

## Biodisponibilidade de chumbo por extratores químicos em solo tratado com ácidos húmicos e carvão ativado<sup>1</sup>

Bioavailability of lead using chemical extractants in soil treated with humic acids and activated carbon

Nielson Machado dos Santos<sup>2\*</sup>, Adriana Maria de Aguiar Accioly<sup>3</sup>, Clístenes Williams

Araújo do Nascimento<sup>2</sup>, Ivo Ribeiro Silva<sup>4</sup> e Jorge Antonio Gonzaga Santos<sup>5</sup>

**RESUMO** - A contaminação de solos por chumbo no município de Santo Amaro da Purificação-BA se originou a partir da instalação na cidade de uma metalúrgica na década de 60 e representa um sério risco à população local. A determinação dos teores disponíveis de Pb no solo é uma ferramenta importante para monitorar os riscos desta contaminação. No entanto, diferentes métodos são utilizados para determinar os teores disponíveis de Pb no solo, o que gera valores distintos entre os extratores. O objetivo do presente trabalho foi comparar a eficiência das extrações feitas com solução Mehlich 1, DTPA e CaCl<sub>2</sub>, na avaliação da disponibilidade Pb em solo tratado com diferentes amenizantes. A amostra de solo utilizada no experimento foi coletada próximo à metalúrgica. As doses de amenizantes foram estabelecidas com base no teor de carbono dos materiais (ácido húmico de compostagem, ácido húmico comercial e carvão vegetal) e corresponderam a 0; 0,75; 1,5; 3 e 7,5 g kg<sup>-1</sup> de C. O conteúdo de Pb disponível foi extraído por Mehlich 1, DTPA pH 7,3 e CaCl<sub>2</sub> 10 mmol L<sup>-1</sup>. Foi realizado um fracionamento do solo, determinando-se o metal ligado às frações trocável e matéria orgânica do solo. A adição do AHv reduziu o teor de Pb no solo em 60; 89 e 47% para extrações realizadas com Mehlich 1, CaCl<sub>2</sub> e DTPA, respectivamente. O teor de Pb na fração matéria orgânica foi diretamente proporcional às doses dos amenizantes. Os três extratores avaliados foram eficientes na predição dos teores de Pb disponíveis.

**Palavras-chave:** Poluição do solo. Metais pesados. CaCl<sub>2</sub>. Mehlich 1. DTPA.

**ABSTRACT** - Soil contamination by lead in the town of Santo Amaro, in the state of Bahia, Brazil, originated with the installation of a metal plant in the city in the 1960s, and poses a serious risk to the local population. Determination of the available Pb levels in the soil is an important tool in monitoring the risks of this contamination. However, different methods are used to determine the available Pb content of the soil, resulting in differing values for the extractants. The aim of the present work was to compare the efficiency of extraction using Mehlich 1, DTPA and CaCl<sub>2</sub> solutions in the evaluation of Pb availability in soil treated with different soil amendments. The soil sample used in the experiment was collected near the metal plant. The dosages of soil amendments were set up based on the carbon content of the materials (compost humic acid, commercial humic acid and charcoal), being: 0, 0.75, 1.5, 3 and 7.5 g C kg<sup>-1</sup>. The available Pb content was extracted by Mehlich 1, DTPA pH 7.3 and CaCl<sub>2</sub> 10 mmol L<sup>-1</sup>. Soil fractionation was carried out to determine the metal attached to the exchangeable and organic matter fractions of the soil. The addition of AHv reduced the Pb content of the soil by 60, 89 and 47% for extractions carried out with Mehlich 1, CaCl<sub>2</sub> and DTPA respectively. The Pb content of the organic matter fraction was directly proportional to the dosages of soil amendments. The three extractants under evaluation were efficient in predicting the available Pb content.

**Key words:** Soil pollution. Heavy metals. CaCl<sub>2</sub>. Mehlich 1. DTPA.

DOI: 10.5935/1806-6690.20150052

\*Autor para correspondência

<sup>1</sup>Recebido para publicação em 27/08/2013; aprovado em 13/05/2015

Parte da Tese de Mestrado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/UFRB

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE, Rua, Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil, 52.171-900, nielsonmachado@hotmail.com, cwanascimento@yahoo.com

<sup>3</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA, Brasil, adriana.accioly@embrapa.br

<sup>4</sup>Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil, ivosilva@ufv.br

<sup>5</sup>Departamento de Biológicas e Ambientais, Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas-BA, gonzaga.jorgeas@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O crescimento populacional desordenado, aliado à crescente industrialização para suprir a demanda mundial por produtos e alimentos, bem como a disposição inadequada de rejeitos gerados, têm contribuído para a adição de elementos químicos ao ambiente, ocasionando riscos à saúde humana e à sustentabilidade dos ecossistemas.

A contaminação de Pb no município de Santo Amaro da Purificação-BA se originou a partir da instalação de uma empresa metalúrgica COBRAC (Companhia Brasileira de Chumbo), que operou desde 1960 até o seu fechamento em 1993. A contaminação tomou proporções maiores alcançando a área urbana, em decorrência do uso indevido dos resíduos para pavimentação de vias públicas, pátios de escolas e quintais de casas (CARVALHO *et al.*, 2003). Provocando a maior contaminação por Pb do mundo, desta forma, como consequência da exposição à contaminação houve a manifestação de diversos problemas de saúde entre a população e antigos funcionários da usina, como casos de câncer e defeitos congênitos.

Machado *et al.* (2013) avaliaram a contaminação remanescente no sítio urbano e no entorno da cidade de Santo Amaro da Purificação-BA, buscando identificar as contribuições provenientes da deposição de escória e das antigas emissões atmosféricas geradas pela indústria nos valores de concentração de Pb e Cd detectados no solo superficial; observaram valores médios de 1.086 e 10,14 mg kg<sup>-1</sup> de Pb e Cd, respectivamente.

Diante deste cenário, são essenciais medidas que visem atenuar ou corrigir o impacto causado por esses agentes contaminantes para reduzir os efeitos danosos à saúde, garantindo a funcionalidade dos ecossistemas e evitando a expansão da contaminação. Dentre os processos que podem atenuar os impactos maléficos causados por esses agentes contaminantes, destaca-se a fitoestabilização, que consiste no uso de plantas e agentes imobilizadores, estabelecendo uma cobertura verde para prevenir a dispersão de partículas de solo contaminadas com metal em decorrência de erosão eólica e hídrica, e reduzir a mobilidade do metal por adsorção na rizosfera e por processos de precipitação (ALVARENGA *et al.*, 2009).

A determinação dos teores disponíveis de Pb no solo é uma ferramenta importante para monitorar os riscos de contaminação desses metais no ambiente, pois quando absorvidos pelas plantas os metais podem ser translocados para a parte aérea e serem bioacumulados na cadeia trófica.

Diferentes métodos de extração são utilizados na determinação dos teores disponíveis de metais pesados no solo, porém, muitas vezes, os valores encontrados

variam amplamente entre os extratores. A variação da quantidade extraída deve-se às diferentes maneiras de atuação dos diferentes extratores e às características do solo que afetam a disponibilidade dos metais (NASCIMENTO; FONTES e NEVES, 2002).

O objetivo do presente trabalho foi comparar a eficiência das extrações feitas com solução Mehlich 1, DTPA e CaCl<sub>2</sub>, na disponibilidade de Pb em solo tratado com amenizantes.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material de solo utilizado no experimento foi coletado próximo à área da fábrica da COBRAC, às margens da via férrea no município de Santo Amaro da Purificação-BA, na camada de 0-20 cm, com conteúdo total de Pb de 11.707 mg kg<sup>-1</sup> (método 3050B, *United States Environmental Protection Agency*). O material de solo foi seco ao ar, destorroado e peneirado em malha de 2 mm para caracterização química e física conforme Embrapa (1997, 1999) e apresentava as seguintes características pH (em H<sub>2</sub>O) = 7,6; Al trocável (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) = 0,0; Ca+Mg (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) = 11,3; P- Mehlich 1 (mg dm<sup>-3</sup>) = 40; K (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) = 0,26; Carbono orgânico = 15,7 g kg<sup>-1</sup>; V(%) = 100; m (%) = 0,0; Soma de bases = 11,8 (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>); CTCt = 11,8 (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>); argila = 103 g kg<sup>-1</sup>, silte = 154 g kg<sup>-1</sup> e areia = 793 g kg<sup>-1</sup>.

As doses das três fontes de carbono utilizadas no experimento foram determinadas de acordo com experimento preliminar. As doses dos produtos foram estabelecidas com base no teor de carbono (ácido húmico do vermicomposto- AHv 50 dag kg<sup>-1</sup> de ácido húmico; ácido húmico comercial- AHc 40 dag kg<sup>-1</sup> de ácido húmico; carvão vegetal- CV 55 dag kg<sup>-1</sup> de carvão vegetal), correspondendo a 0; 0,75; 1,5; 3 e 7,5 g kg<sup>-1</sup> de C. O teor de carbono do AHv foi determinado pelo método Walkley-Black modificado (EMBRAPA, 1999) e para o CV o teor de carbono foi quantificado em analisador elementar (Perkin Elmer 2400 Series II CHNS/O Analyzer). Para o AHc considerou-se o teor fornecido pelo fabricante. A extração do ácido húmico do vermicomposto foi realizada pelo método de extração alcalina adaptado a partir da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (SWIFT, 1996). Após a extração o ácido húmico foi transferido para sacolas de celofane de aproximadamente 100 mL e submetidas à diálise com água deionizada em recipiente coletivo de 20 L, sendo a água trocada três vezes ao dia, até que não ocorreu aumento maior que 1 µS na água de diálise 1 h após a troca desta, segundo procedimento adotado por Benites *et al.* (2005). Após a diálise as amostras foram congeladas e liofilizadas. O ácido húmico comercial utilizado no experimento foi do fabricante Aldrich, apresentando 40,15% de carbono.

Para a produção do carvão vegetal ativado foram utilizados blocos de madeira (5 x 5 x 15 cm) de *Eucalypto sp.* sendo carbonizados em forno num ambiente livre de oxigênio por 8 h com temperatura de 350 °C. Após o processo de carbonização, o carvão foi triturado, macerado em almofariz e depois tamisado em peneira de 100 mesh. Para ativação, o carvão já peneirado foi mantido em refluxo na presença de HNO<sub>3</sub> 4,4 mol L<sup>-1</sup>, por 4 h contabilizadas após ebulição, permanecendo em repouso por 12 h. A filtração foi realizada a vácuo utilizando papel filtro faixa azul, após o material sólido foi submetido à dialise, de acordo com procedimento adotado por Trompowsky *et al.* (2005).

O milho (*Zea mays*) foi utilizado como planta teste. As plantas foram cultivadas em vasos em casa de vegetação por um período de 43 dias, sendo a umidade do solo mantida a 80% da capacidade máxima de retenção. A fertilização foi realizada aplicando uma solução contendo 200, 200 e 150 mg kg<sup>-1</sup> de N, P, K, respectivamente, na forma de CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ao final do experimento as plantas foram coletadas rente ao solo. Após a secagem, a parte aérea foi triturada em moinho tipo Wiley e submetida à digestão nitro-perclórica para determinação do teor de Pb.

Foram coletadas amostras de solo dos vasos após o experimento, para análise dos teores disponíveis de Pb pelos extratores Mehlich 1 (0,05 mol L<sup>-1</sup> de HCl + 0,025 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), conforme Embrapa (1999); por DTPA pH 7,3 (0,005 mol L<sup>-1</sup> de DTPA + 0,1 mol L<sup>-1</sup> de trietanolamina + 0,01 mol L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>), conforme Rajj *et al.* (2001) e por CaCl<sub>2</sub> 10 mmol L<sup>-1</sup>. Para a extração com CaCl<sub>2</sub> 10 mmol L<sup>-1</sup>, utilizou-se relação solo:solução de 1:10, agitada por 2 horas, em um tubo de centrífuga com capacidade para 50 mL. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 10 minutos a 1.600 rpm e o sobrenadante filtrado em papel de filtração rápida, conforme (NOVOZAMSKY; LEXMOND e HOUBA, 1993).

O fracionamento determinou o metal ligado às frações, trocável e matéria orgânica (SHUMAN, 1985) e objetivou avaliar a distribuição do Pb entre as frações mais biodisponíveis do solo.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, esquema fatorial 3 x 5, com três repetições, sendo constituído por materiais amenizantes (ácido húmico do vermicomposto, ácido húmico comercial e carvão vegetal ativado) e cinco doses de carbono (0; 0,75; 1,5; 3,0 e 7,5 g kg<sup>-1</sup> de C) aplicadas em vasos preenchidos com 1 kg de solo. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, Teste de Tukey a 5% de significância para comparação das médias dos tratamentos e análise de regressão para as doses. Foi utilizado correlação linear de Pearson para comparação dos teores disponíveis de chumbo no solo e na parte aérea.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação das doses dos amenizantes ao solo provocou redução nos teores disponíveis de Pb. O AHv foi o mais eficiente na imobilização do Pb no solo, sua adição reduziu o teor do referido metal em 60, 89 e 47% quando extraído com Mehlich 1, CaCl<sub>2</sub> e DTPA, respectivamente (Figura 1). Esses resultados corroboram com Santos e Rodellas (2007), que estudaram a aplicação de turfa, solomax e um concentrado a base de substâncias húmicas, todos comerciais, na redução da disponibilidade de metais pesados para plantas de mostarda. Os autores, comparando os teores dos metais extraídos no tratamento controle com aqueles referentes à maior dose de material orgânico, observaram que o concentrado a base de substâncias húmicas promoveu maior redução de Pb (24%).

Os diferentes teores de Pb determinados por cada extrator são decorrentes dos distintos princípios de extração. As soluções diluídas de ácidos fortes, como por exemplo, o Mehlich 1, removem os metais da solução do solo, dos sítios de troca e parte daqueles complexados ou adsorvidos. O CaCl<sub>2</sub> extrai preferencialmente os metais dos pontos de troca iônica do solo (KASHEM *et al.*, 2007). O extrator DTPA extrai por reação de complexação os metais ligados à fração matéria orgânica de acordo a constante de estabilidade do complexo (IWEGBUE *et al.*, 2007).

O DTPA apresentou maior capacidade de extração de Pb que o CaCl<sub>2</sub> e Mehlich 1. Segundo Kabata-Pendias e Pendias (2001), o Pb é um dos metais que apresenta maior afinidade por compostos orgânicos. O DTPA, por atuar como agente complexante, pode competir pelo Pb com os compostos orgânicos do solo extraído, em razão desse comportamento, maiores teores desse elemento em relação à solução ácida de Mehlich 1 (SILVA *et al.*, 2006).

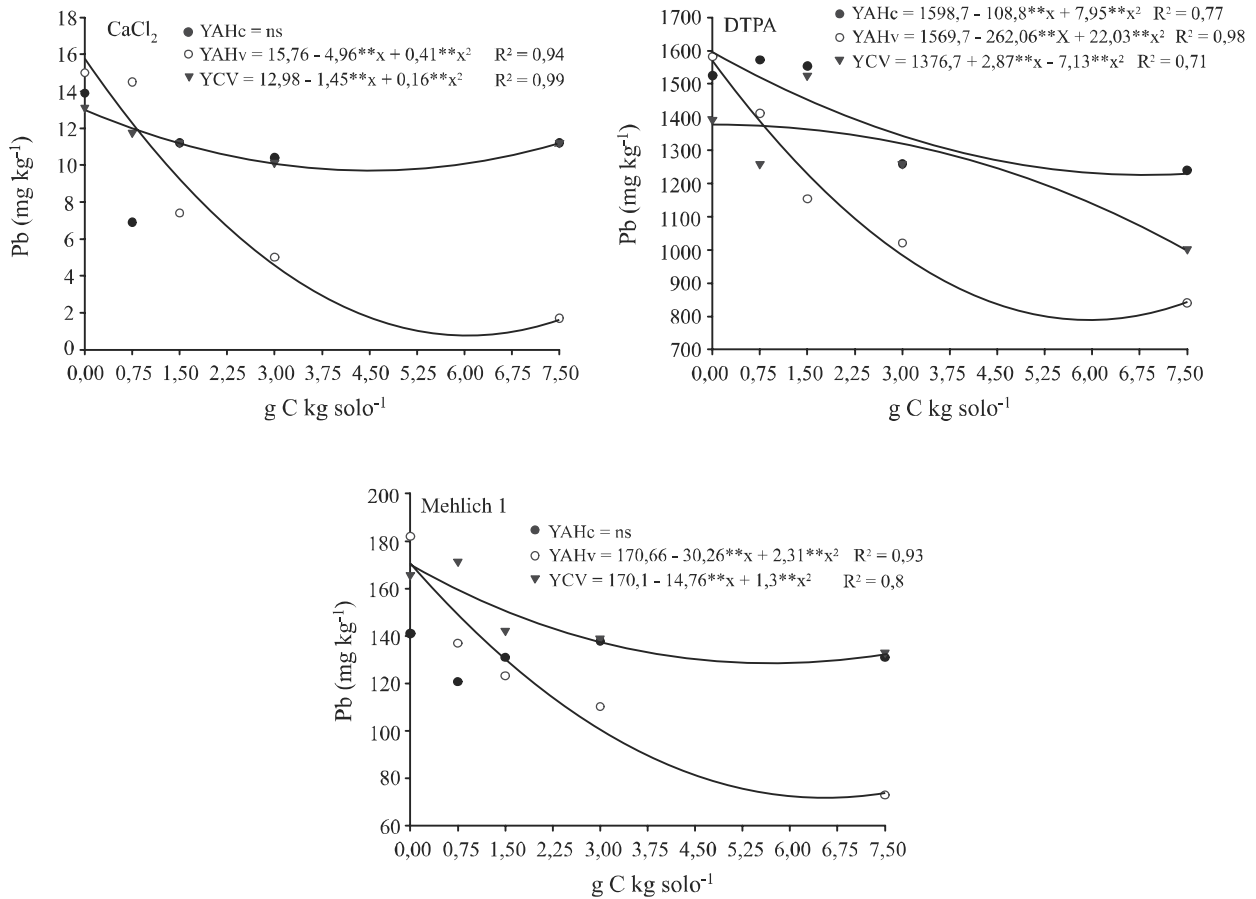
No fracionamento foi verificado aumento dos teores de Pb, ligados a fração trocável do solo com o aumento das doses de AHv e CV (Figura 2). Essa maior disponibilidade parece estar relacionada à acidificação do solo oriunda da aplicação desses amenizantes. A maior dose do AHv e CV provocou a redução do pH do solo para 6,6 e 6,2, respectivamente. Martínez-Alcala; Walker e Bernal (2010), estudando as mudanças concomitantes nas características químicas e no fracionamento de metais pesados na rizosfera de um solo multicontaminado com dois valores de pH (ácido e neutro), observaram maior concentração de metais na forma trocável no solo ácido.

O teor de Pb na fração matéria orgânica foi diretamente proporcional às doses dos amenizantes (Figura 2). Esse comportamento evidencia que com a elevação do teor de carbono no solo, a formação de complexo organometal é favorecida, diminuindo a fitodisponibilidade do metal, reduzindo desta forma os riscos de entrada do Pb na

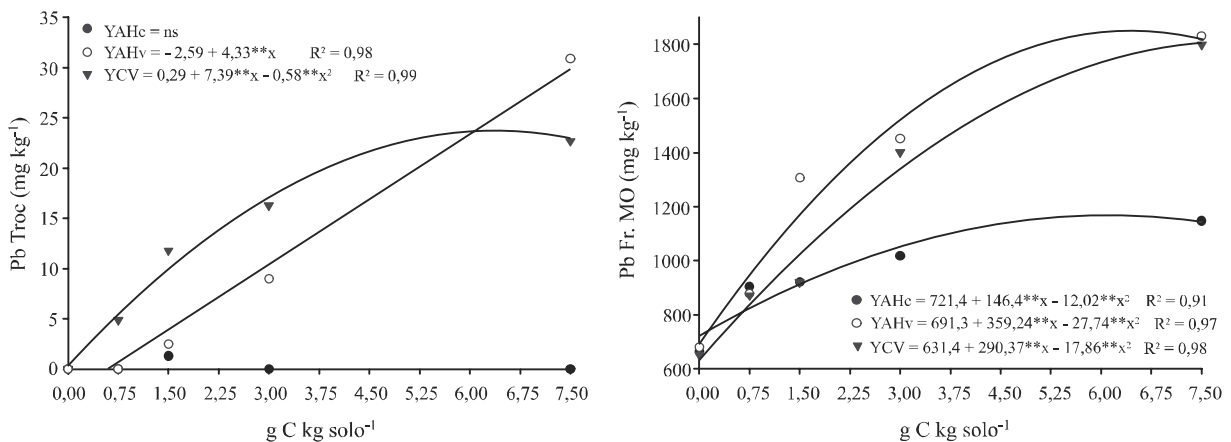
cadeia trófica. Esses dados corroboram os obtidos por Clemente e Bernal (2006), que ao aplicarem 1,1 g de C orgânico por 100 g de solo, oriundo de um ácido húmico

isolado de composto de folhas de oliva, obtiveram na fração matéria orgânica um aumento do teor Pb na ordem de 26,5% em relação ao controle.

**Figura 1** - Teores de chumbo extraídos do solo por  $\text{CaCl}_2$ , DTPA e Mehlich 1 em função de doses de carbono aplicadas ao solo via ácido húmico comercial (AHc), ácido húmico extraído de vermicomposto (AHv) e carvão vegetal ativado (CV). (ns) não significativo

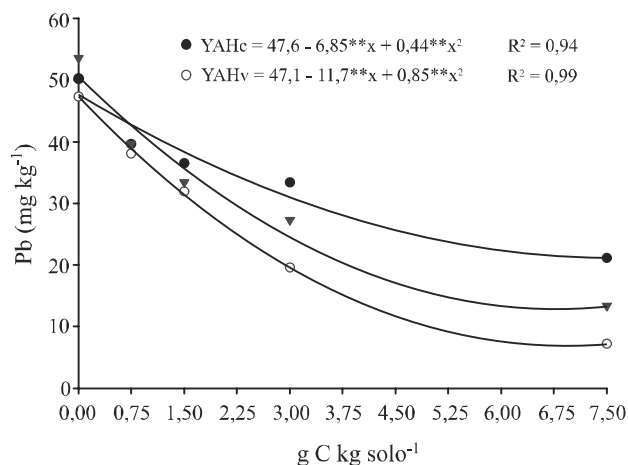


**Figura 2** - Teores de Pb, nas Frações Trocável (Troc) e Matéria orgânica (Fr. MO) em função de doses de carbono aplicadas ao solo via ácido húmico comercial (AHc), ácido húmico extraído de vermicomposto (AHv) e carvão vegetal ativado (CV). (ns) não-significativo



O teor de Pb na parte aérea do milho apresentou significância estatística para a interação das doses com os amenizantes (Figura 3). Em decorrência da aplicação das doses dos amenizantes, verificou-se redução do teor de Pb na parte aérea do milho. A adição de AHv na dose equivalente a 7,5 g kg<sup>-1</sup> de C no solo proporcionou redução de 84% no teor de Pb na parte aérea do milho. O solo tratado com CV apresentou uma atenuação de 75% no teor de Pb na parte aérea, quando comparado a sua maior dose com o controle. Para o AHc a mesma dose reduziu o teor de Pb na parte aérea em 58%. Park *et al.* (2011), avaliando o efeito da aplicação de biochar (biomassa carbonizada) na imobilização de metais e sua eficiência em promover o crescimento de plantas de mostarda da Índia, observaram que a aplicação de 15% de biochar derivado de esterco de frango reduziu em 96,3 % o teor de Pb na parte aérea.

**Figura 3** - Teores de chumbo na parte aérea de milho em função de doses de carbono aplicadas ao solo via ácido húmico comercial (AHc), ácido húmico extraído de vermicomposto (AHv) e carvão vegetal ativado (CV)



As correlações entre o teor de Pb nas plantas e os teores no solo obtidos pelos diferentes extratores foram positivas e altamente significativas ( $p < 0,01$ ) (Tabela 1), indicando semelhança na eficácia dos métodos químicos em avaliar a disponibilidade do Pb em solos. Apesar de o DTPA ter apresentado uma ligeira superioridade entre os métodos de extração avaliados, vários autores não encontraram correlação significativa entre os teores de Pb na planta e os teores no solo extraído com DTPA (ANDRADE *et al.*, 2009; ANJOS; MAGALHÃES e ABREU 2012; FENG *et al.*, 2005).

**Tabela 1** - Coeficientes de correlação linear simples entre os teores disponíveis no solo de Pb extraído por Mehlich 1, DTPA e CaCl<sub>2</sub> com os teores do respectivo elemento determinados na parte aérea do milho

Pb	Mehlich 1	DTPA	CaCl <sub>2</sub>
	0,69***	0,78***	0,65***

\*, \*\* e \*\*\* : Significativos a 5, 1 e 0,1 %, respectivamente

Em solos com elevado teores de metais é comum os extratores apresentarem resultados semelhantes, o que segundo Araújo e Nascimento (2005) dificulta a identificação do melhor extrator.

## CONCLUSÕES

1. Todos os extratores avaliados são aptos a determinarem teores de Pb disponíveis em solo tratado com ácidos húmicos e carvão vegetal ativado;
2. Dentre os extratores avaliados o DTPA foi mais eficiente na previsão da disponibilidade de Pb para o milho;
3. As doses crescentes dos amenizantes reduziram os teores disponíveis de Pb em solo contaminado;
4. A adição de carbono ao solo favorece a formação de complexo organometal, o que consequentemente reduz a fitodisponibilidade de Pb;
5. O AHv foi o mais eficiente na imobilização do Pb no solo.

## REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, P. *et al.* Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (I) Effects on soil chemical characteristics. **Chemosphere**, v. 74, n. 10, p. 1292-1300, 2009.
- ANDRADE, M. G. *et al.* Metais pesados em solos de área de mineração e metalurgia de chumbo. II - Formas e disponibilidade para plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 6, p.1889-1897, 2009.
- ANJOS, C.; MAGALHÃES, M. C. F.; ABREU, M. M. Metal (Al, Mn, Pb and Zn) soils extractable reagents for available fraction assessment: comparison using plants, and dry and moist soils from the Braçal abandoned lead mine area, Portugal. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 113, p. 45-55, 2012.
- ARAÚJO, J. C. T.; NASCIMENTO, C. W. A. Fracionamento e disponibilidade de zinco por diferentes extratores em solos incubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 6, p. 977-985, 2005.

- BENITES, V. M. *et al.*, Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, v. 127, n. 1/2, p. 104-113, 2005.
- CARVALHO, F. M. *et al.* Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 13, n. 1, p. 19-24, 2003.
- CLEMENTE, R.; BERNAL, M. P. Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids. **Chemosphere**, v. 64, n. 8, p. 1264-1273, 2006.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de análises de solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212 p.
- EMPRESABRASILEIRADEPESQUISAAGROPECUÁRIA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 370 p.
- FENG, M. H. *et al.* A comparison of the rhizosphere-based method with DTPA, EDTA, CaCl<sub>2</sub>, and NaNO<sub>3</sub> extraction methods for prediction of bioavailability of metals in soil to barley. **Environmental Pollution**, v. 137, n. 2, p. 231-240, 2005.
- IWEGBUE, C. M. A. *et al.* Fractionation, characterization and speciation of heavy metals in composts and compost-amended soils. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 2, p. 67-78, 2007.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.
- KASHEM, M. A. *et al.* Comparison of extractability of Cd, Cu, Pb and Zn with sequential extraction in contaminated and non-contaminated soils. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 4, n. 2, p. 169-176, 2007.
- MACHADO, S. L. *et al.* A study of the routes of contamination by lead and cadmium in Santo Amaro, Brazil. **Environmental Technology**, v. 34, n. 5, p. 559-571, 2013.
- MARTÍNEZ-ALCALA, I.; WALKER, D. J.; BERNAL, M. P. Chemical and biological properties in the rhizosphere of *Lupinus albus* alter soil heavy metal fractionation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 4, p. 595-602, 2010.
- NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F.; NEVES, J. C. L. Dessorção, extração e fracionamento de manganês em Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 3, p. 589-597, 2002.
- NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T. M.; HOUBA, V. J. G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 51, n. 1/4, p.47-58, 1993.
- PARK, J. H. *et al.* Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals. **Plant and Soil**, v. 348, n. 1/2, p. 439-451, 2011.
- RAIJ, B. van. *et al.* **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.
- SANTOS, G. C. G.; RODELLA, A. A. Efeito da adição de fontes de matéria orgânica como amenizantes do efeito tóxico de B, Zn, Cu, Mn e Pb no cultivo de *Brassica juncea*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 4, p. 793-804, 2007.
- SHUMAN, L. M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, v. 140, n. 1, p. 11-22. 1985.
- SILVA, C. A. *et al.* Disponibilidade de metais pesados para milho cultivado em Latossolo sucessivamente tratado com lodos de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 2, p. 353-364, 2006.
- SWIFT, R. S. Organic matter characterization (chap 35). pp. 1018-1020. In D. L. Sparks *et al.* (eds) **Methods of soil analysis**. Part 3. Chemical methods. Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5. Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI, 1996. (veja abaixo a nova apresentação desta referência).
- SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D. L. *et al.* (Ed.) **Methods of soil analysis**. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America : American Society of Agronomy, 1996. chap. 35, part 3, p. 1018-1020. Chemical methods. (Soil Science Society of America Book Series, n 5).
- TROMPOWSKY, P. M. *et al.* Characterization of humic like substances obtained by chemical oxidation of eucalyptus charcoal. **Organic Geochemistry**, v. 36, n. 11, p. 1480-1489, 2005.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3050 B. 1998. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/pdfs/3050b.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2011.