

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA
SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOSSANIDADE E BIOTECNOLOGIA APLICADA

DISSERTAÇÃO

POTENCIALIDADES DO VERMICOMPOSTO, DE SEU RESÍDUO
SÓLIDO (DA EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS), DO
BIOCHAR E DE HUMINA PARA O USO NA REMEDIAÇÃO DE SOLO
CONTAMINADO COM CÁDMIO

TATIANA DE OLIVEIRA PINTO

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**POTENCIALIDADES DO VERMICOMPOSTO, DE SEU RESÍDUO
SÓLIDO (DA EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS), DO
BIOCHAR E DE HUMINA PARA O USO NA REMEDIAÇÃO DE SOLO
CONTAMINADO COM CÁDMIO**

TATIANA DE OLIVEIRA PINTO

Sob a Orientação do Professor
Ricardo Luis Louro Berbara

e Co-orientação do Dr.
Andrés Calderín García

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de concentração em Biotecnologia Aplicada.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

TATIANA DE OLIVEIRA PINTO

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de concentração **Biotecnologia Aplicada**.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM

Ricardo Luis Louro Berbara
(Orientador)

Izabel de Oliveira da Mota Dra. UniFOA

Nelson Mazur Dr. UFRRJ

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao criador por este presente maravilhoso que é a vida e pela capacidade de alcançar mais um objetivo. Agradeço também pelas pessoas que o Senhor colocou em meu caminho ao longo de minha jornada até aqui. Algumas delas me inspiram, me ajudam, me desafiam e me encorajam a ser cada dia melhor.

Aos meus pais Gabriel e Maria Isabel por, através de seus ensinamentos, exemplos de conduta e de seu amor e carinho, terem me fornecido a base fundamental para buscar meus objetivos e sonhos.

Ao meu esposo Eduardo, meu maior incentivador e motivador, por todo apoio, carinho e compreensão nos momentos de dúvida, desânimo e de dificuldades.

Ao meu orientador Professor Ricardo Berbara que, desde o primeiro contato, se colocou à disposição em me orientar e abriu as portas de seu laboratório para que eu pudesse ter a oportunidade de trabalhar com seu grupo e adquirir conhecimentos de enorme importância para minha formação acadêmica.

Ao meu co-orientador Dr. Andrés García por ter sido o idealizador deste projeto, pela oportunidade de trabalhar nele e por toda experiência adquirida ao trabalhar com um excelente pesquisador que é.

A colega de laboratório Lívia pelo fornecimento do Vermicomposto da Fazendinha Agroecológica da EMBRAPA Agrobiologia.

Aos colegas de laboratório Luiz Gilberto e Ernane pelos ensinamentos, auxílios e sugestões com os experimentos e análises de dados.

Aos estagiários Jardel e Júnior pelo acompanhamento e apoio na execução dos experimentos.

Ao técnico do laboratório de absorção atômica Jair pelas orientações no preparo das amostras e pelas análises realizadas.

Ao professor João Latorraca, responsável pelo laboratório de Anatomia e Qualidade da Madeira do Instituto de Floresta da UFRRJ e ao técnico Tiago Sales pela realização da MEV.

Ao professor Everaldo Zonta e ao laboratório de Estudos das Relações Solo-Planta, pela orientação durante a utilização da câmara Fitotron, digitalização das plantas e pelo fornecimento de materiais e equipamentos.

Ao professor Nelson Moura e ao laboratório de Química e Poluição do solo, pelas orientações e disponibilização de equipamentos para análises de extração.

Ao professor Marcos Gervasio e ao laboratório de Gênese e Classificação do solo, pela disponibilização do liofilizador.

Ao professor Leandro Azevedo e ao laboratório de Nutrição Mineral de Plantas pelo fornecimento das sementes de arroz e de materiais para o preparo das soluções nutritivas.

A Dra. Beata Moaki da EMBRAPA Arroz e Feijão-Goiás, pelo Biochar gentilmente cedido.

Ao Secretário do PPGFBA, Roberto por suas orientações, organização e disponibilidade, que foram fundamentais durante todo o período de meu Mestrado.

Aos amigos Alejandra, Peter, Kerly e Ivan pela companhia, amizade e troca de experiências durante esta caminhada.

RESUMO

O Cádmio constitui um metal pesado que oferece altos riscos à saúde humana e que pode afetar o funcionamento do ecossistema em níveis residuais devido à sua alta toxicidade, seu tempo de persistência, que excede décadas e ao fato de sua biodisponibilidade não diminuir a longo prazo. O arroz (*Oryza sativa L.*) possui a capacidade de incorporar quantidades importantes de Cd^{2+} em seus tecidos e, por esta razão, é hoje o cereal que mais incorpora este metal na dieta humana por ingestão, ocasionando sérios problemas de saúde como a doença conhecida como “Itai-Itai”, que tem como principais sintomas fortes dores nos ossos e frequentes fraturas. Por esta razão plantas de arroz foram utilizadas neste estudo em associação com os materiais naturais para avaliação dos efeitos do Cd^{2+} nestas. Materiais como os derivados da matéria orgânica vem sendo utilizados atualmente na remediação de solos e efluentes, porém estudos sobre os riscos de seu uso são hoje escassos e muitas vezes controversos. A utilização de matéria orgânica humificada, como Vermicomposto e seus derivados é uma alternativa sustentável na remediação de solos e efluentes contaminados por metais pesados, devido à sua composição química ambientalmente não agressiva, baixo custo de produção, e possível aplicação em diversas culturas vegetais. O objetivo deste estudo foi investigar as características do biochar, vermicomposto (VC), sua fração sólida (RVC) e humina para serem usados na remediação de solos contaminados com Cd^{2+} . Para tal foi realizada a caracterização das interações entre o metal e os materiais, através de isothermas de adsorção de Freundlich e Langmuir, técnicas espectroscópicas CP MAS ^{13}C -RMN e FTIR, foi também avaliada a capacidade de cada material para biodisponibilizar o Cd^{2+} para plantas de arroz, através da determinação de parâmetros de desenvolvimento radicular e foliar e dos conteúdos de Cd^{2+} nos tecidos das plantas e no substrato. A morfologia da superfície dos materiais foi avaliada mediante microscopia eletrônica de varredura (MEV). Este estudo demonstra que o biochar utilizado e a humina não são materiais eficientes para serem utilizados na remediação. O biochar, embora apresentando uma elevada retenção de Cd^{2+} permitiu a biodisponibilização do Cd^{2+} aumentando o acúmulo nos tecidos das plantas de arroz. O VC e RVC resultaram materiais com elevada capacidade de retenção de Cd^{2+} com uma baixa disponibilização do metal. Especificamente o RVC pode constituir um material eficiente para fins de remediação. Adverte-se sobre os riscos no uso dos materiais estudados para fins de remediação de solos contaminados com Cd^{2+} e propõem-se a utilização deste novo material para fins de fitorremediação.

Palavras-chave: Metal pesado, retenção, biodisponibilização

ABSTRACT

Cadmium is a heavy metal and it offers high risks to human health and it can affect ecosystem functioning at trace levels due to high toxicity, persistence time, which transcends decades and the fact that its bioavailability not diminish the long term. Rice (*Oryza sativa L.*) has the ability to incorporate large amounts of Cd^{2+} in their tissues and, therefore, today is the cereal that further incorporates this metal in the human diet by ingestion, causing serious health problems like the known disease as "Itai-Itai", whose main symptoms severe pain in bones and frequent fractures. For this reason rice plants were used in this study in combination with natural materials to assess the effects of these Cd^{2+} . Natural materials such derived from organic matter is currently being used in the remediation of soils and effluents, but studies on the risks of its use today are scarce and often controversial. The use of humified organic matter like vermicompost and its derivatives is a sustainable alternative for the remediation of soils and sewage contaminated by heavy metals due to their chemical composition environmentally non-aggressive, low production cost and possible application in various crops. The aim of this study was to investigate the characteristics of biochar, vermicompost (VC), its solid fraction (RVC) and humin for use in the remediation of soil contaminated with Cd^{2+} . For this was performed characterization of the interactions between the metal and the material through Freundlich and Langmuir adsorption isotherms, spectroscopic techniques CP MAS ^{13}C -NMR and FTIR was also evaluated the ability of each material to provide Cd^{2+} to plants rice, by determining the root and leaf development parameters and Cd^{2+} content in plant tissues and the substrate. The surface morphology of the materials was performed using scanning electron microscopy (SEM). This study demonstrates that biochar used and humin are not effective materials for use in remediation. The biochar, although showing a high retention of Cd^{2+} allowed the bio availability of Cd^{2+} increasing the accumulation in tissues of rice plants. VC and RVC resulted materials with high Cd^{2+} retention capacity with a low availability of the metal. Specifically, the RVC can be an effective material for remediation purposes. We warn the risks of use the materials studied for soil remediation purposes contaminated with Cd^{2+} and propose the use of a new natural source material for phytoremediation purposes.

Key words: Heavy metal, retention, bioavailable

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

| | |
|----------------------------|---|
| v | vibrações de estiramentos; |
| AF | ácidos fúlvicos; |
| AH | ácidos húmicos; |
| BCF | “bio concentration factor” – fator de bioconcentração; |
| CETESB | companhia estadual de tecnologia de saneamento básico; |
| CP MAS ¹³ C-RMN | “cross-polarization magic angle spinning Carbon-13 nuclear magnetic resonance” - ressonância magnética nuclear de Carbono 13 com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico; |
| DAT | dias após o transplante; |
| FTIR | “Fourier transform infrared” – Infravermelho com transformada de Fourier; |
| IHSS | “international humic substances society” – sociedade internacional de substâncias húmicas; |
| MEV | microscopia eletrônica de varredura; |
| MOBI | matéria orgânica e bioestimulantes orgânicos; |
| MOS | matéria orgânica do solo; |
| PC1 | “principal components 1” – componentes principais 1; |
| PCA | “principal components analysis” – análise dos componentes principais; |
| RVC | resíduo de vermicomposto; |
| SH | substâncias húmicas; |
| TI | “translocation index” – índice de translocação; |
| VC | vermicomposto. |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Diagrama de especiação química de cádmio em função do pH (PIETROBELLI et al., 2013; SANTOS et al., 2014)..... | 6 |
| Figura 2: Protocolo de trabalho aplicado pelo grupo de pesquisa MOBI para obtenção de tecnologias agrícolas ecológicas a partir de vermicomposto de esterco bovino. | 10 |
| Figura 3: Tecnologia de Fitorremediação. Adaptado de (MOOSAVI; SEGHATOLESLAMI, 2013)..... | 13 |
| Figura 4: Isotermas de adsorção de Cd ²⁺ nos materiais estudados. | 19 |
| Figura 5: Análises de Componentes Principais (PCA) que relaciona os diferentes materiais estudados com as diferentes concentrações..... | 20 |
| Figura 6: Espectros CP MAS ¹³ C NMR dos diferentes materiais estudados com e sem os diferentes níveis de Cd ²⁺ retidos..... | 21 |
| Figura 7: PCA realizado a partir do carregamento dos espectros puros CP MAS ¹³ C NMR com e sem os diferentes níveis de Cd ²⁺ retidos..... | 22 |
| Figura 8: Espectros FTIR dos materiais com e sem os diferentes níveis de Cd ²⁺ retidos..... | 24 |
| Figura 9: PCA realizado a partir do carregamento dos espectros puros FTIR com e sem os diferentes níveis de Cd ²⁺ retidos: (A, B, C e D). | 25 |
| Figura 10: Tamanho das plantas após 7 dias. Onde A=VC, B=RVC, C=Controle, D=Biochar, E=somente Cd ²⁺ e F=Humina. | 26 |
| Figura 11: Tamanho das plantas após 14 dias. Onde A=Controle, B=RVC, C=VC, D=Biochar, E=somente Cd ²⁺ e F=Humina. | 26 |
| Figura 12: Tamanho das plantas após 16 dias. Onde A=RVC, B=VC, C=Controle, D=Biochar, E=somente Cd ²⁺ , e F=Humina. | 27 |
| Figura 13: Tamanho desenvolvido pelas plantas após 18 dias. Onde A=RVC, B=VC, C=Controle, D=Biochar, E=somente Cd ²⁺ , e F=Humina..... | 27 |
| Figura 14: Aspecto das plantas após 18 dias nos substratos contendo areia e os materiais com o Cd ²⁺ | 28 |
| Figura 15: Conteúdo de Cd ²⁺ nos tecidos radiculares e foliares das plantas de arroz quantificados em quatro momentos diferentes até os 18 DAT (A e B). Índice de translocação (TI) (C) e Fator de Bioconcentração (BCF) (D) calculado aos 18 DAT..... | 29 |
| Figura 16: Diâmetro radicular avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 30 |
| Figura 17: Volume radicular avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 30 |
| Figura 18: Parâmetros de crescimento radicular avaliados nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 31 |
| Figura 19: Comprimento foliar avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 32 |
| Figura 20: Área foliar avaliada nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 32 |
| Figura 21: Diâmetro foliar avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 33 |
| Figura 22: Massa seca radicular determinada nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 34 |

| | |
|---|----|
| Figura 23: Massa seca da parte aérea determinada nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd ²⁺ retido..... | 34 |
| Figura 24: Quantidade de Cd ²⁺ biodisponível (extrator H ₂ O) e trocável (extrator MgCl ₂) extraídos a partir dos substratos no final do experimento (18 DAT). | 35 |
| Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos substratos após 7 dias de experimento | 37 |
| Figura 26: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos substratos após 18 dias de experimento | 38 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Principais efeitos de alguns metais pesados em plantas. | 5 |
| Tabela 2: Valores para Cádmio no solo (CETESB, 2014)..... | 5 |
| Tabela 3: Parâmetros de adsorção obtidos a partir das Isotermas de Freundlich e Langmuir. | 20 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVO GERAL | 3 |
| 2.1. Objetivos Específicos | 3 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 4 |
| 3.1. Metais Pesados | 4 |
| 3.1.1. Cádmio | 5 |
| 3.2. Matéria Orgânica do Solo..... | 7 |
| 3.2.1. Substâncias húmicas | 8 |
| 3.2.2. Vermicomposto | 9 |
| 3.3. Biochar | 11 |
| 3.4. Fitorremediação | 12 |
| 3.5. Fenômeno de adsorção | 13 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 4.1. Local de Realização..... | 15 |
| 4.2. Origem dos materiais estudados (VC, resíduo do VC-RVC, Biochar e Humina) e preparo dos substratos..... | 15 |
| 4.3. Aplicação das isotermas de Adsorção para a modelação da retenção de Cd ²⁺ nos materiais | 15 |
| 4.4. Caracterização espectroscópicas dos materiais | 16 |
| 4.5. Aplicação de quimiometria para o estudo da influência estrutural na retenção de Cd ²⁺ | 16 |
| 4.6. Experimentos de biodisponibilização de Cd ²⁺ para as plantas de arroz | 16 |
| 4.6.1. Material vegetal e condições experimentais | 16 |
| 4.6.2. Determinação dos parâmetros radiculares | 17 |
| 4.6.3. Determinação do conteúdo de Cd ²⁺ nos tecidos das plantas | 17 |
| 4.6.4. Determinação dos conteúdos biodisponíveis e trocáveis nos substratos | 17 |
| 4.6.5. Índices de Fitoextração | 18 |
| 4.7. Caracterização morfológica dos materiais mediante Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 18 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 19 |
| 5.1. Modelação da retenção de Cd ²⁺ utilizando as Isotermas de Langmuir e Freundlich | 19 |
| 5.2. Caracterização da retenção de Cd ²⁺ nos materiais mediante técnica espectroscópicas e quimiométrica..... | 21 |
| 5.2.1. Caracterização da retenção mediante CP MAS ¹³ C NMR | 21 |
| 5.2.2. Caracterização da retenção mediante FTIR..... | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 5.3. Capacidade dos materiais para disponibilizar Cd ²⁺ em plantas de arroz..... | 25 |
| 5.4. Caracterização morfológica dos materiais mediante Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 36 |
| 6. CONCLUSÕES | 39 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 40 |
| ANEXOS | 49 |

1. INTRODUÇÃO

O cádmio é um dos metais mais ecotóxicos que causa efeitos sobre todos os processos biológicos de seres humanos, animais e plantas (TORRES et al., 2000; PINTO et al., 2004; BENAVIDES et al., 2005; KABATA-PENDIAS, 2011). Este metal está presente naturalmente nos solos em concentrações de 0,1-1 mg Kg⁻¹ (ALLOWAY, 2013). No entanto, alterações em sua concentração podem ocorrer devido à fatores naturais, como a atividade vulcânica, a erosão de rochas sedimentares e fosfáticas e os incêndios florestais mas, é através das atividades antrópicas, como mineração, produção, consumo e disposição de produtos contendo cádmio que seus níveis nos solos são fortemente alterados, podendo chegar a faixas críticas, atingindo corpos d'água e entrando na cadeia alimentar, ocasionando danos ao meio ambiente e à saúde humana (CETESB, 2012; KABATA-PENDIAS, 2011).

De acordo com Taylor e Percival (2001), entre 55% e 90% do Cd na solução do solo está na forma de íon livre Cd²⁺ que é prontamente disponível para captação pelas plantas. O íon Cd²⁺ pode formar uma série de espécies iônicas e também complexos com a matéria orgânica ou com proteínas em sistemas biológicos (TORRES et al., 2000; SPOSITO, 2008; KABATA-PENDIAS, 2011). Embora os mecanismos de seleção biológica de elementos químicos permitam que as plantas controlem, até certo ponto, sua composição química, essa barreira é um pouco limitada no que diz respeito a metais pesados, como Cádmio. Por esta razão as concentrações destes elementos em plantas são, muitas vezes, correlacionadas com sua abundância no meio de crescimento (KABATA-PENDIAS, 2011).

O conhecimento a respeito de métodos que impeçam ou diminuam a captação do Cádmio pelas plantas são de extrema importância para a segurança ambiental, pois podem evitar riscos associados a introdução do metal na cadeia alimentar e conseqüentemente no organismo humano.

Atualmente, todas as tecnologias existentes para a remediação de metais pesados (remediação química, fitorremediação ou remediação microbiana) possuem vantagens e desvantagens. Existe, portanto, uma necessidade de técnicas integradas que sejam ao mesmo tempo seguras e econômicas. A aplicação de materiais naturais associados a fitorremediação pode oferecer enormes benefícios de saúde pública, ambientais e de custos. No entanto, estudos sobre os riscos de seu uso são hoje escassos e muitas vezes controversos.

As Substâncias húmicas (SH) que são derivadas da degradação química e biológica de vegetais e animais e de resíduos de atividades de microrganismos, formam produtos que tendem a associar-se em estruturas químicas complexas e mais estáveis do que os materiais de origem. A interação das SH com íons metálicos como Cd²⁺ é de grande importância e está relacionada com suas características estruturais como a presença de um grande número de grupos funcionais oxigenados (CO₂H₂, OH fenóis, C = O) (SCHNITZER 1978; SHOBAA; CHUDNENKOB, 2014).

A utilização de matéria orgânica humificada, como Vermicomposto e seus derivados (Humina e ácido húmico) é uma alternativa sustentável na remediação de solos e efluentes industriais e urbanos contaminados por metais pesados, devido à suas propriedades como composição química ambientalmente não agressiva, baixo custo de produção, e possível aplicação em diversas culturas (GARCÍA et al., 2013a). Esta tecnologia tem demonstrado, através de pesquisas recentes, excelentes resultados na retenção de metais pesados como Cd, Pb, Ni, Cu, Zn (SINGH; KAUR, 2014; GARCÍA et al., 2013b; WANG et al., 2012; URDANETA et al., 2008; JORDÃO et al., 2007). A formação de complexos organometálicos e quelatos de diferentes estabilidades e características estruturais entre as SH e metais pesados, como o Cádmio, permite o controle da disponibilidade desses metais para as plantas, diminuindo ou até mesmo impedindo a absorção destes.

Outro derivado da matéria orgânica apresenta grande potencial para diversos fins na agricultura é o Biochar, formado pela pirolise de biomassas, tem sido utilizado como meio para melhorar a fertilidade do solo, aumentar a resistência de plantas ao estresse hídrico, atenuante de mudanças climáticas e remediação de pesticidas e determinados metais pesados em solos, (BORCHARD et al., 2012; DOAN et al., 2015; JARAMILLO, et al., 2015; KHAN, et al., 2013; MELO et al., 2013). No entanto, segundo Peller e Gidakos (2015) as interações ocorridas entre Biochar e determinados metais como Cd são de natureza eletrostática, portanto caracterizada como adsorção não-específica. Neste tipo de interação os íons metálicos estão em equilíbrio com o sistema aquoso, podendo se tornar disponíveis para o sistema radicular das plantas. Isto se deve à configuração eletrônica do grupamento funcional da superfície do Biochar (SPOSITO, 2008).

Estudos de remediação de áreas contaminadas por Cd^{2+} envolvendo o arroz (*Oryza sativa* L) como planta modelo são importantes, pois este constitui o cereal que mais incorpora Cd^{2+} na dieta humana por ingestão (MEHARG et al., 2013) e porque constitui um modelo vegetal com capacidade de incorporar quantidades importantes do metal em seus tecidos e ao mesmo tempo permite estudar os mecanismos responsáveis (JIANG et al., 2012). Isto porque o arroz apresenta características genéticas que permitem o acúmulo e transporte do Cd^{2+} desde a raiz até a parte aérea e para os grãos (UENO et al., 2009).

Desta forma uma avaliação dos diferentes tipos de interações e potenciais de retenção de íons como Cd^{2+} por estes materiais (Biochar, VC e Humina) são de grande importância e ainda raros na literatura.

2. OBJETIVO GERAL

Este estudo objetivou avaliar o uso de materiais como Vermicomposto (VC), sua fração sólida residual (RVC), Biochar e Humina como potencializadores na fitorremediação de solos contaminados por Cádmio (Cd^{2+}) em associação com o uso de plantas de arroz (*Oryza sativa* L).

2.1. Objetivos Específicos

- 1- Caracterizar espectroscopicamente as interações ocorridas entre os materiais e o Cd^{2+} ;
- 2- Avaliar a biodisponibilização de Cd^{2+} dos materiais para as plantas de arroz;
- 3- Sugerir o uso do material mais eficaz e seguro na remediação de áreas contaminadas por Cd^{2+} .

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Metais Pesados

O termo Metal Pesado, apesar de ambíguo, vem sendo utilizado a muito tempo para definir o grupo de metais e metaloides de massa atômica relativamente alta ($> 5 \text{ g cm}^{-3}$), dentre os quais pode-se destacar Pb, Cd, Cr, As e Hg que além de não possuírem função nos organismos, causam problemas de toxicidade aos vegetais e animais em qualquer concentração (ALLOWAY, 2013). Outros termos como Metais tóxicos ou Elementos Traço (CALLENDER, 2014) também são utilizados por alguns autores para tal grupo de elementos. Muitos elementos classificados como metais pesados, em concentrações adequadas, são essenciais para plantas e animais, como o Zn e Fe por exemplo (SHERAMETI; VARMA, 2010).

A Poluição por metais pesados é um problema global, embora sua gravidade e níveis de poluição variem de um lugar para outro. Pelo menos 20 metais são classificados como tóxicos com metade deles sendo encontrados no ambiente em concentrações que representam grandes riscos para a saúde humana. A liberação desses metais sem tratamento adequado representa uma ameaça significativa para a saúde pública devido aos altos níveis de reatividade, persistência, bioacumulação e acumulação na cadeia alimentar, além de desencadear diversas reações químicas e não serem metabolizáveis (AKPOR; MUCHIE, 2010).

Em muitos casos, as fontes antropogênicas destes metais superam às contribuições provenientes de fontes naturais (intemperismo, erupções vulcânicas, incêndios florestais) por várias vezes (CALLENDER, 2014). A aplicação de resíduos urbanos e industriais contendo uma variedade de poluentes, na agricultura, é responsável pela ocorrência das mais elevadas concentrações de metais como o ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), zinco (Zn), chumbo (Pb), crômio (Cr), níquel (Ni), cádmio (Cd) e cobalto (Co) em solos agrícolas (KABIR et al., 2012), que consequentemente entram na cadeia alimentar e se tornam perigosos para os seres humanos e animais.

Existem várias fontes potenciais de poluição por metais no solo, porém a principal é através da purificação e transformação de metais pela indústria, que podem gerar efeitos negativos expressivos a longo prazo no ecossistema do solo. Por exemplo, a mineração de rochas contendo sulfureto podem causar drenagem ácida que, por sua vez, aumenta a liberação de metais pesados, incluindo arsênio (As) para a atmosfera pela reação com oxigênio e água (LAWRENCE; HIGGS, 1999). A aplicação a longo prazo de fertilizantes fosfatados, onde os metais pesados estão presentes como impurezas e a deposição de poeira de fundição no solo podem também aumentar os níveis de metais pesados. Solos agrícolas próximos a indústrias de processamento de metal são mais vulneráveis a esses riscos (AHMAD et al., 2015).

A contaminação do solo por metais pesados cresce paralelamente ao desenvolvimento de regiões industriais, agrícolas e grandes centros onde fábricas, veículos motorizados e resíduos municipais são suas mais importantes fontes (ALLOWAY, 2013; KABATA-PENDIAS, 2011).

Ao contrário de poluentes orgânicos que podem se degradar formando componentes menos nocivos, como resultado de processos biológicos ou químicos, os metais pesados não são degradáveis por processos naturais, especialmente quando o conteúdo metálico elementar é considerável (KABIR et al., 2012). Além do mais, a persistência de contaminantes no solo é muito maior do que em outros compartimentos da biosfera e a contaminação do solo por metais pesados, parece ser quase permanente. Metais acumulados em solos se esgotam lentamente por lixiviação, absorção pelas plantas ou erosão. O solo age como um amenizador natural de contaminantes, controlando o transporte de elementos químicos e substâncias para a atmosfera, hidrosfera, e biota. No entanto, o papel mais importante do solo é a sua produtividade, o que é

fundamental para a sobrevivência dos seres humanos. Assim, a manutenção das funções ecológicas e agrícolas do solo é de responsabilidade da humanidade (KABATA-PENDIAS, 2011).

A Tabela 1 mostra os principais efeitos de alguns metais pesados em plantas.

Tabela 1: Principais efeitos de alguns metais pesados em plantas.

| Metal | Efeitos |
|----------------------|--|
| Cádmio (Cd) | Diminui a germinação das sementes, teor de lipídios, e o crescimento das plantas; induz a produção de fitoquelatinas |
| Cromo (Cr) | Diminui a atividade enzimática e crescimento das plantas; produz dano à membrana, clorose e danos à raiz |
| Cobre (Cu) | Inibe a fotossíntese, o crescimento da planta e o processo reprodutivo; diminui a área de superfície do tilacoide |
| Mercúrio (Hg) | Diminui a atividade fotossintética, absorção de água e enzimas antioxidantes; acumulação fenol e prolina |
| Níquel (Ni) | Reduz a germinação das sementes, acúmulo de massa seca, a produção de proteínas, clorofilas e enzimas; aumento de aminoácidos livres |
| Chumbo (Pb) | Reduz a produção de clorofila e o crescimento; aumenta superóxido dismutase |
| Zinco (Zn) | Reduz a toxicidade de Ni e a germinação de sementes; aumenta o crescimento das plantas e ATP / relação de clorofila |

(Fonte: GARDEA-TORRESDEY et al., 2005)

Dentre os metais pesados, o Cádmio é considerado como sendo um dos mais ecotóxicos e exibe efeitos adversos sobre todos os processos biológicos de seres humanos, animais e plantas. Este metal possui um grande potencial negativo para afetar o meio ambiente e a qualidade dos alimentos (KABATA-PENDIAS, 2011).

3.1.1. Cádmio

O Cádmio (Cd) é um metal não-essencial que está naturalmente presente nos solos, onde se encontra na forma do cátion divalente (Cd^{2+}) em concentrações que variam entre 0,1-1,0 mg kg^{-1} e raramente ocorre na natureza em sua forma pura (KABATA-PENDIAS, 2011).

Apesar da concentração de Cd no solo representar apenas frações mínimas dos cátions trocáveis totais ou de cátions na solução do solo, afetando pouco a química do solo, o Cd pode afetar o funcionamento do ecossistema em níveis residuais devido à sua alta toxicidade, pois o seu tempo de persistência excede décadas e sua biodisponibilidade não diminui a longo prazo (ALLOWAY, 2013). De acordo com a CETESB (2014) os valores para Cádmio no solo são:

Tabela 2: Valores para Cádmio no solo (CETESB, 2014)

| Valor de Referência Qualidade (VRQ) (mg kg^{-1} peso seco) | Valor de prevenção (VP) (mg kg^{-1} peso seco) | Valor de Intervenção (VI) (mg kg^{-1} peso seco) | | |
|--|--|--|-------------|------------|
| | | Agrícola | Residencial | Industrial |
| <0,5 | 1,3 | 3,6 | 14 | 160 |

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) classificou Cd e Pb como os metais pesados mais perigosos devido à sua maior acumulação no ambiente (AHMAD et al., 2015).

As fontes antropogênicas de Cd no meio ambiente são as principais responsáveis pelos altos índices de contaminação do solo e corpos d'água e incluem: atividades de mineração, produção, consumo e disposição de produtos que utilizam cádmio (baterias de níquel-cádmio, pigmentos, estabilizadores de produtos de PVC, recobrimento de produtos ferrosos e não-ferrosos, ligas de cádmio e componentes eletrônicos) e as fontes onde o cádmio é constituinte natural do material que está sendo processado ou consumido: metais não-ferrosos, ligas de zinco, chumbo e cobre, emissões de indústrias de ferro e aço, combustíveis fósseis (carvão, óleo, gás, turfa e madeira), cimento e fertilizantes fosfatados. Os níveis de cádmio nos fertilizantes variam amplamente e dependem da origem das rochas fosfáticas (CETESB, 2012).

O Cádmio está associado a depósitos de minério de Zn e Pb, e seus minerais de origem são principalmente esfalerita, biotita, anfibólio e esmitsonita. Durante o processo de intemperismo o Cd forma compostos simples, tais como CdO, Cd(OH)₂, CdCl₂ e CdF₂ que são facilmente móveis e seguem o Zn, especialmente em processos de sedimentação e/ou ainda podem formar vários tipos de íons complexos e quelatos orgânicos. Pode ocorrer como espécies catiônicas: CdCl⁺, CdOH⁺, CdHCO₃⁺, CdHS⁺, e espécies aniônicas: CdCl₃⁻, Cd(OH)₃⁻, Cd(OH)₄²⁻, Cd(HS)₄²⁻ (KABATA-PENDIAS e SADURSKI, 2004). As espécies químicas de Cd predominantes em soluções aquosas variam em função do pH destas, conforme demonstrado no diagrama de especiação (Figura 1). Os compostos de Cd são conhecidos por serem isotípicos com outros cátions, tais como Zn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺ e, em alguns casos, de Ca²⁺ (KABATA-PENDIAS, 2011; CETESB, 2012).

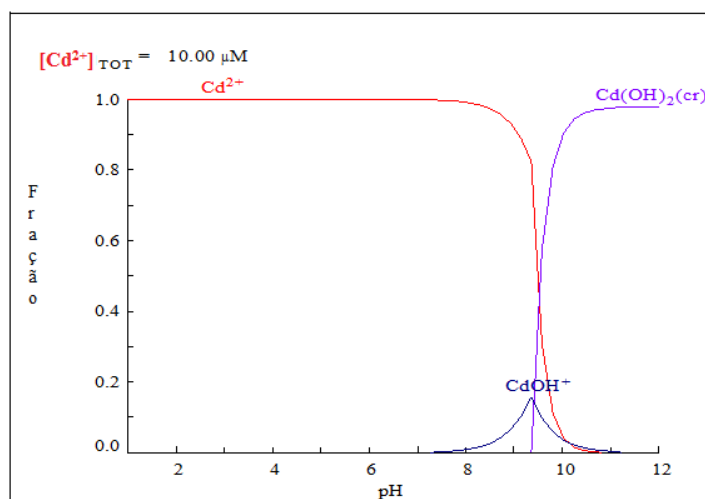


Figura 1: Diagrama de especiação química de cádmio em função do pH (PIETROBELLI et al., 2013; SANTOS et al., 2014)

As concentrações de Cd no solo que oferecerem risco à saúde humana são muito inferiores àquelas necessária para causar efeitos visuais fracos nos vegetais e na biota do solo (LU et al., 2014). Os efeitos sobre a saúde humana estão relacionados à exposição através da cadeia alimentar e corresponde à > 90% da exposição humana ao metal, principalmente através da ingestão de cereais ou batatas. A exposição moderada e contínua ao Cd é muito mais grave do que situações únicas de alto consumo, pois o Cd tem uma meia-vida biológica longa de 15-

20 anos no organismo humano e seus efeitos se manifestam principalmente em pessoas idosas (> 50 anos) (ALLOWAY, 2013; FERNANDES; MAINIER, 2014).

Carnes, peixes, ovos e laticínios contêm pouco cádmio – menos de 0,01 µg/g de peso úmido, porém órgãos internos, como fígado e rins, podem conter concentrações mais elevadas. Produtos vegetais contêm mais cádmio que produtos de origem animal. Fumantes estão ainda mais expostos ao cádmio devido à acumulação natural de altas quantidades do metal nas folhas de tabaco. Estima-se que esta exposição seja de 1,7 µg de cádmio por cigarro e cerca de 10% é inalado quando se fuma (CETESB, 2012). Grãos de arroz podem conter, particularmente elevados níveis de cádmio. O arroz é, portanto, uma preocupação especial em regiões onde possui grande importância na dieta. Além disso, subpopulações específicas, como bebês e crianças, têm taxas de consumo de alimentos mais elevados por unidade de massa corporal; e vegetarianos, que têm uma dependência aumentada em grãos e vegetais, tendem a ter maiores taxas de exposição ao cádmio através desses alimentos (MEHARG et al., 2013).

A intoxicação crônica causada por Cd leva a disfunção tubular dos rins, o que leva a um aumento da excreção de Ca e de proteínas de baixo peso molecular e, finalmente, a osteomalacia (amolecimento dos ossos) gerando a doença conhecida como “Itai-Itai”, que tem como principais sintomas fortes dores nos ossos e frequentes fraturas. A doença foi identificada inicialmente no Japão por volta dos anos 50, quando diversos moradores de Toyama foram acometidos pelos sintomas após o consumo frequente de arroz irrigado com água contaminada por Cd (ALLOWAY, 2013; LU et al., 2014).

Outros efeitos graves podem ocorrer ainda, como sintomas gastrointestinais agudos, bem como sintomas respiratórios tardios entre pessoas que utilizam carbonato de cádmio em pó como agente de polimento, ocasionados tanto pela inalação quanto pela ingestão deste composto de cádmio. Estudos realizados por Parizek e Zahor (1956) e Parizek (1960) relatam a ocorrência de necrose nos testículos de animais, quando expostos a determinadas doses de sais de cádmio. Outros efeitos reprodutivos e genéticos, bem como a indução de cancro, também foram considerados como possíveis efeitos críticos (NORDBERG, 2009).

Devido à semelhança química com outros metais (cobre, zinco, cálcio.), os íons de cádmio podem deslocá-los de sítios normalmente ocupados por esses metais em enzimas no fígado, nos rins, nos intestinos, no pâncreas e testículos dos mamíferos, levando à inibição da função enzimática por não possuir os atributos químicos necessários para conferir atividade bioquímica; e também substituir o cálcio no tecido ósseo, (FERNANDES; MAINIER, 2014; TORRES et al., 2000).

O cádmio apresenta uma afinidade particular por grupamentos sulfidrilas e hidroxilas e por ligantes contendo Nitrogênio. Como resultado dessas interações o metal pode inativar muitas enzimas importantes, levando a inibição da fotossíntese, da taxa respiratória e outros processos metabólicos nas plantas (PINTO et al., 2004). O cádmio pode ainda alterar a captação de minerais pelas plantas através de seus efeitos na disponibilidade desses minerais no solo ou através da redução na população de microrganismos edáficos (SANITÀ DI TOPPI; GABBRIELLI, 1999).

3.2. Matéria Orgânica do Solo

A matéria orgânica do solo (MOS) é constituída por uma mistura de produtos vegetais e animais vivos ou em vários estágios de decomposição e de substâncias química e biologicamente sintetizadas (KABATA PENDIAS, 2011).

A transformação dos materiais vegetais e animais é realizada através de processos de decomposição, mineralização, estabilização e humificação, inicialmente realizado por formigas, cupins, oligoquetas e outros organismos da mesofauna. Em seguida, este é

transformado por enzimas produzidas por diversos micro-organismos, que vão promover a rápida perda dos compostos menos recalcitrantes, como açúcares, aminoácidos, proteínas e celulose. Posteriormente o produto orgânico intermediário é biodegradado por uma variedade maior de microrganismos. A decomposição de compostos mais resistentes é feita gradualmente por fungos e actinomicetes e têm como produtos finais hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, carboidratos, proteínas, lipídeos, ácidos orgânicos de baixo e elevado peso molecular, peptídeos, aminoácidos, fragmentos de lignina e substâncias húmicas (FONTANA, 2009; KABATA PENDIAS, 2011).

A MOS desempenha um papel importante no que diz respeito à manutenção e melhoria da qualidade do solo, influenciando nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo tais como: capacidade de troca de cátions (CTC), pH, condutividade elétrica (CE), ciclagem de nutrientes, complexação de elementos tóxicos do solo, estimulação da biota do solo, disponibilização de nutrientes, proteção contra erosão, garantindo a produtividade e a qualidade ambiental, sendo considerada a principal indicadora da qualidade do solo, principalmente em sistemas agrícolas. A quantidade de MOS depende da entrada de material orgânico, da sua taxa de mineralização, da textura do solo e do clima, entre outros fatores (COSTA et al., 2013).

Assim, a perda de matéria orgânica representa um dos principais processos de degradação do solo, pois, além de aumentar a erosão, afeta a qualidade do solo e causa alterações nos regimes de suprimento de água e nutrientes, na lixiviação e acidificação do solo, e redução da atividade biológica (LAL, 2001).

Os compostos mais estáveis da MOS são as substâncias húmicas (SH), que são fracionadas em ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e humina. SH possuem estruturas que contêm um número relativamente grande de grupos funcionais (CO_2 , OH, C = C, COOH, SH, CO_2H), com uma grande afinidade para interagir com íons metálicos. Devido a uma combinação particular de diferentes grupos (principalmente, OH e SH), SH são capazes de formar complexos com certos cátions e ainda exercerem um papel importante na adsorção de Cd, Cu, Ni e possivelmente Pb para hidróxidos de Fe. Desta forma a MOS é altamente importante no controle dos processos de adsorção / coprecipitação da maior parte dos Metais Pesados (KABATA PENDIAS, 2011).

3.2.1. Substâncias húmicas

As Substâncias húmicas (SH) são os principais constituintes orgânicos de solos e sedimentos, estão largamente distribuídas ao longo da superfície da terra e ocorrem em quase todos os ambientes terrestres e aquáticos (SCHNITZER, 1978). Representam a fração da matéria orgânica humificada em solos e desempenham um papel fundamental em várias funções do solo e das plantas, influenciam na adaptação das plantas a condições de estresse ambiental através do aumento da disponibilidade de nutrientes. As SH têm ainda um efeito direto sobre os processos metabólicos da planta relacionados ao crescimento e desenvolvimento (BERBARA; GARCÍA, 2014).

De acordo com normas estabelecidas pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas – IHSS as SH são divididas quimicamente em três constituintes principais, com base em suas solubilidades em meio aquoso. A fração ácido fúlvico, que possui cor amarelo-parda e é solúvel em qualquer valor de pH da solução, a fração ácido húmico de cor castanho escuro é solúvel em meio alcalino e insolúvel em meio ácido diluído e a fração humina que é insolúvel e permanece ligada a matriz mineral do solo (STEVENSON, 1982).

As definições sobre a estrutura das substâncias húmicas surgiram a partir da utilização de técnicas degradativas e de espectroscopia, e podem ser reunidas em três principais, onde a mais aceita pelos pesquisadores da IHSS é a visão de que as substâncias húmicas são

macromoléculas de um polieletrólito que tem sua conformação variável de acordo com as condições da solução do solo (*e.g.* força iônica, pH). Essa definição trata as substâncias húmicas como um coloide orgânico que pode ter as suas principais propriedades acessadas, tais como massa molecular, densidade de carga elétrica e acidez. Este modelo explica macroscopicamente as principais interações das substâncias húmicas, como capacidade de adsorção e complexação de íons, interação com minerais do solo, sendo por esta razão consolidado como o modelo mais aceito (CANELLAS et al., 2005).

Outra propriedade muito importante das SH e que está relacionada com suas características estruturais é a sua capacidade de interagir com íons metálicos. Interações entre SH e íons influenciam as características do solo, exercendo assim impacto sobre as plantas. As SH podem formar compostos complexos de diferentes estabilidades e características químicas com íons metálicos. Portanto, processos importantes para o desenvolvimento das plantas, tais como precipitação dissolução, troca iônica, mobilidade, transporte e acumulação de nutrientes, a química e atividade bioquímica de metais são fortemente determinados pelas SH. Isto se deve aos grupos funcionais (CO_2 , H_2 , OH fenóis, $\text{C} = \text{O}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$) presentes em sua estrutura, o que permite estabelecer ligações mais estáveis do que as presentes no solo, fazendo com que os elementos metálicos estejam mais disponíveis (SCHNITZER, 1978; SHOBAA; CHUDNENKO, 2014).

Com metais pesados, por exemplo, as SH formam compostos complexos na seguinte ordem de estabilidade: $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ (IRVING; WILLIAMS, 1953; KABATA PENDIAS, 2011).

O nitrogênio pode desempenhar um papel importante na criação de fortes locais de ligação para determinados metais. A hidrólise ácida de substâncias húmicas libera várias formas de nitrogênio como amônia, aminoácidos e açúcares aminados. No entanto, uma quantidade considerável do nitrogênio liberado encontra-se em compostos não identificados, enquanto que cerca de metade do nitrogênio não é liberado por hidrólise ácida. Outro elemento que pode ser importante na criação de fortes locais de ligação é o enxofre, o que é especialmente favorecido por metais polarizáveis tais como o mercúrio (TIPPING, 2002).

Devido a sua alta disponibilidade e por ser uma fonte sustentável e limpa, o vermicomposto (VC) derivado da agricultura é uma excelente matéria-prima para a obtenção de SH e sua eficiência é confirmada por importantes estudos recentes que relatam sua capacidade de aumento da produtividade de culturas, melhoria das condições do solo e retenção de metais pesados (GARCÍA et al., 2013a; GARCÍA et al., 2013b; SINGH; KAUR, 2014)

3.2.2. Vermicomposto

Alguns resíduos necessitam de uma prévia decomposição antes de serem aplicados ao solo, a fim de reduzir possíveis efeitos nocivos à saúde humana, às plantas e ao solo, como por exemplo a contaminação com organismos patogênicos, a imobilização de N decorrente da elevada relação C/N de alguns materiais, possíveis alterações no pH do solo decorrentes da elevada acidez ou alcalinidade dos resíduos. Desta forma a vermicompostagem é uma técnica relativamente simples e importante de decomposição que requer pouco consumo de energia e fornece um material estabilizado, principalmente quanto a pH, relação C/N, em tempo menor, se comparado com a compostagem (CASTILHOS et al, 2008).

O vermicomposto (VC) resultante deste processo de reciclagem de resíduos orgânicos em fase sólida contida em resíduos agrícolas, urbanos e industriais, por ação de minhocas e micro-organismos oferece uma importante alternativa para resolver economicamente e ambientalmente os problemas destes dejetos orgânicos. VC constitui ainda um excelente

fertilizante orgânico capaz de melhorar atributos químicos (oferta, melhor retenção e ciclagem de nutrientes), físicos (melhoria na estruturação e formação de agregados) e biológicos do solo (aumento da diversidade de organismos benéficos ao solo) (EMBRAPA, 2011; HERVAS et al., 1989).

A vermicompostagem de diferentes resíduos é uma alternativa ecológica a ser utilizada como prática agrícola porém, alguns aspectos devem ser analisados previamente como o tipo de matéria prima utilizada, tipo de solo a ser aplicado e a espécie vegetal, afim de se obter os melhores resultados possíveis e sem oferecer riscos de perdas.

Os materiais humificados obtidos a partir do VC permitem a proposição de tecnologias inovadoras e sustentáveis, conforme demonstrado no protocolo desenvolvido pelo grupo de pesquisa em Matéria Orgânica e Bioestimulantes orgânicos (MOBI) na Universidade Agrária de Havana, em colaboração com a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que realizou estudos com o objetivo de melhorar a sustentabilidade da agricultura com produtos humificados sólidos e líquidos, obtidos a partir de vermicomposto de esterco bovino (Figura 2).

Reduções significativas das concentrações de metais em efluentes líquidos foram obtidas em estudos através de interações com substâncias húmicas de vermicompostos conforme descrevem García et al (2013b), Jordão et al. (2007), Singh e Kaur (2014), Urdaneta et al. (2008) e Wang et al. (2012). Estes materiais contêm um grande número de sítios de sorção que interagem com os metais. A fração orgânica do vermicomposto representa cerca de 50% do seu peso (HERVAS et al., 1989).

Diante deste potencial apresentado pelos materiais humificados derivados do VC para descontaminação e/ou amenização de ambientes contaminados por metais pesados, estudos sobre os riscos de sua utilização merecem grande importância para que técnicas seguras e eficientes sejam adotadas como novas tecnologias agrícolas.

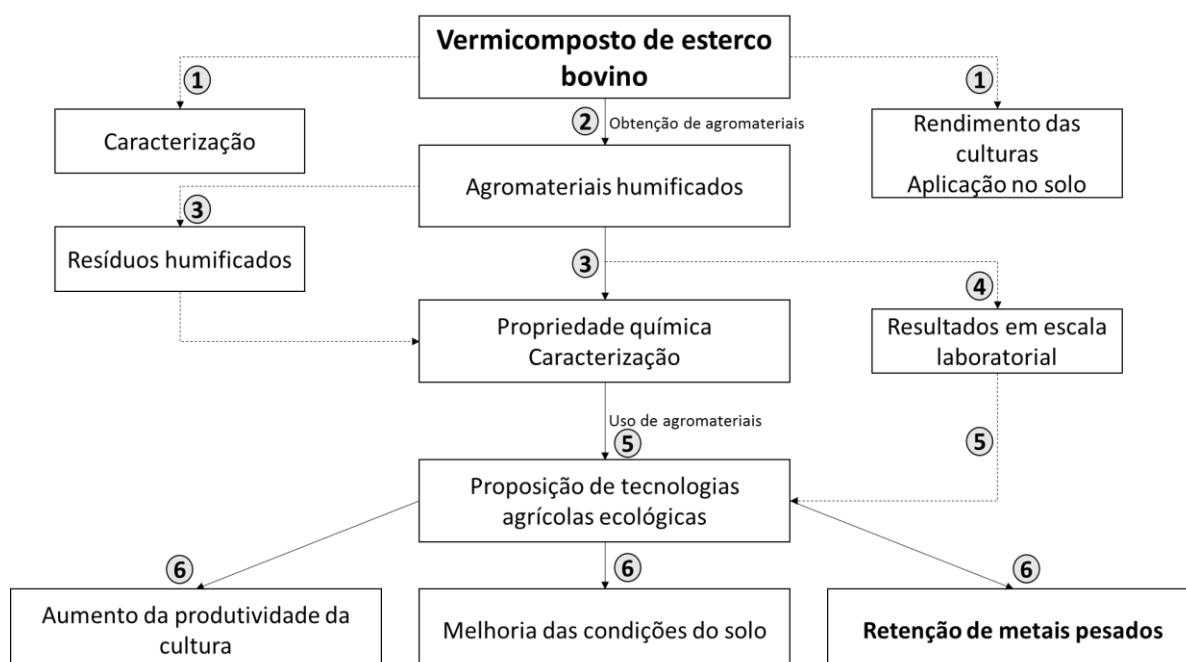


Figura 2: Protocolo de trabalho aplicado pelo grupo de pesquisa MOBI para obtenção de tecnologias agrícolas ecológicas a partir de vermicomposto de esterco bovino. Passo 1:

Caracterização e ensaios de bioatividade em plantas. Passo 2: Procedimentos para obtenção de agromateriais humificados. Passo 3: Recuperação de materiais residuais e caracterização das suas propriedades e atividades. Passo 4: Teste das propriedades do material em escala laboratorial. Passo 5: Ensaios das propriedades dos materiais em condições agrícolas em escala de campo. Passo 6: Tentativa de introdução das tecnologias em processos agroindustriais e produtivos. Adaptado de (GARCÍA et al., 2013a).

3.3. Biochar

Há séculos povos indígenas aplicam uma tecnologia simples e eficaz para melhorar a qualidade de seus solos, aumentando sua produtividade através de uma mistura de resíduo mineral, materiais orgânicos carbonizados e em decomposição. Esta ideia de queimar fontes ricas em carbono para aumentar o estoque no solo e melhorar suas propriedades químicas, físicas e biológicas, surgiu a partir de estudos com a chamada ‘terra preta de índio’ em sítios pré-históricos da Amazônia Central, que despertou interesse no meio científico ao perceberem a presença de solos muito férteis em locais de grandes manchas pretas nos solos que, acredita-se, possa ser uma mistura de eventos naturais, como incêndios, combinados com a influência humana (ANDRADE, 2015; Pronatura International, 2016; WAYNE, 2012). A partir do conhecimento indígena, pesquisadores estão hoje redescobrimo as vantagens de adicionar biomassa carbonizada (biochar) aos solos.

O Biochar é um produto poroso, carbonado obtido a partir da pirólise (queima em ambiente limitado em oxigênio) de materiais orgânicos. Diversos materiais podem ser utilizados como matérias-primas, incluindo lamas, materiais vegetais e adubos. Embora o uso de carvão vegetal (biochar de madeira) seja comum a muito tempo, a ideia de utilizar outras matérias-primas para a produção de biochar é nova e relativamente inexplorada (PAZ-FERREIRO et al., 2014).

A lenta alteração da superfície do biochar ao longo do tempo pode contribuir para uma melhor retenção de nutrientes e, portanto, favorecer a fertilidade nos solos tropicais (BORCHARD et al., 2012). A eficiência da utilização do Biochar na agricultura com a finalidade de melhorar a fertilidade do solo, contribuir para o sequestro de C e como condicionador, vem sendo amplamente comprovada em estudos recentes (BORCHARD et al., 2012; DOAN et al., 2015; KHAN, et al., 2013; REZENDE et al., 2011). Sua grande área de superfície e capacidade de troca catiônica, que são determinadas pelo material utilizado e temperatura de pirólise, permitem ainda a sorção de contaminantes orgânicos e inorgânicos em sua superfície, reduzindo a mobilidade de poluentes em solos contaminados (BEESLEY et al., 2011).

O potencial do biochar para retenção de contaminantes orgânicos e inorgânicos no solo é relatado por estudos como mencionado por Lu et al. (2014), que destaca também a importância da escolha cuidadosa das matérias-primas e temperaturas de pirólise, pois alguns materiais e/ou temperaturas conferem ao biochar derivado, menor eficácia de retenção de contaminantes quando comparados a outras condições (de matéria-prima e temperatura). De acordo com Houben et al. (2013) a quantidade de biochar utilizada também tem influência direta sobre sua eficiência de retenção/imobilização de contaminantes, como metais pesados.

Conforme demonstrado por Melo et al., (2015) em seu trabalho, o biochar aumentou a capacidade de adsorção de Cd e Zn em solos tropicais onde foi adicionado, porém a constante de afinidade (*K_f*) para Cd foi inferior em comparação com os solos sem biochar. Isto indica que as reações de sorção ou precipitação são reversíveis sob condições de alterações do pH, como acidificação do meio. Pellerá e Gidaracos (2015) descrevem também que, a retenção de cádmio pelo biochar pode ser atribuída à adsorção não específica (troca de íons), precipitação sob a

forma de CdCO_3 e / ou de coprecipitação com CaCO_3 , o que indica também uma menor estabilidade na interação. Por esta razão a utilização do biochar com finalidade de retenção de contaminantes, como metais pesados, deve ser cuidadosamente avaliada em escala laboratorial e principalmente a longo prazo, antes de ser efetivamente aplicada em campo, afim de se evitar perdas por reversão da retenção.

3.4. Fitorremediação

A aplicação de fertilizantes, pesticidas e herbicidas na agricultura, necessários para proteger a produção, juntamente com a deposição atmosférica de emissões industriais e urbanas e ao descarte de poluentes, dentre os quais, os metais pesados, através de efluentes industriais, criam problemas ambientais, tais como a acumulação dessas substâncias químicas no solo, nos corpos d'água e a absorção pelas plantas, oferecendo risco aos seres humanos e animais. A contaminação por metais pesados pode ser considerada como uma das ameaças mais críticas para o solo e recursos hídricos, bem como para a saúde humana (YOON et al., 2006).

A descontaminação do solo é um processo extremamente caro e demorado, e os métodos atualmente disponíveis são insuficientes para esta tarefa (SAIER; TREVORS, 2010). A busca por processos menos danosos ao meio ambiente, o tratamento dos efluentes gerados e a remediação de áreas contaminadas vem crescendo nas últimas décadas, amparada por estudos de impacto ambiental, legislações ambientais mais severas e eventos mundiais em prol do movimento sustentável. Dentre tais tecnologias, a fitorremediação pode fornecer uma solução de custo eficaz, duradoura e estética para recuperação de sítios contaminados e portanto é considerada uma técnica extremamente importante.

A fitorremediação é uma palavra formada pelo prefixo grego "fito", que significa planta, e pelo sufixo latim "remedium" que significa para limpar ou restaurar (CUNNINGHAM et al., 1997). O termo se refere a um conjunto de tecnologias à base de plantas com capacidade natural ou geneticamente adaptadas, muitas vezes em conjunto com seus microrganismos associados à rizosfera, para extração, degradação, imobilização ou acúmulo de metais pesados, compostos aromáticos, hidrocarbonetos naturais e produtos químicos sintéticos, tais como pesticidas, herbicidas, fungicidas e antibióticos, de ambientes contaminados (MOOSAVI; SEGHATOLESLAMI, 2013; SAIER; TREVORS, 2010).

A ideia de usar plantas acumuladoras para remover metais pesados e outros compostos foi introduzido pela primeira vez em 1983, mas esta técnica já vem sendo realizada a mais de 300 anos sobre descargas de águas residuais (MOOSAVI; SEGHATOLESLAMI, 2013).

A fitorremediação pode ser classificada em diferentes aplicações, tais como fitofiltração ou rizofiltração, que consiste na remoção pelas raízes das plantas de contaminantes nas águas residuais, águas de superfície ou na água subterrânea extraída; fitoestabilização, nesta abordagem, as características químicas e biológicas dos solos poluídos são alterados pelo aumento do teor de matéria orgânica, capacidade de troca catiônica (CTC), nível de nutrientes, e ações biológicas, reduzindo a biodisponibilidade do contaminante; fitovolatilização, que é a extração de contaminantes, como Hg e Se pelas raízes, conversão em formas não tóxicas e a liberação destes na atmosfera através de suas folhas. Este mecanismo ocorre também para compostos orgânicos; fitodegradação, que é a utilização de plantas e microrganismos para a absorção, metabolismo e degradação ou mineralização de contaminantes orgânicos através de enzimas específicas; fitoextração/fitoacumulação, nesta técnica a planta remove contaminantes, tais como Cd, de água, solo e sedimentos através de suas raízes, onde se acumulam ou são transportados e acumulados nas partes aéreas, que podem ser removidas e incineradas (AHMADPOUR et al., 2012; JADIA; FULEKAR, 2009), tal como mostrado na Figura 3.

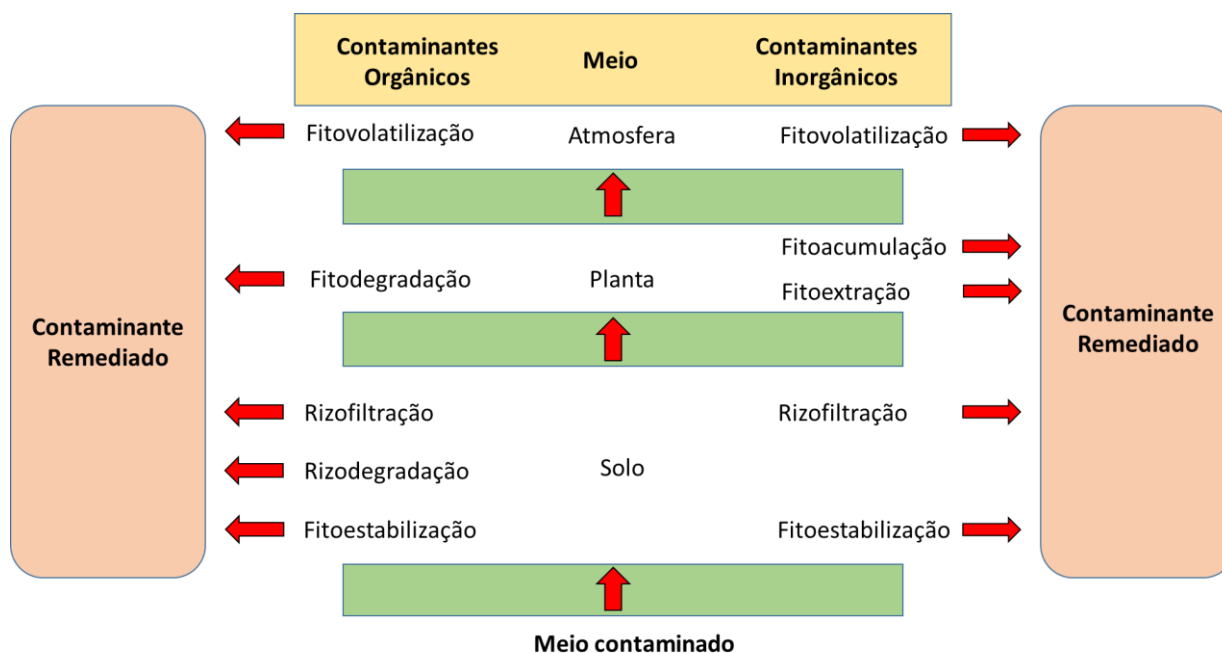


Figura 3: Tecnologia de Fitorremediação. Adaptado de (MOOSAVI; SEGHATOLESLAMI, 2013)

Fitoestabilização e fitoextração são as técnicas de fitorremediação mais adotadas para solos contaminados com metais pesados (SANTOS et al., 2007).

Geralmente, as plantas ideais para fitoextração são aquelas consideradas hiperacumuladoras, que devem possuir alta capacidade de acumular níveis tóxicos de metais em suas partes aéreas, alta taxa de crescimento e tolerância à salinidade e pH elevado. Além disso, essas plantas devem produzir grande quantidade de biomassa seca, capaz de serem colhidas e deve absorver e translocar metais para suas partes aéreas de forma eficiente (AHMADPOUR et al., 2012). As plantas mais comuns, testadas para fitorremediação foram listados por Felix et al., (1999): *Alyssum murale*, *caerulescens Thlaspi*, *Nicotiana tabacum*, *Zea mays*, *Brassica juncea* e *Salix viminalis*. A capacidade de várias espécies de plantas de culturas agrícolas, como mostarda, rabanete, nabo, colza e amaranto, para acumular quantidades mais elevadas de alguns metais (Cd, Cr, Cu, Ni e Zn) foi investigada também.

O arroz (*Oryza sativa L.*) é uma das plantas que apresentam potencial para remediar solos contaminados com baixos teores de Cd, conforme demonstrado por Murakami e Ishikawa (2007), onde a cultivar Milyang 23 acumulou até 15% do Cd total no solo.

A restauração das propriedades originais do solo pode nunca ser alcançada, especialmente usando métodos técnicos. No entanto, a boa recuperação das propriedades do solo pode atingir bons resultados ao utilizar-se o melhor de cada tecnologia para cada tipo de solo e para o tipo e concentração dos contaminantes (KABATA-PENDIAS, 2011).

3.5. Fenômeno de adsorção

Dentre os processos que afetam a disponibilidade de metais pesados, como cádmio no solo, a adsorção (acúmulo de elementos químicos na interface solo-solução) destaca-se pela sua grande importância (ALLOWAY, 2013).

A adsorção é o processo através do qual uma substância química reage no limite comum de duas fases contíguas por interações físicas ou químicas (RODRIGUES, 2014; SPOSITO, 2008). Neste processo ocorre uma separação que envolve o acúmulo ou a concentração de uma substância (adsorbato) em uma superfície sólida adsorvente que se deve a uma rápida formação de uma concentração interfacial de equilíbrio, seguida de uma lenta difusão das moléculas de soluto para dentro dos poros do adsorvente (RODRIGUES, 2014).

A complexidade das reações envolvidas nesse processo deve-se aos diversos componentes do solo, que interagem entre si, assim como da natureza multielementar da solução do solo. Dependendo da natureza dos coloides, os grupos funcionais em suas superfícies determinam uma maior ou menor adsorção do metal. No processo de adsorção os grupos funcionais da matéria orgânica são superfícies reativas importantes da fase coloidal dos solos, com grande variedade de sítios de adsorção (LINHARES et al, 2008).

A quantidade de um elemento adsorvido em razão da concentração remanescente na solução de equilíbrio pode ser representada por isotermas de adsorção (MC-BRIDE, 1994). As isotermas são equações matemáticas usadas para descrever a adsorção sem, no entanto, fornecer informações sobre o mecanismo das reações envolvidas. As equações nos permitem obter parâmetros que possam ser relacionados com propriedades dos solos (NASCIMENTO; FONTES, 2004).

Os íons podem ser adsorvidos por meio de ligações covalentes denominadas de adsorção específica, adsorção química ou quimissorção que caracteriza-se pelo compartilhamento de elétrons entre os compostos adsorvidos e a superfície do adsorvente, tornando o processo pouco reversível e lento ou por meio de ligações de natureza eletrostática, no qual os íons são retidos por forças físicas de ligação entre as moléculas, de baixa intensidade e portanto reversível – adsorção física ou fisissorção (Van der Waals) sendo denominadas de adsorção não específica (MURANAKA, 2010; MOREIRA, 2004).

Dentre os modelos que descrevem a adsorção de elementos no solo, os mais citados na literatura são os propostos por Langmuir e por Freundlich. A isoterma de Langmuir se baseia no fato da adsorção ocorrer em sítios uniformes com recobrimento em monocamada e afinidade iônica independentemente da quantidade de material adsorvido, fornecendo um parâmetro quantitativo, relacionado à máxima capacidade de adsorção, e um qualitativo, que expressa a energia de ligação. O modelo de Freundlich considera a não uniformidade das superfícies reais e, quando aplicado ao solo, descreve bem a adsorção iônica dentro de certos limites de concentração, mas acima deles apresenta dificuldade em considerar a quantidade de íons presentes no solo (LINHARES et al., 2008; SOUZA et al., 2007).

Adsorção é reconhecida como um método efetivo e promissor no tratamento de águas residuais contaminadas com elementos tóxicos. O carvão ativado é um dos adsorventes mais utilizados para tratar efluentes contaminados, com corantes por exemplo, no entanto seu alto custo e dificuldade de regeneração limitam o seu uso (CERVELIN, 2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de Realização

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia e Matéria Orgânica do Solo e em câmara Fitotron, localizados no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

4.2. Origem dos materiais estudados (VC, resíduo do VC-RVC, Biochar e Humina) e preparo dos substratos

O VC foi obtido na Fazendinha Agroecológica pertencente a EMBRAPA Agrobiologia-Seropédica, RJ e produzido a partir de restos vegetais e esterco bovino. O material RVC foi obtido a partir da extração de SH do mesmo VC utilizado neste estudo, segundo a metodologia descrita por García et al. (2013b). O Biochar foi cedido pela Dra. Beata Moaki e foi obtido a partir de cana de açúcar na EMBRAPA Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. A Humina foi obtida a partir de um solo orgânico coletado na localidade de Santa Cruz, Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, através do protocolo de extração estabelecido pela IHSS.

Os quatro materiais (VC, RVC, Biochar e Humina) foram previamente levados a agitação por 24 horas em garrafas contendo solução de Cd_2Cl (1 g L^{-1}) em mesa agitadora a 120 rpm. Após repouso de 3 horas os sólidos foram secos ao ar livre por 24 horas e em estufa a 50°C por mais 24 horas. Os substratos foram preparados em proporções baseadas em critérios experimentais estudados previamente e relatados na literatura. Para o Biochar a proporção foi de $7,5\text{ g kg}^{-1}$ segundo o critério de melhorias nas condições do solos (ZHAO et al., 2014; BORCHARD et al., 2012), para o VC a proporção de 200 g kg^{-1} segundo o critério de estímulos em plantas e melhorias das condições do solo (STEFFEN et al., 2011; MANH; WANG, 2014), para RVC foi utilizado 22 g kg^{-1} segundo o critério de proporção para a retenção de metais pesados (GARCÍA et al., 2013b) e Humina em 5 g kg^{-1} segundo o critério de abundância natural (FONTANA et al., 2001; GUARESCHI et al., 2013).

4.3. Aplicação das isothermas de Adsorção para a modelação da retenção de Cd^{2+} nos materiais

Os dados de retenção de Cd^{2+} para a construção das isothermas de adsorção foram obtidos da seguinte forma: uma massa de 20 g de cada material foi colocada em contato com soluções aquosas de concentrações crescentes de Cd^{2+} (1 mg L^{-1} ; 5 mg L^{-1} ; 20 mg L^{-1} ; 50 mg L^{-1} e 100 mg L^{-1}) na forma de Cloreto de Cadmio (CdCl_2) em um volume final de 100 ml mediante agitação por 240 minutos para Biochar (pH=4.23), 360 minutos para o VC (pH=5.03), 150 minutos para a Humina (pH=4.88) e 190 minutos para RVC (pH=5.01), baseado em experimentos prévios realizados em nosso laboratório. Após a agitação as suspensões foram filtradas e as concentrações no sobrenadante foram quantificadas mediante absorção atômica (VARIAN 55B Atomic Absorption Spectrometer).

Os dados de retenção foram ajustados à isoterma de Langmuir em sua forma linearizada segundo a equação:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{bQ_{\text{máx}}} + \frac{C_e}{Q_{\text{máx}}} \quad (1)$$

Em que: C_e é a concentração do metal no equilíbrio (mg L^{-1}), Q_e é a quantidade de metal absorvida por grama de cada material (mg g^{-1}), “b” é a constante de absorção de Langmuir a uma temperatura dada (L mg^{-1}) e $Q_{\text{máx}}$ é a capacidade máxima de absorção (mg g^{-1}).

O modelo da isoterma de Freundlich usada em sua forma linear corresponde a seguinte equação:

$$\log(Q) = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (2)$$

Em que: K_F (mg g^{-1}) e “n” são os parâmetros relacionados à capacidade e afinidade da retenção respectivamente.

4.4. Caracterização espectroscópicas dos materiais

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos na faixa de $4.000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, em espectrômetro de infravermelho da marca NICOLET (FT-IR), modelo 6700, com transformada de Fourier (FTIR), utilizando pastilhas de KBr (5 mg de cada material + 200 mg de KBr).

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico CP MAS ^{13}C -RMN foi realizada no aparelho Bruker AVANCE II RMN a 400 MHz, equipado com sonda de 4mm Narrow MAS e operando em sequência de ressonância de ^{13}C a 100.163 MHz. Para a obtenção dos espectros, as amostras dos materiais humificados foram colocadas em um rotor (porta-amostra) de dióxido de zircônio (ZrO_2) com tampas de Kel-F sendo a frequência de giro de $8 \pm 1 \text{ kHz}$. Os espectros foram obtidos pela coleta de 2048 data points para igual número de digitalizações a um tempo de aquisição de 34 ms e com intervalo de reciclagem de 5s. O tempo de contato para a sequência em rampa de ^1H ramp foi de 2 ms. A coleta e elaboração espectral foram realizadas utilizando o Software Bruker Topspin 2.1. Os decaimentos livres de indução (FID) foram transformados aplicando um zero preenchimento igual a 4k e posteriormente um ajuste por função exponencial (line broadening) de 70 Hz.

4.5 Aplicação de quimiometria para o estudo da influência estrutural na retenção de Cd^{2+}

As análises quimiométricas de componentes principais (PCA) envolvendo os dados espectrais de ^{13}C -CP/MAS NMR e FTIR de todos os materiais foram realizados utilizando o programa Unscrambler® X 10.3 package (Camo Software AS Inc., Oslo, Norway). Os espectros ^{13}C -NMR e FTIR dos materiais com e sem Cd^{2+} foram carregados a partir do software e normalizados por área (area normalization). As análises PCA de cada material foram realizadas utilizando um algoritmo NIPALS, método de validação CROSS VALIDATION.

4.6. Experimentos de biodisponibilização de Cd^{2+} para as plantas de arroz

4.6.1. Material vegetal e condições experimentais

O experimento de assimilação de Cd^{2+} foi realizado utilizando-se plantas de arroz (*Oryza sativa L.*) da variedade Piauí, cujas sementes foram cedidas pelo Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas-UFRJ. As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento (Fitotron) com as seguintes condições: (ciclo de luminosidade: 12/12 h (luz/escuro), fluxo fotossintético de fótons: $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, umidade relativa: 70% e temperatura: $28 \text{ }^\circ\text{C}/24 \text{ }^\circ\text{C}$

(dia/noite). As sementes de arroz foram previamente desinfestadas com Hipoclorito de sódio (2%) por 10 minutos e posteriormente lavadas com água destilada. As sementes foram transferidas para potes com gaze e água destilada para germinação. Quatro dias após a germinação das sementes, as plântulas foram transplantadas a potes que continham o substrato composto por areia inerte lavada e autoclavada e misturada a cada um dos materiais enriquecido com Cd^{2+} ($170 \text{ mg Cd}^{2+} \text{ g}^{-1}$ (material)) apoiados nos dados experimentais obtidos das isotermas de adsorção (o valor do Cd^{2+} retido foi comprovado por quantificação mediante absorção atômica). Após a transferência das plantas aos substratos foi acrescentada solução de Hoagland (HOAGLAND; ARNON, 1950) modificada a $\frac{1}{4}$ da força iônica total. Após sete dias foi adicionada solução de Hoagland a $\frac{1}{2}$ da força iônica total. Durante todo o experimento foi mantida uma lâmina de água destilada sobre os substratos. O delineamento experimental utilizado em todos os experimentos foi inteiramente casualizado, utilizando um total de cinco plantas por pote com 4 repetições por tratamento. Foram incluídos ainda um tratamento controle apenas com areia, sem a solução de Cd_2Cl e outro com areia e a solução de Cd_2Cl .

4.6.2. Determinação dos parâmetros radiculares

O sistema radicular das plântulas de arroz foi distribuído em uma camada de água em uma bandeja de acrílico (30 cm x 20 cm) para a digitalização a 600 dpi (Epson Expression 10000XL). As imagens das raízes foram convertidas para um formato em tons de cinza de oito bits e analisadas e quantificadas quatro características diferentes: comprimento (mm), área de superfície (mm^2), diâmetro médio (mm) e número de raízes, mediante utilização do software WinRhizo Arabidopsis, 2012b (Régent Instruments, Quebec, Canadá Inc.). As imagens foram analisadas usando um grid de calibração como uma escala de referência e alteraram-se as configurações de entrada para raízes pálidas em um fundo preto (WinRhizo Arabidopsis 2012b). Em seguida os dados foram analisados através do software XLRhizo (Régent Instruments, Quebec, Canadá Inc.). Foram realizadas também análises de comprimento, área de superfície e diâmetro médio para as partes aéreas das plantas. Posteriormente as plantas foram secas ao ar livre por 24 horas, raízes e parte aérea foram separadas e levadas a estufa para secagem a 60°C até peso constante, para determinação de massa seca foliar e radicular.

4.6.3. Determinação do conteúdo de Cd^{2+} nos tecidos das plantas

O conteúdo de Cd^{2+} nos órgãos das plantas de arroz foi quantificado mediante espectrometria de absorção atômica (VARIAN 55B Atomic Absorption Spectrometer). Os tecidos radiculares e foliares foram macerados e submetidos a digestão em bloco digestor, mediante mistura de ácidos Nitro-Perclóricos concentrados ($\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$), 6:1. Após a digestão as amostras foram completadas até 25 ml com água destilada e filtradas em papel filtro para a determinação de Cd^{2+} (TEDESCO et al., 1997).

4.6.4. Determinação dos conteúdos biodisponíveis e trocáveis nos substratos

Ao final do experimento realizou-se a extração de Cd^{2+} biodisponível a partir dos substratos utilizando H_2O deionizada e de Cd^{2+} trocável utilizando MgCl_2 (1 mol L^{-1}). Os substratos foram mantidos em contato por agitação com cada extrator durante 20 horas em mesa agitadora, centrifugados e posteriormente feita a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica (VARIAN 55B Atomic Absorption Spectrometer) (URE et al., 1993).

4.6.5. Índices de Fitoextração

Para conhecer a quantidade de Cd^{2+} que foi translocada dos substratos até as plantas e acumulado nos tecidos foi calculado o fator de bioconcentração (BCF): $\text{BCF} = \text{Cd}^{2+} (\text{plant tissue}) / \text{Cd}^{2+} (\text{soil})$ (ZHUANG et al., 2007).

A capacidade das plantas para translocar o Cd^{2+} desde a raiz até a parte aérea foi calculado pelo índice de translocação (TI): $\text{TI} = \text{Cd}^{2+} (\text{parte aérea}) / \text{Cd}^{2+} (\text{raiz}) * 100$ (ZACCHINI et al., 2009).

4.7. Caracterização morfológica dos materiais mediante Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A caracterização morfológica do VC, RVC, Biochar e Humina foi realizada mediante a obtenção de imagens microscópicas por digitalização superficial dos substratos secos aos 7 e 18 DAT. Foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura Tabletop Microscope, Model TM3000, Hitachi High-Tec, em alto vácuo e feixe acelerado de 15KV como fonte de luz.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Modelação da retenção de Cd^{2+} utilizando as Isotermas de Langmuir e Freundlich

O comportamento das isotermas de adsorção em tipo “L” apresentado pelos quatro materiais indica interação do Cd^{2+} em nível superficial até a saturação dos sítios disponíveis (GILES et al., 1960) (Figura 4A). As isotermas linearizadas de Langmuir (Figura 4B) mostram o melhor ajuste da retenção do Cd^{2+} em Biochar ($R^2= 99.18$, $p<0.001$) e um pobre ajuste para a retenção em VC ($R^2= 30.80$, $p<0.001$). As isotermas de Freundlich linearizadas (Figura 4C) mostram um melhor ajuste da retenção de Cd^{2+} nos materiais RVC ($R^2= 95.51$, $p<0.001$), Humina ($R^2= 94.32$, $p<0.001$) e VC ($R^2= 82.50$, $p<0.001$).

O melhor ajuste ao modelo Langmuir no biochar indica que a retenção neste material ocorre através da formação de monocamadas, onde os sítios de retenção apresentam uma afinidade equivalente pelo Cd^{2+} (Figura 4B) (FOO; HAMEED, 2010). Contrariamente no VC, o baixo ajuste ao modelo Langmuir e um melhor ajuste ao modelo de Freundlich indicam uma heterogeneidade das características químicas dos seus sítios de ligação. No entanto, os ajustes ao modelo de Freundlich pelos materiais RVC e Humina indicam que nestes materiais existem os sítios de ligação com maior diversidade e heterogeneidade, é possível que a retenção nestes materiais aconteça inicialmente mediante ligações químicas e posteriormente através de interações de natureza mais eletrostáticas (Figura 4C) (FOO; HAMEED, 2010).

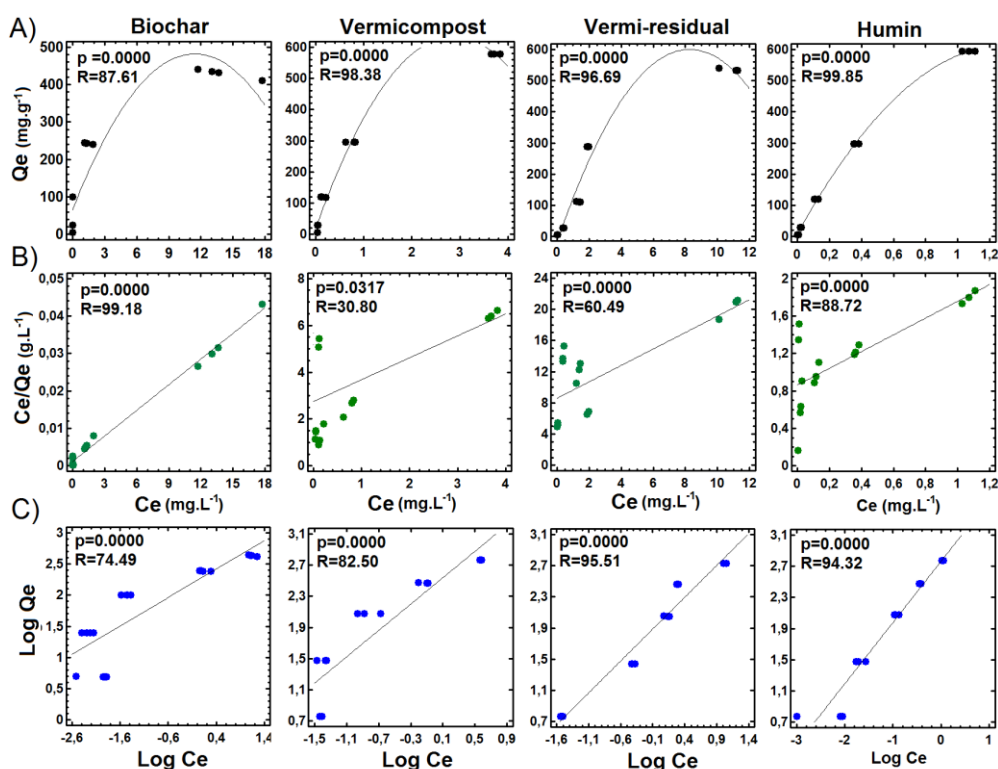


Figura 4: Isotermas de adsorção de Cd^{2+} nos materiais estudados. Na horizontal, A: isotermas gerais de adsorção, B: isotermas de Langmuir linearizadas e C: isotermas de Freundlich linearizadas. Valores de retenção ajustados através de regressão linear simples e valores de significância para $p<0.05$, $n=15$.

Os parâmetros obtidos a partir das isotermas de Langmuir mostram que RVC apresenta a maior capacidade de retenção, seguido do Biochar, o VC e a Humina respectivamente (Tabela 3). Os menores valores do parâmetro “b”, relacionado com a energia de adsorção, indicam que o Cd²⁺ apresenta as interações mais fortes com os materiais VC e RVC, possivelmente interações de natureza química (JORDÃO et al., 2009; GARCÍA et al., 2013b). O parâmetro “kF” obtido a partir das isotermas de Freundlich e relacionado com a capacidade relativa de adsorção (IQBAL et al., 2009; JORDÃO et al., 2009; GARCÍA et al., 2013b) mostra os maiores valores nos materiais VC e RVC, assim como o parâmetro “n”, com valores de 1<n<10 e relacionado com a intensidade da adsorção (IQBAL et al., 2009; JORDÃO et al., 2009; GARCÍA et al., 2013b), mostrou que nos quatro materiais a retenção é favorável com o maior valor para o biochar.

Tabela 3: Parâmetros de adsorção obtidos a partir das Isotermas de Freundlich e Langmuir.

| Materiais | b (L mg ⁻¹) | Q_{max} (mg g ⁻¹) | k_F (mg g ⁻¹) | n |
|-----------|---------------------------|---------------------------------|-----------------------------|------|
| | Parâmetros de Langmuir | | Parâmetros de Freundlich | |
| VC | 0.34 | 206.80 | 283.85 | 1.18 |
| Biochar | 1.95 | 238.90 | 171.14 | 2.20 |
| RVC | 0.12 | 348.01 | 292.81 | 1.22 |
| Humina | 1.03 | 171.91 | 175.43 | 1.27 |

A análise de componentes principais-PCA (99.9% da variância total explicada) na Figura 5A mostra na PC1 (99.9%) uma relação dos materiais com as maiores concentrações adicionados, o que sugere que as diferenças na retenção devido à quantidade retida são mais evidentes quando os materiais interagem com 50 e 100 mg L⁻¹ de Cd²⁺. A PCA (91.31% da variância total explicada) realizada a partir dos parâmetros obtidos das isotermas de adsorção mostra uma estreita relação dos materiais com o parâmetro “n” (PC1 63.12%) (Figura 5B) confirmando as interações favoráveis entre os materiais e o Cd²⁺.

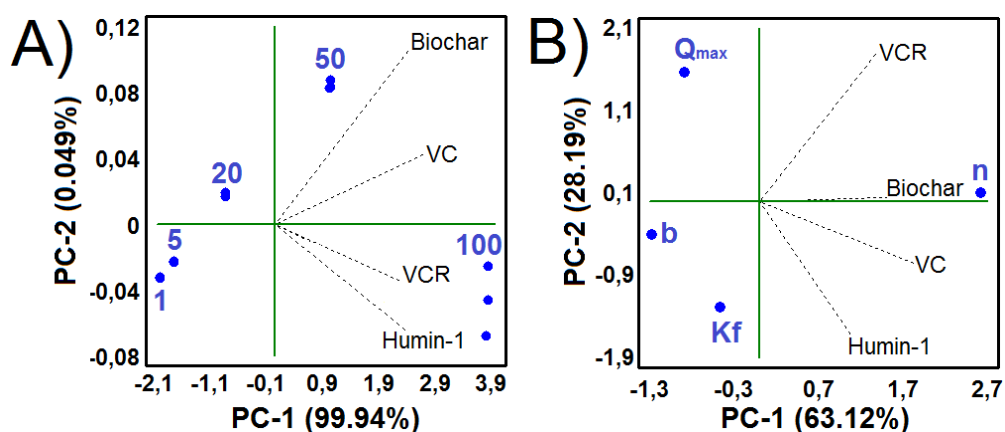


Figura 5: Análises de Componentes Principais (PCA) que relaciona os diferentes materiais estudados com as diferentes concentrações: (A) e para os materiais com os diferentes parâmetros obtidos das Isotermas de Langmuir e Freundlich: (B).

5.2. Caracterização da retenção de Cd^{2+} nos materiais mediante técnica espectroscópicas e quimiométrica

5.2.1. Caracterização da retenção mediante CP MAS ^{13}C NMR

Os materiais VC, RVC e humina apresentam uma presença estrutural semelhante de tipos de carbono (Figura 6). Em termos de quantidade, VC apresenta maior predomínio de carboxilas (10.71%) quando comparado com RVC (6.40%) e a humina (7.14%), assim como VC e RVC apresentam maior quantidade de estruturas alifáticas oxigenadas e nitrogenadas quando comparadas com a humina (Tabela S1 em anexo). O Biochar apresentou predomínio de estruturas aromáticas substituídas (Ar-O, N; 62.50%) e elevada presença de carboxilas (8.65%) e carbonilas (2.88%).

Os espectros CP MAS ^{13}C NMR dos quatro materiais com e sem o Cd^{2+} retido às cinco concentrações adicionadas, não mostraram mudanças na presença dos picos (Figura 6). Também não foram observadas mudanças importantes nas quantidades de estruturas detectadas através da integração das regiões nos espectros, assim como também não houve mudanças nas propriedades de aromaticidade e alifaticidade dada pela retenção do Cd^{2+} (Tabela S1 em anexo).

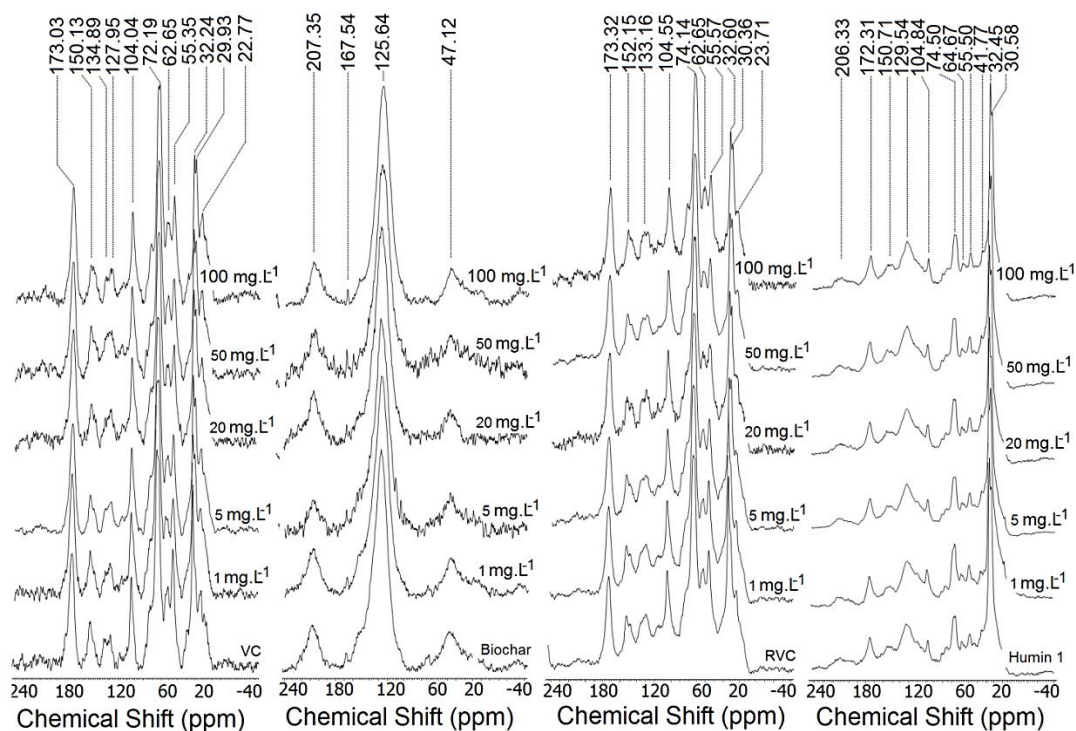


Figura 6: Espectros CP MAS ^{13}C NMR dos diferentes materiais estudados com e sem os diferentes níveis de Cd^{2+} retidos.

Para detectar mudanças estruturais ocorridas na interação com o Cd^{2+} pouco visíveis pela observação dos sinais nos espectros (Figura 6), assim como a contribuição de cada estrutura, foram desenvolvidas análises quimiométricas aplicando PCA a partir das matrizes dos espectros puros e integrados por região (Figura 7). As análises de PCA dos espectros puros (Figura 7A, B, C, D) mostraram diferenças estruturais entre os materiais sem Cd^{2+} e com Cd^{2+}

A PCA realizada a partir da integração por região nos espectros permitiu conhecer a participação das estruturas presentes nos materiais na interação com o Cd^{2+} (Figura 7A1, B1, C1 e D1). No VC as estruturas oxigenadas (-COOH, CAr-O, Calk-O e Calk-di-O) apresentam relação com o material sem e com o Cd^{2+} retido a concentrações entre 1-20 mg L^{-1} , enquanto que, estas estruturas não aparecem relacionadas com o VC em interação com as maiores concentrações de Cd^{2+} (50-100 mg L^{-1}). Nesta linha de raciocínio, a interação do VC com elevadas concentrações de Cd^{2+} parece produzir mudanças estruturais envolvendo as estruturas mais oxigenadas, isto poderia ser uma consequência do envolvimento deste tipo de estrutura na formação de ligações químicas com o Cd^{2+} (Figura 7A1). No Biochar, as interações com concentrações de Cd^{2+} superiores a 1 mg L^{-1} parecem provocar mudanças envolvendo estruturas -COOH e -C=O (Figura 7B1). De forma diferente, na Humina todas as concentrações de Cd^{2+} exercem mudanças através da interação do Cd^{2+} com as estruturas -COOH, C=O e Calk-di-O (Figura 7C1) enquanto que, no RVC, concentrações menores de Cd^{2+} parecem explorar estruturas de tipo Calk-O, N o que provoca mudanças estruturais que disponibilizam estruturas oxigenadas, permitindo o favorecimento da retenção com Cd^{2+} a concentrações superiores a 1 mg L^{-1} (Figura 7D1).

5.2.2. Caracterização da retenção mediante FTIR

Os quatros materiais caracterizados mostraram grupamentos funcionais semelhantes e ionizados que favorecem a interação com Cd^{2+} (Figura 8). Em todos os materiais foram registradas bandas de absorção em $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ e vibrações de estiramentos (ν) -OH e/ou -NH (álcoois, ácidos carboxílicos e amidas). Bandas entre 1620 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} pertencem a $\nu \text{ C}=\text{C}$ aromático, $\nu \text{ C}=\text{O}$ de amida I, ν simétrico -COO-. As bandas entorno de $\sim 1035 \text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1110 \text{ cm}^{-1}$ se correspondem com ν -OH de álcoois alifáticos e polissacarídeos (MUSCOLO et al., 2007; DROUSSI et al., 2009; AMIR et al., 2010; LI et al., 2011; RUSSELL et al., 2006) (Figura 8).

Assim como observado na caracterização mediante ^{13}C NMR, os espectros FTIR de todos os materiais com e sem o Cd^{2+} retido não revelaram mudanças visíveis nos grupamentos funcionais para nenhuma das concentrações analisadas (Figura 8).

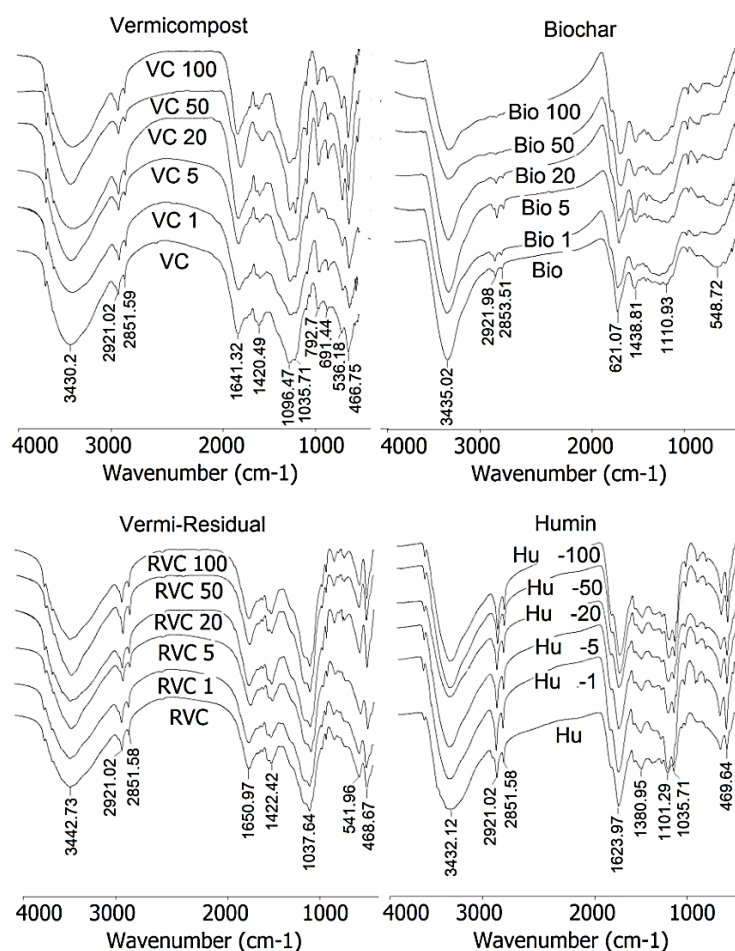


Figura 8: Espectros FTIR dos materiais com e sem os diferentes níveis de Cd²⁺ retidos.

A partir das matrizes espectrais dos materiais com e sem interação com Cd²⁺ foi também desenvolvida análise de PCA (Figura 9). A aplicação desta técnica também permitiu observar as mudanças nos grupamentos funcionais que não resultaram evidentes mediante a análise visual dos espectros FTIR. Aqui se mostra como os espectros correspondentes ao VC em interação com as maiores concentrações de Cd²⁺ resultaram diferentes quando comparados ao VC sem interação com o Cd²⁺. Este mesmo comportamento foi também observado para o Biochar, a Humina e RVC (Figura 9). Estes resultados permitiram confirmar o encontrado quando aplicada a PCA a partir dos dados de ¹³C NMR.

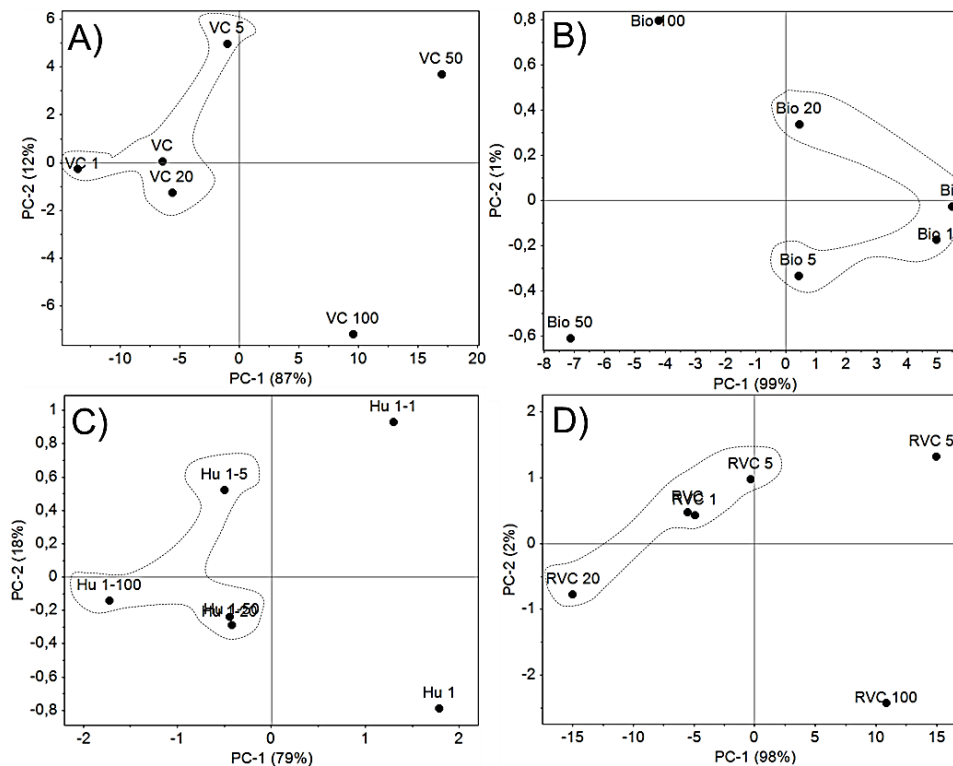


Figura 9: PCA realizado a partir do carregamento dos espectros puros FTIR com e sem os diferentes níveis de Cd^{2+} retidos: (A, B, C e D).

Exceto para RVC, a capacidade do Biochar, Humina e VC para reter Cd^{2+} já é conhecida na literatura (FINE et al., 2005; BEESLEY; MARMIROLI, 2011; UCHIMIYA et al., 2011; ANDREAS; ZHANG 2014; PARK et al., 2015), porém, um estudo comparativo entre eles utilizando técnicas quimiométricas para entender as mudanças estruturais e grupamentos químicos envolvidos na retenção são escassos. Aqui nós observamos que todos os materiais estudados apresentam uma elevada capacidade de retenção de Cd^{2+} (Tabela 3), sendo RVC e Biochar os de maiores quantidades de Cd^{2+} retido. No Biochar, VC e Humina, os grupamentos -OH, -NH e -COO- (Figura 8) que fazem parte de estruturas oxigenadas (e.g. -COOH e -C=O) (Figura 7A1, B1 e C1) estão diretamente envolvidas na retenção de Cd^{2+} . O RVC mostrou que os grupamentos -OH e -NH em estruturas Calk-O,N podem constituir os sítios iniciais de retenção de Cd^{2+} (Figura 8), disponibilizando posteriormente outros grupamentos oxigenados como -COOH (Figura 7D1) como resultados de mudanças estruturais provocadas pela interação com o Cd^{2+} (Figura 7D e 9D).

5.3. Capacidade dos materiais para disponibilizar Cd^{2+} em plantas de arroz

As plantas de arroz resultaram um modelo vegetal satisfatório para o estudo da toxicidade do Cd^{2+} pela disponibilização dos diferentes materiais. O crescimento das plantas foi diferencialmente afetado em função do tipo de material onde foram plantadas. O efeito de inibição do crescimento foi visível nas plantas que cresceram no Biochar e na Humina e este efeito resultou semelhante ao exercido pela toxicidade de Cd^{2+} disponível (Figura 10 a 14).

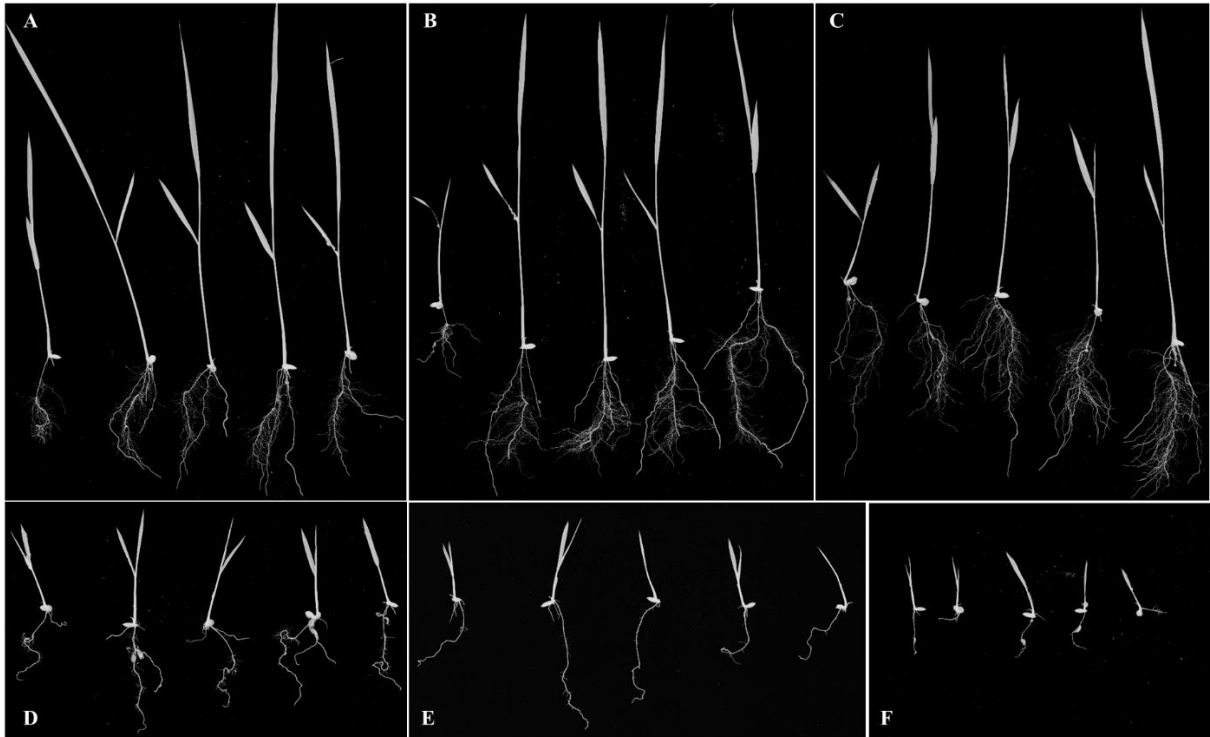


Figura 10: Tamanho das plantas após 7 dias. Onde A=VC, B=RVC, C=Controle, D=Biochar, E=somente Cd^{2+} e F=Humina.

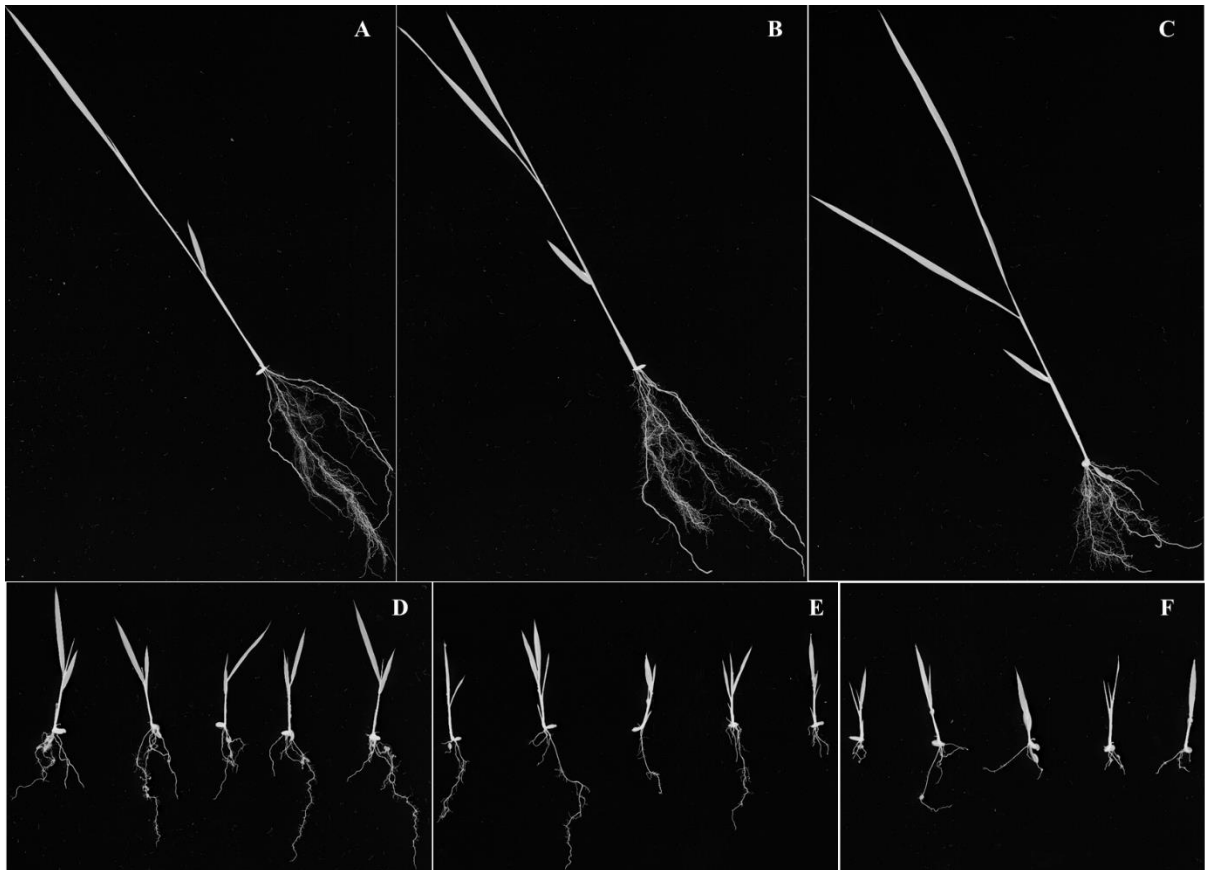


Figura 11: Tamanho das plantas após 14 dias. Onde A=Controle, B=RVC, C=VC, D=Biochar, E=somente Cd^{2+} e F=Humina.

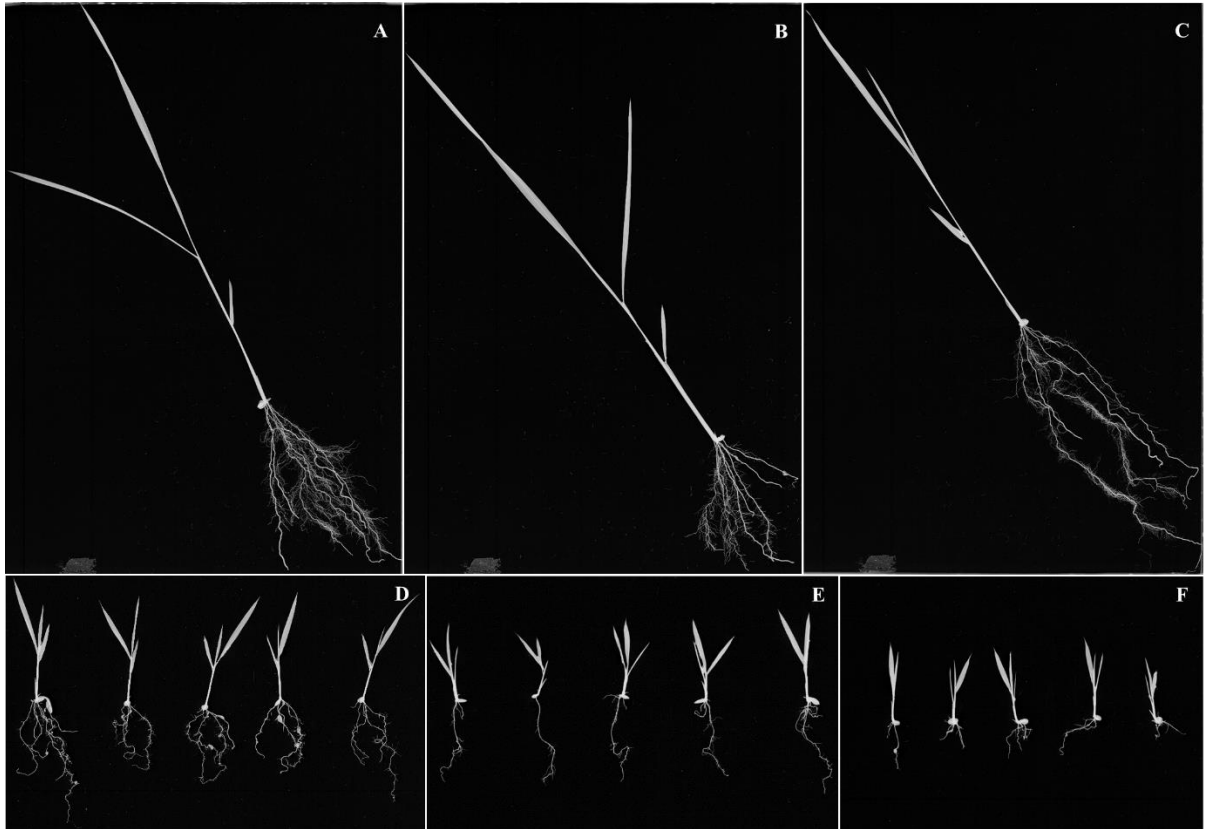


Figura 12: Tamanho das plantas após 16 dias. Onde A=RVC, B=VC, C=Controle, D=Biochar, E=somente Cd^{2+} , e F=Humina.

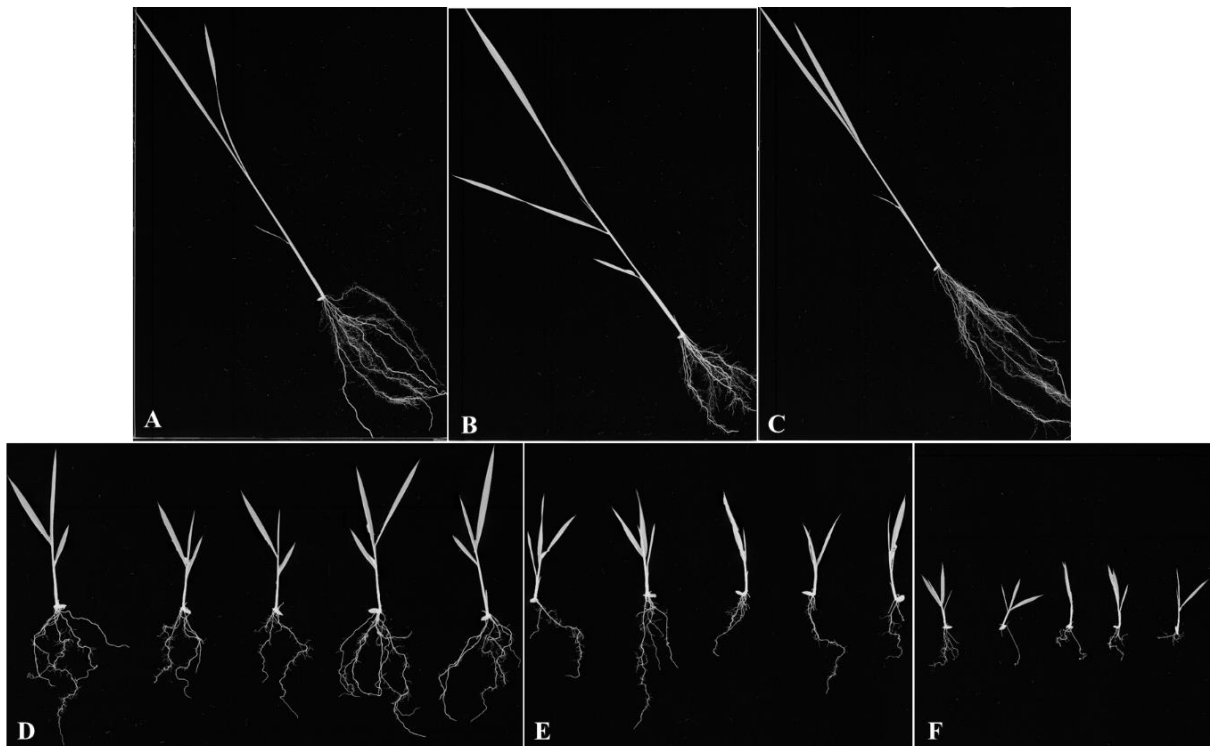


Figura 13: Tamanho desenvolvido pelas plantas após 18 dias. Onde A=RVC, B=VC, C=Controle, D=Biochar, E=somente Cd^{2+} , e F=Humina.



Figura 14: Aspecto das plantas após 18 dias nos substratos contendo areia e os materiais com o Cd²⁺.

A quantificação do Cd²⁺ presente nos tecidos radiculares e foliares das plantas de arroz demonstram o quanto deste metal é liberado por cada material no substrato (Figura 15A e 15B). As plantas que cresceram no substrato contendo Humina e Biochar apresentaram o maior acúmulo de Cd²⁺ no sistema radicular junto com as plantas que cresceram com Cd²⁺ biodisponível. Contrariamente, as plantas que cresceram em substrato com VC e RVC acumularam menor quantidade de Cd²⁺ nas raízes e esta quantidade foi ligeiramente superior às plantas do tratamento controle. Estes resultados demonstram que Humina e Biochar são materiais que disponibilizam com facilidade o Cd²⁺ para sua assimilação pelas plantas, ao mesmo tempo em que VC e RVC são materiais que disponibilizam menor quantidade deste metal para sua tomada e acumulação pelo sistema radicular. A presença de Cd²⁺ nas plantas reafirma que na Humina e no Biochar, o metal se encontra retido mediante interações mais fracas ou que os sítios de ligação com os quais o Cd²⁺ interage estão estruturalmente dispostos de forma mais superficial, como consequência do anterior o acesso das raízes a este metal estaria mais facilitado. Isto porque na interação destes materiais com o sistema radicular das plantas, a exsudação de ácidos e consequente acidificação da rizosfera poderia liberar com maior facilidade o Cd²⁺ que se encontra mais fracamente ou superficialmente retido.

O conteúdo de Cd²⁺ nos tecidos foliares indica o acúmulo pela translocação deste metal desde a raiz até as folhas (Figura 15B). As plantas que cresceram em condições de Cd²⁺ disponível tiveram uma maior quantidade de Cd²⁺ translocado desde a raiz até as folhas. Também nas plantas que cresceram no substrato contendo Humina e Biochar houve um maior acúmulo de Cd²⁺ nas folhas pela translocação deste metal. Este resultado constitui uma confirmação da facilidade destes materiais para disponibilizar o Cd²⁺ e ser acumulado pelas plantas. Contrariamente, as plantas que cresceram nos materiais VC e RVC mostraram uma baixa translocação e acúmulo do Cd²⁺ nos órgãos foliares.

O índice de translocação (TI) reafirma o explicado anteriormente (Figura 15C). O elevado TI mostrado pelas plantas crescidas em Cd^{2+} indica que a biodisponibilidade do metal constitui um fator importante para seu acúmulo em parte aérea. As plantas crescidas em Humina e Biochar com Cd^{2+} retido mostraram os maiores valores de translocação do metal quando comparados com as plantas crescidas em VC e RVC. Este resultado constitui mais uma confirmação da capacidade da Humina e Biochar para biodisponibilizar o Cd^{2+} . O fator de bioconcentração do Cd^{2+} (BCF) também resultou elevado nas plantas crescidas em Cd^{2+} como consequência da biodisponibilidade do metal (Figura 15D). Novamente, a Humina e o Biochar propiciaram nas plantas os maiores valores de BCF confirmando novamente a biodisponibilidade deste metal nestes substratos.

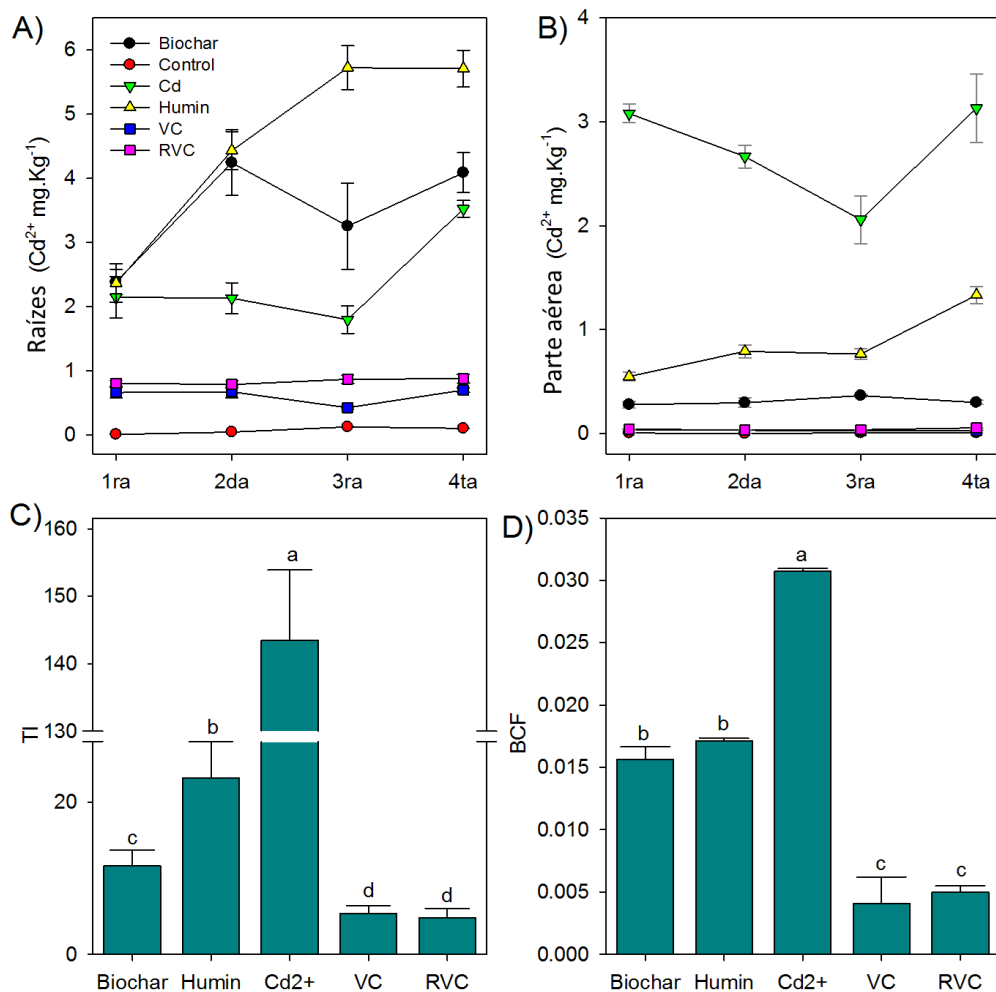


Figura 15: Conteúdo de Cd^{2+} nos tecidos radiculares e foliares das plantas de arroz quantificados em quatro momentos diferentes até os 18 DAT (A e B). Índice de translocação (TI) (C) e Fator de Bioconcentração (BCF) (D) calculado aos 18 DAT.

O Cd^{2+} assimilado pelas plantas crescidas nos substratos contendo os diferentes materiais provocou toxicidade em diferentes níveis afetando os parâmetros de crescimento. Em todos os materiais testados as plantas sofreram inibição do crescimento do sistema radicular quando comparado com o tratamento controle (Figuras 16 a 18). O comprimento da raiz, a área radicular e o número de raízes foram parâmetros afetados pela toxicidade do Cd^{2+} liberado pelos

diferentes materiais (Figura 18). As plantas crescidas nos materiais VC e RVC tiveram seu sistema radicular menos afetado, contrariamente, as plantas em crescimento no Biochar e na Humina apresentaram as afetações mais drásticas.

Para o caso específico do diâmetro radicular, as plantas crescidas em todos os materiais com Cd^{2+} desenvolveram um engrossamento da raiz (Figura 16), isto constitui uma comprovação de que os efeitos prejudiciais produzidos nas plantas crescidas nos materiais se correspondem com efeitos tóxicos do Cd^{2+} isto porque, é conhecido na literatura que o aumento no diâmetro da raiz é um mecanismo de defesa das plantas em condições de estresse por metais pesados (MAKSIMOVIC et al., 2007; LUX et al., 2011).

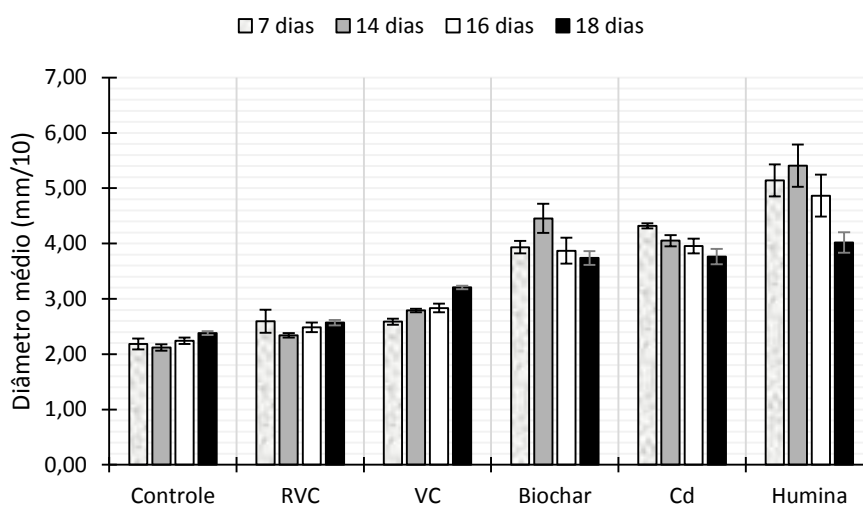


Figura 16: Diâmetro radicular avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

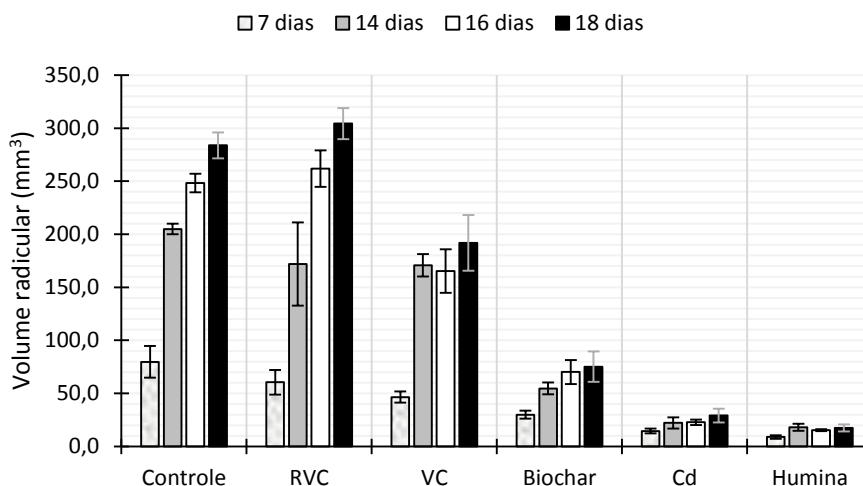


Figura 17: Volume radicular avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

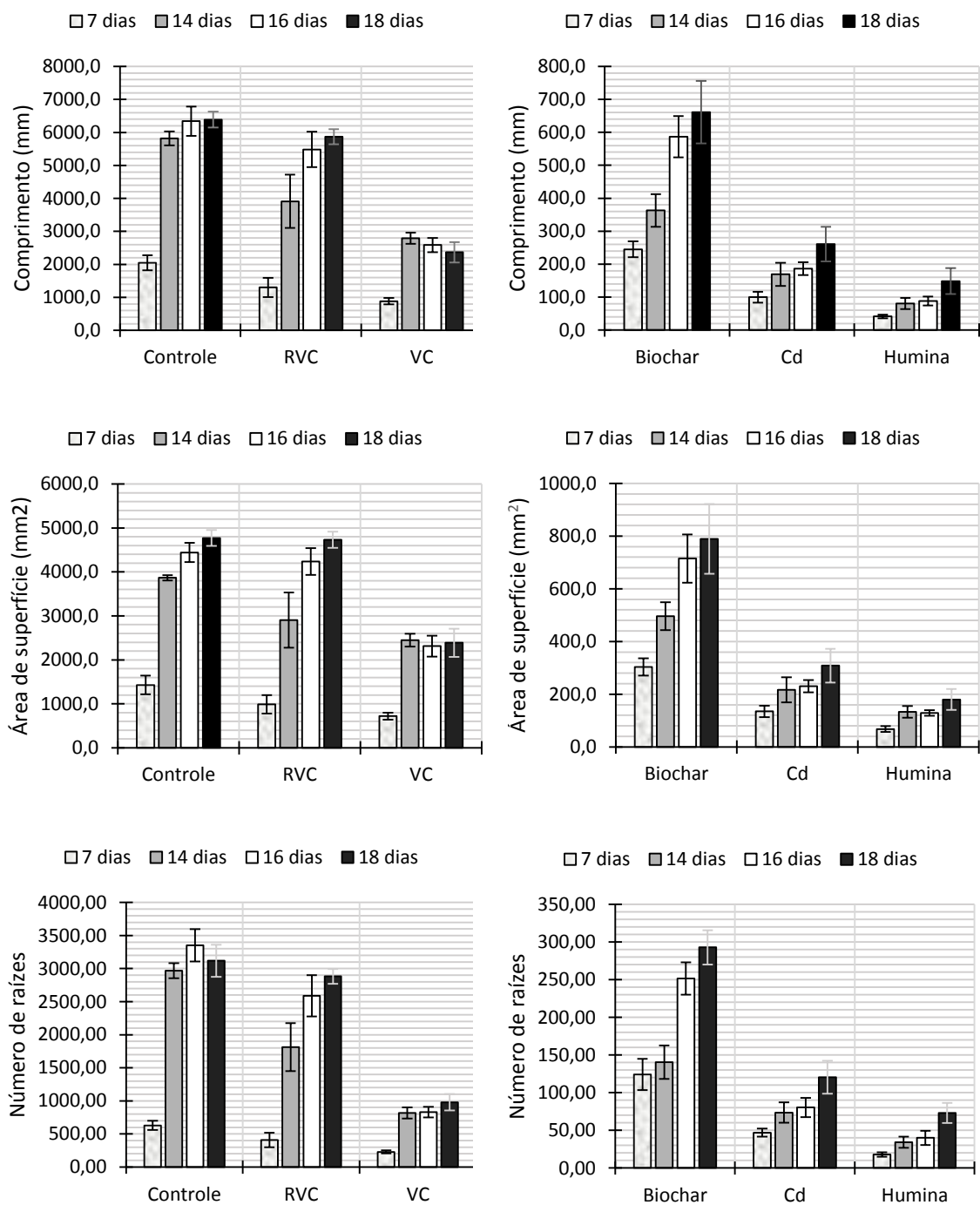


Figura 18: Parâmetros de crescimento radicular avaliados nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

O desenvolvimento da parte aérea nas plantas não teve a mesma resposta que o sistema radicular em todos os materiais. O comprimento das folhas e a área foliar das plantas crescidas em VC e RVC foram estimulados e apresentaram resultados superiores ao tratamento controle (Figuras 19 e 20). Contrariamente, estes parâmetros foliares resultaram mais afetados nas

plantas que cresceram em Humina e Biochar. O diâmetro foliar não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Figura 21).

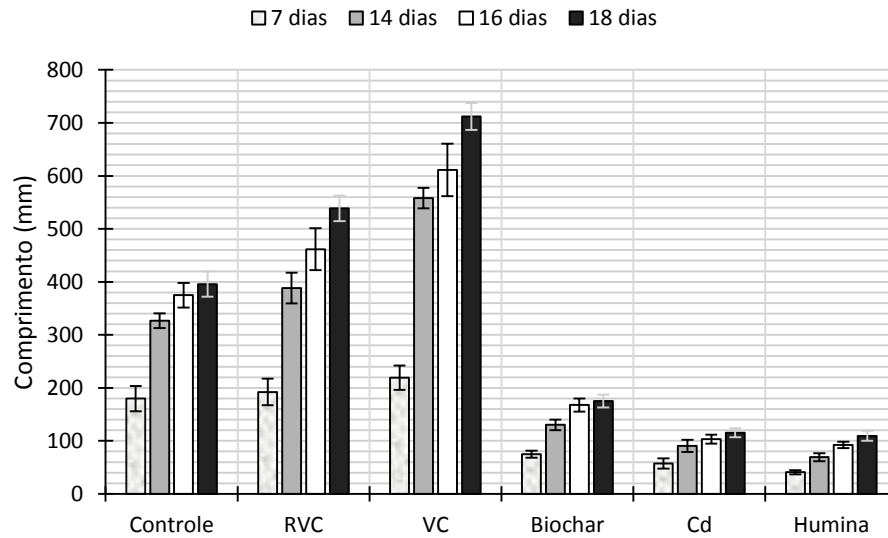


Figura 19: Comprimento foliar avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

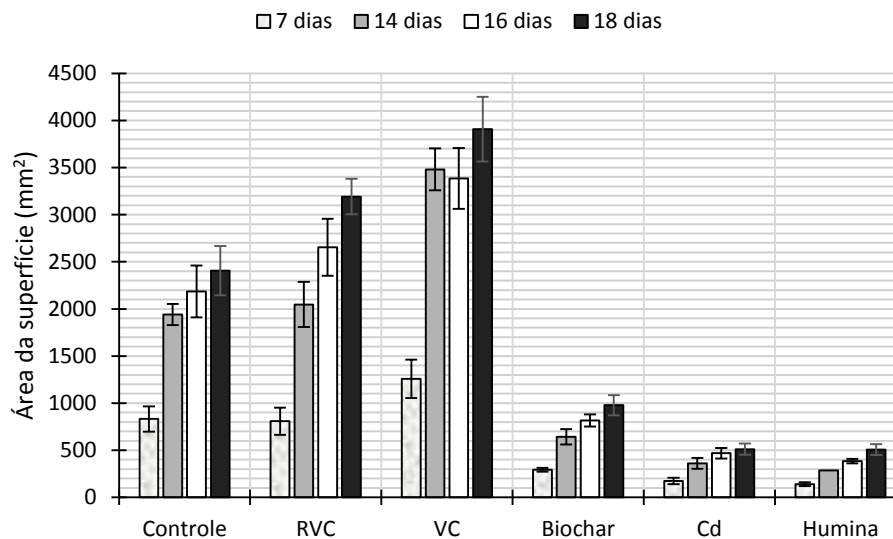


Figura 20: Área foliar avaliada nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

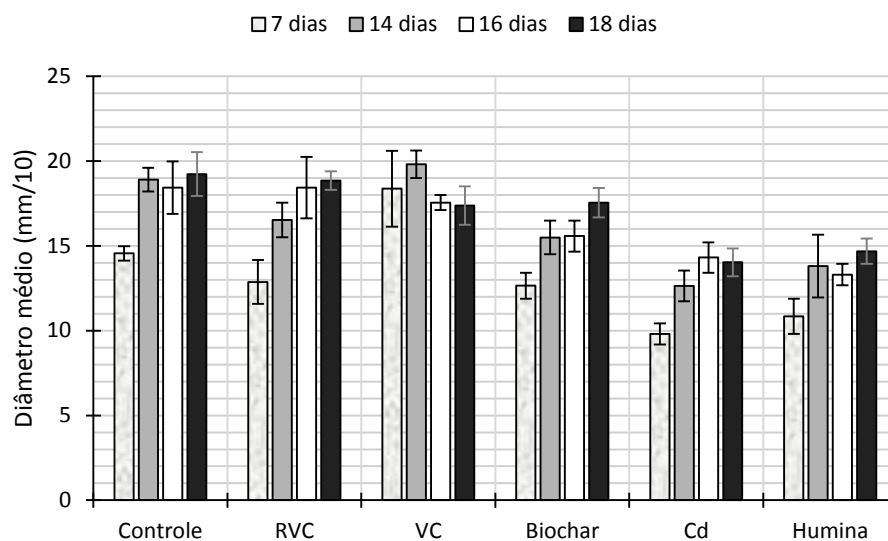


Figura 21: Diâmetro foliar avaliado nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em seu conjunto, os resultados sugerem que no Biochar e na Humina se produz a liberação de maior quantidade de Cd^{2+} em interação com as raízes das plantas (Figura 15). Este Cd^{2+} biodisponível é acumulado nas raízes e translocado para as folhas o que produz efeitos de toxicidade nas plantas de arroz e provoca inibição do crescimento e desenvolvimento radicular e foliar. De forma contrária ao biochar e a humina, nos materiais VC e RVC se produz a liberação de menor quantidade de Cd^{2+} biodisponível para as plantas e como consequência as quantidades acumuladas em raízes e folhas foram menores quando comparadas com o resto dos tratamentos, isto resultou em uma menor toxicidade por parte do Cd^{2+} , o que refletiu diretamente em uma menor inibição do sistema radicular quando comparado com o controle, porém em um estímulo do sistema foliar.

A quantidade de biomassa produzida pelos tecidos foliares e radiculares foram também determinadas nestes experimentos (Figuras 22 e 23). Nas plantas crescidas no Biochar e na Humina com Cd^{2+} retido houve drástica afetação na produção de biomassa tanto nas folhas quanto nas raízes quando comparado com o controle e os tratamentos restantes. De forma contrária, as plantas crescidas nos materiais VC e RVC desenvolveram quantidades de biomassa radicular equivalente às plantas do tratamento controle e nas plantas crescidas em RVC, as quantidades de biomassa foliar resultaram superiores ao controle.

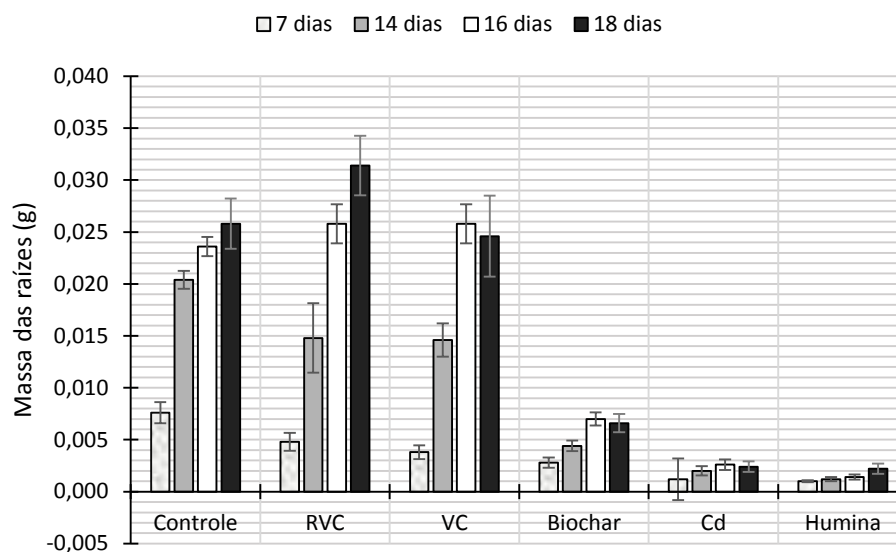


Figura 22: Massa seca radicular determinada nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

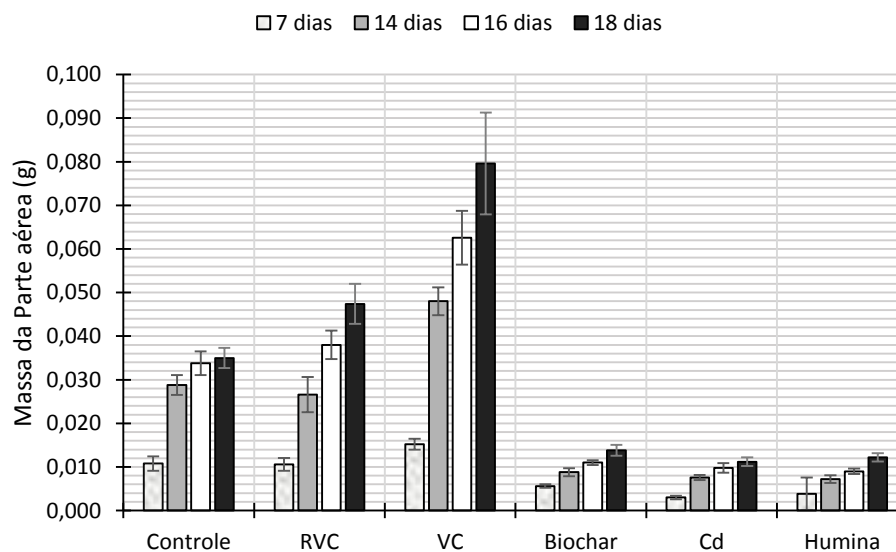


Figura 23: Massa seca da parte aérea determinada nas plantas crescidas nos diferentes substratos contendo Cd^{2+} retido. Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para cinco replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Estes efeitos na produção de biomassa exercidos nas plantas crescidas em VC e RVC carregados com Cd^{2+} podem ser atribuídos a uma resposta do metabolismo de defesa antioxidativo onde a sínteses de proteínas de defesa e transporte, podem estar sendo sintetizado para atenuar o efeito tóxico do Cd^{2+} (GILL; TUTEJA, 2011). Ao mesmo tempo, fragmentos de

moléculas húmicas presentes nestes materiais humificados podem estar exercendo efeitos de proteção antiestresse através de uma proteção antioxidativa (GARCÍA et al., 2012; 2014) ou estimulando o crescimento através de mecanismo de ação hormonal (CANELLAS et al., 2002; 2013; DOBBSS et al., 2010).

A quantificação do Cd^{2+} remanescente nos substratos após os 18 dias de crescidas as plantas pode confirmar o discutido sobre a intensidade da retenção e a capacidade para biodisponibilizar o metal (Figura 24). No final do experimento, o VC apresentou um elevado conteúdo de Cd^{2+} trocável no substrato, as plantas que cresceram neste material apresentaram um baixo conteúdo de Cd^{2+} nos seus tecidos, isto comprova que o Cd^{2+} retido no VC não é facilmente liberado e por tanto a sua retenção é forte. O RVC apresentou maior quantidade de Cd^{2+} trocável do que biodisponível fornecendo também baixas quantidades para assimilação das plantas, isto significa que o baixo conteúdo de Cd^{2+} que é liberado por este material para as plantas se encontra formando ligações fracas ou com sítios estruturalmente mais superficiais. O mesmo comportamento foi encontrado para o Biochar, porém as plantas crescidas neste material acumularam elevadas quantidades de Cd^{2+} o que significa um predomínio de ligações fracas ou mais superficiais entre o Biochar e o Cd^{2+} por outro lado, uma elevada quantidade trocável permaneceu no Biochar no final do experimento, isto pode sugerir que a retenção de Cd^{2+} ocorre predominantemente mediante interações eletrostáticas ou oclusas dentro do material. O mesmo comportamento foi mostrado pela humina, apresentando os valores mais baixos de Cd^{2+} trocável no final do experimento, o que sugere que o Cd^{2+} liberado por este material em interação com as plantas se encontrava tanto em forma de interações fracas como também estruturalmente superficiais.

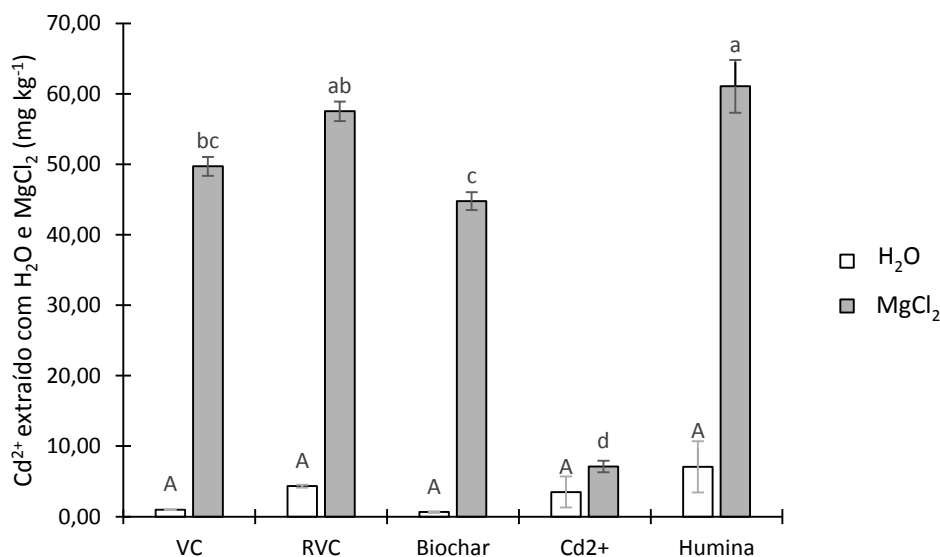


Figura 24: Quantidade de Cd^{2+} biodisponível (extrator H_2O) e trocável (extrator MgCl_2) extraídos a partir dos substratos no final do experimento (18 DAT). Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre as médias (minúsculas para extrator MgCl_2 e maiúsculas para H_2O). Barras representam o valor médio \pm ES (erro padrão) para três replicas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Neste trabalho foram avaliados materiais que vem sendo utilizados na fitorremediação de solos contaminados com metais pesados. O biochar, apesar de possuir uma elevada capacidade de retenção de Cd^{2+} , quando ocupados todos os sítios e em interação com as raízes das plantas, biodisponibiliza uma elevada quantidade de Cd^{2+} que é acumulado nos tecidos das plantas. Isto significa que a utilização de Biochar para fins de fitorremediação deve ser monitorada e as aplicações de biochar ao solo têm de serem renovadas, alguns cuidados na utilização de biochar para estes fins também foram observadas por outros autores, em outras condições experimentais (KHAN et al., 2013; MELO et al., 2015). A Humina não resultou um material idôneo para fins de fitorremediação, além de possuir a mais baixa capacidade de retenção de Cd^{2+} , este material permite a biodisponibilização do metal para as plantas com facilidade. Isto significa que em solos contaminados com Cd^{2+} , o favorecimento da mineralização visando formação de huminas como fração resultante da humificação do carbono endógeno não contribui para diminuir o Cd^{2+} biodisponível. Os resultados mais promissores foram encontrados com VC e RVC. O VC apresentou uma elevada retenção de Cd^{2+} e as plantas crescidas em presença deste material acumularam os menores valores nos seus tecidos, além disso, a parte aérea das plantas foi estimulada pelo material ainda com o Cd^{2+} retido. O RVC resultou um material não só com elevada retenção, mas também com baixa biodisponibilização do Cd^{2+} e como consequência baixo acúmulo do metal nos tecidos das plantas, que apresentaram os menores efeitos de inibição do crescimento radicular, assim como um estímulo da parte aérea. Com base nestes resultados e a possíveis riscos ambientais propõem-se a utilização do material RVC para fins de fitorremediação como material mais seguro em áreas contaminadas com Cd^{2+} . Esta capacidade de RVC para reter metais pesados foi observada em estudos prévios (GARCÍA et al., 2013b), no entanto, os resultados mostrados aqui, testando o Cd^{2+} como contaminante são inéditos na literatura.

5.4. Caracterização morfológica dos materiais mediante Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises correspondentes à morfologia dos materiais VC, RVC, Biochar e Humina aos 7 dias e ao final do experimento (18 dias) são apresentadas nas figuras 25 e 26.

As fotomicrografias permitiram observar características morfológicas superficiais predominantemente heterogêneas com relevo irregular e aspecto rugoso, para VC (Figura 25D). Enquanto que RVC apresenta uma superfície relativamente compactada, com algumas fissuras, porém com uma organização mediante agrupamentos de partículas pequenas até formar agregados de maior tamanho (Figuras 25C e 26C). Já para Humina observa-se uma superfície bastante compactada (Figura 25B) e para o Biochar é possível descrever uma superfície altamente porosa (Figura 25A) assim como observado por Jaafar et al. (2014, 2015) em seus trabalhos. A morfologia superficial irregular de VC e RVC favorecem as interações com íons metálicos como o Cd^{2+} . Assim como a elevada área superficial específica ocasionada pela porosidade do Biochar reflete a boa acessibilidade destes locais para os íons Cd^{2+} (COSTA et al., 2011) e a superfície compactada apresentada pela Humina proporciona a este material uma característica desfavorável à interação com Cd^{2+} .

Através da MEV também foi possível observar a presença de regiões brilhantes nas superfícies dos materiais, o que representa uma evidência visual da adsorção do metal (Cd^{2+}) em suas estruturas superficiais conforme relatado nos trabalhos de Bardy et al. (2008) e Laribis et al. (2008) em estudos de retenção de metais em materiais humificados e materiais do solo utilizando MEV.

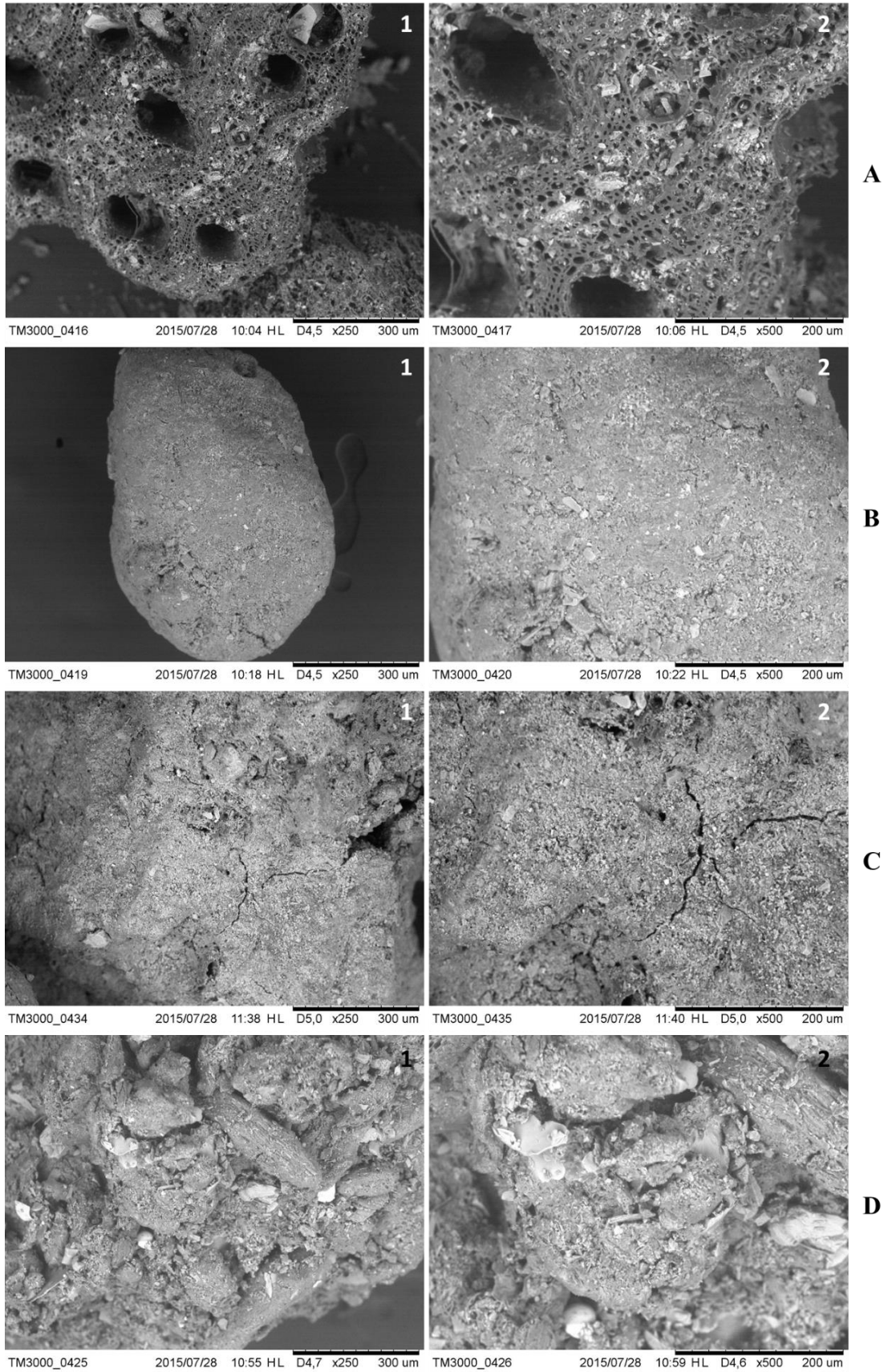


Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos substratos após 7 dias de experimento. Onde A = Biochar, B = Humina, C = RVC e D = VC, com aumentos de 250 x e 500 x, respectivamente.

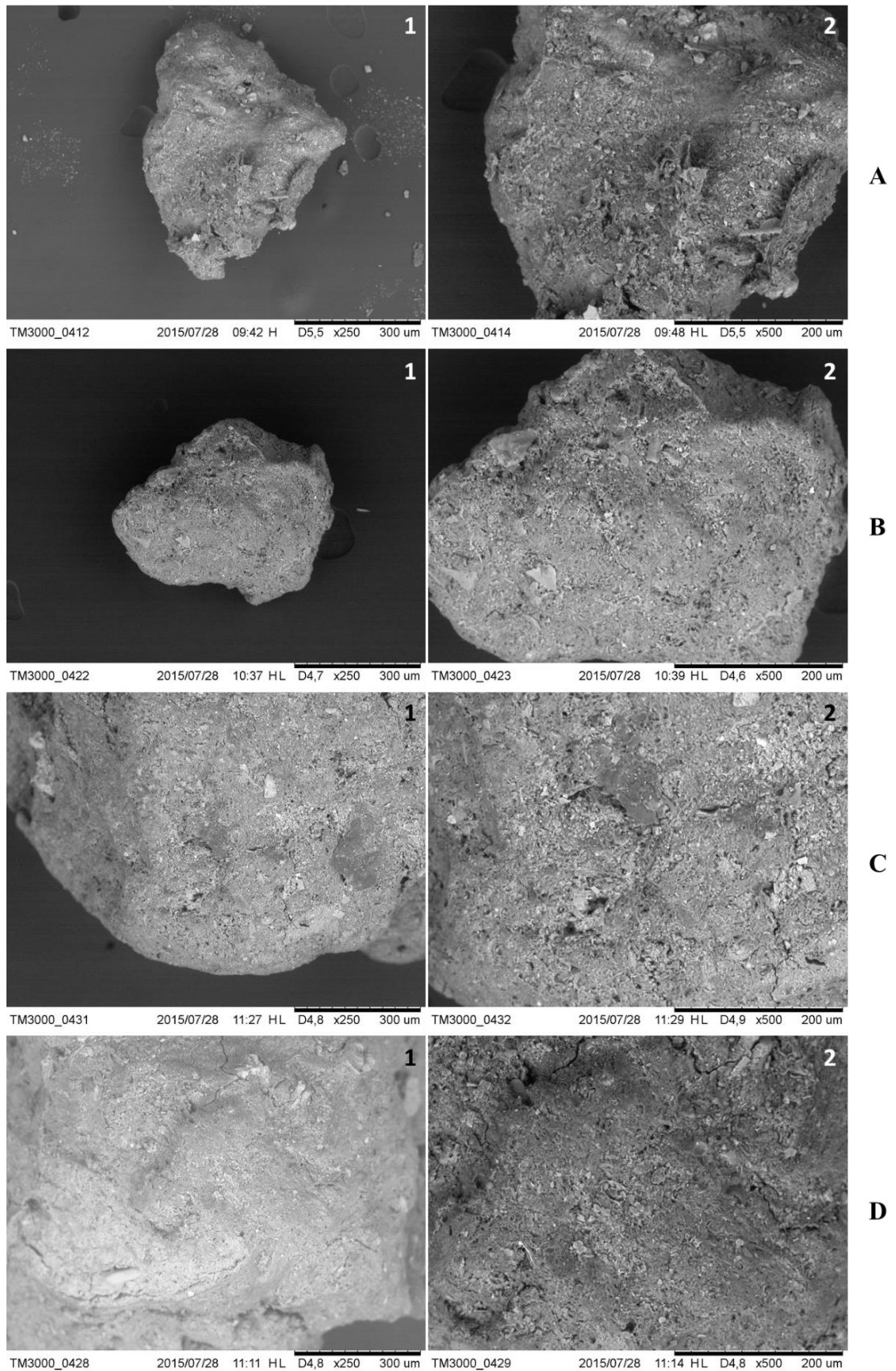


Figura 26: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos substratos após 18 dias de experimento. Onde A = Biochar, B = Humina, C = RVC e D = VC, com aumentos de 250 x e 500 x, respectivamente.

6. CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados obtidos neste estudo confirmam a hipótese de trabalho, sendo comprovado que as características que cada material apresentou na retenção do Cd^{2+} definem a quantidade deste metal disponibilizado e como consequência sua toxicidade nas plantas de arroz. Conclui-se que o Biochar constitui um material que deve ser monitorado rigorosamente se utilizado em técnicas de remediação de solos contaminados com Cd^{2+} ou quando aplicados para aumentar o rendimento de culturas em solos de estado desconhecido em termos de contaminação por metais pesados. A Humina constitui um material inviável e pouco eficiente para fins de remediação por Cd^{2+} . O Vermicomposto de esterco bovino pode ser utilizado para este fim, porém, outros cuidados ambientais não avaliados neste trabalho devem ser advertidos, como a solubilidade das substâncias húmicas presentes, formando compostos estáveis com Cd^{2+} que poderiam deslocar o metal do lugar de aplicação ou ser arrastado por solubilidade. Finalmente o material mais promissor foi o resíduo sólido da extração de substâncias húmicas de vermicomposto bovino, constituindo um material inédito na literatura para este fim. Adverte-se sobre os riscos na utilização destes materiais para a remediação de solos contaminados com Cd^{2+} e propõem-se a utilização de um novo material em associação com o processo de fitorremediação (o resíduo sólido da extração de substâncias húmicas de vermicomposto bovino).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, W.; NAJEEB, U.; ZIA, M. H. Soil Contamination with Metals: Sources, Types and Implications. In: HAKEEM, K. et al. Soil remediation and plants. Prospects and Challenges, Elsevier, 741p. 2015.
- AHMADPOUR, P. et al. Phytoremediation of heavy metals: A green technology. **African Journal of Biotechnology** Vol. 11(76), pp. 14036-14043, 20 September, 2012.
- AKPOR, O. B. AND MUCHIE, M. Remediation of heavy metals in drinking water and wastewater treatment systems: Processes and applications. **International Journal of the Physical Sciences** Vol. 5(12), pp. 1807-1817, 4 October, 2010.
- ALLOWAY, B. J. Chapter 1. Introduction. In: Heavy Metals in Soils, Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability, Third Edition. **Environmental Pollution**. Vol. 22, pp. 283-311, 2013 **Springer**. New York London. 597p, 2013.
- AMIR, S. Structural study of humic acids during composting of activated sludge-green waste: elemental analysis, FTIR and ¹³C NMR. **Journal of hazardous materials**, Vol. 177(1), pp. 524-529, 2010.
- ANDRADE, R. O. Biocarvão melhora fertilidade e ajuda na descontaminação do solo. **Pesquisa Fapesp**. Edição Online 21:31 15 de janeiro de 2015.
- ANDREAS, R., & ZHANG, J. Characteristics of adsorption interactions of cadmium (II) onto humin from peat soil in freshwater and seawater media. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, Vol. 92(3), pp. 352-357, 2014.
- BARDY, M. et al. Micromorphology and spectroscopic characteristics of organic matter in waterlogged podzols of the upper Amazon basin. **Geoderma** Vol. 145, pp. 222–230, 2008.
- BEESELEY, L. et al. A review of biochar's potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. **Environmental Pollution** Vol. 159, pp. 3269 e 3282, 2011.
- BEESELEY, L., & MARMIROLI, M. The immobilization and retention of soluble arsenic, cadmium and zinc by biochar. **Environmental Pollution**, Vol. 159(2), pp. 474-480, 2011.
- BENAVIDES, M. P., GALLEGO, S. M., TOMARO, M. L., Cadmium toxicity in plants. **Braz. J. Plant. Physiol**, Vol. 17(1), pp. 21-34, 2005.
- BERBARA, R. L. L. and GARCÍA, A. C. Humic Substances and Plant Defense Metabolism. In: AHMAD, P. and WANI, M. R. Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment. **Springer**. Vol. 1, 2014.
- BORCHARD, N. et al. Physical activation of biochar and its meaning for soil fertility and nutrient leaching – a greenhouse experiment. Soil Use and Management. The Authors. **Journal compilation** ^a British Society of Soil Science 1. 2012.

CALLENDER, E. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, from Treatise on Geochemistry (Second Edition), Vol. 11: Environmental Geochemistry, 2014, pp. 59-89.

CANELLAS, L. P. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, Vol. 130 (4), pp. 1951-1957, 2002.

CANELLAS, L.P. Isolamento, purificação e métodos químicos de análise de substâncias húmicas. In: CANELLAS, L.P. & SANTOS, G.A. (Eds.) Humosfera – Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes, UENF, 2005, 309p.

CASTILHOS, R. M. V. et al. Distribuição e caracterização de substâncias Húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal. **R. Bras. Ci. Solo**, Vol. 32, pp. 2669-2675, Número Especial, 2008.

CERVELIN, P. C. **Avaliação da remoção do corante comercial reativo azul 5G utilizando macrófita *Salvinia sp.*** Toledo – PR, Universidade do Oeste do Paraná, UNIOESTE. 2010. 106p. (Dissertação de Mestrado)

CETESB - Companhia Ambiental do estado de São Paulo. Ficha de informação toxicológica. Cádmio e seus compostos. Jan/2012. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/cadmio.pdf>> Acesso em: 27 maio 2015.

CETESB - Companhia Ambiental do estado de São Paulo. Referente ao Relatório à Diretoria nº 001/2014/E/C/I, de 14.02.2014. VALORES ORIENTADORES PARA SOLO E ÁGUA SUBTERRÂNEA NO ESTADO DE SÃO PAULO – 2014. Disponível em: <<http://solo.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/34/2014/12/valores-orientadores-nov-2014.pdf>> Acesso em: 24 agosto 2015.

COSTA, L. M. et al. Adsorption studies of Cd(II) onto Al₂O₃/Nb₂O₅ mixed oxide dispersed on silica matrix and its on-line preconcentration and determination by flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part. B** 66, pp. 329–337, 2011.

COSTA, E. M., SILVA, H. F., RIBEIRO, P. R. A. Matéria orgânica do solo e o seu papel na manutenção e produtividade dos sistemas agrícolas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Conhecer - Goiânia, Vol. 9, (17), pp. 1842, 2013.

CUNNINGHAM, S. D., et al. Phytoremediation of contaminated water and soil. p. 2-19. In Kruger EL, Anderson TA, Coats JR (ed.) Phytoremediation of soil and water contaminants. ACS symposium series 664. American Chemical Society, Washington, DC, 1997.

DOAN, T. T. et al. Impact of compost, vermicompost and biochar on soil fertility, maize yield and soil erosion in Northern Vietnam: A three-year mesocosm experiment. **Science of the Total Environment** 514, pp. 147–154, 2015.

DOBBSS, L. B. et al. Bioactivity of chemically transformed humic matter from vermicompost on plant root growth. **Journal of agricultural and food chemistry**, Vol. 58(6), pp. 3681-3688, 2010.

DROUSSI, Z. Study of the biodegradation and transformation of olive-mill residues during composting using FTIR spectroscopy and differential scanning calorimetry. **Journal of hazardous materials**, Vol. 164(2), pp. 1281-1285, 2009.

EMBRAPA AGROBIOLOGIA. Minhocultura ou Vermicompostagem. Criação de minhocas para produzir fertilizante orgânico capaz de melhorar os atributos químicos, físicos e biológicos do solo. Seropédica, Setembro/2011.

FELIX, H. R., KAYSER, A., and SCHULLKIN, R., Phytoremediation, field trials in the years 1993–1998, Proc. 5th Int. **Conf. Biogeochem.** Trace Elements, Vienna, pp. 11–15 July, 8, 1999.

FERNANDES, L. H. e MAINIER, F. B. Os riscos da exposição ocupacional ao cádmio. **Revista Eletrônica Sistemas & Gestão**, Vol. 9, (2), pp. 194-199, 2014.

FINE, P. Practical and mechanistic aspects of the removal of cadmium from aqueous systems using peat. **Environmental pollution**, Vol. 138(2), pp. 358-367, 2005.

FONTANA, A. **Fracionamento da Matéria Orgânica e Caracterização dos Ácidos Húmicos e sua Utilização**. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, 2009. 82 p. (Tese de Doutorado).

FONTANA, A. et al. Matéria orgânica em solos de tabuleiros na região norte fluminense-RJ. **Floresta e Ambiente**. Vol. 8 (1), pp.114 - 119, Jan. /dez. 2001.

FOO, K. & HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, Vol. 156(1), pp. 2-10, 2010.

GARCÍA, A. C. et al. Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress. **Ecological Engineering** 47, pp. 203– 208, 2012.

GARCÍA, A. C. et al. Biotechnology of humified materials obtained from vermicomposts for sustainable agro ecological purposes. **African Journal of Biotechnology** Vol. 12(7), pp. 625-634, 13 February 2013a.

GARCÍA, A. C. et al., Humified insoluble solid for efficient decontamination of nickel and lead in industrial effluents. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. 1, pp. 916–924, 2013b.

GARCÍA, A. C. et al. Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa L.*). **Journal of Geochemical Exploration**, 136, pp. 48-54, 2014.

GARDEA-TORRESDEY JL, PERALTA-VIDEA JR, ROSA GD, PARSONS JG. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. **Coord. Chem. Rev.**, 249(17-18): pp. 1797-1810, 2005.

GILES, C. H. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, pp. 3973-3993, 1960.

GILL, S. S., & TUTEJA, N. Cadmium stress tolerance in crop plants: probing the role of sulfur. **Plant signaling & Behavior**, Vol. 6(2), pp. 215-222, 2011.

GUARESCHI, R. F. et al. Frações da matéria orgânica em áreas de Latossolo sob diferentes sistemas de manejo no Cerrado do estado de Goiás. **Ciências Agrárias**, Londrina, Vol. 34 (6), pp. 2615-2628, nov./dez. 2013.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **Journal Circular. California Agricultural Experiment Station**, Vol. 347 (2), pp. 32 pp, 1950.

HOUBEN, D., EVRARD, L. and SONNET, P. Beneficial effects of biochar application to contaminated soils on the bioavailability of Cd, Pb and Zn and the biomass production of rapeseed (*Brassica napus L.*). **Biomass and Bioenergy**, 57, pp. 196-204, 2013.

IQBAL, M., SAEED, A., & ZAFAR, S. I. FTIR spectrophotometry, kinetics and adsorption isotherms modeling, ion exchange, and EDX analysis for understanding the mechanism of Cd²⁺ and Pb²⁺ removal by mango peel waste. **Journal of Hazardous Materials**, Vol. 164(1), pp. 161-171, 2009.

IRVING H & WILLIAMS RJP. The stability of transition-metal complexes. **J Chem Soc 3**: pp. 3192–3210, 1953.

JAAFAR, N. M.; CLODE, P. L. AND ABBOTT, L. K. Microscopy Observations of Habitable Space in Biochar for Colonization by Fungal Hyphae from Soil. **Journal of Integrative Agriculture**, Vol. 13(3): pp. 483-490, 2014.

JAAFAR, N. M.; CLODE, P. L.; ABBOTT, L. K. Biochar-Soil Interactions in Four Agricultural Soils. **Pedosphere** Vol. 25(5): pp. 729–736, 2015.

JADIA C. D. and FULEKAR, M. H. Phytoremediation: The application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant. **Environ. Eng. Manag. J.** Vol. 7(5):pp. 547-558. 2009.

JIANG, S., SHI, C., & WU, J. Genotypic differences in arsenic, mercury, lead and cadmium in milled rice (*Oryza sativa L.*). **International journal of food sciences and nutrition**, Vol. 63(4), pp. 468-475. 2012.

JARAMILLO, M. G. et al. Characterization and selection of biochar for an efficient retention of tricyclazole in a flooded alluvial paddy soil. **Journal of Hazardous Materials** 285, pp. 581–588, 2015.

JORDÃO, C. P. et al. Reduction of heavy metal contents in liquid effluents by vermicomposts and the use of the metal-enriched vermicomposts in lettuce cultivation. **Bio resource Technology** 98, pp. 2800–2813, 2007.

JORDÃO, C. P. et al. Zn (II) adsorption from synthetic solution and kaolin wastewater onto vermicompost. **Journal of hazardous materials**, Vol. 162(2), pp. 804-811. 2009.

KABATA-PENDIAS A., Sadurski W. Trace elements and compounds in soil. In: Elements and Their Compounds in the Environment, 2 eds. E. Merian, M. Anke, M. Ihnat, M. Stoepler, 79–99, Wiley-VCH, Weinheim, 2004.

KABATA-PENDIAS, A. Trace Elements in Soils and Plants. Fourth edition. 505p, 2011.

KABIR, E. et al. Current Status of Trace Metal Pollution in Soils Affected by Industrial Activities. **The Scientific World Journal**, Volume 2012, Article ID 916705, 18 pages, 2012.

KHAN, S. et al. Sewage Sludge Biochar Influence upon Rice (*Oryza sativa L*) Yield, Metal Bioaccumulation and Greenhouse Gas Emissions from Acidic Paddy Soil. **Environ. Sci. Technol.**, 47, pp. 8624–8632, 2013.

HERVAS, L. et al. Chemical and physic-chemical characterization of vermicompost and their humic acid fractions. **Sci. Total Environ.** (81/82), pp. 543–550, 1989.

LAL, R. World cropland soils as a source or sink for atmospheric carbon. **Advances in Agronomy**, Newark, Vol. 71(1), pp. 145-191, 2001.

LARIBI, S.; AUDIGUIER, M.; COJEAN, R. Assessing shrink/swell properties of two argillaceous soils from the Paris Basin: a comparison of cation exchange determination methods. **Bull Eng. Geol. Environ** 67: pp. 415–424, 2008.

LAWRENCE, R.W. and HIGGS, S.A.T.W. Removing and stabilizing as in acid mine water. **JOM** 51, pp. 27–29. 1999.

LI, X. Compositional and functional features of humic acid-like fractions from vermicomposting of sewage sludge and cow dung. **Journal of hazardous materials**, Vol. 185(2), pp. 740-748, 2011.

LINHARES, L. A. et al. Aplicação dos modelos de Langmuir e Freundlich na adsorção de cádmio e chumbo em diferentes classes de solos brasileiros. **Revista Tecnológica**, Vol. 17, pp. 49-60, 2008.

LU, H et al. Can Biochar and Phytoextractors Be Jointly Used for Cadmium Remediation? **PLOS ONE**, Vol. 9(4) 95218, 2014.

LUX, A. J. et al. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **Journal of Experimental Botany**, Vol. 62(1), pp. 21-37, 2011.

MAKSIMOVIĆ, I. et al. Steady presence of cadmium and nickel affects root anatomy, accumulation and distribution of essential ions in maize seedlings. **Biologia plantarum** Vol. 51 (3): pp. 589-592, 2007.

MANH, V. H. and WANG, C. H. Vermicompost as an Important Component in Substrate: Effects on Seedling Quality and Growth of Muskmelon (*Cucumis melo L.*). **APCBEE Procedia** 8, pp. 32 – 40, 2014.

MATSUMOTO, H. “Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants”. **International Review of Cytology**, Vol. 200, 2000, pp. 1-46.

MC-BRIDE, M.B. Environmental chemistry of soils. New York: **Oxford University Press**, 406p. 1994.

MEHARG, A. A. et al. Variation in Rice Cadmium Related to Human Exposure. **Environ. Sci. Technol.** 47, pp. 5613–5618, 2013.

MELO, L. C. A. et al. Influence of pyrolysis temperature on cadmium and zinc sorption capacity of sugar cane straw-derived Biochar. **Bio Resources** Vol. 8(4), pp. 4992-5004, 2013.

MELO, L. C. A. et al. Sorption and desorption of cadmium and zinc in two tropical soils amended with sugarcane-straw-derived biochar. **J Soils Sediments.** Vol. 16(1), pp. 226-234. 2015.

MOOSAVI, S. G. and SEGHATOLESLAMI, M. J. Phytoremediation: A review. **Adv. Agri. Biol.** Vol. 1 (1): pp. 5-11, 2013.

MOREIRA, C. S. **Adsorção competitiva de cádmio, cobre, níquel e zinco em solos.** São Paulo - SP, Universidade de São Paulo – USP. 2004. 120 p. (Dissertação de Mestrado).

MUSCOLO, A. Biological activity of humic substances is related to their chemical structure. **Soil Science Society of America Journal**, Vol. 71(1), pp. 75-85, 2007.

MURAKAMI, M, A and N, ISHIKAWA S. Phytoextraction of cadmium by rice (*Oryza sativa* L.), soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), and maize (*Zea mays* L.). **Environ. Pollut.** Vol. 145(1): pp. 96-103, 2007.

MURANAKA, C. T. **Combinação de adsorção por carvão ativado com processo oxidativo avançado (POA) para tratamento de efluentes contendo fenol.** São Paulo – SP, 166f. Universidade de São Paulo, USP. 2010. 166p. (Tese de Doutorado).

NASCIMENTO, C.W.A.; FONTES, R.L.F. Correlação entre características de latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, Vol. 28(6), pp. 965-971, 2004.

NORDBERG, G. F. Historical perspectives on cadmium toxicology. **Toxicology and Applied Pharmacology** 238, pp. 192–200, 2009.

PARK, J. H. et al. Competitive adsorption of heavy metals onto sesame straw biochar in aqueous solutions. **Chemosphere**, 142, pp. 77–83, 2016.

PARIZEK, J., ZAHOR, Z. Effect of cadmium salts on testicular tissue. **Nature** (London), 177, pp. 1036–1037, 1956.

PARIZEK, J., Sterilization of the male by cadmium salts. *J. Reprod. Fertil.* 1, pp. 294–309, 1960.

PAZ-FERREIRO, J. et al. Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review. **Solid Earth**, 5, pp. 65–75, 2014.

PELLERA, F. M. & GIDARAKOS, E. Effect of dried olive pomace – derived biochar on the mobility of cadmium and nickel in soil. **Journal of Environmental Chemical Engineering** 3, pp. 1163–1176, 2015.

PIETROBELLI, J. M. T de A. et al. Avaliação da capacidade de remoção dos íons cádmio (ii) e zinco (ii) pela macrófita *Egeria densa*. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais** – Vol. 28 – junho de 2013.

PINTO, A. P., MOTA, A. M. de VARENES, A., PINTO, F. C. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants. **Science of the Total Environment** 326, pp. 239–247, 2004.

Pronatura internacional. Biochar, a terceira revolução verde Biochar Aumenta a Produtividade Agrícola e Reverte Mudanças Climáticas, 2016. Disponível em: http://www.pronatura.org/?page_id=521&lang=pt. Acesso em: 08 de jan. 2016.

REZENDE, E. I. P. et al. Biocarvão (Biochar) e Sequestro de Carbono. **Rev. Virtual Quim.** 2011, 3 (5), 426-433. Data de publicação na Web: 17 de novembro de 2011.

RODRIGUES, A. P.H. **Estudo da adsorção de íon cádmio do meio aquoso utilizando compósito magnético Mn₃O₄/Fe₃O₄**. Belo Horizonte – MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais. 2014. 130 p. (Dissertação de Mestrado).

RUSSELL, L. et al. Stomatal responses to humic substances and auxin are sensitive to inhibitors of phospholipase A2. **Plant and soil**, Vol. 283(1-2), pp. 175-185, 2006.

SAIER, M. H and TREVORS, J. T. Phytoremediation. **Water Air Soil Pollut.** 205 (Suppl 1):S61–S63, 2010.

SANITÀ DI TOPPI L, GABBRIELLI R. Response to cadmium in higher plants. **Environ Exp Bot**; 41: pp. 105 –130, 1999.

SANTOS, F. S. et al. Chemical amendment and phytostabilization of an industrial residue contaminated with Zn and Cd. **Sci. Agric.** (Piracicaba, Braz.), Vol .64(5), pp. 506-512, September/October, 2007.

SANTOS, A. C. L. et al. Avaliação teórica da influência do pH na especiação das espécies metálicas cádmio e mercúrio em solução aquosa. 6^a Jornada Científica e Tecnológica e 3^o Simpósio de Pós-Graduação do IFSULDEMINAS 04 e 05 de novembro de 2014, Pouso Alegre/MG.

SCHNITZER, M. Humic substances: chemistry and reactions. In SCHNITZER, M. and HAN, S. U. **Soil organic matter**. Elsevier, 1978.

SHERAMETI, I. & VARMA, A. Soil Biology - Soil Heavy Metals Vol. 19, **Springer** Dordrecht Heidelberg London New York, 2010.

SHOBAA, V.N. & CHUDNENKO, K.V. Ion Exchange Properties of Humus Acids. **Eurasian Soil Science**, Vol. 47(8), pp. 761–771, 2014.

SINGH, J., KAUR, A. Vermicompost as a strong buffer and natural adsorbent for reducing transition metals, BOD, COD from industrial effluent. **Ecological Engineering** 74, pp. 13–19, 2014.

SOUZA, R. S; CHAVES, L. H. G.; FERNANDES, J. D. Isotermas de Langmuir e de Freundlich na descrição da adsorção de zinco em solos do Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrária** Vol.2(2), pp. 123-127, abr.-jun., 2007

SPOSITO, G. The Chemistry of Soils. Second edition. 344 p. 2008.

STEFFEN, G. P. et al. Utilização de vermicomposto como substrato na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* e *Corymbia citriodora*. **Pesq. flor. bras.**, Colombo, Vol.31(66), pp. 75-82, 2011.

STEVENSON, F.J. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, 1982.

TAYLOR, M. D. and PERCIVAL H. J. Cadmium in soil solutions from a transect of soils away from a fertilizer bin. **Environ. Pollut.** 113: pp. 35–40, 2001.

WANG, K. et al. Pig manure vermicompost (PMVC) can improve phytoremediation of Cd and PAHs co-contaminated soil by *Sedum alfredii*. **J Soils Sediments.** 12: pp. 1089–1099, 2012.

TEDESCO, M.J.; et al. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Revisada e ampliada. Porto Alegre: Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS, 174p. 1997.

TIPPING, E. Cation binding by Humic substances. Cambridge University Press 2004. Cambridge, UK, 446p, 2002.

TORRES, E. et al. Effect of cadmium on growth, ATP content, carbon fixation and ultrastructure in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin. **Water Air Soil Poll;** 117: pp. 1 –14, 2000.

UENO, D., et al. A major quantitative trait locus controlling cadmium translocation in rice (*Oryza sativa*). **New Phytologist**, Vol. 182(3), pp. 644-653. 2009.

UCHIMIYA, M., CHANG, S., & KLASSON, K. T. Screening biochars for heavy metal retention in soil: role of oxygen functional groups. **Journal of hazardous materials**, Vol. 190(1), pp. 432-441, 2011.

URDANETA, C. et al. Evaluation of vermicompost as bio adsorbent substrate of Pb, Ni, V and Cr for wastewaters remediation using Total Reflection X-ray Fluorescence. **Spectrochemical Acta Part B** 63, pp. 1455–1460, 2008.

URE, A. M. et al. Speciation of heavy metal in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. **Int. J. Environ. Anal. Chem.** 51, 135e151, 1993.

WAYNE, E. Conquistadors, cannibals and climate change. A brief history of biochar. Oxford University. Innovation towards Sustainable Development. Pro-natura International. 2012. Disponível em <http://www.pronatura.org/wp-content/uploads/2013/02/History-of-biochar.pdf> Acesso em: 09 janeiro 2016.

YOON, J. et al. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment** 368, pp. 456–464, 2006.

ZACCHINI, M. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. **Water, Air, and Soil Pollution**, Vol. 197(1-4), pp. 23-34, 2009.

ZHAO, X. et al. Effects of crop-straw biochar on crop growth and soil fertility over a wheat-millet rotation in soils of China. **Soil Use and Management**, 30, pp. 311–319, September 2014.

ZHUANG, P. Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. **Water, Air, and Soil Pollution**, Vol.184 (1-4), pp. 235-242, 2007.

ANEXOS

Tabela S1: Quantidade (%) do tipo de carbono obtido pela integração das regiões nos espectros CP/MAS ¹³CNMR com e sem os metais retidos.

| Materiais | 0-46 | 46-59 | 59-91 | 91-110 | 110-142 | 142-156 | 156-186 | 186-230 | Arom | Alif |
|-----------------------------|----------|----------|--------|-----------|---------|---------|----------|---------|-------|-------|
| | CAIk-H,R | CAIk-O,N | CAIk-O | CAIk-di-O | CAr-H,R | CAr-O,N | CCOO-H,R | CC=O | | |
| Hu 1 | 39,29 | 7,14 | 15,18 | 4,46 | 19,64 | 5,36 | 7,14 | 1,79 | 25,00 | 75,00 |
| Hu 1-1 mg.L ⁻¹ | 54,13 | 6,42 | 13,76 | 4,59 | 16,51 | 2,75 | 1,83 | 0,00 | 19,27 | 80,73 |
| Hu 1-5 mg.L ⁻¹ | 38,39 | 7,14 | 16,07 | 4,46 | 19,64 | 5,36 | 7,14 | 1,79 | 25,00 | 75,00 |
| Hu 1-20 mg.L ⁻¹ | 36,61 | 7,14 | 16,07 | 4,46 | 19,64 | 5,36 | 8,04 | 2,68 | 25,00 | 75,00 |
| Hu 1-50 mg.L ⁻¹ | 28,85 | 7,69 | 17,31 | 4,81 | 22,12 | 6,73 | 9,62 | 2,88 | 28,85 | 71,15 |
| Hu 1-100 mg.L ⁻¹ | 33,91 | 6,96 | 16,52 | 4,35 | 20,00 | 6,09 | 8,70 | 3,48 | 26,09 | 73,91 |
| RVC | 20,80 | 10,40 | 37,60 | 9,60 | 10,40 | 4,80 | 6,40 | 0,00 | 15,20 | 84,80 |
| RVC-1 mg.L ⁻¹ | 19,82 | 9,01 | 37,84 | 9,91 | 9,91 | 5,41 | 8,11 | 0,00 | 15,32 | 84,68 |
| RVC-5 mg.L ⁻¹ | 20,00 | 9,09 | 37,27 | 9,09 | 10,91 | 5,45 | 8,18 | 0,00 | 16,36 | 83,64 |
| RVC-20 mg.L ⁻¹ | 19,82 | 9,91 | 36,04 | 9,91 | 10,81 | 4,50 | 9,01 | 0,00 | 15,32 | 84,68 |
| RVC-50 mg.L ⁻¹ | 19,82 | 9,91 | 36,04 | 9,91 | 10,81 | 5,41 | 8,11 | 0,00 | 16,22 | 83,78 |
| RVC-100 mg.L ⁻¹ | 19,82 | 9,01 | 36,04 | 10,81 | 10,81 | 5,41 | 8,11 | 0,00 | 16,22 | 83,78 |
| VC | 17,86 | 9,82 | 33,93 | 9,82 | 12,50 | 5,36 | 10,71 | 0,00 | 17,85 | 82,14 |
| VC-1 mg.L ⁻¹ | 20,54 | 9,82 | 33,93 | 8,93 | 11,61 | 5,36 | 9,82 | 0,00 | 16,96 | 83,03 |
| VC-5 mg.L ⁻¹ | 19,47 | 9,73 | 35,40 | 9,73 | 11,50 | 4,42 | 9,73 | 0,00 | 15,92 | 84,07 |
| VC-20 mg.L ⁻¹ | 19,47 | 9,73 | 34,51 | 9,73 | 12,39 | 4,42 | 9,73 | 0,00 | 16,81 | 83,18 |
| VC-50 mg.L ⁻¹ | 23,81 | 10,48 | 32,38 | 8,57 | 10,48 | 4,76 | 9,52 | 0,00 | 15,23 | 84,76 |
| VC-100 mg.L ⁻¹ | 24,27 | 9,71 | 32,04 | 8,74 | 10,68 | 4,85 | 9,71 | 0,00 | 15,53 | 84,46 |
| Biochar | 10,57 | | --- | 0,96 | 1,92 | 62,50 | 8,65 | 2,88 | 71,15 | 28,84 |
| Bio-1 mg.L ⁻¹ | 9,47 | | --- | 0,00 | 1,05 | 67,36 | 11,57 | 5,26 | 78,94 | 21,05 |
| Bio -5 mg.L ⁻¹ | 17,28 | | --- | 3,70 | 7,40 | 62,96 | 9,87 | 6,17 | 72,83 | 27,16 |
| Bio -20 mg.L ⁻¹ | 17,44 | | --- | 2,32 | 4,65 | 70,93 | 8,13 | 2,32 | 79,06 | 20,93 |
| Bio -50 mg.L ⁻¹ | 14,77 | | --- | 3,40 | 5,68 | 72,72 | 6,81 | 1,13 | 79,54 | 20,45 |
| Bio -100 mg.L ⁻¹ | 15,90 | | --- | 2,27 | 5,68 | 70,45 | 7,95 | 2,27 | 78,40 | 21,59 |