

MATEUS LANNA BORGES DE MORAES

**ECOTOXICIDADE DE ARSÊNIO EM SOLOS E SUA RELAÇÃO COM O
VALOR DE PREVENÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA

MINAS GERAIS - BRASIL

2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M827e
2012

Moraes, Mateus Lanna Borges de, 1984-

Ecotoxicidade de arsênio em solos e sua relação com o valor de prevenção / Mateus Lanna Borges de Moraes. – Viçosa, MG, 2012.

ix, 52f. : il. ; (algumas color.) ; 29cm.

Orientador: Walter Antônio Pereira Abrahão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 43-52.

1. Geoquímica ambiental. 2. Arsênio. 3. Química do solo. 4. Solos - Minas Gerais. 5. Gestão ambiental. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Solos. Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas. II. Título.

CDD 22. ed. 631.41

MATEUS LANNA BORGES DE MORAES

**ECOTOXICIDADE DE ARSÊNIO EM SOLOS E SUA RELAÇÃO COM O
VALOR DE PREVENÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA : 26 de setembro de 2012.

Raphael Bragança Alves Fernandes

Igor Rodrigues de Assis

Virginia Sampaio Teixeira. Ciminelli

Walter Antônio Pereira Abrahão
(Orientador)

Na verdade, a verdade não é.

A verdade está.

AGRADECIMENTOS

A Deus, onipresente, independentemente de crença ou religião.

A todos os meus familiares pelo amor, apoio e compreensão incondicionais.

À Rosângela Gurgel, pela oportunidade de trabalho e por crer em minha capacidade e competência.

A toda equipe da Gerência de Solos da Fundação Estadual do Meio Ambiente, em especial à Patrícia Rocha, Cíntia, Rômulo Alexandrino e Luís Otávio, sem os quais este trabalho não teria sido desenvolvido.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Solos, pela oportunidade de realização deste curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a condução do projeto de pesquisa.

Aos estagiários Mariana Cecília Melo, João Reis, Gustavo e André Reis pelo crucial auxílio na condução dos experimentos e trabalhos de laboratório, sem os quais este trabalho não teria sido concluído.

A todos os amigos do Departamento de Solos, em especial ao Diogo Spinola, Raquel Portes, Samuel Andrade, Diego Aniceto, Renato Veloso, Henrique Sá Paye, José João, e tantos outros pelas valiosas ajudas na condução deste trabalho e pelos momentos de descontração.

Ao amigo Roberto Michel pelas valiosas conversas e contribuições para este trabalho.

Aos professores Jaime Mello e Walter Abrahão pela amizade, paciência e dedicação na realização deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Solos da UFV, pelas valiosas lições e ensinamentos.

À Professora Denise por ter cedido gentilmente a estrutura do Laboratório de Pesquisa em Sementes.

As secretárias Cláudia Gonçalves, Luciana, Leiliane, Tatiana e Sônia pela atenção e colaboração em todas as horas.

Aos laboratoristas do Departamento de Solos Geraldo Robésio, Mário Sérgio, Chico, Cláudio, Carlos e Edimaldo Garcia pelas ajudas no decorrer do trabalho e pela amizade firmada.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Mateus Lanna Borges de Moraes, filho de Angelina Maria Lanna de Moraes e Fernando Machado Borges de Moraes, nasceu em 03 de Outubro de 1984, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Em 2000, iniciou o Curso de Técnico em Agropecuária na CEDAF - Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal, MG, Florestal – MG, formando-se em 2002.

Em 2003 iniciou o Curso de Agronomia Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, graduando-se em 2008.

Em 2009 e 2010 foi Bolsista de Gestão em Ciência e Tecnologia da Gerência de Qualidade do Solo da Fundação Estadual do Meio Ambiente – FEAM em parceria com o Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

Em Agosto de 2010, iniciou o Curso de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em 26 de setembro de 2012.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 - O solo como receptor de resíduos e o Valor de Prevenção	3
2.2 - Arsênio: características, abundância e quantificação.....	7
2.3 - Arsênio: toxicidade para plantas e animais.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Amostras de solos	13
3.2 Caracterização das amostras de solo	14
3.3 Isotermas de Adsorção	15
3.4 Extração sequencial de arsênio	16
3.5 Fitotoxicidade de As em plantas superiores.....	17
3.6 Toxicidade de arsênio em minhocas terrestres (<i>Eisenia andrei</i>) – Teste Preliminar ..	18
3.7 Avaliação dos resultados de toxicidade	19
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Caracterização das amostras	20
4.3 Fitotoxicidade de As em plantas superiores.....	27
4.4 Toxidade de arsênio em minhocas terrestres (<i>Eisenia andrei</i>) – Teste Preliminar	35
4.5 Extração sequencial de arsênio	36
4.5 Avaliação dos resultados de toxicidade	40
5 – CONCLUSÕES.....	42
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

RESUMO

MORAES, Mateus Lanna Borges de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2012. **ECOTOXICIDADE DE ARSÊNIO EM SOLOS E SUA RELAÇÃO COM O VALOR DE PREVENÇÃO**. Orientador: Walter Antônio Pereira Abrahão. Coorientador: Jaime Wilson Vargas de Mello.

Embora o conceito de áreas contaminadas não seja novidade, no Brasil o gerenciamento de áreas contaminadas é relativamente recente. Entre as ferramentas utilizadas no gerenciamento de áreas contaminadas estão os valores orientadores, adotados para subsidiar decisões, não só visando a proteção da qualidade dos solos e das águas subterrâneas, como também o controle da poluição. Em Minas Gerais, segundo a Deliberação Normativa COPAM Nº 166, de 29/06/2011, em consonância com a Resolução do CONAMA Nº 420 de 28/12/2009, os valores orientadores são “concentrações de substâncias químicas que fornecem orientação sobre a qualidade e as alterações do solo e da água subterrânea”. São considerados três valores, denominados: 1) Valor de Referência de Qualidade (VRQ) que é determinado a partir do *background* natural dos solos de uma região; 2) Valor de Prevenção (VP) que é a concentração de determinada substância no solo acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo e da água subterrânea e 3) Valor de Investigação (VI) que é a concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana. Os VP vigentes foram obtidos por meio de revisão da literatura nacional, considerando-se que o VP seria igual “*a menor concentração que causa alguma fitotoxicidade, bem como as concentrações máximas permitidas para aplicação de lodo em solos agrícolas*” (CETESB, 2001). As fontes consultadas, no entanto, remetem a trabalho realizado no Japão (“*Heavy Metals in soils of Japan*” de Kitagishi, 1981), para estabelecer o limite máximo permitido para As em solos de várzea como sendo 15 mg kg^{-1} (VP vigente para As). O risco ecotoxicológico calculado para organismos do solo não foi considerado, pois esta informação não estava disponível na literatura nacional. Visando a definição do risco ecotoxicológico do elemento Arsênio (As) para organismos do solo em MG foram testados, conforme as normas para ensaios de toxidez aguda para plantas superiores ISO – 11.269-2:2005, seis solos divididos em dois grupos: 1) Baixo background de As: um LATOSSOLO VERMELHO distroférrico (LVdf); um LATOSSOLO

AMARELO distrófico (LAd) e um CAMBISSOLO HÁPLICO Tb distrófico (CXbd), onde foram testados os efeitos de doses crescentes de As (0, 15, 150, 1500 e 3000 mg kg⁻¹); 2) Elevado background de As: dois NEOSSOLO LITÓLICO distrófico, do município de Paracatu, MG, com teor de As maior que 2000 mg kg⁻¹ (Formação Paracatu) (RLd -A e RLd -B); e um NEOSSOLO LITÓLICO distrófico proveniente de Santa Bárbara, MG (RLd -SB) (Formação Bandada de Ferro; BIF – Supergrupo Rio das Velhas) (teor de As = 28 mg kg⁻¹). No primeiro grupo também foi avaliado o efeito do tempo de incubação (24h e 6 semanas) de uma fonte solúvel de As sobre a toxidez para soja (*Glycyne max*) e sorgo (*Sorghum bicolor*), a capacidade máxima de adsorção de arsênio (CMA-As) determinada por meio de isotermas de Langmuir e a adsorção deste elemento no solo. A avaliação da adsorção foi realizada por meio de extração sequencial proposta por Wenzel, 2001. Também foi realizado um teste preliminar de toxidez de As para minhocas terrestres (*Eisenia andrei*). A dose de As que causou redução de 50% do crescimento (EC₅₀) das plântulas de soja e sorgo mostrou-se dependente da capacidade máxima de adsorção de Arsênio (CMA-As), a qual é dependente do teor e do tipo de argila de cada solo. A EC₅₀ variou de 120 a 2500 mg kg⁻¹, sendo o solo LAd, com a menor CMA-As, incubado por 24 h, a condição mais restritiva e o solo LVdf, com a maior CMA-As, incubado por seis semanas, a condição menos restritiva. As formas mais lábeis, consideradas biodisponíveis, do As adicionado foram significativamente diminuídas com o passar do tempo. Em contrapartida, as formas menos lábeis aumentaram com o tempo de incubação. Os solos com elevado *background* apresentaram a maior parte do As apenas em formas menos lábeis e, como consequência não mostraram toxidez aguda às plantas de soja e sorgo cuja biomassa não diferiu significativamente do controle. Diante destes resultados, são discutidos valores de prevenção (VP) para As, segundo metodologia Holandesa de Avaliação de Risco Preliminar, condizentes com a realidade das condições ambientais do Estado de Minas Gerais. Os valores obtidos, variaram desde 20 mg kg⁻¹, para a condição mais restritiva, até 258 mg kg⁻¹, para o solo com maior capacidade de adsorção de As. Verificou-se, também, que este valor tende a ser ainda maior para o caso de contaminação natural ou geogênica, muito comum no Estado de Minas Gerais, em relação ao valor vigente na legislação estadual que é igual a 15 mg kg⁻¹.

ABSTRACT

MORAES, Mateus Lanna Borges de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, september 2012. **Arsenic ecotoxicity in soils and its relationship with the prevention value.** Advisor: Walter Antônio Pereira Abrahão. Co-adviser: Jaime Wilson Vargas de Mello.

Although the conception of contaminated areas is not new in Brazil, managing contaminated areas is a relatively recent activity. Among the tools used in the management of contaminated areas are the guiding values, adopted to support decisions, not only in order to protect the quality of soil and groundwater, as well as pollution control. In Minas Gerais, according to COPAM Normative Resolution N° 166, dated 29 June 2011, in line with the CONAMA Resolution N°. 420 of 28.12.2009, the guiding values are "concentrations of chemicals that provide guidance on quality and changes in soil and groundwater." Three values are considered: 1) Quality Reference Value (VRQ) which is determined from the natural background soil of a region, 2) Prevention Value (VP) which is the concentration of a substance in soil above changes which may occur detrimental to of soil and groundwater quality, and 3) Research Value (VI) which is the concentration of a substance in soil or groundwater above which there are potential risks, direct or indirect, to human health. The current VP was obtained through national literature review, considering that the VP would equal *"the lowest concentration that causes some phytotoxicity as well as the maximum permissible concentrations for sludge application in agricultural soils"* (CETESB, 2001). The sources consulted, however, refer to work done in Japan (*"Heavy Metals in soils of Japan"* to Kitagishi, 1981), to establish the maximum allowable limit for As in lowland soils as 15 mg kg⁻¹ (current VP for As). The ecotoxicological risk calculated for soil organisms was not considered, as this information was not available in the national literature. Aiming ecotoxicological risk definition of the element Arsenic (As) for soil organisms in Minas Gerais state were tested according to the acute toxicity standard tests ISO - 11269-2:2005, six soils divided into two groups: 1) Low background of As: two Oxisols (LVdf and LAd) and an Inceptisol (CXbd), in which have been tested increasing doses of As (0, 15, 150, 1500 and 3000 mg kg⁻¹ 2) 2) High background of As: two Udorthents of Paracatu, MG; As level > 2000 mg kg⁻¹ (Paracatu Formation) (RLd-P1 and RLd-P2) and a Udorthent from Santa

Barbara, MG (RLd-SB) (Banded Iron Formation; BIF - Supergroup Rio das Velhas) ($As = 28 \text{ mg kg}^{-1}$). In the first group was also evaluated the effect of incubation time (24 hours and 6 weeks) of a soluble source of As on the toxicity over soy (*Glycine max*), sorghum (*Sorghum bicolor*) and earthworms (*Eisenia andrei*), the maximum arsenic adsorption capacity (CMA-As), determined by Langmuir isotherms and also soil arsenic adsorption. In this case, the evaluation of soil arsenic adsorption was performed by sequential extraction proposed by Wenzel, 2001. The dose that caused a 50% growth reduction (EC_{50}) of soybean and sorghum seedlings was dependent of the CMA-As, which is dependent of the content and type of clay of each soil. The EC_{50} ranged from 120 to 2500 mg kg^{-1} , where the soil LAd with the smallest CMA-As, incubated for 24 h was the most restrictive condition while the soil LVdf, with the greatest CMA-As, incubated for six weeks was the less restrictive condition. The most labile, considered bioavailable form of added arsenic significantly decreased over time. In contrast, less labile forms increased with incubation time. The soils with high background showed that the greatest part of arsenic is contained only in less labile forms and, consequently, showed no acute toxicity for soybean and sorghum biomass, which did not significantly differs from the control. With these results we discussed the prevention values (VP) for As, following the Dutch Preliminary Risk Assessment methodology, commensurate with the environmental conditions of Minas Gerais state. The values obtained ranged from 20 mg kg^{-1} for the most restrictive conditions, up to 258 mg kg^{-1} for soil with higher arsenic adsorption capacity. It was also found that this value tends to be higher in case of natural or geogenic contamination, very common in Minas Gerais, in relation to the prevailing value in the state law, that is equal to 15 mg kg^{-1} .

1 – INTRODUÇÃO

No Brasil, é relativamente recente o conceito de gestão de áreas contaminadas. Diversos sítios de variada extensão sofreram ou sofrem contaminação do solo em eventos que podem variar de um acidente rodoviário à deposição de resíduos industriais. Estas áreas requerem investigação quanto à contaminação, monitoramento e remediação.

Uma das ferramentas utilizadas no gerenciamento de áreas contaminadas é a adoção de valores orientadores para subsidiar decisões, não só visando a proteção da qualidade dos solos e das águas subterrâneas, como também o controle da poluição nas áreas já contaminadas e/ou suspeitas de contaminação.

Segundo a Deliberação Normativa COPAM Nº 166, de 29 de Junho de 2011 (MG), em consonância com a Resolução do CONAMA Nº420 de 28/12/2009, valores orientadores são “concentrações de substâncias químicas que fornecem orientação sobre a qualidade e as alterações do solo e da água subterrânea”. São considerados três valores, denominados: 1) Valor de Referência de Qualidade (VRQ) que é a concentração de determinada substância no solo, que o define como limpo (*background*); 2) Valor de Prevenção (VP) que é a concentração de determinada substância no solo acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo e da água subterrânea e 3) Valor de Investigação (VI) que é a concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerando um cenário de exposição padronizado, devendo a área ser submetida a estudos mais detalhados.

A determinação de Valores de Prevenção – VP permite a tomada de decisões mais seguras quanto a usos de solos. Por exemplo, a constatação de concentrações acima do VP em determinado solo pode auxiliar na tomada de decisão quanto ao uso deste como área de disposição de resíduos industriais, pois neste caso o risco ambiental é maior. Em termos de uso agrícola, é possível distinguir adição antrópica, via aplicação de insumos, do teor natural de elementos no solo, baseando-se nos valores de *background*. Neste caso, também, pode-se tomar decisões mais

racionais quanto à utilização de insumos como fosfatos, gesso agrícola, calcários, escórias de aciaria e lodos de esgoto ricos em elementos traços.

No caso dos metais e metalóides, o VP é importante para a determinação da capacidade de deposição desses elementos químicos em um determinado solo, de forma que estes não sejam disponibilizados e entrem na cadeia trófica, causando a contaminação dos organismos vivos e a possível biomagnificação. Sendo assim, é importante a definição de valores regionais e específicos tendo em vista as peculiaridades geológicas, climáticas, hidrológicas e geomorfológicas de cada região.

Neste sentido o encaminhamento de soluções, por parte dos órgãos públicos de gestão ambiental, deve contemplar um conjunto de medidas que assegure tanto o conhecimento das mais diversas áreas contaminadas como suas características e nível de contaminação. Para tanto, devem-se criar instrumentos necessários à tomada de decisão no gerenciamento de áreas contaminadas, com o objetivo de minimizar os riscos à saúde da população e ao ambiente.

Assim, a Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM) vem desenvolvendo o Programa Solos de Minas que tem como uma de suas metas o estabelecimento de valores orientadores relativos à presença de contaminantes nos solos, no Estado de Minas Gerais, visando definir as metodologias e procedimentos que serão utilizadas na determinação dos valores orientadores a serem adotados no Estado de Minas Gerais.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a ecotoxicidade de Arsênio em solos de MG, por meio de ensaios de toxidez com plantas superiores e minhocas terrestres, avaliando ainda a influência da capacidade máxima de adsorção de arsênio e do tempo de incubação sobre a toxidez, visando a revisão do Valor de Prevenção vigente no Estado de Minas Gerais.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - O solo como receptor de resíduos e o Valor de Prevenção

O solo tradicionalmente figura como receptor final de resíduos antrópicos, porém recentemente deixou de ser visto como depósito passivo, sendo entendido como reservatório depurador de diferentes materiais, como também muitos solos possuem grande potencial de uso como insumo em diferentes cadeias produtivas.

O desenvolvimento da política ambiental no Brasil durante os últimos 30 anos gerou o aprimoramento da legislação em vários aspectos. Em consequência foram criadas diversas regulamentações por parte dos órgãos governamentais integrantes do Sistema Nacional de Meio Ambiente. Nesse contexto, a regulamentação da destinação final de resíduos urbanos, agrícolas e industriais sempre representou grande desafio.

A disposição inadequada de resíduos perigosos ou sua liberação acidental acarreta graves danos aos diferentes ecossistemas de forma individualizada. A agricultura é hoje grande receptor de escórias, vinhaça e outros resíduos que agem como corretivos e fertilizantes ao mesmo tempo em que podem acarretar no aumento de elementos traço no solo. Por outro lado, as atividades minerária e industrial buscam soluções para a deposição de estéril, rejeitos e resíduos. Ao mesmo tempo, as grandes cidades investigam áreas para a implantação de novos aterros e deparam com diversas formas de contaminação do solo e de águas subterrâneas, o que se torna uma questão de saúde pública.

Relatos envolvendo a exposição humana a elementos-traço incluem o Mal de Minamata (Hg) e a doença do Itai Itai (Cd) (TAKIZAWA, 2000). COUTO e colaboradores (2007) avaliaram amostras de urina de crianças com idade escolar da região do Quadrilátero Ferrífero, MG, e constataram concentrações de arsênio (As) superiores a $40 \mu\text{g L}^{-1}$, o que é considerado um sério risco à saúde. De acordo com esses autores, as fontes de enriquecimento de As em águas desta região são, em princípio, explicadas pelo intemperismo do material parental e dos resíduos de minas, bem como pela atividade de fundição.

Critérios mais rígidos para a disposição destes materiais são limitados pela falta de parâmetros seguros para a avaliação de seus efeitos nos diferentes ambientes. Esta situação dificulta inclusive a certificação de qualidade ambiental das empresas geradoras de resíduos. Assim a necessidade de criar subsídios para a avaliação da qualidade e monitoramento dos solos é urgente, possibilitando o levantamento e investigação de áreas contaminadas.

A determinação de Valores Orientadores, como os Valores de Referência de Qualidade – VRQ ou “*background*” de elementos-traço, bem como os Valores de Prevenção – VP e Investigação - VI, é importante sob vários aspectos. No entanto, em que pese à importância de padrões locais para avaliação de impactos e gestão ambiental, as pesquisas ainda são incipientes.

A utilização de valores orientadores, embora incipiente no Brasil, já é bem estabelecida em países como Alemanha, Argentina, Austrália, Estados Unidos, França, Itália, México, Reino Unido e Holanda. Estes países desenvolvem respeitáveis políticas ambientais para proteção do solo e das águas subterrâneas, por meio de suas agências de proteção ambiental. Para o elemento arsênio, valores similares ao VP adotado no Brasil são iguais a 12 mg kg^{-1} no Canadá (SGQ_{agrícola}) bem como na Itália, 22 mg kg^{-1} no México (CR_t agrícola), 10 – 60 nos E.U.A. (SSL/SLV), 20 mg kg^{-1} na Austrália (EILs) e $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$ na Holanda (MAP), por exemplo (CETESB, 2001, 2005).

A Holanda foi pioneira em criar sua lista de valores orientadores, e atualmente apresenta uma metodologia já consolidada de avaliação de risco, fundamentada em critérios científicos, denominada C-Soil. Esta lista foi desenvolvida pelo VROM - Ministerie Van Volkshuisvesting Ruimtelijk Ordering em Milieubeheer e, mais tarde, passou a ser denominada de STI - *Streefwaarde*, *Toetsingswaarde* e *Interventiewaarde* que significam referência, alerta e intervenção, conforme CROMMENTUIJN *et al.* (1997). A partir de 2002, na União Europeia, passou a vigorar a “Estratégia Temática para Proteção do Solo” que estabelece bases e regulamentações para manutenção ou, até, melhoria da qualidade do solo. Esta iniciativa impulsionou diferentes grupos a reportar o estado de conservação dos solos, impactos e pressões, assim como recomendações para

criação de uma política de proteção para o solo nos níveis da União Europeia (MICÓ *et al.* 2007). VAN CAMP *et al.* (2004), citado por MICÓ *et al.* (2007), enfatizaram a necessidade de se quantificar os teores de elementos-traço em solos para identificar os valores orientadores e, conseqüentemente, estabelecer padrões de qualidade do solo, como por exemplo, os Valores de Prevenção – VP e Intervenção – VI.

Em nível nacional, os Valores Orientadores (VRQ, VP e VI) são regulamentados por meio da Resolução N°420 de 28/12/2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (BRASIL, 2009). De acordo com essa Resolução, cada Estado da Federação teria um prazo de quatro anos, contados a partir da de sua publicação, em 2009, para que sejam estabelecidos os respectivos VRQ. O Estado de Minas Gerais já estabeleceu seus VRQ, regulamentados pela Deliberação Normativa COPAM N° 166, de 29 de Junho de 2011 (MINAS GERAIS, 2011). Os Valores de Prevenção para metais pesados presentes tanto na legislação nacional quanto na do Estado de Minas Gerais são os mesmos descritos por CETESB (2001).

No Estado de São Paulo, por intermédio de sua agência ambiental - CETESB, os Valores de Prevenção – VP, publicados inicialmente em 2001, foram obtidos por meio de revisão da literatura nacional, partindo do princípio que o VP seria igual “à menor concentração que causa alguma fitotoxicidade, bem como as concentrações máximas permitidas para aplicação de lodo em solos agrícolas”, citando os trabalhos de MALAVOLTA (1976, 1994), ICME (1997) e KABATA-PENDIAS & PENDIAS (1984) como fonte de dados (CETESB, 2001). Os dois primeiros autores por sua vez, citam um autor em comum (o terceiro da lista), referindo-se ao livro publicado por KABATA-PENDIAS & PENDIAS em 1984, denominado “*Trace Elements in Soils and Plants*”. O risco ecotoxicológico calculado para organismos do solo não foi considerado, pois esta informação não estava disponível na literatura nacional (CETESB, 2001).

No livro “*Trace Elements in Soils and Plants*” 3rd Ed., publicado em 2001 por KABATA-PENDIAS, há uma citação do livro “*Heavy Metals in Japan*”, uma compilação de trabalhos científicos, publicado pela Sociedade Japonesa de Ciência, em 1981, que afirma:

“The maximum allowable limit of As in paddy soils is proposed as 15 ppm.”

“O limite máximo permitido para As em solos alagados (várzeas) é proposto como sendo 15 ppm”. (KABATA-PENDIAS, 2001, p.242)

Tal citação é a raiz do Valor de Prevenção para Arsênio adotado na legislação brasileira e, conseqüentemente, no Estado de Minas Gerais, considerando que o VP para o elemento Arsênio é igual a 15 mg kg^{-1} . Percebe-se assim que a fonte dos dados que geraram os VP's adotados no Brasil é, no mínimo, inadequada para os solos brasileiros, posto que proveniente de condições ambientais bastante específicas, para solos inundados, completamente distintas da realidade brasileira, sobretudo para os solos de Minas Gerais. Estes aspectos reforçam a necessidade de estudos específicos.

Na última publicação da CETESB acerca dos Valores Orientadores, em 2005, alguns destes valores foram modificados. A definição de novos VP e VI apenas para Cd (cádmio) e Pb (chumbo) teve por base a metodologia adotada pela Holanda (CETESB *draft*, 2005), onde adotam-se os conceitos de Máxima Adição Permitida (MAP) e Máxima Concentração Permitida (MCP). Neste caso, o VP é considerado como sendo igual à MCP, que, por sua vez, é calculada somando-se a MAP ao VRQ. Esta metodologia já é consagrada na Holanda, como em toda a União Europeia, sendo adotada em diversos países.

A MAP é determinada baseando-se em ensaios ecotoxicológicos, onde são testados diversos processos e organismos do solo, como atividade de enzimas, atividade microbiológica, biomassa microbiana, invertebrados, insetos e plantas, para cada elemento de interesse.

Para o cálculo da MAP são considerados os valores de EC_{50} (redução de 50 % no crescimento em relação ao controle), obtidos por meio de ensaios de toxidez aguda (curtos períodos de contato com o contaminante, p.e., 7, 14 ou 21 dias), e os valores de NOEC (concentração que não foi observado efeito tóxico) e LOEC (menor concentração com efeito tóxico observado), obtidos por meio de ensaios de toxidez crônica (longos períodos de contato com o contaminante, p.e., uma ou mais gerações do organismo teste) para doses de determinado contaminante aplicadas ao solo.

Para o elemento Arsênio, os ensaios ecotoxicológicos considerados para a definição da MAP na legislação Holandesa foram conduzidos com plantas superiores (soja) e minhocas terrestres (CROMMENTUIJN *et al.*, 1997), onde a MAP determinada foi igual a $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$, considerando-se um solo padronizado contendo 10 % de matéria orgânica e 25 % de argila. Para a definição deste valor, foi utilizado o menor NOEC (concentração teste sem efeito observado), obtido em experimento de toxidez crônica com duração de oito semanas utilizando-se a minhoca terrestre *Eisenia fetida* (NOEC = 45 mg kg^{-1}), dividido por um fator de segurança igual a 10.

Existem na literatura nacional e internacional, diversos estudos de caso relacionados à bioacumulação, ecotoxicidade e fitotoxicidade de metais e metalóides para microorganismos, plantas e mesofauna do solo, porém sem nenhuma padronização metodológica voltada para a definição de valores de prevenção.

2.2 - Arsênio: características, abundância e quantificação

O arsênio (do latim *arsenium*; do grego *arsenikos* = potente), ou também arseníco, é um elemento químico, de símbolo As, com número atômico 33 e massa atômica de 75 g mol^{-1} . É um semimetal (ou metalóide) encontrado no grupo 15 (5A) da Classificação Periódica dos Elementos. Distribui-se de maneira relativamente uniforme nos principais tipos de rochas e sua concentração média está entre $0,5\text{-}2,5 \text{ mg kg}^{-1}$. Apenas em sedimentos argilosos a média pode atingir valores mais expressivos, cerca de 13 mg kg^{-1} (KABATA PENDIAS, 2001; FAURE, 1991).

Está associado a depósitos de muitos metais sendo reconhecido como um bom indicador em levantamentos de prospecção geoquímica. É também frequentemente encontrado junto com S, Se e Te. Numerosos minerais de As são o resultado da oxidação de depósitos de sulfetos. Estes são os arsenatos e arsenitos, em que o As é combinado com algum metal (por exemplo, Fe, Pb e Cu). O mais comum dos arsenominerais, porém, é um sulfeto, a arsenopirita (FeAsS) (KABATA PENDIAS, 2001; FRANKENBERGER Jr, 2002). A arsenopirita é o mineral de As mais comumente encontrado no Estado de Minas Gerais, associado à outros minerais originados por hidrotermalismo, onde a exploração de ouro é comum (MATSCHULLAT, 2007). A exposição de minerais sulfetados a condições

oxidantes pode desencadear reações irreversíveis que causam severa acidificação do meio, processo conhecido por *drenagem ácida*. Além da severa acidificação causada pelo intemperismo rápido destes minerais quando expostos a condições oxidantes, a dispersão do As no ambiente e contaminação de solos e águas subterrâneas são os principais problemas ambientais gerados pela atividade minerária.

Embora os arseno-minerais e compostos de As sejam facilmente solúveis, a migração de As é limitada devido à forte sorção por argilas, óxidos e matéria orgânica. O enriquecimento de As em solos e sedimentos argilosos, bem como em solos superficiais, em relação às concentrações em rochas ígneas, aparentemente refletem algumas fontes externas de As, tais como erupções vulcânicas e poluição, como também o enriquecimento supergênico natural dos elementos pouco móveis durante o intemperismo das rochas e a formação do solo. No solo, o As também está presente na fração mineral pesada do solo, mas sua contribuição é pequena (geralmente cerca de 1%). A maior proporção do total de As (27-90%) no solo está associada com a fração argila (<0,002mm) (MOTUZOVA, 1999, *apud* KABATA PENDIAS, 2001).

Os estados de oxidação de As são -3, 0, +3 e +5, dos quais As^0 e As^{3+} são característicos de ambientes redutores. Os ânions complexos AsO_2^- , AsO_4^{3-} , H_2AsO_3^- , HASO_4^{2-} e (AsO_4^{3-}) são as mais comuns formas móveis de As, sendo adsorvidos na faixa de pH entre 7 e 9 (FRANKENBERGER Jr & WILLIAM, 2002; MATSCHULLAT, 2007).

O comportamento do ânion arsenato (AsO_4^{3-}) é semelhante ao dos fosfatos e vanadatos. Na maioria das condições ambientais o As^{5+} está presente como H_2AsO_4^- , enquanto o As^{3+} como H_3AsO_3^0 , sendo este dominante em ambientes com baixo Eh e $\text{pH} < 9,3$. (CRECELIUS *et al*, 1986; FRANKENBERGER Jr & WILLIAM, 2002; MATSCHULLAT, 2007).

As reações de As em solos são altamente reguladas pelo seu estado de oxidação. Os íons arsenato são conhecidos por serem facilmente fixados pelos componentes do solo, tais como argilas, húmus e cálcio, sendo mais ativos na retenção de As os óxidos hidratados de Fe e Al. Hidróxidos de Al na superfície externa de minerais micáceos são considerados especialmente significantes na

retenção de As (HUANG, 1975). A forte associação de As, tanto natural quanto adicionado, com Fe (principalmente goethita) em solos, foi relatada por Norrish (1975).

Doravante, óxidos, hidróxidos e óxi-hidróxidos de ferro e alumínio serão chamados de óxidos de Fe e Al, visando à simplificação textual deste conjunto de minerais, formas cristalinas e grupamentos químicos que, perante a adsorção de arsênio, possuem semelhanças que nos permitem fazer tal generalização.

É pouco provável que o As fortemente adsorvido no solo seja novamente desorvido e geralmente a retenção de As adicionado ao solo aumenta com os anos (EL-BASSAM *et al.*, 1975). No entanto, As combinado com Fe e com os óxidos de Al pode ser liberado após hidrólise. Apesar da existência de alguns estudos, ainda se conhece relativamente pouco sobre a especiação e a dinâmica do As no solo, porém a grande presença de arsenatos indica um comportamento semelhante aos fosfatos, sendo os arsenatos ligados a Fe ou Al provavelmente as formas mais comuns do elemento em solos, posto que a maioria das condições ambientais é oxidante (FRANKENBERGER Jr & WILLIAM, 2002; MELLO *et al.*, 2007; MATSCHULLAT, 2007).

Elkhatib *et al.* (1984) afirmaram que a concentração de óxidos e o Eh são as principais variáveis do solo que controlam a taxa de sorção do arsenito e que o pH do sistema influencia a quantidade de As adsorvido na superfície dos óxidos.

Silva (2008) estudando a adsorção de arsênio em óxidos sintéticos de Fe e Al verificou que, sob condições redutoras, o arsênio é mais fortemente adsorvido em $\text{Al}(\text{OH})_3$ pobremente cristalizado, seguido de ferrihidrita, goethita com substituição isomórfica de Fe por Al, gibbsita e, por último, hematita e goethita, sendo que a máxima adsorção de As ocorreu em condições levemente ácidas.

A determinação da capacidade máxima de adsorção é uma prática comumente utilizada para o estudo do comportamento de certos ânions, ou mesmo cátions; que em condições ambientais se ligam principalmente ao oxigênio e passam a ter comportamento químico de ânion.

A capacidade de adsorção fornece indícios do poder-tampão do sistema, visto que muitos atributos do solo (como textura, teor de óxidos de Fe e Al, entre outros) interferem na capacidade-tampão e, por consequência, influenciam a perda por lixiviação (CAMPOS *et al.*, 2007). A adsorção química do arsenato se dá principalmente em óxidos de Fe e Al, aluminossilicatos amorfos e, em menor extensão, nos argilossilicatos (SMITH *et al.*, 1999). Livesey & Huang (1981) encontraram correlação significativa entre a capacidade máxima de adsorção de arsênio (CMA-As) e teores de Al e Fe extraíveis com oxalato e com o teor de argila, não encontrando correlação significativa com o pH. É importante ressaltar que há diferenciação na capacidade de adsorção para As(III) e As(V) em função do pH, visto que o aumento do pH aumenta a disponibilidade de As(V) e diminui a do As(III) (Goldberg, 1986; Jain & Loeppert, 2000).

A adsorção de As(V) em diferentes adsorventes tem sido avaliada por isotermas de Freundlich e Langmuir (SINGH *et al.*, 1996; NAMASIVAYAM & SENTHILKUMAR, 1998; ASSIS, 2010). O ajuste dos dados de adsorção utilizando as isotermas de Langmuir, além de fornecer a CMA-As, fornece também outra importante variável, que é a energia de ligação ou, mais exatamente, a constante relacionada à energia de ligação (EL) (SMYTH & NOVAIS, 1999). Diferentes estados de oxidação do As apresentam diferentes constantes relacionadas à energia de ligação com as micelas do solo (SUN & DONER, 1998). Estudando solos do Estado de Minas Gerais, Assis (2010) atestou haver forte correlação entre os teores de óxidos de ferro cristalinos extraíveis por ditionito-citrato-bicarbonato (Fe_d) e a CMA-As.

Quanto à extração do arsênio de amostras de solos, os extratores ácidos solubilizam os metais, principalmente pela dissolução dos minerais de argila, (ABREU *et al.*, 2002). O resultado é dependente do tempo de extração, da concentração do ácido utilizado no processo e da relação solo/solução. As soluções quelantes combinam-se com o íon do metal em solução formando complexos solúveis, assim os íons são dessorvidos da superfície do solo ou da fase sólida e restabelecem o equilíbrio das formas iônicas da solução. Em amostras de solos brasileiros os principais agentes quelantes utilizados são o EDTA e o DTPA pH 7,3 (BATAGLIA e RAIJ, 1994), além do Mehlich 1. Estes métodos geralmente visam

apenas a fração extraível ou trocável e geralmente têm aplicação na análise de fertilidade do solo, para biodisponibilidade às plantas, muito utilizada na agricultura.

Assis (2010) afirma que a utilização de extrator $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ em ácido acético apresentou maior sensibilidade à capacidade tampão de arsenato dos solos, apresentando maior potencial de predição do teor de arsênio disponível do que os extratores Mehlich 3 e Mehlich 1, sendo o DTPA e a resina trocadora de ânions não indicados para tal determinação.

Conforme a Deliberação Normativa COPAM Nº 166, de 29 de Junho de 2011 (MINAS GERAIS, 2011), em consonância com a Resolução Nº420 de 28/12/2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, as amostras de solo a serem estudadas a fim de se saber o seu grau de contaminação por determinado elemento ou composto tóxico devem ser submetidas ao método de extração EPA 3050b ou 3051a para que possam ser comparados com os VRQ's.

O método EPA 3050b (digestão semi-total) fornece medidas de concentrações de metais relacionadas não só aos compartimentos lábeis como também a outras formas passíveis de liberação, incluindo os metais ligados à matéria orgânica, óxidos, trocáveis, adsorvidos em argila e precipitados, acessando de forma mais ampla as diferentes espécies de elementos traço. Segundo a EPA (1994), os métodos 3050b e 3051 são comparáveis, sendo aplicáveis para extrair metais e semi metais de amostras de solo, sedimento, e lodo. Atualmente, na maioria dos laboratórios, o método 3051 é preferido, visto que é realizado em tubos de teflon fechados, evitando a volatilização dos ácidos utilizados, melhorando as condições de trabalho e reduzindo o risco de acidentes e intoxicações.

Conforme já discutido anteriormente, o arsênio pode assumir diversas formas (íons complexos) na natureza, bem como interagir (adsorção) com diversos minerais do solo. Uma ferramenta utilizada para a avaliação da biodisponibilidade de arsênio em solos é a extração sequencial, proposta por Wensel (2001), que consiste em uma marcha utilizando diversos extratores.

Dentro das limitações inerentes de fracionamento químico, essas frações de As parecem estar essencialmente associadas da seguinte forma:

- (1) 0,05 mol L⁻¹ (NH₄)₂SO₄, 20 °C/4 h; (não especificamente adsorvido)
- (2) 0,05 mol L⁻¹ NH₄H₂PO₄, 20 °C/16 h; (especificamente adsorvido)
- (3) 0,2 mol L⁻¹ oxalato-NH₄ (tampão) em ausência de luz, pH 3,25, 20 °C/4 h; (ligado a óxidos de Fe e Al amorfos e mal cristalizados)
- (4) 0,2 mol L⁻¹ oxalato-NH₄ (tampão) + ácido ascórbico, pH 3,25, 96 °C/0.5 h; (ligado a óxidos de Fe e Al bem cristalizados)
- (5) HNO₃/H₂O₂ concentrados com digestão em microondas (EPA 3050) (fase residual).

2.3 - Arsênio: toxicidade para plantas e animais

Por não ter função como nutriente (NIES, 1999), o As pode causar toxidez em plantas e animais mesmo em baixas concentrações, na faixa de µg kg⁻¹ (WELCH *et al.*, 2000, BERG *et al.*, 2001, SMEDLEY and KINNIBURGH 2002, BUSCHMANN *et al.*, 2008). A acumulação de As em plantas não afeta somente o seu crescimento como também causa a entrada deste elemento na cadeia trófica, o que pode causar riscos potenciais ao ecossistema bem como à saúde humana, como por exemplo, o risco de desenvolvimento de câncer de pele, dentre outros.

Devido às semelhanças entre os elementos P e As, ambos comportam-se quimicamente de forma parecida no ambiente, formando ânions complexos em combinação com oxigênio e hidrogênio na maioria das condições de Eh e pH encontradas no meio ambiente, fato já discutido anteriormente. Tal semelhança estende-se ao comportamento destes elementos quando interagem com as células vivas, tanto animais quanto vegetais.

De maneira geral, quando dentro das células, o íon arsenato (H₂AsO₄⁻) atua de forma semelhante a do íon fosfato (H₂PO₄⁻), e compete por sítios de ligação. Mais especificamente, dentro do ciclo do ácido cítrico (respiração celular), o As inibe a ação da enzima piruvato desidrogenase, ligando-se às moléculas de adenosina difosfato (ADP) e formando a molécula As-ADP, desacoplando assim a fosforilação

oxidativa e impedindo a respiração mitocondrial e a síntese de ATP (PANDA *et al*, 2009).

Em suma, temos que o arsênio, na sua forma penta valente, que é predominante na grande maioria dos solos de mineralogia oxidíco-caulinítica de regiões tropicais, bem drenados, moderadamente ácidos e com condições oxidantes (elevado Eh), como é o caso do Estado de Minas Gerais, quando adicionado a estes solos, que possuem naturalmente baixos teores deste elemento, reage de forma reversível com a fração argila, adsorvendo-se preferencialmente nas superfícies carregadas positivamente dos óxidos de ferro e alumínio, como goethita, hematita e gibbsita. Tal reação é específica e compete por sítios de ligação com o fósforo na sua forma iônica H_2PO_4^- nas faixas normais de pH levemente ácido e Eh elevado, tendendo a aumentar essa ligação, sendo esta reversível com a adição de fosfatos. A reversibilidade da reação de adsorção de As também pode ser causada pela redução do Eh (ambiente redutor) e elevação do pH do solo alagado (saturado por água), devido à dissolução dos minerais de ferro e alumínio, o que também deve ser levado em consideração em casos de suspeita de contaminação.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a ecotoxicidade de Arsênio em solos de MG, por meio de ensaios de toxidez com plantas superiores e minhocas terrestres, avaliando ainda a influência da capacidade máxima de adsorção de arsênio e do tempo de incubação sobre a toxidez, visando subsidiar a revisão do Valor de Prevenção vigente na legislação do Estado de Minas Gerais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras de solos

Na condução deste estudo foram utilizadas amostras da camada superficial (0 – 20 cm de profundidade) de seis solos: CAMBISSOLO HÁPLICO Tb distrófico (CXbd), coletado no município de Coimbra/MG (Litologia: Complexo Piedade); LATOSSOLO VERMELHO distroférico (LVdf), coletado no município de Cachoeira Dourada/MG (Litologia: Basalto da Formação Serra Geral); LATOSSOLO AMARELO distrófico (LAd), coletado no município de Três Marias/MG (Litologia: Grupo Bambuí); dois NEOSSOLOS LITÓLICOS distróficos

(RLd-P1 e RLd-P2), coletados no município de Paracatú/MG (Litologia: Formação Paracatu) e NEOSSOLO LITÓLICO distrófico (RLd-SB) coletado no município de Santa Bárbara/MG, (Litologia: Formação Bandada de Ferro - BIF, Supergrupo Rio das Velhas).

Os solos CXbd, LAd e LVdf possuem naturalmente baixos teores de As (baixo *background*). Nestes, foram testadas doses crescentes de As(V) (0, 15, 150, 1500 e 3000 mg As kg⁻¹ solo) na forma de Arseniato de Sódio (Na₂HAsO₄), definidas em função da Capacidade Máxima de Adsorção de As (CMA-As). Os valores de CMA-As, por sua vez, determinados a partir das isotermas de adsorção de As, conforme descrito mais adiante.

Os solos RLd-P1, RLd-P2 e RLd-SB possuem naturalmente elevados teores de As (elevado *background*) e, nestes, não foram adicionadas doses crescentes de As, mas os resultados dos testes de ecotoxicidade realizados nestes solos foram comparados àqueles obtidos nos solos com baixos teores de As.

Em todos os solos estudados foi avaliada a disponibilidade de As por meio de extração sequencial e de teste de toxicidade com plantas superiores e minhocas terrestres, descritos a seguir.

A influência do tempo de incubação do As aplicado, analisado após 24 h e 6 semanas, sobre a disponibilidade e toxicidade às plantas superiores também foi avaliada nos solos com baixo *background* de As, o que será descrito mais adiante.

3.2 Caracterização das amostras de solo

A caracterização física consistiu na determinação da textura da terra fina seca ao ar (TFSA) (Ruiz, 2005) e do equivalente de umidade (FERNANDES & SYKES, 1968). A caracterização química incluiu os valores de pH em água e em KCl; teores disponíveis de P, K e Na; teores trocáveis de Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, além de H⁺Al e teor de matéria orgânica (EMBRAPA, 1997) e P remanescente (Alvarez V. et al., 2000) na TFSA.

Para determinação dos teores totais de Al, Fe, Ti, As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn na TFSA, as amostras foram submetidas à digestão por ataque

tri-ácido (HNO_3 , HCl e HF) em forno de microondas, segundo a metodologia EPA 3052 (1996) e a validação dos resultados foi realizada utilizando-se amostra de referência. Os teores dos elementos do ataque tri-ácido foram dosados por espectrofotometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) Perkin Elmer®, modelo Optima 7300DV, com nebulizador Perkin Elmer® Miramist e Autosampler acoplado.

Para a caracterização mineralógica foram preparadas lâminas escavadas com a fração argila. A difração de raios-X foi realizada com radiação $\text{CoK}\alpha$ e monocromador de grafite em aparelho da marca Panalitica, modelo X Tert-Tro. As amostras foram irradiadas de 4 a $70^\circ 2\theta$ na velocidade de $1^\circ 2\theta \text{ min}^{-1}$. Os difratogramas foram interpretados por comparação com os dados contidos em JCPDS (1974).

3.3 Isotermas de Adsorção

Para a determinação da capacidade máxima de adsorção de As (CMA-As) dos solos CXbd, LAd e LVdf, foram preparadas soluções com concentrações crescentes de As(V) (0; 9; 19; 70 e 120 mg L^{-1}) utilizando Arseniato de Sódio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). As soluções foram preparadas em NaCl 15 mmol L^{-1} e o pH foi ajustado a $5,5 (\pm 0,2)$ com HCl ou NaOH 10 mmol L^{-1} . As doses foram definidas de forma que o maior nível fosse ligeiramente superior à concentração máxima de As em solução para evitar a precipitação de sais de arsenato, estimada pelo software MINTEQ, aproximadamente 112 mg L^{-1} , de acordo com Campos et al. (2007).

Amostras de 0,50 g de TFSA, em duplicata, foram colocadas em tubos de centrífuga juntamente com 50 mL de solução de NaCl , contendo as diferentes doses de As (relação solo:solução de 1:100). Os tubos foram agitados em agitador horizontal por 24 h a 25 ciclos por minuto. Na sequência, a suspensão foi centrifugada a $2.000 \times g$ por 5 min e o sobrenadante (solução de equilíbrio) reservado para leitura. A quantificação do teor de As foi realizada em ICP-OES Perkin Elmer®, modelo Optima 7300DV, com nebulizador Perkin Elmer® Miramist e Autosampler acoplado, no comprimento de onda de 188,973 nm.

A CMA-As foi determinada a partir da isoterma de Langmuir, ajustada por seu modelo original $q = (a \cdot b \cdot C_{eq}) / [1 + (a \cdot C_{eq})]$, em que q é a quantidade de As adsorvido ao solo (mg g^{-1}); a é a constante relacionada à energia de ligação (mg L^{-1}); b é a CMA-As (mg g^{-1}) e C_{eq} é a concentração de As na solução de equilíbrio (mg L^{-1}) (Olsen & Watanabe, 1957). Para o ajuste foi utilizado o método de estimativa de Gauss Newton, conforme Assis (2010), utilizando-se o software STATISTICA 8.0®.

3.4 Extração sequencial de arsênio

Para a determinação das diferentes frações de As nos seis solos estudados e avaliação da disponibilidade do As adicionado aos solos nos diferentes tempos de incubação foi utilizada a metodologia de extração sequencial proposta por Wensel (2001), que consistiu em uma marcha utilizando a seguinte ordem de extratores:

- (1) $0,05 \text{ mol L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $20^\circ\text{C}/4 \text{ h}$;
- (2) $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $20^\circ\text{C}/16 \text{ h}$;
- (3) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ oxalato- NH_4 (tampão) em ausência de luz, pH 3,25, $20^\circ\text{C}/4 \text{ h}$;
- (4) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ oxalato- NH_4 (tampão) + ácido ascórbico, pH 3,25, $96^\circ\text{C}/0.5 \text{ h}$;

Para a determinação dos teores semi-totais foi utilizada a metodologia EPA 3051 (HNO_3/HCl P.A. com digestão em microondas).

Dentro das limitações inerentes de fracionamento químico, essas frações de As parecem estar essencialmente associadas, respectivamente, da seguinte forma:

- (1) não especificamente adsorvido;
- (2) especificamente adsorvido;
- (3) ligado a óxidos de Fe e Al amorfos e mal cristalizados;
- (4) ligado a óxidos de Fe e Al bem cristalizados,

A fase residual foi obtida através da subtração do somatório das frações 1, 2, 3 e 4 do teor semi-total (EPA3051).

Amostras de 0,50 g de TFSA, em triplicata, previamente secas em estufa a 50° C após o tempo de incubação de 24 h e seis semanas, foram colocadas em tubos de centrífuga de 50 mL juntamente com 25 mL de cada solução (relação solo:solução de 1:50) seguindo a marcha descrita acima. Os tubos foram agitados em agitador horizontal a 25 ciclos por minuto. Na sequência, a suspensão foi centrifugada a 2.000 x g por 10 min e o sobrenadante (solução de equilíbrio) reservado para leitura.

As suspensões com soluções de fosfato de amônio foram acidificadas com HNO_3 0,5 mol L^{-1} até pH $6 \pm 0,2$ após o tempo de 16 h agitação, visando promover a floculação do solo e otimizar o processo de centrifugação e sedimentação e a consequente obtenção de um extrato límpido, diferentemente do método original proposto por Wenzel. Foi realizado um passo de lavagem com 10 ml do extrator 3 (oxalato- NH_4) por 10 min ao abrigo da luz entre as etapas 3 e 4, conforme recomendação do autor, e este extrato foi adicionado ao extrato obtido no passo 3. A quantificação do teor de As em todos os extratos foi realizada em ICP-OES Perkin Elmer®, modelo Optima 7300 DV, com nebulizador Perkin Elmer® Miramist e Autosampler acoplado, no comprimento de onda de 188,973 nm.

As diferenças entre as médias dos teores de arsênio da fração 1 dos dois tempos de incubação para cada solo foi comparada pelo teste t ($\alpha = 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas no software SAS JMP 8.0®.

3.5 Fitotoxicidade de As em plantas superiores

Para a determinação das concentrações fitotóxicas de As para plantas de Soja (*Glycine max*) variedade UFV 17 e Sorgo (*Sorghum bicolor*) nos solos em estudo foram montados experimentos conforme a norma ISO – 11.269-2:2005 (*Determination of the effects of pollutants on soil flora — Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants*) (ISO, 2005).

Desta forma, os solos CXbd, LAd e LVdf foram contaminados com doses crescentes de As (0, 15, 150, 1500 e 3000 mg As kg^{-1}) na forma de soluções de

arseniato de sódio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), definidas em função da CMA-As, de modo que a maior dose fosse superior à maior CMA-As dos solos em estudo, neste caso o solo LVdf (CMA-As = 2500 mg kg^{-1}). O sal de As foi dissolvido em água deionizada e aplicado ao solo, sendo que o volume de água gasto foi calculado para que os solos atingissem 80 % da capacidade de campo, que foi considerada como sendo cerca de 80 % do equivalente de umidade, conforme Ruiz (2003). As plantas foram semeadas 24 h e 6 semanas após a contaminação, visando-se avaliar a influência do tempo de incubação sobre a fitotoxicidade do As.

Cada unidade experimental foi composta de 20 g de solo homogeneizados com 30 g de microesferas de vidro com diâmetro médio de 0,4 mm, dispostos em copos de polietileno de 250 mL. Em cada unidade experimental foram dispostas dez sementes das plantas, provenientes de lotes com germinação superior a 90 %, sobre a superfície do substrato. Estas foram cobertas com mais 10 g de microesferas de vidro e em seguida o substrato foi umedecido com água destilada. O experimento foi conduzido em câmaras de germinação a $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e 80 % de umidade do ar, com delineamento inteiramente casualizado e quatro repetições. Quinze dias após a germinação de 80 % das sementes do controle a parte aérea das plântulas foi cortada rente à superfície do substrato e promoveu-se a secagem em estufa a $75 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 h para a determinação da biomassa em balança de três casas decimais.

De posse dos resultados, foram ajustadas equações de regressão para a produção de biomassa em função da dose de As aplicada aos solos CXbd, LAd e LVdf. A partir dessas equações de resposta, determinou-se a dose de As que causou redução de 50 % da biomassa da parte aérea das plântulas de soja e sorgo (EC_{50}). Os resultados de biomassa produzida nos ensaios com os solos RLd-P1, RLd-P2 e RLd-SB foram comparados com os solos CXbd, LAd e LVdf (dose de As = 0 mg kg^{-1}) pelo teste Tukey-Kramer com $\alpha = 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas nos softwares Origin Pro 8.0 ® e SAS JMP 8.0 ®.

3.6 Toxicidade de arsênio em minhocas terrestres (Eisenia andrei) – Teste Preliminar

Para a determinação das concentrações fitotóxicas de As para minhocas terrestres (*Eisenia andrei*) nos solos em estudo foi montado um experimento

conforme a norma EPA 712 – C – 96 – 167 : 1996 – *Ecological Effects Test Guidelines* – OPPTS 850.6200 – *Eathworm Subchronic Toxicity Test*, com adaptações.

Desta forma, os solos CXbd, LAd e LVdf foram contaminados com doses crescentes de As (0, 15, 150, 750 e 1500 mg kg⁻¹) na forma de soluções de arseniato de sódio heptahidratado (Na₂HAsO₄·7H₂O). O sal de As foi dissolvido em água deionizada e aplicado ao solo, sendo que o volume de água gasto foi calculado para que os solos atingissem com 80 % da capacidade de campo, neste caso, considerada como cerca de 80 % do equivalente de umidade.

Cada unidade experimental foi composta de 200 g de solo dispostos em copos de polipropileno branco de 250 mL. Os copos foram tampados com tela de malha fina (organza) presa com o auxílio de um elástico para evitar a possibilidade de fuga das minhocas. Em cada unidade experimental foram incubadas dez minhocas adultas, com clitelo desenvolvido, tamanho médio de 5 cm e peso médio de 350 mg, previamente deixadas em jejum por 24 h para esvaziamento do tubo digestivo. O experimento foi conduzido em câmara de germinação com temperatura controlada de 25 ± 2 °C e umidade relativa do ar igual a 80 %, com delineamento inteiramente casualizado e três repetições. Dez dias após a incubação das minhocas, estas foram retiradas do solo por peneiramento e avaliadas. As minhocas foram consideradas mortas quando não apresentaram nenhum tipo de reação quando espetadas com um alfinete na parte anterior do corpo ou quando estas desapareceram após a morte e decomposição de seus corpos em cada unidade experimental.

De posse dos resultados, foram ajustadas equações de regressão para os solos CXbd, LAd e LVdf, determinando-se assim a dose de As que causou a morte de 50% das minhocas (LD₅₀). As análises estatísticas foram realizadas nos softwares Origin Pro 8.0 ® e SAS JMP 8.0 ®.

3.7 Avaliação dos resultados de toxicidade

Para a avaliação e interpretação dos dados de toxidez gerados neste trabalho foi selecionada a metodologia de ‘Avaliação de Risco Preliminar’ (*Preliminary Risk Assessment*), revisada em 2001 por Verbuggen e colaboradores e publicada pelo

Instituto Nacional de Saúde Pública e Meio Ambiente da Holanda e colaboradores (RIVM - *Rijksinstituut Voor Volksgezondheid En Milieu* - *National Institute Of Public Health And The Environment*). Tal metodologia foi inicialmente proposta por Crommentuijn *et al.* (1997), publicada pelo mesmo instituto.

Para a determinação da Máxima Adição Permitida (MAP), os valores de EC_{50} encontrados no presente estudo foram divididos por um fator de segurança (*assessment factor*) igual a 10, visando converter os dados de toxidez aguda (EC_{50}) para toxidez crônica (NOEC – *no observed effect concentration*). A Máxima Concentração Permitida (MCP) foi calculada somando-se a MAP ao VRQ (*background*). Neste caso, o VP é considerado como sendo igual à MCP.

Em suma, temos: $MAP = EC_{50} / 10$ e $VP = MCP = MAP + VRQ$

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das amostras

Os solos CXbd e LVdf possuem predomínio da fração argila, enquanto o solo LAd possui menor teor de argila e predomínio da fração areia, conferindo-lhe menor CMA-AS em relação aos dois primeiros, conforme será discutido mais adiante. Isto também pode ser percebido observando-se os valores de P-remanescente (Tabela 1). Assis (2010) afirma haver alta correlação, apesar de não significativa, entre o P-remanescente e o As – remanescente, permitindo afirmar que baixos valores de P- rem expressam elevada CMA de P e, conseqüentemente, alta CMA-As.

De maneira geral, todos os solos estudados são ácidos e de baixa fertilidade, conforme CFSMG (1999). O pH em H_2O dos solos variou entre 3,8 e 5,5, sendo o CXbd considerado moderadamente ácido e os demais como fortemente ácidos (EMBRAPA, 2006). Todos os solos possuem ΔpH negativo, possuindo portanto, predomínio de cargas negativas na fração argila. Os teores de matéria orgânica não variaram muito, estando na faixa de 1,13 a 3,77 dag kg^{-1} .

Tabela 1 – Resultados da caracterização física e química dos solos avaliados.

Solo	Composição granulométrica daTFSa				Relação silte/arg.	Equivalente de Umidade
	Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila		
	----- dag kg ⁻¹ -----					kg/kg
LAd	34	34	4	28	0,14	0,113
CXbd	16	16	23	45	0,51	0,303
LVdf	6	4	22	68	0,32	0,283
RLd –P1	39	26	20	15	1,33	0,047
RLd –P2	17	6	68	9	7,55	0,087
RLd –SB	6	9	62	23	2,69	0,126

Solo	pH (1:2,5)		P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Valor S	Al ³⁺	H + Al	CTC	CTC
											Efet.	pH 7
	Água	KCl	---- mg dm ⁻³ ----			----- cmol _c dm ⁻³ -----						
LAd	4,5	nd*	0	13	0	0,06	0,01	0,10	0,40	4,30	0,50	4,4
CXbd	5,5	4,66	0	34	0	1,37	1,19	2,65	0,3	4,0	2,95	6,65
LVdf	5,04	4,58	0	17	0	1,47	0,56	2,07	0,20	6,9	2,27	9,0
RLd –P1	3,8	3,79	17,7	9	nd*	0,02	0,07	0,11	1,3	6,8	1,41	6,91
RLd –P2	5,05	4,25	4,6	15	nd*	0,09	0,16	0,29	0,4	2,5	0,69	2,79
RLd –SB	4,83	4,24	1,3	1	10,2	0	0	0,04	1,85	5	1,89	5,04

Solo	MO	P - rem	ISNa	Valor V	Valor m
	dag kg ⁻¹	mg L ⁻¹	----- % -----		
LAd	1,41	32,0	0	2,3	80,0
CXbd	3,77	28,1	0	39,8	10,2
LVdf	2,69	13,7	0	23,1	8,8
RLd –P1	1,13	10,7	nd*	1,6	92,2
RLd –P2	2,2	46,8	nd*	10,4	58,0
RLd –SB	0,52	6,1	2,35	0,8	97,9

* nd – Não determinado; pH em água e KCl - Relação 1:2,5; P - Na - K – Extrator Mehlich 1; Ca - Mg -Al - Extrator: KCl - 1mol/L; H + Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5mol/L - pH 7,0; Mat. Org. (MO) = C.Org x 1,724 -Walkley-Black; ISNa - Índice de Saturação de Sódio; SB = Soma de Bases Trocáveis; CTC (t) - Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; CTC (T) - Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0; V= Índice de Saturação de Bases; m= Índice de Saturação de Alumínio; P-rem= Fósforo Remanescente

Quanto aos teores de As encontrados na extração total (EPA-3052) os solos CXbd, Lad e LVdf (baixo *background*) possuem teores menores que o limite de quantificação praticável da instrumentação utilizada para quantificação. Já os Neossolos estudados, oriundos de regiões com elevado *background* possuem teores que variam entre 27 e 8542 mg As kg⁻¹ (Tabela 2).

A composição mineralógica da fração argila dos solos CXbd, LAd e LVdf é semelhante, com presença marcante de caulinita e picos de baixa intensidade para a gibbsita (Figura 1). Na fração argila da amostra do LVdf foi possível identificar os minerais caulinita, gibbsita, goethita e hematita. Já na fração argila das amostras do CXbd e LAd foi possível identificar apenas os minerais caulinita e gibbsita. De maneira geral os três solos avaliados apresentam mineralogia da fração argila bastante comum nos solos típicos de regiões tropicais sendo, portanto, bem representativos da grande maioria dos solos do Estado de Minas Gerais e do Brasil.

A presença dos minerais goethita e hematita na amostra do LVdf confere-lhe maior CMA-AS devido ao maior número de sítios de adsorção (maior teor de argila) e à alta afinidade destes óxidos de Fe a ânions complexos, como fosfatos e arseniatos. A adsorção específica de arsênio e fósforo em óxidos de Fe e Al é relatada por diversos autores, como Assis (2010); El-Bassam *et al.* (1975); Norrish (1975); Silva (2008) e Livesey & Huang (1981).

Tabela 2 – Teores totais obtidos pela extração conforme método EPA 3052 (HNO₃, HCl e HF com digestão em forno de micro-ondas), comprimento de onda (λ) utilizado na leitura de cada elemento nos extratos em ICP-OES, limites de detecção (LD) e limites de quantificação praticável (LQP) de cada elemento.

Solo	Al	Fe	Ti	As	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Mo	Ni	Pb	V	Zn
	----- dag kg ⁻¹ -----			----- mg kg ⁻¹ -----										
LAd	2,65	4,494	1,10	< LQP	< LQP	7,44	81,77	< LQP	22,22	< LQP	< LQP	< LQP	132,9	12,79
CXbd	2,24	10,08	1,265	< LQP	< LQP	77,88	93,44	29,38	1169	< LQP	43,56	24,08	232,6	76,28
LVdf	2,76	18,58	5,88	< LQP	< LQP	157,7	123,8	46,38	824,9	< LQP	62,81	26,59	1352	139,9
RLd-P1	1,91	9,11	0,62	8542	122,4	1,47	44,20	63,89	< LQP	< LQP	< LQP	390,8	123,1	73,76
RLd-P2	1,65	5,16	0,72	2285	25,28	0,11	88,11	10,65	< LQP	< LQP	< LQP	< LQP	154,8	22,38
RLd-SB	1,91	15,25	1,79	27,96	< LQP	65,77	163,1	41,94	1014	< LQP	74,67	3,36	551,3	174,8
λ (nm)														
	396,153	238,204	336,121	188,979	228,802	228,616	267,716	327,393	257,610	202,031	231,604	220,353	290,880	202,548
Limites de detecção (ng L ⁻¹) ⁽¹⁾														
	9,14	30,92	0,88	185,31	0,73	1,13	12,38	0,24	0,78	6,91	19,61	13,28	0,39	2,58
Limites de quantificação praticável (μ g kg ⁻¹) ⁽²⁾														
	6,09	20,61	0,58	123,54	0,49	0,75	8,25	0,13	0,52	4,61	13,07	8,85	0,26	1,72

⁽¹⁾ Limite de detecção = $(3*\sigma)/\text{slope} * 1.000.000$; sendo σ o desvio padrão médio obtido a partir da leitura de 12 brancos

⁽²⁾ Limite de quantificação praticável = $[(10*\sigma)/\text{slope}] * \text{fator diluição} * 1000$; Fator de diluição = 200

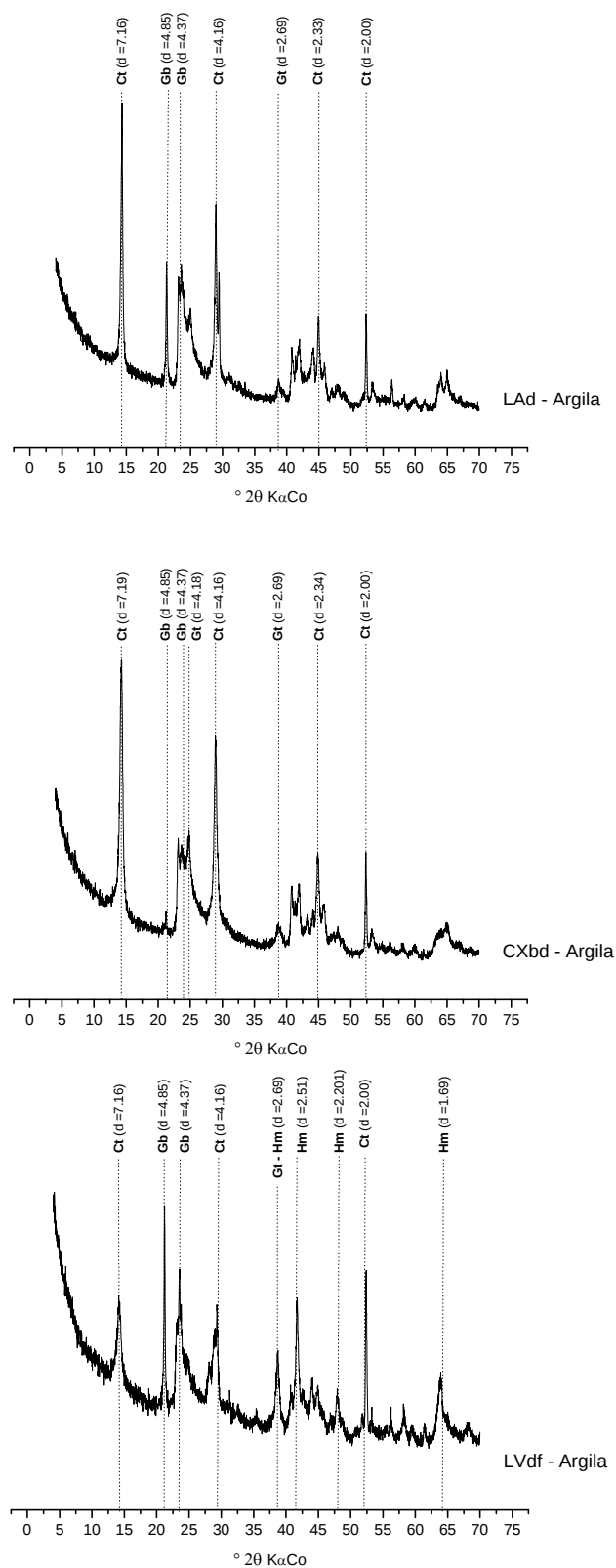


Figura 1 – Difractogramas de Raios-X da fração Argila dos solos CXbd, LAd e LVdf.
(Ct – Caulinita; Gb – Gibbsita; Gt – Goethita; Hm – Hematita; d em Å)

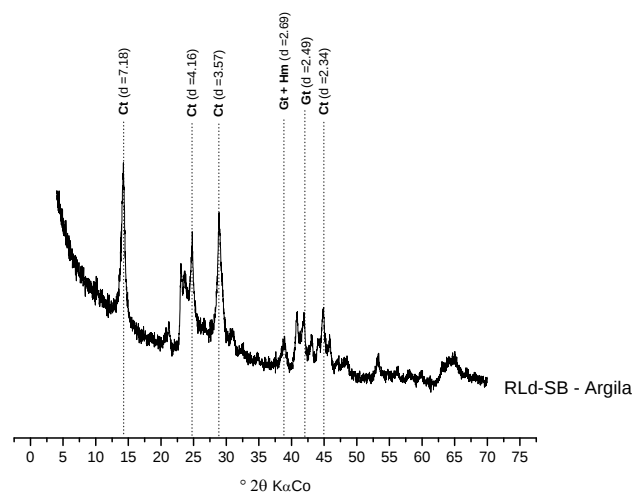
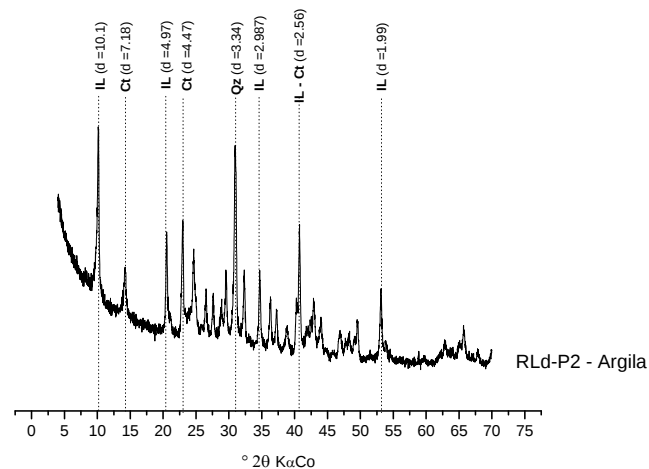
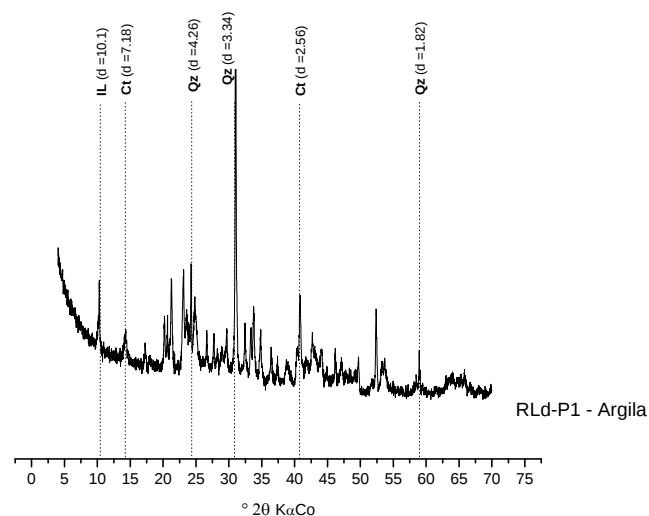


Figura 2 – Difratogramas de Raios-X da fração Argila dos solos RLd-P1, RLd-P2 e RLd-SB.
(Ct – Caulinita; Gb – Gibbsita; Gt – Goethita; Hm – Hematita; IL – Illita; Qz – Quartzo; d em Å)

4.2 Capacidade Máxima de Adsorção de Arsênio

As concentrações de arsênio utilizadas na determinação de sua adsorção pelo solo e a relação solo: solução utilizada não permitiram alcançar o patamar máximo de adsorção para todos os solos (Figura 3), porém o ajuste da equação de Langmuir com os dados pode ser considerado bom, com valores de coeficientes de determinação superiores a 0,96. Não obstante, pode-se estimar os valores de CMA-As, com relativa segurança.

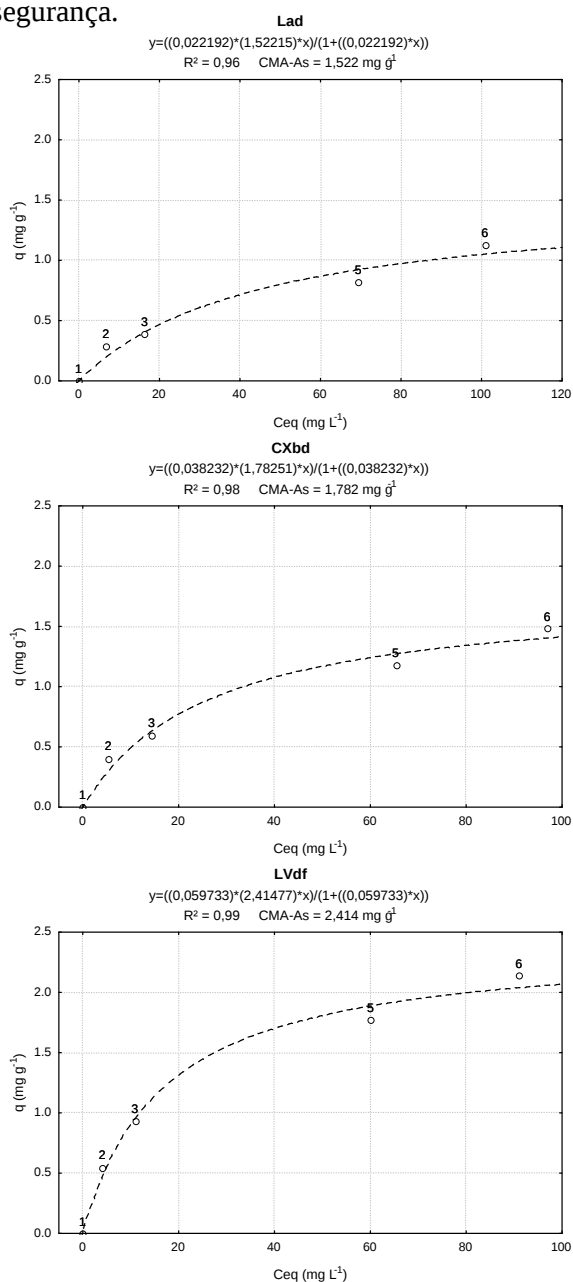


Figura 3 – Isotermas de adsorção de arsênio, equações ajustadas pela equação de Langmuir e respectivos valores de R² e CMA-As dos solos estudados.

(Ceq – Concentração de equilíbrio; q – quantidade adsorvida).

Os valores de CMA-As encontrados para os solos em estudo foram de 1,522, 1,782 e 2,414 mg g⁻¹ para os solos LAd, CXbd e LVdf, respectivamente. Estes resultados corroboram com os teores de argila e P-remanescente dos solos em estudo encontrados nas análises físicas e químicas (Tabela 1), que possuem correlação direta com os valores de CMA-As encontrados, em consonância com os resultados encontrados por Ribeiro Jr. (2002) e Assis (2010). Campos (2007), trabalhando com dezessete latossolos brasileiros, obteve valores de CMA-As entre 0,750 e 3,450 mg g⁻¹, com média igual a 2,013 mg g⁻¹, valor próximo à média da CMA-As dos solos estudados que foi de 1,906 mg g⁻¹, o que evidencia o elevado poder de adsorção de arsênio dos solos de regiões tropicais.

4.3 Fitotoxicidade de As em plantas superiores

De maneira geral os solos LAd, CXbd e LVdf tiveram comportamento semelhante, havendo aumento da EC₅₀ tanto para a soja quanto para o sorgo com o passar do tempo de incubação, dentro da faixa de concentrações de As avaliadas (Tabela 3). O caso mais crítico ocorreu para as plantas de sorgo cultivadas no Cambissolo (CXbd), em que a dose de As capaz de reduzir em 50 % o crescimento foi quase cinco vezes maior, passando de aproximadamente 194 para cerca de 908 mg kg⁻¹. Tal comportamento pode ser visualizado na Figura 4, onde se percebe maior crescimento das plantas cultivadas sob doses mais altas após 6 semanas em relação ao cultivo após 24 h de incubação do As aplicado ao solo. O deslocamento das curvas ajustadas para a direita (maior concentração de As) em todas as combinações solo - planta também reflete esta “atenuação” da toxicidade do As aplicado com o tempo de incubação (Figura 5).

Woolson *et al.* (1973) encontraram resultados semelhantes estudando dois solos com características de granulometria e mineralogia distintas, um arenoso e um argiloso, para cultivos de milho e aveia por um período de 32 semanas. Os autores afirmaram que as frações mais lábeis do As adicionado ao solo sofreram uma diminuição com o passar do tempo, atingindo um mínimo após seis semanas de incubação, conseqüentemente, reduzindo o efeito tóxico do As adicionado com o tempo de incubação.

Tabela 3 – Resposta da biomassa em função das doses de As aplicadas nos solos LAd, CXbd e LVdf em dois tempos de incubação: equações ajustadas e respectivos valores de R^2 e EC_{50} para as culturas de soja e sorgo nos solos avaliados.

Solo	Planta	Tempo de incubação	Equação	R^2	EC_{50} (mg kg ⁻¹)
LAd	Soja	24h	$Y = 99,915 - 0,444 x + 2,52 \cdot 10^{-04} x^2$	0,98	120
		6 semanas	$Y = 99,470 - 0,238 x + 1,15 \cdot 10^{-04} x^2$	0,69	233
	Sorgo	24h	$Y = 121,818 - 0,192 x + 7,41 \cdot 10^{-05} x^2$	0,77	452
		6 semanas	$Y = 106,306 - 0,07063 x$	0,80	797
CXbd	Soja	24h	$Y = 135,068 - 0,161 x + 4,77 \cdot 10^{-05} x^2$	0,60	651
		6 semanas	$Y = 90,950 - 0,036 x + 2,40 \cdot 10^{-06} x^2$	0,73	1207
	Sorgo	24h	$Y = 122,031 - 0,412 x + 2,21 \cdot 10^{-04} x^2$	0,77	194
		6 semanas	$Y = 106,142 - 0,073 x + 1,29 \cdot 10^{-05} x^2$	0,80	907
LVdf	Soja	24h	$Y = 96,534 - 0,025 x - 2,21 \cdot 10^{-06} x^2$	0,76	1602
		6 semanas	$Y = 106,720 + 0,014 x - 1,47 \cdot 10^{-05} x^2$	0,84	2502
	Sorgo	24h	$Y = 87,211 - 0,066 x + 1,32 \cdot 10^{-05} x^2$	0,50	637
		6 semanas	$Y = 162,041 - 0,077 x + 1,22 \cdot 10^{-05} x^2$	0,79	2193

(Y = biomassa em g; x = dose de As em mg kg⁻¹)

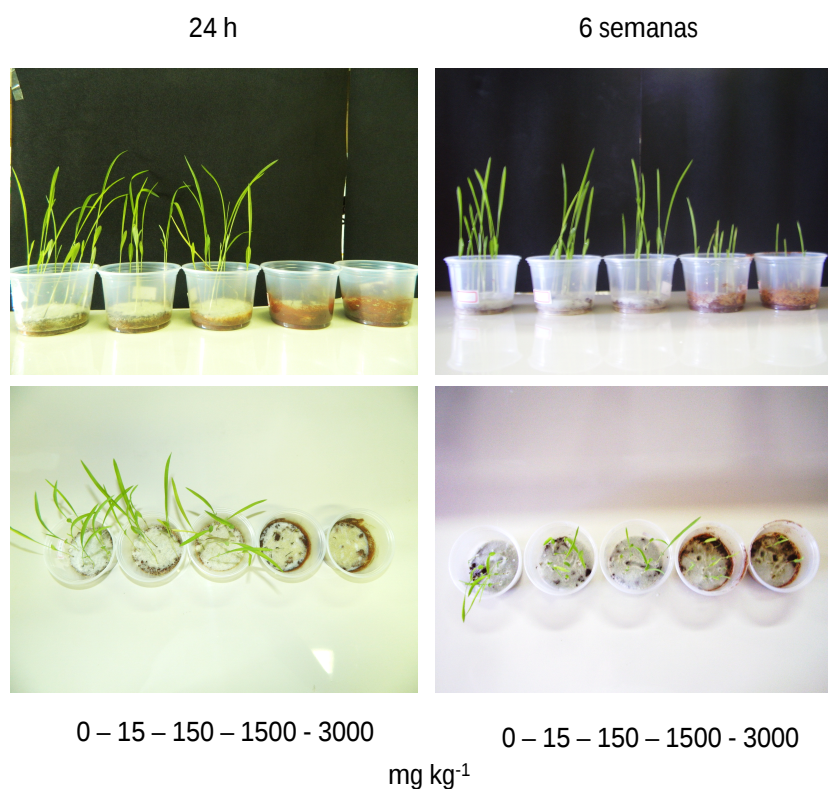


Figura 4 – Sorgo cultivado em substrato com o solo LVdf e doses crescentes de As em dois tempos de incubação.

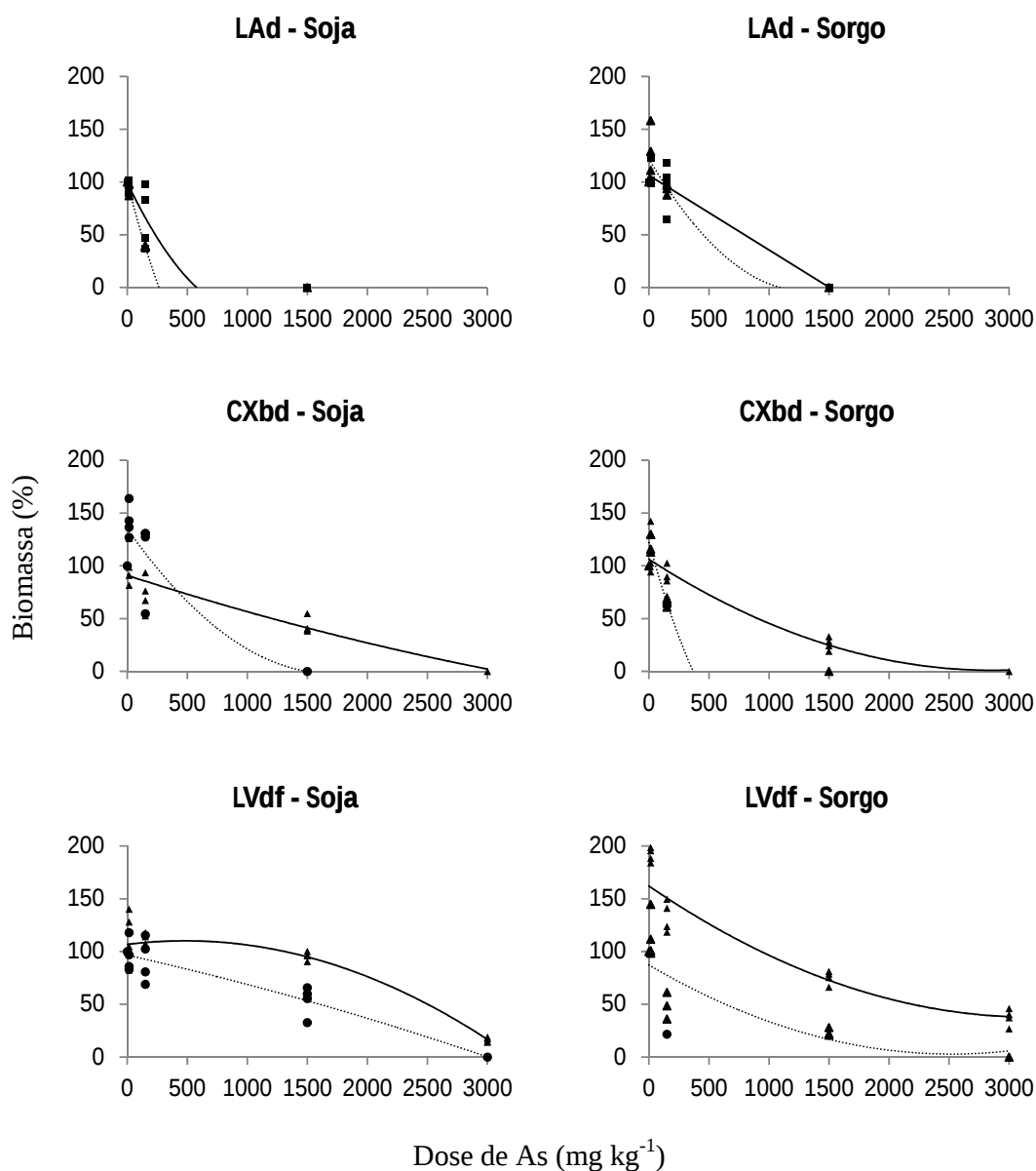


Figura 5 – Resposta percentual da biomassa de plântulas de soja e sorgo em função da dose de As aplicada nos solos LAd, CXbd e LVdf em dois tempos de incubação. Percentual calculado em relação ao controle (dose de As = 0 mg kg⁻¹ = 100%). Linhas pontilhadas e pontos circulares referem-se a 24 h de incubação e linhas sólidas e pontos triangulares referem-se a 6 semanas de incubação.

Os valores de EC₅₀ variaram entre 120 e 2500 mg kg⁻¹ para os solos e plantas estudados (Tabela 3). Neste aspecto, a soja cultivada no LAd após 24 h de incubação representa a condição mais restritiva, ao passo que a soja cultivada no LVdf após seis semanas de incubação representa a condição menos restritiva. Estes resultados

evidenciam a grande variabilidade da labilidade/disponibilidade e consequente toxidez do As em relação à CMAAs que, por sua vez, é dependente do teor e da composição mineralógica da fração argila dos solos. Tais efeitos já são bem conhecidos para nutrientes como o fósforo, cujos oxiânions se comportam de modo semelhante ao arsenato, e decorrem da diminuição da disponibilidade para as plantas, na medida em que estes elementos são adsorvidos aos colóides do solo, sobretudo os óxidos de Fe e Al, formando complexos de esfera interna cada vez mais estáveis (FRANKENBERGER Jr & WILLIAM, 2002; SUN and DONER, 1998; WAYCHUNAS *et al.*, 1993; LADEIRA *et al.*, 2001).

Diferentemente do esperado, ocorreu um incremento da produção de biomassa da parte aérea das plântulas de sorgo com a adição de 15 mg kg^{-1} em todos os três solos estudados, em relação ao controle (dose de As = 0 mg kg^{-1}), após 24 h de incubação. Este efeito de ‘adubação’ causado pela adição de Arsenato de Sódio foi observado principalmente no sorgo cultivado no LVdf após seis semanas de incubação, onde a produção de biomassa da parte aérea das plântulas quase dobrou (Tabela 4). Embora tenha sido observado com mais frequência para as plantas de sorgo, o efeito promotor do crescimento do As em baixas doses também foi observado para a soja cultivada no CXbd após 24 h de incubação e no LVdf após seis semanas. Possivelmente este incremento se deu devido ao deslocamento do P dos sítios de adsorção pelo As adicionado, com o consequente aumento dos teores de fósforo disponíveis.

Este provável aumento na disponibilidade do P no entanto, não pode ser confirmado pelos dados da Tabela 5, onde se verifica um pequeno aumento do teor de P disponível (extraível pela solução de Mehlich-1) com o aumento das doses de As aplicadas ao solo, após o período de 24 h de incubação. Isto porque a solução de Mehlich-1 também extrai As do solo e o método de detecção de P utilizado em análises de rotina é o método colorimétrico de Murphy & Riley em que um complexo fosfo-molibdico apresenta coloração azul após redução deste complexo pelo ácido ascórbico. Obviamente a coloração azul é tão mais intensa quanto maior a concentração de P extraído do solo. No entanto, de acordo com Shukla (1972) o arsenato forma complexo semelhante com o molibdato, também de coloração azul quando reduzido. Portanto, os teores de P disponíveis podem ser superestimados por

este método, na presença de As, quando dosados por colorimetria, o que explica por exemplo o elevado teor de fósforo do solo RLd-P1. Visto tal impasse, optou-se por fazer a dosagem por ICP-OES, concluindo-se que não houve aumento expressivo dos teores de fósforo disponível. Entretanto, os teores de As disponíveis no extrato Mehlich 1 foram proporcionais às doses aplicadas a cada solo, bem como inversamente proporcionais à CMA-As de cada solo.

Tabela 4 - Peso seco relativo ao controle, expresso em porcentagem e seguido de desvio padrão (quatro repetições).

Solo	Planta	Dose de As (mg.kg ⁻¹)	Biomassa (% relativo ao controle)	
			24h	6 semanas
LAd	Soja	15	93.27 ± 5.56	95.76 ± 4.73
		150	38.86 ± 0.79	66.28 ± 28.85
		1500	0	0
		3000	0	0
	Sorgo	15	125.07 ± 24.66	106.07 ± 11.07
		150	93.96 ± 4.59	96.55 ± 22.83
		1500	0	0
		3000	0	0
CXbd	Soja	15	142.49 ± 15.65	99.35 ± 19.05
		150	110.81 ± 37.45	72.52 ± 17.02
		1500	0	43.43 ± 7.65
		3000	0	0
	Sorgo	15	122.06 ± 8.83	113.61 ± 21.03
		150	64.38 ± 3.44	87.32 ± 12.92
		1500	0	26.15 ± 5.88
		3000	0	0
LVdf	Soja	15	95.93 ± 15.79	113.87 ± 25.48
		150	91.89 ± 20.91	102.49 ± 21.81
		1500	53.46 ± 14.50	95.90 ± 4.06
		3000	0	16.49 ± 2.24
	Sorgo	15	113.88 ± 21.24	191.72 ± 6.58
		150	41.86 ± 16.97	133.25 ± 14.63
		1500	22.97 ± 3.37	75.45 ± 6.53
		3000	0	37.65 ± 8.03

(média ± desvio padrão)

A competição entre arsenatos e fosfatos pelos sítios de adsorção já é um fato bem conhecido na literatura (WOOLSON *et al.*, 1973; FRANKENBERGER Jr, 2002; SILVA, 2008). Vale destacar que este pretendo aumento na disponibilidade de P só se reflete em aumento no crescimento das plantas nas menores doses de As, embora a competição com o fosfato deva ser maior a maiores doses de As adicionado. Isto é explicado pela toxicidade do As, de modo que, em altas doses o efeito tóxico se sobrepõe ao efeito benéfico de aumento na disponibilidade de P.

Tabela 5 – Resultados de análises químicas, realizadas 24 h após a incubação dos solos com Arseniato de Sódio. (P e As – Extrator Mehlich 1; dosagem em ICP-OES)

Solo – dose As	pH	As	P	K	Na	CTC efet	CTC pH 7	V	ISNa
(mg kg ⁻¹)	H ₂ O	----- mg dm ³ -----				----- cmol _c dm ³ -----		----- % -----	
LAd - 0	4,5	<LQP	0,94	13	0	0,50	4,4	2,3	0
LAd - 15	4,57	3,29	0,72	49	32,3	1,12	5,93	12,3	12,54
LAd - 150	5,36	49,08	0,77	55	130,8	1,18	4,28	25,2	48,19
LAd - 1500	7,32	1118,33	0,26	57	1006,7	4,99	7,99	59,9	87,71
LAd - 3000	7,56	2083,12	<LQP	61	1932	8,83	12,53	68,9	95,13
CXbd - 0	5,5	<LQP	<LQP	34	0	2,95	6,65	39,8	0
CXbd - 15	4,54	1,53	<LQP	27	16,2	2,19	5,89	33,8	3,22
CXbd - 150	4,69	12,33	0,68	31	86,6	3,02	8,53	32	12,47
CXbd - 1500	6,18	413,38	1,03	31	664,8	5,19	8,49	60	55,69
CXbd - 3000	7,03	1048,44	3,14	33	1187,7	7,21	12,51	56	71,62
LVdf - 0	5,04	<LQP	<LQP	17	0	2,27	9,0	23,1	0
LVdf - 15	4,83	2,31	<LQP	21	14,2	1,74	7,64	20,2	3,55
LVdf - 150	5,09	88,31	0,21	21	92,6	2,33	8,23	25,9	17,28
LVdf - 1500	6,58	246,03	3,66	23	765,3	4,98	10,58	47,1	66,82
LVdf - 3000	7,13	673,32	3,99	21	1610,2	8,35	13,85	60,3	83,84

Limites de quantificação praticável (LQP): P = 0,03 µg dm³; As = 14 µg kg⁻¹

Seguindo-se o raciocínio inverso (dessorção de As por P) é evidenciada a precaução que se deve tomar ao se recomendar adubações fosfatadas em áreas com suspeita de contaminação por arsênio, visto que os teores de As disponíveis podem aumentar na solução do solo, causando toxidez a plantas e animais, bem como este elemento pode ser lixiviado e contaminar aquíferos subterrâneos e cursos d'água. (SILVA, 2008; WOOLSON *et al.*, 1973).

Visto que foi utilizado o sal Arseniato de Sódio heptahidratado (Na₂HASO₄.7H₂O) para a obtenção das doses crescentes de As, pode-se argumentar sobre a interferência do Na nos resultados de biomassa obtidos no experimento. De fato, analisando-se os resultados das análises químicas de rotina, realizadas após a incubação do sal, percebe-se que os índices de Saturação por Sódio (ISNa) ultrapassaram o limite de 15 % para as maiores doses de As (Tabela 5), o que é considerado o limite para o caráter sódico (EMBRAPA, 2006). Porém, a já relatada atenuação da toxicidade com o tempo de incubação sugere diminuição das frações

mais lábeis do As adicionado, visto que o Na não interage de forma específica com as cargas de superfície dos colóides do solo da mesma forma que o As. Woolson *et al.* (1973) encontraram resultados semelhantes estudando dois solos com características de granulometria e mineralogia distintas, um arenoso e um argiloso, incubados com Arseniato de Sódio (doses de As de até 1000 mg kg⁻¹) ao longo de um período de 32 semanas. Os autores verificaram que o sódio proveniente do sal de arsênio não influenciou o crescimento de plantas de milho cultivadas por quatro semanas em dois solos distintos incubados com Na₂HAsO₄·7H₂O e com NaCl.

Quando em solução, o sódio possui carga positiva e elevado raio iônico hidratado, causando geralmente a dispersão das argilas dos solos e gerando problemas de natureza física, como a desestruturação, entupimento dos macroporos e endurecimento do solo, restringindo a passagem e o armazenamento de água. Como no presente estudo não houve a lixiviação e perda de Na do sistema, apesar de terem sido observados problemas de natureza física como o aumento aparente da plasticidade e pegajosidade dos solos que receberam doses elevadas de As, entende-se que os teores de sódio permaneceram constantes ao longo do tempo, permitindo-nos afirmar que a atenuação da toxidez observada após seis semanas de incubação foi causada pela diminuição dos teores disponíveis de As, conforme será discutido com mais detalhe no item 4.5. Contudo, pode ter havido alguma influência negativa causada pelo excesso de sódio no substrato, porém tal influência não foi avaliada. Seus efeitos indiretos sobre a produção das plantas são mais facilmente perceptíveis em cultivos de maior duração, onde os problemas de natureza física do solo podem afetar mais drasticamente o desenvolvimento radicular.

Os resultados de biomassa das plântulas de soja e sorgo obtidos nos solos RLd – A, RLd – B e RLd – SB, que possuem teores naturalmente elevados de As, quando comparados com os solos CXbd, LAd e LVdf (dose de As = 0 mg kg⁻¹) pelo teste Tukey-Kramer ($\alpha = 0,05$) não mostraram diferenças significativas (Tabela 6).

Estes resultados evidenciam a alta estabilidade do As nos solos de regiões tropicais, onde mesmo sob condições de baixo grau de evolução e pequenos teores de argila, como no caso dos Neossolos estudados, os elevados teores de arsênio não se encontram em formas lábeis, capaz de causar toxidez aguda às plantas. No caso

destes solos, o As provavelmente se encontra associado aos óxidos de Fe ou na forma de sulfetos estáveis, para as fases ainda não oxidadas. Pode-se considerar, a partir dos vários relatos na literatura, que o As geogênico, associado a sulfetos de Fe, é rapidamente imobilizado na forma de arsenatos férricos, co-precipitado ou adsorvido especificamente aos óxidos férricos na medida em que os sulfetos ferrosos são oxidados (WOOLSON *et al.*, 1973; SUN & DONER, 1996; WAYCHUNAS *et al.*, 1993; LADEIRA *et al.*, 2001; FRANKENBERGER Jr & WILLIAM, 2002; MELLO *et al.*, 2006; MELLO *et al.*, 2007; SILVA, 2008). Esta dinâmica geoquímica faz com que a biodisponibilidade seja limitada mesmo em solos com altos teores de As. Tal situação é comum no Estado de Minas Gerais, sobretudo em áreas de mineração do ouro, onde o As está naturalmente presente nas rochas e solos.

Tabela 6 – Resultados de biomassa das plântulas de soja e sorgo cultivadas nos solos CXbd, LAd, LVdf, RLd-P1, RLd-P2 e RLd-SB; Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer com $\alpha = 0,05$. (quatro repetições)

Solo	Soja	Sorgo
	Biomassa (g)	
LAd	0,946 A	0,0652 B
CXbd	0,846 A	0,0477 B
LVdf	0,803 A	0,0347 B
RLd-P1	0,949 A	0,0442 B
RLd-P2	0,987 A	0,0462 B
RLd-SB	0,904 A	0,0647 B

Vale, ainda, considerar que nas regiões de ocorrência destes solos com elevados teores naturais de As, de modo geral encontram-se plantas adaptadas a tais condições de estresse (PANDA *et al.*, 2009). Acredita-se que, pelo menos em parte, isso possa ser atribuído à baixa disponibilidade, decorrente da alta estabilidade do As nestes solos. Não obstante, isso não isenta os devidos cuidados para cultivos nestes solos, posto que, mesmo nestas condições, a maioria das plantas cultivadas podem encontrar condições adversas ao crescimento e produção, sofrendo toxidez

crônica ao longo do ciclo de vida, com provável efeito cumulativo na cadeia trófica ou ao longo de gerações.

4.4 Toxicidade de arsênio em minhocas terrestres (*Eisenia andrei*) – Teste Preliminar

As concentrações de As aplicadas aos solos foram suficientes para determinar a mortalidade de 50 %, exceto para o solo LAd, onde a dose de 750 mg kg⁻¹ foi suficiente para matar todas as dez minhocas em todas as três repetições (Tabela 7). Após a análise de regressão, foram encontrados valores de LD₅₀ iguais a 984 mg kg⁻¹ para o solo CXbd e 1277 mg kg⁻¹ para o solo LVdf, evidenciando a influência da CMA-As sobre a toxidez do arsênio sobre a minhoca terrestre *Eisenia andrei*.

Tabela 7 – Sobrevivência da minhoca terrestre *Eisenia andrei* a doses crescentes de As nos solos LAd, CXbd e LVdf após dez dias de incubação.

Solo-dose de As (mg kg ⁻¹)	Sobrevivência
LAd – 0	9,67 ± 0,47
LAd – 15	10 ± 0
LAd – 150	9,67 ± 0,47
LAd – 750	0 ± 0
LAd - 1500	0 ± 0
CXbd - 0	10 ± 0
CXbd – 15	10 ± 0
CXbd – 150	10 ± 0
CXbd – 750	6,66 ± 1,69
CXbd – 1500	0 ± 0
LVdf – 0	10 ± 0
LVdf – 15	10 ± 0
LVdf – 150	10 ± 0
LVdf – 750	9,33 ± 0,47
LVdf - 1500	4,66 ± 0,94

(média ± desvio padrão)

4.5 Extração sequencial de arsênio

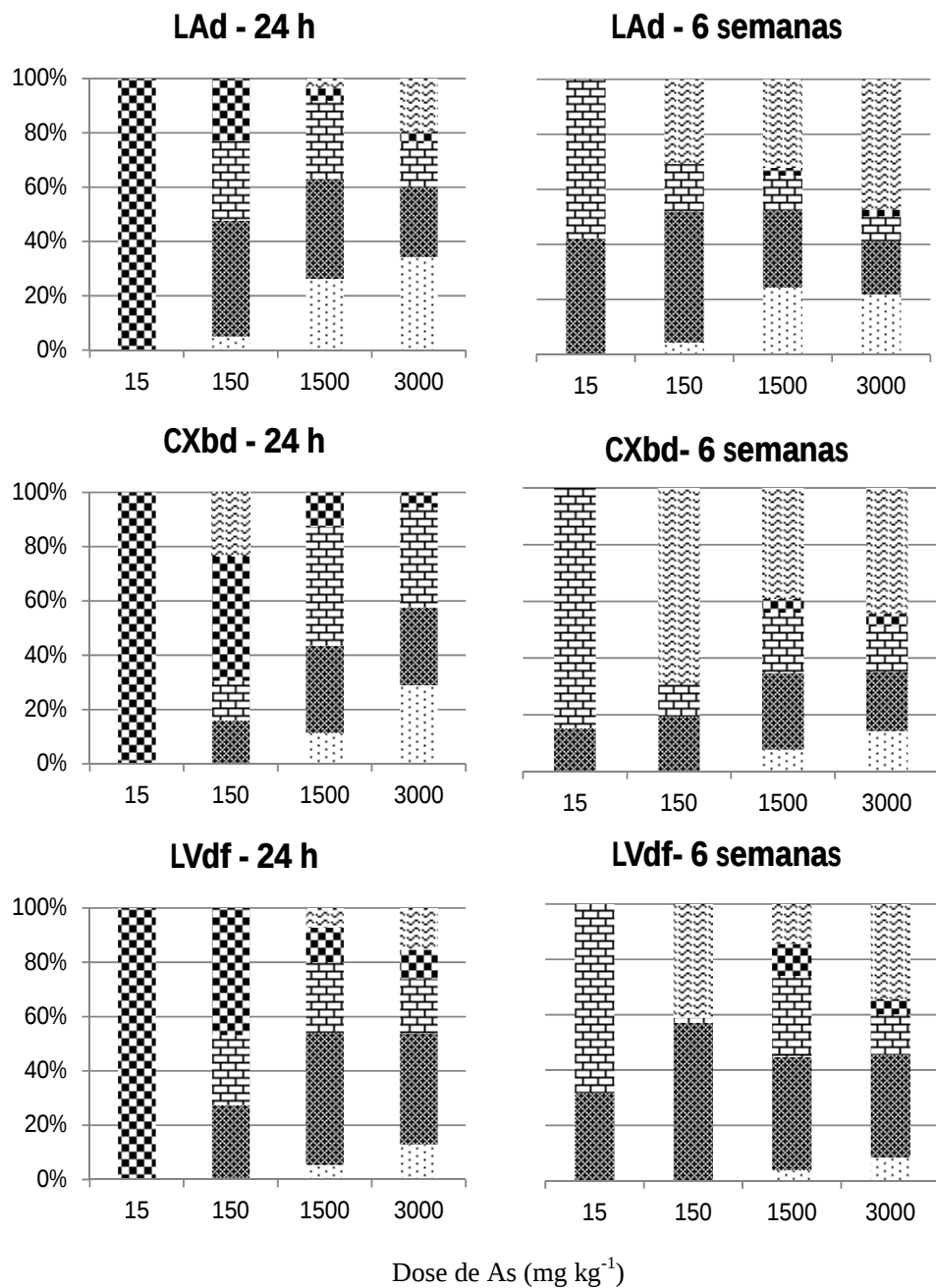
Após seis semanas de incubação os teores de As encontrados nos extratos de Sulfato de Amônio, correspondentes à fração especificamente adsorvido, diminuíram significativamente pelo teste t ($\alpha = 0,05$) nos três solos avaliados quando comparados com o tempo de incubação de 24 h (Tabela 8). Em contrapartida, as formas menos lábeis aumentaram com o tempo de incubação (Figura 6). Estes resultados estão em consonância com a atenuação da toxidez causada pelo arsênio adicionado ao solo com o tempo de incubação discutida no tópico anterior.

Tabela 8 – Teores de arsênio encontrados nos extratos de Sulfato de Amônio, correspondentes à fração não especificamente adsorvido (expressos em mg kg^{-1}) nos solos Lad, CXbd e LVdf, sob diferentes doses de As aplicadas e avaliados após 24 h e seis semanas de incubação; teste t realizado com $\alpha = 0,05$.

Solo – Dose de As	Tempo de incubação		Teste t
(mg kg^{-1})	24 h	6 semanas	(* = Diferença significativa)
LAd – 15	0	0	
LAd – 150	$8,23 \pm 0,94$	$4,97 \pm 0,33$	*
LAd – 1500	$458,62 \pm 16,11$	$423,54 \pm 12,69$	
LAd – 3000	$1271,18 \pm 89,07$	$809,70 \pm 17,92$	*
CXbd – 15	0	0	
CXbd – 150	0	0	
CXbd – 1500	$179,96 \pm 1,34$	$115,57 \pm 1,48$	*
CXbd – 3000	$1116,60 \pm 35,77$	$528,65 \pm 31,46$	*
LVdf – 15	0	0	
LVdf – 150	0	0	
LVdf – 1500	$63,92 \pm 0,08$	$45,38 \pm 0,37$	*
LVdf - 3000	$333,75 \pm 13,81$	$216,60 \pm 4,57$	*

(média $\pm$ desv. padrão)

As concentrações de arsênio nos extratos de Sulfato de Amônio, que correspondem à fração mais lábil (não especificamente adsorvida) deste elemento, foram sempre menores que o limite de quantificação praticável ($\text{LQP} = 61 \mu\text{g kg}^{-1}$)



Legenda:

..... não especificamente adsorvido;
 cross-hatched especificamente adsorvido;
 horizontal lines ligado a óxidos de Fe e Al amorfos e mal cristalizados;
 checkered ligado a óxidos de Fe e Al bem cristalizados;
 wavy lines fase residual.

Figura 6 –Resultados da extração sequencial de As dos solos CXbd, Lad e LVdf, após 24 h e seis semanas de incubação, expressos em porcentagem relativa ao total.

nos tratamentos com 15 mg kg^{-1} de As aplicado, nos três solos estudados e nos dois tempos de incubação avaliados. A fração trocável (extrator Fosfato de Amônio) também foi menor que o LQP nos tratamentos com 150 mg kg^{-1} de As aplicado nos solos CXbd e LVdf nos dois tempos de incubação, o que evidencia o poder tampão destes dois solos em relação ao elemento As, visto que possuem maiores CMA-As.

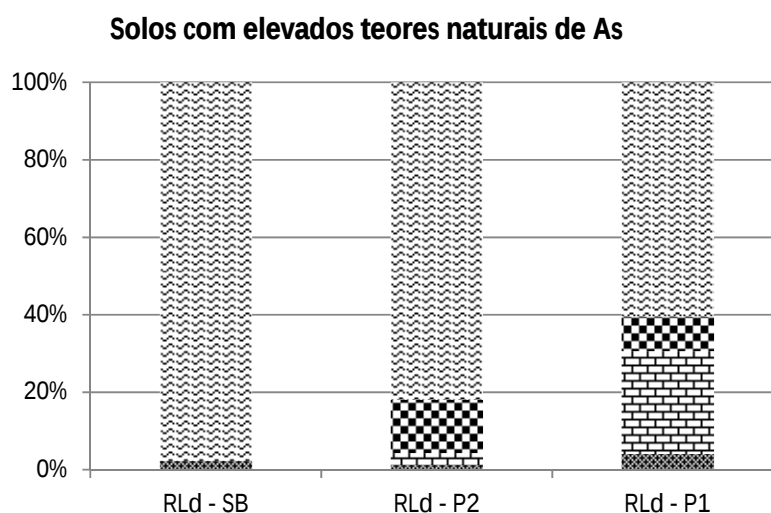
Woolson *et al.* (1973) encontraram resultados semelhantes estudando dois solos com características de granulometria e mineralogia distintas, um arenoso e um argiloso, incubados com Arseniato de Sódio ao longo de um período de 32 semanas. Os autores verificaram que as frações mais lábeis do As adicionado ao solo diminuem com o passar do tempo, atingindo um mínimo após seis semanas de incubação, e conseqüentemente, atenuando o efeito tóxico do As adicionado ao longo do tempo após a contaminação.

Os solos RLd – SB, RLd – P1 e RLd – P2, que possuem elevados teores naturais de arsênio, quando submetidos à extração sequencial evidenciaram que este elemento está contido em sua maioria apenas nas frações menos lábeis, ligado a óxidos de Fe e Al e na fração residual. Apenas uma pequena porcentagem do As está na fração especificamente adsorvido (extrator Fosfato de Amônio). Estes resultados também explicam a ausência de toxidez aguda, conforme discutido no tópico anterior.

Pode-se inferir que os casos de toxidez crônica de As que podem ocorrer em plantas cultivadas nestes solos poderiam ocorrer devido à mobilização deste elemento na interface solo – sistema radicular, ou mais precisamente na rizosfera. Tal mobilização poderia ser causada pela acidificação decorrente da exsudação de ácidos orgânicos por plantas e fungos micorrízicos ou, eventualmente, transferência de elétrons com a conseqüente dissolução redutiva de óxidos de Fe amorfos e mobilização do As associado.

Deve-se, ainda, considerar que os casos de solos com altas concentrações de As, de origem geogênica, são relativamente comuns nas áreas de mineração de Ouro. Nestes solos, os casos de toxidez aguda de As são improváveis devido a alta estabilidade do As. Vale salientar que não são adicionadas fontes de As solúvel no processo de mineração do Ouro. Na pior das hipóteses, a contribuição da mineração

para a contaminação das áreas circunvizinhas, nestes casos, seria consequência da dispersão de solos ou sedimentos contendo altas concentrações de As em formas pouco solúveis. Neste sentido, uma das contribuições no presente trabalho é sugerir que a ausência de processos agudos contribui para o surgimento de espécies tolerantes às altas concentrações de As nos solos. Isto porque a toxidez aguda aniquila rapidamente as plantas diminuindo a possibilidade de produzirem descendentes; ao passo que o processo crônico, ou seja, a disponibilidade de pequenas quantidades de As às plantas por longos períodos, enseja o tempo necessário para a transmissão das características de adaptação, lentamente adquiridas, como herança aos descendentes, que progride para a tolerância com a sucessão das gerações. Esta é, talvez, a principal razão de relatos, relativamente comuns, da ocorrência de espécies tolerantes ao As nas áreas de mineração de ouro.



(Teor de As dos solos : RLd – SB = 27,96 mg kg⁻¹; RLd – P2 = 2285 mg kg⁻¹; RLd – P1 = 8542 mg kg⁻¹)

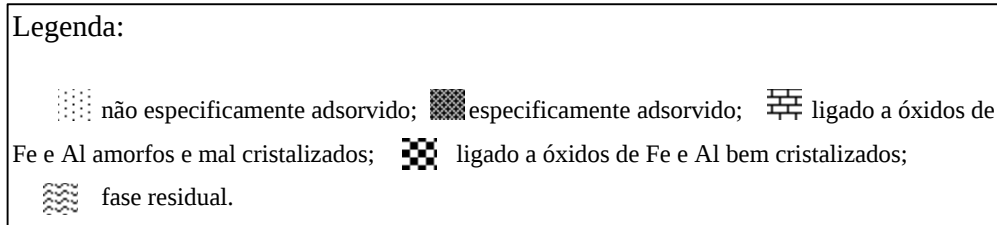


Figura 7 –Resultados da extração sequencial de As dos solos RLd – SB, RLd – B e RLd - A, expressos em porcentagem relativa ao total (EPA 3052).

4.5 Avaliação dos resultados de toxicidade

Como no presente trabalho foram realizados apenas ensaios de toxidez aguda com plantas superiores, optou-se por utilizar a metodologia de Avaliação de Risco Preliminar, proposta por Verbuggen *et al.* (2001), onde são utilizados fatores de acesso predefinidos para a conversão dos dados de toxidez aguda (menor tempo de exposição ao contaminante) para toxidez crônica (maior tempo de exposição ao contaminante). Segundo essa metodologia, o fator de acesso predefinido é igual a dez, e para a obtenção da MAP (Máxima Adição Permitida) o menor valor de EC_{50} encontrado deve ser dividido por este fator. Sendo assim, temos que a MAP é igual a 12 mg kg^{-1} visto que a condição mais restritiva obtida no presente estudo foi o solo LAd incubado por 24 h sob o cultivo de Soja ($EC_{50} = 120 \text{ mg kg}^{-1}$).

Desta forma, em conformidade com a metodologia de avaliação de risco adotada, o Valor de Prevenção (VP) deverá ser igual à soma da MAP com o Valor de Referência de Qualidade (VRQ ou *background*), constante na Deliberação Normativa COPAM Nº 166, de 29 de JUNHO de 2011 (MG), que no caso do arsênio é igual a 8 mg kg^{-1} . Neste caso temos:

$$VP_{As} = MPA + VRQ = 12 + 8 \text{ mg kg}^{-1} \longrightarrow VP_{As} = 20 \text{ mg kg}^{-1}$$

Este valor, no entanto, corresponderia para o caso de adição de uma fonte solúvel de As em solo arenoso para imediata utilização com cultivos. Felizmente este não é o caso mais comum no Estado de Minas Gerais, posto que o uso de insumos arseniacais na Agricultura é atualmente proibido. Não obstante o valor obtido não difere muito do VP atualmente adotado no País, que é baseado em dados obtidos em condições de solos inundados no Japão.

Seguindo-se a mesma metodologia, foram calculados os valores de VP para as demais condições de solos, organismos teste e tempos de incubação, para que se pudesse fazer uma comparação geral (Tabela 9). Verifica-se que os demais valores obtidos são no mínimo o dobro até cerca de 15 vezes maiores do que o valor atualmente adotado no País. Em se considerando a situação mais comum e, talvez a situação atualmente mais preocupante, no Estado de Minas Gerais, que é o caso de solos ricos em As de origem geogênica em áreas de mineração, verifica-se que o

valor adotado parece exageradamente conservador. Neste caso, mesmo o valor menos restritivo encontrado no presente trabalho (cerca de 260 mg kg⁻¹ para soja cultivada no solo LVdf após 6 semanas de incubação do As aplicado) poderia ainda ser considerado conservador, haja visto os resultados obtidos com os solos naturalmente ricos em As, coletados em áreas de mineração de ouro. Obviamente tais comentários se restringem ao risco ecotoxicológico e não levam em consideração os riscos de contaminação humana. Embora, por hipótese, os processos aqui observados possam também ser considerados na avaliação de risco à saúde humana, estudos semelhantes neste sentido são necessários e, certamente, o próximo passo nessa linha de pesquisa científica.

Tabela 9 – Valores de EC₅₀, MAP e VP calculados para os organismos e solos estudados, sob diferentes tempos de incubação.

Solo	Organismo	Tempo de incubação	EC ₅₀		
			(mg kg ⁻¹)	MAP	VP _{calc}
LAd	Soja	24 h	120,36	12	20
		6 semanas	233,68	23	31
	Sorgo	24 h	452,09	45	53
		6 semanas	797,29	79	87
CXbd	Soja	24 h	651,67	65	73
		6 semanas	1207,52	120	128
	Sorgo	24 h	194,73	19	27
		6 semanas	907,77	90	98
LVdf	Soja	24 h	1602,22	160	168
		6 semanas	2502,43	250	258
	Sorgo	24 h	637,11	63	71
		6 semanas	2193,02	219	227
CXbd	Minhoca	24 h	984	98	106
LVdf	Minhoca	24 h	1277	127	135

Visto a grande variabilidade dos resultados de ecotoxicidade encontrados no presente estudo, o VP adotado no Brasil, embora bastante restritivo, poderia ser útil apenas como orientação para o cultivo de arroz inundado e em situações em que o solo é passível de inundação, ainda que periódica, onde as condições de anaerobiose favorecem a dissolução parcial redutiva dos óxidos de Fe com a liberação do As associado. Tal efeito é bem conhecido na literatura, tendo sido estudado por Mello *et al.* (2007) para solos naturalmente ricos em As no estado de Minas Gerais. Os

autores observaram que o As associado aos óxidos de Fe amorfos pode ser parcialmente mobilizado durante a inundação do solo. No entanto, o As mobilizado é rapidamente readsorvido pelos óxidos de Fe e Al bem cristalizados. Portanto a magnitude e extensão da mobilização é limitada e depende da mineralogia dos solos, particularmente da presença de óxidos como hematita, goethita e gibbsita, minerais relativamente comuns em solos de regiões tropicais.

Vale ressaltar ainda que mais estudos de ecotoxicidade são necessários para a derivação de VP mais confiáveis e condizentes com as condições ambientais de cada região, como também existe a necessidade de se avaliar os casos de contaminação isoladamente para que se possam tomar decisões corretas quanto a condução e remediação de tais sítios, visto a grande variabilidade de comportamento dos solos quando contaminados com arsênio.

5 – CONCLUSÕES

As doses de arsênio que causaram redução de 50% na biomassa das plântulas (EC_{50}) variaram de 120 a 2500 mg kg⁻¹ e as doses de arsênio que causaram a mortalidade de 50% das minhocas foram de 984 e 1277 mg kg⁻¹, dependendo do tipo de solo (teor de argila e mineralogia) e, conseqüentemente, da CMA-As, evidenciando a grande variabilidade de comportamento dos solos do Estado de Minas Gerais quando submetidos à contaminação por As.

A extração sequencial de arsênio evidenciou que os teores disponíveis (não especificamente adsorvidos, extraíveis por Sulfato de Amônio) diminuíram com o tempo de incubação do As adicionado, causando atenuação na toxidez causada às plântulas de Soja e Sorgo, bem como evidenciou que em solos com elevados teores naturais de As, este se encontra em frações de baixíssima solubilidade, atenuando assim o efeito tóxico.

Seguindo-se a metodologia Holandesa de Avaliação de risco, para a derivação de um Valor de Prevenção (VP) condizente com a realidade das condições ambientais do Estado de Minas Gerais, temos que um novo valor encontrado é igual a 20 mg kg⁻¹, ao invés do valor vigente na legislação estadual que é igual a 15 mg kg⁻¹, considerando-se a adição de uma fonte solúvel de As em um solo com baixa

CMA-As, o que torna o VP um pouco menos restritivo porém com uma segurança ambiental que garanta o desenvolvimento sustentável.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; VAN RAIJ, B.; SANTOS, W.R. **Comparação de métodos de análise para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos.** In: Encontro Nacional Sobre Contaminantes Inorgânicos, 4., 23 a 25 nov.1994. São Paulo. Anais. Instituto Adolfo Lutz, SP.

ABREU, C.A.; ABREU, M.F. & BERTON, R.S. **Análise química de solo para metais pesados.** In: Tópicos em Ciência do Solo. Vol. 2 (2002) – Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p. 645-692.

ALLOWAY, B. J. The origins of heavy metals in soils. In: B. J. ALLOWAY (ed.). **Heavy metals in soils.** Londres, Inglaterra: Blackie, 1990. p. 29-39.

ALVAREZ V., V.H.; NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E.; OLIVEIRA, J.A, **Determinação e uso do fósforo remanescente.** Bol. Inf. SBCS, 2000. 23:27-32.

AMARAL SOBRINHO, N. M. **Interação de metais pesados de resíduos siderúrgicos com um Podzólico Vermelho Amarelo.** Viçosa, MG: UFV. 1993. Tese Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas – Universidade Federal de Viçosa.

ARTAXO, P.; CAMPOS, R.C.; FERNANDES, E.T.; MARTINS, J.V.; XIAO, Z.; LINDQVIST, O.; FERNÁNDEZ-JIMÉNEZ, M.T. & MAENHAUT, W. **Large scale mercury and trace element measurements in the Amazon basin.** Atmos. Environ., 2000. 34:4085-4096.

ASSIS, I. R. **Adsorção e disponibilidade de arsênio em solos com diferentes composições mineralógicas.** Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa

BATAGLIA, O. C. ; RAIJ, B. V. **Soluções extratoras na avaliação da fitodisponibilidade de zinco em solos..** Revista Brasileira de Ciência do Solo, 1994. v. 18, n. 3, p. 457-461.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS,. 2009. 399 p.

BRASIL, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - **RESOLUÇÃO Nº 420, DE 28 DE DEZEMBRO DE 2009** - *Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.*

BERG, M., TRAN, H. C., NGUYEN, T. C., PHAM, H. V., SCHERTENLEIB, R. and GIGER, W. **Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat.** Environ. Sci. Technol. 2001. 35, 2621-2626.

BUSCHMANN, J., BERG, M., STENGEL, C. WINKEL, L., SAMPSON, M. L., TRANG, P. T. K. and VIET, P. H. **Contamination of drinking water resources in the Mekong delta Floodplains: Arsenic and other trace metals pose serious health in risks to population.** Environ. Int. 2008. 34, 756-764.

CAMPOS, M.L.; GUILHERME, L.R.G.; LOPES, R.S.; ANTUNES, A.S.; SÁ E MELO MARQUES, J.J.G.; CURI, N. **Teor e Capacidade Máxima de Adsorção de Arsênio em Latossolos Brasileiros.** R. Bras. Ci. Solo, Viçosa (MG), 2007. v.31, N.6:1311-1327.

CETESB. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo.** São Paulo: CETESB, 2001. 247p.

CETESB. **DECISÃO DE DIRETORIA Nº 195-2005- E, de 23 de novembro de 2005.** Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2005, em substituição aos Valores Orientadores de 2001, e dá outras providências.

CETESB *draft*.. **Relatório sobre Valores de Prevenção.** 2005. Documento interno, não publicado.

CFSMG - COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais –5ª Aproximação.** RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.H. (Eds.). Viçosa, MG, 1999. 359p.

COUTO, N., MATTOS, S., MATSCHULLAT, J. **Biomonitoramento Humano**, in DESCHAMPS, E. & MATSCHULLAT, J. Arsênio antropogênico e natural: um estudo em regiões do Quadrilátero Ferrífero. Belo Horizonte: Fundação Estadual do Meio Ambiente, 2007, 330p il.

CRECELIUS, E. A., BLOOM, N. S., COWAN, C. E., AND JENNE, E. A. **Speciation of Selenium and Arsenic in Natural Waters and Sediments.** Arsenic Speciation, EPRI Project 2020-2, Battelle Pacific North Lab., Sequim, WA, 32. 1986.

CROMMENTUIJN, T., POLDER, M. D., and PLASSCHE, E. J., **Maximum Permissible Concentrations for metals, taking background concentrations into account.** National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands, RIVM Report N° 601 501 001, 1997. 262 p.

EL-BASSAM, N., KEPPEL, H., AND TIETJEN, C. **Arsenic transfer in soils**, in Abstr. ESNA Environ. Pollut. Working Group, Cadarache, 1975a, 1.

ELKHATIB, A. E., BENNETT, L. O., AND WRIGHT, J. R. **Kinetics of arsenite sorption in soils.** *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1984. 48, 758.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos.** 2. ed. Rio de Janeiro. 1997. 212p.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 2.ed. Rio de Janeiro. 2006. 306 p. : il.

EPA. **METHOD 3051 -Microwave Assisted Acid Digestion Of Sediments, Sludges, Soils, And Oils.** 1994. 14p.;

EPA. **Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices - 3052.** Washington, USA: Revision, December, 1996. CD-rom.

EPA. 712 – C – 96 – 167 : 1996 – **Ecological Effects Test Guidelines** – OPPTS 850.6200

FAURE, GUNTER. **Principles and applications of inorganic geochemistry: a comprehensive textbook for geology students.** Macmillan Publishing Company. 1991. 626p.

FERNANDES, B.& SYKES, D.J. **Capacidade de campo e retenção de água em três solos de Minas Gerais.** R. Ceres, 1968. 15:1-39.

FONTES, M. P. F.; MATOS, A. T.; COSTA, L. M.; NEVES, J. C. L. **Competitive adsorption of zinc, cadmium, copper and lead in three highly weathered Brazilian soils.** Communication in Soil Science and Plant Analysis, 2000. 31: 2939-2958.

FRANKENBERGER Jr, WILLIAM T. **Environmental Chemistry of Arsenic.** Marcel Dekker. 2002. 391p.

GOLDBERG, S. **Chemical Modeling of arsenate Adsorption on aluminum and iron oxide mineral.** SoilSci. Soc. Am. J. 1986. 50:1154-1157.

HUANG, P. M. **Retention of arsenic by hydroxy-aluminum on surface of micaceous mineral colloids.** *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 1975. 39, 271.

JAIN, A. & LOEPPERT, R.H. **Effect of competing anions on the adsorption of arsenate and arsenite by ferrihydrite.** J. Environ. Qual. 2000. 29:1422-1430.

JCPDS, Joint Committee on Powder Diffraction Standards. **Selected Powder Diffraction Data for Minerals.** 1st. Ed., JCPDS, Pennsylvania, U.S.A., 1974. 833 p.

ICME, International Council on Metals and the Environment. **Hazard classification of metals in terrestrial systems – a discussion paper.** Canadá: ICME, 1997. 30 p.

ISO – International Standard Organization - ISO – 11.269-2:2005 (***Determination of the effects of pollutants on soil flora — Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants***).

KABATA-PENDIAS, A., PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3rd Ed. CRC:LLC., U.S.A., 2001. 331p.

KABATA-PENDIAS, A., **Trace elements in soils and plants**. 4th Ed. CRC Press, Taylor & Francis Group. Flórida: Boca Raton, 2011. 403p.

KASUYA, M. **Recent epidemiological studies on itai-itai disease as chronic cadmium poisoning in Japan**. Water Science and Technology, 2000. 42:147-154.

LADEIRA, A.C.Q.; CIMINELLI, V.S.T.; DUARTE, H.A.; ALVES, M.C.M., **Mechanism of anion retention from EXAFS and density functional calculations: arsenic (V) adsorbed on gibbsite**. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2001. v. 65, n. 8, p. 1211-1217.

LIVESEY, N.T. & HUANG, P.M. **Adsorption of arsenate by soils and its relation to selected chemical properties and anions**. Soil Science. 1981. 131:88-94.

MAGALHÃES, V. F.; CARVALHO, C. E. V.; PFEIFFER, W. C. **Arsenic contamination and dispersion in the Engenho Inlet, Sepetiba Bay, se, Brazil**. Water Air Soil Pol. 2001. 129:83-90.

MALAVOLTA, E. **Manual de Química Agrícola. Nutrição de plantas e fertilidade de solo. Capítulo 13 – Elementos não essenciais**. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo, 1976. 528 p.

MALAVOLTA, E. **Micronutrientes e metais pesados: mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: Produquímica, 1994. 140p.

MANNING, B.A.; GOLDBERG, S. **Modeling competitive adsorption of arsenate with phosphate and molybdate on oxide minerals**. Soil Sci. Soc. Am. J. 1996. 60, 121–131.

MATOS, A. T.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; MARTINEZ, M. A. **Mobility of heavy metals as related to soil chemical and mineralogical characteristics of Brazilian soils.** Environmental Pollution, 2001. 11: 429-433.

MATSCHULLAT, J. **Revisão: aspectos relacionados ao arsênio: Meio Ambiente.** in DESCHAMPS, E. & MATSCHULLAT, J. 2007. Arsênio Antropogênico e Natural. Fundação Estadual do Meio Ambiente. 2007. 330p. il.

MATSCHULLAT, J.; BORBA, R. P.; DESCHAMPS, E.; FIGUEIREDO, B. R.; GABRIO, T. AND SCHWENK, M. **Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil.** Appl. Geochem., 2000. 15:181-190.

MELLO, J. W. V.; ROY., W. R.; TALLBOTT, J.; STUCKI, J. W. **Mineralogy and Arsenic Mobility in Arsenic-Rich Brazilian Soils and Sediments.** Journal of Soils and Sediments, 2006. V6, N°1 (2006) 9-19.

MELLO, J. W. V.; TALLBOTT, J.; SCOTT, J.; ROY., W. R.; STUCKI, J. W. **Arsenic Speciation in Arsenic-Rich Brazilian Soils from Gold Mining Sites under Anaerobic Incubation.** Environ Sci Pollut Res, 2007. v.14, N°6 388-396.

MEURER, E. J. **Fundamentos de Química do Solo.** 2. ed. Porto Alegre: Gênese. 2004. 290 p.

MICÓ, C.; PERIS, M.; RECATALÁ, L.; SÁNCHEZ, J. **Baseline values for heavy metals in agricultural soils in an European Mediterranean region.** Science of The Total Environment 2007. 378, 13-17.

MINAS GERAIS, CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL - COPAM, E O CONSELHO ESTADUAL DE RECURSOS HÍDRICOS - CERH/MG. **Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 02, de 08 de setembro de 2010.** Institui o Programa Estadual de Gestão de Áreas Contaminadas, que estabelece as diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas.

MINAS GERAIS, CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL – COPAM. **DELIBERAÇÃO NORMATIVA COPAM Nº 166, DE 29 DE JUNHO DE 2011.** Altera o Anexo I da Deliberação Normativa Conjunta COPAM CERH nº 2 de 6 de setembro de 2010, estabelecendo os Valores de Referência de Qualidade dos Solos.

MOTUZOVA, G. W. **Fractions of Trace Elements in Soils**, Editorial URSS, Moscow, 1999. 166 (Ru).

NIES, D. H. **Microbial heavy-metal resistance.** Appl. Microbiol. Biotechnol. 1999. 51, 730-750.

NAMASIVAYAM, C. & SENTHILKUMAR, S., **Removal of arsenic (V) from aqueous solution using industrial solid waste: Adsorption rates and equilibrium studies.** Ind. Eng. Chem. Res. 1998. 37:4816-4822.

NORRISH, K. **The geochemistry and mineralogy of trace elements**, in *Trace Elements in Soil-Plant-Animal Systems*, Nicholas, D. J. D. and Egan, A. R., Eds., Academic Press, New York, 1975, 55.

OLSEN, S. R.; WATANABE, F. S. **A method to determine a phosphorus adsorption maximum of soil as measured by the Langmuir isotherm.** Soil Science Society of American Proceedings, 1957. v.21, p.144-149.

PANDA, S. K., UPADHYAY, R. K. & NATH, S. **Arsenic Stress in Plants: a review.** J. Agronomy & Crop Sci. 2010. 196, 161-174.

RIBEIRO JR, E.S. **Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação.** Viçosa, MG: UFV, 117p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

RUIZ, H. A., FERREIRA, G. B., PEREIRA, J. B. M., **Estimativa da capacidade de campo de latossolos e neossolos quartzarênicos pela determinação do equivalente de umidade.** R. Bras. Ci. Solo, 2003. 27:389-393.

RUIZ, H.A. **Incremento da exatidão da análise granulométrica do solo por meio da coleta da suspensão (silte + argila).** R. Bras. Ci. Solo, 2005. 29:297-300.

SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília: Embrapa. 1999. 370p.

SILVA, J. **Effectiveness and stability of aluminium and iron hydroxides nanoparticles for arsenate removal from contaminated water.** Universidade Federal de Viçosa, Junho de 2008. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa

SILVA, J.; FREITAS, T. R. O.; HEUSER, V.; MARINHO, J. R.; BITTENCOURT, F.; CERSKI, C. T. S.; KLIEMANN, L. M.; ERDTMANN, B. **Effects of chronic exposure to coal in wild rodents (Ctenomystorquatus) evaluated by multiple methods and tissues.** Mutation Res. Genetic Toxicol. Environ. Mutag., 2000. 470:39-51.

SINGH, D.B.; PRASAD, G. & RUPAINWAR, D.C. **Adsorption technique for the treatment of As (V)-rich effluents.** Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 1996. 111:49-56.

SHUKLA, S. S.; SYERS, J. K.; ARMSTRONG, D. E. **Arsenic interference in the determination of inorganic phosphate in lake sediments.** J. Environ. Qual. 1972. Vol 1, N° 3, 292-295

SMEDLEY, P. L.; KINNIBURGH, D. G. **A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters.** Applied Geochemistry. 2002. v.17, p. 517-568.

SMITH, E.; NAIDU, R. & ALSTON, A.M., **Chemistry of arsenic in soils: I. Sorption of arsenate and arsenite by four Australian soils.** J. Environ. Qual. 1999. 28:1719-1726.

SMYTH, T. J. & NOVAIS, R. F. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais.** 1. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 1999. 399p

SOARES, M. R. 2004. **Coeficiente de distribuição (Kd) de metais pesados em solos do Estado de São Paulo**. Piracicaba, Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004. 202p.

STEVENSON, F. J.; COLE, M. A. **Micronutrients and toxic metals**. In: Stevenson, F. J., Cole, M. A. Cycles of Soil. 2 ed. New York: John Wiley & Sons. 1999. p. 371 – 414.

SUN, X. & DONER, H.E. **Adsorption and oxidation of arsenite on goethite**. Soil Sci. 1998. 163:278-287,.

TAKIZAWA, Y. **Understanding Minamata disease and strategies to prevent further environmental contamination by methylmercury**. Water Science and Technology, 2000. 42: 139-146.

USEPA -UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Background report on fertilizer use, contaminants and regulations**. United States Environ. Protec. Agency Office of Pollution Prevention and Toxics.EPA, 1999. 747-R-98-003, 395p.

VAN-CAMP. L., BUJARRABAL, B., GENTILE, A-R., JONES, R.J.A., MONTANARELLA, L., OLAZABAL, C. AND SELVARADJOU, S-K. **Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection**. 2004. EUR 21319 EN/4, 872 pp. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

VERBUGGEN, E. M. J., POSTHUMUS, R. and Van WEZEL, A. P. **Ecotoxicological Serious Risk Concentrations for soil, sediment and (ground)water: updated proposals for first series of compounds**. National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Neatherlands, 2001. RIVM Report N° 711 701 020. 263p.

WAYCHUNAS, G.A.; REA, B.A.; FULLER, C.C.; DAVIS, J.A., **Surface chemistry of ferrihydrite: Part 1. EXAFS studies of the geometry of coprecipitated and adsorbed arsenate**. Geochim. Cosmochim. Acta. 1993. 57: 2251–2269.

WELCH A. H., WESTJOHN, D. B., HELSEL, D. R. and WANTY, R. B., **Arsenic in ground water of the United States: occurrence and geochemistry.** Ground Water. 2000. 38 : 589-604.

WENZEL, W. W., **Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure.** Analytica Chimica Acta, 2001. 436 : 309–323.

WOOLSON, E. A., AXLEY, J. H. and KEARNEY, P. C.: **The chemistry and Phytotoxicity of Arsenic in Soils: II. Effects of Time and Phosphorus.** Soil Sci. Amer. Proc. 1973. 37: 254-259.