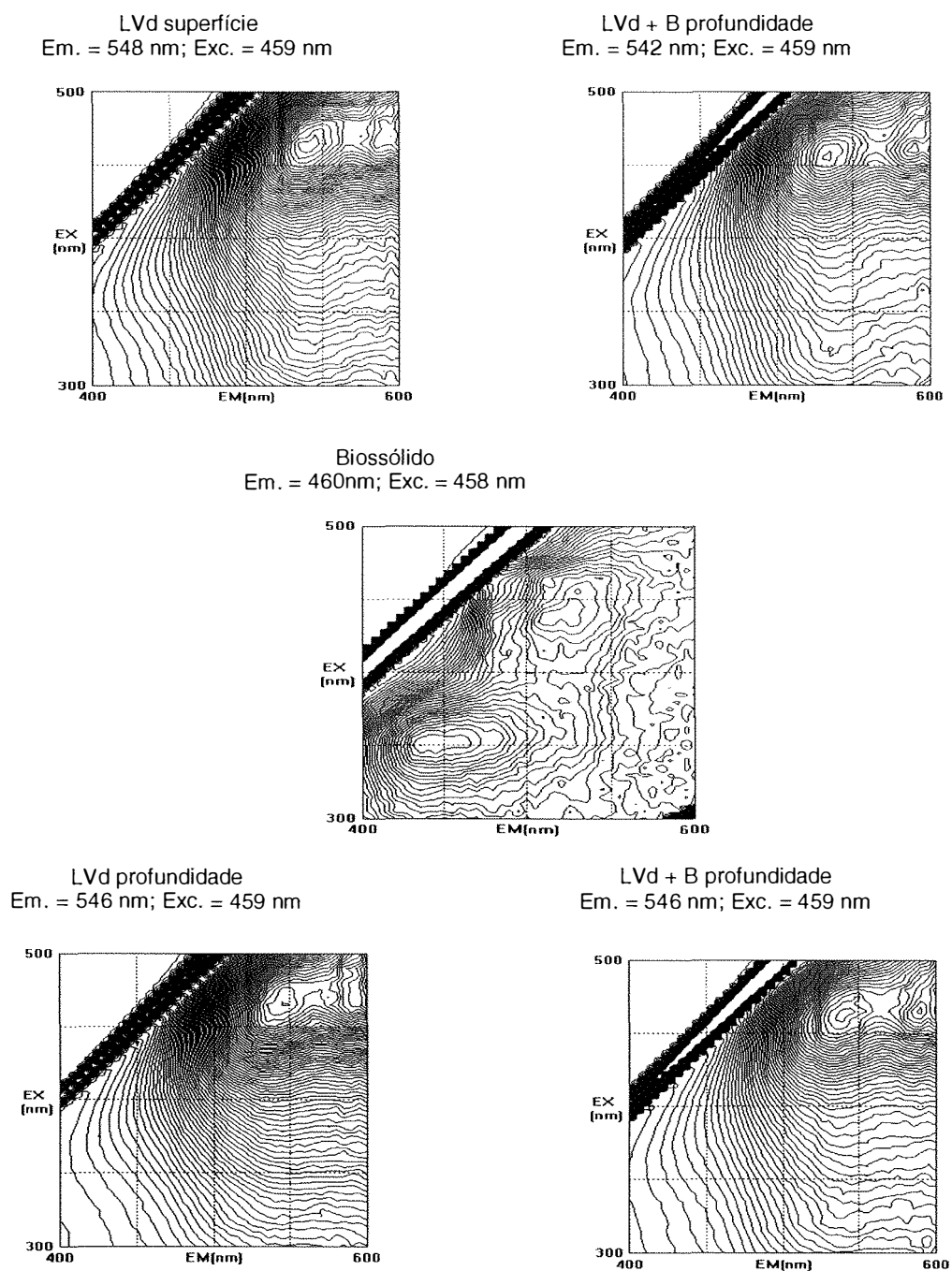


Figura 19: Espectros 3D de fluorescência de ácidos húmicos isolados do biossólido e do Latossolo Vermelho Distrófico (LVd). + B = com adição de biossólido.
Em. = emissão; Exc = excitação.

4.4.6.2.3 Espectros de excitação com varredura sincronizada

O espectro de scan síncrono dos AHs do bioossólido pode ser diferenciado dos AFs por apresentar uma banda de maior intensidade a 465 nm, e outra lateral de menor intensidade a 385 nm, enquanto que o espectro de AF apresenta apenas uma banda a 460 nm (Figuras 14 e 15), isto é os AHs do bioossólido apresentam maior diversidade de estruturas fluorescentes do que os AFs.

Quanto aos solos, nota-se que os espectros do AF apresentam uma banda maior a 470 nm e outras laterais, enquanto que os de AH apresentam uma banda maior a 487 nm e apenas uma pequena lateral, sendo, portanto, mais simples. Isto é, há menor diversidade nos grupos fluorescentes dos AHs do que nos AFs dos solos.

Miano et al.(1990) estudando diversos modelos de AHs, com diversas fontes de precursores, verificaram que os espectros scan síncrono podem informar sobre a natureza dos fluoróforos, e que a faixa de 460 a 390 nm, como a apresentada pelo bioossólido, reflete a estrutura e reações de condensação de precursores fenólicos, enquanto que, na faixa de 490-510 nm, como a apresentada pelos AHs dos solos, reflete o caráter aromático do polímero. Estes resultados condizem com os resultados da determinação dos grupos fenólicos e carboxílicos do bioossólido e solos, revelam a natureza destas substâncias, e determinam a sua função ambiental.

Os solos apresentam grupos fluorescentes mais condensados que o bioossólido, devido aos maiores comprimentos de onda apresentados. No bioossólido os grupos fluorescentes estão associados a unidades estruturais simples (menor λ) com menores graus de condensação e aromaticidade (Senesi & Loffredo, 1999).

Na Figura 15, verifica-se que a incorporação de bioossólido provocou uma pequena mudança no comprimento de onda do principal grupo fluorescente, principalmente para o LVAd em profundidade. A mudança ocorreu para menores comprimentos de onda, indicando a incorporação de substâncias menos condensadas com a adição do bioossólido (Kalbitz, 2000).

Também nos espectros scan síncrono, a I.R.F. é reduzida com a adição do bioossólido. Essa redução foi semelhante para os dois solos, e mais pronunciada em superfície. Como em todos os outros espectros de AFs e AHs, anteriormente citados, a I.R.F. dos tratamentos do LVd foi sempre maior que a do LVAd, e esta sempre maior que a do bioossólido. Porém, apesar dos AHs do LVd apresentarem sempre maiores

quantidades de grupos fluorescentes, a adição de bio sólido proporcionou mudanças (λ), que indicam a incorporação de estruturas menos condensadas que as apresentadas no solo testemunha, e possíveis ligações destas com metais neste solo.

A adição de bio sólido, com incorporação de material aromático, porém menos condensado, às SHs nativas dos solos, provocou mudanças nos AFs do tratamento LVAd e nos AHs do LVd. Provavelmente, a adição de bio sólido alterou a condensação dos compostos aromáticos dos AFs do LVAd e dos AHs do LVd, para menores níveis de condensação e grau de humificação, e, portanto, menor estabilidade de ligações destes com metais pesados. Estes grupos aromáticos condensados, detectados pela técnica de fluorescência, possivelmente estejam ligados a metais nos AFs do LVAd e nos AHs do LVd.

Dessa forma, a preocupação quanto à estabilidade das ligações metais-SHs, seria maior para o LVAd, onde os metais estariam ligados aos AFs, menos humificados que no solo original e, também, mais móveis, em um solo menos argiloso. No solo LVd, a retenção de metais aos AHs seria maior que a retenção de metais pelos AFs do LVAd, em virtude das maiores intensidades de fluorescência, dada pela maior quantidade de determinados grupos aromáticos e condensados. A estabilidade das ligações, apesar de reduzida pela adição de bio sólido, também seria maior.

A técnica de fluorescência trouxe confirmações aos resultados das análises químicas e espectroscópicas realizadas anteriormente, quanto ao grau de humificação, e quanto à natureza dos AHs dos solos e bio sólido, além de informações a respeito da retenção de metais pesados, já preconizada pela técnica de FT-IR, complementando deste modo a caracterização das substâncias húmicas.

4.5 Extração seqüencial de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn

Esta etapa consistiu em verificar a qual fração do solo encontra-se, preferencialmente ligados os metais pesados adicionados via bio-sólido, de modo a fornecer subsídios às discussões sobre o uso deste resíduo na agricultura. Os resultados da caracterização química, eletroquímica, mineralógica, das substâncias húmicas dos solos, do resíduo e dos solos tratados, e a disponibilidade dos metais a plantas de cana-de-açúcar, serviram de referência para a escolha do método a ser utilizado na extração seqüencial, assim como para explicar o comportamento dos metais em cada fração e nos solos estudados.

4.5.1 Considerações sobre o método utilizado

Diversos problemas foram encontrados no método de extração seqüencial escolhido. Alguns deles foram solucionados durante as etapas preliminares de testes e serão comentados a seguir.

A perda de terra durante as extrações pode ser significativa para solos menos argilosos como o LVA_d utilizado neste experimento. Foram utilizadas altas rotações (18.000 – 20.000 rpm) e baixas temperaturas (< 5° C) na centrifugação, na tentativa de amenizar tal perda, mas mesmo assim observaram-se perdas significativas. A solução encontrada foi pesar os filtros antes e após cada etapa de extração e subtrair o valor final do valor dos filtros utilizados com o branco, em que apenas os sais estavam presentes, obtendo-se assim um valor mais aproximado da quantidade de terra perdida e da utilizada para iniciar cada etapa. As perdas de terra foram mais pronunciadas nas duas primeiras etapas, isto é, na extração dos metais ligados à fração trocável e à fração carbonatada. Também foram observadas perdas durante a lavagem com a solução NaCl 0,1 mol L⁻¹. Foram testadas soluções mais concentradas e mais diluídas desta solução, e apenas água para esta etapa de lavagem, mas não se obteve sucesso, e a lavagem foi conduzida com a solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹ proposta pelo método.

Quanto às soluções extratoras, também, foram efetuados alguns testes na tentativa de aumentar a eficiência de extração nos solos utilizados neste experimento. Verificou-se, que a extração de metais ligados à fração trocável ou solúvel foi

praticamente nula em todos os tratamentos, mesmo para elementos como o Cu e Zn, nutrientes de plantas. Testou-se a solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, soluções mais concentradas de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, e também a relação sólido:extrator foi diminuída de forma a diluir menos o extrato, para obter maior sensibilidade na determinação pelo método de espectrometria de absorção atômica. Porém, não se teve êxito na extração com tais mudanças. Finalmente, os metais foram determinados nos extratos por espectrometria de indução de plasma, e os resultados foram melhores para Cu e Zn em alguns tratamentos. Os teores dos demais metais ficaram abaixo do limite de detecção do método. Talvez, resultados mais precisos fossem obtidos com a determinação utilizando forno de grafite acoplado a espectrometria de absorção atômica. A extração dos metais ligados a esta fração, diretamente relacionada à absorção pelas plantas, talvez fosse mais eficaz e representasse mais a realidade, se fosse utilizado o extrato de saturação dos solos, sem o uso de soluções salinas ou complexantes. De qualquer modo, é nítido que os metais nesta fração encontram-se em níveis de ppb, e resultados mais apurados só serão obtidos com o aumento do limite de detecção dos métodos de determinação empregados.

A solução $\text{NaOAc } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0, utilizada para a extração dos metais ligados a fração carbonato mostrou-se eficiente, e a ausência de metais pesados nos solos não tratados com biossólido, indica que apenas a partir de um determinado valor de pH, a presença de carbonato é significativa na retenção de metais, via precipitação.

Foram conduzidos alguns testes para verificar a eficiência e praticidade na extração de metais ligados à matéria orgânica. O extrator utilizado ($\text{NaOCl } 5\%$, ajustado a pH 8,5) mostrou-se eficiente, porém havia problema na determinação por espectrometria de absorção atômica, visto que a solução concentrada entupia o queimador do equipamento, e a cada vinte amostras era necessária a lavagem de todo o conjunto de sucção e queimador. Testou-se desta forma, o peróxido de hidrogênio, que mostrou-se menos eficiente na extração de metais ligados a esta fração, além do procedimento de extração tornar-se pouco prático e com riscos maiores de perda de terra devido às reações de oxidação do extrator com os altos teores de matéria orgânica dos solos tratados com biossólido. Outro extrator testado foi o pirofosfato de sódio, que, também, mostrou-se muito inferior ao hipoclorito quanto à extração de metais ligados à fração orgânica.

Para a extração dos metais ligados a fração óxidos de ferro, alguns autores separam-na em duas fases: os metais ligados aos óxidos mal cristalizados (amorfo), que podem ser extraídos com ácido oxálico-oxalato pH 3,0; e os metais ligados aos óxidos cristalizados que são extraídos com citrato-bicarbonato-ditionito (DCB). Inicialmente foram efetuados testes com os extratores acima citados e os resultados foram confrontados com os resultados dos extratores utilizados neste estudo, ou seja, a mistura de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de oxalato de amônio, $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido oxálico e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ascórbico, ajustada a pH 3,0. A soma dos teores de metais nas duas frações (“amorfo” + cristalino) não foi superior ao teor de metal extraído pela mistura oxalato de amônio + ácido oxálico + ácido ascórbico. Como o procedimento feito em duas etapas é mais trabalhoso e somam-se os erros de dois métodos, optou-se pela extração única. Porém, a conservação deste extrato é problemática. No método original, o tolueno é indicado como conservante. Contudo, observou-se que mesmo com adição deste, havia crescimento microbiano nos extratos. Os extratos foram, então, conservados em congelador e descongelados apenas na hora da determinação dos metais. O uso de tolueno torna-se pouco viável, também pela periculosidade no manuseio e requer licença para a compra de pequena quantidade do produto.

Para a extração dos teores totais e residuais alguns métodos foram testados e os resultados foram comparados. Os primeiros testes iniciaram-se com a extração sendo conduzida em blocos digestores, com a tradicional mistura $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$. Porém, verificou-se a ineficiência das extrações, em virtude de pequenas explosões provocadas pela sílica aquecida, que levavam à perda de material. A digestão, também, não se mostrava completa, pois não ocorre a destruição de toda a fração mineral. Prosseguiu-se com outra metodologia adaptada de Soltanpour et al. (1992), utilizando-se a mistura de ácidos $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4 + \text{HF}$, em tubos de teflon fechados e aquecidos em bloco de areia. A extração de metais por este procedimento mostrou-se 30% mais eficiente em relação a tradicional digestão nítrico-perclórica. Posteriormente, alguns problemas foram detectados na extração de metais por este método, como a extração ineficiente do Cd, problemas de ruptura das tampas devido às temperaturas exigidas pelo método e contaminação das amostras, além da demanda de tempo para realizar a extração. Era possível a extração de apenas dezesseis amostras semanais.

Dessa forma, foi testado outro método de extração dos teores totais e residuais de metais, através de aparelho de microondas com a mistura $\text{HNO}_3\text{-HCl-HF}$. Foram

testadas diversas misturas de ácidos e condições de pressão e tempo de irradiação das amostras. Para obter as condições adequadas de digestão, cabe salientar que foram necessários testes para verificar a reatividade das amostras. Assim, nas amostras provenientes da fração residual, praticamente sem matéria orgânica e óxidos, adicionou-se a mistura de ácidos, e foram imediatamente levadas para serem irradiadas. Para as amostras de terra para os teores totais, adicionavam-se os ácidos, deixava-se em repouso durante uma noite, para que ocorresse uma primeira reação a frio e depois as amostras eram irradiadas. Estes procedimentos foram adotados tendo em vista o limite de pressão suportado pelo aparelho e pelos tubos e dispositivos de segurança do equipamento. Amostras contendo altos teores de matéria orgânica em contato imediato com a mistura digestora escolhida, atinge pressões superiores às suportadas pelo equipamento usado, ocasionando ruptura de membranas de segurança e tampas, trazendo perdas de amostras e riscos de danos ao equipamento. Outro cuidado adotado, foi o de colocar sempre amostras de reatividade semelhante no carrossel, evitando diferenças muito grandes de pressão no conjunto levado para irradiação.

Os resultados obtidos por este método foram superiores aos anteriormente citados para todos os metais e tratamentos, exceto para o Cd que se apresentava em baixas concentrações mesmo nos solos tratados. A não detecção do Cd, talvez fosse devido à pequena massa de amostra possível de ser utilizada (0,5 g), e pela quantidade de água necessária para transferência dos extratos, que promovia a diluição do extrato.

Na tentativa de extração e detecção do Cd, utilizou-se o método denominado via seca, modificado do método da ignição (Saunders & Willians, 1955), que utiliza uma quantidade maior de terra (5,0 g), e era possível a transferência do extrato com uma pequena quantidade de água. Assim, foi possível a detecção do metal na camada superficial dos solos LVAd e LVd tratados com biossólido.

Para a extração dos metais ligados à fração residual, modificou-se a composição dos ácidos, utilizando menores quantidades dos ácidos HNO_3 e HCl , em razão de extração anterior da fração orgânica.

Outra dificuldade encontrada foi na elaboração das curvas para determinação dos teores de metais por espectrometria de absorção atômica. As curvas foram elaboradas com a mesma solução extratora, com a solução de lavagem NaCl e com o

ácido nítrico adicionado para conservação do extrato, de forma a apresentar composição mais próxima possível dos extratos a serem analisados. As curvas foram elaboradas desta forma para cada extrato e preparadas no mesmo dia em que as leituras foram realizadas.

Cabe salientar que a porcentagem de metais recuperados de cada fração foi calculada com os teores totais extraídos pelo método do microondas, exceto para o Cd, em que utilizaram-se os teores totais obtidos pelo método via seca. Todas as análises estatísticas foram conduzidas com a porcentagem de metais extraídos para cada fração, e não com os teores destes metais nos solos, em virtude da diferença dos teores totais de metais para cada tratamento, após um ano e meio da última aplicação de bio sólido. Apenas para os teores totais utilizaram-se os valores em mg kg^{-1} para as análises estatísticas. Os resultados dos teores percentuais de metais em cada fração analisada encontram-se nas Figuras 20 para o bio sólido, e 21, 22, 23, 24, 25 e 26 para os solos. A comparação dos percentuais de metais extraídos de cada fração entre o LVA e LV tratados com bio sólido encontram-se nas Figuras 27 e 28, e a comparação entre os percentuais de metais em cada fração encontrados em superfície e profundidade encontram-se nas Tabelas 17, 18, 19 e 20.

4.5.2 Cádmio

Observa-se que o cádmio é encontrado apenas na superfície dos solos tratados com bio sólido (LVAd e LVd). A recuperação foi total para o LVAd, e de 74% para o LVd, ambos encontrados apenas na fração carbonatada, como representado na Figura 21. Nas demais frações, o elemento não esteve presente, ou esteve presente abaixo dos limites de detecção do método de determinação utilizado. Não houve diferença significativa entre os teores percentuais de Cd recuperado dos tratamentos LVAd+B e LVd + B (Figura 27) da fração carbonatada, porém houve diferença significativa entre os teores totais do metal encontrados nos dois solos tratados em superfície, após um ano e meio da última aplicação de bio sólido (Figura 28).

A extração sequencial de Cd no bio sólido (Figura 20) indica que o metal no resíduo está preferencialmente ligado à fração carbonatada seguido da fração residual. O teor total de carbonato no bio sólido foi de 19,8% (Tabela 1), proveniente do tratamento terciário com CaO, de modo que não houve mudança na forma preferencial

de retenção do Cd. Talvez, o metal nos solos, encontre-se ainda retido ao resíduo, visto que a decomposição do bio sólido não foi total, até a data da amostragem dos solos para este experimento. Stacey et al. (2001) em estudos com diluição isotópica do Cd em solos tratados com bio sólido de diferentes idades, verificaram que o elemento encontra-se na forma disponível, e o seu comportamento em solos tratados reflete a forma com que este se encontra no resíduo.

Alguns autores (Emmerich et al., 1982; Chang et al., 1984; Hickey & Kittrick, 1984; Ramos et al., 1994; Taylor et al., 1995, e Ribeiro-Filho et al., 2000) também, encontraram o Cd na camada superficial, ligado à forma carbonatada, provavelmente na forma de CdHCO_3^+ em solos tratados com bio sólido ou com CaCO_3 .

Neste estudo, provavelmente, o Cd encontra-se ligado à forma HCO_3^- que ocorre a partir de $\text{pH} > 5$, enquanto que a forma CO_3^{2-} só ocorre a partir de $\text{pH} > 8$. O teor de carbonato no tratamento LVAd + B é de 4%, e no LVd + B superfície é de 5%, e em profundidade 2%.

Alguns estudos têm mostrado que os processos de adsorção e troca de íons são mais importantes que os processos de precipitação na distribuição de Cd no solo. Porém, Alloway (1995) observa que maiores concentrações de Cd podem conduzir à formação de precipitados de Cd com carbonatos e fosfatos, e, no solo, verifica-se que as formas carbonatadas de Cd são extremamente solúveis. Lindsay (1979) cita a forma CdCO_3 (octavita), como reguladora da atividade de Cd^{2+} na solução do solo. A sua estabilidade é altamente dependente do pH do solo, de modo que sua solubilidade aumenta cem vezes para cada aumento de uma unidade de pH, acima de pH 7,5. Naidu et al. (1997) confirmam que o Cd pode ser retido por ambos os processos, precipitação e adsorção à superfície dos minerais, dependendo das características químicas do meio.

Hickey & Kittrick (1984) encontraram o Cd ligado à carbonatos em solos e sedimentos contaminados, e citam que a ligação se dá pela substituição do Ca^{2+} pelo Cd^{2+} na calcita, porém Madrid & Barrientos (1992) não verificaram dessorção de cálcio com a retenção de Cd à carbonatos, e sugerem que a retenção se dá pela adsorção na superfície do mineral.

A ausência de Cd nas frações orgânica, nos óxidos, e na fração residual dos solos tratados com bio sólido, talvez possa ser explicada pela competição com o cálcio por sítios de adsorção da superfície orgânica (Fletcher & Beckett, 1987), dos óxidos de

ferro e minerais (Alloway, 1995). Ma & Uren (1998) verificaram, também, que o Cd apresenta grande afinidade por óxidos de Fe e Mn sintéticos, porém, nos solos este comportamento não se repete, uma vez que a matéria orgânica reveste a superfície dos mesmos. Os autores, encontraram, ainda, baixa concentração de Cd na fração carbonatada, quando se adicionou CaCO_3 até a elevação do pH do solo a 7,7. Neste solo o Cd foi encontrado preferencialmente na fração trocável seguida da fração residual.

Soon (1981) encontrou o Cd preferencialmente ligado aos carbonatos, precipitado na superfície da calcita, na forma CdCO_3 , em solos tratados com biossólido, a partir de pH 7,6. O autor, ainda, verificou que a complexação de Cd é reduzida em solos tratados com biossólido quando comparado à fertilização mineral, visto que outros metais mais abundantes no resíduo ocupam os sítios de complexação em detrimento do Cd.

Pierrisnard (1996) encontrou o Cd preferencialmente ligado à fração residual em solos tratados com biossólidos, com a presença de carbonato, mas com menores teores de cálcio que os apresentados pelos solos deste estudo. Nos tratamentos testemunha o Cd foi encontrado adsorvido aos minerais e aos complexos orgânicos estáveis. O cálcio, ao mesmo tempo que concorre com o Cd por sítios de adsorção mais fortes, tornando-o mais disponível, também concorre na absorção pelas plantas, de modo que a presença de cálcio reduz a biodisponibilidade de Cd (Mahler et al., 1980).

Nos tratamentos testemunha, e nos solos tratados em subsuperfície, o metal não foi encontrado, ou foi encontrado abaixo dos limites de detecção do método. No LVd tratado com biossólido, verifica-se uma menor recuperação do Cd na fração carbonatada quando comparado ao tratamento LVAd + B. Isto pode ser explicado pela presença de carbonato em profundidade, neste solo, lixiviado do horizonte superior, e que não foi verificada a presença do metal devido ao limite de detecção do método, o que não significa necessariamente a ausência de Cd lixiviado com o carbonato. Também, verifica-se pelas características mineralógicas, que há maiores teores de hematita, goethita e a presença de gibbsita no LVd quando comparado ao LVAd, de modo que talvez o Cd esteja ligado a estas frações, como no caso do biossólido, em que 27% do elemento encontra-se na fração residual.

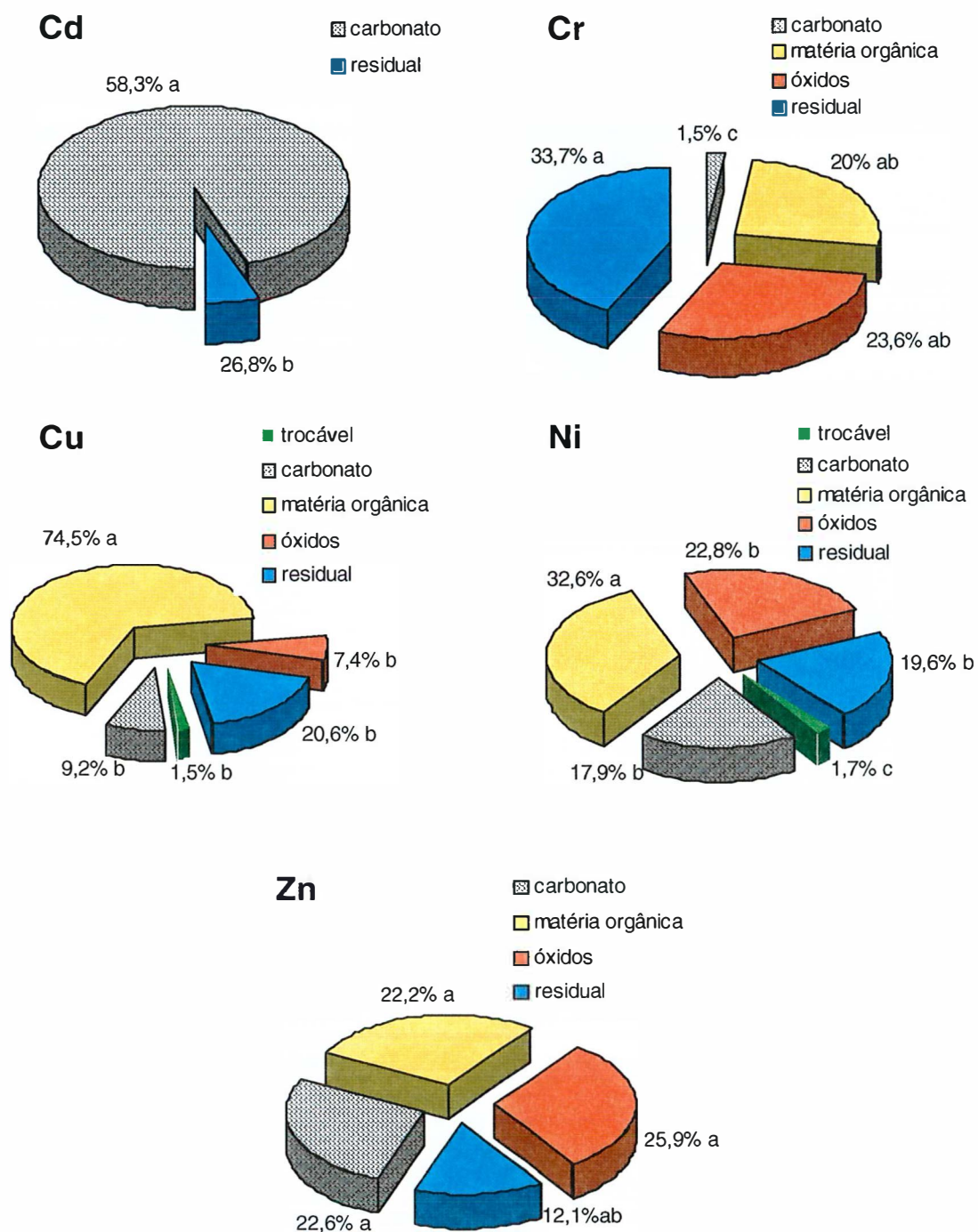


Figura 20 - Teores percentuais de ^{Cd}Cr, Cu, Ni e Zn nas frações analisadas do biossólido. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

Desse modo, conclui-se que a adição de cálcio e carbonato via biossólido exerce importância na retenção e biodisponibilidade de Cd, e que esta retenção é altamente dependente do pH do solo, podendo ser revertida facilmente com mudanças nas condições físico-químicas do mesmo. Altos teores de cálcio inibem a retenção de Cd às superfícies oxídicas e húmicas, tornando-o mais disponível às plantas e à lixiviação, sob a forma carbonatada, e ao mesmo tempo, concorre com a absorção do metal pesado pelas plantas. A lixiviação do metal na forma carbonatada pode ter ocorrido no LVAd tratado com biossólido, pois este apresentou menores teores totais de Cd e carbonato quando comparado ao mesmo tratamento no solo LVd.

A atual tendência, em termos de tratamento de biossólidos, é a realização do tratamento terciário através de polieletrólitos ao invés de CaO e FeCl₃, de modo que o comportamento do Cd em solos tratados com estes resíduos será diverso do apresentado neste experimento. Basta & Sloan (1999) advertem que deve ser evitada a aplicação de biossólido não alcalinos, mesmo os de qualidade excepcional, em solos ácidos, em virtude dos riscos de contaminação da água e absorção do metal pelas plantas.

4.5.3 Crômio

O Cr mostrou comportamento diverso entre os solos, entre os tratamentos e entre superfície e profundidade.

4.5.3.1 Tratamentos testemunha

Verifica-se nos tratamentos testemunha a presença de Cr, proveniente da rocha de origem, que são rochas magmáticas, ou em substituição isomórfica com o Fe³⁺ ou o Al³⁺ (Pierrisnard, 1996). A concentração média de Cr nas rochas basálticas e nos granitos é de 200 e 20 mg kg⁻¹, nos argilitos e arenitos de 120 e 35 mg kg⁻¹, respectivamente. Kotás & Stasika (2000) citam que a principal fonte de Cr nos solos naturais é o intemperismo dos materiais de origem.

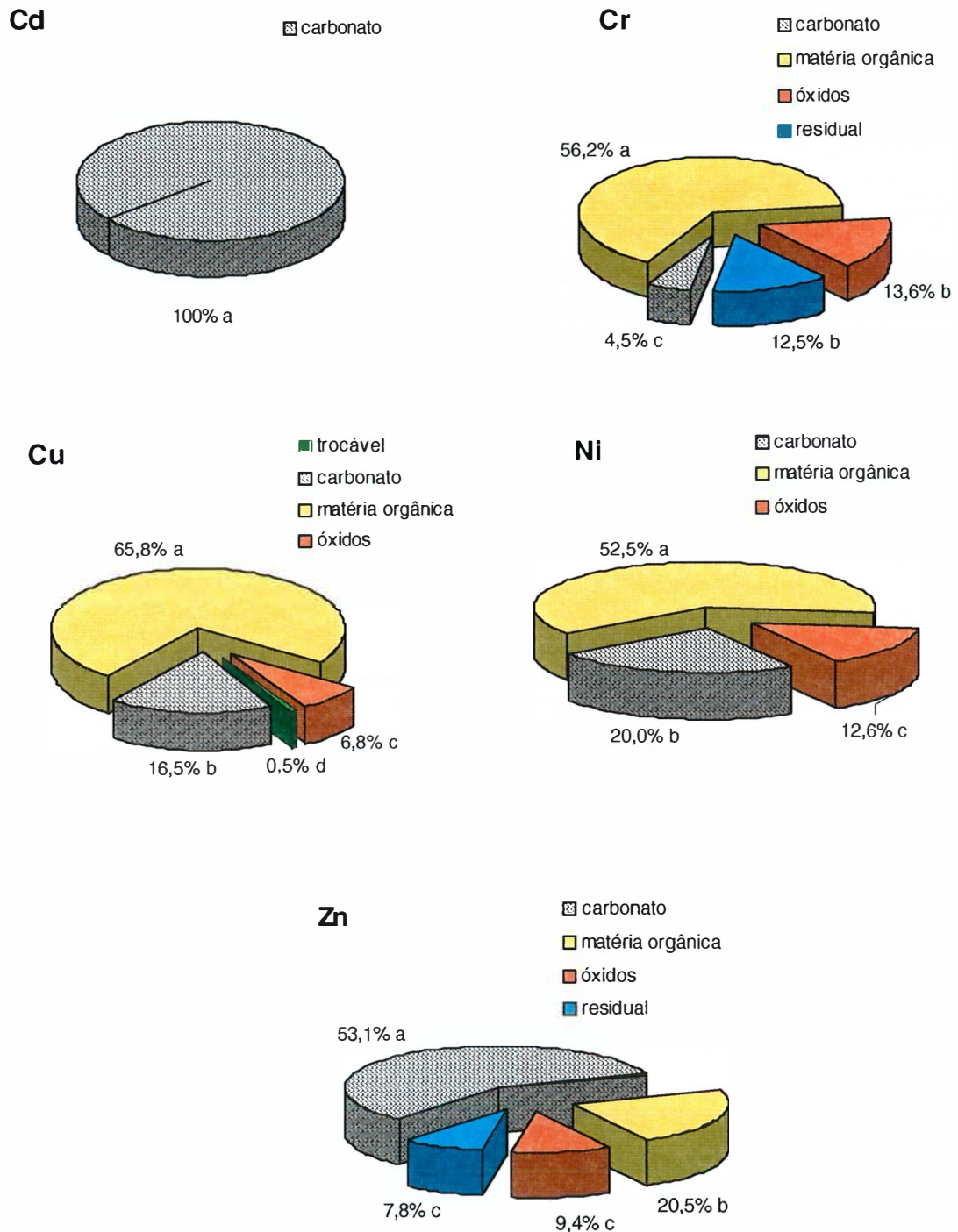


Figura 21 - Teores percentuais de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn nas frações analisadas, do Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) tratado com biossólido, na camada superficial. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

Para o LVAd, o teor total de Cr em superfície é significativamente maior que em profundidade, podendo indicar algum tipo de aporte externo, como a calagem (Mc Graft, 1995), enquanto que para o LVd o teor total do metal não difere entre superfície e profundidade (Tabela 17). O teor total de Cr no LVd mostrou-se superior ao do LVAd, em virtude dos minerais apresentados e do material de origem mais rico em Cr (rochas basálticas).

Quanto à distribuição, observa-se na Figura 22, que para o LVAd em superfície, o Cr esteve preferencialmente ligado à forma residual, seguido da forma orgânica, e em profundidade predominou ligado à forma orgânica. A mineralogia do LVAd é composta predominantemente de caulinita e goethita. De acordo com Cornell & Schwertmann (1996) a adsorção de Cr a goethita ou mesmo a óxidos amorfos como a ferrihidrita, só se daria na faixa de pH de 2,5-4,0. Como o pH deste solo encontra-se acima desta faixa, é pouco provável a ligação do Cr à fração de ferro. Para a superfície, o método de fracionamento não se mostrou eficiente na extração do elemento, recuperando apenas 27,8% do Cr total presente nas amostras, mesmo após a repetição das análises.

Em profundidade, a recuperação foi de 91,3% na fração orgânica. Barlett & Kimble (1976) verificaram que em solos a possibilidade do Cr estar na forma hexavalente é muito rara. Alguns relatos são citados apenas para subsolos, com a quase ausência de matéria orgânica. Neste estudo, verifica-se que mesmo no subsolo destes latossolos não tratados, o Cr encontra-se ligado à fração orgânica, na forma reduzida, e, portanto, menos móvel e tóxica.

No LVd, o Cr mostra-se preferencialmente ligado à fração residual, tanto em superfície como em profundidade. Em profundidade, está secundariamente ligado a fração óxido, seguida da matéria orgânica (Figura 24). Sabendo-se que o teor de matéria orgânica no LVd é maior que em LVAd, e que mesmo assim, o metal apresentou-se ligado preferencialmente à fração mineral, é de se supor que o diferencial na adsorção entre os dois solos seja a fração mineral. Na fração residual, o Cr possivelmente estaria ligado a gibbsita, que aparece nos difratogramas do LVd e não aparece em LVAd. Como a gibbsita apresenta ponto isoelétrico 9,2 (Hsu, 1977), e o valor de pH deste solo é menor, supõe-se que o Cr esteja ligado de forma específica ao mineral, ou que esteja substituindo o Al^{3+} na sua estrutura.

Em profundidade, observa-se que o elemento é secundariamente ligado aos óxidos de ferro (hematita) seguido pela fração orgânica, pois o teor de matéria orgânica é menor, e dessa forma o recobrimento que esta proporciona aos óxidos também é menor, tornando possível a adsorção de Cr tanto na fração orgânica quanto na fração óxidos. McGrath (1995), propõe a ligação do Cr aos oxihidróxidos de ferro por meio de ligantes orgânicos, como ácidos orgânicos, ácido fúlvico e DTPA. Com um revestimento menor dos óxidos, a extração da fração orgânica com solução NaOCl 5% pode ter permitido a liberação de pequena parcela do Cr, e posteriormente a extração da fração óxidos possibilitou a liberação total do elemento preso a ambas as frações. Em superfície, o maior teor de matéria orgânica possivelmente proporciona maior recobrimento dos óxidos, impedindo até mesmo as interações específicas entre estes e o metal.

Pierrisnard (1996), também encontra, para solos não tratados, menor teor de Cr na fração residual quando comparado à superfície, e um aumento de quatro vezes no teor de Cr ligado aos óxidos em profundidade, e cita que o Cr estaria presente nos óxidos na forma de cromita (FeCr_2O_4). Amaral-Sobrinho (1998) encontra o Cr ligado preferencialmente aos óxidos de Fe e Mn e à fração residual em solo tratado com resíduo siderúrgico ácido.

Conclui-se, portanto, que o Cr nos tratamentos testemunha é oriundo da rocha de origem, ou poderia ter sido adicionado na forma de corretivo de acidez, no caso do LVAd-superfície, visto que estes solos foram coletados de áreas cultivadas. Quanto à distribuição, o metal encontra-se preferencialmente ligado à forma residual, em superfície, tanto no LVAd como no LVd. Em profundidade, liga-se preferencialmente à forma orgânica no LVAd, e manteve-se na forma residual no LVd. Acredita-se, portanto, que o Cr estaria fortemente ligado, em ambos os casos, porém estas ligações seriam mais estáveis no solo LVd, em razão da natureza mineralógica dos dois solos.

4.5.3.2 Solos tratados com biossólido

No biossólido, o Cr encontra-se preferencialmente retido a fração residual, seguida da fração óxidos, e orgânica. Um pequeno percentual encontra-se ligado à fração carbonatada (Figura 20). Kotás & Stasicka (2000) citam que reações de oxiredução que ocorrem em lodos podem aumentar a concentração de Cr hexavalente,

e a forma CrO_4^{2-} pode ser adsorvida pela goethita, hematita, gibbsita e outros colóides carregados positivamente, que podem estar presentes no biossólido. A presença de minerais no resíduo pode estar associada com a maior concentração de gibbsita e ferrihidrita, apresentada pelos solos tratados quando comparada aos tratamentos testemunha. Quando adicionado a solos levemente ácidos a alcalinos a forma hexavalente transforma-se em $\text{Cr}(\text{OH})_3$, que pode manter-se na forma precipitada e/ou na forma complexada.

O teor total de Cr é significativamente maior no LVd tratado com biossólido, tanto em superfície quanto em profundidade (Tabela 17) quando comparado ao tratamento LVAd + B. Mesmo subtraindo o teor de Cr nativo destes solos, verifica-se maior teor de Cr em LVd + B, tanto em superfície como em profundidade, indicando a maior retenção do metal neste tratamento. Para ambos os solos tratados não houve diferenças significativas nos teores totais de Cr em superfície e profundidade, refletindo a distribuição do elemento.

Também, nos solos tratados com biossólido verifica-se uma maior distribuição do elemento, entre as frações, do que nos tratamentos testemunha (Figuras 21 e 22, e 23 e 24). Para o LVd tratado nota-se uma distribuição do metal nas diversas frações bem próxima à distribuição do metal no resíduo (Figuras 20 e 23). Talvez, neste caso, o Cr poderia estar ainda na forma em que foi incorporado, visto a menor decomposição do material orgânico neste solo quando comparado ao LVAd.

No pH destes solos, aparece a fração carbonatada, que, apesar de pouco expressiva, apresentou teores de Cr compatíveis com os teores de carbonato presentes. Em superfície o teor de Cr nesta fração foi significativamente maior no tratamento LVAd + B, e em profundidade a situação é invertida, visto que o LVAd tratado não apresenta carbonato em subsuperfície. O metal presente nesta fração pode ser considerado relativamente móvel e disponível às plantas, pois pequenas variações de pH o liberariam à solução do solo. A mobilidade do Cr juntamente aos carbonatos pode estar ocorrendo, pois foi verificada a presença de carbonato (2%) e de Cr ($4,0 \text{ mg kg}^{-1}$) na camada 0,25-0,50 m do LVd tratado. No caso da liberação do metal, por mudanças de pH, este pode ser absorvido pelas plantas ou mesmo reabsorvido em outras frações mais estáveis.

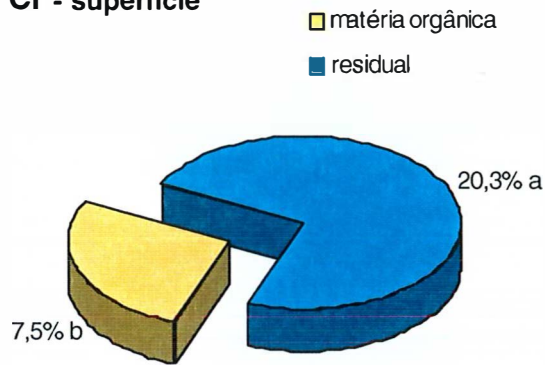
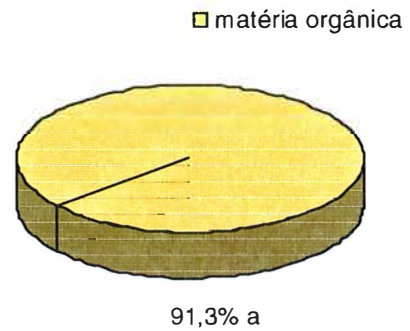
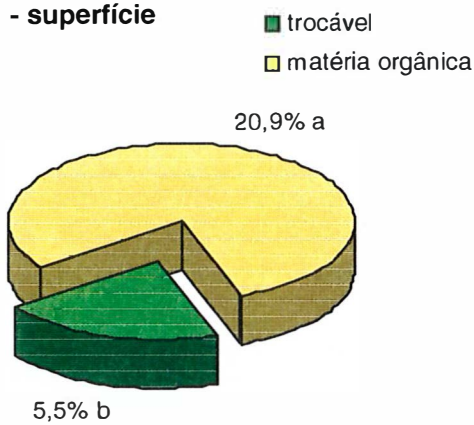
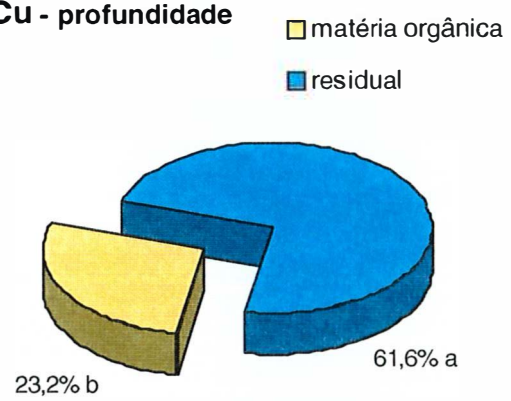
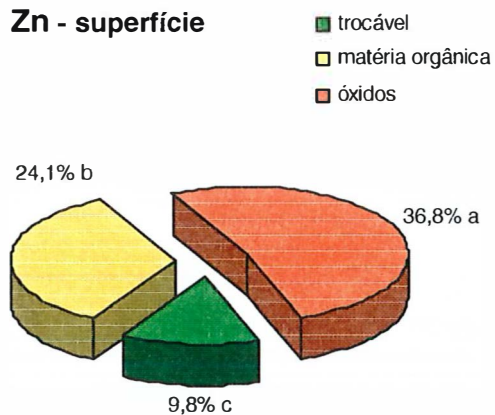
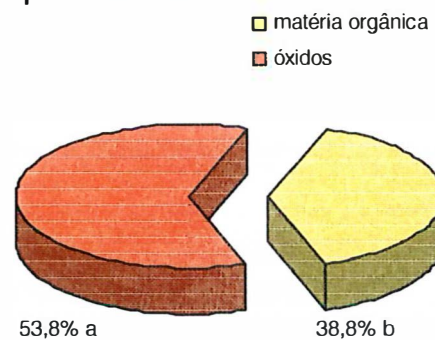
Cr - superfície**Cr - profundidade****Cu - superfície****Cu - profundidade****Zn - superfície****Zn - profundidade**

Figura 22 - Teores percentuais de Cr, Cu, Ni e Zn nas frações analisadas, do Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVAd), na camada superficial e subsuperficial. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

Quanto à fração orgânica, observa-se para o tratamento LVAd + B, a mesma tendência do solo testemunha, isto é o Cr é preferencialmente adsorvido por esta fração, tanto em superfície como em profundidade (Figuras 21 e 25). Em superfície, encontra-se secundariamente retido a frações óxidos e residual, seguido da fração carbonatada, uma vez que os sítios das substâncias orgânicas podem estar preenchidos por outros metais adicionados via biossólido. Estaria ligado à hematita na fração óxidos e à caulinita_x e illita na forma residual, pois o pH dos solos tratados tem valor 8,0, superior ao PCZ destes minerais, podendo gerar cargas negativas, adsorvedoras de metais, na sua superfície.

Para o LVd tratado, verifica-se a mesma distribuição de Cr em superfície e profundidade, na seqüência: matéria orgânica ≥ residual > óxidos > carbonato (Figuras 23 e 26). Complexos de Cr (III) com ácidos húmicos são insolúveis, imóveis e não reativos, principalmente na faixa de pH de 2,7-4,5, enquanto que, complexos com o metal e ácidos fúlvicos são muito móveis (Kotás & Stasicka, 2000). A presença de Cr na camada 0,25-0,50 m pode estar relacionada não somente à lixiviação juntamente aos carbonatos, como também a lixiviação junto aos ácidos fúlvicos e outros ligantes orgânicos móveis. Brown et al. (1997) verificaram grande lixiviação de Ca ligado à ácidos fúlvicos em solos tratados com altas doses de biossólidos alcalinos, uma vez que a elevação do pH aumenta a solubilidade e mobilidade dos complexos, e alertam que o mesmo mecanismo que levou à lixiviação do cálcio pode ocorrer com os metais pesados.

Na fração residual, o Cr estaria ligado à caulinita_x e/ou à gibbsita, e nos óxidos à hematita, visto a exclusão de adsorção de Cr à goethita e à ferrihidrita a elevados valores de pH (Cornell & Schwertmann, 1996).

Um dos poucos trabalhos encontrados na literatura sobre o metal, é o de Pierrisnard (1996), que encontrou Cr ligado preferencialmente à fração residual tanto nos solos tratados como nos tratamentos testemunha. Porém, a mineralogia dos solos, as características do material orgânico adicionado, assim como métodos de extrações seqüenciais diversos, dificultam o confronto dos resultados. Berti & Jacobs (1996), também encontraram o Cr ligado às frações orgânica, óxidos de Fe e residual, em solos tratados com biossólido, e citam que com o tempo haveria conversão para formas cada vez menos disponível.

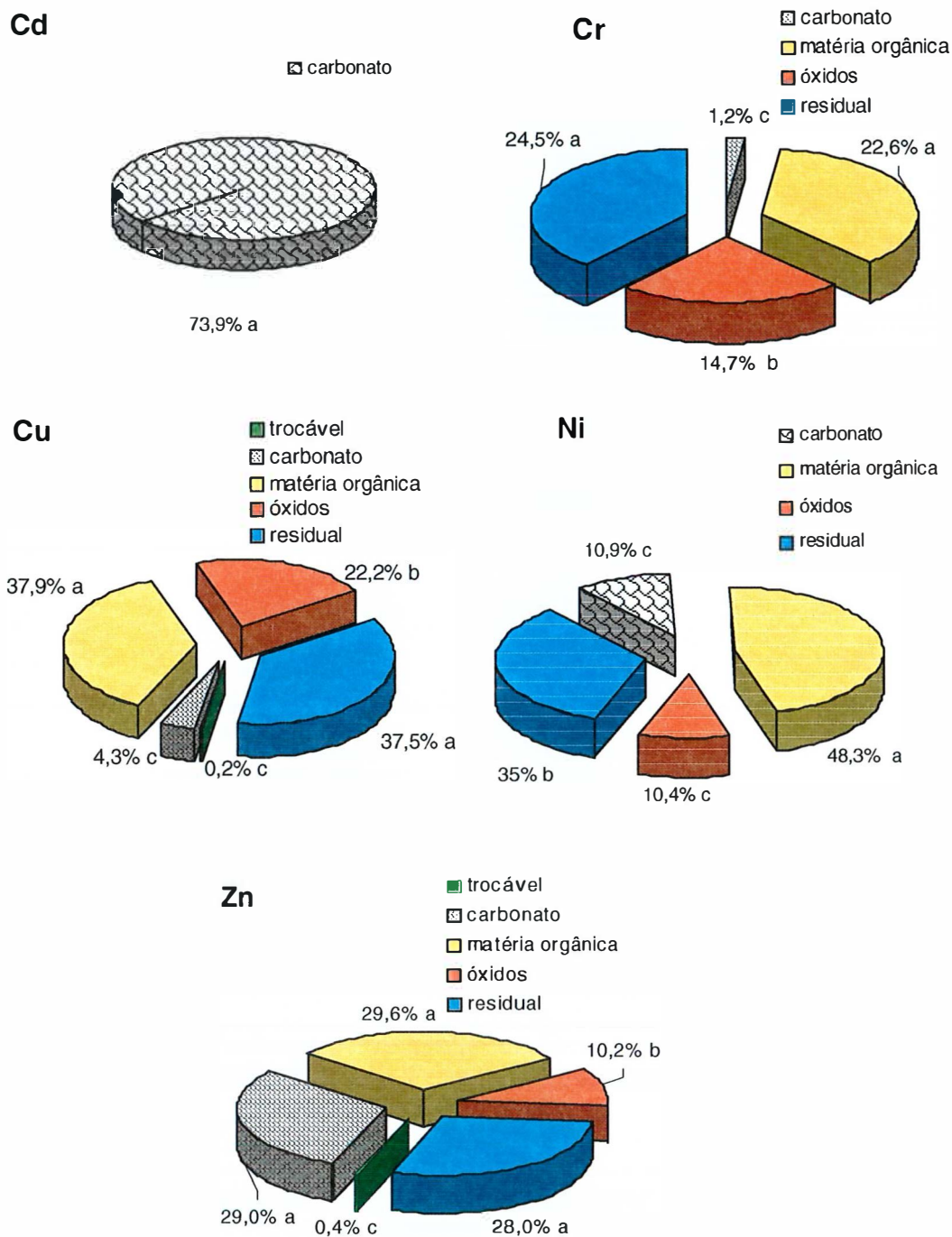


Figura 23 - Teores percentuais de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn nas frações analisadas, do Latossolo Vermelho Distrófico (LVd) tratado com biossólido, na camada superficial. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

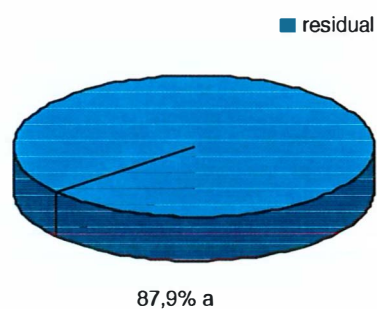
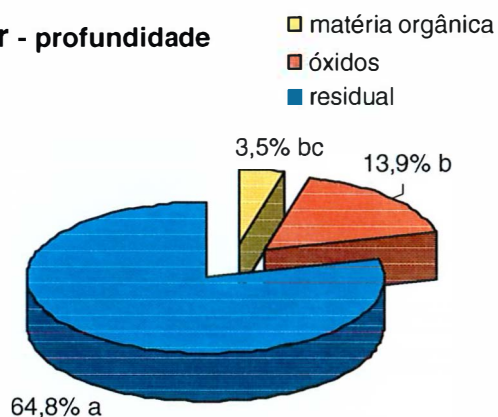
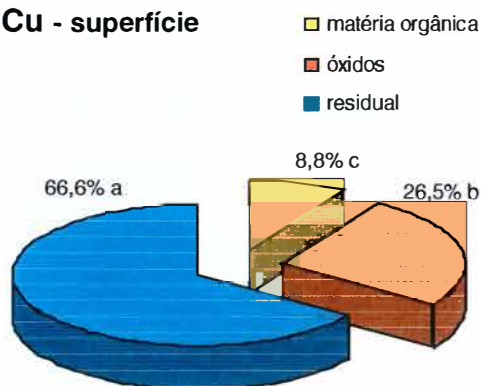
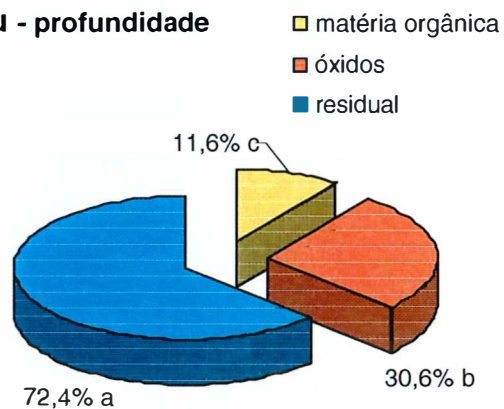
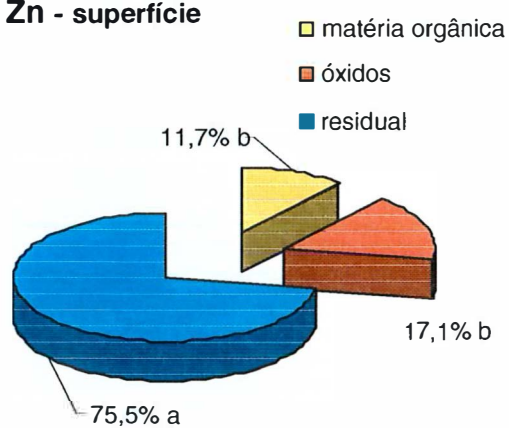
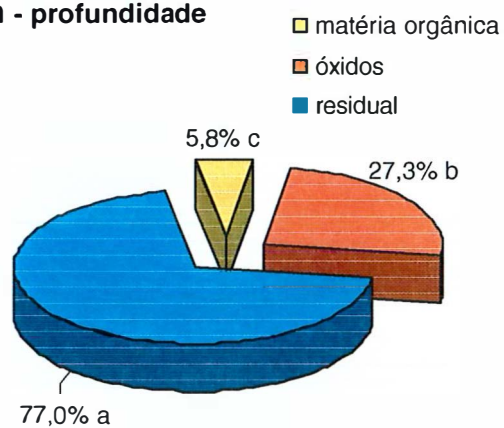
Cr - superfície**Cr - profundidade****Cu - superfície****Cu - profundidade****Zn - superfície****Zn - profundidade**

Figura 24 - Teores percentuais de Cr, Cu, Ni e Zn nas frações analisadas, do solo Latossolo Vermelho Distrófico (LVd), na camada superficial e subsuperficial. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

De uma maneira geral, nota-se uma forte tendência de retenção do Cr à matéria orgânica, tanto em LVAd – profundidade, como em LVAd + B e LVd + B, indicando que na presença de matéria orgânica e baixa competição com outros cátions, esta retenção é preferencial. A presença de Cr em profundidade ligado possivelmente à fração orgânica móvel pode representar riscos de lixiviação do metal. Alterações nos teores de matéria orgânica e no pH do solo implicariam na distribuição do Cr nas frações residual (caulinita, gibbsita, illita), e nos óxidos de ferro (hematita, amorfos), e/ou a liberação do mesmo à solução do solo.

4.5.4 Cobre

4.5.4.1 Tratamentos testemunha

Verifica-se que os teores totais de Cu, são maiores no LVd quando comparados ao LVAd, tanto em superfície quanto em profundidade, e que não há diferença significativa entre os teores encontrados nos dois horizontes para o mesmo solo, indicando uma distribuição homogênea do elemento (Tabela 18).

Quanto à distribuição do elemento nas diversas frações estudadas, nota-se que para o LVAd, em superfície o Cu encontra-se preferencialmente ligado à fração orgânica, e em profundidade encontra-se ligado à fração residual seguida da orgânica (Figura 22). Stevenson (1994) cita que quando a concentração de Cu é baixa, complexos com fortes ligações covalentes podem ser formados entre o metal e grupos COOH, como os encontrados pela técnica de FT-IR nos AHs destes solos na banda de 1710 cm^{-1} . Em superfície encontra-se 5,5% do Cu na forma trocável, provavelmente resultado de adubações anteriores realizadas neste solo.

Para o LVd, verifica-se que o Cu foi encontrado preferencialmente na fração residual seguida da fração óxidos e da fração orgânica. Esta seqüência de distribuição foi igual para superfície e profundidade (Figura 24). A recuperação do metal não diferiu significativamente entre superfície e profundidade para as frações orgânicas e óxidos, e foram maiores em profundidade para a fração residual (Tabela 18).

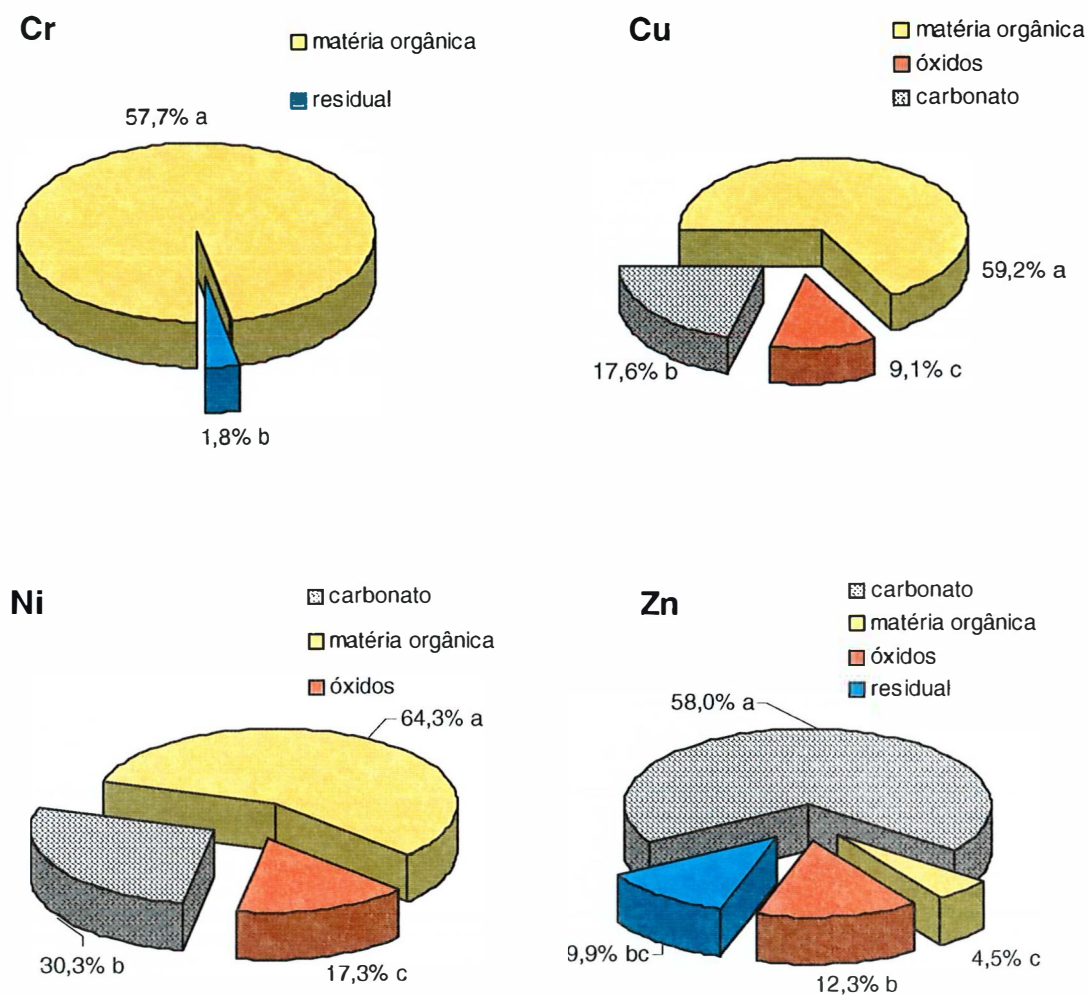


Figura 25 - Teores percentuais de Cr, Cu, Ni e Zn nas frações analisadas, do Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVAd) tratado com bio sólido, na camada subsuperficial. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

Os resultados de caracterização dos ácidos húmicos evidenciam maiores teores de C, N, O, maior acidez total, e maiores quantidades de spins g^{-1} , para os AHs do solo LVd quando comparado ao solo LVAd, caracterizando condições de adsorção do Cu e outros metais aos sítios adsorvedores. Porém, nota-se que a preferência na adsorção do Cu, no LVd, se dá pelas frações minerais e oxídicas, em detrimento da fração orgânica. Egreja Filho (2000) encontra resultados semelhantes na preferência de ligação do Cu à gibbsita e hematita, e a sua não retenção à goethita, mineral

predominante na fração óxidos do solo LVAd, contrariando a ordem de adsorção proposta por Cornell & Schwertmann (1996).

Também, Pierrisnard (1996) encontrou o Cu preferencialmente ligado à fração residual em superfície e profundidade de solos testemunha, assim como Bunzl et al. (1999) encontraram 20% do Cu ligado à fração residual em solos não contaminados. Ma & Rao (1997) encontraram 97% do Cu ligado à fração residual em cinco solos contaminados com metais, e em dois dos solos estudados, 35% Cu esteve associado à fração orgânica. Cabe salientar que os autores utilizaram o método de extração seqüencial de Tessier et al. (1979), que usa o peróxido de hidrogênio para extração dos metais ligados à matéria orgânica. Sabe-se que este extrator não é eficiente na oxidação total da matéria orgânica, e dessa forma, os teores de Cu nesta fração podem estar subestimados, restando na fração residual, onde os teores estariam superestimados. Ma & Uren (1998) utilizando, também, o mesmo método de extração seqüencial acima citado, encontraram 86% do Cu adicionado a solos retido na fração residual, e atribuem esta retenção à difusão do metal da superfície do mineral para dentro de microporos de óxidos de Fe cristalinos e minerais silicatados.

4.5.4.2 Solos tratados com biossólido

Também para os solos tratados com biossólido, o teor total de Cu foi maior para o tratamento LVd + B quando comparado ao tratamento LVAd + B (Figura 28). Os teores totais de Cu para os dois tratamentos foram significativamente maiores no horizonte superficial, onde o resíduo foi incorporado (Tabela 18). Porém, comparando-se os teores totais de Cu, no horizonte 0,25-0,50m, nos solos testemunhas e após o tratamento com biossólido, verifica-se que houve mobilização do elemento.

Ao comparar-se os teores de Cu encontrados em cada fração analisada, (Tabela 18), verifica-se que para o LVAd + B, estes são significativamente maiores na superfície, mas há um aporte do metal em profundidade quando comparado ao solo testemunha. Enquanto que para o LVd + B, os teores não diferem entre superfície e profundidade nas frações óxidos e residual, havendo inclusive uma redução nos teores de Cu nesta fração quando comparado ao solo testemunha, o que pode indicar a mobilização do elemento para outras frações, como por exemplo para a fração orgânica. Para as frações carbonatada e matéria orgânica, os teores são

significativamente maiores em profundidade, sendo provável que o Cu tenha sido transportado da superfície, junto a estas frações, ou tenha migrado das frações óxidos e residual para a fração orgânica, neste solo.

No solo LVd testemunha e tratado com biossólido, talvez o menor teor de matéria orgânica no horizonte subsuperficial quando comparado à superfície, proporcionou a ligação do Cu à fração mineral, provavelmente a gibbsita, visto que o recobrimento da matéria orgânica aos óxidos neste caso tende a ser menor.

No biossólido, o Cu encontra-se predominantemente ligado à fração orgânica seguido das frações residual, carbonatada e oxidica (Figura 20). McGrath & Cegarra (1992) encontram em biossólido, 30% do Cu ligado à fração orgânica, extraída com NaOH, seguida da fração residual.

Nota-se que nos solos tratados, houve aumento do Cu na fração carbonatada quando comparado ao biossólido, e redução do elemento nas demais frações. Madrid & Diaz-Barrientos (1992) verificaram que a adsorção de Cu, em solos tratados com doses crescentes de CaCO_3 , ocorreu concomitantemente à dessorção de Ca e Mg, indicando a dissolução dos carbonatos com a substituição do Cu pelo Ca, ou a entrada do metal pesado na estrutura do mineral. Os prováveis minerais formados por este processo seriam a malaquita ($\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$) ou a azurita ($\text{Cu}_3(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_2$).

Para o tratamento LVAd + B, o Cu esteve preferencialmente ligado a matéria orgânica seguido da fração carbonatada e depois da fração óxidos, em superfície e em profundidade. Apenas 0,4% do Cu esteve presente na fração trocável deste solo na camada superficial. Há uma redução nesta fração ao comparar com o solo testemunha, que pode ser explicada pela retenção do metal em outras frações. Isto deve-se ao acréscimo de cargas negativas proporcionado pelo aumento de grupos funcionais contendo oxigênio (substâncias húmicas), e pela maior ionização destes e de superfícies oxidicas, devido à elevação do pH do solo proporcionada pela adição do resíduo.

Kabala & Singh (2001) encontraram o Cu preferencialmente ligado à fração residual, seguido da fração orgânica em solos arenosos, vizinhos à área de mineração. O pH destes solos estava em torno de 7,0, e na camada superficial de um dos perfis estudados, a preferência de ligação foi semelhante à encontrada para o LVA + B, isto é o Cu ligado preferencialmente à matéria orgânica seguido da fração carbonato.

Ribeiro-Filho et al. (2000) realizando extrações seqüências de Cd, Cu, Zn e Pb, notaram a redução nos teores de Cu extraídos das frações carbonatadas e dos óxidos, com a adição de materiais orgânicos como vermicomposto, serragem de eucalipto e turfa a Latossolo Vermelho Amarelo distrófico.

No tratamento LVd+B, verifica-se, do mesmo modo, a ligação preferencial do Cu à fração matéria orgânica, seguido da fração residual, depois óxidos e finalmente a fração carbonatada. Miller et al. (1982) afirmaram que recuperação do Cu na fração carbonatada começa a ocorrer a partir da saturação dos sítios adsorvedores do metal na fração orgânica.

O teor de Cu na fração trocável do tratamento LVd+B foi de 0,2% ($0,3 \text{ mg kg}^{-1}$), maior que para o solo testemunha, indicando um equilíbrio entre a concentração do metal das fases solúveis (carbonatos) e mesmo pouco solúveis e a concentração na solução do solo.

A adição de biossólido e conseqüentemente de material orgânico favoreceu a retenção do metal à fração orgânica, em detrimento da fração residual, apresentada pelo solo testemunha. Amaral Sobrinho et al. (1998) verificaram que o Cu encontrava-se preferencialmente retido à fração residual e aos óxidos em estudos com a adição de resíduo siderúrgico ácido à camada Bt de um Argissolo Vermelho Amarelo. Esta afinidade do Cu por óxidos de Fe é bem conhecida, quando a presença da matéria orgânica ocorre em pequenas quantidades no solo.

É provável que uma parte das ligações estabelecidas entre o metal e as substâncias húmicas sejam, nesse caso, caracterizadas por ligações fortes (complexos), por causa da maior presença de grupos funcionais com fortes sítios adsorvedores, e uma outra parte esteja ligada através de ligações eletrostáticas e/ou ligadas aos grupos funcionais através de moléculas de água, em virtude da saturação dos sítios (Stevenson, 1994).

Os espectros FT-IR dos AHs dos tratamentos e do biossólido não diferem muito entre si, porém verifica-se para todos os tratamentos, a presença da banda correspondente a C=O de grupos COOH, que ocorre a 1710 cm^{-1} e para o biossólido esta desaparece, surgindo outras duas a 1624 e 1537 cm^{-1} , indicando estiramentos simétricos e assimétricos do íon carboxilato ligado de forma covalente ao metal. Para todos os tratamentos aparece a banda a 1710 cm^{-1} , e também bandas menores a 1650 , 1624 cm^{-1} que podem representar pequenas quantidades de íons carboxilatos

(COO⁻), indicando ligações coordenadas com metais, mais provavelmente o Cu. Outras mudanças na frequência de alguns picos, observadas nos espectros de FT-IR (Figuras 12 e 13), podem indicar a ligação de metais com os grupos funcionais dos ácidos húmicos.

Dos estudos de fluorescência (Item 4.4.6), verifica-se que a adição de bio sólido modificou os espectros de emissão dos AFs isolados do LVAd e os espectros de emissão e de excitação com varredura sincronizada dos AHs do LVd, indicando a incorporação de material menos condensado aos AHs nativos do solo e possíveis ligações de metais pesados a estas frações húmicas, nos respectivos solos. Nos AHs do solo LVd tratado, estas ligações ocorreriam em maiores proporções, em virtude dos maiores valores de I.R.F. apresentados e a estabilidade das ligações que também seriam maiores (Figura 19). Ladonin & Margolina (1997) confirmam a ligação específica, predominantemente covalente, que ocorre entre o Cu e grupos funcionais de AHs. Também, citam a independência desta ligação a outros fatores, como força iônica, competição com outros cátions como o cálcio, que se encontra em grandes concentrações nestes solos tratados com bio sólido.

Senesi et al. (1989) observaram a predominância de Cu em extratos de AHs digeridos, e isolados de solos tratados com doses crescentes de bio sólido. Notaram, também, uma seletividade bem definida dos sítios adsorvedores dos AHs a metais, como o Cu, Fe, Ni, Zn e Cr, formando rapidamente complexos fortes com os sítios disponíveis. Para o Cu verificaram a saturação dos sítios com a aplicação de 400 Mg ha⁻¹ de bio sólido.

Também, deve-se considerar a formação de complexos estáveis e solúveis de grupos funcionais dos AFs e o cobre. No LVAd, mudanças no espectro fluorescente de emissão dos AFs (Figura 16), após a adição de bio sólido indicam ligações de metais aos AFs deste solo. Estas ligações seriam em menor número quando comparada às ligações estabelecidas dos metais com os AHs do LVd tratado, em virtude dos menores valores de I.R.F. (Tabela 16) dos grupos fluoróforos. Também, seriam mais fracas quando comparada ao solo testemunha, por causa do menor grau de humificação dos AFs e, portanto, os complexos formados seriam mais sujeitos à liberação e/ou lixiviação, dada a mobilidade dos AFs e o menor teor de argila deste solo.

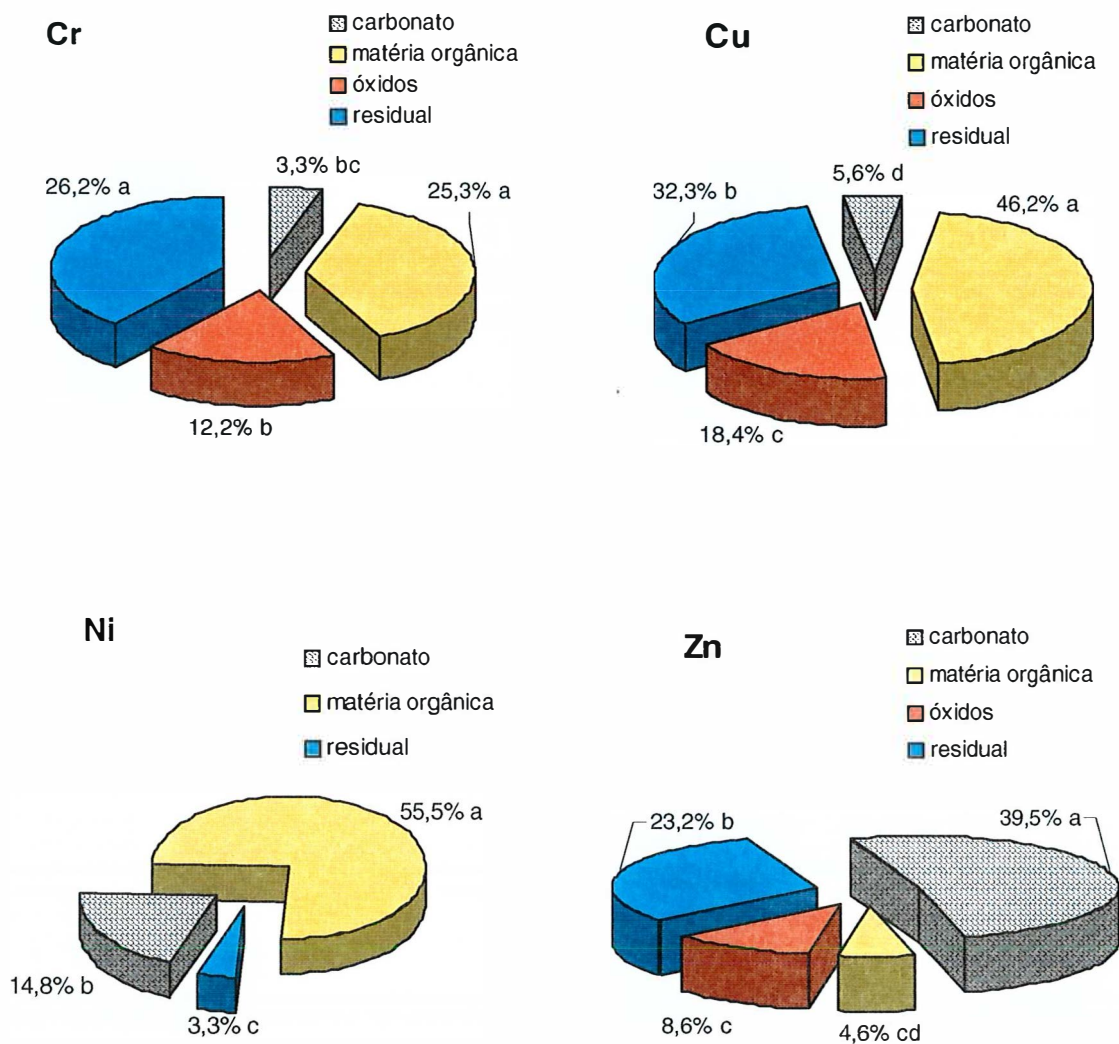


Figura 26 - Teores percentuais de Cr, Cu, Ni e Zn nas frações analisadas do Latossolo Vermelho Distrófico (LVd) tratado com biossólido, na camada subsuperficial. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

Senesi (1990) sugere dois possíveis mecanismos de ligação do Cu aos AFs, em função da razão metal:AF, e da intensidade relativa de fluorescência: um deles é verificado quando $Cu/AF < 1,0$, caracterizando a complexação do metal com a

substância húmica; o outro mecanismo ocorre quando a relação Cu/AF é maior que 1,0. Dessa forma, verifica-se que, para o tratamento LVA+B, tanto em superfície como em profundidade, e para o tratamento LVd+B em profundidade, há um aumento da I.R.F., quando comparada aos tratamentos testemunha, sugerindo mecanismos eletrostáticos de ligação do Cu aos sítios adsorvedores do AF, tornando-o mais susceptível a dessorção. Para o solo LVd, verifica-se redução da I.R.F. com a adição de biossólido, sugerindo a não saturação dos sítios adsorvedores, e mecanismos de complexação do metal, com melhor retenção do mesmo.

4.5.5 Níquel

O níquel não aparece nos tratamentos testemunha, mas apenas nos solos tratados com biossólido, nos quais o metal foi incorporado. Solos derivados de rochas ultramáficas apresentam maiores teores de Ni, enquanto solos derivados de rochas basálticas, graníticas e sedimentares apresentam baixíssimos teores naturais do elemento.

Os teores totais de níquel apresentam-se significativamente maiores no tratamento LVd + B, tanto em superfície como em profundidade, denotando uma maior retenção do metal neste solo (Figura 28). Os teores em superfície mostram-se significativamente maiores em superfície do que em profundidade, para os dois solos tratados (Tabela 19). Porém, considerando-se a ausência do elemento nos tratamentos testemunha, nota-se que o elemento movimentou-se para a camada subsuperficial.

No biossólido, o Ni esteve preferencialmente ligado à fração orgânica, seguida das frações óxidos, residual e carbonatada, e apenas 1,7% na fração trocável. McGrath & Cegarra (1992) encontraram o Ni ligado preferencialmente ligado à fração carbonatada em biossólidos.

Nos solos, o metal não é encontrado na fração trocável, mas é encontrado na fração carbonato, em todos os tratamentos, indicando que é possível a sua liberação, se ocorrerem mudanças de pH no sistema, podendo vir a ser liberado à solução do solo e/ou reabsorvido por outras frações mais estáveis.

Verifica-se a importância da fração carbonatada em todos os tratamentos. Mattigod & Page (1984) mostraram que os carbonatos e bicarbonatos exercem papel importante na distribuição do Ni em solos alcalinos, e as espécies dominantes seriam

NiCO_3 , NiHCO_3^+ e Ni(OH)^+ . Dessa forma, o pH do solo exerce papel fundamental na mobilidade do metal, tornando a porção do metal ligada à fração carbonatada susceptível a absorção pelas plantas e a lixiviação.

Pela análise da Tabela 19, verifica-se que o teor de Ni para os dois solos tratados com bio-sólido, na fração carbonatada, foi significativamente maior em profundidade quando comparado com a superfície, indicando a mobilidade do metal junto a esta fração.

A recuperação do elemento pode ser considerada satisfatória pelo método de extração utilizado. Nos tratamentos LVd + B superfície e LVA + B profundidade alcançou-se recuperação total, e apenas no tratamento LVd + B profundidade, o valor recuperado foi menor (73,6%). Egreja Filho (2000) cita que devido ao elevado pH e o caráter oxidante da solução de NaOCl 5%, reações de precipitação do Ni poderiam estar ocorrendo, e que o uso de complexantes como o EDTA dissolveria estes precipitados, aumentando a recuperação do elemento. A baixa recuperação do elemento na fração orgânica tem levado muitos autores a concluir que o Ni apresenta baixa afinidade pela matéria orgânica, mas esta baixa recuperação provavelmente deve-se a problemas de precipitação do Ni quando o extrator é o hipoclorito, ou a baixa eficácia de extratores como o peróxido de hidrogênio ou o pirofosfato de sódio.

Alguns trabalhos (Hickey & Kittrick, 1984; Mc Grath & Smith, 1990; Gomes, 1996; Pierrisnard, 1996) encontraram o níquel preferencialmente retido a fração residual, pois, possivelmente, o metal não é extraído com eficácia da fração orgânica e permanece na amostra até a extração da fração residual. Artola et al. (2000) elaboraram isotermas de adsorção de Ni, Cu, Cd e Zn em bio-sólido, e são categóricos em afirmar que o Ni mostra baixa afinidade aos sítios adsorvedores do resíduo quando comparado aos outros metais estudados.

Neste experimento, verifica-se que assim como o Cr, e o Cu, o Ni é preferencialmente retido pela fração orgânica, até mesmo no solo mais oxidíco (LVd). Nos tratamentos LVAd + B, o Ni é retido seqüencialmente nas frações carbonato e depois óxidos (Figuras 21 e 25). Para os tratamentos LVd + B, a adsorção em superfície é seguida pela fração residual e posteriormente à fração carbonatada, assim como aos óxidos (Figuras 23 e 25). Em profundidade, o metal une-se a fração carbonatada e em seguida a fração residual (Figura 25).

Bunzl et al. (1999) realizando extração seqüencial em solos contaminados e em dois tipos de resíduos, um rico em óxidos de ferro e outro resíduo de carvoaria, encontraram o Ni ligado predominante às frações óxidos e residual, visto que tais materiais não incorporaram matéria orgânica aos solos, e o teor original de matéria orgânica dos solos foi em torno de 2,0%. Também Li & Shuman (1996) encontraram correlações significativas de Ni com óxidos de Fe, porém o elemento não se correlacionou com os teores de matéria orgânica dos solos utilizados, que foi em torno de 2,0%. Os teores de matéria orgânica dos solos LVAd e LVd tratados com biossólido não foi maior que os valores acima apresentados, e mesmo assim verifica-se uma tendência do Ni a ligar-se ao material orgânico. Cabe salientar que a qualidade do material orgânico adicionado é mais importante que o seu teor. A adição de biossólido representa não somente a incorporação de grupos funcionais ácidos, representantes das substâncias húmicas, mas, também, de material orgânico mais solúvel, como polissacarídeos, aminoácidos, com grupamentos amino, sulfato, fosfatos, que contribuem com a capacidade de adsorção de metais dos solos (Artola et al., 2000).

Senesi et al. (1989) e Egreja Filho (2000) salientam a grande afinidade do Ni a materiais orgânicos, principalmente quando estes estão adicionados aos solos. Dudley et al. (1987) ressalta que em solos tratados com biossólidos provenientes de estação de tratamento de esgotos (ETE), o níquel encontra-se sob a forma de complexos orgânicos.

Nota-se que o teor de Ni em profundidade foi significativamente maior que em superfície, na fração orgânica (Tabela 19), refletindo a mobilidade do elemento junto a esta fração, devido a formação de complexos solúveis (com ácidos fúlvicos, por exemplo), ou a lixiviação do metal sob outras formas e reabsorção na fração orgânica neste horizonte. O mesmo comportamento do elemento foi observado na fração óxidos do tratamento LVd+B, indicando neste caso, a lixiviação do elemento sob outras formas e a retenção do metal em subsuperfície.

Egreja Filho (2000) em experimentos de adsorção de metais à superfície de minerais sintetizados, observou forte afinidade do Ni a goethita e a gibbsita e cita que na goethita ocorre freqüentemente a difusão do metal no interior do mineral devido a falhas ou poros na sua superfície. O metal alojado no interior do cristal pode torna-se menos disponível ainda, em razão de reprecipitações de íons de Fe^{3+} que selam os poros e falhas do cristal (Schwertman et al., 1985). A afinidade do metal a goethita,

talvez explique sua retenção à fração óxidos, após as retenções prioritárias (matéria orgânica seguida da fração carbonato) nos tratamentos do LVAd, mais ricos em goethita que o LVd, e a ausência do metal na fração residual.

A retenção do Ni à forma residual (após as retenções preferenciais), nos tratamentos do LVd, provavelmente deva-se ao fato de o metal encontrar-se ocluído dentro do mineral (goethita) e esta oclusão estar selada pela precipitação com íons Fe^{3+} , mais abundantes neste solo, e, dessa forma somente na fração residual, o metal foi liberado, devido ao tratamento com ácidos fortes. Nesta fração, o Ni poderia estar, também, ligado à caulinita, como observado por Eick & Fendorf (1998) através de técnica de espectrometria de absorção de raios X com estrutura fina estendida. Neste caso, a adsorção do Ni^{2+} provocaria aumento na dissolução da caulinita em meio alcalino (extrator), liberando Al^{3+} . Posteriormente, o Al^{3+} seria reabsorvido à fase sólida, na forma de hidróxido e uma parte do Ni estaria ligado sob a forma de hidróxido misto de Ni e Al. A retenção do Ni à gibsita, na forma residual, não pode ser descartada nestes solos, por causa da afinidade do metal com este óxido.

4.5.6 Zinco

4.5.6.1 Tratamentos testemunha

O teor total de Zn foi maior no LVd que no LVAd, tanto em superfície como em profundidade (Tabela 28). No solo LVAd não há diferença significativa para o teor total de Zn em superfície e profundidade, enquanto que para o solo LVd o teor é significativamente maior em superfície (Tabela 20).

Para o LVAd a distribuição de Zn nas frações estudadas foi significativamente maior na fração óxidos, seguida da fração orgânica tanto em superfície quanto em profundidade (Figuras 22 e 25). A fração trocável do LVAd apresentou grande percentual do elemento ($0,9 \text{ mg kg}^{-1}$) quando comparado até mesmo aos solos tratados. A maior recuperação do Zn ocorrida na fração óxidos do LVAd em superfície e profundidade, assim como secundariamente nos tratamentos LVAd + B superfície, e profundidade, possa talvez ser explicada pela afinidade do Zn pela goethita, visto que este solo apresenta maior teor de goethita que o LVd, como representado pelos difratogramas das Figuras 8 e 9.

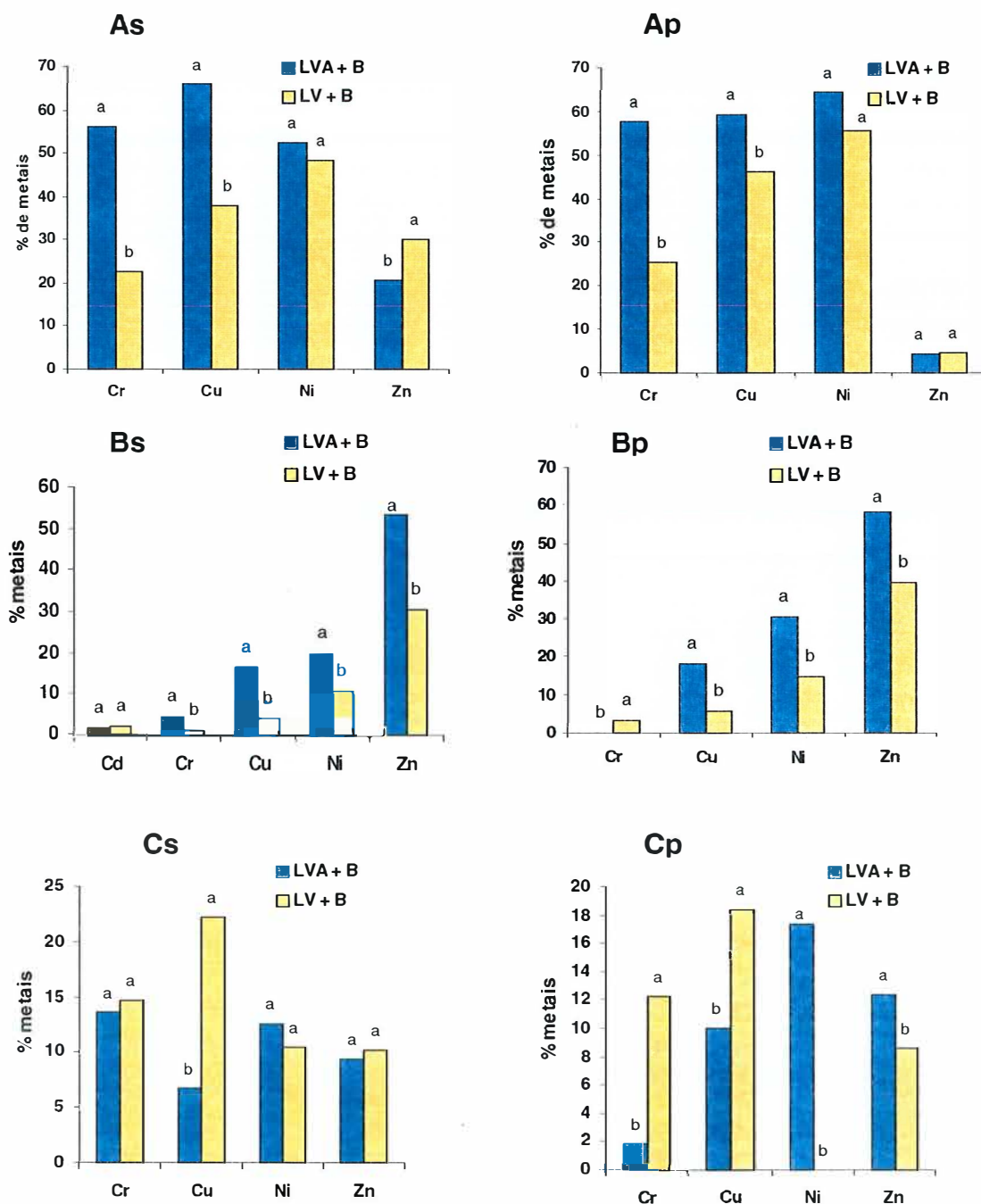


Figura 27 - Teores percentuais de metais nas frações: A = matéria orgânica; B=carbonato; C = óxidos; s = superfície e p = profundidade. LVA = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico; LV = Latossolo Vermelho Distrófico, e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Teste t, $p < 0,05$).

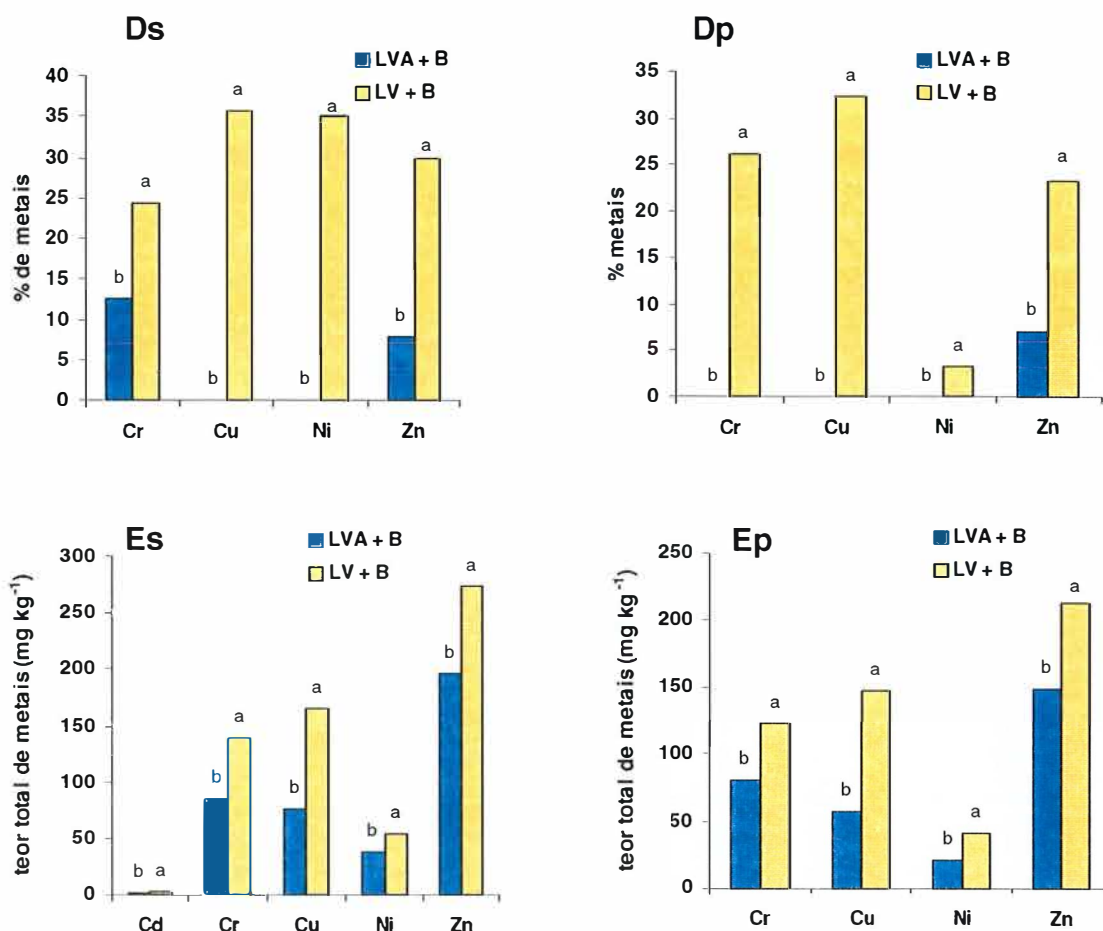


Figura 28 - Teores percentuais de metais na fração residual, Ds = em superfície e Dp = em profundidade, e teores totais de metais (mg kg^{-1}), Es = em superfície, Ep = em profundidade. LVAd = Latossolo Vermelho Amarelo distrófico; LVd = Latossolo Vermelho Distrófico, e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Teste t, $p < 0,05$).

De acordo com Brummer et al. (1988) existe uma grande afinidade do Zn^{+2} pela superfície da goethita, e a adsorção ocorre basicamente em 3 fases: adsorção do metal à superfície externa; difusão do metal para sítios no interior do mineral e a sua fixação no interior da goethita. A etapa da adsorção acredita-se que seja rápida e as demais são mais lentas e dependentes do pH do meio e raio iônico do metal. Outros metais como o Ni e Cd, também podem difundir-se para dentro da goethita. Desta

forma, pode-se esperar que com o tempo os metais ligados às formas oxidícas tornem-se cada vez menos disponíveis, e são características como estas que tornam os latossolos bons adsorvedores de metais.

Para o LVd, tanto em superfície como em profundidade, o Zn predominou na fração residual, seguida da fração óxidos, e orgânica. Na fração trocável houve ausência do elemento, e isto este fato se agrava pois o Zn encontra-se provavelmente fortemente retido à fração residual, na gibbsita por exemplo. Provavelmente o equilíbrio entre a fase sólida e solução do solo esteja ocorrendo por meio da fração orgânica, e um extrator complexante (DTPA, EDTA) expressaria melhor esta realidade, em termos de biodisponibilidade do elemento.

Tabela 17. Teores percentuais (%) de Cr em cada fração, em superfície e profundidade. Média de quatro repetições⁽¹⁾

Tratamento ⁽²⁾	trocável	carbonato	matéria orgânica	óxidos	residual	total
			<i>LVA_d + B⁽²⁾</i>			
Superfície	nd ⁽³⁾	4,5 a	56,3 a	13,6 a	12,4 a	84,4 a
Profundidade	nd	0,0 b	59,6 a	0,0 b	0,0 b	80,7 a
			<i>LVA_d⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	6,0 b	nd	nd	nd	24,6 a
Profundidade	nd	91,3 a	nd	nd	nd	4,2 b
			<i>LV_d+ B⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	1,2 a	22,6 a	14,7 a	24,2 a	139,3 a
Profundidade	nd	3,3 a	25,3 a	12,2 a	26,2 a	122,8 a
			<i>LV_d⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	nd	0,0 b	0,0 b	87,8 a	41,7 a
Profundidade	nd	nd	3,5 a	13,9 a	64,8 b	44,9 a

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si. Teste t (p<0,05).

⁽²⁾ LVA_d = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV_d = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

⁽³⁾ nd = Abaixo do limite de detecção do método

A distribuição do elemento nas frações obedeceu a uma ordem lógica: na fração residual esteve distribuído da mesma forma tanto em superfície quanto em profundidade; na fração orgânica, a recuperação foi significativamente maior em superfície. Na fração óxidos foi maior em profundidade (Tabela 20).

Tabela 18. Teores percentuais (%) de Cu em cada fração, em superfície e profundidade. Média de quatro repetições⁽¹⁾

Tratamento ⁽²⁾	trocável	carbonato	matéria orgânica	óxidos	residual	total <i>mg. kg⁻¹</i>
			<i>LVA_d + B⁽²⁾</i>			
Superfície	0,4	16,5 a	65,8 a	6,8 a	nd	76,2 a
Profundidade	nd ⁽³⁾	13,1 b	59,5 b	9,1 b	nd	56,5 b
			<i>LVA_d⁽²⁾</i>			
Superfície	5,5	nd	20,9 a	nd	nd	6,1 a
Profundidade	nd	nd	27,7 b	nd	nd	5,6 a
			<i>LV_d + B⁽²⁾</i>			
Superfície	0,2	4,3 b	37,9 b	22,2 a	35,7 a	165,3 a
Profundidade	nd	5,6 a	46,2 a	18,4 a	32,3 a	147,9 b
			<i>LV_d⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	nd	8,8 b	26,5 a	66,6 b	66,8 a
Profundidade	nd	nd	11,1 b	30,6 a	72,4 a	67,3 a

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si. Teste t (p<0,05).

⁽²⁾ LVA_d = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV_d = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biofóssido.

⁽³⁾ nd = Abaixo do limite de detecção do método

4.5.6.2 Solos tratados com biofóssido

A adição do biofóssido praticamente igualou o teor total do elemento nos tratamentos LVA_d + B e LV_d + B, quando se considera o teor nativo do elemento nos solos testemunhas (Tabela 20), e o teor em superfície foi significativamente maior que o teor em profundidade para o tratamento ambos os tratamentos. Nota-se distribuição do elemento adicionado via biofóssido entre as duas camadas, reflexo da mobilidade do metal.

A fração trocável foi mais expressiva para o tratamento LV_d + B superfície, e para o tratamento LVA_d + B nota-se uma reabsorção do elemento em outras frações quando comparado ao LVA_d. Para ambos os tratamentos, nota-se grande percentual do metal nas frações carbonatada e orgânica, de modo que o equilíbrio entre o teor de Zn nestas fases e a solução do solo é facilmente mantido.

Em ambos os tratamentos, nota-se que o Zn está ligado à fração carbonatada, em ambas as camadas (Figura 21 a 23). No tratamento LVd + B, o Zn encontra-se igualmente ligado às formas carbonatadas, orgânica e residual.

A recuperação do elemento na fração carbonatada foi maior para o tratamento LVA+B quando comparado ao LVd+B (Figura 27) e para o primeiro o Zn foi igualmente recuperado tanto em superfície quanto em profundidade, enquanto que para o segundo a recuperação foi maior em profundidade, indicando a sua maior lixiviação na forma carbonatada para este solo (Tabela 20).

A forma predominante do Zn sob a forma de carbonato seria, possivelmente, a smithsonita ($ZnCO_3$), e a origem geoquímica tanto do Cd como do Zn são vizinhas, visto que os dois elementos têm estruturas iônicas e eletronegatividades similares (Pierrisnard, 1996). Dessa forma, verifica-se a afinidade tanto do Cd como do Zn pela fração carbonatada. Madrid & Diaz-Barrientos (1992) verificaram que tanto o Cd como o Zn ligam-se a carbonatos, porém a adsorção do Zn se dá com a substituição do Ca na estrutura da calcita, enquanto que para o Cd provavelmente ocorre a adsorção na superfície do mineral.

Inúmeros trabalhos citam a afinidade do Zn aos carbonatos quando estes encontram-se presentes no solo. Sposito et al. (1982), Emmerich et al. (1982), Chang et al. (1986) e Ramos et al. (1994) encontraram o Zn ligado preferencialmente aos carbonatos, seguidos da fração orgânica e residual, na superfície de solos tratados com bio sólido. Ribeiro-Filho et al. (2001) mostraram que a adição de $CaCO_3$ a Latossolo Vermelho Amarelo distrófico reduziu o teor de Zn na fração trocável, assim como reduziu o teor de Zn na parte aérea de plantas de *Mimosa caesalpiniaefolia*. Esta redução estaria associada ao Zn retido à fração carbonatada, e a geração de cargas negativas na superfície da caulinita e dos óxidos com a elevação do pH do solo, proporcionando maior retenção do metal a estas frações.

No tratamento LVAd + B em superfície, o Zn encontra-se secundariamente ligado à fração orgânica e, posteriormente ligado às frações óxidos e residual e, em profundidade, é retido às frações óxidos e residual e posteriormente à fração orgânica (Figura 21 e 25). Em profundidade, para o tratamento LVd+B, o Zn é secundariamente retido às fração residual, depois óxidos e posteriormente matéria orgânica (Figura 25).

Nota-se uma menor afinidade do Zn aos materiais orgânicos quando comparado ao Cr, Cu e Ni. Verificou-se uma forte afinidade do metal ao carbonato e

aos óxidos, e à fração residual. Apenas em superfície, verifica-se uma maior participação da matéria orgânica na retenção do Zn, e observa-se no tratamento LVA+d que a matéria orgânica compete igualmente pela adsorção do elemento, junto às frações carbonato e residual. Sposito et al. (1981) e Dudley et al. (1987) citam haver uma grande afinidade do Zn por compostos orgânicos de baixo peso molecular, como os ácidos fúlvicos, propiciando a formação de complexos estáveis, porém solúveis. Stevenson (1994) cita que o Zn forma complexos orgânicos de estabilidade intermediária, e solúveis, e que a elevação do pH do meio pode aumentar a formação destes complexos. Mc Bride et al. (1997) reforça a idéia de que não somente o teor de matéria orgânica, mas também o pH do solo, interfere na menor solubilidade dos complexos orgânicos formados. Os autores encontraram redução na solubilidade do Cd e Zn a maiores valores de pH e presença de material orgânico, inferindo que mesmo tais elementos que não têm tendência de formar complexos fortes com a matéria orgânica, tornaram-se menos disponíveis.

Tabela 19. Teores percentuais (%) de Ni em cada fração, em superfície e profundidade. Média de quatro repetições⁽¹⁾

Tratamento ⁽²⁾	trocável	carbonato	matéria orgânica	óxidos	residual	Total
			<i>LVA_d + B⁽²⁾</i>			
Superfície	nd ⁽³⁾	20,0 b	52,5 b	12,6 b	nd	38,3 a
Profundidade	nd	30,3 a	64,3 a	17,3 a	nd	20,5 b
			<i>LVA_d⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Profundidade	nd	nd	nd	nd	nd	nd
			<i>LV_d + B⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	10,7 b	48,3 b	10,4 a	35,0 a	55,2 a
Profundidade	nd	14,8 a	55,5 a	0,0 b	3,3 b	40,5 b
			<i>LV_d⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Profundidade	nd	nd	nd	nd	nd	nd

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si. Teste t (p<0,05).

⁽²⁾ LVA_d = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LV_d = Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

⁽³⁾ nd = Abaixo do limite de detecção do método

Tabela 20. Teores percentuais (%) de Zn em cada fração, em superfície e profundidade. Média de quatro repetições⁽¹⁾

Tratamento ⁽²⁾	trocável	carbonato	matéria orgânica	óxidos	residual	total
			<i>LVA + B⁽²⁾</i>			
Superfície	nd ⁽³⁾	53,1 a	20,5 a	9,4 a	7,8 a	196,0 a
Profundidade	nd	58,1 a	4,5 b	12,3 a	6,3 a	148,0 b
			<i>LVA⁽²⁾</i>			
Superfície	9,9	nd	24,0 b	36,8 b	nd	8,8 a
Profundidade	nd	nd	38,8 a	52,1 a	nd	7,3 a
			<i>LV + B⁽²⁾</i>			
Superfície	0,4	30,3 b	30,2 a	10,3 a	29,8 a	274,0 a
Profundidade	nd	39,5 a	4,6 b	8,6 a	23,2 b	212,7 b
			<i>LV⁽²⁾</i>			
Superfície	nd	nd	11,7 a	17,1 b	75,5 a	63,5 b
Profundidade	nd	nd	5,8 b	27,3 a	77,0 a	73,4 a

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si. Teste t (p<0,05).

⁽²⁾ LVAd = Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (testemunha); LVd= Latossolo Vermelho Distrófico (testemunha), e + B refere-se aos mesmos solos tratados com biossólido.

⁽³⁾ nd = Abaixo do limite de detecção do método

Miller et al. (1982) encontraram o Zn retido preferencialmente à fração orgânica e depois à fração carbonatada em solos contaminados com Cd, Zn, Cu e Pb, e relatam que a ocupação dos sítios adsorvedores da matéria orgânica pelo Cu e Pb, reduz o teor de Zn na fração orgânica.

A Figura 27 mostra que para o tratamento LVd + B superfície, houve uma maior recuperação do Zn na fração orgânica do que para o LVd tratado, e em profundidade o elemento foi igualmente recuperado, para ambos os tratamentos. A maior recuperação do Zn em superfície pelo tratamento LVAd + B, talvez se relacione com a retenção de metais aos AFs caracterizada por mudanças no espectro de fluorescência dos AFs isolados deste tratamento quando comparado ao tratamento testemunha.

Para a fração óxidos, o Zn foi igualmente recuperado para os dois tratamentos em superfície (Figura 27), refletindo o mesmo papel dos óxidos na retenção do metal em ambos os casos. Em profundidade, a recuperação foi maior para o tratamento LVA+B.

A recuperação do Zn na fração carbonatada é significativamente maior para o tratamento LVAd + B quando comparado ao tratamento LVd + B, em ambas as camadas (Figura 27). Comportamento contrário ocorre na fração residual, onde a recuperação do elemento é maior para o tratamento LVd + B. Conclui-se, portanto, que a presença de carbonato foi mais importante na retenção do metal para o tratamento LVAd + B, e para o tratamento LVd + B a forma residual exerce maior influência, devido provavelmente ao maior teor de argila e à presença de gibbsita.

Shuman (1977) realizou experimento com adsorção de Zn em goethita e gibbsita de diferentes idades e graus de cristalinidade, verificaram que a retenção do Zn na forma mal cristalizada é dez vezes maior do que nas formas mais cristalizadas, e que a força de ligação do metal ao óxido “amorfo” de alumínio (gibbsita) foi três vezes maior que a força de ligação ao óxido de ferro “amorfo”. A maior recuperação de Zn na fração residual do tratamento LVd + B quando comparada ao tratamento LVAd+B, pode ser explicada, portanto, pela presença de gibbsita no LVd e sua ausência no solo LVAd como mostram os espectros de raios X na Figura 7. A adição de biossólido proporcionou aumento no teor de ferrihidrita dos solos, de modo que grandes quantidades de metais podem estar sendo adsorvidas a este óxido mal cristalizado.

Na fração residual, o Zn pode também estar ligado a caulinita, pois de acordo com Shuman (1991) há uma alta afinidade do Zn pelos sítios adsorvedores do mineral, ou mesmo a argilas 2:1, como a illita presente neste solo como mostra o difratograma de raios X da Figura 8.

Shuman (1977) e Li & Shuman (1996) relatam que os óxidos de Fe e Mn são grandes adsorvedores de Zn, e que esta adsorção se dá de forma específica como ocorre com os fosfatos, que podem concorrer com a adsorção do Zn na superfície dos óxidos. Porém, Kuo (1986) adicionando concomitantemente fosfato e os metais Ca, Zn e Cd a amostras de óxidos de ferro, verificaram que os óxidos são capazes de adsorver fosfatos e metais ao mesmo tempo, e que a idade do óxido só reduziu a retenção de Ca, enquanto que a retenção de fosfatos e dos outros metais não foi afetada. Dessa forma, a adsorção específica de fosfatos que ocorre nestes solos ricos em óxidos de Fe, talvez não esteja concorrendo com a adsorção de metais pesados.

5 CONCLUSÕES

Considerando-se as condições experimentais adotadas no presente trabalho, pode-se concluir que:

- A incorporação de bio sólido aos solos estudados promoveu alterações qualitativas de maneira diferenciada em suas frações húmicas avaliadas. No LVAd as maiores modificações foram verificadas nos ácidos fúlvicos, ao passo que no LVd os ácidos húmicos apresentaram maiores alterações.
- Apesar do baixo grau de humificação do bio sólido utilizado, sua aplicação resultou em aumento na quantidade de grupamentos carboxílicos e fenólicos, os quais apresentam elevada capacidade de retenção de metais. A menor quantidade de grupos carboxílicos presentes nos AHs do bio sólido quando comparada aos grupos fenólicos, e o preenchimento de sítios de adsorção das substâncias húmicas por metais pesados, ainda no resíduo, resultam em menor elevação da CTC dos solos tratados com bio sólido quando comparado a tratamentos com outros resíduos orgânicos. A compostagem de bio sólidos com resíduos vegetais seria uma prática essencial para a obtenção de materiais com maior grau de humificação e, conseqüentemente, com maior capacidade de retenção de metais pesados por meio de interações de alta estabilidade.
- A importância da fração inorgânica para a retenção de metais foi mais acentuada no Latossolo Vermelho Distrófico, provavelmente pelo seu maior teor de argila. A adição de bio sólido aumentou o teor de ferrihidrita nos solos, conferindo adsorção de metais aos óxidos de ferro mal cristalizados. Porém, as quantidades de matéria orgânica e carbonatos aplicadas via bio sólido foram suficientes para conferir um papel secundário aos minerais na retenção dos metais.

- Apesar da aplicação de dose não usual de biossólido, a cana-de-açúcar mostrou-se tolerante à salinidade e não apresentou problemas de fitotoxicidez decorrentes da presença de metais. Houve, ainda, aumento de produção, com o aumento do perfilhamento e do número de gemas por colmo, características almejadas na cultura da cana. A maioria das características tecnológicas não foi alterada com o uso do resíduo. Todos os metais foram encontrados no caldo da cana, mas apenas o teor de Cr no LVAd tratado com biossólido mostrou-se elevado. Nas folhas, somente o Cd não foi detectado. Dadas as condições de vaso em que se estabeleceu a cultura e a dose de biossólido utilizada, pode-se afirmar que os metais pesados não são preocupantes neste sistema.
- A extração seqüencial de metais pesados mostrou que o Cd, Ni e Zn, foram preferencialmente retidos pelos carbonatos. Verificou-se, também, a mobilidade do Cr, Cu, Ni e Zn junto à fração carbonatada e orgânica. Desse modo, pode-se inferir que a diminuição do pH dos solos estudados, ao longo do tempo, poderá favorecer a dessorção desses elementos e, por conseqüência, sua lixiviação.
- Com a aplicação do biossólido observou-se uma redistribuição dos metais originalmente ligados aos óxidos de ferro e aos minerais contemplados na fração residual, os quais passaram a ser retidos em quantidades mais expressivas pela fração orgânica.
- Há necessidade de maiores pesquisas visando-se o desenvolvimento de métodos de extração seqüencial mais seletivos e portanto mais precisos.
- A complexidade observada no presente trabalho para o comportamento dos metais pesados adicionados ao solo via aplicação de biossólidos, reitera a necessidade de monitoramento constante em áreas agrícolas e/ou florestais que receberam esses resíduos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALGUZ, E.S. Produção de matéria seca e absorção de nutrientes pelo sorgo granífero cultivado em solo que recebeu lodo de esgoto. Jaboticabal, 1993. 104p. Trabalho (Graduação). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Campus Jaboticabal.
- ALLEONI, L.R.F.; CAMARGO, O.A. Ponto de efeito salino nulo: proposição de nomenclatura. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p.5-11, 1993.
- ALLOWAY, B.J. The origins of heavy metals in soils. In: ALLOWAY, B.J. (Ed.) **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1990. p.19-38.
- ALLOWAY, B.J. Cadmium. In: ALLOWAY, B.J. (Ed.) **Heavy metals in soils**. London:Blackie Academic and Professional Publishers, 1995. p.122-151.
- ALVES, M.E.; MACEDONIO, C.R.; LAVORENTI, A. Ponto de efeito salino nulo: determinação analítico-computacional a partir de dados de titulação potenciométrica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**/ 2002 /no prelo/.
- AMALFITANO, C.; PIGNALOSA, V.; AURIEMMA, L.; RAMUNNI, A. The contribution of lignin to the composition of humic acids from a wheat straw amended soil during 3 years of incubation in pots. **Journal of Soil Science**, v.43, p.495-504, 1992.
- AMARAL SOBRINHO, N.M.B. Interação dos metais pesados de resíduos siderúrgicos com solo Podzólico Vermelho Amarelo. Viçosa, 1993.163p. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Viçosa.

- AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X.; OLIVEIRA, C. Solubilidade de metais pesados em solo tratado com resíduo siderúrgico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.9-16, 1997.
- AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X.; COSTA, L.M.; OLIVEIRA, C. Mobilidade de metais pesados em solo tratado com resíduo siderúrgico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, p.345-353, 1998.
- ANDRÉ, E.M. Atividade biológica do solo e disponibilidade de nutrientes e metais pesados para a cultura do sorgo granífero em solo acrescido de lodo de esgoto. Jaboticabal, 1994. 123p. Trabalho (Graduação). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Campus Jaboticabal.
- ANJOS, A.R.M. Lixiviação de espécies químicas em latossolos sucessivamente tratados com biossólido e disponibilidade de metais pesados para plantas de milho. Piracicaba, 1999. 191p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- ANJOS, A.R.M; MATTIAZZO, M.E. Lixiviação de íons inorgânicos em solos repetidamente tratados com biossólido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p. 927-938, 2000.
- ARTOLA, A.; MARTIN, M.; BALAGUER, M.D.; RIGOLA, M. Isotherm model analysis for the adsorption of Cd(II), Cu(II), Ni(II), and Zn(II) on anaerobically digested sludge. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.232, p.64-70, 2000.
- BAES, A.U.; BLOOM, P.R. Diffuse reflectance and transmission Fourier Transform Infrared (DRIFT) spectroscopy of humic and fulvic acids. **Soil Science Society of America Journal**, v.53, p. 695-700, 1989.
- BAES, A.U.; BLOOM, P.R. Fulvic acid ultraviolet-visible spectra: Influence of solvent and pH. **Soil Science Society of America Journal**, v.54, p.1248-1254, 1990.
- BARANCIKOVÁ, G.; SENESI, N.; BRUNETTI, G. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. **Geoderma**, v.78, p.251-266, 1997.

- BARCELÓ, J.; POSCHERNRIEDER, C.H. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, v.2, p.345-61, 1992.
- BARLETT, R.J.; KIMBLE, J.M. Behavior of chromium in soils: II Hexavalent form. **Journal of Environmental Quality**, v.5, p.383-386, 1976.
- BARRETO, M.C.V. Degradação da fração orgânica de diferentes resíduos e efeitos em algumas propriedades químicas e físicas de dois solos. Piracicaba, 1995. 106p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- BASTA, N.T.; SLOAN, J.J. Bioavailability of heavy metals in strongly acidic soils treated with exceptional quality biosolids. **Journal of Environmental Quality**, v.28, p.633-638, 1999.
- BECKETT, P.H.T. The use of extractants in studies on trace amounts of Cu, Pb, and Cd by inorganic particulates. **Water, Air and Soil Pollution**, v.35, p.171-185, 1989.
- BELL, P.F.; JAMES, B.R.; CHANEY, R.L. Heavy metal extractability in long term sewage sludge and metal salt amend soils. **Journal of Environmental Quality**, v.20, p.481-486, 1991.
- BENITES, V. M. Caracterização química e espectroscópica da matéria orgânica e suas relações com a gênese de solos da Serra do Brigadeiro, Zona da Mata Mineira. Viçosa, 1998. 123p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa.
- BENITES, V.M.; MENDONÇA, E.S. Propriedades eletroquímicas de um solo eletropositivo influenciadas pela adição de diferentes fontes de matéria orgânica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, p.215-221, 1998.
- BERTI, W.R.; JACOBS, L.W. Chemistry and phytotoxicity of soil trace elements from repeated sludge applications. **Journal of Environmental Quality**, v.25, p.1025-1032, 1996.

- BERTON, R.S.; CAMARGO, O.A.; VALADARES, J.M.A.S. Absorção de nutrientes pelo milho em resposta a adição de lodo de esgoto a 5 solos paulistas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.13, p.187-190, 1989.
- BERTONCINI, E.I. Lixiviação de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.737-744, 1999.
- BERTONCINI, E.I. Mobilidade de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. Piracicaba, 1997. 90p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- BOARETTO, A.E.; MURAOKA, T.; NAKAGAWA, J.; CHITOLINA, J.C. Níquel e cádmio em grãos de feijão produzidos em solo adubado com lodo de esgoto. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20., Piracicaba, 1992. **Adubação, produtividade, ecologia**: anais. Piracicaba: SBCS, 1992. p.400-401.
- BOYD, S.A.; SOMMERS, L.E.; NELSON, D.W. Changes in the humic acid fraction of soil resulting from sludge application. **Soil Science Society of America Journal**, v.44, p.1179-1186, 1980.
- BOYD, S.A.; SOMMERS, L.E. Humic and fulvic acid fractions from sewage sludges and sludge-amended soils. In: Mac CARTHY, P.; CLAPP, C.E.; MALCOLM, R.L. & BLOOM, P.R., (Ed.) **Humic substances and crop sciences**: selected readings. Madison: SSSA, 1990. p. 203-220.
- BROWN, S.; CHANEY, R.; ANGLE, J.S. Subsurface liming and metal movement in soils amended with lime-stabilized biossolids. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.724-732, 1997.
- BRUMMER, G.W.; GERTH, J.; TILLER, K.G. Reactions kinetics of the adsorption and desorption of nickel, zinc and cadmium by goethite. I. Adsorption and diffusion of metals. **Journal of Soil Science**, v.39, p.37-52, 1988.

- BUNZL, K.; TRAUTMANN-SHEIMER, M.; SCHRAMMEL, P. Partitioning of heavy metals in soil contaminated by slag: A redistribution study. **Journal of Environmental Quality**, v.28, p.1168-1173, 1999.
- BUURMAN, P.; van LAGEN, B.; VELTHORST, E.J. **Manual for soil and water analysis**. Wageningen: Backhuys Publishers Leiden, 1996. 314p.
- CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: Fundação IAC, 1986. 94p. (Boletim Técnico, 106).
- CAMOBRECO, V.J.; RICHARDS, B.K.; STEENHUIS, T.S.; PEVERLY, J.H.; Mc BRIDE, M.B. Movement of heavy metals through undisturbed and homogenized soil columns. **Soil Science**, v.161, p.740-750, 1996.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; MORAES, A.A.; RUMJANEK, V.M.; OLIVARES, F.L. Avaliação de características de ácidos húmicos de resíduos de origem urbana: Métodos espectroscópicos (UV-Vis, IR, RMN ¹³C-CP/MAS) e Microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.741-750, 2000.
- CHANDRIKA, V.; CHATTOPADHYAY, T.; GHOSH, K. Complexation of humic substances with oxides of iron and aluminum. **Soil Science**, 162, 1:28-45, 1998.
- CHANG, A.C.; PAGE, A.L.; WARNEKE, J.E.; GRGUREVIC, E. Sequential extraction on soil heavy metals following a sludge application. **Journal of Environmental Quality**, v.13, p.33-38, 1984.
- CHAO, T.T. Use of partial dissolution techniques in geochemical exploration. **Journal of Geochemical Exploration**, v.20, p.101-135, 1984.
- CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. **Soil Science Society of America Journal**, v.41, p.352-358, 1977.

- CHRISTL, I.; KNICKER, H.; KÖGEL-KNABNER, I.; KRETZSCHMAR, R. Chemical heterogeneity of humic substances: characterization of size fractions obtained by hollow-fibre ultrafiltration. **European Journal of Soil Science**, v.51, p.617-625, 2000.
- COLNAGO, L.A.; MARTIN NETO, L.; MIYAZAWA, M.; VIEIRA, E.M.; BONAGAMBA, T.J.; PANEUCCI, H. Estudo da razão E4/E6 e aromaticidade por RMN de C¹³ em estado sólido de AH de um Latossolo Roxo. In: **ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**, 2., São Carlos, 1997. Anais. São Carlos: SBSH, 1997. p.167.
- CORNELL, R.M. & SCHWERTMANN, U. **The Iron Oxides**: structure, properties, reactions, occurrence and uses. Weinheim: VCH, 1996. 573p.
- CRIPPS, R.W.; MATOCHA, J.E. Effect of sewage application to ameliorate iron deficiency of grain sorghum. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.22, p.1931-1940, 1991.
- DAVIES, B.E.; COULSON, C.B.; LEWIS, D.A. Polyphenols in plant humus and soil. **Journal of Soil Science**, v.15, p.299-309, 1964.
- DICK, D.P. ; GOMES, J.; ROSINHA, P.B. Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 22:603-611, 1998.
- DICK, D.P. Caracterização por NMR e por análise elementar de substâncias húmicas de dois solos de diferentes mineralogias. In: **ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**, 2., São Carlos, 1997. Anais. São Carlos: SBSH, 1997. p.92-93.
- DICK, D.P.; ROSINHA, P.; GOMES, J. Extração de substâncias húmicas com NaOH 0,5 mol L⁻¹ e com pirofosfato 0,15 mol L⁻¹ pH 7,0, seguido de NaOH 1 mol L⁻¹. (compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., Rio de Janeiro, 1997. **Informação, globalização, uso do solo**: anais. Rio de Janeiro: SBCS, 1997.

- DORDAS, C.; SAH, R.; BROWN, P.H.; ZENG, Q.; HU, H. Remobilização de micronutrientes e elementos tóxicos em plantas superiores. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; RAIJ, B. van; ABREU, C.A. (Ed.) **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal:CNPq; FAPESP; POTAFOS, 2001. cap. 3, p.43-69, 2001.
- DUDLEY, L.M.; McNEAL, B.L.; BAHAM, J.E.; CORAY, C.S.; CHENG, H.H. Characterization of soluble organics compounds and complexation of copper, nickel, and zinc in extracts of sludge amended soils. **Journal of Environmental Quality**, v.6, p. 341-348, 1987.
- DOWDY, R.H.; HAM, G.E. Soybean growth and elemental content as influenced by soil amendments of sewage sludge and heavy metals: seedling studies. **Agronomy Journal**, v.69, p.300-303, 1977.
- EATON, A.D.; CLESCERI, L.S.; GRENNBERG, A., E. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19 ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 1995. 1082p.
- EGREJA FILHO, F.B. Extração seqüencial de metais pesados em solos altamente intemperizados: Utilização de componentes-modelo e planejamento com misturas ternárias na otimização do método. Viçosa, 2000. 287p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
- EICK, M.J.; FENDORF, S.E. Reaction sequence of nickel (II) with kaolinite: mineral dissolution and surface complexation and precipitation. **Soil Science Society of America Journal**, v.62, p.1257,1267, 1998.
- ELLIOT, H.A.; LIBERATI, M.R.; HUAND, C.P. Competitive adsorption of metals by soil. **Journal of Environmental Quality**, v.15, p.214-219, 1986.
- EMMERICH, W.E.; LUND, L.J.; PAGE, A.L.; CHANG, H.M. Solid phases forms of heavy metals in sewage sludge-treated soils. **Journal of Environmental Quality**, v.11, p. 174-178, 1982.

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.
- EPSTEIN, E.; TAYLOR, J.M.; CHANEY, R.L. Effects of sewage sludge and sludge compost applied to soil on some soil physical and chemical properties. **Journal of Environmental Quality**, v.5, n.4, p.422-426,1976.
- EVANS, L.T.; RUSSEL, E.W. The adsorption of humic and fulvic acids by clays. **Journal of Soil Science**, v.10, p.118-132, 1959.
- EWALD, M.; BERGER, P.; VISSER, S.A. UV-Visible absorption and fluorescence properties of fulvic acids of microbial origin as functions of their molecular weights. **Geoderma**, v.43, p.11-20, 1988.
- FLETCHER, P.; BECKETT, P.H.T. The chemistry of heavy metals in digested sewage sludge – II - Heavy metal complexation with soluble organic matter. **Water Resource**, v.21, p. 1163-1172, 1987.
- GHOST, K.; SCHNITZER, M. Fluorescence excitation spectra and viscosity behavior of a fulvic acid and its copper and iron complexes. **Soil Science Society of America Journal**, v.45, p.25-29, 1981.
- GILLMAN, G. P.; SUMPTER, E. A. Modification to the compulsive exchange method for measuring exchange characteristics of soils. **Australian Journal of Soil Research**, v.2, p.61-66, 1986.
- GIUSQUIANI, P.L. ; GIGLIOTTI, G.; BUSSINELLI, D. Mobility of heavy metals in urban waste - amended soils. **Journal of Environmental Quality**, v.21, p.330-335, 1992.
- GIUSQUIANI, P.L.; GIGLIOTTI, G.; BUSINELLI, D.; MACCHIONI, A. Spectroscopic comparison between humic and fulvic acids from urban waste compost and soil. In: SENESI, N.; MIANO, T.M. (Ed.) **Humic substances in the global environment and implications on human health**. London:Elsevier Science, 1994. p.1303-1310.

- GOMES, P.C. Fracionamento e biodisponibilidade de metais pesados influenciados por calagem e concentrações de metais em Latossolo Vermelho amarelo. Viçosa, 1996. 161p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
- GOMES, P.C.; FONTES, M.P.F.; COSTA, L.M. Metodologia de extração fracionada de metais pesados em amostras de um latossolo.(compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., Rio de Janeiro, 1997. **Informação, globalização, uso do solo**: anais. Rio de Janeiro: SBCS, 1997.
- HARDING, S.A.; CLAPP, C.E.; LARSON, W.E. Nitrogen availability and uptake from field soils five years after addition of sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, v.14, n.1, p.95-100,1985.
- HERNANDEZ, T.; MORENO, J.I.; COSTA, F. Infrared spectroscopic characterization of sewage sludge humic acids. Evidence of sludge organic matter-metal interations. **Agrochimica**, v.37, n.1, p.12-17,1993.
- HICKEY, M.G.; KITTRICK, M.G. Chemical partitioning of cadmium, copper, nickel and zinc in soils and sediments containing high levels of heavy metals. **Journal of Environmental Quality**, v.13,p.372-376, 1984.
- HOLTZCLAW, K.M.; KEECH, D.A.; PAGE, A.L.; SPOSITO, G.; GANJE, T.J.; BALL, N.B. Trace metal distributions among the humic acid, the fulvic acid and precipitable fractions extracted with NaOH from sewage sludges. **Journal of Environmental Quality**, v.7,p.124-127, 1978
- HOODA, P.S.; ALLOWAY, B.J. The effect of liming on heavy metal concentrations in wheat, carrots and spinach grown on previously sludge applied soils. **Journal of Agricultural Science**, v.127, p.289-294, 1996.
- HOSONO, M.; RII, P; TACHIBANA, Y.; OHTA, Y. Alleviation by heavy metal toxicities in crop plants. (II) Effects of calcium concentration in nutrient solutions on heavy metal accumulation in rice and tomato plants. **Journal of the Science and Manure**, v.50, p.358-360, 1979./ Resumo em **CAB Abstract on CD-ROM**, 1979-1981./

- HSU, P.H. Aluminum hydroxides and oxyhydroxides. In: DIXON, J. B.; KITTRICK, J. A.; MILFORD, M. H.; WHITE, J. L. **Minerals in soil environments**. Madison: SSSA, 1977. cap.4. p.99-143.
- JACKSON, M. L.. **Soil chemical analysis: a advanced course**. Madison: University of Wiscosin, 1975. 855p.
- JONES Jr., J.B.A. **A guide for the hidroponic e soiless culture grower**. Portland: Timber Press, 1983. 124p.
- KABALA, C.; SINGH B.R. Fractionation and mobility of copper, lead, and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. **Journal of Environmental Quality**, v.30, 2001, p.485-492.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRP Press, 1984. 315p.
- KALBITZ, K.; GEYER, S.; GEYER, W. A comparative characterizatio of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances. **Chemosphere**, v. 40, p.1305-1312, 2000.
- KAMOGAWA, M. Y.; MIYAZAWA, M. Avaliação da absorção de metais pesados do lodo de esgoto pelo feijoeiro.(compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., Rio de Janeiro, 1997. **Informação, globalização, uso do solo**: anais. Rio de Janeiro: SBCS, 1997.
- KÄMPF, N.; SCHWERTMANN, U. The 5-M-concentration treatments for iron oxides in soils. **Clays and Clay Minerals**, v.30, n.6, p.401-408, 1982.
- KENG, J.C.W.; UEHARA, G. Chemistry, mineralogy and taxonomy of Oxisols and Ultisols. **Proceedings of Soil Crop Science Society**, v.33, p.119-126, 1974.
- KLEIN, H.; JENSCH, U.E.; JAGER, H.J. Heavy metal uptake by maize plants from soil contaminated with zinc, cadmium and copper oxide. **Angewandte Botanik**, v.53, p.19-30, 1979./ Resumo em **CAB Abstract on CD-ROM**, 1979-81./

KONONOVA, M.M. **Soil organic matter**. Oxford: Pergamon Press. 1966. 505p.

KOTÁS, J.; STASICKA, Z. Chromium occurrence in the environmental and methods of its speciation. **Environmental Pollution**, v. 107, p.263-283, 2000.

KUO, S. Concorrent sorption of phosphate and zinc, cadmium, or calcium by a hydrous ferric oxide. **Soil Science Society of America Journal**, v. 50, p.1412-1419, 1986.

LADONIN, D.V. ; MARGOLINA, S.E. Interaction between humic acids and heavy metals. **Eurasian Soil Science**, v.30, p.710-715, 1997.

LAKE, D.L.; KIRK, P.W.W.; LESTER, J.N. Fractionation, characterisation and speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge amended soils: a review. **Journal of Environmental Quality**, v.13, p.175-183, 1984.

LAMY, I. ; BOURGEOIS, S. ; BERMOND, A. Soil cadmium mobility as a consequence of sewage sludge disposal. **Journal of Environmental Quality**, v.22, p.731-737, 1993.

LI, Z.; SHUMAN, L.M. Extractibility of zinc, cadmium, and nickel in soils amended with EDTA. **Soil Science**, v.161, p. 226-232, 1996.

LINDSAY, W. L. **Chemical equilibria in soils**. New York: John Wiley, 1979. 449p.

LOGAN, T.J.; CHANEY, R.L. Utilization of municipal waste waters and sludge on land metals. In: PAGE, A.L.. (Ed) **Utilization of municipal wastewaters and sludge on land**. Riverside: University of California, 1983, p.325-336.

LOGAN, T.J.; LINDSAY, B.J.;GOINS, L.E.; RYAN, J.A. Field assessment of sludge metal bioavailability to crops: sludge rate response. **Journal of Environmental Quality**, v.26, n.2, p.534-550,1997.

LUNE, P. van; ZWART, K.B. Cadmium uptake by crops from the subsoil. **Plant Soil**, v.189, p.231-237, 1997.

MA, L.Q.; RAO, G.N. Chemical fractionation of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.259-264,1997.

- MA, Y.B.; UREN, N.C. Transformations of heavy metals added to soil application of a new sequential extraction procedure. **Geoderma**, v.84, p.157-168, 1998.
- MADRID, L.; DIAZ BARRIENTOS, E. Influence of carbonate on the reaction of heavy metals in soils. **Journal of Soil Science**, v.43, p.709-721, 1992.
- MAHLER, R.J.; BINGHAM, F.T.; SPOSITO, G.; PAGE, A.L. Cadmium enriched sewage sludge application to acid and calcareous soils: Relation between treatment, cadmium in saturation extracts, and cadmium uptake. **Journal of Environmental Quality**, v.9, p.359-364, 1980.
- MANN, S. S.; RITCHIE, G. S. P. The influence of pH on the forms of cadmium in four west australian soils. **Australian Journal of Soil Research**, v.31, p.255-270, 1993.
- MARQUES, J.C.; SAAB, S.C.; MELO, W.J.; MARTIN NETO, L. Caracterização de substâncias húmicas de solos submetidos à adição de lodo de esgoto por espectroscopia. In: In: **ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**, 2., São Carlos, 1997. Anais. São Carlos: SBSH, 1997. p.159.
- MARQUES, M. O. Efeitos da aplicação de lodo de esgoto na produtividade e qualidade da cana-de-açúcar. Piracicaba, 1990. 164p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- MARQUES, M.O. Incorporação de lodo de esgoto em solo cultivado com cana-de-açúcar. Jaboticabal, 1996. 111p. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Campus Jaboticabal.
- MARTIN NETO, L.; ANDRIULLI, A.E.; TRAGHETTA, D.G. Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil size fractions of a Mollisol. **Soil Science**, v. 156, p.365-376, 1994.
- Mc BRIDE, M.; SAUVÉ, S. ; HENDERSHOT. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. **European Journal of Soil Science**, v.48, p.337-346, 1997.
- McGRATH, S.P. Chromium and nickel. In: ALLOWAY, B.J. (Ed.) **Heavy metals in soils**. London: Blackie Academic and Professional Publishers, 1995. p. 152-178.

- McGRATH, S.P.; CEGARRA, J. Chemical extractability of heavy metals during and after long-term applications of sewage sludge. **Journal of Soil Science**, v.43, p.313-321, 1992.
- McLAUGHLIN, M.J.; PALMER, L.T.; TILLER, K.G.; BEECH, T.A.; SMART, M.K. Increased soil salinity causes elevated cadmium concentrations in field grown potato tubers. **Journal of Environmental Quality**, v.23, p.1013-8, 1994.
- MEKARU, T.; UEHARA, G. Anion adsorption in ferruginous tropical soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 36, p.296-300, 1972
- MEHRA, O.P.; JACKSON, M.L. Iron oxide removal from soils and clay by dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. **Clays and Clays Minerals**, v.7, p. 317-327,1960.
- MIANO, T.; SPOSITO, G.; MARTIN, J.P. Fluorescence spectroscopy of model humic acid-type polymers. **Geoderma**, v.47, n.349-359, 1990.
- MIANO, T.M.; SPOSITO, G.; MARTIN, J.P. Fluorescence spectroscopy of humic substances. **Soil Science Society of America Journal.**, v. 52, p.1016-1019, 1988.
- MIKI, V.; HANNINEN, K. Characterization of humic material formed by composting of domestic and industrial biowastes. 2. Spectroscopic evaluation of humic acid structures. **Chemosphere**, v.34, p.1639-1651, 1997.
- MILLER, W.P.; MARTENS, D.C.; ZELAZNY, L.W. Effect of sequence in extraction of trace metals from soils. **Soil Science Society of America Journal**, v.50, p.598-601, 1986.
- MILLER, W.P.; MC FEE, W.W.; KELLY, J.M. Mobility and retention of heavy metals in sandy soils. **Journal of Environmental Quality**, v.12, p.579-584, 1983.

- MILLIOLI, V.S.; SILVA, F.C.da; NUNES, R.A.; BUDKIN, A.; PERSHIN, S.; HERNÁNDEZ, T.; BOARETTO, A.E.; CARVALHO, I.M. de; RAMALHO, A.L. Avaliação dos impactos ambientais da aplicação de lodo de esgoto na cana-de-açúcar: Metais pesados e carga orgânica no solo. (compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., Rio de Janeiro, 1997. **Informação, globalização, uso do solo**: anais. Rio de Janeiro: SBCS, 1997.
- MULLA, D.J.; PAGE, A.L.; GANJE, A.L. Cadmium accumulations and bioavailability in soils from long-term phosphorus fertilization. **Journal of Environmental Quality**, v.9, p.408-412, 1980.
- NAIDU, R.; KOOKANA, M.E.; HARTER, R.D.; TILLER, K.G. Cadmium sorption and transport in variable charge soils: A review. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.602-617, 1997.
- NEAL, R.H. ; SPOSITO, G. Effects of soluble organic matter and sewage sludge amendments on cadmium sorption by soils at low cadmium concentrations. **Soil Science**, v.142, p.164-172, 1986.
- NRIAGU, J.O. A global assessment of nature sources of atmospheric trace metals. **Nature**, v.338, p. 47-49, 1989.
- OLIVEIRA, F. C. Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo urbano num latossolo vermelho amarelo cultivado com cana-de-açúcar. Piracicaba, 2000. 247p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- OLIVEIRA, F.C.; MARQUES, M.O.; BELLINGIERI, P.A.; PERECIN, D. Lodo de esgoto como fonte de macronutrientes para cultura do sorgo granífero. **Scientia Agricola**, v.52, p.360-367, 1995.
- PAPADOPOULOS, P.; RODWELL, D.L. The reactions of cadmium with calcium carbonate surfaces. **Journal of Soil Science**, v.39, p.23-36, 1988.

- PARFITT, R.L.; CHILDS, C.W. Estimation of forms of Fe and Al: A review, and analysis of contrasting soils by dissolution and Mössbauer methods. **Australian Journal of Soil Research**, v.26, p.121-144, 1988.
- PEPIN, R.G.; COLEMAN, P. Paper mill sludge and ash as soil conditioner. **Biocycle**, v.25, p.52-55, 1984.
- PICCOLO, A.; STEVENSON, F.J. Infrared spectra of Cu^{2+} , Pb^{2+} and Ca^{2+} complexes of soil humic substances. **Geoderma**, v.27, p.195-208, 1982.
- PIERRISNARD, F. Impact de l' amedment dès boues residuaires de la ville de Marseille sur de sols a vocation agricole: comportement du Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn, des hydrocarbures et des composes polares. Marseille, 1996. 408p. These (Docteur Géosciences de l' Environnement) – Université de Droit d' Economie et dès Sciences d' AIX-MARSEILLE.
- PLANO NACIONAL DO AÇÚCAR E ÁLCOOL. **Manual de metodologia das seções de nutrição e fertilidade do Planalsucar**, Araras, 1979. 34p.
- PROVENZANO, M.R.; SPOSITO, G. Application of two dimensional fluorescence spectroscopy to the study of pine litter in different ecosystems. In: SENESI, N.; MIANO, T.M. **Humics substances in the global environmental**. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. p.335-342.
- RAIJ, B. van; PEECH, M. Eletrochemical properties of some Oxisols and Alfisols of the tropics. **Soil Science Society of America Journal**, v.36; p.587-598, 1972.
- RAIJ, B. van. Determinação do ponto de carga zero em solos. **Bragantia**, v.32, p.337-347, 1973.
- RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres; POTAFOS, 1991. 343p.
- RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. Campinas: Instituto Agronômico – Fundação IAC, 1996. 285p. (Boletim Técnico 100).

- RAMALHO, J.F.G.P.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X. Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso contínuo de adubação fosfatada e água de irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.971-979, 1999.
- RAMOS, L.; HERNANDEZ, L.M.; GONZALEZ, M.J. Sequential fractionation of cooper, lead, cadmium and zinc in soils from or near Doñana National Park. **Journal of Environmental Quality**, v.23, p.50-57, 1994.
- REAL, C.; BARREIRO, R.; CARBALLEIRA, A.. The application of microwave heating in sequential extractions of heavy metals in estuarine sediments. **Science of Total Environmental**, v. 152, p.135-142, 1994.
- RIBEIRO-FILHO, M.R.; SIQUEIRA, J.O.; CURI, N.; SIMÃO, J.B.P. Fracionamento e biodisponibilidade de metais pesados em solo contaminado, incubado com materiais orgânicos e inorgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.495-507, 2001.
- RIFFALDI, R.; SCHNITZER, M. Electron spin ressonance spectrometry of humic substances. **Soil Science Society of America Journal**, v.36, p.301-305,1972.
- RIVIERO, C.; SENESI, N.; PAOLINI, J.; D'ORAZIO, V. Characteristics of humic acids of some Venezuelan soils. **Geoderma**, v.81, p.227-239, 1998.
- ROBERTSON, W.R.; LUTRICK,M.V.; YUAN, T.L. Heavy applications of liquid-digested sludge on three Ultisols. I. Effects on soil chemistry. **Journal of Environmental Quality**, v.11, p.278-282, 1982.
- RODELLA, A.A. Métodos de avaliação de materiais orgânicos e efeitos de sua incorporação ao solo sobre a mobilização de macronutrientes. Piracicaba, 1996. 148p. Tese (Livre Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- ROOS, S. M. **Toxic metals in soil-plant-systems**. Chichester: John Wiley, 1994. 469p.

- ROSELL, R.A.; ANDRIULO, A.E.; CRESPO, M.B.; MIGLIERINA, A.M. Humic acids properties of an Argiudoll soil under two tillage systems. **Science of Total Environmental**, v.81/82, p. 391-400, 1989.
- RUSSEL, J.D. Infrared methods. In: WILSON, M.J. (Ed.). **A handbook of determinative methods in clay mineralogy**. London: Blackie & Sons, 1983. p.133-173.
- SAITO, Y.; TAKAHASHI, K. Studies on heavy metal pollution in agricultural land. 5. Interaction between heavy metals in zinc, nickel, cobalt and copper absorption and translocation in rice plants. **Bulletin of the Shikoku Agricultural Experiment Station**, v.33, p.23-31, 1979./ Resumo em **CAB Abstract on CD-ROM**, 1979-81./
- SARRUGE, J.R. ; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56p.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user' s guide**: version 6.12. Cary, 1996. 1686p.
- SAUNDERS, W.M.; WILLIAN, S.E.G. Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. **Journal of Soil Science**, v.6, p.254-267, 1955.
- SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: PAGE, A.L. (Ed.) **Methods of soil analysis**. 2.ed. Madison: ASA;SSSA, 1982. cap.30, p.581-594.
- SCHOFIELD, R.K.; Effect of pH on eletric charges carried by clays particles. **Journal of Soil Science**, v.1, p.1-8, 1949.
- SCHWERTMANN, U.; CAMBIER, P.; MURAD, E. Properties of goethites of varying cristallinity. **Clays and Clay Minerals**, v.33, p.369-378, 1985.
- SCHWERTMANN, U.; LATHAN, M. Properties of iron oxides in some new caledonian oxisols. **Geoderma**, v.39, p.105-123,1986.
- SCHWERTMANN, U.; TAYLOR, R.M. Iron oxides. In: DIXON, J. B.; KITTRICK, J. A.; MILFORD, M. H.; WHITE, J. L. **Minerals in soil environments**. Madison: SSSA, 1977. cap.5. p.145-192.

- SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: PAGE, A.L. (Ed.) **Methods of soil analysis**, 2.ed. Madison: ASA;SSSA, 1982. cap.30, p.581-594.
- SENESI, N.; SPOSITO, G.; HOLTZCLAW, K.M.; BRADFORD, G.R. Chemical Properties of metal-humic acid fractions of a sewage sludge – amended Aridisol. **Journal of Environmental Quality**, v.18, p.186-194, 1989.
- SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part II. The fluorescence spectroscopy approach. **Analytica Chimica Acta**, v.232, p.77-106, 1990.
- SENESI, N.; MIANO, T.M.; PROVENZANO, M.R.; BRUNETTI, G. Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v.152, n.4, p.259-271, 1991.
- SENESI, N. Metal humic substance complexes in the environment. Molecular and mechanistic aspects by multiple spectroscopic approach. In: ADRIANO, D.C. (Ed.). **Biogeochemistry of trace metals**. New York:Lewis Publishers, 1992. cap. 16, p.429-496.
- SENESI, N.; MIANO, T.M.; BRUNETTI, G. Humic like substances amendments and effects on native soil humic substances. In: PICCOLO, A. (Ed.) **Humic substances in terrestrial ecosystems**. Amsterdam: Elsevier Science, 1996. cap. 14, p.531-593.
- SENESI, N.; LOFFREDO, E. The Chemistry of Soil Organic Matter. In: SPARKS, D.L. (Ed.) **Soil physical chemistry**. Boca Raton: CRC Press, 1999. cap.6, p.242-370.
- SHIOWATANA, J.; TANTIDANAI, N.; NOOKABKAEW, S.; NACAPRICHA, D. A novel continuous-flow sequential extraction procedure for metal speciation in solids. **Journal of Environmental Quality**, v.30, p.1195-1205, 2001.
- SHUMAN, L.M. Adsorption of Zn by Fe and Al hydrous oxides as influenced by aging and pH. **Soil Science of Society America Journal**, v. 41, p.703-706, 1977.
- SHUMAN, L.M. Zinc, manganese and copper in soil fractions. **Soil Science**, v.127, p.10-17, 1979.

- SHUMAN, L.M. Chemical forms of micronutrients in soils. In: MORTVEDT, J.J. (Ed.) **Micronutrients in agriculture**. 2. ed. Madison: SSSA, 1991. p.113-144.
- SHUMAN, L.M. Organic waste amendments effect on zinc fractions of two soils. **Journal of Environmental Quality**, v.28, p.1442-1447, 1999.
- SILVA, F.C. da. Uso Agronômico do lodo de esgoto. Efeitos na fertilidade do solo e qualidade da cana-de-açúcar. Piracicaba, 1995. 165p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SILVA, J.E. da; MEYER, S.T.; RESCK, D.V.S.; MIRANDA, L.N. de; RAMAGEM, R.D.; SANTOS, A.R. dos. Uso do lodo de esgoto como fonte de fósforo e nitrogênio para o milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25., Viçosa, 1995. **Resumos expandidos**. Viçosa: SBCS, 1995. v. 4, p. 2276-2278.
- SILVIEIRA, D.J.; SOMMERS, L.E. Extractability of Cu, Zn, Cd and Pb in soils incubated with sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, v.6, p.47-52, 1977.
- SLOAN, J.J.; BASTA, N.T. Remediation of acid soils by using alkaline biosolids. **Journal of Environmental Quality**, v.24, n.6, p.1097-1103, 1995.
- SMILDE, K.W. Heavy metal accumulation in crops grow sludge amended with metal salts. **Plant and Soil**, v.62, p.3-14, 1981.
- SOLTANPOUR, P.N.; JONES JR, J.; WORKMAN, S.M. Optical emission spectrometry. In: PAGE, A. L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R.(Ed). **Methods of soil analysis**. Madison: ASA; SSSA, 1982. p.29-65.
- SOON, Y.K. Solubility and sorption of cadmium in soils amended with sewage sludge. **Geoderma**, v.32, p.85-95, 1981
- SORTERBERG, A. Effects of sewage sludge application on the yield of different crops and uptake of some heavy metals. **Journal of the Scientific Agricultural Society of Finland**, v.53, p.1-15, 1981./ Resumo em **CAB Abstract on CD-ROM**, 1979-81./

- SPOSITO, G.; LUND, L.J.; CHANG, A.C. Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, and Pb in solid phases. **Soil Science Society of America Journal**, v.46, p.260-264, 1982.
- SPOSITO, G.; HOLTZCLAW, K.M.; Le VESQUE, C.S.; JOHNSTON, C.T. Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: II. Comparative study of the acid fulvic fraction. **Soil Science Society of America Journal**, v.46, p.260-264, 1982.
- STACEY, S.; MERRINGTON, G.; McLAUGHLIN, M.J. The effect of aging biosolids on the availability of cadmium and zinc in soil. **European Journal of Soil Science**, v. 52, p.313-321, 2001.
- STEELINK, C.; TOLLIN, G. Free radicals in soil. In: McLAREN, A.D.; PETERSON, G.M. (Ed.) **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1985. v.5, p.147-169.
- STEVENSON, F.J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. Ottawa: John Wiley, 1982. 443p.
- STEVENSON, F.J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2.ed. New York: John, 1994. 496p.
- STOVER, R.C.; SOMMERS, L.E.; SILVIERA, D.J. Evaluation of metals in wastewater sludge. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v.48, p.2165-2175, 1976.
- SWEEGERS, C.; CONINCK, H.C.; MEEKES, H.; van ENCKERVORT, W.J.P.; HIRALAL, I.D.K.; RIJKEBOER, A. Morphology, evolution and other characteristics of gibbsite crystals grown from pure and impure aqueous sodium aluminate solutions. **Journal of Crystal Growth**, v.233, p.567-582, 2001.
- SWIFT, R.S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D., (Ed.) **Methods of soil analysis: pt 3: Chemical methods**. Madison: SSSA, 1996. p. 1011-1069. (Book Series, 5).

- TAYLOR, R.W.; XIU, H.; MEHADI, A.A.; SHUFORD, J.W.; TADESSE, W. Fractionation of residual cadmium, copper, nickel, lead, and zinc in previously sludge-amended soil. **Communications of Soil Science and Plant Analysis**, v.26, p.2193-2204, 1995.
- TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the especiation of particulate trace metals. **Analysis Chemical**, v.51, p.844-851, 1979.
- TURNER, P.E.T.; WOOD, R.A.; MEYER, J.H. Investigations into the use of sewage sludge as a soil amendment for sugarcane. **Proceedings of the Annual Congress South African Technologists**, n.65, p.53-57, 1991.
- URE, A.M. Trace element speciation in soils, soils extracts an solution. **Microchimica Acta**, vol 2, p.49-57, 1991.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 40 CFR Parts 257,403 and 503. Final rules: standards for the use of sewage sludge. **Federal Register**, v.58, p. 9248-9415, 1993.
- VANZOLINI, S. Incorporação de cálcario, lodo de esgoto e vinhaça na cultura do sorgo granífero (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) em areia quartzosa, em condições de casa-de-vegetação. Jaboticabal, 1994. 114p. Trabalho (Graduação). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista. Campus Jaboticabal.
- VARADACHARI, C.; CHATTOPADHYAY, T. Complexation of humic substances with oxides of iron and aluminum. **Soil Science**, v. 162, p.28-34, 1997.
- VIETZ Jr., F.G. Chemistry and availability of micronutrients in soils. **Agricultural and Food Chemistry**, vol. 10, p. 174-178.
- VINKLER, P.; LAKATOS, B.; MEISEL, J. Infrared spectroscopic investigations of humic substances and their metal complexes. **Geoderma**, v. 15, p.231-242, 1976.

- WANG, P.; QU, E.; LI, Z.; SHUMAN, L.M. Fractions and availability of nickel in loessial soil amended with sewage or sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.795-801, 1997.
- WARMAR, P.R. Fertilizer, pig manure and sewage sludge on Timothy and soil. **Journal of Environmental Quality**, v.15, p.95-100, 1986.
- YANG, A.; SPOSITO, G.; LLOYD, T. Total luminescence spectroscopy of aqueous pine litter (O horizon) extracts: organic ligands and their Al or Cu complexes. **Geoderma**, v.62, p.327-344, 1994.
- YOUNG, S.D.; TYE, A.; CARSTENSEN, L.; RESENDE, L.; CROUT, N. Methods for determination labile cadmium and zinc in soil. **European Journal of Soil Science**, v.51, p.129-136, 2000.
- ZAMBELLO Jr.; ORLANDO FILHO, J. Diagnose foliar e adubação fosfatada em cana-de-açúcar para diferentes solos do Estado de São Paulo. In: **Congresso Nacional dos Técnicos Açucareiros do Brasil**, 1. Maceió, 1979. Anais. Maceió:STAB, 1979. p.315-318
- ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, K.; MILTNER, A.; MIANO, T.M.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralizing of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v.79, p.117-161, 1997
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A.; SILVEIRA JUNIOR, P. **Sistemas de análise estatística para microcomputadores (SANEST)**. Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 1984. 151p.
- ZSOLNAY, A.; BAIGAR, E.; JIMENEZ, M.; STEINWEG, B.; SACCOMANDI, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v.38, p.45-50, 1999.