

CAROLINE BARRADAS PODSCLAN

DETERMINAÇÃO DA
BIODISPONIBILIDADE DOS ELEMENTOS
CÁDMIO (Cd) E CHUMBO (Pb) EM
MONOCULTURA AÇUCAREIRA
UTILIZANDO A TÉCNICA DIFUSÃO EM
FILMES FINOS POR GRADIENTE DE
CONCENTRAÇÃO (DGT).

The bottom half of the page features a large, abstract geometric background. It consists of several overlapping triangles in various shades of blue and white, creating a complex, crystalline pattern.

Rio Claro
2018

CAROLINE BARRADAS PODSCLAN

DETERMINAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE
DOS ELEMENTOS CÁDMIO (Cd) E CHUMBO (Pb)
EM MONOCULTURA AÇUCAREIRA UTILIZANDO
A TÉCNICA DIFUSÃO EM FILMES FINOS POR
GRADIENTE DE CONCENTRAÇÃO (DGT).

Orientador: Amauri Antonio Menegário

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biociências da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para
obtenção do grau de Bacharela em Ciências
Biológicas.

Rio Claro
2018

631.4
P742d Podsclan, Caroline Barradas
 Determinação da biodisponibilidade dos elementos cádmio (cd) e
 chumbo (pb) em monocultura açucareira utilizando a técnica difusão em
 filmes finos por gradiente de concentração (DGT) / Caroline Barradas
 Podsclan. - Rio Claro, 2018
 29 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

 Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) -
 Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
 Orientador: Amauri Antonio Menegário

 1. Solos. 2. Labilidade de metais em solos. 3. Metais. 4. Labilidade. 5.
 Amostrador passivo. 6. Chelex-100. I. Título.

DETERMINAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DOS ELEMENTOS CÁDMIO (Cd) E CHUMBO (Pb) EM MONOCULTURA AÇUCAREIRA UTILIZANDO A TÉCNICA DIFUSÃO EM FILMES FINOS POR GRADIENTE DE CONCENTRAÇÃO (DGT).

RESUMO

Atividades relacionadas a ação antrópica tem causado um aumento nas concentrações de elementos tóxicos aos seres vivos, em especial Cd e Pb. Tais elementos são capazes de ser depositados em superfícies vegetais e solos, descartados como resíduos em rios e lagos, contaminando todo o ambiente onde se encontra. Técnicas para determinar a concentração dos elementos em solo são bastante utilizadas, mas não reproduzem com fidelidade a dinâmica real de reposição de íons entre fase sólida e fase líquida do solo. Para essa análise devem ser consideradas propriedades específicas de cada solo a fim de se ter a determinação da fração lábil do elemento, aquela disponível para absorção para a biota. A técnica DGT permite medir o fluxo de íons pela promoção de um gradiente de concentração, garantido pela presença de filmes finos, tem se mostrado eficiente na determinação da labilidade de diversos metais, incluindo Cd e Pb em solos na Ásia e Europa, porém em solos tropicais, com características e condições diferentes, ainda está em fase de teste. Neste trabalho foi realizado um estudo para determinar a labilidade de Cd e Pb em áreas de monocultura de cana de açúcar presente ao redor de centros urbanos e industriais da região de Rio Claro, com intenso descarte de resíduos e uso de agrotóxicos, utilizando a técnica DGT montada com Chelex-100 como agente ligante e poliacrilamida como agente difusivo. Os resultados obtidos demonstraram que a DGT foi capaz de identificar como baixa mobilidade dos elementos analisados e, portanto, baixa biodisponibilidade deles nos solos amostrados.

Palavras-chave: Metais. Labilidade. Amostrador passivo. Chelex-100.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	5
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1	LABILIDADE DE METAIS EM SOLO: Caso Cd e Pb.....	8
2.2	DGT: Cd e Pb.....	10
3.	OBJETIVOS	11
4.	MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1	MATERIAL	12
4.1.1	Equipamentos e acessórios	12
4.1.2	Reagentes e soluções.....	12
4.1.3	Preparo da solução KCl (1 mol L^{-1})	13
4.1.4	Preparo da solução gel	13
4.2	MÉTODOS	14
4.2.1	Princípios da técnica DGT.....	14
	- Cálculo C_{DGT}	14
	- DGT em solo.....	15
4.2.2	Descrição da área de estudo	16
4.2.3	Coleta e tratamento das amostras de solo	17
4.2.4	Caracterização, preparo e digestão das amostras de solo	17
4.2.5	Aferição do pH da solução do solo	18
4.2.6	Preparo dos discos de Chelex-100 (agente ligante).....	18
4.2.7	Preparo do gel de poliacrilamida (agente difusivo)	18
4.2.8	Preparo do nitrato de celulose (filtro).....	19
4.2.9	Montagem DGT	19
4.2.10	Preparo do solo para imersão do DGT	19
4.2.11	Retirada e eluição dos discos	20

4.2.12	Obtenção da amostra de solução sobrenadante (água intersticial) .	20
4.2.13	Preparação das amostras e determinação de metais por ICP MS. .	21
5.	Resultados e discussão	21
6.	Conclusão	25
	Referências bibliográficas	25

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Cd e Pb são metais conhecidos pela sua toxicidade e capacidade de bioacumulação (PERALTA-VIDEA *et al.*, 2009). Ambos possuem ocorrência natural no meio ambiente, mas atividades antropogênicas têm causado um aumento das concentrações desses elementos no meio, expondo pessoas ao risco de contaminação (BAIRD, 2011).

Dentre as atividades que causam aumento das concentrações de Cd no meio, as que mais se destacam são as emissões atmosféricas, uso de agroquímicos em plantações, descarte irregular de pilhas e baterias contendo Cd e descarte irregular de dejetos e resíduos domésticos, urbanos e industriais (LIANG *et al.*, 2017; GIMENO-GARCIA, 1995; LEE *et al.*, 2015; BERGKVIST *et al.*, 2003), enquanto as contaminações por Pb são provocadas principalmente por atividades mineradoras, indústrias metalúrgicas, utilização de adubos e pesticidas na agricultura e queima de combustíveis fósseis (PAOLIELLO e DE CAPITANI, 2007).

Quando presentes na atmosfera, os metais tóxicos têm capacidade de se depositarem em solos, corpos d'água e em superfícies vegetais, sendo incorporado por eles e contaminando seres vivos ao entrarem na cadeia alimentar, compondo o ciclo ar-solo-água-biota (PERALTA-VIDEA *et al.*, 2009).

Tem-se descrito uma série de doenças causadas pela exposição de indivíduos à estes elementos, principalmente pela alimentação, afetando órgãos e sistemas, prejudicando a saúde e podendo levá-los à óbito (PERALTA-VIDEA *et al.*, 2009).

O Brasil, sendo um país majoritariamente agrícola, faz uso de muitos agroquímicos nas plantações, sendo que os canaviais fazem parte de uma das principais monoculturas desenvolvidas principalmente em estados do Sudeste, juntamente com as usinas de processamento da cana-de-açúcar (SINDAG, 1998). Estas funcionam como dispersoras de substâncias tóxicas, incluindo fumaça, resíduos da produção de açúcar e álcool (vinhaça), contendo uma variedade de elementos tóxicos para o meio ambiente, inclusive Cd e Pb (NRIAGU e PACYNA, 1988). Índices demonstram que o cultivo de cana-de-açúcar tem aumentado gradativamente nos últimos anos em virtude da utilização do melaço como matéria prima para produção de biocombustível renovável e capacidade de contribuir na redução das emissões de dióxido de carbono na atmosfera (UNICA, 2015).

Quando um elemento está disponível para a absorção pela biota caracteriza-se a biodisponibilidade (DAVID e LEVENTHAL, 1995). Ela está relacionada com a fração de determinado elemento presente na solução do solo, disponível para assimilação (pode estar em forma de íon livre ou complexos solúveis) (ALLOWAY, 2013; EMBRAPA 2013). Dessa forma, é considerado que apenas esta fração lábil de toda aquela presente no meio é capaz de ser prontamente absorvida pelos organismos (KABATA-PENDIAS, 2004).

A determinação dessa fração disponível do elemento no solo passa obrigatoriamente pelo entendimento dos principais processos que controlam a compartimentalização desses elementos entre as fases sólida e líquida (EMBRAPA 2013)

Técnicas extratoras convencionais para a determinação de elementos em solo interferem em sua matriz, desconsideram tanto a forma química do elemento quanto comportamentos específicos de mobilidade de íons em solo, não revelando sua fração correspondente à dinâmica mais realística de um sistema (DIVIŠ, 2007; ZHANG *et al.*, 1998).

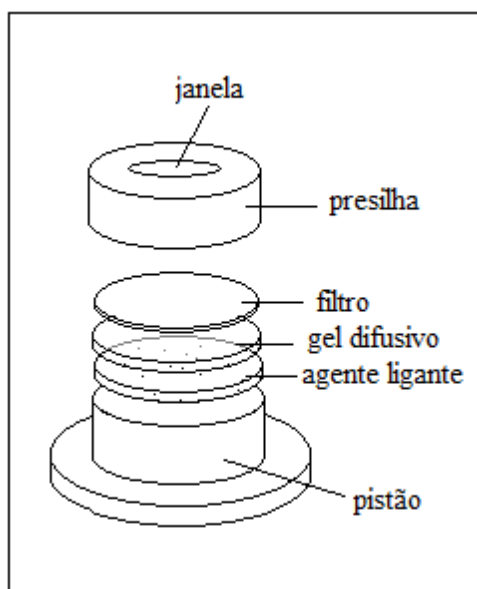
Portanto, destaca-se a necessidade de desenvolver técnicas de mensuração de elementos em solo que possibilite o estudo de aspectos biogeoquímicos do elemento de interesse a fim de se obter conhecimento de sua dinâmica e cinética, considerando taxas de reposição da fase sólida para fase líquida (ZHANG *et al.*, 1998).

A técnica difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT), inicialmente utilizada em águas doces e salgadas, se diferencia das técnicas tradicionais por sua robustez e fácil manejo, permitindo a passagem controlada e acúmulo de espécies químicas em uma resina que age como um agente ligante (DAVISON e ZHANG, 1994). Quando aplicada em solo, tem como princípio de funcionamento a formação de um gradiente de difusão promovido pela presença de filmes finos por onde íons metálicos livres na água intersticial se movem, ocorrendo sua reposição no meio proveniente da fase sólida (ZHANG *et al.*, 1998).

A técnica consiste no uso de discos de hidrogéis dispostos entre duas peças de plástico, sendo que em uma delas há uma janela na qual ocorre a transição da água intersticial para as resinas, como demonstrado na Figura 1. O primeiro disco é o agente ligante e seletivo, sendo o local onde os íons ficam retidos; o segundo é o agente difusivo

por onde eles se difundem, e o terceiro trata-se de um filtro que separa as outras resinas do meio externo e as protege (ZHANG, DAVISON, 1995).

Figura 1 - Esquema da montagem do dispositivo DGT. Adaptado de Zhang e Davison (1995).



O agente ligante mais comum utilizado é a Chelex-100 imobilizada em um gel de poliacrilamida, possibilitando a determinação de várias espécies catiônicas, incluindo Cd e Pb (GARMO *et al.* 2003). Outros agentes ligantes são utilizados, variando de acordo com a espécie de interesse e as condições que o meio impõe (de OLIVEIRA *et al.* 2013).

A técnica tem sido bastante utilizada em países da Ásia e Europa. Sua aplicação em solos tem mostrado resultados satisfatórios que indicam uma correspondência de valores entre a concentração do elemento no dispositivo DGT e a concentração detectada em determinados organismos vegetais (QASIM *et al.* 2016; DOČEKALOVÁ *et al.* 2014). Entretanto, poucos estudos foram realizados em solos de clima tropical, como no Brasil.

Testes preliminares realizados nos laboratórios do Centro de Estudos Ambientais da UNESP - Rio Claro, demonstraram eficiência do uso do disco de Chelex-100 como agente ligante no DGT para reter os analitos, assim como a eficiência das técnicas ICP OES e ICP-MS na determinação das concentrações de Cd e Pb.

Assim, para este trabalho foram levantadas as hipóteses:

- A técnica DGT é capaz de determinar a cinética dos elementos Cd e Pb nos

solos, e assim a biodisponibilidade destes?

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LABILIDADE DE METAIS EM SOLO: Caso Cd e Pb.

O solo é um sistema heterogêneo que conta com a presença de matéria orgânica misturada com minerais, gases, líquidos e variedade de micro-organismos que definem propriedades de interação das partículas do solo com íons, no qual estes podem sofrer processos de redução, oxidação, adsorção, precipitação ou dessorção, determinando a mobilidade dele no meio e sua disponibilidade aos organismos (ALLOWAY e AYRES, 1997; EMBRAPA 2013).

A força de retenção dos íons na interface solo-solução é determinada pelo tipo de interação entre os íons e a composição do solo, variando conforme o nível de energia nas interações (EMBRAPA, 2013). Assim, de maneira geral, o comportamento do íon em solo assume flexibilidade na mobilidade, variando de acordo com propriedades que a composição e características específicas de cada solo. Na tabela a seguir (Tabela 1) estão demonstrados comportamentos dos íons em determinadas características de solos.

Os solos tropicais, como no caso do Brasil, são formados por intenso intemperismo, o que favorece a presença de frações minerais com altos teores de óxidos e hidróxidos e que, dessa forma, tem seus sítios de troca bastante sensíveis à alteração do pH do solo, podendo adquirir cargas (LANGER, 2012). Portanto, o pH constitui o fator mais importante a ser considerado na reações de precipitação-dissolução por influenciar diretamente na adsorção de íons metálicos (EMBRAPA, 2013).

A composição da rocha matriz e o tamanho da partícula do solo determinam a presença de carbonatos e sulfatos que interagem com os íons metálicos presentes no meio, influenciando também na mobilidade deles em solo (LANGER, 2012).

A matéria orgânica é um importante componente da fase sólida do solo pois seus componentes são capazes de interagir e afetar a mobilização de cátions metálicos já que grupos funcionais possuem alta afinidade para a complexação com metais tóxicos (LANGER, 2012).

Tabela 1: Impacto de atributos do solo na mobilidade de íons metálicos tóxicos.

Atributo do solo	Base para o impacto	Impacto na mobilidade
Ligantes inorgânicos dissolvidos	Aumento da solubilidade do elemento-traço	Aumento
Ligantes orgânicos dissolvidos	Aumento da solubilidade do elemento-traço	Aumento
Baixo pH	Redução na adsorção de cátions em óxidos de Fe, Al, e Mn	Aumento
	Aumento na adsorção de ânions em óxidos de Fe, Al e Mn	Diminuição
	Precipitação crescente de oxiânions	Diminuição
Alto pH	Precipitação crescente de cátions como carbonatos e hidróxidos do metal	Diminuição
	Aumento na adsorção de cátions em óxidos de Fe, Al e Mn	Aumento
	Complexação crescente de alguns cátions por ligantes dissolvidos	Aumento
	Aumento na adsorção de cátions por material humificado sólido	Diminuição
Alto conteúdo de argila	Redução na adsorção de ânions	Aumento
	Aumento na troca catiônica (em qualquer valor de pH)	Diminuição
Alto conteúdo de húmus	Aumento da complexação para a maioria dos cátions	Diminuição
Presença de óxidos ou de revestimentos de Fe, Al, ou Mn	Aumento na adsorção de cátions com o aumento de pH	Diminuição
	Aumento na adsorção de ânions com o decréscimo de pH	Diminuição
Redox	Diminuição da solubilidade em baixo pe na forma de sulfetos do metal quando na presença de S	Diminuição
	Aumento da solubilidade de óxidos e hidróxidos de metais divalentes quando comparados com os trivalentes	Aumento
	Diminuição na complexação em solução para os menores estados de oxidação	Aumento
	Redução na adsorção para os menores estados de oxidação	Aumento

Fonte: GUILHERME, et al., (2005), Adaptado de Hayes & Traina (1998).

O Cd está presente em maior concentração como íon solúvel na forma Cd^{+2} , mas também pode ser encontrado complexado a compostos orgânicos e inorgânicos, além disso o Cd apresenta elevada mobilidade em solos ácidos, mas também tendem a se acumular na fase sólida do solo (PROKOP *et al.*, 2003; Rieuwerts *et al.*, 2006). Quanto ao Pb, também é encontrado como íon livre (Pb^{+2}), porém pode estar complexado à óxidos e à matéria orgânica devido a sua alta afinidade por estes compostos, contribuindo para uma baixa mobilidade do elemento no meio (LANGER, 2012).

Rieuwerts *et al.* (2006) reportou a influência do pH e concentração de matéria orgânica na capacidade de extração de metais em 96 amostras de solo (superficial e em perfil). O resultados obtidos mostraram que o conjunto de características do solo (composição, teor de matéria orgânica, pH) contribuíram para a obtenção de

diferentes valores de concentração de Cd, Pb e Zn nas amostras quando submetidas a extrações com água e cloreto de cálcio (CaCl_2).

Naidu *et al.* (1994) fez um estudo em solos bastante divergentes (quanto origem, mineralogia, quantidade de carbono orgânico e capacidade de troca catiônica) para entender a variação na adsorção de Cd em tratamentos com diversas forças iônicas. Foi observado que a força iônica está atrelada a aspectos da composição do solo e também do pH pois houve uma variação no padrão da adsorção/dessorção de Cd do solo no gradiente de força iônica dos testes entre todos os solos amostrados.

He e Singh (1993) testaram em estufa o efeito da matéria orgânica na distribuição de Cd, analisando a capacidade dele ser absorvido por uma variedade de gramínea em três solos de constituição diferentes (areia, barro de areia e barro de argila). A partir da extração com nitrato de amônio (NH_4NO_3) e DTPA foi identificada diminuição da presença do elemento em solo com maior concentração de matéria orgânica devido ao aumento da fração complexada do Cd pela matéria orgânica e óxidos presentes no solo, se tornando menos disponível.

Brumer *et al.* (1986) também analisou o efeito da quantidade de matéria orgânica nas propriedades do solo e o quanto ela interfere na mobilidade dos íons, incluindo Cd e Pb. As extrações foram feitas com CaCl_2 e foi notada a presença de maior afinidade com íons metálicos quando o solo possui alto teor de matéria orgânica, podendo reduzir os efeitos tóxicos de íons metálicos poluentes em solos. Porém, quando presente em solução ácida, especialmente na faixa de pH entre 5 e 6, apresentam maior mobilidade, mostrando que a mobilidade e disponibilidade está fortemente atrelada à solos ácidos.

2.2 DGT: Cd e Pb.

Zhang e Davidson (1995) realizaram testes utilizando o DGT-Chelex em soluções para determinar o fluxo de íons e este se mostrou eficiente como ferramenta de monitoramento ambiental. Também foi verificada uma relação entre a temperatura do sistema aquoso e o fluxo de íons de Cd para o dispositivo DGT-Chelex, sendo que o maior fluxo foi correspondente ao maior valor de temperatura da solução (35°C), além disso, não houve influência da variação da força iônica (nas concentrações entre 10 nM-1M) na retenção dos analitos pelo DGT porém foi observada uma queda na retenção dele em valor de pH menor que 5,0.

Garmo *et al.* (2006) realizou um ensaio com dispositivos DGT em solução contendo 55 elementos, foi identificado que a Chelex-100 apresenta bom desempenho para a maioria deles, incluindo Cd e Pb.

Hooda *et al.* (1999) reportou a acumulação de metais (incluindo Cd e Pb) pelo DGT-Chelex (montado com disco de agente difusivo com 0,4mm de espessura) em solo em função do tempo. Para os dois elementos foi possível observar um aumento linear do acúmulo da massa em função do tempo, demonstrando não saturação da resina e não esgotamento da concentração dos elementos na solução do solo em torno do dispositivo em um intervalo grande de tempo (até 150 horas). Uma outra curva, utilizando difusivo de 0,8mm de espessura, foi realizada com intervalos de tempo maior (com duração de 30 dias) e foi observado que nessa condição a demanda do DGT por metais foi maior que na outra situação e portanto demoraria mais para depletar o *pool* de metais adjacentes ao dispositivos e que este comportamento estaria mais análogo ao da absorção que acontece nas raízes de plantas.

Wang *et al.* (2016) realizou um estudo em que analisou a biodisponibilidade de Cd em ensaios com sementes de milho e trigo plantadas em solos contaminados por Cd e Pb, utilizando a DGT. O coeficiente de correlação de Pearson obtido pela determinação de Cd no dispositivo e nas concentrações determinadas em raízes e brotos se mostraram condizentes. Além disso, em um teste adicionando concentrações graduais de Pb no solo foi possível verificar uma queda na biomassa dos indivíduos, demonstrando prejuízo no crescimento; maior absorção de Cd pelas plantas e portanto maior disponibilidade de Cd para elas.

Boas correlações entre a concentração de Cd determinada pelo DGT e concentrações encontradas em várias espécies vegetais também foram observadas por Docekalová *et al.* (2014) utilizando rabanete; Cd e Pb por Nolan *et al.* (2005) utilizando trigo; Cd e Pb por QASIM *et al.* (2016) utilizando feijão-anão, Cd e Pb por Zarrouk *et al.* (2014) utilizando trigo duro.

3. OBJETIVOS

Analisar a aplicabilidade da DGT em estimar a biodisponibilidade de Cd e Pb em solos sob cultivo de cana-de-açúcar.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Equipamentos e acessórios

- Dispositivos DGT – pistão e tampa (DGT Research Limited, Lancaster, Reino Unido);
- Chapa de aquecimento (Tecnal, Te-018, Brasil);
- Capela Fluxo laminar (Marconi, Brasil);
- Agitador magnético (Fisatom – modelo 752, Brasil);
- Agitador orbital (Hoeter Pharmacia Biotech – modelo PR70, USA);
- Centrífuga
- Pipetas automáticas (Gilson).
- Medidor de pH e condutividade (Jenway – modelo 430, Starffordshire, Reino Unido).
- Balança analítica (Gehaka, Brasil);
- Estufa
- Vidrarias, acessórios e equipamentos de uso rotineiro em laboratório de química.
- Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado Modelo Icap 6300 (Thermo Scientific, Alemanha)
- Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado Modelo X-Séries 2 (Thermo Scientific, Alemanha)

4.1.2 Reagentes e soluções

- Ácido nítrico (Merck, Alemanha);
- Ácido clorídrico (Merck, Alemanha)
- Hidróxido de sódio (Merck, Alemanha);
- Resina quelante Chelex 100 (DGT Research Limited, Lancaster, Reino Unido)
- Poliacrilamida (DGT Research Limited, Lancaster, Reino Unido)
- Membrana filtro nitrato de celulose (Sartorius Stedim Biotech Ltda, Alemanha).

- Cloreto de potássio - KCl (Synth, Brasil)
- Nitrato de sódio - NaNO_3 (Synth, Brasil)
- Solução acrilamida (Bio-Rad, China)
- Solução Cross-link para DGT (2%) (DGT Research Limited, Lancaster, Reino Unido)
- Persulfato de amônia 10% (Synth, Brasil)
- Tetrametiletenodiamina 99% - TEMED (Merck, Alemanha)
- Resina de troca iônica Chelex – 100 (Biorad – Estados Unidos)

Todo o volume de a água ultrapura utilizada durante o preparo das soluções foi controlado para ter resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, a purificação do HNO_3 foi obtida por destilação abaixo do ponto de ebulição e todos os materiais utilizados foram descontaminados em HNO_3 a 20% (v v⁻¹) por um período de 4h e lavados 7 vezes com água deionizada e 3 vezes com água ultrapura.

4.1.3 Preparo da solução KCl (1 mol L⁻¹)

Foram diluídas 74,55 g do soluto em 1 L de água ultrapura e agitado até dissolução completa do sal.

4.1.4 Preparo da solução gel

Primeiramente foi realizado o preparo da solução-gel contendo acrilamida, e solução cross-link para posterior utilização no preparo dos discos de Chelex-100 e poliacrilamida. Para preparar 100mL dessa solução foram adicionados 15mL da solução de gel cross-link para DGT, 47,5 mL de água ultrapura e 37,5mL de solução de acrilamida 40% em um frasco e agitados.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Princípios da técnica DGT

- Cálculo C_{DGT}

As concentrações dos metais no DGT podem ser calculadas com base na primeira lei de difusão de Fick, considerando que a C_a (concentração interfacial na água intersticial entre o solo e o DGT) permanece constante durante a imersão devido à constante reposição do soluto a partir da fase sólida, assim:

$$C_a = C_{DGT} = \frac{M \times \Delta_g}{D \times t \times A}$$

Eq. 1

Em que: M = massa acumulada na resina, Δ_g = espessura do gel difusivo, D = coeficiente de difusão do gel, t = tempo de sorção transcorrido, A = área da membrana exposta à solução.

Os coeficientes de difusão para os cálculos foram obtidos a partir de DGT RESEARCH (2016), considerando a temperatura de imersão mantida durante o teste (25°C).

A massa do analito acumulada na resina pode ser determinada por meio da Eq. 2.

$$M = \frac{C_e \times (V_{\text{eluente}} + V_{\text{gel}})}{f_e}$$

Eq. 2

Em que: C_e = concentração do íon determinada no eluído, V_{eluente} = volume de eluente adicionado ao gel com resina, V_{gel} = volume do gel com resina, f_e = fator de eluição. O f_e utilizado para os cálculos foram 0,86 para o Cd e 0,53 para o Pb.

A técnica analítica utilizada para determinar as concentrações de Cd e Pb no DGT foi a ICP-MS por possuir Limite de Detecção (LD) menor que a ICP OES. O LD foi obtido através da triplicação do desvio padrão do valor dos brancos, durante a análise ($LD = 3 \times SD_{\text{branco}}$).

- DGT em solo

Para aplicação da DGT em solo devem ser consideradas as condições da interação fase sólida-solução do solo. É realizada a comparação da concentração obtida pela DGT (C_{DGT}) com a obtida (a partir de outra técnica de amostragem) da água intersticial (C_{SOLO}). Nesse estudo a obtenção da água intersticial foi obtida por centrifugação da amostra e coleta da solução sobrenadante.

Quando devidamente posicionados no solo, o dispositivo DGT induz um fluxo de íons da solução do solo para seu agente ligante, causando diminuição da concentração dos mesmos na solução. Isso implica na reposição destes íons pela fase sólida do solo, induzindo desta maneira um fluxo de íons do solo para a solução afim de se obter a manutenção do equilíbrio entre os três meios.

O fluxo induzido pelo DGT não obrigatoriamente será equivalente ao fluxo da reposição da fase sólida para a solução, dessa forma, de acordo com ZHANG *et al.* (1998), podemos obter três situações de reposição:

- a) Reposição Total ou Constante dos íons desde a fase sólida para a solução: a massa do analito depletada pelo DGT é prontamente repostada pela fase sólida do solo à uma taxa constante, mantendo o equilíbrio. ($C_{\text{DGT}}/C_{\text{SOLO}} > 80\%$)
- b) Reposição parcial: Existe reposição dos íons a partir da fase sólida, porem ela é insuficiente para manter o fluxo inicial, ou seja, está próximo ao potencial fluxo máximo do solo para a solução do solo ($80\% > C_{\text{DGT}}/C_{\text{SOLO}} > 10\%$).
- c) Sem reposição: não haverá reposição, o DGT reterá apenas os íons presentes na solução do solo na região adjacente a ele, ocorrendo à uma taxa decrescente ao longo do tempo ($C_{\text{DGT}}/C_{\text{SOLO}} < 10\%$).

4.2.2 Descrição da área de estudo

A região onde foram realizadas as coletas pertencem a Bacia Sedimentar do Paraná, a qual ocupa toda a porção centro-oeste do Estado de São Paulo e constitui uma sequência de sedimentos variados depositados sobre o Embasamento Cristalino, que agrupa um conjunto de rochas mais antigas, de origem ígnea e metamórfica, mais velhas que 650 milhões de anos (IRITANI & ESAKI, 2008).

Essa área é caracterizada por sua elevada atividade industrial e populacional, tendo como grande importância a produção de cana-de-açúcar, cítricos e pastagens (COMITÊ DE BACIA PCJ, 2006). Trata-se de áreas que há muito tempo tem desenvolvido atividades de monocultura de cana de açúcar, dada a expansão da produção de açúcar e etanol nos últimos anos (figura 2).

Figura 2 - Pontos de coleta das amostras de solo



Outra atividade importante na região é a cerâmica, sendo responsável pela maior parte da produção do estado de São Paulo (BOSCHI, 2004). Durante a coleta, ao longo das estradas foi observada a presença de fragmentos de azulejo e cerâmica pigmentados para a pavimentação das estradas (figura 3).

Figura 3 - presença de fragmentos de azulejo e cerâmica.



4.2.3 Coleta e tratamento das amostras de solo

A coleta foi realizada em 19 pontos localizados entre as cidades de Rio Claro (7), Piracicaba (3), Itacemápolis (1), São Pedro (1), Cordeirópolis (4), Araras (3). As amostras superficiais (máximo de 0,2 m) foram coletadas aleatoriamente em 5 pontos distantes 3m entre si, próximos a vias de acesso aos canaviais e devidamente identificadas. Em laboratório fez-se a homogeneização de cada amostra e catação manual de pedras e partes vegetais. Uma porção de todo o solo foi seco em estufa a uma temperatura de 40°C e posteriormente peneirado em peneira de malha 2mm e reservada conforme descrito por Zhang *et al.* (1998).

4.2.4 Caracterização, preparo e digestão das amostras de solo

Primeiramente foi realizado a digestão das amostras para determinação do teor total delas, a fim de se obter o conhecimento prévio das concentrações de Cd e Pb nos solos. O procedimento de digestão foi adaptado do protocolo EPA 3050B, no qual 5 mL de HNO₃ 50% (v v⁻¹) foi adicionado ao frasco de vidro contendo 0,5g de amostra (peso seco). Após 2 horas foi adicionado 2,5 mL de HNO₃ 100% (v v⁻¹) deixando agir por mais 2 horas e por fim foi mais 2,5 mL de HCl 100% (v v⁻¹), deixando agir por 4 horas. A digestão foi em sistema aberto, sendo que durante todo o processo os frascos permaneceram tampados sem rosquear, e a placa de digestão permaneceu em temperatura controlada entre 90-100 °C ao longo de todo o processo. Ao fim do processo

as amostras foram devidamente diluídas para determinação das concentrações por ICP-OES.

4.2.5 Aferição do pH da solução do solo

Uma porção de solo foi peneirada e utilizada para aferição do pH de acordo com protocolo EMBRAPA (1997), utilizando a solução de KCl 1 mol.L^{-1} : 10 g de cada amostra de solo foi depositado em tubo de centrífuga juntamente com 25 mL de solução KCl. A mistura foi agitada por 15 minutos e deixada em repouso por 30 minutos e posteriormente foi realizada a leitura do pH sobrenadante utilizando phmetro devidamente calibrado.

4.2.6 Preparo dos discos de Chelex-100 (agente ligante)

Em 10mL da solução previamente preparada (solução gel) foram adicionadas 4g de resina Chelex 100 (peso seco), 0,06mL de solução de persulfato de amônia (10%) e 0,015mL do reagente TEMED. Após agitação vigorosa, a solução foi transferida entre duas placas de vidro separadas por um espaçador de 0,25 mm de espessura e mantida por 4 hora na estufa, em temperatura controlada entre 37-42°C. Em seguida a lâmina de gel solidificada foi imersa em água ultrapura por 24 horas e posteriormente cortada em forma de discos de 25 mm de diâmetro e 0,4 mm de espessura e armazenados em NaNO_3 $0,1\text{ mol L}^{-1}$ até a utilização.

4.2.7 Preparo do gel de poliacrilamida (agente difusivo)

Em 10mL da solução previamente preparada (solução gel) foram adicionadas 0,07 mL de solução de persulfato de amônia (10%) e 0,025mL do reagente TEMED. Após agitação vigorosa, a solução foi transferida entre duas placas de vidro separadas por um espaçador de 0,5 mm de espessura e mantida por 1 hora na estufa, em temperatura controlada entre 42-46°C. Em seguida a lâmina de gel solidificada foi imersa em água ultrapura por 24 horas e posteriormente cortada em forma de discos de 25 mm de diâmetro e 0,8 mm de espessura e armazenados em NaNO_3 $0,1\text{ mol L}^{-1}$ até a utilização.

4.2.8 Descontaminação do nitrato de celulose (filtro)

O filtro de nitrato de celulose (Sartorius Stedim Biotech Ltda) é obtido na forma de discos de 2,5 cm de diâmetro com porosidade de 0,45 μm e espessura entre 115-145 μm .

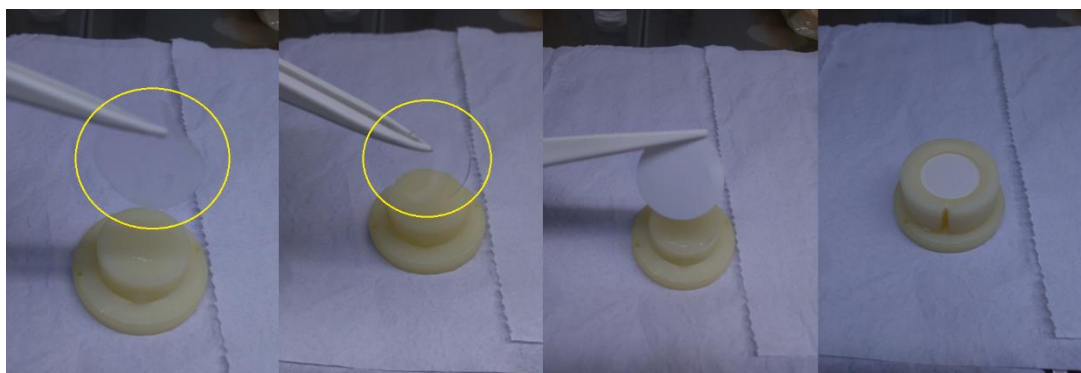
Antes do uso, passam por processo de descontaminação: imersão dos filtros em solução de HNO_3 20% (v v^{-1}) por 4 horas, em seguida lavados com água ultrapura até o pH da solução de lavagem chegar próximo da neutralidade (pH 5,5 – 7,5).

Após o processo de descontaminação os filtros foram acondicionados em solução de NaCl 0,1 mol L^{-1} .

4.2.9 Montagem do DGT

Sobre a peça pistão é colocado primeiramente o disco de agente ligante, garantindo que a face rugosa (resina precipitada) dele fique voltada para cima, em contato com o agente difusivo e por fim o disco de filtro de nitrato de celulose. Para prender os discos é colocada a presilha, contendo uma abertura na extremidade (área de exposição = 3,14 cm^2) por onde ocorrerá o contato do DGT com o meio em que está imerso (vide Figura 5).

Figura 5 - Montagem dos dispositivos do DGT.

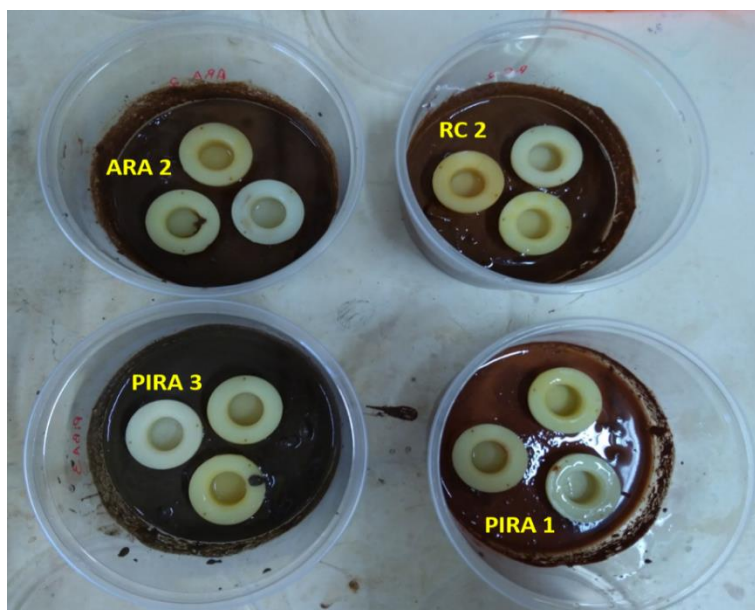


4.2.10 Preparo do solo para imersão do DGT

Com base no resultado da digestão, nos valores de pH, e na granulometria foram selecionados 4 solos para o experimento com DGT: ARA 2, PIRA 1, PIRA 3, RC 2. 150g

de cada solo já peneirado foi alocado separadamente em recipientes de plástico e hidratados até que a capacidade de absorção de água seja máxima, sem haver separação de fase e mantida em repouso por 24 horas. Após o período 3 dispositivos DGTs devidamente montados foram alocados em cada solo e permaneceram por um período de 24 horas (86.400s) tampados, conforme figura 6.

Figura 6 - Alocação dos dispositivos sobre as amostras de solo.



4.2.11 Retirada e eluição dos discos

Ao fim do período, os dispositivos foram rompidos e os discos de Chelex 100 foram recuperados e imersos em tubos de centrífuga contendo 2mL HNO_3 1 mol L^{-1} e mantidos sob agitação constante a 600rpm por 24 horas. Este procedimento garante a recuperação de todos os íons retidos nos discos. Após o período de eluição os discos foram retirados e descartados.

4.2.12 Obtenção da amostra de água intersticial (Csolo).

Logo após a retirada dos dispositivos DGTs, parte da massa de solo foi transferida para tubos de centrífuga e mantidos sob centrifugação por 20 minutos à 4000 rpm. Após

o processo, houve separação da amostra em duas fases, e foi retirada uma alíquota de 1,5 mL de cada triplicata.

4.2.13 Preparação das amostras e determinação de metais por ICP MS.

Os frascos contendo a solução eluída e as alíquotas de água intersticial das amostras de solo selecionadas foram devidamente acidificadas, diluídas e posteriormente encaminhadas para determinação da concentração dos elementos por ICP-MS.

5. Resultados e discussão

Os resultados da digestão e da aferição do pH das amostras estão apresentados na Tabela 1. Foi considerado o valor médio entre as triplicatas da digestão, considerando o desvio padrão relativo menor que 20%.

Tabela 1 - Concentração média de Cd e Pb determinadas por ICP OES após digestão ácida e valor de pH das amostras de solo coletadas.

Amostras	Concentração de Cd (mg/kg)	Concentração de Pb (mg/kg)	pH
IRA	<LD*	16,87	5,58
SP	0,08	7,34	5,35
COR 1	0,29	20,08	5,14
COR 2	0,34	11,81	5,71
COR 3	0,40	15,81	4,52
COR 4	0,45	31,59	5,14
ARA 1	0,45	32,46	5,00
ARA 2	0,88	22,31	5,44
ARA 3	0,34	11,79	6,19
PIRA 1	0,73	40,91	6,44
PIRA 2	0,57	43,56	6,14
PIRA 3	0,58	16,54	6,22
RC 1	0,43	11,36	5,93
RC 2	0,55	37,33	6,64
RC 3	<LD*	27,09	4,48
RC 4	0,08	31,61	5,16
RC 5	0,18	6,96	5,30
RC 6	0,42	9,51	6,04
RC 7	0,26	19,93	5,18

* <LD: Valores obtidos foram menores que o limite de detecção do equipamento.

Os solos ARA 2, PIRA 1, PIRA 3 e RC 2 foram os selecionados para os estudos seguintes pelas características comum de majoritariamente apresentarem granulometria fina (argilosos), maior valor de pH ($\text{pH} > 5,0$ = ideal para utilização do DGT-Chelex) e por apresentarem maior concentração dos elementos e possivelmente uma maior fração dessa concentração estaria lábil para retenção pelo DGT.

Os valores de massa eluída do analito, C_{DGT} e C_{SOLO} estão apresentadas na tabela a seguir (Tabela 2). Foi considerada a média entre as triplicatas, sendo o valor de 20% de desvio padrão relativo adotado como limite máximo de variação entre as replicatas.

Tabela 2 - Valores de massa eluída do analito, C_{DGT} e C_{SOLO} determinadas em ICP- MS.

	Massa (mg/L)		C_{DGT} (mg/L)		C_{SOLO} (mg/L)	
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
ARA 2	<LD	NA	<LD	NA	0,49	5,52
RC 2	<LD	7,78	<LD	0,33	0,69	NA
PIRA 1	<LD	NA	<LD	NA	0,42	1,45
PIRA 3	<LD	1,47*	<LD	0,06	0,56	4,39

NA: Média entre as triplicatas não atendeu ao limite máximo de variação adotado (desvio padrão relativo maior que 20%).

<LD: Valores obtidos foram menores que o limite de detecção do equipamento.

*: n=2.

A determinação da taxa de reposição (C_{DGT}/C_{SOLO}) foi possível para a amostra PIRA 3 para o elemento Pb, obtendo o valor 0,01, o que indica que nesta amostra não houve reposição do analito para água intersticial.

A grande variação entre os valores das replicatas da C_{DGT} para o Pb impediram a determinação da C_{DGT} e da C_{SOLO} nas outras 3 amostras (ARA 2, RC 2 e PIRA1), impossibilitando a obtenção da taxa de reposição do elemento nos solos e a interpretação sobre a sua cinética no sistema. Esse resultado demonstra a complexidade da matriz e ressalta a dificuldade de homogeneização inerentes à amostras de solos.

Para o Cd não foi possível analisar a taxa de reposição (C_{DGT}/C_{SOLO}) pois a concentração determinada foi menor que o limite de detecção (LD) do ICP-MS. As determinações do teor total do solo já haviam resultado em valores baixos para praticamente todas as amostras, potencialmente diminuindo a chance de realizar a determinação da labilidade do elemento nesses solos.

Comparando a concentração determinada por digestão (C_{dig}) e a determinada em água intersticial (C_{SOLO}) pode-se inferir que a C_{SOLO} não é diretamente correlacionada com a concentração dos elementos presentes no solo (C_{dig}). Os resultados estão mostrados a seguir (Tabela 3). Foi considerada a média entre as triplicatas, sendo o valor de 20% de desvio padrão relativo adotado como limite máximo de variação entre as replicatas.

Tabela 3 – C_{SOLO} de Cd e Pb determinada por ICP-MS e correlação com suas respectivas concentrações obtida em digestão.

	Cd			Pb		
	C _{SOLO} (mg/L)	C _{dig} (mg/kg)	Correlação (%)	C _{SOLO} (mg/L)	C _{dig} (mg/kg)	Correlação (%)
ARA 2	0,49	880	0,06	5,52	22310	0,02
RC 2	0,69	550	0,13	NA	37333	NA
PIRA 1	0,42	730	0,06	1,45	40910	0,00
PIRA 3	0,56	580	0,10	4,39	16540	0,03

NA: Média entre as triplicatas não atendeu ao limite máximo de variação adotado (desvio padrão relativo maior que 20%).

Os valores de correlação demonstram que C_{SOLO} representa até 13% da concentração de total de Cd nas amostras e para o Pb a maior correlação observada foi 3%, sugerindo que a maior concentração dos dois elementos está na fração de carbono ou na forma de óxidos. Portanto infere-se que ambos os elementos, apesar de presente na água intersticial, apresentam um comportamento quase inerte, e assim pouco disponível para assimilação pelos organismos.

A C_{SOLO} neste trabalho foi determinada através da coleta da água intersticial. Outras técnicas também se mostram eficientes na determinação da C_{SOLO}. Porém, em contrapartida, podem apresentar dificuldades para análise devido ao aumento dos limites de detecção (LD) e riscos de contaminações.

Wang *et al.* (2016) determinou a C_{DGT} e a C_{SOLO} nas mesmas condições deste trabalho e obteve alta taxa de reposição para o Cd em solo contaminado com Cd e Pb. O autor relatou que a adição de Pb no solo fez com que houvesse um aumento na afinidade de íons de Pb pelas partículas do solo, em detrimento dos íons de Cd e assim os íons de Cd se tornaram lábeis na solução do solo.

Muhammed *et al.* (2012) determinou a C_{SOLO} para o elemento Cd por meio da centrifugação e posterior filtração utilizando filtro de seringa em 4 tipos de solo, sob tratamento de três valores de pH (original; 4,5 e 3,5). Os resultados obtidos mostraram que em 3 tipos de solo houve menor valor de reposição em pH baixo, enquanto que valores maiores foram observados em solo com tratamento de pH 4,5, inclusive maior que o controle (pH original). Neste tratamento os valores obtidos para a reposição de Cd foi 0,2, assumindo comportamento quase inerte do Cd nessas amostras.

Pradit *et al.* (2013) utilizou a técnica DET para determinar a C_{SOLO} e realizar um estudo sobre a mobilidade de metais em amostras de sedimento. A técnica se baseia no uso do disco difusivo para obter um equilíbrio entre o disco e a solução onde está imersa, não havendo seleção de analito nem pré-concentração dele. De acordo com o autor, foi obtido um resultado satisfatório na análise do perfil de labilidade de elementos traços nas amostras.

6. Conclusão

Mesmo em concentrações baixas, a técnica DGT foi capaz de avaliar a taxa de reposição de Cd e Pb nos solos amostrados, sendo capaz de identificar e quantificar a mobilidade de Pb na amostra PIRA 3 como baixa ($<0,08$). Também foi possível classificar a taxa reposição Cd em todos os solos como baixíssima pois o valor da C_{DGT} determinada foi menor que o valor de limite de detecção do ICP-MS.

O entendimento da dinâmica dos processos em solo representa um desafio para garantir um bom resultado quanto a biodisponibilidade dos elementos devido às imprecisões e a complexidade que a matriz oferece, mas a técnica DGT tem se mostrado promissora nessa análise. Os testes em solo que estão sendo realizados no Brasil são pioneiros e devem ser dedicado mais esforços na otimização de métodos para determinar C_{SOLO} e C_{DGT} .

Referências bibliográficas

Alloway, B. J. Sources of heavy metals and metalloides in soils. In: _____. **Heavy metals in soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their bioavailability**. 3ª edição. Springer Netherlands. 2013. Cap 2, p. 11-50. Disponível em: Google livros. Acesso em: março 2018.

Alloway e Ayres. Transport and behavior of pollutants in the environment. In: _____. **Chemical principles of environmental pollution**. 2ª edição. Londres: Blackie academic & professional. 1997. Cap2, P. 17-64.

Baird, C. Metais pesados tóxicos. In: _____. **Química Ambiental**. 2ª edição. Porto Alegre: Bookman. 2002; Cap. 7, p. 403-433.

Bergkvist, P.; Jarvis, N. ; Berggren, D.; Carlgren, K. 2003. Long-term effects of sewage sludge applications on soil properties, cadmium availability and distribution in arable soil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 97: 167-179.

Boschi, Anselmo. (2004). THE BRAZILIAN CERAMIC TILE INDUSTRY. **Ceramic Forum International**. 86.

Bruemmer, G.W.; Gerth, J.; Herms, U. 1986. Heavy Metal Species, Mobility and Availability in Soils. **Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.** 149: 382-398.

Comitê das bacias hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari E Jundiá (Comitê de bacia PCJ). Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Plano de Bacias Hidrográficas 2004-2007 dos Rios Piracicaba, Capivari E Jundiá. Relatório Final. 2006. Disponível em: < <http://www.comitepcj.sp.gov.br/>>. Acesso em março de 2018.

Companhia ambiental do estado de São Paulo. **CETESB**. Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo. Publicado no Diário Oficial Estado de São Paulo - Caderno Executivo I (Poder Executivo, Seção I), edição nº126 (219) do dia 24/11/2016 Páginas : 55 e 56

David, A.J., Leventhal, A.J., 1995. Bioavailability of metals. Ch. 2 in: **Preliminary compilation of descriptive geoenvironmental mineral deposit models** Edward A. du Bray, Editor. U.S.G.S. Open-File Report 95-831, Denver, Colorado.

Davison, W.; Zhang, H. 1994. In-situ speciation measurements of trace components in natural-waters using thin-film gels. **Nature**. 367:546-548.

de Oliveira, R.L.F., Pedrobon, J.H., Menegário, A.A., Domingos, R.N., Py, D.A., Kiang, C.H., 2013. Determination of in situ speciation of manganese in treated acid mine drainage water by using multiple diffusive gradients in thin films devices. **Analytica Chimica Acta**. 799:23-2.

Dgt Ressearch. Tabela para calcular os coeficientes de difusão dos analitos comumente medidos no gel em qualquer temperatura entre 1 e 35°C. William Davison, Cambridge University Press, 2016.

Diviš, P., Dočekalová, H., Brulík, L., Pavliš, M., Hekera, P., 2007. Use of the diffusive gradients in thin films technique to evaluate (bio)available trace metal concentrations in river water. **Anal Bioanal Chem**, 387:2239–2244.

Dočekalová, H. Škarpa, P., Dočekal, B. 2015. Diffusive gradient in thin films technique for assessment of cadmium and copper bioaccessibility to radish (*Raphanus sativus*). **Talanta**. 134: 153-157.

Empresa brasileira de pesquisa agropecuária, **EMBRAPA**. *Remediação de solos e águas contaminadas por metais pesados - Conceitos Básicos & Fundamentos*. 1.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2013. 15-47.

Garmo, O. et al. Performance study of diffusive gradients in thin films for 55 elements. 2003. **Analytical Chemistry**. 77: 3573-3580.

Gimeno-Garcia, E.; Andreu, V.; Boluda, R. 1995. Heavy metals incidence in the application of inorganic Fertilizers and pesticides to rice farming soil. **Environmental Pollution**. 92:19-25

Guilherme, I. R. G.; Marques, J. J.; Pierangeli, M. A. P.; Zuliani, D. Q.; campos, M. L. & Marchl, G., 2005, "Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos". In: Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, vol. IV, pp. 345- 390.

He, Q., Singh, B., 1993. Effect of organic matter on the distribution, extractability and uptake of cadmium in soils. **Journal of Soil Science**, 44:641-650.

Hooda, P. S., Zhang, H., Davison, W., & Edwards, A. C. (1999). Measuring bioavailable trace metals by diffusive gradients in thin Films (DGT): soil moisture effects on its performance in soils. **European Journal of Soil Science**. 50: 285–294.

Iritani M. A., Ezaki S., 2008. As Águas Subterrâneas do Estado de São Paulo, Caderno de Educação Ambiental, Instituto Geológico, 104 p.

Kabata-Pendias, A. 2004. Soil–plant transfer of trace elements - an environmental issue. **Geoderma**.122:143–149.

Langer, C. N.; Contaminação do solo e mobilidade de As, Cd, Mo, Pb e Zn em colunas de solo franco arenoso com ciza de carvão. 2012. Dissertação (Mestre em ciência na área de tecnologia nuclear-material. **Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares**, São Paulo.

Liang, J.; Feng, C.; Zeng, G.; Zhong, M.; Gao, X.; Li, X.; He, X.; Fang, Y.; Mo, D. 2017. Atmospheric deposition of mercury and cádmium impacts on topsoil in a typical coal mine city, Lianyuan, China. **Chemosphere**. 189:198-205.

Lee, P-K.; Choi, B-Y.; Kang, M-J. 2015. Assessment of mobility and bio-availability of heavy metals in dry depositions of Asian dust and implications for environmental risk. 2015. **Chemosphere**. 119:1411–1421.

Muhammad, I.; Puschenreiter, M.; Wenzel, W. W.; Cadmium and Zinc availability as affected by pH manipulation and its assessment by soil extration, DGT and indicator plants. 2012. **Science of the total environment**. 416: 490-500.

Naidu, R. Bolan, N.S., KOOKANA, R. S. Tiller, K. G. 1994. Ionic strenght na pH effects on the sorption of cádmium and the surface change of soils. **European Journal of Soil Science**. 45: 419-429.

Nolan, A.L.; Zhang, H.; McLaughlin, M.J. 2005. Prediction of zinc, cadmium, lead, and copper availability to wheat in contaminated soils using chemical speciation, diffusive gradients in thin films, extraction, and isotopic dilution techniques. **Journal of Environmental Quality**.34, 496–507.

Nriagiu, J., and Pacyna, J (1988) Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals, **Nature**, 33(6169): 134-139.

Paoliello, M.M.B; De Capitani E. M. (2007) Occupational and environmental human lead exposure in Brazil. **Environmental Research** 103: 288–297

Pradit, S., Gao, Y., Faiboon, A., De Galan, S., Baeyens, W., Leermakers, M., 2013. Application of DET (diffusive equilibrium in thin films) and DGT (diffusive gradients in thin films) techniques in the study of the mobility of sediment-bound metals in the outer section of Songkhla Lake, Southern Thailand. **Environ. Monit. Assess**. 185 (5), 4207–4220.

Prokop, Z.; Cupr, P.; Zlevorova-Zlamalikova, V.; Dusek, L.; Holoubek, I. 2003. Mobility, bioavalability, and toxic effects od cadmium in soil samples. **Enviromental Research**. 91: 119-126

Peralta-Videa, J. R.; Lopez, M. L.; Narayana M.; Saupea,G.; Gardea-Torresdey, J. 2009. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. 41:1665–1677.

Qasim, B., Motelica-Heino, M., Joussein, E., Soubrand, M., Gauthier, A. 2016. Diffusive gradients in thin films, Rhizon soil moisture samplers, and indicator plants to predict the bioavailabilities of potentially toxic elements in contaminated technosols. **Environm Sci Pollut Res**. 23:8367-78.

Rieuwerts, J.S.; Ashmore, M.R.; Farago M.E.; Thornton, I. 2006. The influence of soil characteristics on the extractability of Cd, Pb and Zn in upland and moorland soils. **Science of total environment**. 366: 864– 875.

Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – **Sindag**. Agrotóxicos no Brasil. 1998. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_40_2102_00792814.html. Acesso em março de 2018.

União da Agroindústria Canavieira do Estado de São Paulo. **UNICA**. Setor Sucroenergético. 2015. Disponível em: <<http://www.unica.com.br>>. Acesso em: 10 janeiro 2017.

Wang, P.; Wang, T.; Yao, Y.; Wang, C.; Liu, C.; Yuan, Y. A Diffusive Gradient-in-Thin-Film Technique for Evaluation of the Bioavailability of Cd in Soil Contaminated with Cd and Pb. 2016. **International Journal of Environmental Research Public Health**. 13: 556.

Zarouk, S.; Bermond, A.; Benzina, N. K.; Sappin-Didier, V.; Denaix, V. 2014. Diffusive gradient in thin-film (DGT) models Cd and Pb uptake by plants growing on soils amended with sewage sludge and urban compost. **Environmental Chemistry Letter**. 12:191–199.

Zhang, H., Davison, W., Knight, B., McGrath, S., 1998. In situ measurements of solution concentrations and fluxes of trace metals in soils using DGT. **Environmental Science Technology**, 32:704–710.

Zhang, H., Davison, W. 1995. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. **Analytical Chemistry**. 67: 3391–3400.