

Trabalho Final de Mestrado em Engenharia Ambiental  
Modalidade: Dissertação

**DESEMPENHO DE SOJA E BRAQUIÁRIA NA  
FITORREMEDIÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS  
COM PETRÓLEO**

*Christiane Rosas Chafim Aguiar*

Orientadora: *Profa. Dra. Marcia Marques Gomes*

Co-orientador: *Prof. Dr. Fabiano de Carvalho Balieiro*

Centro de Tecnologia e Ciências  
Faculdade de Engenharia  
Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente

Outubro de 2006

# DESEMPENHO DE SOJA E BRAQUIÁRIA NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM PETRÓLEO

Christiane Rosas Chafim Aguiar

Trabalho Final submetido ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovada por:

---

Prof<sup>a</sup>. Macia Marques Gomes, PhD  
PEAMB/FEN/UERJ

---

Prof. Fabiano de Carvalho Balieiro, DSc  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-UFRRJ

---

Maria Luiza de Araujo, Dra.,  
Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro – PESAGRO

---

Prof. Sérgio Machado Corrêa, DSc  
Faculdade de Tecnologia-UERJ

---

Luciene Pimentel da Silva, Ph.D.,  
PEAMB/FEN/UERJ

Universidade do Estado do Rio de Janeiro  
Outubro de 2006

AGUIAR, CHRISTIANE ROSAS CHAFIM  
Desempenho de soja e braquiária na  
fitorremediação de solos contaminados com  
petróleo.

[Rio de Janeiro] 2006.

xiii, 109 p. 29,7 cm (FEN/UERJ, Mestrado,  
Programa de Pós-graduação em Engenharia  
Ambiental - Área de Concentração: Saneamento  
Ambiental - Controle da Poluição Urbana e  
Industrial, 2002.)

Dissertação - Universidade do Estado do Rio de  
Janeiro - UERJ

1. Fitorremediação,
2. Biorremedição,
3. Atenuação Natural,
4. Hidrocarbonetos de Petróleo,
5. HTPs,
6. HPAs,
7. Áreas Contaminadas.

I. FEN/UERJ II. Título (série)

Resumo do Trabalho Final apresentado ao PEAMB/UERJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental

## Desempenho de soja e braquiária na fitorremediação de solos contaminados com petróleo

Christiane Rosas Chafim Aguiar

Outubro de 2006

Orientadora: Márcia Marques Gomes

Co-orientador: Fabiano de Carvalho Balieiro

Área de Concentração: Saneamento Ambiental - Controle da Poluição Urbana e Industrial

A exploração, processamento, transporte, armazenamento e utilização do petróleo e derivados têm resultado num grande número de acidentes e vazamentos de proporções variadas. Existe uma demanda crescente por soluções técnica, ambiental e economicamente viáveis em países em desenvolvimento, tais como a biorremediação e fitorremediação. O desempenho de tais tecnologias é pouco estudado em condições tropicais, sendo o conhecimento disponível ainda limitado a regiões de clima temperado. No presente estudo, o desempenho de *Glycine max* e *Brachiaria bizantha* na fitorremediação de solos contaminados a 3% com óleo cru (peso/peso seco) foi avaliado em casa de vegetação. A biometria incluiu: área foliar, comprimento aéreo e radicular e biomassa seca aérea e radicular. Cortes anatômicos de folha, caule e raiz em solo contaminado e controle foram analisados em microscopia ocular. Os teores de HTPs, BTEX e HPAs no solo contaminado com e sem planta, e no solo contaminado sem microorganismos com azida sódica a 3% (p/peso seco) (processos abióticos) foram investigados através de extração, seguida de CG/EM. As populações de fungos no solo controle e contaminado com plantio de soja e braquiária foram identificadas quanto a UFCs e gêneros presentes. Verificou-se que a presença de óleo afeta significativamente o desenvolvimento das plantas de ambas as espécies com base nas variáveis biométricas; a braquiária foi mais afetada que a soja. Em solo contaminado, a soja apresentou parênquima paliçádico com substância escura aderida à suas células e parênquima clorofiliano do caule com acúmulo de substância escura; a braquiária apresentou número inferior de cloroplastos em tecido fotossintetizante e acúmulo de substância escura nas paredes anticlinais das células da bainha. A presença de óleo afetou qualitativa e quantitativamente as populações de fungos no solo e na raiz. Com relação ao desempenho na redução de HTPs, BTEX e HPAs do solo, verificou-se que: (i) os processos abióticos desempenham papel importante nos primeiros 30 dias, sobrepujados pelos processos bióticos (atenuação natural e fitorremediação), particularmente aos 60 dias; (ii) a atenuação natural teve melhor desempenho na redução de HPAs aos 30 dias e a soja, o melhor desempenho aos 60 dias, especialmente para HPAs de 4, 5 e 6 anéis. A soja teve desempenho superior à braquiária na maioria dos casos. A fitorremediação provavelmente tem eficiência aumentada a longo prazo. Sugere-se experimentos com cultivares e/ou espécies de ciclo de vida mais longo.

**Palavras-Chave:** fitorremediação, biorremedição, atenuação natural, hidrocarbonetos de petróleo, HTPs, HPAs

Abstract of Dissertation presented to FEN/UERJ as a partial fulfillment of the requirements  
for the degree of Master of Science in Environmental Engineering (M.Sc.)

## Performance of *Glycine max* and *Brachiaria bizzanthera* in the Phytoremediation of Petroleum-Contaminated Soils

**Christiane Rosas Chafim Aguiar**

October/2006

Advisors: Dr. Marcia Marques Gomes

Dr. Fabiano de Carvalho Balieiro

Area: Environmental Sanitation - Urban and Industrial Pollution Control

Post-Graduation in Environmental Engineering – Environmental Sanitation - Urban and  
Industrial Pollution Control

Prospecting, processing, transport, storage and use of petroleum and by-products have frequently resulted in accidents and spills of different proportions. There is an increasing demand for technical, environmental and economical feasible solutions for developing countries, such as bioremediation and phytoremediation. Up to now, the performance of these technologies has seldom been tested in tropical conditions, being the knowledge mostly limited to temperate climate regions. In this study, the performance of *Glycine max* (soybean) and *Brachiaria bizzanthera* (braquiaria) to remediate soil contaminated with 3% of crude oil (mass/dry mass) was studied in greenhouse. Biometry included leaves area, aerial and root length, aerial and root dry biomass. Anatomical cutting of leaves, stem and root were investigated through ocular microscopy. TPHs, BTEX and PAHs were extracted from soil and analyzed with GC/MS in: (i) soil with plants; (ii) soil without plants; (iii) soil with no plants or microorganisms (abiotic processes) obtained with sodic azide 3% (weight/dry weight). At day 30, the number of colony forming units (CFU) and the existing genera were identified. It was found that the oil in the soil affected significantly the development of both species regarding biometrics, being braquiaria more affected than soybean. In contaminated soils soybean showed the presence of a dark substance adhered to the palisade parenchyma cells as well as to the stem chlorophyll parenchyma cells; braquiaria showed fewer chloroplasts in the photosynthetic tissue and accumulation of dark substance in the anticlinal walls of the sheath cells. The presence of oil in the soil affected the quantity and diversity of the fungi populations. Regarding the performance in reducing extractable HTPs, BTEX e HPAs, although the differences were small: (i) abiotic processes play an important role during the first 30 days, which are overtaken by biotic processes (natural attenuation and phytoremediation) at day 60; (ii) natural attenuation performed better in reducing PAHs at day 30, but soybean was better at day 60th, particularly for 4, 5 and 6-ring PAHs. Soybean performed better than braquiaria in most of the cases. The results suggest that the presence of plants increase the remediation efficiency in a medium-long term perspective. Additional studies are suggested with strains or species with longer life cycle.

**Palavras-Chave:** phytoremediation, bioremediation, natural attenuation, petroleum hydrocarbons, TPHs, HPAs,

*“Os momentos de despedida não existem para aqueles que são eternos!”*

*(César Augustinis in memoriam)*

*À minha amada mãe, por seu carinho e amor incondicional!*

*Ao meu namorado, por seu companheirismo!*

## **Agradecimentos**

À Deus, por permanecer sempre comigo em todos os momentos;

À minha orientadora, Dr<sup>a</sup> Marcia Marques Gomes, pela amizade, apoio, força, dedicação e conhecimentos transmitidos;

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Fabiano Balieiro, pela orientação, dedicação e compreensão durante todas as etapas deste trabalho;

À Dra. Maria Luiza Araújo e toda equipe da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro – Pesagro-Rio, pelo apoio, incentivo e acesso às instalações da Estação Experimental de Seropédica;

Ao Dr. Marcelo Fraga, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo apoio na identificação dos fungos;

Ao Prof. Sérgio Machado, pelo apoio nas dúvidas das análises químicas;

Aos membros da banca pela valiosa contribuição nos aprimoramentos deste trabalho;

Aos amigos e também biólogos, Bruno Lopes e Max Doria pelo apoio nos cortes histológicos e análises microscópicas;

À minha mãe Elenice Silveira Rosas por ter sempre me apoiado independentemente das minhas escolhas, sendo compreensiva, amorosa e dedicada, apesar das dificuldades;

Ao meu namorado, Eduardo Shinji Togoro, por seu companheirismo, dedicação, amizade, apoio e principalmente, pela ajuda nos momentos de tradução dos textos;

À minha família, minhas avós, pais, irmãos, sobrinhos e tios, por estarem muito presentes em minha vida e por sempre me darem apoio;

À minha segunda família, a família Togoro, pelo carinho e amizade;

Às minhas amigas, Gabrielle e Giselle, pela presença em minha vida e carinho incondicional dedicados a mim quando preciso, e a Giselle um agradecimento especial por me ensinar como montar e fazer análises em um experimento agrônomico;

Aos amigos integrantes atuais ou antigos do Grupo de Pesquisa BioProcess UERJ/CNPq: Paulo, Giselle, Fábio, Gobby, Eduardo, Thaís, Jonatas, Raphael, Diogo, Handerson e Marcelo pela amizade e desafios compartilhados;

Aos amigos João, Diogo, Osvaldo, Paulinho, Iasmine e Renata pelo apoio, incentivo e amizade, principalmente nos momentos difíceis.

Aos meus amigos em geral, os meus sinceros agradecimentos por tudo.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>XI</b>
<b>PARTE DESSA DISSERTAÇÃO GEROU OS SEGUINTE PUBLICAÇÕES E MANUSCRITOS:.....</b>	<b>XII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>XIII</b>
<b>1 CONTEXTUALIZAÇÃO/ RELEVÂNCIA DO TEMA .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>5</b>
2.1 Objetivo Geral .....	5
2.2 Objetivos Específicos .....	5
<b>3 ABORDAGEM METODOLÓGICA.....</b>	<b>6</b>
<b>4 O PETRÓLEO E A CONTAMINAÇÃO DOS SOLOS .....</b>	<b>7</b>
4.1 Aspectos gerais do petróleo .....	7
4.2 Composição do Petróleo.....	8
4.2.1 Características gerais.....	8
4.2.2 Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos - BTEX.....	12
4.2.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - HPAs .....	12
4.3 Transporte ambiental e distribuição entre os diferentes meios.....	18
4.3.1 Contaminação ambiental por petróleo na água.....	19
4.3.2 Contaminação ambiental por petróleo no ar.....	20
4.3.3 Contaminação ambiental por petróleo no solo .....	20
4.4 O solo .....	22
4.4.1 Organismos no solo .....	23
4.4.2 Substâncias naturalmente ausentes no solo.....	24
<b>5 METODOLOGIAS DE REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS .....</b>	<b>26</b>
5.1 Técnicas de remediação de solos contaminados.....	26
5.2 Remediação com base em processos físico-químicos .....	27
5.2.1 Desorção Térmica.....	28
5.2.2 Extração por vapor.....	28
5.2.3 Incineração.....	29
5.2.4 Pump and treat.....	29
5.2.5 Barreiras reativas permeáveis.....	30
5.3 Remediação com base em processos biológicos .....	30
5.3.1 Fatores que afetam a biodegradação.....	30
5.3.2 Biodisponibilidade e biodegradação de xenobióticos no solo.....	31
5.3.3 Biorremediação.....	33
5.3.4 Landfarming.....	36
5.3.5 Compostagem.....	37
5.3.6 Biopilhas.....	37
5.3.7 Biorreatores.....	38
5.3.8 Fitorremediação .....	39
<b>6 FITORREMEDIAÇÃO .....</b>	<b>41</b>
6.1 Mecanismos de fitorremediação.....	42
6.1.1 Fitoextração.....	43
6.1.2 Rizofiltração.....	43
6.1.3 Fitoestabilização.....	44

6.1.4	<i>Fitodegradação</i> .....	44
6.1.5	<i>Fitovolatilização</i> .....	45
6.1.6	<i>Fitoestimulação e rizodegradação</i> .....	46
6.1.7	<i>Barreira hidráulica com plantas</i> .....	46
6.1.8	<i>Capas vegetativas</i> .....	46
<b>7</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>47</b>
7.1	Condições Experimentais .....	47
7.2	Seleção das espécies vegetais utilizadas.....	49
7.3	Biometria das plantas.....	49
7.3.1	Área foliar.....	50
7.3.2	Comprimento da parte aérea e da raiz.....	50
7.3.3	Biomassa aérea e radicular.....	50
7.4	Amostragem de solo e procedimentos analíticos .....	51
7.4.1	Análise físico-química do óleo cru .....	51
7.4.2	Procedimentos analíticos: teores de BTEX, HPAs e HTPP no solo.....	52
7.5	Comparação das concentrações finais de BTEX e HPAs com valores orientadores.....	53
7.6	Procedimento para análise da diversidade fúngica no solo .....	54
7.7	Cortes anatômicos.....	54
7.8	Análises estatísticas .....	55
<b>8</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>56</b>
8.1	Dados de fertilidade do solo: 0d e 60d .....	56
8.1.1	Soja .....	56
8.1.2	Braquiária.....	57
8.2	Caracterização do óleo cru utilizado.....	58
8.3	Biometria das plantas: controle e não-contaminado aos 30 e 60 dias .....	60
8.3.1	Biometria: Comprimento da parte aérea (CA).....	60
8.3.2	Biometria: Comprimento da raiz (CR).....	61
8.3.3	Biometria: Área Foliar (AF).....	63
8.3.4	Biometria: Biomassa Aérea (BA).....	65
8.3.5	Biometria: Biomassa Radicular (BR).....	67
8.4	Quantificação dos HTPs, BTEX e HPAs no solo.....	73
8.4.1	Quantificação dos hidrocarbonetos totais de petróleo HTP.....	73
8.4.2	Quantificação dos hidrocarbonetos monoaromáticos de petróleo BTEX.....	76
8.4.3	Quantificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de petróleo HPAs.....	78
8.5	População fúngica: raiz e solo controle e contaminado.....	85
8.6	Análise dos cortes anatômicos: 30 dias .....	88
<b>9</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>92</b>
<b>10</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>95</b>
<b>11</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>106</b>

## Lista de Figuras

Figura 1 - Classificação química dos hidrocarbonetos de petróleo (LIMA, 2004).....	9
Figura 2 – Os dezesseis HPAs prioritários de acordo com a U.S. EPA (Lima, 2004). .....	18
Figura 3 – Processos de adsorção que determinam à persistência de fenantreno no solo (REID et al., 2000). .....	22
Figura 4 – Escalas granulométricas em mm, segundo diferentes agências (VARGAS, 1977). .....	23
Figura 5 – Casa de vegetação de baixo custo onde foi realizado o experimento. ....	47
Figura 6 - Temperatura e umidade relativa média mensais registrada durante a condução do experimento. ....	48
Figura 7 - Boxplot do comprimento da parte aérea de <i>Glycine max</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CA30GmCo e CA30Gm3%) e aos 60 dias (CA60GmCo e CA60Gm3%). .....	60
Figura 8 - Boxplot do comprimento da parte aérea de <i>Brachiária brizantha</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CA30BbCo e CA30Bb3%) e aos 60 dias (CA60BbCo e CA60Bb3%).....	61
Figura 9 - Boxplot do comprimento da raiz de <i>Glycine max</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CR30GmCo e CR30Gm3%) e aos 60 dias (CR60GmCo e CR60Gm3%). .....	62
Figura 10 - Boxplot do comprimento da raiz de <i>Brachiária brizantha</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CR30BbCo e CR30Bb3%) e aos 60 dias (CR60BbCo e CR60Bb3%).....	63
Figura 11 - Boxplot da área foliar de <i>Glycine max</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (AF30GmCo e AF30Gm3%) e aos 60 dias (AF60GmCo e AF60Gm3%)....	64
Figura 12 - Boxplot da área foliar de <i>Brachiária brizantha</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CR30BbCo e CR30Bb3%) e aos 60 dias (CR60BbCo e CR60Bb3%).....	65
Figura 13 - Boxplot da biomassa aérea de <i>Glycine max</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BA30GmCo e BA30Gm3%) e aos 60 dias (BA60GmCo e BA60Gm3%). .....	66
Figura 14 - Boxplot da biomassa aérea de <i>Brachiária brizantha</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BA30BbCo e BA30Bb3%) e aos 60 dias (BA60BbCo e BA60Bb3%). .....	67
Figura 15 - Boxplot da biomassa radicular de <i>Glycine max</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BR30GmCo e BR30Gm3%) e aos 60 dias (BR60GmCo e BR60Gm3%). .....	68
Figura 16 - Boxplot da biomassa radicular de <i>Brachiária brizantha</i> em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BR30BbCo e BR30Bb3%) e aos 60 dias (BR60BbCo e BR60Bb3%).....	69
Figura 17 - Foto das plantas de soja aos 60 dias na casa de vegetação de baixo custo.....	70
Figura 18 – Foto das plantas de braquiária aos 60 dias na casa de vegetação de baixo custo..	70
Figura 19 – Redução (em %) do teor de HTPs em todos os tratamentos.....	76
Figura 20 – Resultados da redução (em%) de HTP na faixa de C10-C21 e C22-C36, em todos os tratamentos.....	76
Figura 21 – Resultados das concentrações dos HPAs com 2-3, 4 e 5-6 anéis aromáticos. ....	80
Figura 22 – Resultados da redução da concentração de HPAs em todos os tratamentos em %. Valores negativos significam aumento (em %). .....	80
Figura 23 – Resultados da concentração dos HPAs com 2-3 anéis aromáticos .....	81
Figura 24 - Resultados da concentração dos HPAs com 4 anéis aromáticos. ....	81
Figura 25 - Resultados da concentração dos HPAs com 5 anéis aromáticos. ....	82
Figura 26- Resultados da concentração dos HPAs com 6 anéis aromáticos. ....	83

Figura 27 - A) Hábitus das plantas de <i>Glycine max</i> controle (maior) e contaminada (menor), barra 1,9 cm. B) Secção transversal da nervura de <i>Glycine max</i> do grupo controle, barra 65,1 $\mu\text{m}$ . C) Secção transversal da nervura de <i>Glycine max</i> contaminada, barra 67,2 $\mu\text{m}$ . D) Secção transversal do limbo de <i>Glycine max</i> controle, barra 65,1 $\mu\text{m}$ . E) Secção transversal do limbo de <i>Glycine max</i> contaminada. Parênquima paliçádico escurecido, barra 114 $\mu\text{m}$ . F) Secção transversal do limbo de <i>Brachiária brizantha</i> controle notando-se mesofilo disposto em coroa, barra 48 $\mu\text{m}$ . G) Secção transversal do limbo de <i>Brachiária brizantha</i> contaminada. Bainhas parenquimáticas com paredes anticliniais escurecidas, barra 43,2 $\mu\text{m}$ . .....	88
Figura 28 – Cromatogrmana de TPH Finger Print do petróleo da Bacia de Campos utilizado. ....	106
Figura 29 - Cromatograma de HPAs do petróleo da Bacia de Campos utilizado. ....	107
Figura 30 – Cromatograma de TPH Finger Print da fitorremediação com soja. ....	108
Figura 31 – Cromatograma de TPH Finger Print da atenuação natural. ....	109

## Lista de Tabelas

Tabela 1 – Diferenças entre os hidrocarbonetos em relação ao número de átomos de carbono e disposição estrutural molecular. ....	10
Tabela 2 – Composição dos principais hidrocarbonetos nos petróleos doce e ácido. ....	10
Tabela 3 – Propriedades físico-químicas de alguns HPAS (ASTDR, 1995). ....	15
Tabela 4 - Vantagens e desvantagens da biorremediação .....	36
Tabela 5 - Comparação entre a fitorremediação, atenuação natural, biorremediação e outras tecnologias de remediação de solos contaminados. ....	40
Tabela 6 – Características químicas do Planosolo utilizado no experimento. ....	56
Tabela 7 - Caracterização química do Planosolo contaminado e não contaminado no dia 60, após a colheita da soja e da braquiária. ....	56
Tabela 8 – Composição e propriedades do petróleo da Bacia de Campos. ....	58
Tabela 9 – Quantificação de HTPs por fingerprint C10-C36. Petróleo da Bacia de Campos. ....	58
Tabela 10 - Quantificação de BTEXT. Petróleo da bacia de Campos. ....	59
Tabela 11 – Quantificação dos 16 HPAs prioritários da USEPA: petróleo Bacia de Campos. ....	59
Tabela 12 - Valores de p obtidos em teste de comparação entre medianas (Mann-Whitney) e de comparação entre as médias (Teste-t de 2 amostras). ....	71
Tabela 13 - Resultados da quantificação de HTP total e suas frações nos dias: -6d, 0, 30 e 60, para cada tratamento. ....	73
Tabela 14 - Quantificação de HTP totais e suas frações para cada tratamento: Dias: -6d, 0, 30, 60 (Limite de Detecção = 0,10 mg kg <sup>-1</sup> MS <sup>-1</sup> ). ....	74
Tabela 15 – Resultados da quantificação de BTEX nos dias: -6d, 0, 30 e 60, para cada tratamento. ....	77
Tabela 16 - Resultados da quantificação de HPAs nos dias: -6d, 0, 30 e 60, para cada tratamento. ....	78
Tabela 17 – Resultados da contagem das UFCs. ....	85
Tabela 18– Resultados do Isolamento e Identificação das UFCs, a nível de gênero. ....	85

## **Parte dessa Dissertação gerou os seguintes publicações e manuscritos:**

Marques, M., Hogland, W., Kriipsalu, M., Rosa, G.S., Aguiar, C.R.C. Correa, S.M. 2006. Bioremediation of Oil-contaminated Sediments and Screening Procedure to Select Plant Species for Phytoremediation of Oil-contaminated Soils. In: Simpósio Internacional de Tecnologias e Tratamento de Resíduos Sólidos; Rio de Janeiro, RJ. 8p. CD Rom.

Marques, M., Rosa, G.S., Aguiar, C.C. 2006. Plants with potential for phytoremediation of oil-contaminated soil based on germination and biomass growth. In: Proceedings of the 4<sup>th</sup> NATO/CCMS Workshop on Management of Industrial Toxic Waste, Ioannina, Greece.

LOPES, B. C.; BARBOSA, M. V. D.; AGUIAR, C. R. C.; MARQUES, M. G. Efeitos morfológicos e anatômicos sofridos por plantas empregadas em fitorremediação. Trabalho apresentado no Encontro de Biólogos dos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo – XV ENBIO - 2006.

AGUIAR, C.R.C. *et al.* Anatomia e Óleo decaimento

## Lista de Abreviaturas

3%	Contaminado com petróleo (3% v:v)
30d	30 dias
60d	60 dias
AF	Área foliar
AN	Atenuação natural
BA	Biomassa aérea
Bb	<i>Brachiária brizantha</i>
BR	Biomassa radicular
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos
CA	Comprimento da parte aérea
Co	Controle
CR	Comprimento radicular
Gm	<i>Glycine max</i>
HP	Hidrocarbonetos de Petróleo
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HRP	Hidrocarbonetos Resolvidos de Petróleo
HTP	Hidrocarbonetos Totais de Petróleo
ND	Não detectado acima do limite de detecção
PA	Controle de processos abióticos
Red%	Redução percentual
s0d	Solo no dia do plantio
s-6	Solo no dia da contaminação
UCM	Mixtura complexa não-resolvida

# 1 Contextualização/ Relevância do tema

A contaminação ambiental não é um fenômeno exclusivo dos tempos modernos. Com a Revolução Industrial após o fim da 2ª Guerra Mundial, a extensão da contaminação devido à produção de materiais e produtos químicos, além do risco de materiais descartados expandiu enormemente.

A contaminação dos solos pode ocorrer por disposição de resíduos sólidos, líquidos e gasosos, águas contaminadas, efluentes provenientes de atividades agrícolas, industriais, doméstica ou deposição atmosférica que modificam qualitativa e/ou quantitativamente as características naturais do solo, produzindo efeitos negativos e limitando seus usos.

Um dos maiores problemas resultantes da industrialização é a contaminação de solos com compostos químicos tóxicos e perigosos. Na lista de prioridades nacionais dos EUA, por exemplo, existiam em meados da década de 90, mais de 1.200 áreas contaminadas com possibilidade desse número aumentar para 32.000 (BACKER and HERSON, 1994).

De acordo com a CETESB (2001a), área contaminada é a área onde há comprovadamente poluição causada por quaisquer substâncias ou resíduos que nela tenham sido depositados, acumulados, armazenados, enterrados ou infiltrados, e que determina impactos negativos sobre os bens a proteger. A CETESB divulgou pela primeira vez, em maio de 2002, a existência de 255 áreas contaminadas somente no Estado de São Paulo. O registro das áreas contaminadas vem sendo constantemente atualizado e após 5 (cinco) atualizações (outubro de 2003, novembro de 2004, maio de 2005, novembro de 2005, maio de 2006) o número de áreas contaminadas totalizou, em maio de 2006, 1.664 (CETESB, 2006).

O petróleo é um combustível fóssil de grande significado para a economia mundial, mas que também representa um problema ambiental relevante, devido à sua freqüente introdução no meio ambiente, não apenas sob a forma de combustível, como também pela larga utilização industrial de seus derivados (PONS *et al.*, 2006), tais como o plástico, a borracha sintética, as tintas e corantes, os adesivos, os solventes e os detergentes entre outros. Entretanto, o setor petroquímico em toda sua cadeia produtiva é também, um dos que mais contaminam o meio ambiente. Por este motivo, a contaminação do solo por petróleo e derivados tem merecido pesquisas extensas nos últimos anos.

Além dos acidentes de grandes proporções provocados por vazamentos de linha de transporte e dos navios e de erros operacionais das indústrias petroquímicas (LIMA, 2004), pequenos derrames de óleo, gasolina e outros produtos ocorrem durante a exploração, o

processamento, o transporte, o armazenamento, o uso e a disposição final dos resíduos gerados durante diferentes etapas do ciclo de vida do produto.

A contaminação dos solos por petróleo pode acarretar danos a saúde humana, ao ecossistema, pode comprometer a qualidade dos solos e conseqüentemente a das águas promovendo restrições ao uso dos mesmos, além de sérios danos à biota.

Oudenhoven et al. (1995), havia estimado que somente as refinarias de petróleo da Europa produziam 452.492 toneladas de resíduos oleosos, sem mencionar resíduos semelhantes gerados por indústrias de outras tipologias.

Apenas em termos de gasolina, a Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (U.S. EPA) estimava a existência de mais de 1,5 milhões de tanques subterrâneos de armazenamento de gasolina nos Estados Unidos, e destes, 400.000 foram substituídos ou adaptados à legislação federal que entrou em vigor no final de 1998 (USEPA, 1997). Ainda em função dessa legislação, mais de 250.000 casos de vazamentos foram identificados e mais de 97.000 remediações completadas (USEPA, 1997). Semanalmente mais de 1.000 novos vazamentos estão sendo encontrados em todo o território norte-americano (BRATBERG E HOPKINS, 2003).

Dentre as centenas de compostos hidrocarbonetos existentes no petróleo, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) formam um grupo de xenobióticos conhecidos por sua alta persistência no meio ambiente. A remediação de solos contaminados por HPAs, através de técnicas convencionais é muito cara e eventualmente demorada ou ineficiente (ROCK, 1997).

Nos últimos anos, o Brasil tem dado passos importantes e apresentado um crescimento significativo no desenvolvimento de programas de biotecnologia, visando solucionar um dos maiores problemas ambientais: a disposição inadequada de resíduos, que implicam na contaminação e poluição do meio ambiente.

Para enfrentamento do problema, várias tecnologias para tratamento de resíduos perigosos ou recalcitrantes têm sido desenvolvidas e testadas ao longo da última década, principalmente em países desenvolvidos. Diversas opções de remediação foram e estão sendo desenvolvidas para mitigar e prevenir ameaças à saúde pública e ao meio ambiente. Segundo Pedrozo, *et al.* (2002) as ações de remediação de áreas contaminadas com petróleo e derivados são formuladas com vistas a:

- Prevenir a exposição humana através de ingestão, inalação e contato dérmico com solo contaminado;
- Prevenir a exposição ecológica através da bioacumulação decorrente da absorção, contato e inalação de solo contaminado;

- Prevenir a percolação e lixiviação dos contaminantes atingindo as águas subterrâneas;
- Remover a fase líquida não-aquosa leve dos aquíferos, fonte contínua de contaminação desses aquíferos.

Na escolha da metodologia de remediação de áreas contaminadas devem ser levados em conta os aspectos ambientais, econômicos e sociais (MILNE et al., 1998). Outros aspectos a serem considerados são as propriedades físicas, químicas e biológicas dos contaminantes, além das características específicas das áreas contaminadas (ex: condições climatológicas, hidrogeologia do terreno, etc). Em outro plano, as exigências e restrições da legislação ambiental, os custos e tempo necessários para o tratamento desses resíduos e recuperação de áreas contaminadas e a resistência da sociedade ao uso de determinadas tecnologias consideradas de risco ambiental são fatores que limitam a aplicação das várias opções tecnológicas de remediação (MARQUES, 2004).

Muitos países em desenvolvimento enfrentam sérios problemas com a poluição do solo; no entanto, a remediação de áreas contaminadas fica dependente da situação sócio-econômica de cada país. Tecnologias usuais de remediação de solos como a desorção térmica por altas temperaturas, não são opções frequentes, observando-se as possibilidades financeiras desses países, especialmente se usada em áreas amplas ou grandes volumes de solos contaminados. Além do mais, a estrutura e a biologia do solo podem ser dramaticamente desequilibrada ou até tornar o solo inapto para agricultura. Em contraste, a fitorremediação - técnica baseada no uso de plantas e sua comunidade microbiana associada para degradar, isolar ou imobilizar poluentes no solo e águas subterrâneas é técnica de baixo custo, ao mesmo tempo não destrutiva e até mesmo efetiva a reabilitação da estrutura e ecologia do solo (MERKL *et al.*, 2006). A fitorremediação tem adquirido adeptos por ser um procedimento passivo, esteticamente agradável, útil para remediar simultaneamente uma grande variedade de contaminantes (USEPA, 1996; FRICK et al., 1999) e que procura a melhoria da qualidade do solo, aumentando a quantidade de carbono orgânico, melhorando sua estrutura, porosidade e infiltração de água (CUNNINGHAM *et al.*, 1996) e reduzindo a erosão (PIVETZ, 1997). Sua concepção funcional é baseada na fisiologia vegetal, na bioquímica do solo e na química dos contaminantes (NYER e GATLIFF, 1996; HINCHMAN et al., 1998).

A fitorremediação, portanto, surge como uma opção promissora para integrar um conjunto de tecnologias ambiental e financeiramente viável (MARQUES, 2004). As estimativas de custo para remediar solos e águas contaminadas variam largamente, de acordo com: (1) localização do contaminante; (2) propriedades químicas, físicas e biológicas do contaminante; (3) diversidade de contaminantes no meio; (4) grau de remediação pretendido; (5) exigências legais sobre a disposição final subsequente; (6) técnicas utilizadas

(MARQUES, 2004). Estratégias de fitorremediação têm sido adotadas como uma maneira extremamente eficaz e de baixo custo para a remediação de solos contaminados com petróleo e outros compostos orgânicos (BLACK, 1995; JIPSON, 1996; PLUMMER, 1997; RICHMAN, 1996; CUNNINGHAM et al., 1996; SADOWSKY, 1999; FRICK *et al.*, 1999; ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

No Brasil, é grande o potencial de uso da fitorremediação de solos contaminados, por tratar-se de um país de clima tropical. Sua biodiversidade é favorável ao uso de tal tecnologia, uma vez que o conhecimento a cerca da fitorremediação limita-se quase que exclusivamente a países de clima temperado. Estudos detalhados nas condições de clima, solos e biodiversidade existente, focando no estabelecimento, crescimento e metabolismo de espécies vegetais e microorganismos associados em resposta à contaminação por compostos de petróleo, são necessários, tendo em vista que estes fatores podem afetar o desempenho da fitorremediação.

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo Geral

A presente investigação teve como objetivo principal avaliar o desempenho de *Brachiária brizantha* (braquiária) e *Glycine max* (soja) na fitorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo e investigar indícios de alteração microbiana no solo e alterações histológicas em diferentes tecidos vegetais associados à presença do contaminante no solo.

### 2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Testar a capacidade de crescimento e geração de biomassa da soja e braquiária em solo contaminado por óleo cru;
- ✓ Avaliar se há decréscimo da concentração dos hidrocarbonetos de petróleo em particular os 16 HPAs considerados prioritários pela U.S.EPA, em decorrência da presença das plantas no solo contaminado comparados com a atenuação natural na presença de microorganismos no solo e os processos abióticos;
- ✓ Avaliar a diversidade fúngica presente no solo sem contaminação e no solo contaminado, em termos qualitativos (ao nível de gênero) e quantitativos (unidades formadoras de colônia);
- ✓ Comparar a concentração de HPAs antes e depois da atenuação natural, processos abióticos e da fitorremediação com os valores orientadores, numa abordagem de análise de risco.

### 3 Abordagem Metodológica

A abordagem metodológica utilizada na elaboração da presente dissertação incluiu:

- Revisão da bibliografia sobre fitorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo e dos processos físicos, químicos e biológicos envolvidos;
- Teste do desempenho na fitorremediação de duas espécies vegetais selecionadas (*Brachiária brizantha* e *Glicine max*) em solo contaminado a 3% com petróleo (peso/peso seco), em casa de vegetação (telado), comparado aos resultados obtidos com a atenuação natural (solo contaminado sem planta) e com os processos abióticos, tais como volatilização e foto-oxidação (solo contaminado sem planta e sem microorganismos, devido à esterilização do mesmo), expostos às mesmas condições experimentais;
- Estudo da biometria para avaliar o desenvolvimento pós-germinativo (comprimento da planta, área foliar, produção de biomassa radicular e aérea) na presença e na ausência do óleo cru;
- Análises químicas (GC MS) para avaliar a concentração dos hidrocarbonetos de petróleo (C10-C35) e os 16 HPAs definidos como prioritários pela USEPA, em decorrência dos efeitos mutagênicos e/ou carcinogênicos a eles associados.

## 4 O Petróleo e a Contaminação dos Solos

### 4.1 Aspectos gerais do petróleo

A palavra “petróleo” vem da terminologia grega *petra*, que significa rocha, e do latim *oleum*, que quer dizer óleo. “Óleo de rocha” é um dos sinônimos do petróleo que melhor expressam a sua origem a partir das rochas porosas, as quais funcionam como reservatório subterrâneo para o petróleo, por milhões e milhões de anos (DOMASK, 1984; IARC, 1989).

O petróleo também é conhecido como óleo cru, petróleo cru, nafta, gasolina, *seneca oil* (uso medicinal) e ouro negro.

O petróleo pode ser encontrado naturalmente em determinadas formações geológicas como um combustível fóssil, resultante da transformação e decomposição da matéria orgânica de plantas aquáticas e animais pré-históricos. Esses seres decompostos foram-se acumulando, ao longo de milhões de anos (de 15 a 500 milhões de anos), no fundo dos mares e dos lagos e pântanos; sendo pressionados pelos movimentos da crosta terrestre, transformaram-se na substância oleosa que é o petróleo (PEDROZO *et al.*, 2002).

O óleo cru não permanece na rocha em que foi gerado – a rocha matriz – mas desloca-se até encontrar um terreno apropriado para se concentrar – as bacias sedimentares. Estas bacias são formadas por camadas ou lençóis porosos de areia, arenitos ou calcários. O petróleo aloja-se ali, ocupando os poros rochosos e acumula-se, formando jazidas. Na parte mais alta é encontrado o gás natural; e nas mais baixas, petróleo e água (UNICAMP, 2001).

O petróleo tem sido utilizado pelo homem desde a antigüidade, porém somente no século XVIII, é que o começou a ser usado comercialmente, na indústria farmacêutica e da iluminação. Ao longo do tempo o petróleo foi se impondo como fonte de energia eficaz. Hoje, além de grande utilização dos seus derivados, com o advento da petroquímica, centenas de novos produtos foram surgindo, muitos deles diariamente utilizados. Com isso o petróleo passou a ser imprescindível para garantir as comodidades da vida cotidiana (PETROBRAS, 2005).

Em seu estado natural, o petróleo, tem pouca utilização, mas quando refinado, fornece combustíveis, lubrificantes, solventes, material de pavimentação entre muitos outros produtos. Os combustíveis derivados do petróleo respondem por mais da metade do suprimento total de energia do mundo (CEPA, 2006). Tanto pela combustão direta quanto pela geração de eletricidade, o petróleo fornece iluminação para muitos povos do mundo. Seus subprodutos são também utilizados para a fabricação de tecidos sintéticos, borracha sintética, sabões

detergentes, tinta, plásticos, medicamentos, inseticidas, fertilizantes, etc. Segundo a CEPA (2006), apenas companhias de grande porte asseguram o desenvolvimento da indústria petrolífera, por exigir grandes investimentos iniciais e contínuos reinvestimentos.

O petróleo e seus subprodutos são liberados para o meio ambiente através de acidentes durante a carga, descarga, transporte ou produção de subprodutos. A compreensão do comportamento dos diferentes componentes do petróleo no solo, água e ar é muito importante na avaliação dos efeitos adversos à saúde e à biota decorrentes dessa exposição. A ampliação da demanda pelo petróleo exige aumento da produção, do transporte, da estocagem e da distribuição tanto de óleo cru quanto de seus derivados. Todas essas atividades envolvem riscos de derrames acidentais, que podem ser minimizados, mas não totalmente eliminados (CRAPEZ et al., 2002).

## **4.2 Composição do Petróleo**

### **4.2.1 Características gerais**

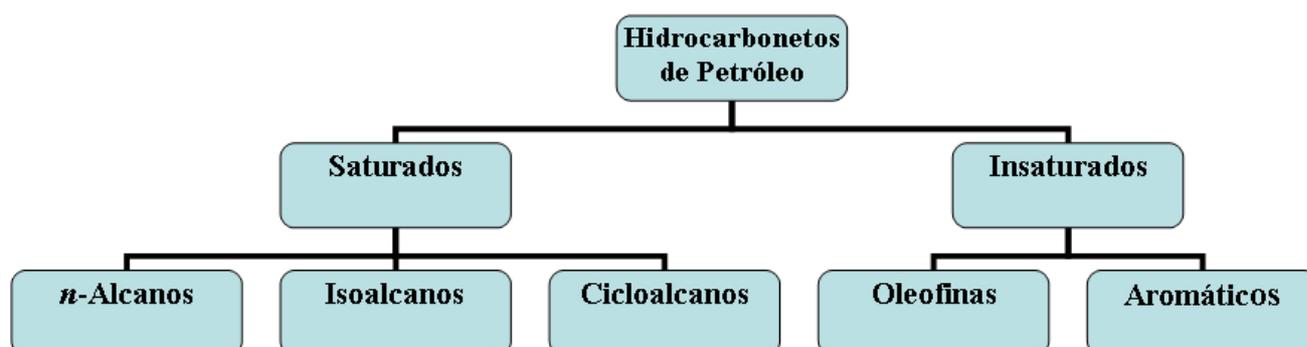
A natureza física do petróleo e sua composição química podem variar significativamente. A relação entre a composição química do petróleo, sua origem e idade geológica não está, ainda, totalmente esclarecida. A composição natural do petróleo pode variar entre os diferentes reservatórios em todo o mundo. A classificação para qualquer tipo de petróleo deve ser realizada com base na identificação do campo e poço produtor (IARC, 1989).

O petróleo é uma mistura complexa de hidrocarbonetos e de pequenas quantidades de compostos orgânicos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio, assim como baixas concentrações de compostos orgânicos metálicos, principalmente níquel e vanádio (PEDROZO *et al.*, 2002).

Segundo Lima (2004) o petróleo é uma mistura complexa de milhares de compostos. A alta proporção de carbono e hidrogênio, existente no petróleo, mostra que os hidrocarbonetos são seus principais constituintes, podendo chegar a mais de 90% de sua composição. Os hidrocarbonetos presentes no petróleo vão desde compostos de um átomo de carbono até compostos com 60 ou mais átomos de carbono. Os outros elementos presentes aparecem sob a forma de compostos orgânicos, os quais em alguns casos formam complexos organometálicos. O enxofre ainda pode estar presente na forma inorgânica (H<sub>2</sub>S) e enxofre elementar em alguns casos.

Os hidrocarbonetos são compostos orgânicos constituídos exclusivamente de moléculas formadas por átomos de hidrogênio e carbono, dispostas em diversas configurações estruturais. Atualmente podem ser identificados mais de 270 tipos distintos de hidrocarbonetos na composição dos diferentes derivados do petróleo (CONCAWE, 2001; OPS, 1996; WHO, 1982).

Num sentido amplo, pode-se dividir os hidrocarbonetos de petróleo em duas classes químicas: os saturados e os insaturados. Os saturados também chamados de alcanos ou parafinas são divididos em três outras subclasses, baseadas na estrutura de suas moléculas: compostos de cadeia lineares, conhecidos como n-alcanos; compostos de cadeias ramificadas, os chamados isoalcanos e os compostos cíclicos, que são os cicloalcanos ou naftalenos. Quanto aos insaturados, existem para eles duas subclasses, os compostos aromáticos e as oleofinas. Esta classificação dos hidrocarbonetos de petróleo encontra-se resumida na figura 1 (API, 2001).



**Figura 1** - Classificação química dos hidrocarbonetos de petróleo (LIMA, 2004)

De forma geral, encontram-se três grupos principais de hidrocarbonetos no petróleo: parafínicos, naftênicos e aromáticos.

A **Tabela 1** apresenta alguns diferentes exemplos de hidrocarbonetos que, apesar de possuírem o mesmo número de átomos de carbono, têm diferentes estruturas moleculares e, conseqüentemente, propriedades e características físico-químicas também distintas.

Segundo o *American Petroleum Institute*, de acordo com a composição de seus hidrocarbonetos e principalmente, dos compostos de enxofre, o petróleo pode ser classificado em: (i) óleo doce - com concentrações muito pequenas de enxofre e compostos de enxofre (até 6 ppm de gás sulfídrico H<sub>2</sub>S); e (ii) óleo ácido - onde o gás sulfídrico pode atingir concentrações atmosféricas (da ordem de 50 a 180.000 ppm) (PETROBRÁS, 1994).

A composição dos dois tipos de petróleos quanto ao teor de enxofre e dos principais grupos de hidrocarbonetos é apresentada na **Tabela 2**.

**Tabela 1** – Diferenças entre os hidrocarbonetos em relação ao número de átomos de carbono e disposição estrutural molecular.

Nº de Átomos de Carbono	Parafínicos	Naftênicos	Aromáticos
C6	n-Hexano	Ciclohexano	Benzeno
C7	n-Heptano	Metilciclohexano	Tolueno
C8	n-Octano	1,2-Dimetilciclohexano	o-Xileno
C9	n-Nonano	1,2,4-Trimetilciclohexano	1,2,4-Trimetilbenzeno
C10	n-Decano	t-Butilciclohexano	t-Butilbenzeno

Fonte: Pedrozo *et al.*, 2002.

**Tabela 2** – Composição dos principais hidrocarbonetos nos petróleos doce e ácido.

Hidrocarbonetos	Composição percentual dos hidrocarbonetos	
	Óleo doce (0,2% de enxofre)	Óleo ácido (2,5% de enxofre)
Parafínicos (alcanos)	8-18%	55-70%
Naftênicos (cicloalcanos)	70-75%	20-23%
Aromáticos	7-22%	10-22%

Fonte: IARC, 1989.

Características físicas do petróleo, tais como densidade específica, viscosidade e ponto de ebulição, dependem de sua composição total e as características de cada um dos compostos constituintes. De acordo com sua densidade relativa, o petróleo pode ser classificado em: (i) leve - quando apresenta uma densidade inferior a 0,82; (ii) médio - densidade entre 0,82 e 0,97; e (iii) pesado - densidade superior a 0,97 (PEDROZO *et al.*, 2002). De acordo com a CETESB (2006) a classificação do petróleo pela ITOPF (International Tanker Owners Pollution Federation) o mesmo pode ser categorizado em grupos (i, ii, iii e iv) e classificado (leve ou pesado) de acordo com sua densidade relativa, °API, Meia Vida e Persistência. Desse modo, se o petróleo que apresentar densidade relativa menor que 0,8; °API for maior que 45, ter meia vida aproximada de 24h e persistir por 1-2 dias, será classificado em óleo leve e pertencerá ao grupo i; se a densidade relativa variar entre 0,80-0,85, o °API variar entre 35-

45, ter meia vida aproximada de 48h e persistir por 3-4 dias, será classificado em óleo leve e pertencerá ao grupo ii; se o petróleo apresentar densidade relativa variando entre 0,85-0,95; °API variar entre 17,5-35, ter meia vida aproximada de 72h e persistir por 5-6 dias, será classificado em óleo pesado e pertencerá ao grupo iii; e se o petróleo apresentar densidade relativa maior que 0,95, °API for menor que 17,5, ter meia vida de 168h e persistir no ambiente por mais de 7 dias, será classificado em óleo pesado e pertencerá ao grupo iv.

Alguns processos físico-químicos, tais como, volatilização, dispersão, emulsificação e dissolução ocorrem nos períodos iniciais de um derrame, enquanto que oxidação, sedimentação e biodegradação ocorrem a longo-prazo (CETESB, 2006). Com o passar do tempo, o óleo no ambiente mudará suas características iniciais, ficando menos tóxico, mais denso e viscoso e mais recalcitrante.

Sob condições normais de temperatura e pressão, os hidrocarbonetos podem apresentar-se sob a forma: (i) gasosa (quando possuem estruturas moleculares de até quatro átomos de carbono, como o gás liquefeito GLP); (ii) líquida (quando os hidrocarbonetos apresentam de 5 a 25 átomos de carbono, como o hexano) e (iii) sólida (hidrocarbonetos com mais de 25 átomos, como os constituintes da graxa e parafina) (GÓES, 1997).

A consistência e coloração do petróleo variam de líquido amarelo amarronzado a preto viscoso e semi-sólido, de acordo com os tipos de hidrocarbonetos predominantes. O petróleo que se apresenta na forma líquida e contém grande quantidade de gás dissolvido é constituído basicamente por hidrocarbonetos de cadeia pequena, enquanto que o petróleo mais viscoso e com nenhuma ou pouca presença de gás é constituído por uma proporção maior de hidrocarbonetos de cadeia longa (PEDROZO *et al.*, 2002).

A solubilidade em água e a interação entre os hidrocarbonetos dependem da polaridade de suas moléculas, pois quanto maior a sua polaridade maior será sua solubilidade em água e o seu ponto de ebulição. Embora pouco solúveis em água, os hidrocarbonetos aromáticos são mais solúveis na água e menos voláteis do que os hidrocarbonetos parafínicos com o mesmo número de átomos de carbono correspondentes.

Uma das características físicas muito importantes dos hidrocarbonetos é o conhecimento de seu ponto de ebulição, quando se considera a persistência desses compostos de petróleo no meio ambiente, pois a persistência está diretamente relacionada ao seu respectivo ponto de ebulição. Quanto maior a temperatura de ebulição, tanto maior será a permanência de um hidrocarboneto no meio ambiente (WHO, 1982).

## 4.2.2 Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos - BTEX

Os hidrocarbonetos monoaromáticos tais como benzeno, tolueno, etilbenzeno e os três xilenos, são compostos cientificamente conhecidos como BTEX comumente encontrados na gasolina e são substâncias altamente voláteis (COATES et al., 2002). O tolueno é o benzeno com um átomo de hidrogênio substituído por um grupo metila; os xilenos são três isômeros contendo três grupos metila. Devido à sua relativa alta solubilidade e toxicidade (principalmente o benzeno), os BTEX representam risco à saúde principalmente quando entram no ambiente através de processos associados com a fabricação, o armazenamento e manuseio de gasolina e demais combustíveis. Emissões consideráveis também resultam da descarga de uma ampla gama de efluentes industriais, incluindo metais, tintas, e fábrica têxtil, processamento de madeira, produção química e produtos do tabaco (SINGH e WARD, 2004). Entre os compostos aromáticos, os BTEX são os componentes mais solúveis em água e mais móveis presentes na gasolina convencional. Estes compostos constituem uma fração volumétrica significativa da gasolina, são bastante solúveis em água, e são muito móveis em água subterrânea (EWEIS *et al.*, 1998). Devido a sua alta volatilidade os BTEX presentes no ar podem ser usados como indicadores de contaminação de solos e água subterrânea, principalmente quando provenientes de vazamento de um tanque de armazenamento subterrâneo.

## 4.2.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - HPAs

Os hidrocarbonetos que possuem um anel benzênico condensado em sua estrutura e propriedades similares ao benzeno são denominados aromáticos, já aqueles que contêm mais de um anel benzênico são denominados hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (ou policíclicos), HPAs ou PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons). Existem mais de 100 tipos diferentes de HPAs e estes são introduzidos no ambiente a partir de numerosas fontes, tais como: exaustão dos motores de combustão à gasolina e especialmente os de combustão a diesel, o “alcatrão” da fumaça de cigarro, a fumaça da queima de madeira ou carvão e outros processos de combustão onde o carbono ou o combustível não é completamente convertido a CO e CO<sub>2</sub> (BAIRD, 2002).

O deslocamento dos HPAs no meio ambiente depende de algumas propriedades, tais como a sua facilidade de dissolução em água e de evaporação. De maneira geral, estes

compostos não se dissolvem facilmente na água, porém estão presentes no ar sob a forma de vapores ou aderidos às superfícies de pequenas partículas sólidas (ATSDR, 1995).

Em solos, é mais provável que os HPAs fiquem aderidos às partículas sólidas, podendo evaporar a partir da superfície. Estes compostos também podem contaminar águas subterrâneas. A quantidade de HPAs presentes nas plantas, particularmente na madeira e animais terrestres ou marinhos, pode ser muito superior à quantidade contida no solo e na água. Outro aspecto inerente aos HPAs é que este pode se decompor em compostos mais duradouros pela reação com a luz solar ou outros compostos presentes no ar. O tempo de decomposição destes compostos no solo e na água pode variar de semanas a meses e é causada primariamente pela ação de microorganismos (ATSDR, 1995).

Em contraste com seus análogos menores, os HPAs, com mais de quatro anéis benzênicos, não permanecem durante longo tempo no ar como moléculas gasosas. Devido à sua baixa pressão de vapor, eles condensam-se e se adsorvem às superfícies das partículas de fuligem e cinzas. Constatou-se que os HPAs encontram-se principalmente adsorvidos às partículas de tamanho submicrométrico e, conseqüentemente, podem ser transportados para os pulmões pela respiração (BAIRD, 2002).

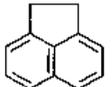
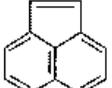
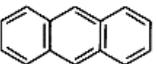
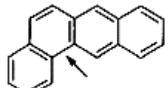
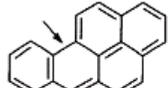
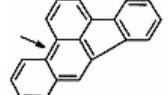
O transporte e a partição dos HPAs para o meio ambiente são determinados por várias propriedades físico-químicas dos mesmos, tais como solubilidade em água, pressão de vapor, constante de Henry, coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) e o coeficiente de partição de carbono orgânico ( $K_{oc}$ ) (**Tabela 3**). Os HPAs de peso molecular baixo apresentam valores de  $K_{oc}$  na faixa de 103 a 104, o que indica um potencial moderado de adsorção aos compostos de carbono orgânico presentes no solo e em sedimentos. Já os HPAs de alto peso molecular apresentam valores de  $K_{oc}$  na faixa de 105 a 106 indicando uma forte tendência de se adsorver em carbono orgânico (ATSDR, 1995).

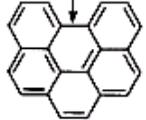
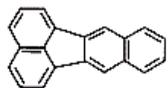
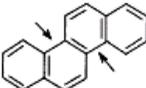
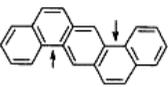
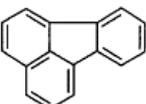
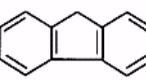
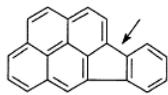
Indivíduos expostos a misturas de HPAs e outros compostos através da respiração e do contato dermal, durante longos períodos de tempo, podem desenvolver câncer (LABUNSKA *et al*, 2000). Muitos HPAs carcinogênicos são derivados de um esqueleto de benzo[a]antraceno angular. A adição de um anel de benzeno em determinadas posições resulta em agentes com forte carcinogenicidade, como o dibenzo[a,h]antraceno e o benzo[a]pireno. Estudos em cobaias demonstraram a capacidade do benz[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[j]fluoranteno, benzo[a]pireno, criseno, dibenzo[a,h]antraceno, e indeno[1,2,3-c,d]pireno induzirem tumores de pele após exposição dermal intermediária, o que os classifica como carcinógenos completos. O antraceno, fluoranteno, fluoreno, fenantreno e pireno não agem como carcinógenos completos (LABUNSKA *et al*, 2000).

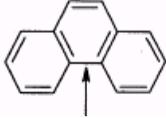
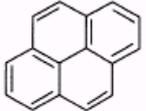
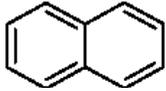
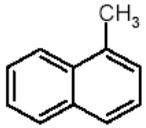
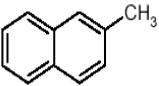
A Figura 2 apresenta os dezesseis HPAs considerados como prioritários pela agência ambiental norte americana USEPA.

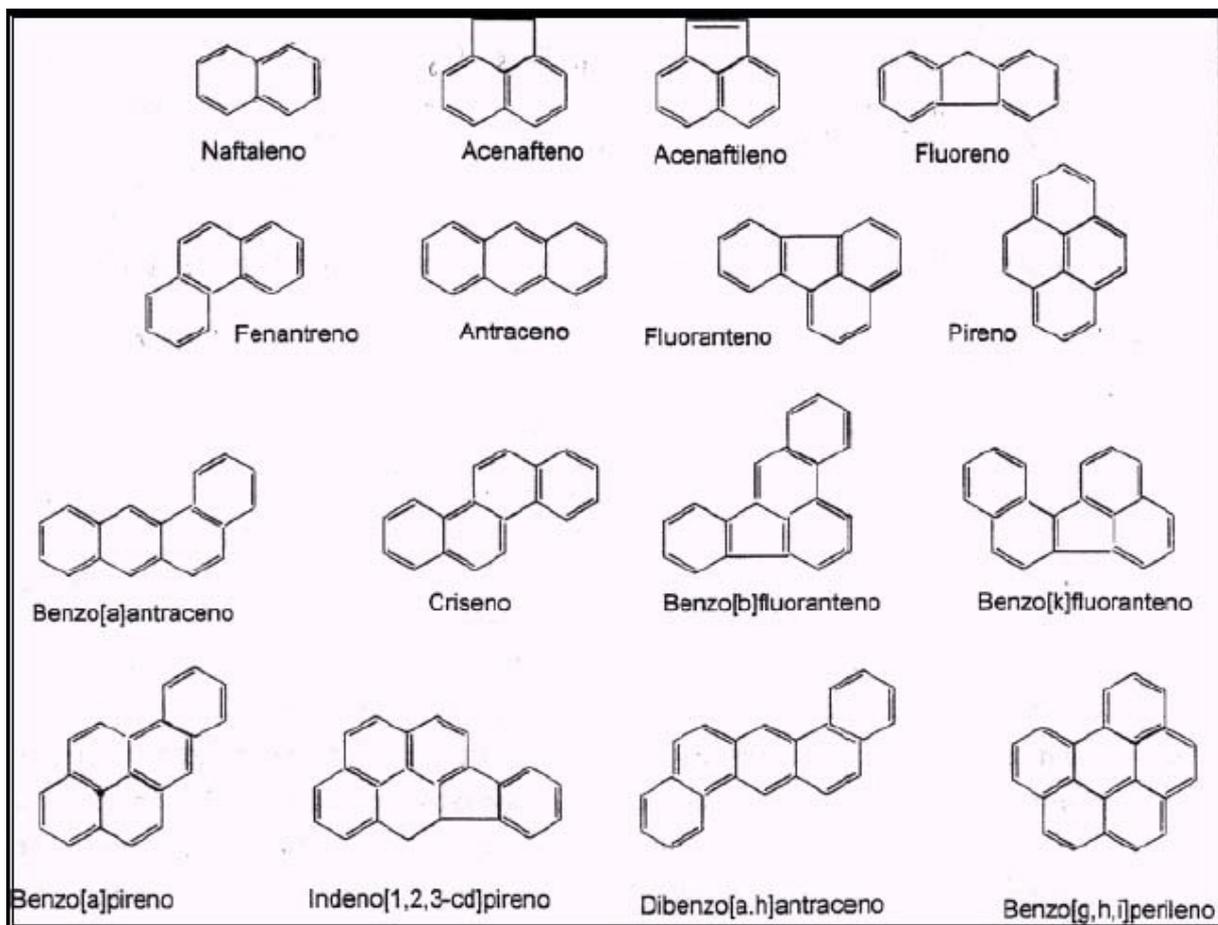
A exposição pré e pós-natal aos HPAs pode produzir efeitos adversos ao desenvolvimento de fetos humanos. A maioria dos HPAs e seus metabólitos atravessam a placenta devido à sua solubilidade em lipídeos (LABUNSKA et al., 2000).

**Tabela 3** – Propriedades físico-químicas de alguns HPAS (ASTDR, 1995).

Substâncias	Fórmula Molecular	Estrutura Molecular	log (K <sub>oc</sub> )	log (K <sub>ow</sub> )	Constante de Henry (atm <sup>3</sup> /mol)	Pressão de Vapor (mm Hg)	Solubilidade em Água (mg/L)	Solubilidade em Solventes Orgânicos
Acenafteno	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>		3,66	3,98	7,91 x 10 <sup>-5</sup>	4,47 x 10 <sup>-3</sup>	1,93	Álcool, metanol, propanol, clorofórmio, benzeno, tolueno e ácido acético glacial.
Acenaftileno	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub>		1,4	4,07	1,45 x 10 <sup>-3</sup>	2,9 x 10 <sup>-2</sup> (20°C)	3,93	Álcool, éter e benzeno.
Antraceno	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>		4,15	4,45	1,77 x 10 <sup>-5</sup>	1,7 x 10 <sup>-5</sup> (25°C)	0,076	Acetona, benzeno, dissulfeto de carbono, tetracloreto de carbono, clorofórmio, éter, etanol, metanol e tolueno.
Benzo[a]antraceno	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>		5,3	5,61	1,0 x 10 <sup>-6</sup>	2,2 x 10 <sup>-8</sup> (20°C)	0,01	Acetona, dietil éter, benzeno, ácido acético e etanol quente.
Benzo[a]pireno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		6,74	6,06	4,9 x 10 <sup>-7</sup>	5,6 x 10 <sup>-9</sup>	2,3 x 10 <sup>-3</sup>	Etanol, metanol, benzeno, tolueno, xileno e éter.
Benzo[b]fluoranteno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		5,74	6,04	1,22 x 10 <sup>-5</sup>	5,0 x 10 <sup>-7</sup> (20 a 25°C)	1,2 x 10 <sup>-3</sup>	Benzeno e éter.

Substâncias	Fórmula Molecular	Estrutura Molecular	log (K <sub>oc</sub> )	log (K <sub>ow</sub> )	Constante de Henry (atm <sup>3</sup> /mol)	Pressão de Vapor (mm Hg)	Solubilidade em Água (mg/L)	Solubilidade em Solventes Orgânicos
Benzo[g,h,i]perileno	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>		6,2	6,5	1,44 x 10 <sup>-7</sup>	1,03 x 10 <sup>-10</sup> (25°C)	2,6 x 10 <sup>-4</sup> (25°C)	Benzeno, diclorometano e acetona.
Benzo[k]fluoranteno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		5,74	6,06	3,87 x 10 <sup>-5</sup>	9,59 x 10 <sup>-11</sup>	7,6 x 10 <sup>-4</sup> (25°C)	Benzeno, ácido acético e etanol.
Criseno	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>		5,3	5,16	1,05 x 10 <sup>-6</sup>	6,3 x 10 <sup>-7</sup> (25°C)	2,8 x 10 <sup>-3</sup>	Acetona, dissulfeto de carbono, dietil éter, etanol, ácido acético glacial, tolueno, xileno quente e benzeno.
Dibenzo[a,h]antraceno	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>		6,52	6,84	7,3 x 10 <sup>-8</sup>	1,0 x 10 <sup>-10</sup> (20°C)	5,0 x 10 <sup>-4</sup>	Álcool etílico, acetona, ácido acético, benzeno, tolueno e xileno.
Fluoranteno	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>		4,58	4,9	6,5 x 10 <sup>-6</sup>	5,0 x 10 <sup>-6</sup> (25°C)	0,20 a 0,26	Álcool, éter, benzeno e ácido acético.
Fluoreno	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>		3,86	4,18	1,0 x 10 <sup>-4</sup>	3,2 x 10 <sup>-4</sup> (20°C)	1,68 a 1,98	Ácido acético, acetona, benzeno, dissulfeto de carbono, tetracloreto de carbono, dietil éter e tolueno.
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>		6,2	6,58	6,95 x 10 <sup>-8</sup>	1 x 10 <sup>-11</sup> a 1 x 10 <sup>-6</sup> (20°C)	0,062	Solventes orgânicos.

Substâncias	Fórmula Molecular	Estrutura Molecular	log (K <sub>oc</sub> )	log (K <sub>ow</sub> )	Constante de Henry (atm <sup>3</sup> /mol)	Pressão de Vapor (mm Hg)	Solubilidade em Água (mg/L)	Solubilidade em Solventes Orgânicos
Fenantreno	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>		4,15	4,45	2,56 x 10 <sup>-5</sup>	6,8 x 10 <sup>-4</sup> (25°C)	1,20 (25°C)	Ácido acético glacial, benzeno, dissulfeto de carbono, tetracloreto de carbono, dietil éter anidrido, etanol e tolueno.
Pireno	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>		4,58	4,88	1,14 x 10 <sup>-5</sup>	2,5 x 10 <sup>-6</sup> (25°C)	0,077 (25°C)	Álcool, benzeno, dissulfeto de carbono, dietil éter, etanol, éter e tolueno.
Naftaleno	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>		2,97	3,29	4,6 x 10 <sup>-4</sup>	0,087	31,7 (25°C)	Benzeno, álcool, éter e acetona.
1-Metilnaftaleno	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>		Sem referências	3,87	3,6 x 10 <sup>-4</sup>	0,054	25,8 (25°C)	Álcool, éter e benzeno.
2-Metilnaftaleno	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>		3,39	3,86	4,99 x 10 <sup>-4</sup>	0,068	24,6 (25°C)	Álcool, éter e benzeno.



**Figura 2** – Os dezesseis HPAs prioritários de acordo com a U.S. EPA (Lima, 2004).

### 4.3 Transporte ambiental e distribuição entre os diferentes meios

O transporte dos componentes do petróleo através do meio ambiente envolve vários processos como a volatilização, hidrólise, fotólise, biodegradação, biotransformação, degradação física, dissolução e a adsorção. A relevância de cada um desses processos varia de acordo com a situação, tornando-se muito difícil prever acuradamente a composição dos subprodutos de degradação a partir do conhecimento da composição inicial do petróleo, bem como determinar o potencial de toxicidade dos mesmos (PEDROZO *et al.*, 2002).

Para caracterizar um vazamento de hidrocarbonetos, selecionar e implementar uma ação corretiva efetiva torna-se necessária uma compreensão qualitativa sobre o comportamento das fases dos hidrocarbonetos no solo.

Quando ocorre um derramamento de contaminantes orgânicos na subsuperfície do solo, a formação de cinco fases podem ser observadas, tais como: (1) fase livre e (2) fase residual - estas duas primeiras correspondem à fase onde se encontra o produto puro, com a diferença que na primeira o produto apresenta mobilidade, podendo fluir e ser retirado por

bombeamento ao passo que a segunda fase, corresponde a gotas ou agrupamento de várias gotas isoladas no meio poroso, sendo, portanto de baixa mobilidade); (3) fase de vapor - que é representada pelo produto volatilizado presente na zona não saturada; (4) fase dissolvida - que corresponde ao produto dissolvido na água e por ela transportado; e (5) fase adsorvida - que corresponde às moléculas de produto que se aderem às partículas sólidas. Alguns autores consideram que as fases adsorvida, residual e de vapor, formam uma única fase denominada fase adsorvida. Os contaminantes transitam de uma fase para outra e sua permanência em cada fase é regida por propriedades físico-químicas (PENNER, 2000).

Portanto, quando a contaminação ambiental se dá pelo solo, pode haver a partir deste meio a contaminação de outros meios, tais como água e ar.

#### **4.3.1 Contaminação ambiental por petróleo na água**

Em um derrame de petróleo, uma das preocupações é a contaminação de aquíferos que são eventualmente usados como fonte de abastecimento de água para consumo humano, animal ou irrigação. A solubilidade do petróleo na água dependerá da polaridade de suas moléculas e de sua composição. Os hidrocarbonetos monoaromáticos BTEX que possuem maior solubilidade em água, são os contaminantes que primeiro irão atingir o lençol freático (CORSEUIL, 1992).

O petróleo que é liberado na água espalha-se quase que imediatamente. Segundo Pedrozo et al (2002), os componentes polares e de baixo peso molecular solubilizam-se e são lixiviados para fora da pluma de contaminação; os componentes voláteis na superfície da água sofrem evaporação. Ao mesmo tempo, o óleo se emulsifica em óleo-água ou água-óleo (PEDROZO *et al.*, 2002).

Com relação à ecotoxicidade, a dissolução dos óleos derramados é o processo mais representativo, ainda que menos importante quanto à perda de massa. Os estudos realizados com diferentes óleos combustíveis e gasolina em água evidenciaram a aceleração da dissolução dos compostos presentes nestes óleos, após um período inicial. O aumento na velocidade de dissolução se deve às modificações químicas – por oxidação ou degradação microbiana – dos compostos constituintes destes óleos. Tais processos são conhecidos como intemperismo químico e biológico. Durante o intemperismo químico, pode ocorrer a auto-oxidação dos *n*-alcanos presentes no óleo (ATSDR, 1999; ROSATO, 1997; USEPA, 1999 a).

### **4.3.2 Contaminação ambiental por petróleo no ar**

A contaminação do ar que resulta (direta ou indiretamente) em ameaça à saúde humana, animal ou vegetal, ataque aos materiais, redução da visibilidade ou produção de odores indesejáveis pode ser considerada poluição atmosférica.

Grande parte dos problemas de poluição do ar nas cidades origina-se das emissões dos motores movidos a gasolina, e os combustíveis fósseis quando são queimados produzem grandes quantidades de gases indutores do efeito estufa (BAIRD, 2002).

Os componentes do óleo de menor peso molecular volatilizam-se rapidamente, sendo encontrados na fase gasosa da atmosfera. Aí são degradados fotoquimicamente por radicais hidroxilas e outras espécies presentes no período de horas a dias, resultando em monóxido de carbono, dióxido de carbono e compostos oxigenados (ATSDR, 1999).

Segundo a Universidade do Estado de São Paulo (USP, 2006), a combustão do carvão, petróleo e derivados é responsável pela grande parte dos poluentes em suspensão no ar. Aproximadamente 80% do dióxido de enxofre, 50% do dióxido de nitrogênio e ainda de 30% a 40% das partículas emitidas para a atmosfera nos E.U.A. são produzidos em centrais termoelétricas que fazem uso de combustíveis fósseis, caldeiras industriais e fornalhas domésticas. Aproximadamente 80% do monóxido de carbono e 40% dos óxidos de nitrogênio e 40% de hidrocarbonetos são oriundos da queima de combustíveis como a gasolina e diesel em carros e caminhões. Outras grandes fontes de poluição atmosférica incluem siderurgias, incineradoras municipais, refinarias de petróleo, fábricas de cimento e fábricas de ácido nítrico e sulfúrico (USP, 2006).

### **4.3.3 Contaminação ambiental por petróleo no solo**

No Brasil há uma grande dificuldade técnica de se recuperar solos impactados por petróleo ou derivados. Nos solos brasileiros, com características argilosas, fortes interações se estabelecem entre a matriz do solo e os contaminantes e devido à baixa permeabilidade inerente a este tipo de solo, a penetração tanto de nutrientes quanto de oxigênio, indispensáveis ao processo de biodegradação ficam dificultadas (TRINDADE, 2002).

Os produtos do petróleo liberados no solo, migram através dele por dois mecanismos gerais: (1) como uma massa de óleo que se infiltra por ação da força da gravidade versus força de capilaridade (compostos hidrofóbicos migram através da massa de óleo), e (2) como compostos individuais que se separam da mistura de componentes, sendo que os hidrossolúveis, dissolvem-se na água ou no ar (ATSDR, 1999; REID *et al.*, 2000).

Quando a massa de óleo flui, resulta em pouca ou nenhuma separação dos componentes individuais e a velocidade de infiltração é, geralmente, mais rápida que a velocidade de dissolução. Os fatores que afetam a velocidade de infiltração da massa de óleo incluem o teor de água do solo, a vegetação, a geologia do local, o clima, o tamanho das partículas do solo (areia, silte, argila), a velocidade de liberação do óleo e a viscosidade do produto (ATSDR, 1999; REID *et al.*, 2000).

Enquanto a massa de óleo migra através da coluna do solo, uma pequena quantidade é retida pelas partículas do solo constituindo a fração residual de saturação. Dependendo das características do produto, esta fração pode persistir no solo por anos. Esta fração residual determina o grau de contaminação do solo e pode ser fonte de contaminação da água e do ar (ATSDR, 1999).

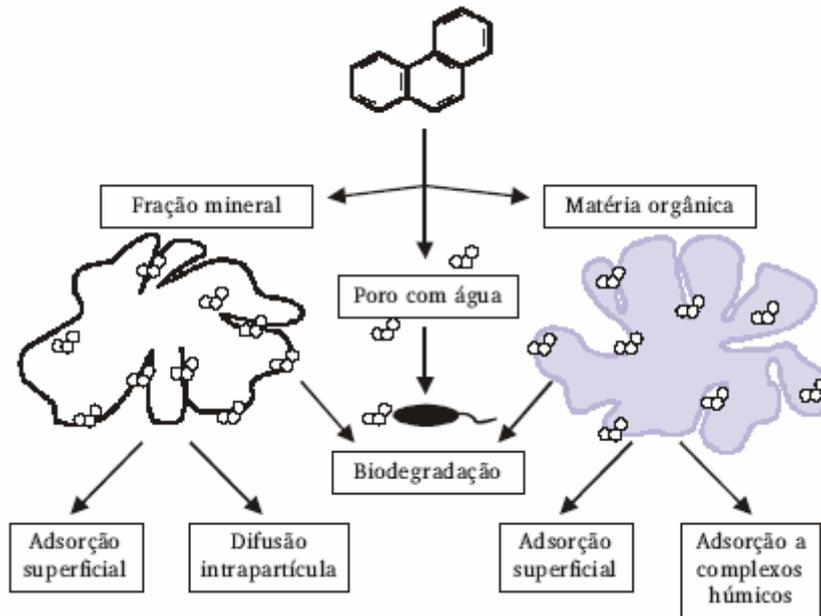
Quando o petróleo é lançado em grandes quantidades no meio ambiente, a migração da pluma de contaminação cessa quando os espaços entre os poros do solo apresentam-se saturados de água. Se a densidade do produto for inferior a da água, o produto tende a flutuar através da interface entre as zonas saturada e insaturada de água e espalha-se horizontalmente formando uma camada fina, geralmente em direção à água subterrânea (ATSDR, 1999). Se a densidade do produto for superior à da água, o óleo continuará a migrar em direção do aquífero sob influência da gravidade. A migração cessa quando o produto é convertido em fração residual saturada ou quando encontra uma superfície impermeável.

Os componentes individuais da mistura podem separar-se durante a migração da massa de óleo através do solo e percolar individualmente. As propriedades químicas que determinam quais os componentes que migrarão separadamente da mistura são volatilidade, solubilidade e coeficiente de partição carbono orgânico-água (ATSDR, 1999; ROSATO, 1997).

As interações no solo são influenciadas pela quantidade e natureza da matéria orgânica, pelos constituintes inorgânicos, com particular referência ao tamanho e estrutura do poro, pela população de microorganismos e pela concentração do poluente. A adsorção aos constituintes do solo favorece a persistência do componente nesta matriz (REID *et al.*, 2000).

A Figura 3 ilustra os processos de persistência de compostos orgânicos no solo.

Em resumo, os produtos leves de petróleo, apresentam maior hidrossolubilidade e volatilidade e menor potencial para adsorção do que os mais pesados. Os produtos leves migram através do solo podendo atingir as águas subterrâneas, e em contrapartida, as frações de maior peso molecular são mais persistentes devido a baixa solubilidade em água, volatilidade e elevada capacidade de adsorção (ASTDR, 1999).



**Figura 3** – Processos de adsorção que determinam à persistência de fenantreno no solo (REID et al., 2000).

#### 4.4 O solo

O solo é a coleção de corpos naturais dinâmicos, que contém matéria viva, e é resultante da ação do clima e da biosfera sobre a rocha, cuja transformação em solo se realiza durante certo tempo e é influenciada pelo tipo de relevo (LEPSCH, 2002).

A maioria dos solos é composta principalmente por partículas pequenas provenientes de rochas expostas ao intemperismo. O calor, a água e o ar são os principais agentes que intemperizam as rochas para formar o solo. O solo é composto por partículas minerais, matéria orgânica, e poros preenchidos por água e ar; a proporção de cada um varia grandemente de um tipo de solo para outro. A matéria orgânica do solo é proveniente da adição de restos de origem vegetal ou animal. Este resto orgânico decompõe-se, transformando-se no húmus que, por processo de mineralização, libera alguns nutrientes minerais. O húmus é a parte mais estável da matéria orgânica, sua capacidade de adsorver e ceder nutrientes excede em muito à das argilas, o que faz com que pequenas quantidades aumentem as características dinâmicas do solo, tornando-o de vital importância para a vida no solo (BAIRD, 2002).

As partículas minerais no solo podem ser classificadas tanto quanto ao seu tamanho como a sua origem e composição. Segundo Lepsch (2002) em relação à origem, existem dois tipos de solos: (i) os remanescentes da rocha que deu origem ao solo; e (ii) os produtos

secundários, decompostos e/ou recompostos depois da intemperização dos minerais da rocha-mãe.

Os minerais do solo podem também ser classificados em argila, silte e areia, conforme a dimensão de suas partículas (**Figura 4**). A proporção desses componentes pode ser determinada no laboratório pela análise granulométrica.

A maior parte dos minerais do solo está adsorvida na superfície das partículas de argila. Os átomos desses elementos encontram-se na forma iônica, ou seja, provido de cargas elétricas negativas ou positivas. A adsorção é um dos principais mecanismos que afeta o transporte de poluentes em meio subterrâneo, este termo designa o processo pelo qual os poluentes em solução ficam atraídos na superfície da matriz sólida envolvente (LEPSCH, 2002).

U.S. Bureau of Salta	Pedregulho	Areia	Silte	Argila	
	1	0,05	0,005	(mm)	
Internacional (Atterberg, 1905)	Pedregulho	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
	2	0,2	0,02	0,002	(mm)
M.I.T. (1931)	Pedregulho	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
	2	0,6	0,06	0,002	(mm)
A.B.N.T. (1945)	Pedregulho	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
	2	0,4	0,05	0,005	(mm)

**Figura 4** – Escalas granulométricas em mm, segundo diferentes agências (VARGAS, 1977).

#### 4.4.1 Organismos no solo

Segundo Lepsch (2002) os organismos que vivem no solo (microorganismos, vegetais, animais e o homem) são de grande importância para sua formação. A função principal dos microorganismos é iniciar a decomposição dos restos vegetais e animais, ajudando na formação do húmus que se acumula na superfície do solo. Alguns, sozinhos ou em simbiose com as raízes, retiram o nitrogênio do ar, transformando-o em compostos (nitratos e amônia). As plantas precisam de energia solar, gás carbônico, água e macro e micro nutrientes. Com raras exceções tanto a água como os nutrientes são fornecidos pelo solo. Dentre os *macronutrientes* essenciais ao crescimento das plantas, encontra-se o nitrogênio (N), que

apesar de existir em grandes quantidades no ar só pode ser usado pelas plantas quando transformado em amônia ou nitrato após sua “fixação” por intermédio de microorganismos, ressaltando-se entre estes as bactérias simbióticas (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

As plantas atuam de forma direta ou indireta na formação dos solos. A ação direta consiste principalmente na penetração da raiz em fendas nas rochas, onde tanto com a pressão exercida pelo crescimento quanto com as excreções orgânicas acelera-se o intemperismo. A esse respeito sabe-se que ajudam os líquens, musgos e outros vegetais inferiores que vivem diretamente sobre as rochas, iniciando assim condições para a fixação de uma sucessão de vegetais maiores. As raízes das plantas penetram até grandes profundidades, de onde retiram elementos essenciais a sua vida. Quando suas folhas morrem e caem no solo, os microorganismos as decompõem e restituem à superfície do solo, os elementos retirados anteriormente das camadas mais profundas. Tanto o solo depende da planta como esta dele, pois têm papéis fundamentais como o relacionado à erosão, quer seja em condições naturais ou provocada pelo homem (LEPSCH, 2002).

Os animais de pequeno porte que vivem no solo, tais como as formigas, os cupins e as minhocas podem promover grande movimentação de seus materiais, seja por trituração dos restos vegetais, cavando galerias ou misturando os materiais dos diversos horizontes. Além do revolvimento promovido, suas carcaças e resíduos contribuem para a formação do húmus e seus agregados.

A remoção da vegetação natural, o revolvimento da superfície do solo pela aeração e cultivo, a adição de corretivos e fertilizantes, a irrigação e aplicação de resíduos urbanos e industriais são exemplos dos impactos promovidos na formação do solo e provocados pelo homem. Atualmente um grande esforço é feito no desenvolvimento de sistemas de uso adequado do solo, ou seja a práticas de manejo sustentável, sendo possível com o uso integrado das denominadas práticas de conservação do solo.

#### **4.4.2 Substâncias naturalmente ausentes no solo**

Consideram-se substâncias naturalmente ausentes no solo, aquelas geradas ou isoladas antropogenicamente em processos industriais. Os xenobióticos (compostos que não ocorrem naturalmente na natureza) tiveram sua produção e dispersão marcadamente acentuadas pelo advento da revolução industrial, o que determinou o início da seleção de ocorrência natural e artificial de espécies vegetais e microorganismos, capazes de conviverem com estas substâncias e direta ou indiretamente, reduzirem o risco biológico ou sua toxicidade.

A maior parte dos problemas ambientais causados por estes compostos é originada pela destinação inadequada no solo, de resíduos industriais e domésticos e por práticas agrícolas indiscriminadas (CETESB, 2001b). Os compostos xenobióticos recalcitrantes permanecem no solo por longos períodos. Dentre uma grande variedade de compostos com esta característica, estão inclusos os hidrocarbonetos de petróleo, hidrocarbonetos aromáticos (BTEX, HPAs, clorobenzeno) e solventes entre outros (SKLADANY, 1992).

## 5 Metodologias de remediação de áreas contaminadas

### 5.1 Técnicas de remediação de solos contaminados

A recuperação de áreas contaminadas pelas atividades humanas pode ser feita através de vários métodos, alguns muito dispendiosos. Os processos de remediação que deslocam a matéria contaminada para local distante, pode causar riscos de contaminação secundária e aumenta ainda mais os custos do tratamento (CUNNINGHAM *et al.*, 1996). Por isso em anos recentes passou-se a se dar preferência por métodos *in situ* que perturbem menos o ambiente e sejam mais econômicos.

A evolução das técnicas de remediação de solos contaminados por óleo cru e derivados ocorreu de forma acelerada, sobretudo como resultado de pressões exercidas pela indústria para que houvesse uma melhoria contínua da relação custo-benefício para as tecnologias disponíveis e com maior preferência no mercado (NOBRE e NOBRE, 2003). A seguir será apresentado o histórico da evolução dessas tecnologias de acordo com Nobre e Nobre (2003).

A contaminação de aquíferos é uma questão de preocupação devido à mobilidade da água e a possibilidade de deslocamento de plumas de contaminação para fora do espaço físico da área contaminada. A necessidade de conter a contaminação no local levou a aplicação, em larga escala e de forma irrestrita, de sistemas com base em bombear e tratar (*pump and treat*) técnica também conhecida como “contenção hidráulica e tratamento”, para controle de fontes e remoção de massa. Após uma década de experiência, ficou evidente que o uso dessa tecnologia como forma única de remediação não era suficiente, na maioria dos casos, para promover a reabilitação do local de forma rápida e com custos aceitáveis.

Posteriormente, foi constatado que a remoção de massa poderia ser significativamente incrementada utilizando-se “ar” como meio de extração em vez de água. Este fato levou ao desenvolvimento e aplicação de tecnologias de extração *in situ*, tais como extração de gás de solo (*soil vapor extraction* SVE) e aeração de solo *in situ* (*air sparging* AIS). Embora a motivação inicial para aplicação de tais tecnologias fosse diminuir os custos operacionais, observou-se que elas estavam possibilitando a remediação das áreas de forma mais acelerada e com níveis de concentração final mais aceitáveis, dentro dos critérios legais estabelecidos. Os resultados satisfatórios mobilizaram a indústria de remediação, sobretudo em países de clima temperado, a investir em tecnologias alternativas, objetivando: (1) soluções mais rápidas e/ou com menores custos; (2) tecnologias *in situ* não-invasivas ou pouco invasivas; (3)

tecnologias complementares que promovessem a aceleração *in situ* da degradação natural de contaminantes, principalmente através de reações mediadas biologicamente. Com isso, soluções mais sustentáveis economicamente e ambientalmente foram ganhando cada vez mais espaço nesse setor.

Verificou-se, também, uma redução nos custos de remediação nos últimos 20 anos. Técnicas de extração *ex situ* foram sendo lentamente substituídas ou complementadas por técnicas de extração *in situ* como a extração de gás de solo e aeração de solo. Subseqüentemente, as técnicas de extração *in situ* deram vez ao aparecimento de técnicas de remediação passiva ou destruição de massa *in situ* como as barreiras reativas permeáveis (BRPs), incluindo os sistemas *funnel-and-gate*. A tecnologia das BRPs vem sendo utilizada mais frequentemente nos EUA e Canadá e atualmente é considerada uma das alternativas de remediação de maior preferência no mercado. O padrão de evolução das tecnologias vem focalizando em soluções cada vez mais naturais, incluindo a alteração das condições bioquímicas do subsolo para subsidiar na remediação (NOBRE e NOBRE, 2003).

As tecnologias de biorremediação tanto *in situ* quanto *ex situ* e fitorremediação para o tratamento de solos e aquíferos contaminados com xenobióticos, em particular compostos de petróleo, reúnem uma grande gama de variações tecnológicas e podem ser consideradas como ainda em fase de desenvolvimento, mas com grande potencial de aplicação.

A escolha final da tecnologia de remediação a ser empregada depende da natureza do derramamento e das características do local, tais como: localização da área contaminada em relação à população do entorno, presença de componentes livres, proximidade de mananciais municipais, migração potencial dos vapores, hidrogeologia da área e uso de água subterrânea, uso e localização de poços potencialmente afetados pelo derramamento e futura utilização da área (USEPA, 1995; USEPA, 2001).

## **5.2 Remediação com base em processos físico-químicos**

Os processos físico-químicos para tratamento de resíduos sólidos baseiam-se na utilização das diferentes propriedades químicas dos contaminantes, tais como acidez, potencial de precipitação, solubilidade e coeficiente de partição (PRICE e SAMBASIVAM, 1993). A seguir são apresentadas, resumidamente, tecnologias de remediação com base em processos físico-químicos, para redução de impactos ambientais causados pela contaminação com hidrocarboneto de petróleo, segundo U.S.EPA (2000).

### **5.2.1 Desorção Térmica**

A desorção térmica é usada para tratar solos contaminados por aquecimento do solo (direta ou indiretamente) até uma temperatura específica para que os contaminantes orgânicos volatilizem e separem-se do solo. Os contaminantes volatilizados (vapores) são coletados e geralmente são tratados por uma ou mais técnicas de tratamento de vapores do solo. Os tipos de tratamentos de vapores do solo incluem a filtração, wet-scrubbing, adsorção de carbono em fase de vapor e oxidação térmica.

O teor de argila, o tamanho da partícula, o teor de umidade, e o pH determinam a necessidade de pré-tratamento do solo antes da desorção térmica para evitar problemas operacionais na entrada e entupindo do mecanismo de alimentação. O pré-tratamento pode incluir peneiras para ajustar o tamanho das partículas, tratamento químico para ajustar o pH e adição de água para regular a umidade.

O tipo e a concentração dos contaminantes afetam a temperatura de operação, a necessidade de operar sob condições de vácuo ou com reduzido ou sem atmosfera, e o tipo de tratamento de vapores do solo necessários.

O tipo e quantidade de manutenção necessária para a desorção térmica do sistema pode afetar o cronograma do projeto e custos. Adequada caracterização do tipo de solo e das características da matriz são importantes para minimizar paradas para reparos no mecanismo de alimentação e unidade de desorção, como descrito.

Para o tratamento dos vapores, suas propriedades incluem concentração do contaminante e nível dos particulados que afetam a duração da operação da tecnologia do tratamento antes da manutenção de rotina (por exemplo, troca de carbono ou filtro) e a frequência com que manutenção não rotineira seja necessária. Dependendo do tipo e extensão das manutenções necessárias, os procedimentos de operações do sistema de desorção térmica podem ser modificados.

### **5.2.2 Extração por vapor**

A extração de vapores no solo é uma tecnologia de remediação in situ que reduz a concentração dos constituintes voláteis do petróleo adsorvidos ao solo na zona insaturada. Nesta tecnologia, aplica-se vácuo ao solo criando um gradiente de pressão negativa que causa a movimentação dos vapores em direção do poço de extração. Os vapores extraídos são, então, tratados, por uma ou mais tecnologias, tais como Sistema de Adsorção ao Carvão Ativo

Granular, e se necessário, liberados para a atmosfera (FREEMAM, HARRIS, 1995; USEPA, 1995; USEPA, 2001). A tecnologia é mais eficaz quando aplicada às frações mais leves do petróleo como gasolina. Diesel e querosene, menos voláteis que a gasolina, não são prontamente tratados por esta tecnologia, mas são suscetíveis à bioventilação (FREEMAM, HARRIS, 1995; USEPA, 1995; USEPA, 2001).

A área e profundidade da contaminação, a concentração dos contaminantes, a profundidade da bacia d'água, tipo e propriedades do solo (estrutura, textura, permeabilidade e umidade) devem ser conhecidos previamente à aplicação da tecnologia. O custo da tecnologia encontra-se entre US\$ 10 a 50/m<sup>3</sup> de solo (USEPA, 1995; USEPA, 2001).

### **5.2.3 Incineração**

O processo térmico mais utilizado no tratamento de resíduos é a incineração. A incineração, considerada por alguns como a forma de disposição final, é um método de tratamento que utiliza decomposição térmica via oxidação, com o objetivo de tornar um resíduo menos volumoso, menos tóxico ou atóxico, ou ainda eliminá-lo em alguns casos (CETESB, 1993). Segundo a CETESB (1993), a incineração é, provavelmente, a melhor solução para o tratamento de resíduos altamente persistentes, tóxicos e muito inflamáveis, dentre eles solventes e óleos não passíveis de recuperação, defensivos agrícolas halogenados e vários produtos farmacêuticos. Outro tratamento térmico utilizado para descontaminação é o co-processamento em fornos de cimento, onde se incorporam as cinzas, onde se incorporam as cinzas, provenientes do aquecimento dos resíduos, ao cimento.

### **5.2.4 Pump and treat**

O pump and treat (bombeamento e tratamento) é uma tecnologia que envolve a extração da água subterrânea para a superfície através de um ou mais poços e a água retirada é tratada acima do solo (*ex situ*). O sistema de tratamento acima do solo envolve tipicamente uma ou mais tecnologias físicas, químicas ou biológicas para tratamento da água retirada do poço e uma ou mais tecnologias para tratamento dos vapores do solo tais como Sistema de Adsorção ao Carvão Ativo Granular.

## 5.2.5 Barreiras reativas permeáveis

A Barreira Reativa Permeável (BRP) é uma zona do tratamento in situ com material reativo (como se fosse uma parede) que degrada ou imobiliza contaminadores enquanto a água corre através dele. As BRPs são instaladas como permanentes, semi-permanentes, ou como unidades substituíveis através do trajeto do fluxo de uma pluma de contaminação. O tipo de material reativo usado por BRPs é determinado com base em contaminantes específicos e as condições do aquífero. Exemplos de materiais usados em BRPs incluem ferro de valência zero, carbono orgânico e calcário. Muitas BRPs são instaladas em uma ou duas configurações – na saída do sistema ou em trincheira contínua.

## 5.3 Remediação com base em processos biológicos

Para escolha de um sistema efetivo de remediação de solos alguns requisitos precisam ser atendidos, tais como: (i) ser tecnicamente factível, (ii) economicamente viável e (iii) socialmente responsável (CUNNINGHAM *et al.*, 1996). As alternativas que utilizam soluções biológicas e com menores impactos no subsolo vêm ganhando maior destaque nos últimos anos. Existem basicamente dois tipos de tratamentos biológicos de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo: a biorremediação e variantes baseadas nos microorganismos e a fitorremediação que utiliza plantas e microorganismos associados.

### 5.3.1 Fatores que afetam a biodegradação

A velocidade de biodegradação dos hidrocarbonetos no solo depende da composição química do produto, associada aos fatores ambientais específicos do local da contaminação. Os fatores ambientais que afetam na velocidade da biodegradação do petróleo, segundo Pedrozo *et al.* (2002) são:

1. **Oxigênio:** a presença de oxigênio para a degradação do óleo nas etapas iniciais do catabolismo dos hidrocarbonetos é fundamental para a oxidação dos substratos por oxigenases. Alguns compostos como o benzoato, os hidrocarbonetos clorados, os BTEX, o naftaleno e o acenafeno são também degradados na ausência de oxigênio (ATSDR, 1999; OUDOT, 1998; ROSATO, 1997);
2. **pH:** o ideal para a biodegradação é próximo do neutro (6 a 8), ideal ao crescimento e metabolismo da microbiota e das plantas;

3. **Água:** afeta a biodegradação dos óleos devido à dissolução dos componentes residuais, propriedade de dispersão e necessidade da mesma para o metabolismo microbiano. A locomoção dos microorganismos, a difusão do soluto, o suprimento do substrato e a remoção dos produtos do metabolismo são afetados pelo teor de água presente no solo. O excesso de umidade limita o suprimento de oxigênio, e seus teores ótimos ficam em torno de 50-70 % da capacidade de campo (FRANKENBERGER, 1992);
4. **Temperatura:** As transformações biológicas são afetadas pela temperatura. A medida que esta se eleva, a atividade biológica tende a aumentar até a temperatura em que ocorre a desnaturação enzimática. A temperatura também influencia a biodegradação pelo efeito na natureza física e química do petróleo. Em temperaturas baixas a viscosidade do óleo aumenta, e a volatilização dos hidrocarbonetos de cadeia curta é reduzida, reduzindo também a atividade enzimática. A temperatura ótima para atividade mesofílica é em torno de 18 a 30°C (OUDOT, 1998; ROSATO, 1997), entretanto tem sido demonstrado que a maior parte do decaimento de HPAs no solo ocorre durante a fase termofílica de compostagem de solos contaminados onde a temperatura pode atingir 70oC (KRIPSALU et al, 2006);
5. **Nutrientes:** Os macro e micronutrientes devem estar presentes no solo em quantidades, formas e relações adequadas para manter o crescimento dos microorganismos e plantas (OUDOT, 1998; ROSATO, 1997);
6. **Microbiota:** Altas concentrações de petróleo no solo inibem a atividade microbiana no solo. Os microorganismos encontrados no solo são capazes de degradar compostos orgânicos utilizando-os como fonte de energia (OUDOT, 1998; ROSATO, 1997);
7. **Biodisponibilidade dos compostos a serem degradados:** A biodisponibilidade do contaminante é controlada por processos físico-químicos tais como sorção-desorção, difusão e dissolução;
8. **Natureza e extensão da contaminação:** O transporte destes contaminantes é o resultado das interações entre as suas propriedades físico-químicas (densidade, pressão de vapor, viscosidade e hidrofobicidade) e as características do meio ambiente subsuperficial (geologia, mineralogia do aquífero e hidrogeologia da água subterrânea) que influenciam a biodegradação.

### 5.3.2 Biodisponibilidade e biodegradação de xenobióticos no solo

A maior parte dos minerais do solo está adsorvido na superfície das partículas de argila. Os átomos desses elementos encontram-se na forma iônica, ou seja, provido de cargas

elétricas negativas ou positivas. A adsorção é um dos principais mecanismos que afeta o transporte de poluentes em meio subterrâneo, este termo designa o processo pelo qual os poluentes em solução ficam atraídos na superfície da matriz sólida envolvente (LEPSCH, 2002).

A taxa de conversão do contaminante durante a biorremediação depende da taxa de transferência do mesmo para a célula (transferência de massa) e da taxa de metabolização pelos microorganismos (BOOPATHY e MANNING, 1998). A mistura cuidadosa e a quebra de grandes partículas do solo através de, por exemplo, peneiramento, estimulam a biodegradação (MANNING *et al.*, 1995). Uma redução na biodisponibilidade de contaminantes no solo é causada por uma baixa transferência de massa para a degradação microbiana. Contaminantes tornam-se indisponíveis quando a taxa de transferência de massa é zero. O envelhecimento do solo contaminado (aging) resulta num decréscimo da biodisponibilidade do contaminante remanescente, como resultado das:

- reações de oxidação química;
- redução da difusão nos microporos do solo e adsorção à matéria orgânica do solo, e
- formação de película envolta da fase não-aquosa NAPL (non-aqueous-phase liquid) com uma alta resistência à transferência de massa na água.

O problema de biodisponibilidade pode ser superado pelo uso de surfactantes (BOOPATHY e MANNING, 1998), que aumentam a disponibilidade de contaminantes para a degradação microbiana.

Alguns microorganismos do solo possuem uma ampla capacidade de degradação de compostos aromáticos, dentre eles encontram-se: as bactérias do gênero *Pseudomonas*, e outros gêneros associados, tais como as *Sphingomonas* (HYNES *et al.*, 2004), *Burkholderia*, *Ralstonia* e os fungos *Penicillium* e *Cunninghamella* sp que apresentam maior capacidade de degradação do que os fungos *Flavobacterium*, *Brevibacterium* e *Arthrobacter* sp (ROSATO, 1997).

Quando os microorganismos são expostos ao contaminante, eles passam a degradar esses compostos na ausência de fontes de carbono e energia mais facilmente degradáveis. Quando o xenobiótico não é usado facilmente pelo microorganismo, há necessidade de outra fonte de carbono e energia facilmente biodegradável para promover o crescimento inicial microbiano e gerar biomassa suficiente para posterior degradação do composto recalcitrante (KRIPISALU *et al.*, 2006; BOOPATHY, 2000).

Ao contrário de outros processos, a biodegradação elimina os contaminantes sem dispersá-los no meio. Os processos de degradação aeróbia são caracterizados por atividades metabólicas que usam o oxigênio (ATLAS, 1991). Mono e di-oxigenases são duas das

enzimas primárias empregadas pelos microorganismos aeróbios para a mineralização de xenobióticos. Os produtos finais desta degradação, também conhecido como produtos do processo de mineralização, são o dióxido de carbono, a água e a biomassa microbiana (ATSDR, 1999; BOOPATHY, 2000; MAACHI, 2001).

A velocidade de biodegradação dos hidrocarbonetos depende da composição química do produto liberado para o meio ambiente, associado aos fatores ambientais específicos do local da contaminação.

Os hidrocarbonetos com anéis condensados, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) com mais de quatro anéis, são relativamente resistentes à biodegradação (TRUDGILL, 1984; PITTER and CHUDOBA, 1990; EWEIS et al., 1998). Já os HPAs com dois ou três anéis, como o naftaleno e antraceno, são mais facilmente biodegradados (ATLAS, 1991; EWEIS *et al.*, 1998).

Basicamente, as vias metabólicas bacterianas de degradação aeróbia dos hidrocarbonetos de petróleo podem ser divididas em três partes: (i) o substrato aromático é primeiramente transformado num metabólito di-hidroxiaromático (tipicamente um catecol) através da introdução de grupos hidroxilo intermediada pelas enzimas mono ou di-oxigenases, (ii) a abertura do anel do catecol por di-oxigenases, enzimas que catalisam a adição do oxigênio molecular ao anel, quebrando uma das ligações carbono-carbono (WILLIAMS e SAYERS, 1994), a quebra do anel pode ocorrer em duas posições distintas: entre os grupos hidroxilos (quebra intradiol ou *orto*) ou adjacientemente a um dos grupos hidroxilo (quebra extradiol ou *meta*); e (iii) nesta última fase, o produto resultante da abertura do anel, é convertido em intermediários do metabolismo central (ex. acetil-CoA, oxalato e piruvato).

A degradação de contaminantes (xenobióticos) pelas plantas (associadas ou não a microorganismos) ocorre por diferentes mecanismos que serão descritos no item 6.1.

### **5.3.3 Biorremediação**

A biorremediação é o uso de organismos vivos, sobretudo microorganismos, para degradar resíduos. Esta tecnologia ambiental é particularmente utilizada para remediação de depósitos de lixo e solos contaminados com compostos orgânicos semivoláteis, como os HPAs. Atualmente, é o método mais popular usado nos locais de altos níveis de contaminação nos Estados Unidos denominados *Superfund sites* (áreas remediadas com recursos do fundo criado pela agência ambiental americana USEPA para esse fim) (BAIRD, 2002). A biorremediação explora a capacidade dos microorganismos, especialmente de bactérias e fungos, de degradar muitos tipos de resíduos.

De fato, durante muitos anos, pensou-se que, os microorganismos podiam e deviam biodegradar todas as substâncias orgânicas. Entretanto, tal conceito mudou quando alguns compostos, como por exemplo, os organoclorados, foram considerados resistentes à biodegradação. As substâncias resistentes a biodegradação são chamadas recalcitrantes ou bioimunes. Mais recentemente, estratégias que promovem biodegradação aeróbica e anaeróbica mostraram-se eficientes na remoção de alguns compostos recalcitrantes. Entretanto, estudos recentes enfatizam a importância de monitoramento do processo de biorremediação por um tempo mais longo do que os 6 meses usuais, tendo em vista os mecanismos de sorção-dessorção que podem temporariamente promover a aparente redução de compostos, tais como os HPAs (KRIIPSALU *et al*, 2006a, 2006b, 2006c) que são liberados no meio em função da degradação da matriz orgânica do solo ou alterações físico-químicas, como por exemplo, pH.

Além disso, outras substâncias, biodegradam apenas parcialmente. Ao invés de sofrer o processo de mineralização completa; elas são transformadas em outros compostos orgânicos, alguns dos quais bioimunes ou até mesmo mais tóxicos que as substâncias originais (LIMA, 2004).

Para favorecer o crescimento microbiano é fornecido um aceptor de elétrons (oxigênio ou nitrato), nutrientes (nitrogênio e fósforo) e a fonte de carbono e de energia (matéria orgânica). O tratamento pode ser aeróbio ou anaeróbio. A modalidade aeróbia demonstrou ser mais eficiente na redução de contaminantes alifáticos e aromáticos. Pode ser utilizada em combinação com outras tecnologias (FREEMAM e HARRIS, 1995; USEPA, 1995; USEPA, 2001).

Somente nos últimos 10 anos, a técnica de biorremediação com o objetivo de recuperação de áreas contaminadas (solo, corpos hídricos superficiais, subterrâneos, sedimentos), começou a ser utilizada em larga escala através de práticas *in situ* (tratamento diretamente na área contaminada sem retirada de material) ou *ex situ* (leiras de compostagem, biopilhas e bioreatores). A biorremediação encontra-se entre as tecnologias ambientalmente mais adequadas, uma vez que pode resultar na biotransformação total ou parcial de compostos orgânicos xenobióticos em biomassa e compostos estáveis, geralmente inócuos (COLLERAN, 1997; EWEIS *et al.*, 1998; RISER-ROBERTS, 1998).

A biorremediação *in situ* é uma tecnologia que estimula ou incrementa o crescimento e a reprodução de microorganismos nativos, acelerando a biodegradação, entre outros, de compostos de petróleo presentes na zona insaturada ou saturada. Esta tecnologia pode degradar os constituintes orgânicos dissolvidos na água ou adsorvidos à matriz do aquífero (FREEMAM, HARRIS, 1995; USEPA, 1995 b; USEPA, 2001).

Com base na capacidade natural ou estimulada dos microorganismos em biodegradar hidrocarbonetos, vários sistemas biológicos de resíduos sólidos, como “landfarming”, “biopilhas”, “compostagem” e “biorreatores” têm sido desenvolvidos, utilizando solo como meio reacional. Os critérios para seleção de um destes sistemas baseiam-se nas propriedades físicas, químicas e biológicas do material e nas restrições e legislações locais e nacionais (URURAHY, 1998).

Entre as vantagens das tecnologias de biorremediação pode-se mencionar: (i) relativa simplicidade, (ii) possibilidade de ser acoplada a outros métodos de tratamento físico ou químico, (iii) relação custo-benefício satisfatória e, (iv) capacidade de destruição de vários compostos (FRANKENBERGER, 1992).

Nos EUA, o custo de técnicas de remediação por processos não-biológicos *in situ* foi estimado em 10-100 USD/m<sup>3</sup>; das técnicas *ex-situ* em 30-300 USD/m<sup>3</sup>; de processos de vitrificação de solo *in situ*, acima de 1.000 USD/m<sup>3</sup> (CUNNINGHAM et al., 1997). Comparativamente, o custo de implantação e operação de tecnologias de remediação baseada em processos biológicos (incluindo biorremediação e fitorremediação) é estimado em 4 a 1.000 vezes mais baixo (em unidade de volume tratado) do que o custo das tecnologias não biológicas (SADOWSKY, 1999).

Conseqüentemente, o custo significativamente inferior da biorremediação torna esta opção tecnológica atraente sobre outras existentes e, acredita-se que tal diferença nos custos seja a força motriz para a ampliação da pesquisa e do uso desta tecnologia. Na Tabela 4 são apresentadas as vantagens e desvantagens desta tecnologia de remediação.

**Tabela 4 - Vantagens e desvantagens da biorremediação**

<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Os equipamentos empregados são facilmente encontrados e instalados	Os poços de injeção e as galerias de infiltração podem ser obstruídos pelo crescimento microbiano ou precipitação mineral
Provoca o mínimo de perturbação nas atividades locais	Concentrações de petróleo acima de 50.000 ppm podem ser tóxicas para a microbiota
Tempo de tratamento pode ser inferior ao de outras tecnologias	Difícil de ser implementada em aquíferos de baixa permeabilidade ( $K < 10^{-4}$ cm/s)
É geralmente menos onerosa que outras tecnologias como o bombeamento e a escavação	Pode requerer monitoramento constante e manutenção
Permite a combinação de outras tecnologias para elevar a eficiência e reduzir o tempo de tratamento	A remediação pode ocorrer somente em camadas mais permeáveis ou canais do aquífero
Na maioria das vezes esta tecnologia não produz resíduos que necessitem de disposição	

**Fontes:** USEPA (1995) e USEPA (2001)

### 5.3.4 Landfarming

“Landfarming” é o tratamento de resíduos que, através das propriedades físicas e químicas do solo e da intensa atividade microbiana existente neste meio, promove a biodegradação, a destoxificação, a transformação e a imobilização dos constituintes dos resíduos tratados, minimizando os riscos de contaminação ambiental (CETESB, 1993). A degradação e detoxificação desses resíduos no solo ocorre devido à fotooxidação, volatilização, transformação enzimática ou da imobilização dos contaminantes (JIMENEZ & BARTHA, 1998).

O que torna o *landfarming* atraente são os custos mais baixos de implantação e operação quando comparado a outras opções de tratamento e por possibilitar a disposição simultânea de uma ampla variedade de resíduos.

O tratamento de resíduos por *landfarming* é feito através da aplicação controlada dos resíduos na superfície ou no interior do horizonte superficial do solo, acompanhada por práticas de manejo e monitoramento constantes, que possibilitem a alteração do estado físico, químico e biológico dos resíduos através dos processos de transformação e degradação que possam ocorrer no solo, sem que sejam causados danos ao meio ambiente (CETESB, 1993).

O *landfarming* tem demonstrado a sua eficácia na redução de vários constituintes do petróleo; os produtos mais leves (como a gasolina) volatilizam-se durante a aeração (aragem).

Os produtos intermediários (hidrocarbonetos de cadeia aberta presentes no diesel e querosene) são biodegradados rapidamente. Já os hidrocarbonetos mais pesados requerem um maior tempo para se biodegradarem (FREEMAN e HARRIS, 1995; USEPA, 1995; USEPA, 2001) e alguns policíclicos aromáticos adsorvidos no solo apresentam alta recalcitrância.

### **5.3.5 Compostagem**

A compostagem é um processo biológico utilizado originalmente na agricultura, de decomposição da matéria orgânica, onde uma das principais características é o calor gerado metabolicamente pela degradação do poluente que fica retido no sistema, provocando o aumento da temperatura e mudanças físicas e na população microbiana. Esse sistema de tratamento é extremamente favorável para locais frios, pois o aumento da temperatura aumenta significativamente a taxa de biodegradação. Nesse sistema normalmente adiciona-se materiais estruturantes, tais como: palha, grama, madeira, folhas, bagaço de cana e serragem, facilitando com isso a transferência de oxigênio e favorecendo o rápido crescimento da população microbiana uma vez que estes agentes atuam também como fonte de carbono. Geralmente, a biodegradação do poluente ocorre depois que os substratos de alta biodegradabilidade são preferencialmente consumidos e uma densidade suficiente da população microbiana foi estabelecida (URURAHY, 1998; SEMPLE *et al*, 2001; VASUDEVAM e RAJARAM, 2001).

### **5.3.6 Biopilhas**

O tratamento de resíduos de biopilhas é uma variação do sistema de *landfarming* e da leira de compostagem que, nesse caso, é estática e com aeração forçada mecanicamente. Esta tecnologia envolve a construção de células ou pilhas de solo contaminado de forma a estimular a atividade microbiana dentro da pilha através de uma aeração eficiente. A atividade microbiana pode ser aumentada pela adição de umidade e nutrientes como nitrogênio e fósforo. Tipicamente, as biopilhas são construídas sobre uma base impermeável para reduzir o potencial de migração dos lixiviados para o ambiente sub-superficial. Uma malha de dutos perfurados instalados na base da pilha e conectados a um compressor garante a perfeita aeração do conjunto. Em alguns casos, constrói-se um sistema de coleta para o lixiviado, principalmente quando se faz uso do sistema de adição de umidade. As pilhas são geralmente

recobertas por plástico para evitar liberação de contaminantes para a atmosfera, bem como para protegê-la das intempéries (BITTAR, 2000).

Em comum com o *landfarming* e com leira de compostagem, há o fato das biopilhas serem tratamento *ex situ*, utilizarem oxigênio e estimularem o crescimento e a atividade de bactérias aeróbias. Diferem, porém, pela forma como a aeração é realizada; no *landfarming* é efetuada através de arado, na leira através de revolvimento geralmente com pá e nas biopilhas, através de tubulações colocadas nas pilhas. Assim como o *landfarming*, a biopilha estática de aeração forçada tem demonstrado eficácia na redução das concentrações de quase todos os constituintes do petróleo; os constituintes mais pesados, entretanto, requerem um tempo maior de tratamento (FREEMAN e HARRIS, 1995; USEPA, 1995; USEPA, 2001) e alguns apresentam grande recalcitrância (KRIIPSALU et al., 2006).

### 5.3.7 Biorreatores

O emprego de biorreatores, particularmente na investigação científica de processos de biorremediação tem sido favorecido pela grande dificuldade em manter as condições ótimas de processo que possibilitem o aumento das taxas de biodegradação de resíduos contendo hidrocarbonetos (SÁ, 2002). Os biorreatores facilitam o controle da qualidade do processo (temperatura, nutriente, crescimento populacional, comportamento da biomassa e umidade), bem como possibilitam a aclimatação, o desenvolvimento de microorganismos e consórcios selecionados a aplicação da técnica de bioenriquecimento e a utilização de microorganismos modificados geneticamente sem provocar danos ao meio ambiente (URURAHY, 1998).

Os biorreatores são altamente atrativos por causa do baixo custo quando comparado a outras técnicas de disposição. Entretanto, seus custos são mais altos do que os tratamentos *in situ*, pois há gastos adicionais com transporte do material contaminado, construção dos equipamentos para uma particular descontaminação, mão de obra adicional e energia (ALEXANDER, 1999). Entretanto, podem ser muito úteis na degradação de compostos altamente recalcitrantes. Sua eficiência costuma ser inversamente proporcional à capacidade instalada e são particularmente eficientes quando usados em escala de laboratório ou piloto.

### 5.3.8 Fitorremediação

A fitorremediação consiste no uso de plantas, microorganismos associados e respectivas enzimas, assim como a aplicação de técnicas agronômicas para degradar, reter, imobilizar ou reduzir a níveis não-tóxicos os contaminantes ambientais através de processos que visam recuperar a matriz do solo ou da água subterrânea e estabilizar o contaminante (CUNNINGHAM *et al.*, 1996; FRICK *et al.*, 1999). É uma tecnologia que vem despertando cada vez maior atenção. As vantagens da fitorremediação incluem seu custo relativamente baixo, benefícios estéticos e natureza não-invasiva (BAIRD, 2002). A fitorremediação é influenciada pela estrutura do solo, textura e teor de matéria orgânica, disponibilidade de água e de oxigênio, temperatura, concentração de nutrientes, radiação solar e pelos processos de degradação (volatilização, evapotranspiração, fotomodificação, hidrólise, lixiviação e biotransformação do contaminante).

A fitorremediação oferece vantagens, tais como: grandes áreas podem ser tratadas de diversas maneiras, a baixo custo, com possibilidades de remediar águas contaminadas, o solo e o subsolo e ao mesmo tempo embelezar o ambiente. Entretanto o tempo para se obter resultados pode ser longo. A concentração do poluente e a presença de toxinas devem estar dentro dos limites de tolerância da plantas usadas para não comprometer o tratamento. Riscos como a possibilidade dos vegetais entrarem na cadeia alimentar, devem ser considerados quando empregar esta tecnologia (CUNNINGHAM *et al.*, 1996). A Tabela 5 apresenta a comparação entre a fitorremediação e outras alternativas de biorremediação e o Capítulo 6 seguinte, descreve em maiores detalhes os mecanismos da fitorremediação.

**Tabela 5** - Comparação entre a fitorremediação, atenuação natural, biorremediação e outras tecnologias de remediação de solos contaminados.

<b>Características</b>	<b>Fitorremediação</b>	<b>Atenuação Natural</b>	<b>Biorremediação</b>	<b>Outras alternativas</b>
<i>In situ</i> ou <i>ex situ</i>	<i>In situ</i>	<i>In situ</i>	<i>Ex situ</i> ou <i>In situ</i>	<i>Ex situ</i> : Escavação, <i>landfarming</i> , incineração <i>In situ</i> : Extração dos vapores do solo, desorção térmica, <i>air sparging</i>
Intervenção humana	Sim; agrônômica, aragem, fertilizante, inoculação, plantio	Não	Sim; extensa: temperatura, oxigênio, nutrientes para otimizar a atividade microbiana	Sim; extensa
Benefícios diretos	<i>In situ</i> : aplicação relativamente fácil, microorganismos degradam uma grande variedade de contaminantes, as plantas transferem oxigênio para a rizosfera ou promovem a contenção dos contaminantes, adequado para grandes áreas, esteticamente agradável	<i>In situ</i> : não provoca distúrbios no local contaminado	Provoca distúrbios limitados <i>in situ</i> ; é efetiva	<i>Ex situ</i> : são mais rápidas e mais eficazes que outras tecnologias de remediação; a extração a vácuo não depende da profundidade da água subterrânea
Benefícios indiretos	Aumenta a qualidade do solo, previne a erosão, as árvores reduzem o ruído	Previne a erosão e diminui a poluição do ar		
Limitações	As plantas podem não crescer se os níveis de contaminação forem elevados; mais lenta que os métodos <i>ex situ</i> ; lixiviação e volatilização podem ocorrer antes da fitorremediação; as condições ambientais devem permitir a eficiência do processo	Mais lenta que qualquer outra tecnologia de remediação; maior período de risco ecotoxicológico e para o homem; microorganismos, plantas e as condições ambientais requeridas podem não estar naturalmente presentes	<i>Ex situ</i> : grande modificação da área devido à escavação <i>In situ</i> : requer sistema de coleta, monitorização intensa, longo tempo de tratamento	Grande modificação na área contaminada, especialmente na escavação; disposição das cinzas na incineração, algumas tecnologias são lentas
Custo	US\$ 17 a 100/m <sup>3</sup>	Sem custo operacional	<i>In situ</i> : US\$ 50 a 133/m <sup>3</sup> <i>Ex situ</i> : 133 a 400/m <sup>3</sup>	US\$ 10 a 1.000/m <sup>3</sup> , tecnologias <i>Ins itu</i> , em geral, menos onerosas do que as <i>ex situ</i>

Fonte: FRICK et al. (1999)

## 6 Fitorremediação

Como primeiro passo para o estabelecimento de uma estratégia de fitorremediação,, deve-se avaliar as espécies com potencial fitorremediador com base nas concentrações do contaminante que as mesmas são capazes de tolerar ainda assim, germinar e/ou produzir biomassa (MARQUES, 2005; MARQUES *et al*, 2005; MARQUES *et al*, 2006, ROSA *et al*, 2006). Isso porque nem todas as plantas apresentam a mesma tolerância a contaminantes específicos, por isso selecionam-se aquela(s) com maior tolerância(s) a concentrações mais altas. Métodos para screening e seleção de espécies potencialmente úteis têm sido propostos (ROSA, 2006; MARQUES *et al*, 2006).

O passo seguinte é identificar sua capacidade de promover ou contribuir para uma descontaminação efetiva do solo. A eficiência do processo de fitorremediação se baseia não somente na redução da contaminação a valores abaixo dos valores de referência, mas também o tempo requerido para este propósito (HERNÁNDEZ-VALENCIA e MAGER, 2003).

As plantas podem ter atuação direta e indireta na remediação ambiental (DIAS, 1999). No primeiro caso, as plantas absorvem os contaminantes, podendo ser os compostos acumulados ou metabolizados em seu tecido. Esse metabolismo pode envolver a transformação ou mineralização do composto inicial. O segundo caso (atuação indireta) envolve o estabelecimento de condições que favoreçam a atividade microbiana do solo na degradação de contaminantes. Isto pode ocorrer por meio de diversos processos, tais como:

- exsudatos provenientes das raízes contém compostos orgânicos que são fonte de nutrientes para os microorganismos;
- o material vegetal em decomposição é fonte de carbono, energia e nutrientes;
- algumas enzimas encontradas em diversos tecidos vegetais na superfície das raízes atuam na degradação de compostos tóxicos;
- a presença de vegetais mantém a umidade do solo, favorecendo e regularizando o desenvolvimento de microorganismos.

Em alguns casos, ainda, as plantas atuam transportando compostos voláteis presentes na água subterrânea para a superfície, sendo estes posteriormente evapotranspirados, reduzindo a possível contaminação do lençol freático.

Diversas espécies de plantas mostram boas promessas como agentes para fitorremediação. Essas plantas incluem: gramíneas, leguminosas, hortaliças, árvores e diversas outras monocotiledôneas e dicotiledôneas (BROWN *et al.*, 1994; CHANEY *et al.*, 1997; CUNNINGHAM *et al.*, 1996; DUSHENKOV *et al.*, 1995; SALT *et al*, 1995; SCHNOOR, *et*

*al.*, 1995; MERKL *et al.*, 2004a; MERKL *et al.*, 2004b; HYNES *et al.*, 2004; HUANG *et al.*, 2005; PARRISH *et al.*, 2005; WHITE, JR *et al.*, 2005; MERKL *et al.*, 2006).

Nas últimas décadas, a fitorremediação foi investigada como um meio para remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos perigosos, onde estão inclusos: metais pesados (CHANEY *et al.*, 1997; KUMAR *et al.*, 1995; SALT *et al.*, 1995; WONG, 2003; MORIKAWA & ERKIN, 2003; KAUTSKY & GREGER, 2004; ROMEIRO, 2005; PEREIRA, 2005) solventes clorados (HABY e CROWLEY, 1996; WALTON *et al.*, 1994), pesticidas (ANDERSON *et al.*, 1994; HOAGLAND *et al.*, 1997; KRUGER *et al.*, 1997), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos HPAs (APRIL e SIMS, 1990; REILLEY *et al.*, 1996), bifenilas policloradas (BRAZIL *et al.*, 1995; DONNELLY e FLETCHER, 1995), munção (SCHNOOR *et al.*, 1995) e radionuclídeos (ENTRY *et al.*, 1997).

## **6.1 Mecanismos de fitorremediação**

Segundo McCutcheon & Schnoor (2003), as plantas podem remediar poluentes por meio de cinco mecanismos básicos:

- 1) Capacidade das plantas terrestres, algas e tecidos de plantas para “seqüestrar” elementos tóxicos, especialmente metais do solo e nesse caso as plantas acumuladoras de metais podem ser retiradas do ambiente para disposição adequada ou extração e reuso dos metais (o que pode ser considerado uma “biomineração” quando níveis comerciais de **fitoextração** são alcançados);
- 2) Capacidade de absorver e, algumas vezes, precipitar contaminantes presentes em águas poluídas (**rizofiltração**);
- 3) Plantas tolerantes usadas para estabilizar contaminantes através da redução da biodisponibilidade (**fitoestabilização**);
- 4) Plantas e microorganismos associados utilizados para degradar poluentes orgânicos (**fitodegradação**) e;
- 5) Plantas com capacidade de volatilizarem poluentes extraídos do solo (**fitovolatilização**).

A seguir, tais e outros mecanismos são apresentados em maiores detalhes.

### 6.1.1 Fitoextração

A fitoextração envolve a absorção de contaminantes pelas raízes do vegetal, os quais são nelas armazenados ou são transportados e acumulados nas partes aéreas. Os contaminantes são geralmente removidos através da colheita do vegetal (BELMON & METCALFE, 2003). Tal processo de concentração leva a uma redução da massa contaminada a ser disposta. Após a colheita, as plantas podem ser incineradas, ou compostadas para o reciclo dos materiais. Este mecanismo de atuação é aplicado principalmente para metais (Cd, Ni, Cu, Zn, Pb) podendo ser usada para outros compostos inorgânicos (Se) e alguns compostos orgânicos (McGRATH, 1998; PARRISH et al., 2005). As espécies *Brassica juncea*, *Aeolanthus biformifolius*, *Alyssum bertolonii*, *Thlaspi caerulescens*, são exemplos de plantas acumuladoras de Pb, Cu/Co, Ni e Zn respectivamente (McGRATH, 1998).

### 6.1.2 Rizofiltração

A rizoextração ou rizofiltração é a adsorção ou precipitação de contaminantes nas raízes do vegetal, ou a absorção para as raízes daqueles contaminantes que estão em solução ao redor da zona radicular, devido aos processos bióticos ou abióticos. A absorção, concentração e translocação vegetal podem ocorrer dependendo do contaminante. Exudatos das raízes podem causar a precipitação de alguns metais. A rizofiltração inicialmente resulta na contenção do contaminante, aonde os contaminantes são imobilizados ou acumulados ao redor ou dentro do vegetal. Os contaminantes são então retirados através da remoção física do vegetal.

Plantas terrestres podem ser cultivadas e utilizadas hidroponicamente em sistemas de rizofiltração. Geralmente são plantas que têm um grande aumento de biomassa e sistemas radiculares com maior alongamento e crescimento quando comparados com plantas aquáticas (DUSHENKOV et al., 1995). A mostarda indiana (*Brassica juncea*) se mostrou efetiva na retirada de metais (DUSHENKOV et al., 1995), igualmente o girassol (*Helianthus annuus* L.) removeu Cr<sup>6+</sup>, Mn, Cd, Ni, Cu, U, Pb, Zn e Sr em estudos feitos em estufa (SALT et al., 1995). O girassol também foi mais eficiente que a mostarda indiana e que o feijão (*Phaseolus coccineus*) na remoção de urânio do solo. Os coeficientes de biocumulação para urânio no girassol foram muito maiores para as raízes do que para os brotos (DUSHENKOV et al. 1997). Plantas aquáticas têm sido utilizadas no tratamento de aquíferos contaminados; entretanto elas são menores e possuem um sistema de desenvolvimento de raízes menor que o

existente em plantas terrestres. Plantas flutuantes com potencial de rizofiltração incluem: *Eichhornia crassipes*, *Hydrocotyle umbellata*, *Lemna minor*, *Azolla pinnata* e *Myriophyllum spicatum* (SALT et al., 1995).

### 6.1.3 Fitoestabilização

A fitoestabilização pode ser definida como o uso de plantas e sistemas de raízes para prevenir a migração de contaminantes através do vento, da erosão hídrica, da lixiviação e da dispersão no solo. Ela compreende a imobilização de um contaminante no solo através da absorção e acúmulo pelas raízes, adsorção pela matéria orgânica do solo (materiais húmicos), ou precipitação próximo à zona radicular do vegetal, e ocorre através das zonas microbiológicas e reações químicas nas raízes, e/ou por alterações no ambiente do solo ou por contaminantes químicos. O pH do solo pode ser alterado pelos exudados radiculares ou através da produção de CO<sub>2</sub>. Este mecanismo pode alterar a solubilidade e mobilidade de metais ou impactar a dissociação de compostos orgânicos. O solo pode ser afetado pelo vegetal de forma a ocorrer a conversão de metais da forma solúvel para um estado de oxidação insolúvel (SALT et al., 1995). A fitoestabilização pode ocorrer através da adsorção, precipitação, formação de complexos ou redução de valência (USEPA, 1997). Os vegetais podem também reduzir a erosão de metais contaminantes do solo.

A tolerância a metais é uma exigência para a seleção de espécies no tratamento dos solos contaminados por metais pesados. *Brassica juncea* demonstrou reduzir a lixiviação de metais no solo em até 98% (RASKIN et al., 1994). As seguintes espécies de gramíneas têm sido utilizadas para reduzir a lixiviação de metais: *Agrostis temis* cv. Goginan, *Festuca rubra* cv Merlin, *Andropogon gerardi* Vit., *Festuca arundinacea* e *Glycine max* (L) Merr. (PIERZYNSKI et al., 1994).

O termo **fitolignificação** tem sido utilizado para se referir à forma de fitoestabilização nos quais compostos orgânicos são incorporados à lignina vegetal (CUNNINGHAM et al., 1995).

### 6.1.4 Fitodegradação

Segundo a U.S.EPA (2000) a fitodegradação também é conhecida como fitotransformação, e baseia-se na quebra do contaminante absorvido pelo vegetal através de processos metabólicos no corpo do mesmo. Para que a fitodegradação possa ocorrer no corpo

do vegetal, o composto deve ser primeiro absorvido pelo mesmo. A absorção é dependente da hidrofobicidade, solubilidade e polaridade do contaminante. Compostos orgânicos moderadamente hidrofóbicos são mais facilmente absorvidos e translocados próximos ao vegetal. Alguns compostos solúveis não são absorvidos ou translocados pelas raízes (Schnoor *et al.*, 1995). Compostos hidrofóbicos podem estar ligados à superfície radicular ou separados nas raízes, entretanto não podem ser translocados ao longo de vegetal. Moléculas apolares com pesos moleculares inferiores a 500 serão adsorvidas pela superfície radicular, enquanto moléculas polares irão penetrar na raiz sendo então translocadas (BELL, 1992). Moléculas apolares com pesos moleculares inferiores a 500 serão absorvidas pela superfície radicular. Entretanto, moléculas polares irão penetrar na raiz e serão translocadas (BELL, 1992). A absorção de compostos orgânicos pode depender também do tipo de planta, idade do contaminante e muitas outras características físicas e químicas do solo.

Entre as enzimas que degradam ou mineralizam os contaminantes dentro das células vegetais, destacam-se as nitroreduases (degradação dos nitroaromáticos), desalogenases (degradação de solventes clorados e pesticidas) e lacases (degradação de anilinas) (CUNNINGHAM, *et al.*, 1996). *Populus sp.* e *Myriophyllum spicatum* são exemplos de plantas que possuem tais sistemas enzimáticos. Plantas aquáticas (*Myriophyllum aquaticum* e *Nitella sp.*) têm sido utilizadas para degradação de TNT. Outras espécies utilizadas para fins de fitodegradação são *Populus deltóides*, *Populus nigra*, *Liriodendron tulipifera*, *Taxodium distichum*, *Betula nigra*, *Quercus falcata* e *Quercus virginiana* (U.S.EPA, 2000).

### 6.1.5 Fitovolatilização

Fitovolatilização é a absorção e transpiração de um contaminante pelo vegetal, com liberação do contaminante na forma original ou modificada para a atmosfera. Alguns íons de elementos dos sub-grupos II, V e VI da tabela periódica, mais especificamente, mercúrio, selênio e arsênio, são absorvidos pelas raízes, convertidos em formas não tóxicas e depois liberados para a atmosfera. A fitodegradação pode ocorrer junto com a fitovolatilização. A fitovolatilização tem sido aplicada no tratamento de águas em áreas alagadas, mas também pode ser aplicada no tratamento de solos, sedimentos e lodos. Este mecanismo é empregado também para compostos orgânicos (BROOKS, 1998).

As espécies que podem ser utilizadas na fitovolatilização são: *Populus sp.* (álamo), *Medicago sativa*, *Brassica juncea*, *Brassica napus*, *Hibiscus cannabinus*, *Festuca arundinacea* e *Arabidopsis thaliana* (U.S.EPA, 2000).

### **6.1.6 Fitoestimulação e rizodegradação**

Neste mecanismo de fitorremediação, as raízes em crescimento (extremidades e ramificações laterais) promovem a proliferação de microorganismos degradativos na rizosfera, que usam os metabólitos exudados pelas plantas como fonte de carbono e energia. Além disso, as plantas podem secretar suas próprias enzimas biodegradativas. A aplicação da fitoestimulação limita-se aos contaminantes orgânicos (BROOKS, 1998). A comunidade microbiana na rizosfera é heterogênea devido à distribuição espacial variável dos nutrientes nesta zona; as *Pseudomonas* são organismos predominantes associados às raízes (DINARDI *et al.*, 2005). A degradação que ocorre fora do vegetal, devido à liberação de compostos (ex: enzimas produzidas pelos vegetais) que causem a transformação ou ainda a quebra do contaminante externamente ao vegetal é denominada rizodegradação.

### **6.1.7 Barreira hidráulica com plantas**

Controle hidráulico é o uso de vegetais para remover a água subterrânea através da absorção e consumo, de forma a conter e controlar a migração de contaminantes. O controle hidráulico também é conhecido como fito-hidráulico ou controle de pluma hidráulica, podendo ser utilizado no tratamento de áreas alagadas, superfícies molhadas e solo molhado (USEPA, 2000; DINARDI *et al.*, 2005). Algodão do mato e híbridos de álamo (*Populus sp.*) foram utilizados para conter e tratar aquíferos rasos contaminados com metais pesados, nutrientes ou pesticidas (GATLIFF, 1994). O álamo também é utilizado para conter água subterrânea contaminada com gasolina e diesel (NELSON, 1996).

### **6.1.8 Capas vegetativas**

As capas vegetativas são sistemas de cobertura vegetal constituídos de gramíneas e/ou árvores, plantadas sobre aterros sanitários (industriais e municipais), usadas para minimizar a infiltração de água da chuva e conter a disseminação dos contaminantes, evitando que o lixo fique a céu aberto. As raízes incrementam a aeração do solo promovendo a biodegradação, evaporação e transpiração (GLASS, 1988). Árvores de álamo e gramíneas têm sido utilizadas comercialmente para a construção de coberturas vegetais. Preferencialmente, a vegetação escolhida deve ser uma mistura de plantas nativas e espécies de estações frias e quentes.

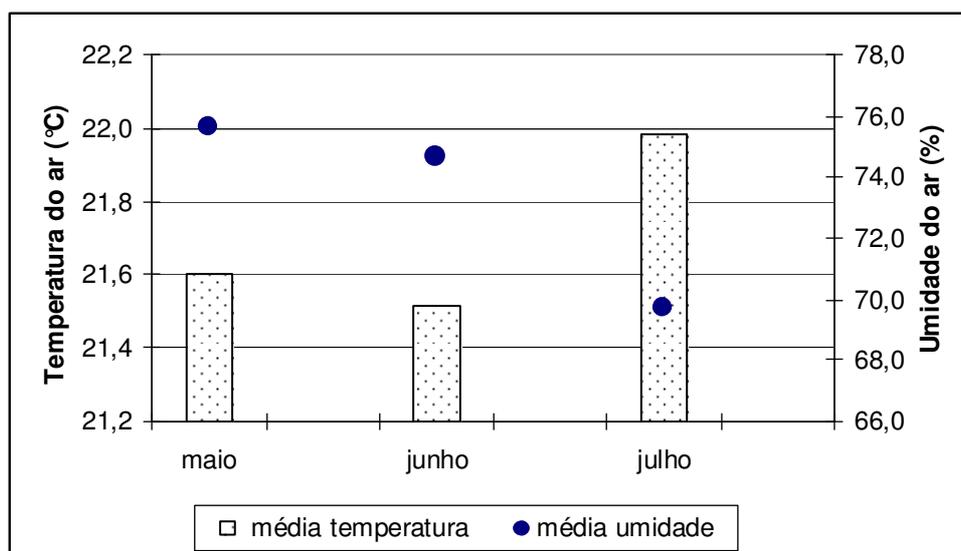
## 7 Material e Métodos

### 7.1 Condições Experimentais

O experimento foi conduzido no Campo Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-Rio), localizada na baixada metropolitana do Rio de Janeiro, em estufa de baixo custo, durante o período de 02 de maio a 11 de julho de 2006 (69 dias), em coordenadas geográficas 22° 45'S e 43° 41'W, a 33 metros de altitude (Figura 5). O clima da região é o tipo Afw, segundo a classificação de KAÖPPEN (1948), sendo caracterizado por um clima tropical com inverno seco e precipitação anual em torno de 1200mm, concentrada de outubro a março. A temperatura no verão se eleva. A temperatura média encontrada no período de experimento foi de 21,7°C e a umidade relativa de 73,3%. A temperatura e a umidade relativa diurna e noturna foram registradas por um termohigrógrafo da PESAGRO durante todo o período do experimento. A Figura 6 apresenta a temperatura e a umidade durante a condução do experimento.



**Figura 5** – Casa de vegetação de baixo custo onde foi realizado o experimento.



**Figura 6** - Temperatura e umidade relativa média mensais registrada durante a condução do experimento.

Os tratamentos consistiram da combinação das espécies (*Glycine max* e *Brachiaria brizantha*) com as doses de contaminante (0 e 3%) sendo estas repetidas 20 (vinte) vezes. Dois tratamentos adicionais foram incluídos no experimento, sendo um objetivando detectar o efeito da atenuação natural, ou seja, na qual apenas o contaminante foi aplicado (tratamento sem planta) e outro no qual os processos abióticos puderam ser avaliados. No tratamento de processos abióticos, após 3 dias a partir da data de aplicação do óleo cru no solo, adicionou-se uma solução de 0,3% de azida sódica (para esterilização do solo através da eliminação de atividade microbiana). Esses dois tratamentos adicionais foram repetidos 3 (três) vezes.

O solo utilizado foi uma amostra da camada de 0-20 cm de um Planosolo háplico coletado em área experimental da Pesagro-Rio com histórico de experimentação com leguminosas fixadoras de N<sub>2</sub>. Na tabela 6 são apresentadas as características químicas e físicas da amostra anteriormente a aplicação dos tratamentos.

Cada unidade experimental foi representada por um vaso de plástico com capacidade para 7,5 kg, com 10cm de diâmetro de fundo preenchido com uma camada de pedra brita nº 01 para evitar o contato do solo quando contaminado com o solo da estufa de baixo custo, e acima dessa camada de brita foram adicionados 4 litros (aproximadamente 5 kg) de solo controle e solo contaminado a 3% com óleo cru (teste).

Após seco em sombra, a amostra de solo foi dividida em duas porções: (i) a primeira foi umedecida para a adição de petróleo para que a aplicação fosse homogênea em toda a massa de solo com o auxílio de uma betoneira. O nível de contaminante proposto (3% v:v) equivale a aplicação de 1,701 L de óleo cru em 50Kg de solo úmido.

## **7.2 Seleção das espécies vegetais utilizadas**

Foram selecionadas as espécies de soja (*Glycine max* cv CD 214 RR) e braquiária (*Braquiaria brizantha* cv Marandu). A seleção das duas espécies utilizadas no presente experimento baseou-se nos seguintes critérios:

- a) existência na literatura especializada de indícios de potencial fitorremediador para contaminantes orgânicos e, em especial, hidrocarbonetos de petróleo;
- b) adequação às condições climáticas locais (Estado do Rio de Janeiro);
- c) rápido crescimento e produção de biomassa.
- d) desempenho das espécies obtido em experimento anteriormente conduzido com a participação da autora, onde seis espécies adaptadas às condições brasileiras foram testadas em sala climatizada, quanto à tolerância e respostas de toxicidade na presença de solo contaminado com óleo cru em seis concentrações 0,05%, 0,5%, 2%, 4% e 6%, sendo que as variáveis analisadas foram taxa de germinação (precoce, tardia e total), biomassa radicular e biomassa aérea (ROSA, 2006; MARQUES *et al*, 2006). Segundo os estudos de germinação e produção inicial de biomassa, as espécies *G. max* e *B. brizantha* mostraram-se tolerantes à presença de óleo na concentração escolhida para o presente estudo de fitorremediação (3% v:v de óleo);

Aos vasos com braquiária foram adicionados 25 mL de uma solução de nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) a 0,3% a cada unidade, para quebrar a dormência da semente; ao passo que as sementes de soja foram mergulhadas em uma solução de sacarose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) a 10%, e após a retirada das sementes da solução, um inóculo de *Rizobium* sp. obtido na EMBRAPA (inóculo desenvolvido nas dependências da EMBRAPA – Agrobiologia, comercialmente vendido para inoculação da soja quando utilizada na olericultura), foi adicionado as sementes ainda molhadas da solução e revolvidas para maior fixação do mesmo as sementes. Após adição do inóculo, as sementes foram plantadas.

## **7.3 Biometria das plantas**

Aos 30 e 60 dias após o plantio, 5 e 15 repetições de cada tratamento, respectivamente, foram avaliadas quanto as variáveis métricas. Para tanto as plantas foram removidas do substrato e cortadas na altura do solo. As variáveis analisadas foram: (i) área foliar, (ii)

comprimento da raiz, (iii) comprimento da parte aérea, (iv) biomassa radicular, (v) biomassa aérea, seguindo os procedimentos abaixo descritos:

### **7.3.1 Área foliar**

As folhas das duas espécies tiveram medidas o comprimento e a largura máxima, para análise de área foliar. Para o cálculo da área foliar da braquiária nas duas amostragens a fórmula utilizada foi:

$$Sf\ b = k\ (C.L) \quad (Eq. 1)$$

Onde C é o comprimento e L é a largura da folha, no caso, o k (k = fator de conversão para cálculo de área foliar) foi considerado 0,6841, utilizando como coeficiente de determinação 0,9366 .

Para o cálculo da área foliar da soja, nas duas amostragens, foi utilizada a fórmula:

$$Af\ g = k.a.b \quad (Eq. 2)$$

Onde a e b são, respectivamente, largura e comprimento do folíolo e o k = 0,730 na amostra de 30 dias, pois o folíolo medido foi a folha primária; já na amostragem de 60 dias o k = 0,668, pois o folíolo medido foi o terminal simétrico (BABICH E MAKAROV, 1969).

### **7.3.2 Comprimento da parte aérea e da raiz**

A raiz foi removida com cuidado para que não se perdesse no solo, e medido seu comprimento, o mesmo procedimento com a parte aérea.

### **7.3.3 Biomassa aérea e radicular**

Posteriormente a retirada de solo da raiz, as partes aérea e radicular das plantas foram lavadas, devidamente identificadas e secadas em estufa a 60°C por 24 horas. Em seguida, o material seco foi pesado para determinação da biomassa seca da parte aérea e radicular para cada tratamento.

No momento da coleta das plantas, amostras de solo foram retiradas (15 amostras compostas de 12g cada), sendo 5 em cada dia de amostragem, de solo do rizoplano (camada de solo que recobre a camada mais próxima à raiz) juntamente com o solo da rizosfera (solo

mais próximo a raiz). As amostras foram unidas em 2 amostras em cada data de amostragem, sendo: (i) 1 (uma) amostra composta de 60g de solo do rizoplano e da rizosfera para análise de UFCs (Unidade formadora de colônia e identificação a nível de gênero) de fungo (nos 60 dias); e (ii) 2 (duas) amostras compostas de solo do rizoplano e da rizosfera para análise de concentração de HTPs, HPAs e BTEX (aos 30 e 60 dias).

## **7.4 Amostragem de solo e procedimentos analíticos**

### **7.4.1 Análise físico-química do óleo cru**

O óleo cru utilizado no experimento, foi obtido na Bacia de Campos, e caracterizado pela Analytical Solutions quanto a quantificação de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo e suas frações (HTP fingerprint) e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs). Já a caracterização do benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (m,p-xileno, o-xileno) foi obtida no Laboratório de Química do Instituto de Química da UERJ em parceria com o Laboratório de Química da Peugeot Resende/RJ, seguindo o procedimento: as amostras de petróleo foram diluídas em diclorometano (Tedia grau pesticida) em uma proporção de 1g:1000mL. As amostras foram analisadas inicialmente em um cromatógrafo Agilent 6820 com detector de ionização na chama (CG-DIC), empregando Hélio como fase móvel a 2,0 mL/min, com injeção sem divisão de amostra (“splitless”). A temperatura do injetor foi de 250°C e do detector de 300°C. Foi empregada uma coluna HP5-MS de 30 m de comprimento, 0.32 mm de espessura e 0.25 µm de filme. A temperatura inicial da coluna foi de 40°C, mantida por 6 min, sendo então aquecida a 10°C/min até 300°C. Para quantificação do benzeno, tolueno, xileno e 1,2,3-trimetilbenzeno foi usada uma mistura padrão de BTEXT da Chemservice (USTWI-1JM). A identificação dos picos de BTEXT foi realizada em um cromatógrafo Agilent 6890 com detector seletivo de massas Agilent MSD 5973, usando as mesmas condições operacionais do CG-DIC, inclusive a coluna cromatográfica. O espectrômetro de massas foi operado em modo SIM (“single íon monitoring”), com o objetivo de gerar um cromatograma somente com os compostos aromáticos. Os íons característicos de cada composto foram: Benzeno (78); Tolueno(92); Etil benzeno (116) e Xilenos (116). Para a medição da densidade dos óleos foi utilizado um aerômetro (densímetro).

## 7.4.2 Procedimentos analíticos: teores de BTEX, HPAs e HTP no solo

Para análise de hidrocarbonetos foram obtidas 2 amostras adicionais nas fases:

- Imediatamente após contaminação do solo, seis dias antes da semeadura (-6d);
- Na data da semeadura (0d);

A amostra analisada logo após a contaminação (-6d) objetivou verificar o grau de homogeneização da contaminação no solo (sabidamente contaminado a 3%) e verificar eventual existência desses compostos no solo pré-contaminado.

A amostra obtida seis dias após contaminação do solo e imediatamente antes da semeadura (0d) objetivou verificar um eventual decaimento das concentrações dos referidos compostos durante o período pós-contaminação que antecedeu o plantio devido a processos abióticos e/ou atenuação natural.

**Quantificação (CG EM):** A quantificação no óleo cru dos HTPs, BTEX e HPAs foi realizada na Analytical Solutions e de BTEXT nos laboratórios de Química da UERJ e da Peugeot de Resende. A quantificação dos compostos HTPs, BTEX e HPAs extraíveis do solo foram realizadas pela Analytical Solutions utilizando respectivamente as metodologias US EPA 5021A, US EPA 8015B e US EPA 8021B para BTEX (sendo que a metodologia US EPA 8015B também foi utilizada para análise de HTP total e suas frações). a metodologia US EPA 8270D para análise de HPAs. Todos os valores para amostras sólidas reportados são relativos à massa seca (MS). Para efeito de cálculo dos valores totais de HTPs, BTEX e HPAs, todas as vezes em que o valor para um composto esteve abaixo do limite de detecção, assumiu-se que a concentração existente era esse limite dividido por 2.

**Extração:** Análise de BTEX (segundo protocolo USEPA 5021 e 8021B): Uma alíquota da amostra, tal como fornecida, foi fortalecida com uma solução de concentração conhecida e rastreável de a,a,a-trifluortolueno e p-cloro-flúor benzeno; para amostras sólidas, foram adicionados 10mL de água mineral. Os componentes voláteis foram injetados em uma coluna megabore DB-05 de 30m. As condições de cromatografia utilizadas foram: Temperatura inicial de 45 °C, seguida de taxa de aquecimento de 12°C/min até a temperatura final de 320°C com isoterma de 3 minutos. Análise de HPA (segundo protocolo USEPA 8270D): Uma alíquota da amostra, tal como fornecida, foi fortalecida com uma solução de concentração conhecida e rastreável de compostos traçadores, tais como 2-Flúorbifenila e p-Terfenil-D14, a amostra foi então extraída com diclorometano ultrapuro em mesa agitadora por um mínimo de 40 minutos. O extrato orgânico foi então concentrado a um volume de

1mL em TurboVap. O concentrado final foi injetado, sem divisão de fluxo, em uma coluna de fase estacionária DB-5 com 30m de comprimento, instalada em um cromatógrafo a gás. A temperatura inicial da coluna foi de 50°C, com isoterma por 1 minuto, taxa de aquecimento de 40°C/min até a temperatura de 130°C, com isoterma de 1 minuto, taxa de aquecimento 15°C/min até a temperatura final de 320°C, com isoterma de 5 minutos. Análise de TPH (segundo protocolo USEPA 8015): Uma alíquota da amostra, tal como fornecida, foi fortalecida com uma solução de concentração conhecida e rastreável de um composto traçador, o nC16D34. A amostra foi então extraída com diclorometano ultrapuro em mesa agitadora por um mínimo de 40 minutos. O extrato orgânico foi então concentrado a um volume de 1mL em TurboVap. O concentrado final foi injetado, sem divisão de fluxo em uma coluna de fase estacionária HP-1 acoplada a um detector de ionização por chama. A programação de CG é descrita a seguir: Injetor a 300 °C. Temperatura inicial da coluna: 60 °C. Taxa de aquecimento de 9°C/ min até a temperatura de 310 °C, com isoterma por 13 minutos.

## ***7.5 Comparação das concentrações finais de BTEX e HPAs com valores orientadores***

Na falta de um critério estabelecido ao nível da legislação federal, o critério nacional utilizado para comparação das concentrações das substâncias químicas encontradas em solo do presente estudo foram os valores orientadores (ou valores de referência) recomendados pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

Os valores de intervenção desenvolvidos pela CETESB (2006) indicam o limite de contaminação do solo e das águas subterrâneas acima do qual existe risco potencial à saúde humana. Tais valores são utilizados em caráter corretivo no gerenciamento de áreas contaminadas e, quando excedidos, requerem alguma forma de intervenção para interceptar as vias de exposição.

Além dos valores da CETESB, as concentrações em solo e água foram comparadas com os critérios utilizados nos países listados a seguir.

**EUA:** Foram utilizados os “Soil Screen Levels” (SSL) que são valores genéricos para solos derivados a partir de modelos padronizados de exposição humana usados para identificação de áreas contaminadas a serem prioritárias. Concentrações acima destes valores indicam que a área requer mais investigações (USEPA, 2004).

**Canadá.** Este país adotou os valores orientadores de qualidade de solo visando à proteção de receptores ecológicos ou proteção da saúde humana associada aos diversos usos do solo (agricultura, residencial/parques, industrial e comercial) (CCME 2004).

## **7.6 Procedimento para análise da diversidade fúngica no solo**

A microbiota foi quantificada a partir do indicador *unidades formadoras de colônias* (ufc) nas amostras de raiz mantida em contato com solo contaminado e não contaminado da rizosfera e rizoplano e de solo contaminado e não-contaminado após 60 dias de semeadura da soja e da braquiária. O isolamento, a contagem e identificação foram feitos após 60 dias de semeadura. O procedimento utilizado encontra-se descrito a seguir:

**Processamento da amostra:** 5g de solo e/ou raízes, com solo aderido foram re-suspendido em 45mL de 0,1% de peptona contendo 0,1% de Tween 80 em frasco Erlenmeyer, agitado por 30 min em Shake a 150 rpm (GOMES et al., 2001; MARKOVINA et al., 2005).

**Contagem da microbiota:** As contagens de ufc foram realizadas segundo metodologia de diluição decimal seriada descrita por Samson (2001). Todas as placas foram observadas diariamente. As placas de meios para enumeração foram selecionadas dentre aquelas que apresentavam número de colônias entre 10 a 100 (DALCERO *et al.*, 1997).

**Isolamento e identificação:** O isolamento e identificação foram baseados no estudo morfológico (macroscópico e microscópico) em meio Agar Batata Dextrose (BDA), e quando necessário inoculadas em meio para estimular a esporulação Agar Sacarose Glicose (SGA) e Agar Aveia (AA), alternância de luminosidade (12/12), período de incubação e cultivo em lâmina (DOMSCH *et al.*, 1980; BARNET e HUNTER, 1998; DAVET e ROUXEL, 2000; WATANABE, 2002). As colônias fúngicas selecionadas para identificação serão replicadas e mantidas em tubos com Agar Extrato de Malte (MEA) a 4°C.

## **7.7 Cortes anatômicos**

Com o objetivo de realizar análises morfológicas e anatômicas a eventual absorção e incorporação do óleo nos tecidos vegetais, foram utilizadas amostras compostas por 6 plantas de soja e 6 de braquiária, sendo 3 provenientes de solo controle e os outros 3 de solo

contaminado. Para a observação de modificações anatômicas foram efetuados cortes anatômicos de folha, caule e raiz; obtidos em micrótomo manual de Ranvier, não corados e montados em glicerina a 50% (STRASBURGUER, 1924). Para observação e fotografias em microscópio óptico Leitz em câmera digital Nikon Coolpix 5.400 acoplada. O estudo anatômico foi realizado em colaboração com os pesquisadores do Museu Nacional do Rio de Janeiro (LOPES *et al*, 2006).

## **7.8 Análises estatísticas**

Estatísticas descritivas foram definidas, com o objetivo de melhor conhecer os dados obtidos para as variáveis biométricas estudadas com N=5 para plantas de 30 dias e N=15 para plantas de 60 dias. Foram conduzidos testes de Normalidade Anderson-Darling ( $\alpha = 0,05$ ), e calculadas as estatísticas média, desvio padrão, variância, mediana, 1º e 3º quartiles, valores mínimos e máximos, outliers, 95% de intervalo de confiança da média e da mediana.

Para efeito de análise de possíveis efeitos da presença do óleo no solo sobre a biometria das plantas, e com vistas à comparação dos valores obtidos no solo controle e no solo contaminado para cada variável e cada espécie aos 30 e aos 60 dias, foram realizados a título de comparação, tanto o teste t (2-sample t test) de comparação entre as médias e o teste Mann-Whitney de comparação entre as medianas para cada variável.

Os softwares utilizados foram Minitab Release 12.23 (Minitab Inc. 1999) e o Analyse-it for Microsoft Excel Version 1.71 (Analyse It Software Ltd., 2000).

## 8 Resultados e Discussão

### 8.1 Dados de fertilidade do solo: 0d e 60d

As tabelas 6 e 7 apresentam os resultados de fertilidade do solo.

**Tabela 6** – Características químicas do Planosolo utilizado no experimento.

Ident. da amostra	Reg. do lab.	Textura. (expedita)	pH em	Al	Ca+Mg	Ca	Mg	P	K	C	M.O.	N
				Cmolc/dm <sup>3</sup>				mg/dm <sup>3</sup>		%		
Única	3702	arenosa	6,1	0,1	4,2	3,0	1,1	43,1	70,4	0,55	0,94	0,092

Fonte: EMBRAPA, 2006.

**Tabela 7** - Caracterização química do Planosolo contaminado e não contaminado no dia 60, após a colheita da soja e da braquiária.

Ident. da amostra	Reg. do lab.	Textura. (expedita)	pH em	Al	Ca+Mg	Ca	Mg	P	K	C	M.O.	N
				Cmolc/dm <sup>3</sup>				mg/dm <sup>3</sup>		%		
Gm_C0	6986/7	arenosa	6,4	0,1	4,5	3,6	0,8	55,9	29,9	0,60	1,08	0,063
Gm_C3	6984/5	arenosa	6,3	0,1	5,3	4,3	0,9	38,0	19,7	2,02	3,49	0,077
Bb_C0	6988/9	arenosa	6,3	0,1	4,9	4,0	0,9	61,1	29,5	0,61	1,06	0,064
Bb_C3	6982/3	arenosa	6,2	0,1	5,4	4,4	1,0	44,8	26,8	1,75	3,02	0,081

Fonte: EMBRAPA, 2006.

#### 8.1.1 Soja

Após 60 dias da data de início do experimento, o solo onde a soja foi plantada apresentou pH igual a 6,4. Comparando o solo controle após o plantio da soja, com o solo antes do plantio, observa-se que alguns nutrientes como o Mg, K e N reduziram seus teores no solo (sendo que a redução do K foi de 2,3 vezes após 60 dias). Outros elementos como o Ca, P e C apresentaram um pequeno aumento de suas concentrações após 60 dias. Já na amostra de solo contaminado, observou-se redução dos nutrientes Mg, K e N após 60 dias e o P apresentou uma pequena redução de seu teor. Os teores de Ca e C também aumentaram no solo contaminado, assim como no controle, sendo que no caso do C esse aumento chega a ser quase quatro vezes maior no solo onde o petróleo foi adicionado. O teor de matéria orgânica (M.O.) aumenta tanto na amostra de solo controle, quanto na amostra de solo contaminado,

sendo que no solo contaminado, esse teor fica 3,5 vezes maior e no controle, o teor de MO é muito pouco superior ao da amostra antes do plantio (antes do plantio teor igual a 0,94, no controle aos 60 dias teor de MO igual a 1,08). Outros elementos como o Ca, P e C apresentaram um pequeno aumento de suas concentrações após 60 dias.

### **8.1.2 Braquiária**

Após 60 dias da data de início do experimento, o solo onde a braquiária foi plantada apresentou pH igual a 6,3. Comparando o solo controle após o plantio da braquiária, com o solo antes do plantio, observa-se que alguns nutrientes como o Mg, K e N reduziram seus teores no solo (sendo que a redução do K foi de 2,4 vezes após 60 dias). Já na amostra de solo contaminado, observou-se redução dos nutrientes Mg, K e N e aumento nos teores de Ca, P e C após 60 dias (sendo que o teor de C aumentou 3 vezes no solo contaminado quando comparado ao solo antes do plantio). O teor de matéria orgânica (M.O.) aumenta tanto na amostra de solo controle, quanto na amostra de solo contaminado, sendo que no solo contaminado, esse teor fica 3 vezes maior e no controle, o teor de MO é muito pouco superior o da amostra antes do plantio (antes do plantio teor igual a 0,94, no controle aos 60 dias teor de MO igual a 1,06).

A redução dos teores de alguns nutrientes ocorre devido à sua utilização pelas plantas, pois elas além de consumirem água, oxigênio e gás carbônico, retiram do solo elementos essenciais ao metabolismo vegetal. Entre os nutrientes, seis são absorvidos em grande quantidade, e denominados macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e nove, igualmente essenciais, são utilizados em quantidade muito pequenas e denominados micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Co e Zn) além de outros elementos também necessários (Si, Na, Se). Para um adequado crescimento de vegetais e microorganismos, todos os elementos têm que estar presentes no solo em quantidades, formas e ambiente adequados. As quantidades têm que estar balanceadas, as formas disponíveis e o ambiente em padrões favoráveis de temperatura, umidade e aeração. Se qualquer um dos elementos essenciais estiver ausente, ou em formas não disponíveis para as raízes ou presentes em quantidades e/ou proporções inadequadas, isso limitará o crescimento das plantas, mesmo que os demais estejam adequados e haja fornecimento apropriado de gás carbônico, oxigênio, água, luz e calor.

O aumento de C e matéria orgânica nos solos contaminados pode ter ocorrido devido à adição de petróleo.

## 8.2 Caracterização do óleo cru utilizado

As Tabelas 8, 9, 10 e 11 apresentam a caracterização do óleo cru da Bacia de Campos.

**Tabela 8** – Composição e propriedades do petróleo da Bacia de Campos.

Propriedades	Óleo da Bacia de Campos
Densidade (°API)	19,6
Densidade relativa (g/ml) a 20°C	0,9331
Saturados (% m/m)	41,3
Aromáticos	32,9
Asfaltenos	2,1
Vanádio ( $\text{mg kg}^{-1} \text{MS}^{-1}$ )	29
Níquel ( $\text{mg kg}^{-1} \text{MS}^{-1}$ )	21
Enxofre (% m/m)	0,67
Nitrogênio (% m/m)	0,43

Fonte: CENPES (2001).

O petróleo da Bacia de Campos, de acordo com sua densidade específica, é classificado em médio ( $0,82 < 0,9331 < 0,97$ ). Mas de acordo com a classificação da ITOPF, o petróleo da Bacia de Campos é classificado em óleo pesado e pertence ao grupo iii.

**Tabela 9** – Quantificação de HTPs por fingerprint C10-C36. Petróleo da Bacia de Campos.

HTPs	$\text{mg g}^{-1} \text{MS}^{-1}$
<i>n</i> C10	5909
<i>n</i> C11	3844
<i>n</i> C12	4281
<i>n</i> C13	4416
<i>n</i> C14	4575
<i>n</i> C15	4507
<i>n</i> C16	3412
<i>n</i> C17	3032
Pri	1994
<i>n</i> C18	2372
Phy	1406
<i>n</i> C19	1618
<i>n</i> C20	1140
<i>n</i> C21	1055
<i>n</i> C22	971
<i>n</i> C23	772
<i>n</i> C24	739
<i>n</i> C25	586

<i>n</i> C26	754
<i>n</i> C27	650
<i>n</i> C28	475
<i>n</i> C29	321
<i>n</i> C30	393
<i>n</i> C31	536
<i>n</i> C32	426
<i>n</i> C33	80
<i>n</i> C34	192
<i>n</i> C35	104
<i>n</i> C36	96
<i>n</i> -alcanos	47250
HRP	145518
UCM	423974
<b>HTPs totais</b>	<b>569493</b>

**Tabela 10** - Quantificação de BTEXT. Petróleo da bacia de Campos.

Composto	mg g <sup>-1</sup> MS <sup>-1</sup>
Benzeno	4624,5
Tolueno	3124,8
Etilbenzeno	1079,7
m,p-xilenos	2104,5
θ-xilenos	1808,8

**Tabela 11** – Quantificação dos 16 HPAs prioritários da USEPA: petróleo Bacia de Campos.

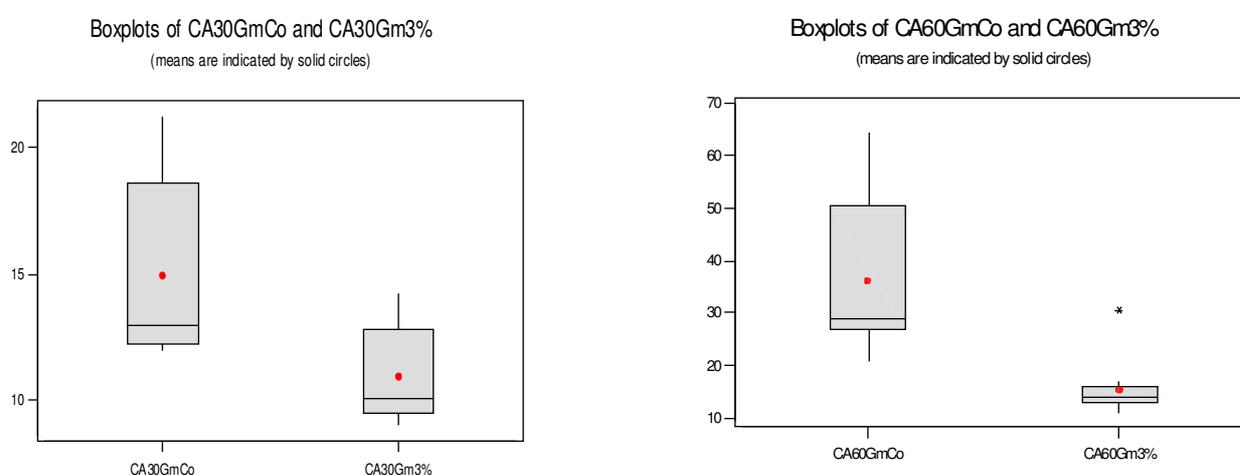
Composto	mg g <sup>-1</sup> MS <sup>-1</sup>
Naftaleno	365
Acenaftileno	13
Acenafteno	23
Fluoreno	70
Fenantreno	357
Antraceno	16
Fluoranteno	6
Pireno	14
Benzo[a]antraceno	62
Criseno	45
Benzo[b]fluoranteno	N.D.
Benzo[k]fluoranteno	N.D.
Benzo[a]pireno	N.D.
Indeno[123-cd]pireno	N.D.
Dibenzo[a,h]antraceno	N.D.
Benzo[ghi]perileno	N.D.

N.D. Limite de Detecção = 0,0008 mg g<sup>-1</sup> MS<sup>-1</sup>

### 8.3 Biometria das plantas: controle e não-contaminado aos 30 e 60 dias

#### 8.3.1 Biometria: Comprimento da parte aérea (CA)

As figuras 7 e 8 apresentam sob a forma de box plots, os dados para soja (Figura 7) e para braquiária (Figura 8) da variável comprimento aéreo (CA) de 5 plantas aos 30 dias e 15 plantas aos 60 dias em solo controle e solo contaminado a 3% com óleo cru em centímetros (cm).

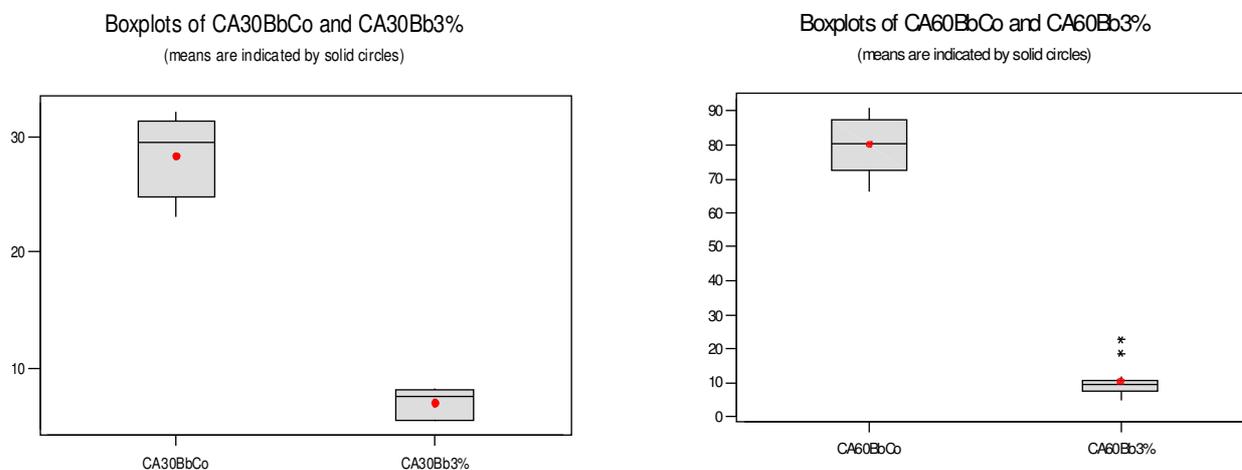


**Figura 7** - Boxplot do comprimento da parte aérea de *Glycine max* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CA30GmCo e CA30Gm3%) e aos 60 dias (CA60GmCo e CA60Gm3%).

**Comprimento aéreo - soja aos 30 dias:** De acordo com o teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da porção aérea (CA) de plantas de soja com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, as diferenças não foram significativas entre as medianas ( $p= 0,0601$ ), nem entre as médias ( $p=0,085$ ) de acordo com o teste-t de duas amostras aplicado aos mesmos dados assumindo em ambos os casos  $\alpha = 0,05$ .

**Comprimento aéreo - soja aos 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da porção aérea (CA) de plantas de soja com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, houve diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ).

O teste-t aplicado aos mesmos dados também apresentaram diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).



**Figura 8** - Boxplot do comprimento da parte aérea de *Brachiária brizantha* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CA30BbCo e CA30Bb3%) e aos 60 dias (CA60BbCo e CA60Bb3%).

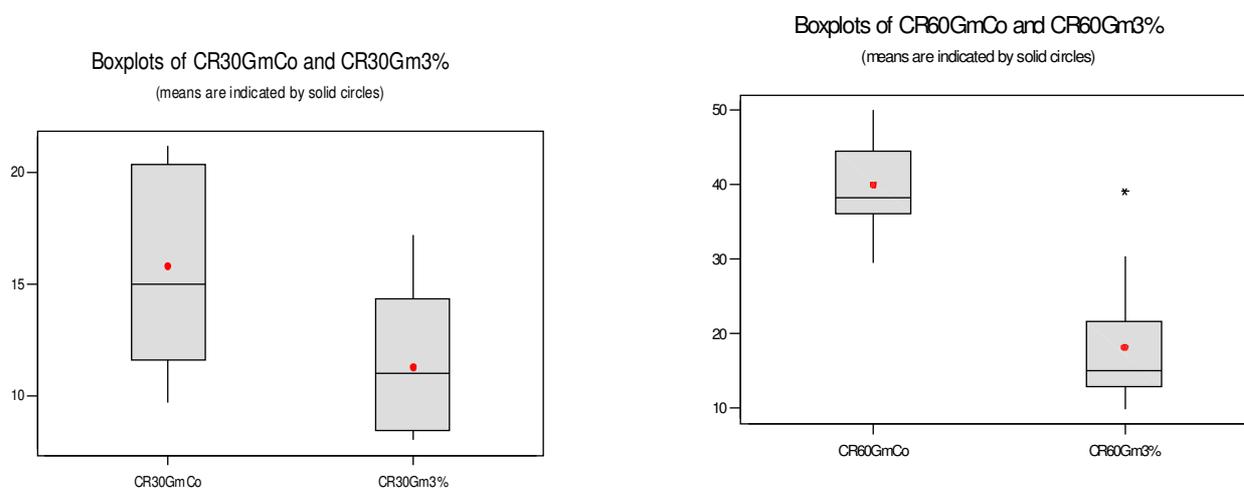
**Comprimento aéreo - braquiária com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da porção aérea (CA) de plantas de braquiária com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, houve diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0122$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0001$ ).

**Comprimento aéreo - braquiária com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da porção aérea (CA) de plantas de braquiária com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, houve diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).

### 8.3.2 Biometria: Comprimento da raiz (CR)

As figuras 9 e 10 apresentam sob a forma de box plots, os dados para soja (Figura 9) e para braquiária (Figura 10) da variável comprimento radicular (CR) de 5 plantas aos 30 dias e

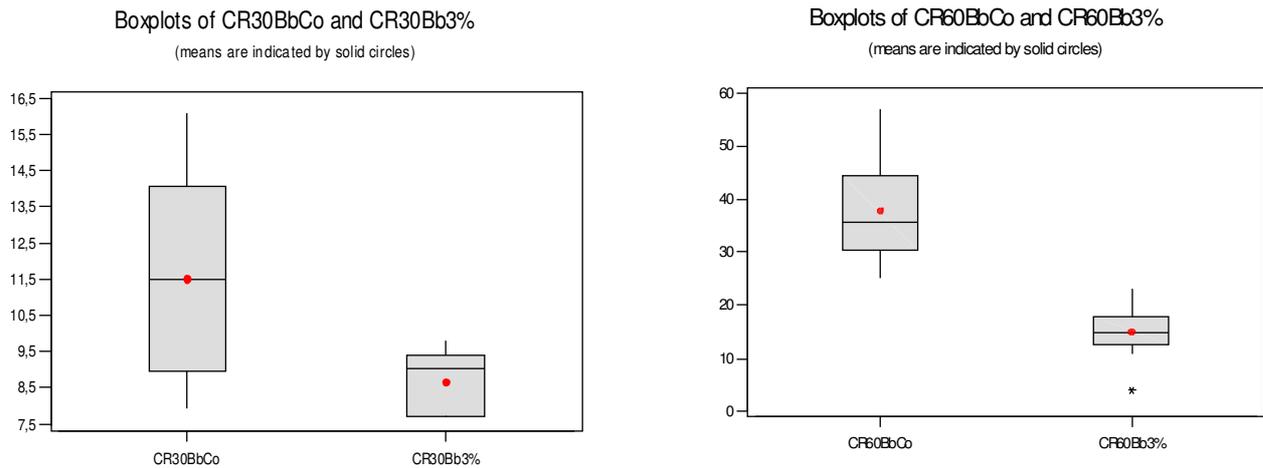
15 plantas aos 60 dias em solo controle e solo contaminado a 3% com óleo cru em centímetros (cm).



**Figura 9** - Boxplot do comprimento da raiz de *Glycine max* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CR30GmCo e CR30Gm3%) e aos 60 dias (CR60GmCo e CR60Gm3%).

**Comprimento radicular - soja com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da raiz (CR) de plantas de soja com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, não houve diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,1437$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados não apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,13$ ).

**Comprimento radicular - soja com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da raiz (CR) de plantas de soja com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, houve diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).



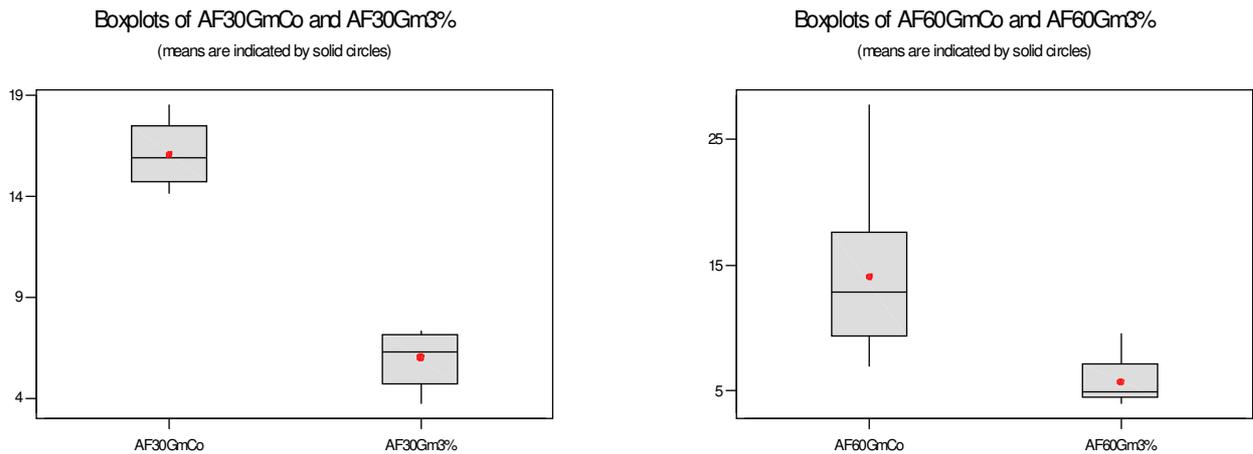
**Figura 10** - Boxplot do comprimento da raiz de *Brachiária brizantha* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CR30BbCo e CR30Bb3%) e aos 60 dias (CR60BbCo e CR60Bb3%).

**Comprimento radicular - braquiária com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da raiz (CR) de plantas de braquiária com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, não foram observadas diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0601$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados não detectou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,11$ ).

**Comprimento radicular - braquiária com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar o comprimento da raiz (CR) de plantas de braquiária com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, apresentou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados igualmente apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).

### 8.3.3 Biometria: Área Foliar (AF)

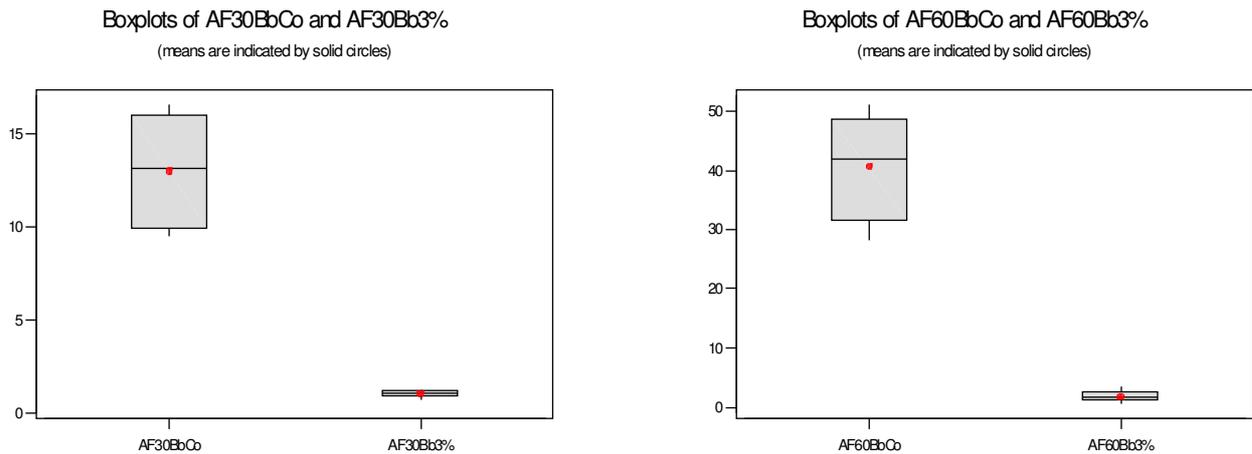
As figuras 11 e 12 apresentam sob a forma de box plots, os dados para soja (Figura 11) e para braquiária (Figura 12) da variável área foliar (AF) de 5 plantas aos 30 dias e 15 plantas aos 60 dias em solo controle e solo contaminado a 3% com óleo cru em centímetros quadrados ( $\text{cm}^2$ ).



**Figura 11** - Boxplot da área foliar de *Glycine max* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (AF30GmCo e AF30Gm3%) e aos 60 dias (AF60GmCo e AF60Gm3%).

**Área Foliar - soja com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a área foliar (AF) de plantas de soja com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, mostrou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0122$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).

**Área Foliar - soja com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a área foliar (AF) de plantas de soja com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, evidenciou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados mostrou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).



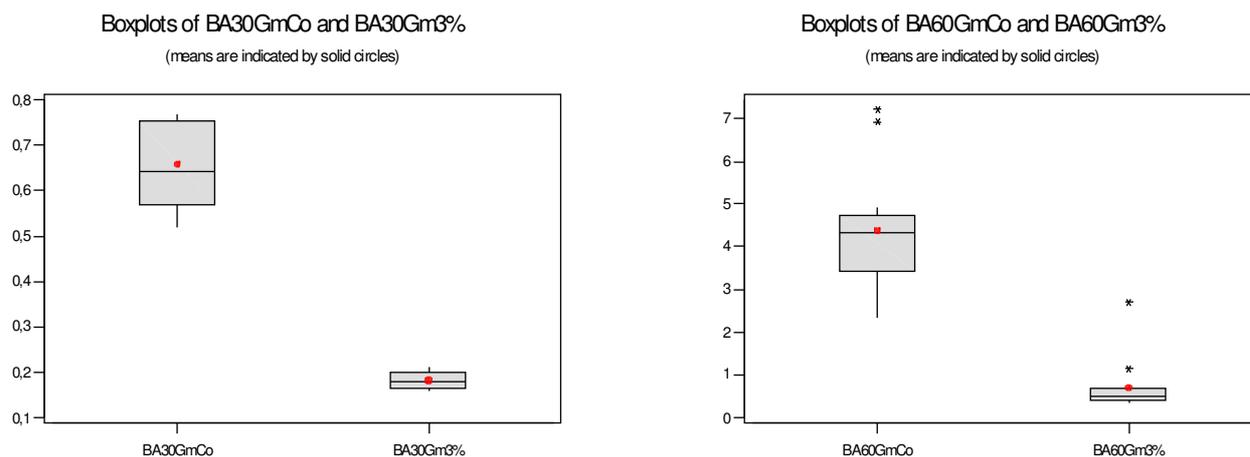
**Figura 12** - Boxplot da área foliar de *Brachiária brizantha* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (CR30BbCo e CR30Bb3%) e aos 60 dias (CR60BbCo e CR60Bb3%).

**Área Foliar - braquiária com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a área foliar (AF) de plantas de braquiária com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, deu diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0122$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados deu diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0010$ ).

**Área Foliar - braquiária com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a área foliar (AF) de plantas de braquiária com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, mostrou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).

### 8.3.4 Biometria: Biomassa Aérea (BA)

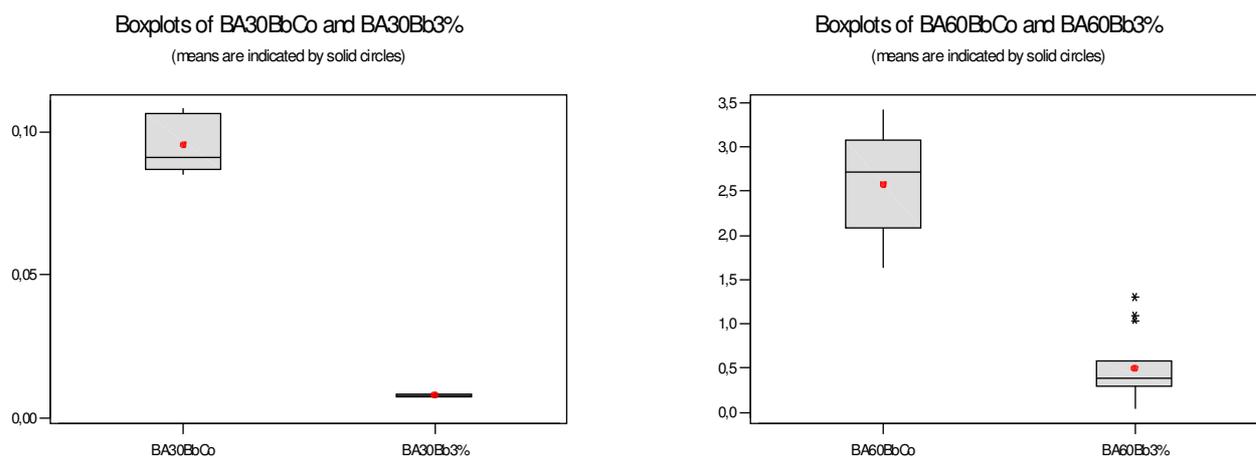
As figuras 13 e 14 apresentam sob a forma de box plots, os dados para soja (Figura 13) e para braquiária (Figura 14) da variável biomassa aérea (BA) de 5 plantas aos 30 dias e 15 plantas aos 60 dias em solo controle e solo contaminado a 3% com óleo cru em gramas (g).



**Figura 13** - Boxplot da biomassa aérea de *Glycine max* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BA30GmCo e BA30Gm3%) e aos 60 dias (BA60GmCo e BA60Gm3%).

**Biomassa aérea - soja com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa aérea (BA) de plantas de soja com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, detectou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0122$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados mostrou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0005$ ).

**Biomassa aérea - soja com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa aérea (BA) de plantas de soja com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, apresentou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados mostrou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).



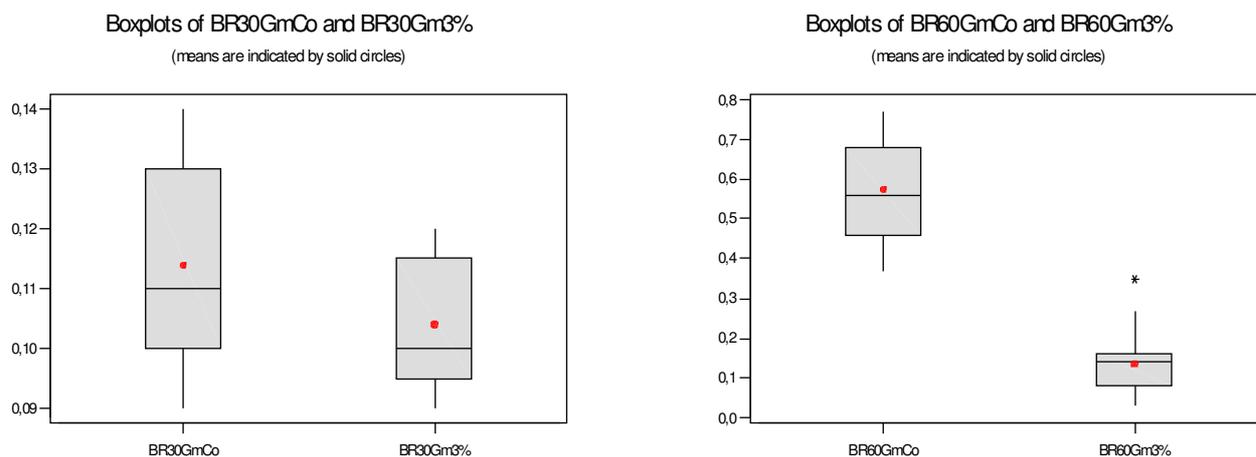
**Figura 14** - Boxplot da biomassa aérea de *Brachiária brizantha* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BA30BbCo e BA30Bb3%) e aos 60 dias (BA60BbCo e BA60Bb3%).

**Biomassa aérea - braquiária com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa aérea (BA) de plantas de braquiária com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, evidenciou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0122$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados mostrou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).

**Biomassa aérea - braquiária com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa aérea (BA) de plantas de braquiária com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, apresentou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados evidenciou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).

### 8.3.5 Biometria: Biomassa Radicular (BR)

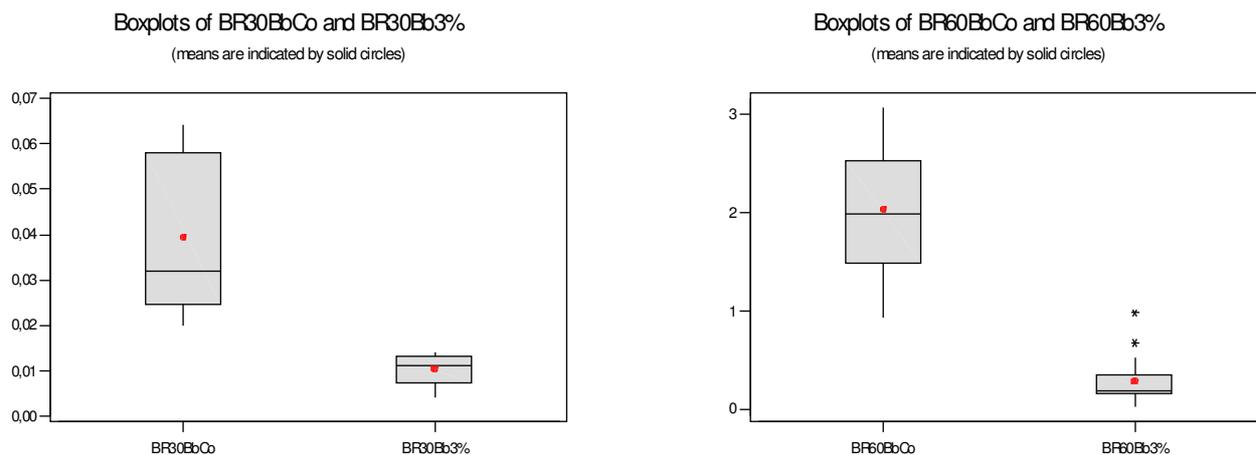
As figuras 15 e 16 apresentam sob a forma de box plots, os dados para soja (Figura 15) e para braquiária (Figura 16) da variável biomassa radicular (BR) de 5 plantas aos 30 dias e 15 plantas aos 60 dias em solo controle e solo contaminado a 3% com óleo cru em gramas (g).



**Figura 15** - Boxplot da biomassa radicular de *Glycine max* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BR30GmCo e BR30Gm3%) e aos 60 dias (BR60GmCo e BR60Gm3%).

**Biomassa radicular - soja com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa radicular (BR) de plantas de soja com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, apresentou diferença não significativa entre as medianas ( $p= 0,4034$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados mostrou diferença não significativa entre as médias ( $p= 0,34$ ).

**Biomassa radicular - soja com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa radicular (BR) de plantas de soja com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, detectou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados evidenciou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).



**Figura 16** - Boxplot da biomassa radicular de *Brachiária brizantha* em solo controle e em solo contaminado aos 30 dias (BR30BbCo e BR30Bb3%) e aos 60 dias (BR60BbCo e BR60Bb3%).

**Biomassa radicular - braquiária com 30 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa radicular (BR) de plantas de braquiária com 30 dias em solo controle e em solo contaminado, mostrou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0122$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados apresentou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,025$ ).

**Biomassa radicular - braquiária com 60 dias:** O teste Mann-Whitney aplicado para comparar a biomassa radicular (BR) de plantas de braquiária com 60 dias em solo controle e em solo contaminado, detectou diferença significativa entre as medianas ( $p= 0,0000$ ). O teste-t aplicado aos mesmos dados evidenciou diferença significativa entre as médias ( $p= 0,0000$ ).



**Figura 17** - Foto das plantas de soja aos 60 dias na casa de vegetação de baixo custo



**Figura 18** – Foto das plantas de braquiária aos 60 dias na casa de vegetação de baixo custo.

A Tabela 12 apresenta um resumo dos resultados de análise estatísticas para variáveis biométricas. Dentre as cinco variáveis biométricas estudadas três delas: (i) comprimento da parte aérea, (ii) comprimento radicular, e (iii) biomassa radicular, não foram afetadas pela presença de óleo no solo, em soja com 30 dias de desenvolvimento. Todas demais variáveis

em ambas as espécies (soja e braquiária) aos 30 e 60 dias, assim como as três variáveis supracitadas em soja com 60 dias, sofreram efeitos significativos da presença de óleo no solo, conforme pode ser observado nas Figuras 17 e 18. Portanto, pode-se afirmar que a soja apresentou nível de tolerância superior à braquiária, quanto à presença de óleo a 3% no solo, pelo menos para as três variáveis mencionadas, aos 30 dias do desenvolvimento das plantas. Tal tolerância desapareceu nas análises realizadas com plantas aos 60 dias de desenvolvimento.

**Tabela 12** - Valores de p obtidos em teste de comparação entre medianas (Mann-Whitney) e de comparação entre as médias (Teste-t de 2 amostras).

<b>Espécie</b>	<b>Dia</b>	<b>Teste</b>	<b>CA</b>	<b>CR</b>	<b>AF</b>	<b>BA</b>	<b>BR</b>
G. max	30	Mann-Whitney	<b>0,0850</b>	<b>0,1300</b>	0,0122	0,0005	<b>0,3400</b>
		Teste t	<b>0,0601</b>	<b>0,1437</b>	0,0000	0,0122	<b>0,4034</b>
	60	Mann-Whitney	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
		Teste t	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
B. bizantha	30	Mann-Whitney	0,0001	<b>0,1100</b>	0,0010	0,0000	0,0250
		Teste t	0,0122	<b>0,0601</b>	0,0122	0,0122	0,0122
	60	Mann-Whitney	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
		Teste t	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

\* Valores de p em negrito representam diferenças significativas ao nível de  $\alpha = 0,05$ .

Sabe-se que o estresse no sistema radicular pode reduzir o crescimento da parte aérea, afetando assim a produção de biomassa desta mesma porção da planta (SMITH et al., 1989). Na presença de óleo, o sistema radicular constitui-se numa variável importante para o uso de espécies no tratamento de fitorremediação, pois quando as raízes são afetadas o metabolismo da planta fica comprometido. Hernandez-Valencia & Mager (2003) observaram que em solo contaminado com petróleo boliviano a biomassa longitudinal da raiz da *Brachiária brizantha* reduziu e, em consequência, o volume de solo sob influência da rizosfera foi reduzido, assim como a profundidade onde ocorre a fitorremediação por essa espécie ocorre efetivamente (MERKL et al., 2004a).

As raízes afetadas, tanto da soja quanto da braquiária, ao crescerem em contato com substrato contaminado estão de acordo com resultados anteriormente obtidos (XU & JOHNSON, 1995; PEZESHKI et al., 2000; HERNANDEZ-VALENCIA & MAGER, 2003; GILL & NYAWUAME, 2006). Alguns desses autores também observaram a presença de uma película de óleo na região cortical e da epiderme da raiz, caule e folhas, igualmente observadas no presente estudo na raiz e parte aérea da soja cultivada em solo recentemente contaminado. Segundo Hernandez-Valencia & Mager (2003), quando esta película de óleo

cobre as raízes ela altera a absorção de água e nutrientes. No caso dos hidrocarbonetos penetrarem nos tecidos das plantas, eles poderiam danificar a membrana das células e causar perda de conteúdo celular, bloqueando os espaços intercelulares e a redução do transporte de metabólitos e, assim como as taxas de respiração e fotossíntese. A redução de biomassa pode ser atribuída à redução de assimilados transportados para crescimento da planta (XU E JOHNSON, 1995; PEZESHKI *et al.*, 2000).

## 8.4 Quantificação dos HTPs, BTEX e HPAs no solo

Na ausência de uma estimativa do erro analítico laboratorial assim como da dispersão de dados – aqui, como de praxe, devido aos custos, somente uma amostra composta por cada tratamento e idade foi analisada - qualquer diferença observada entre tratamentos, independentemente de sua sua dimensão, foi interpretada como significativa. Tal procedimento, embora comum na literatura, deve ser visto com reservas e a hipótese alternativa é que algumas das diferenças não foram significativas e nesses casos, teria havido similaridade de desempenho entre alguns tratamentos.

### 8.4.1 Quantificação dos hidrocarbonetos totais de petróleo HTP

As tabelas 13 e 14 as figuras 19 e 20 apresentam os resultados da quantificação analítica de HTPs para cada tratamento.

**Tabela 13** - Resultados da quantificação de HTP total e suas frações nos dias: -6d, 0, 30 e 60, para cada tratamento.

mg kg <sup>-1</sup> MS <sup>-1</sup>	Óleo	Solo-6d	Solo0d	PA30d	AN30d	Gm30d	Bb30d	PA60d	AN60d	Gm60d	Bb60d
n-alcanos	47250	838,80	781,24	599,27	174,44	225,74	203,66	295,84	36,04	55,42	69,92
HRP	145518	2183,47	2222,87	1649,58	841,76	1354,41	1037,08	806,58	313,54	330,46	482,38
UCM	423974	9101,85	9604,81	7587,74	6750,19	10345,50	8269,08	5755,61	4665,35	4138,75	6461,56
HTP	569493	11285,32	11827,68	9237,32	7591,95	11699,91	9306,16	6562,19	4976,89	4469,21	6943,94
n-alcanos Red %	-	-7,4	0,0	23,3	77,7	71,1	73,9	62,1	95,4	92,9	91,1
HRP Red %	-	1,8	0,0	25,8	62,1	39,1	53,3	63,7	85,9	85,1	78,3
UCM Re %	-	5,2	0,0	21,0	29,7	-7,7	13,9	40,1	51,4	56,9	32,7
HTP Red %	-	4,6	0,0	21,9	35,8	1,1	21,3	44,5	57,9	62,2	41,3

HRP=Hidrocarbonetos Resolvidos de Petróleo; UCM=Mixtura Complexa Não-Resolvida; HTP=Hidrocarbonetos Totais de Petróleo.

**Tabela 14** - Quantificação de HTP totais e suas frações para cada tratamento: Dias: -6d, 0, 30, 60 (Limite de Detecção = 0,10 mg kg<sup>-1</sup> MS<sup>-1</sup>).

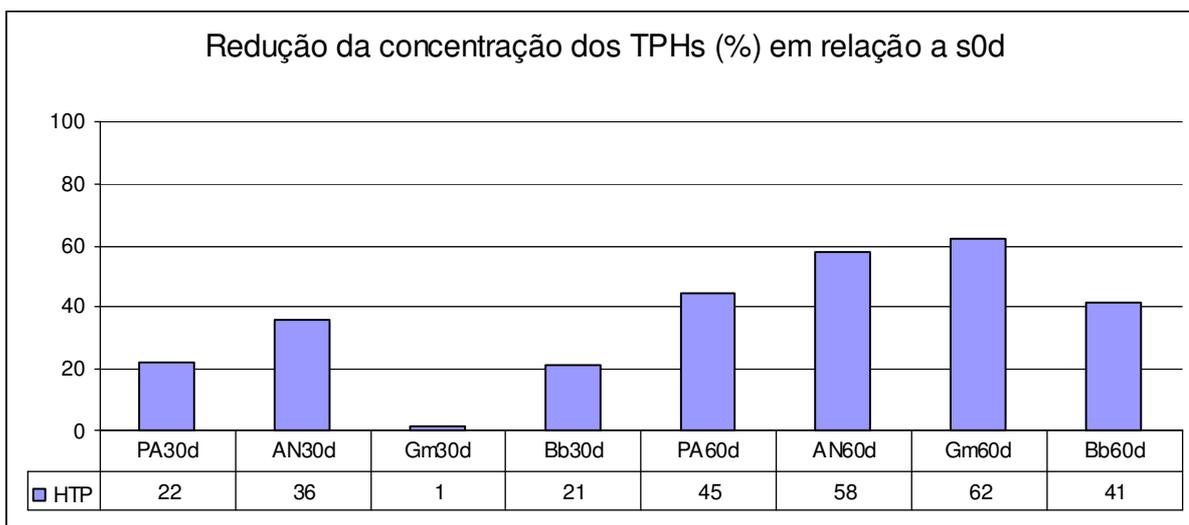
mg kg <sup>-1</sup> MS <sup>-1</sup>	Óleo	Solo-6d	Solo0d	PA30d	AN30d	Gm30d	Bb30d	PA60d	AN60d	Gm60d	Bb60d
<b>n C10</b>	5909	60,33	33,05	13,10	0,27	0,20	0,16	0,82	N.D.	N.D.	N.D.
<b>n C11</b>	3844	40,08	28,34	18,38	0,58	1,32	0,31	3,72	N.D.	N.D.	N.D.
<b>n C12</b>	4281	55,85	48,56	30,79	1,34	4,96	2,77	8,83	0,82	1,04	0,99
<b>n C13</b>	4416	73,56	63,3	43,55	4,88	10,62	7,78	15,94	0,38	1,43	1,48
<b>n C14</b>	4575	82,23	75,00	51,86	12,29	22,37	18,92	26,8	2,59	4,43	6,2
<b>n C15</b>	4507	86,62	80,88	54,49	9,26	14,18	13,26	32,34	1,15	6,32	4,018
<b>n C16</b>	3412	53,84	58,23	48,45	10,97	19,38	15,59	23,85	1,64	3,56	4,58
<b>n C17</b>	3032	66,68	73,62	60,19	16,79	32,44	27,42	33,72	4,11	5,94	8,37
<b>Pri</b>	1994	28,2	33,94	27,88	25,15	39,97	30,05	16,28	10,09	9,15	14,21
<b>n C18</b>	2372	38,84	44,22	37,27	10,83	14,96	13,46	21,6	2,65	3,82	5,18
<b>Phy</b>	1406	23,14	27,82	22,05	19,58	29,08	23,39	13,41	8,25	7,43	11,45
<b>n C19</b>	1618	30,65	31,7	28,27	8,72	11,18	9,84	16,56	1,72	2,73	3,73
<b>n C20</b>	1140	26,51	26,53	24,13	8,71	10,6	9,47	13,4	1,10	1,97	2,39
<b>n C21</b>	1055	26,17	25,31	23,77	8,98	11,11	7,25	11,56	1,35	2,03	2,69
<b>n C22</b>	971	22,51	20,89	20,05	6,40	7,09	6,77	12,31	0,93	1,48	1,99
<b>n C23</b>	772	22,99	21,49	20,1	7,25	8,37	7,74	10,12	1,56	2,02	2,94
<b>n C24</b>	739	19,69	17,47	15,48	6,54	6,60	6,42	8,36	1,70	1,82	2,49
<b>n C25</b>	586	16,61	14,31	13,11	4,64	4,43	4,35	6,48	0,83	1,04	1,21
<b>n C26</b>	754	20,14	18,27	15,88	8,21	7,43	8,06	7,96	2,19	1,94	3,19
<b>n C27</b>	650	19,93	18,73	15,6	8,67	8,2	8,29	8,16	2,17	2,35	3,72
<b>n C28</b>	475	14,76	13,91	11,26	5,29	4,57	4,86	5,54	1,04	1,26	1,58
<b>n C29</b>	321	11,32	10,74	8,52	3,51	3,00	3,18	3,44	1,05	1,92	1,34
<b>n C30</b>	393	12,23	12,13	8,96	6,20	5,45	5,79	5,01	1,37	0,99	2,20
<b>n C31</b>	536	12,78	14,45	12,27	7,04	4,66	6,24	6,30	1,58	2,43	3,17
<b>n C32</b>	426	9,41	11,66	8,81	5,52	1,57	4,10	4,39	1,37	1,45	2,23
<b>n C33</b>	80	7,06	7,96	7,03	3,93	4,14	4,06	3,23	1,25	1,06	1,77
<b>n C34</b>	192	3,97	4,94	4,01	4,7	5,37	3,68	3,35	0,81	1,38	0,82
<b>n C35</b>	104	2,27	2,51	1,96	1,22	1,00	1,84	0,93	0,26	0,6	0,98
<b>n C36</b>	96	1,76	3,05	1,99	1,69	0,54	2,06	1,12	1,00	0,42	0,49

**HTP:** Com relação aos hidrocarbonetos totais de petróleo HTP (Tabela 13, Figura 19), as reduções observadas aos 30 dias, em ordem decrescente foram de 35,8% na atenuação natural, 21,9% nos processos abióticos que apresentou resultado similar ao tratamento com braquiária (21,3%) e finalmente 1,1% na soja, que praticamente não promoveu redução dos compostos em questão. Aos 60 dias, no entanto, a soja promoveu a redução mais acentuada (62,2%) seguida da atenuação natural (57,9%) e processos abióticos (44,5%) que apresentando redução próxima à braquiária (41,5%).

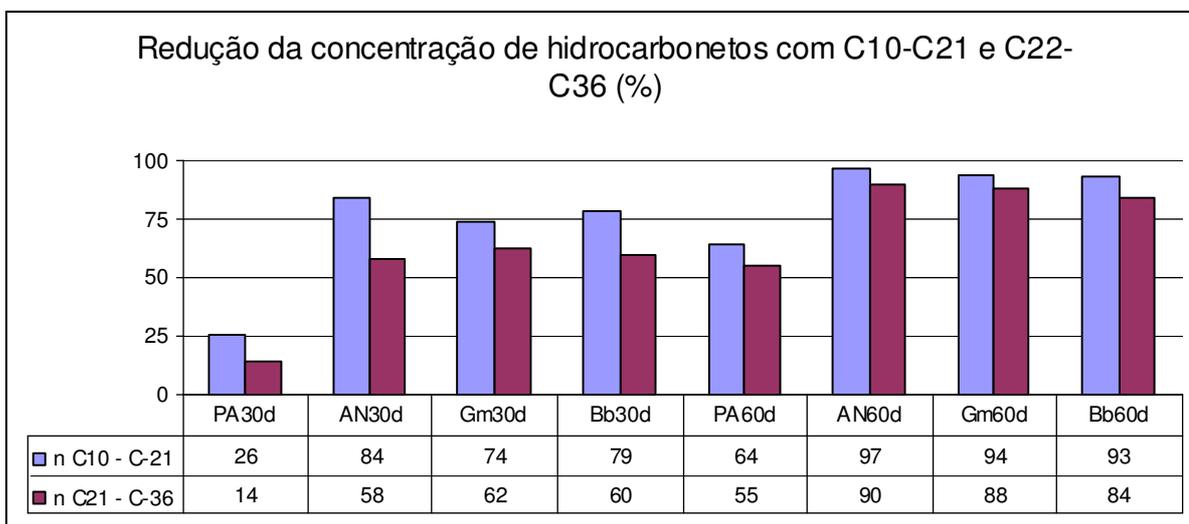
**n-alcanos:** Com relação aos alcanos (Tabela 13 e 14), o somatório (hidrocarbonetos nC10-nC36) apresentou uma redução em ordem crescente de 23%, 78%, 71% e 74% (processos abióticos, atenuação natural, soja e braquiária respectivamente). Aos 60 dias, a redução foi ampliada para 62%, 95%, 93% e 91% (processos abióticos, atenuação natural, soja e braquiária respectivamente).

A comparação de todos os tratamentos (atenuação natural, soja e braquiária) com os processos abióticos, tanto aos 30 quanto aos 60 dias, sugere que um percentual significativo da redução de HTPs e n-alcanos deveu-se aos processos abióticos. A redução extremamente baixa dos HTPs observada no solo com soja aos 30 dias pode ser erro amostral (devido à distribuição não totalmente homogênea do óleo no solo), ou deveu-se à sombra que a planta promove (superior à braquiária que teve pouco desenvolvimento da parte aérea nesse período inicial), resultando numa redução dos processos de foto-oxidação, entre outros. Aos 60 dias, os processos abióticos ainda desempenham papel importante na redução dos HTPs e n-alcanos, mas tal efeito é sobrepujado pela ação microbiana do solo da atenuação natural e ainda mais, pela presença da soja. A braquiária, aparentemente, não conseguiu exercer efeito positivo que sobrepujasse a vantagem da exposição do solo à ação do sol e aos demais fatores físico-químicos (ex: vento, etc).

Quando os hidrocarbonetos de petróleo são divididos pelo número de carbono, conforme esperado, os hidrocarbonetos menores que possuem de 10 a 21 átomos de carbono (C10-C21) (Figura 16), apresentam, tanto aos 30 quanto em 60 dias, uma redução mais acentuada do que os que possuem de 22 a 36 átomos de carbono (C22-C36) (Figura 20).



**Figura 19** – Redução (em %) do teor de HTPs em todos os tratamentos.



**Figura 20** – Resultados da redução (em%) de HTP na faixa de C10-C21 e C22-C36, em todos os tratamentos.

#### 8.4.2 Quantificação dos hidrocarbonetos monoaromáticos de petróleo BTEX

A tabela 15 apresenta os resultados da quantificação de BTEX para cada tratamento.

**Tabela 15** – Resultados da quantificação de BTEX nos dias: -6d, 0, 30 e 60, para cada tratamento.

mg kg <sup>-1</sup> MS <sup>-1</sup>	Óleo	Solo -6d	Solo 0d	PA30d	AN30d	Gm30d	Bb30d	PA60d	AN60d	Gm60d	Bb60d
<b>Benzeno</b>	4624,5	1,020	ND	ND	0,008	ND	ND	N.D	N.D	N.D	N.D
<b>Tolueno</b>	3124,8	<b>10,135</b>	0,357	0,044	0,021	0,010	0,017	N.D	N.D	N.D	N.D
<b>Etilbenzeno</b>	1079,7	<b>1,707</b>	0,268	0,055	0,002	0,007	0,008	0,041	N.D	N.D	N.D
<b>m,p-xilenos</b>	2104,5	<b>8,200</b>	<b>1,569</b>	0,200	0,004	0,004	0,003	0,035	N.D	N.D	N.D
<b>0-xilenos</b>	1808,8	<b>6,080</b>	<b>2,000</b>	0,268	0,004	0,014	0,007	0,030	N.D	N.D	N.D
<b>BTEX-total</b>	-	27,142	4,195	0,568	0,039	0,036	0,036	0,107	0,003	0,003	0,003
<b>BTEX-total Red %</b>	-	-547,1	0,0	86,5	99,1	99,2	99,2	97,4	99,9	99,9	99,9

Limite de detecção: 0,001 ppm; N.D.: Abaixo do limite de detecção. **Negrito:** Acima dos limites CCME (2003), USEPA (2004) ou CETESB (2005).

**BTEX:** Na amostra obtida no dia de adição do petróleo no solo (Solo-6d) – aproximadamente uma semana antes do plantio - observou-se que os hidrocarbonetos monoaromáticos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos), com exceção do benzeno, apresentaram suas concentrações acima dos valores orientadores (também denominados valores de referência ou valores limites para áreas urbanas) de uma das agências ambientais (CCME, 2004; USEPA, 2004; CETESB, 2006). Após o período de 6 dias, imediatamente antes do plantio (Solo0d), apenas os xilenos apresentavam suas concentrações ainda superiores aos valores de referência para BTEX. Benzeno, tolueno e etilbenzeno haviam sofrido reduções de respectivamente 100%, 96% e 84%. Após 30 dias de tratamento, foi observado que os BTEX no solo haviam sido reduzidos a concentrações abaixo dos valores de referência, em todos os tratamentos. Após 60 dias, os tratamentos de fitorremediação com soja, com braquiária e atenuação natural reduziram a concentração de todos os BTEX a valores abaixo do limite de detecção, o que não ocorreu com os processos abióticos (PA) onde etilbenzeno, m,p-xileno e 0-xilenos apresentaram valores 4 a 10 vezes superiores aos observados aos 30 dias nos tratamentos com AN, Gm e Bb. Tal resultado demonstra que os monoaromáticos em questão dependem da ação microbiana isoladamente ou em conjunção com plantas para sua degradação total.

### 8.4.3 Quantificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de petróleo HPAs

A tabela 16 apresenta os valores de HPAs obtidos nos diferentes tratamentos.

**Tabela 16** - Resultados da quantificação de HPAs nos dias: -6d, 0, 30 e 60, para cada tratamento.

mg kg <sup>-1</sup> MS <sup>-1</sup>	Nº de anéis	Óleo	s-6d	Solo0d	PA30d	AN30d	Gm30d	Bb30d	PA60d	AN60d	Gm60d	Bb60d
Naftaleno	2	365	<b>3,5975</b>	<b>0,6666</b>	4,6312	0,0581	0,4116	0,0988	0,0805	N.D.	N.D.	N.D.
Acenaftileno	3	13	0,2178	0,1146	0,3325	0,1022	0,1613	0,1223	0,0575	0,0247	0,0400	0,0373
Acenafteno	3	23	0,3129	0,2543	0,4200	0,1220	0,1947	0,0993	0,3061	0,0124	0,0538	0,0386
Fluoreno	3	70	0,9138	0,6552	1,6588	0,2492	0,1189	0,0807	0,2173	0,0145	N.D.	N.D.
Fenantreno	3	357	4,6267	3,8164	<b>5,6538</b>	0,6781	0,3777	0,3095	1,2516	0,0723	0,0511	0,1300
Antraceno	3	16	0,3797	0,4092	0,7158	0,1789	0,2690	0,1889	0,1442	0,0229	0,0212	0,0254
Fluoranteno	4	6	0,0945	0,0831	<b>0,2216</b>	0,1507	<b>0,2042</b>	0,1913	0,1154	0,0556	0,0668	0,0784
Pireno	4	14	<b>0,2093</b>	0,1362	<b>0,8803</b>	<b>0,7579</b>	<b>1,0328</b>	<b>0,8847</b>	<b>0,5313</b>	<b>0,3576</b>	<b>0,2585</b>	<b>0,5045</b>
Benzo[a]antraceno	4	62	0,1534	0,1396	<b>0,4388</b>	<b>0,3014</b>	<b>0,4768</b>	<b>0,3563</b>	<b>0,1759</b>	0,1264	0,0573	0,1453
Criseno	4	45	<b>0,5344</b>	<b>0,4129</b>	<b>1,6157</b>	<b>1,3692</b>	<b>1,8690</b>	<b>1,7700</b>	<b>0,7954</b>	<b>0,6031</b>	<b>0,3391</b>	<b>0,8178</b>
Benzo[b]fluoranteno	5	ND	0,1655	0,1475	0,3213	0,3272	0,4529	0,4199	0,0813	0,0796	0,0477	0,1138
Benzo[k]fluoranteno	5	ND	<b>0,0444</b>	0,0468	0,1545	0,1198	0,1563	0,1264	0,1033	0,0657	0,0510	0,0458
Benzo[a]pireno	5	ND	<b>0,0939</b>	<b>0,0766</b>	<b>0,6964</b>	<b>0,6429</b>	<b>0,2793</b>	<b>0,2672</b>	0,0431	0,0333	0,0300	0,0458
Indeno[123-cd]pireno	5	ND	0,0506	0,0439	0,1348	0,1248	0,1775	0,2071	0,0436	0,0397	0,0366	0,0169
Dibenzo[a,h]antraceno	6	ND	<b>0,0620</b>	0,0549	<b>0,1262</b>	<b>0,1231</b>	<b>0,1842</b>	<b>0,1891</b>	0,0181	0,0494	0,0384	0,0312
Benzo[ghi]perileno	6	ND	<b>0,0940</b>	0,0926	0,1554	0,1424	0,1950	0,1972	0,0562	0,0347	0,0328	0,0588
HPAs totais	-	971,0024	<b>11,5504</b>	7,1504	18,1571	5,4479	6,5612	5,5087	4,0208	1,5923	1,1251	2,0904
HPAs totais Red%	-	-	-61,5	0,0	-153,9	25,1	8,2	23,0	43,8	76,8	82,9	69,4

Limites de detecção=0,0008 ppm; N.D. Abaixo do limite de detecção **Negrito**: acima dos limites da CCME (2004), USEPA (2004), CETESB (2005).

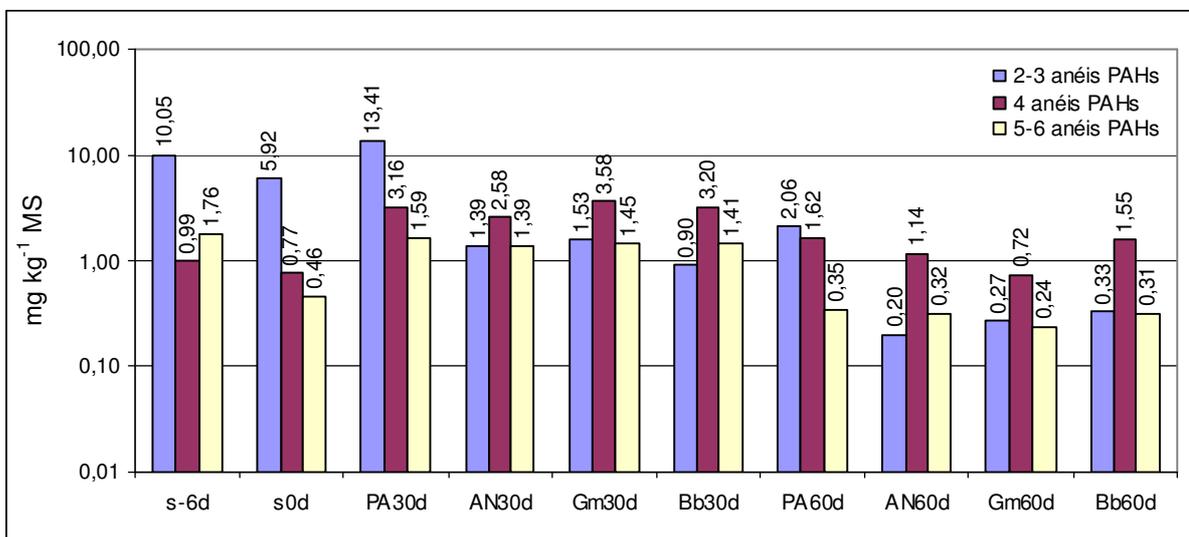
**HPAs:** No dia da adição de petróleo no solo (solo-6d) os HPAs naftaleno, pireno, criseno, benzo(a)pireno e dibenzo(a,h)antraceno apresentaram concentrações no solo superiores aos valores de referência da CCME (2004), USEPA (2004) e CETESB (2006). Aproximadamente uma semana depois (solo0d), uma redução generalizada da maioria dos HPAs resultou em que apenas pireno e indeno[123-cd]pireno mantiveram-se acima dos valores de referência. Após 30 dias, no controle de processos abióticos observou-se um aumento generalizado de mais que 2,5 vezes dos HPAs totais e vários compostos ultrapassaram os valores de referência. Dois mecanismos podem explicar tal fenômeno: (1ª) o solo contém compostos fortemente adsorvidos à matriz orgânica, em decorrência de contaminações anteriores ou de origem desconhecida e identificados como HPAs; (2ª) a mistura do óleo com o solo não ocorreu de forma perfeita, dando origem a amostras não representativas. A detecção de HPAs com 5 e 6 anéis no solo contaminado em valores acima do limite de detecção - considerando que tais HPAs se encontravam abaixo do limite de detecção no óleo - reforça a segunda hipótese.

Na atenuação natural, o solo com soja e com braquiária apresentaram aos 30 dias valores totais de HPAs bem abaixo da concentração inicial e próximos entre si, sugerindo uma eficiência equivalente entre os três tratamentos. Entretanto, uma análise dos HPAs individualmente, sugerem eficiências diferenciadas entre os três tratamentos. Por exemplo, enquanto a atenuação natural resultou em redução mais acentuada de naftaleno (2 anéis), as plantas foram aparentemente mais eficientes na redução de fenantreno (HPA com 3 anéis).

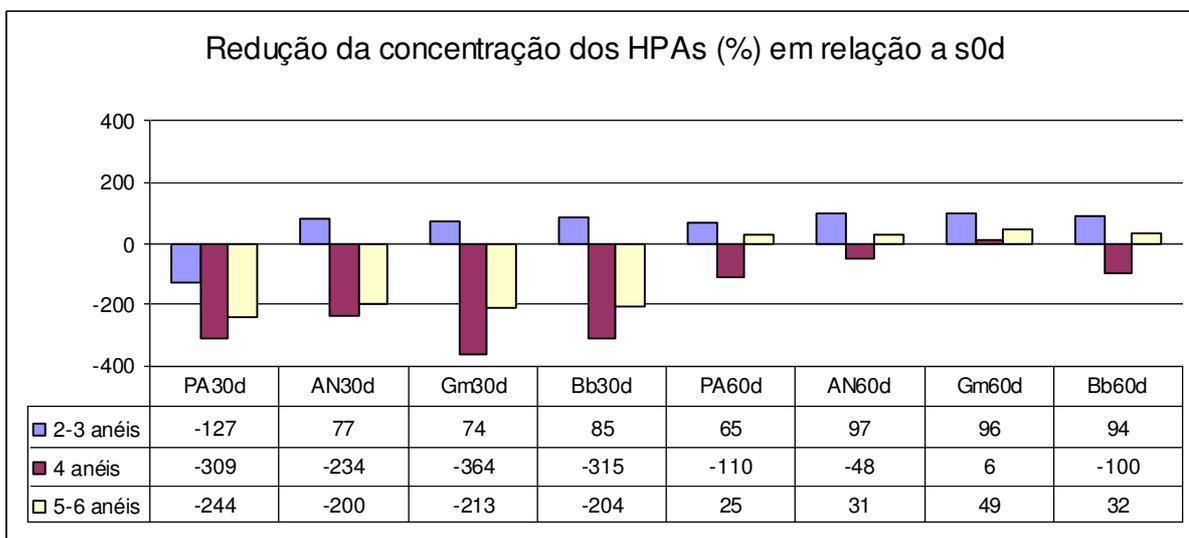
Após 60 dias de tratamento, os HPAs totais apresentaram redução mais acentuada no tratamento com soja, seguido pela atenuação natural e pelo tratamento com braquiária. Os processos abióticos tiveram o pior desempenho, apresentando concentração de HPAs totais próxima ao dobro do 2º pior tratamento (solo com braquiária). O pireno e criseno (4 anéis) permaneceram com concentrações acima dos valores de referência aos 60 dias, em todos os tratamentos, sendo que o tratamento com soja foi o que apresentou melhor desempenho para esses HPAs. O benzo (a)antraceno manteve concentração maior que o valor referência apenas no tratamento de controle de processos abióticos.

Quando agrupados pelo número de anéis aromáticos (Figuras 21 e 22), os HPAs com 2-3 anéis apresentaram aos 30 dias, redução na concentração em quase todos os tratamentos quando comparados ao dia do plantio, exceto para processos abióticos, onde os teores aumentaram em 127% aos 30 dias. Já os HPAs com 4, 5 e 6 anéis, apresentaram aumento de suas concentrações em todos os tratamentos. Aos 60 dias, houve uma redução adicional de concentração nos HPAs com 2-3 e 5-6 anéis em todos os tratamentos. Aos 60 dias, os HPAs com 4 anéis apresentaram redução em relação aos 30 dias, mas ainda permaneceram com

concentração superior em relação ao dia 0. A atenuação natural e o solo com braquiária apresentaram HPAs com 4 anéis em valores inferiores aos 30 dias mas ainda superiores às concentrações iniciais do solo. Somente no solo plantado com soja a redução aos 60 dias foi suficiente para baixar a níveis ligeiramente inferiores (6%) à concentração inicial



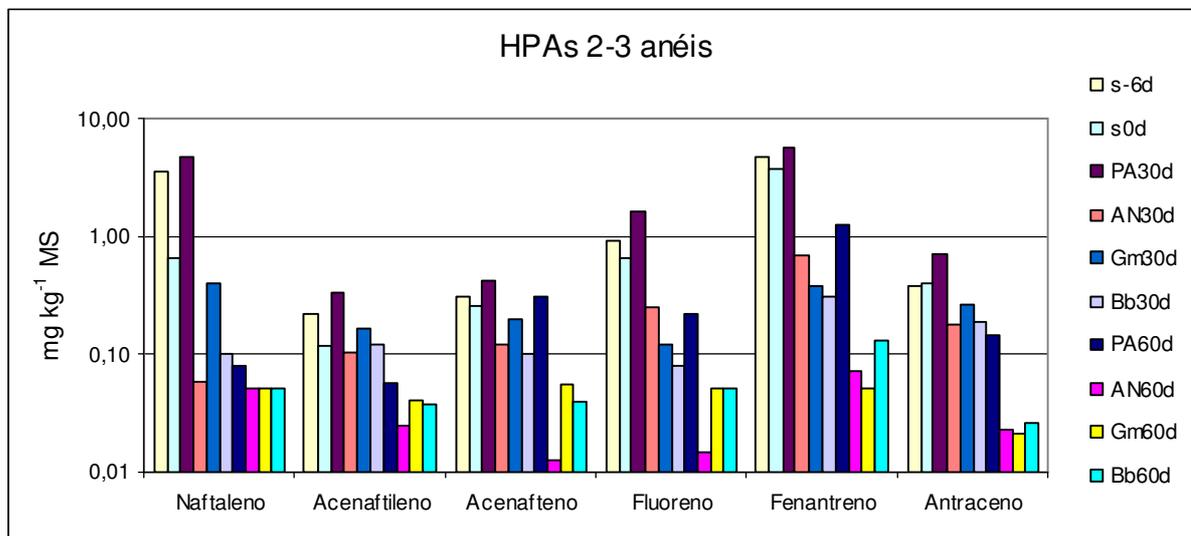
**Figura 21** – Resultados das concentrações dos HPAs com 2-3, 4 e 5-6 anéis aromáticos.



**Figura 22** – Resultados da redução da concentração de HPAs em todos os tratamentos em %. Valores negativos significam aumento (em %).

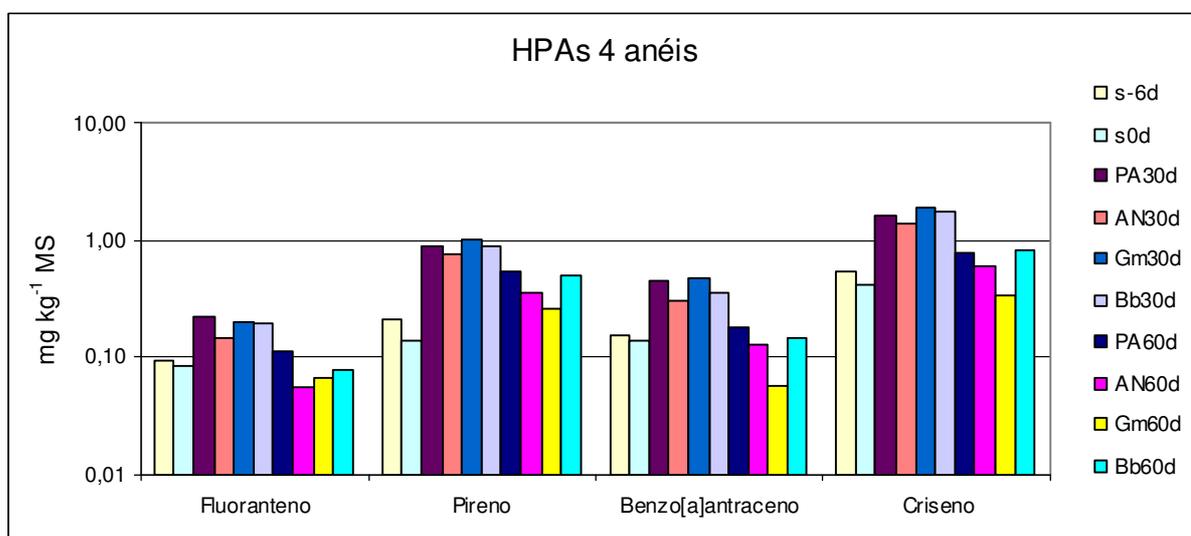
As figuras 23, 24, 25 e 26 apresentam as concentrações dos HPAs individualmente por tratamento, facilitando a visualização do desempenho de cada tratamento por HPA estudado.

O naftaleno (2 anéis) teve uma redução superior pela atenuação natural comparado à fitorremediação por braquiária e soja, mas tal superioridade desapareceu aos 60 dias. Comparada com a fitorremediação, a atenuação natural foi ainda superior para acenaftileno, acenafteno e fluoreno, igual para antraceno mas inferior para fenantreno.



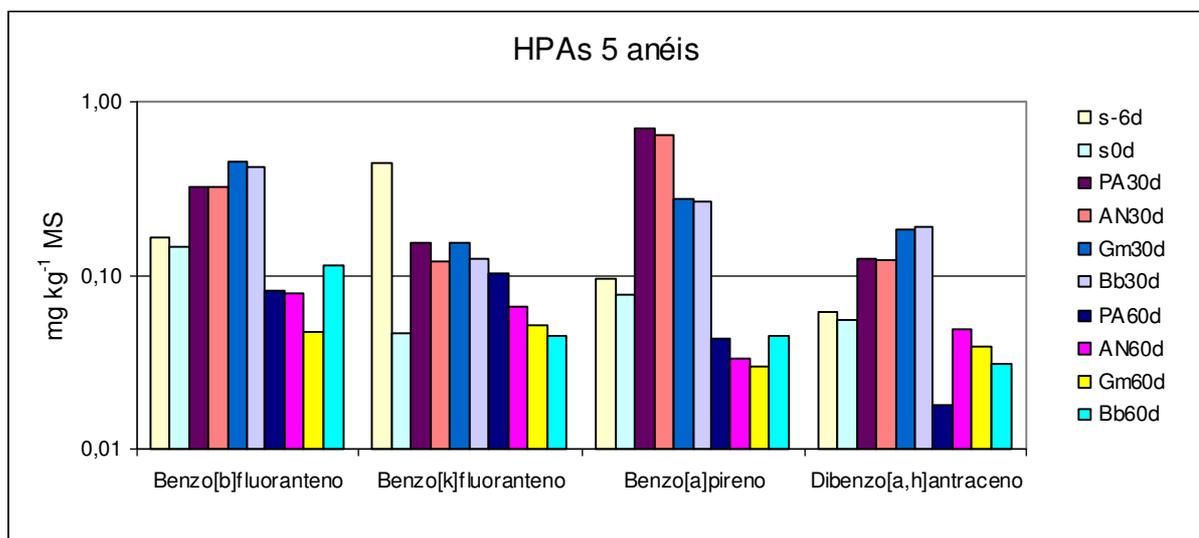
**Figura 23** – Resultados da concentração dos HPAs com 2-3 anéis aromáticos

Aos 30 e aos 60 dias a atenuação natural foi ligeiramente superior à fitorremediação para reduzir fluoranteno (Figura 24). Entretanto, para pireno, benzo (a) antraceno e criseno, a fitorremediação apresentou melhor desempenho, seguida pela atenuação natural. Cabe ressaltar que todos os HPAs de 4 anéis apresentaram aumento na concentração do teor extraído do solo aos 30 dias comparados e em alguns casos ainda aos 60 dias comparados ao dia 0.



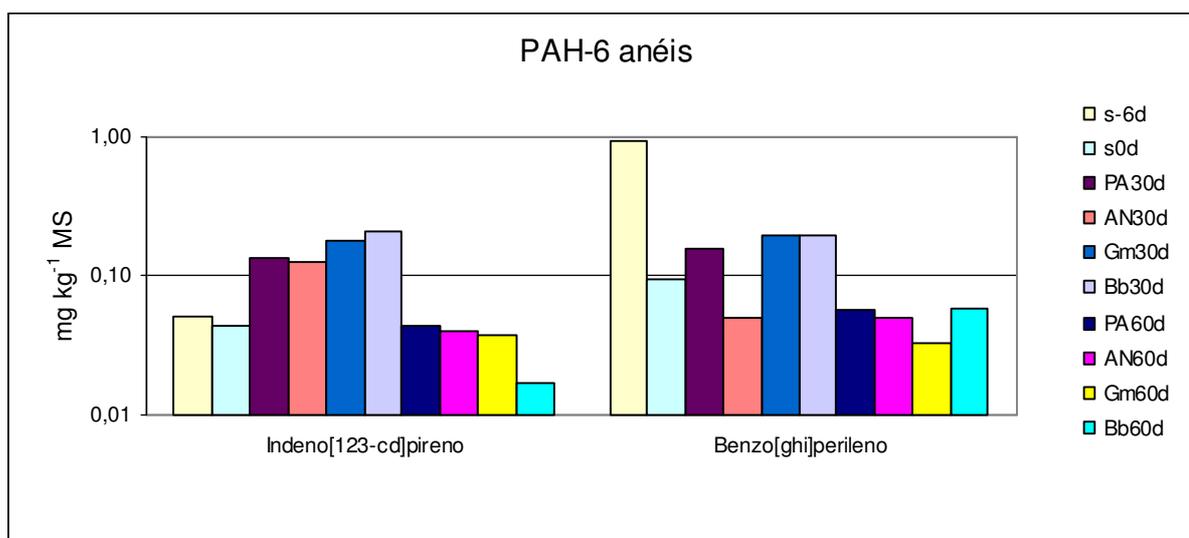
**Figura 24** - Resultados da concentração dos HPAs com 4 anéis aromáticos.

De acordo com a figura 25, todos os HPAs com 5 anéis tiveram concentração aumentada em todos os tratamentos aos 30 dias comparados ao dia 0. Porém, aos 60 dias, a fitorremediação com soja foi o tratamento mais efetivo para o benzo(b)fluoranteno, juntamente com a braquiária, apresentou o melhor desempenho para benzo(k)fluoranteno e juntamente com a atenuação natural, apresentou o melhor desempenho para redução do benzo (a)pireno. A aparente superioridade dos processos abióticos na redução do dibenzo (a,h) antraceno aos 60 dias parece suspeita, pois não é consistente com os resultados em geral do presente estudo e devem ser tomados com restrições, pois podem resultar de erro laboratorial ou de amostragem.



**Figura 25** - Resultados da concentração dos HPAs com 5 anéis aromáticos.

Com relação aos HPAs de 6 anéis (Figura 26), aos 30 dias observou-se um aumento na concentração do indeno(1,2,3-cd)pireno em todos os tratamentos e uma redução aos 60 dias com superioridade para o tratamento com braquiária. Aos 30 dias, o benzo (g,h,i) perileno foi reduzido pela atenuação natural e aumentou no controle dos processos abióticos e na presença de soja e braquiária. Porém, aos 60 dias, o solo com soja apresentou a redução mais acentuada desse composto.



**Figura 26-** Resultados da concentração dos HPAs com 6 anéis aromáticos.

A redução superior dos HTPs com menos de 22 átomos de carbono corresponde ao resultado esperado, pois segundo a ATSDR (1999), os *n*-alcanos, *n*-alquil aromáticos e os aromáticos na faixa entre C<sub>10</sub> e C<sub>22</sub> são os prontamente biodegradados; já os *n*-alcanos, *n*-alquil aromáticos e os BTEX (que estão dentro do grupo de hidrocarbonetos aromáticos na faixa entre C<sub>5</sub> e C<sub>9</sub> pois apresentam número de C entre 6 e 8), são biodegradados a baixas taxas por alguns microorganismos, porém, são preferencialmente removidos por volatilização; Os *n*-alcanos na faixa entre C<sub>1</sub> e C<sub>4</sub> são biodegradados por uma gama reduzida de microorganismos; e os *n*-alcanos, *n*-alquil aromáticos e os aromáticos acima de C<sub>22</sub> usualmente não se encontram biodisponíveis (ATSDR, 1999).

A grande redução dos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX), observadas no período inicial do experimento (6 dias após a adição do óleo no solo) é provavelmente devido ao fato dos BTEX apresentarem a característica volátil (COATES et al., 2002). Tais substâncias apresentam alta solubilidade e toxicidade (principalmente o benzeno) representando risco à saúde humana por serem compostos cancerígenos. Segundo a ATSDR (1999) os BTEX são compostos altamente solúveis e móveis em água e, portanto, são degradados mais rapidamente, seja por processos físicos (fotoxidação) ou biológicos (biodegradação).

HPAs com 2-3 anéis, como o naftaleno e antraceno, são mais facilmente biodegradados e são mais voláteis (ATSDR, 1999; HYNES et al., 2004; KRIIPSALU et al., 2006 c), conforme os resultados obtidos no presente estudo. Entretanto, os hidrocarbonetos com anéis condensados, como os HPAs com mais de 4 anéis, são relativamente resistentes à biodegradação.

A redução de diferentes HPAs pode ser resultado de três mecanismos (KRIIPSALU *et al.*, 2006 a): (i) volatilização (e.g. naftaleno); (ii) biodegradação (em sua maioria por microorganismos, e.g HPAs com 3-4 anéis) e; (iii) adsorção dos compostos à matriz orgânica do solo, como lignina celulósica (e.g. HPAs com 5-6 anéis). O aumento observado para os HPAs com 4 anéis pode ser resultado da liberação de HPAs devido às mudanças na matriz orgânica do solo e/ou à distribuição heterogênea desses compostos no solo e eficiência de extração para análise (KRIIPSALU *et al.*, 2006 b).

Os resultados obtidos nos quais os solos plantados apresentam maior redução na concentração de HPAs do que solos não plantados estão de acordo com estudos anteriores (FERRO *et al.*, 1999, ROCK, 2003; MERKL *et al.*, 2005). Os resultados obtidos de maior redução de HTP, particularmente em solo plantado com soja, também está de acordo com estudos anteriores (NEDUNURI *et al.*, 2000; HUTCHINSON *et al.*, 2003). Esses autores relataram que a soja em seis meses degradou em média 36% de HTP. Foi observada em estudos anteriores, considerável redução na concentração de teor de óleos e graxas (TOG) em solos plantados com *Brachiária brizantha*. Esses autores relatam que a braquiária em 180 dias degradou em média 22% de TOG (MERKL *et al.*, 2005).

O presente estudo, tendo em vista a seleção de cultivar com crescimento muito rápido no tocante à soja, foi finalizado aos 60 dias de crescimento vegetal (ciclo de vida da cultivar de soja de 55 dias), o que pode ser considerado um prazo relativamente curto para explorar todo o potencial da planta em fitorremediar o solo em questão. Novas investigações serão realizadas com estas e outras espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados com petróleo.

## 8.5 População fúngica: raiz e solo controle e contaminado

As tabelas 17 e 18 apresentam os resultados de quantificação e identificação das unidades formadoras de colônia de fungos (UFCs).

**Tabela 17** – Resultados da contagem das UFCs.

<b>CONTROLE</b>		
<b>Espécie</b>	<b>Solo</b>	<b>Raiz</b>
<b>Soja</b>	6,0 X 10 <sup>3</sup>	1,01 X 10 <sup>4</sup>
<b>Braquiária</b>	8,0 X 10 <sup>3</sup>	1,16 X 10 <sup>4</sup>
<b>CONTAMINADO (3% óleo cru)</b>		
<b>Espécie</b>	<b>Solo</b>	<b>Raiz</b>
<b>Soja</b>	1,01 X 10 <sup>4</sup>	4,0 X 10 <sup>3</sup>
<b>Braquiária</b>	6,9 X 10 <sup>3</sup>	6,5 X 10 <sup>3</sup>

**Tabela 18**– Resultados do Isolamento e Identificação das UFCs, a nível de gênero.

<b>CONTROLE</b>			
<b>Soja_solo</b>	<b>Soja_raiz</b>	<b>Braquiária_solo</b>	<b>Braquiária_raiz</b>
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Curvularia</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Curvularia</i>
<i>Mucor</i>	<i>Mortierella</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>
<i>Nigrospora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Pythium</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Phialophora</i>	-	<i>Pythium</i>
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	-	<i>Trichoderma</i>
Fungo de hifa hialina			
Fungo de hifa dematiacea			
<b>28 isolados</b>	<b>29 isolados</b>	<b>23 isolados</b>	<b>30 isolados</b>
<b>CONTAMINADO</b>			
<b>Soja_solo</b>	<b>Soja_raiz</b>	<b>Braquiária_solo</b>	<b>Braquiária_raiz</b>
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Acremonio</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>
<i>Mucor</i>	<i>Mucor</i>	<i>Mucor</i>	<i>Mucor</i>
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>
-	-	<i>Trichoderma</i>	<i>Syncephalastrum</i>
-	-	-	<i>Trichoderma</i>
Fungo de hifa hialina			
Fungo de hifa dematiacea			
<b>13 isolados</b>	<b>12 isolados</b>	<b>14 isolados</b>	<b>17 isolados</b>

**Soja** – Nos solos plantados com soja, a quantidade de microorganismos encontrados no solo controle foi menor que a encontrada no solo contaminado. Embora tenha havido um maior número de UFCs no solo contaminado, quando as diferentes UFCs foram isoladas, notou-se uma redução dos isolados na amostra de solo contaminado quando comparado ao controle. Observou-se ainda que dos gêneros encontrados nas amostras de solo contaminado da soja, em sua maior parte, são encontrados nas amostras de solo controle, exceto o gênero *Fusarium*, exclusivamente encontrado no solo contaminado. Por outro lado, os gêneros *Cladosporium*, *Curvularia*, *Nigrospora* e *Penicillium* encontrados no solo controle não foram observados no solo contaminado.

Quando passa-se da análise do ambiente solo para o ambiente raiz, observa-se uma redução no número de UFCs e na quantidade de isolados na raiz. Entre os gêneros encontrados na amostra de raiz contaminada estão os dos gêneros *Fusarium* e *Mucor* que não foram observados em raiz no solo controle. Dentre os gêneros encontrados na amostra de raiz exclusivamente no solo controle, nota-se a presença dos gêneros *Cladosporium*, *Curvularia*, *Mortierella*, *Penicillium* e *Phialophora*.

Os gêneros *Nigrospora* e *Mortierella* e *Phialophora* foram observados respectivamente no solo controle (*Nigrospora*) e na raiz controle da soja, não sendo observados no solo e na raiz da braquiária.

Nas amostras de solo e raiz contaminados da soja, observa-se uma redução da diversidade de gêneros, quando comparamos com as mesmas amostras controles.

**Braquiária** - Nas amostras de solo da braquiária, observou-se que há redução na quantificação de UFCs e nas diferentes UFCs isoladas.

Os gêneros em comum em ambas as amostras de solo (controle e contaminado) foram *Fusarium* e *Penicillium*. Dentre os gêneros encontrados apenas no solo controle, observou-se *Aspergillus*, *Curvularia* e *Pythium*, e os gêneros encontrados apenas no solo contaminado foram *Acremonio*, *Mucor* e *Trichoderma*.

No ambiente raiz, observou-se redução da quantidade de UFCs e de isolados no solo contaminado. Os gêneros *Cladosporium*, *Curvularia* e *Pythium* foram observados apenas nas amostras de raiz controle, já os gêneros *Mucor* e *Syncephalastrum* foram os gêneros observados apenas em raiz contaminada.

O gênero *Pythium* foi encontrado tanto em solo quanto em raiz da braquiária, sendo que apenas nas amostras controle. Já o gênero *Acremonio* e *Syncephalastrum* foram observados, respectivamente, em solo e raiz de ambas as amostras contaminadas.

Muitas das UFCs isoladas não foram identificadas devido a ausência de esporulação de algumas hifas que foram então, apenas classificadas em hifas hialinas e dematiaceas (Tabela 18). Estudos estão sendo conduzidos para identificação ao nível de espécie.

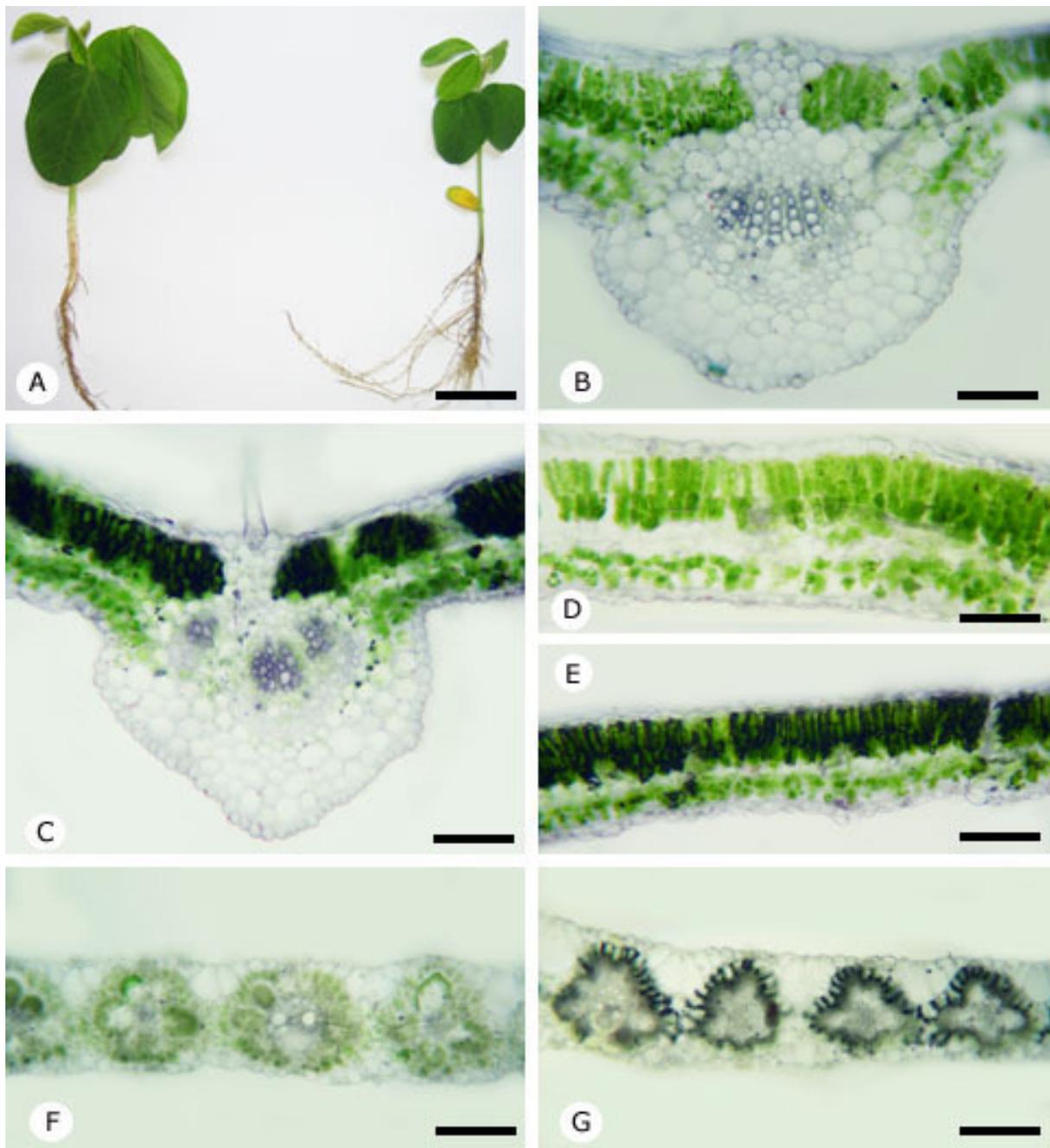
A maior quantidade de UFCs no solo contaminado da soja pode ter ocorrido devido à inoculação de *Rizobium* na semente, ou ainda, ao processo de biodegradação do petróleo no solo, pois alguns microorganismos utilizam contaminantes orgânicos como fonte de carbono e energia. Os contaminantes funcionam como substratos orgânicos para processos metabólicos de biodegradação. Quando tais contaminantes são utilizados como substrato primário (servem ao mesmo tempo como fonte de energia e de carbono), o processo de biodegradação está diretamente ligado ao crescimento (“growth-linked”) (CAMPESTRINI e INZUNZA, 2005).

A redução na diversidade de gêneros observadas nas amostras de solo e raiz contaminados da soja e a presença de gêneros (independente da espécie vegetal) não observados nas amostras de solo e raiz controles pode ser devido ao fato de que algumas espécies de microorganismos são mais tolerantes à presença de óleo que outras, ou ainda por serem capazes de degradá-lo. É sabido que alguns microorganismos conseguem biodegradar um determinado composto quando em baixas concentrações, e em altas concentrações tal composto pode exercer efeito tóxico sobre eles. De acordo com Grubb (1998), os hidrocarbonetos de petróleo são bons exemplos de substratos que servem ao mesmo tempo como fonte de energia e carbono na biodegradação. Segundo Eweis (1998), os fungos apresentam um potencial considerável não totalmente explorado para o tratamento de compostos orgânicos perigosos.

Dentre os gêneros conhecidos por sua capacidade de degradar petróleo estão inclusos o *Penicillium*, *Cunninghamella* e *Aspergillus* (ROSATO, 1997; PEREIRA & LEMOS, 2006). Dos gêneros apresentados, dois foram observados no presente estudo. O *Aspergillus* foi observado nas amostras de solo e raiz contaminados da soja e na raiz contaminada da braquiária, e o *Penicillium* foi observado nas amostras de solo e raiz contaminados da braquiária.

## 8.6 Análise dos cortes anatômicos: 30 dias

Os resultados dos cortes anatômicos são apresentados na Figura 27.



**Figura 27** - A) Hábitus das plantas de *Glycine max* controle (maior) e contaminada (menor), barra 1,9 cm. B) Secção transversal da nervura de *Glycine max* do grupo controle, barra 65,1  $\mu\text{m}$ . C) Secção transversal da nervura de *Glycine max* contaminada, barra 67,2  $\mu\text{m}$ . D) Secção transversal do limbo de *Glycine max* controle, barra 65,1  $\mu\text{m}$ . E) Secção transversal do limbo de *Glycine max* contaminada. Parênquima paliçádico escurecido, barra 114  $\mu\text{m}$ . F) Secção transversal do limbo de *Brachiária brizantha* controle notando-se mesofilo disposto em coroa, barra 48  $\mu\text{m}$ . G) Secção transversal do limbo de *Brachiária brizantha* contaminada. Bainhas parenquimáticas com paredes anticlinais escurecidas, barra 43,2  $\mu\text{m}$ .

Todos os órgãos das plantas contaminadas exibiram menores dimensões, com exceção da raiz, que àqueles das plantas controle (Figura 27A).

Em *Glicine max* há estômatos paracíticos, anisocíticos e anomocíticos nos dois tipos de folhas; os tricomas são simples e apresentam uma célula apical muito longa e duas células basais curtas. Nas folhas das plantas contaminadas houve uma maior densidade de tricomas e estes se apresentaram um pouco maiores que aqueles do controle. No grupo controle de *G.max*, em volta da base dos tricomas observa-se um arranjo radiado das células epidérmicas enquanto que na contaminada esse arranjo é muito pouco evidente. Também em ambos os tipos de folhas, as células epidérmicas apresentam um contorno sinuoso e essa sinuosidade é mais evidente nas folhas contaminadas.

A nervura, no controle de *G. max*, apresentou secção biconvexa (Figura 27B) e no contaminado plano-convexa (Figura 27C). Na epiderme, as células exibem secção que varia de arredondada a elíptica em ambos os tipos. Na face adaxial de ambas, há tecido colenquimático do tipo anelar transicionando para angular com cerca de quatro estratos e no arco abaxial há um único estrato colenquimático do tipo anelar (figuras 27B e 27C). O parênquima cortical apresenta poucos estratos celulares. Em ambos os grupos, o clorênquima chega a invadir a região da nervura. No controle, o sistema vascular se apresenta como um feixe único (Figura 27B), já o contaminado exhibe três feixes (Figura 27C). Os feixes são do tipo colateral.

Ambas as folhas são dorsiventrais. As folhas do controle evidenciam uma maior espessura (Figura 27D). O parênquima paliçádico no grupo contaminado evidenciou uma substância escura aderida à suas células (figuras 27C e 27E).

Ambos os caules exibem tricomas, células epidérmicas de secção reduzida, cerca de três a quatro camadas de um parênquima clorofiliano, uma faixa de tecido vascular percorre toda a circunferência do caule e no interior há uma medula de natureza parenquimática. No parênquima clorofiliano do caule da planta contaminada, há uma acumulação de substância escura.

Na raiz da planta contaminada, há a presença de substância escura no tecido de revestimento e nas raízes secundárias.

Em secção transversal da folha de *Brachiária brizantha*, em ambas as faces, as células epidérmicas exibem formato variando de arredondado à elíptico (Fig. 27F e 27G). Estão presentes, as células buliformes na face adaxial. No mesófilo verificou-se também a ocorrência de Anatomia Kranz. Como principal diferença observada, entre os espécimes controle e contaminado, existe um número maior de cloroplastos no tecido fotossintetizante

do controle. Além do mais, no contaminado, acumulou-se uma substância escura nas paredes anticlinais das células da bainha.

Em vista frontal, as epidermes foliares de ambas as folhas se apresentaram bastante semelhantes. Em ambas observa-se os estômatos tipo halteres. A diferença observada diz respeito ao grau de sinuosidade das paredes celulares das células epidérmicas. Essa sinuosidade é mais desenvolvida nas células do grupo controle (Figura 27F) do que naquelas do grupo contaminado (Figura 27G).

A raiz controle apresentou-se com numerosos estratos corticais com células de natureza parenquimática, tecido de revestimento bem desenvolvido e um único cilindro vascular. Na região mais central do cilindro vascular há uma região medular com células de natureza parenquimática. Diferentemente, a raiz dos exemplares contaminados apresentou-se com menores dimensões, menos estratos celulares na região cortical, cerca de seis; uma endoderme e periciclo com paredes mais espessadas, principalmente as periclinais internas. Também observou-se uma área fistulosa no interior da raiz. Em relação à contaminação, esta é visualizada como pequenos pontos escuros.

Os tricomas, tipo de estômato e a organização foliar exibidos por *Glycine max* são comuns na família Fabaceae (METCALFE & CHALK, 1950). A *Brachiária brizantha*, possui anatomia foliar Kranz, típica das plantas que fazem a via C4. Esse dado já é citado na literatura para a espécie (BRITO e RODELLA, 2002). Essa anatomia se caracteriza por apresentar feixes vasculares circundados por células mesofílicas em disposição radiada, e mais internamente uma ou duas camadas de células denominadas de bainha parenquimática e bainha mestomática respectivamente. Em *Brachiaria*, a maior parte do parênquima clorofiliano acha-se sob a forma de bainha em torno dos feixes. Em relação à epiderme, os estômatos em halteres são peculiares às Poaceae (APEZZATO *et al.*, 2003).

O parênquima paliçádico no grupo contaminado da *G. max* evidenciou uma substância escura aderida à parede de suas células. Devido ao fato da espécie apresentar a característica de incorporar compostos orgânicos à lignina da parede vegetal de tecidos estruturais (PIERZYNSKY *et al.*, 1994; CUNNINGHAM *et al.*, 1995), como continuidade do presente estudo, no presente momento, estão sendo conduzidas investigações mais detalhadas para confirmar se a substância escura presente no parênquima paliçádico de *G. max* é petróleo. Maiores investigações também estão sendo planejadas para *B. brizantha* e outras espécies, pois nas amostras contaminadas, observou-se o acúmulo de uma substância escura nas paredes anticlinais das células da bainha.

Foram observadas variações estruturais nos indivíduos estudados, indicando que talvez as diferenças anatômicas sejam efeito de um retardo no desenvolvimento nas plantas contaminadas, como fica evidenciado pelas menores dimensões dos seus órgãos, com exceção da raiz, que mostrou-se mais alongada nos exemplares contaminados. Esse retardo pode ocorrer devido o petróleo presente no solo pode cobrir as raízes das plantas com uma película de óleo alterando a absorção de água e nutrientes. Adicionalmente, se o petróleo pode penetrar nos tecidos das plantas, danificar as membranas das células causando perda de conteúdo celular, bloqueio dos espaços intracelulares e redução no transporte de metabólitos, assim como as taxas de respiração e fotossíntese (XU e JOHNSON, 1995; PEZESHKI *et al.*, 2000).

A observação de deposição de substâncias estranhas nos tecidos vegetais corrobora a opinião de que espécies vegetais possam ter uma aplicação na fitorremediação de solo contaminado por petróleo.

## 9 Conclusões

- Com base na biometria das plantas aos 30 dias de desenvolvimento, a soja diferentemente da braquiária, não foi significativamente afetada pela presença de óleo para as variáveis: (i) comprimento aéreo, (ii) comprimento radicular e (iii) biomassa radicular. As variáveis (iv) comprimento radicular, (v) biomassa aérea e (vi) área foliar apresentaram redução significativa em ambas as espécies, em solo contaminado.
- Aos 60 dias, as duas espécies foram igualmente afetadas pela presença de óleo a 3% no solo, para as cinco variáveis medidas.
- Os gêneros de fungos *Aspergillus*, *Acremonio*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Syncephalastrum* e *Trichoderma* foram observados apenas em amostras de solo e/ou raiz contaminados por óleo para ambas as espécies. Os gêneros *Cladosporium*, *Curvularia*, *Mortierella*, *Nigrospora*, *Phialophora* e *Pythium*, foram observados apenas em amostras de solo e/ou raiz controle. Conclui-se que os gêneros presentes em solo contaminado são no mínimo tolerantes ao óleo; para os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, a capacidade de degradação de hidrocarbonetos de petróleo foi previamente descrita na literatura. Sugere-se investigação sobre a capacidade dos gêneros *Acremonio*, *Fusarium*, *Mucor*, *Syncephalastrum* e *Trichoderma* utilizarem hidrocarbonetos de petróleo como fonte de carbono e energia.
- Com relação à análise microscópica dos cortes anatômicos, ambas as espécies apresentaram um grande número de alterações nas plantas desenvolvidas em solo contaminado comparadas ao controle. Com relação à soja, destaca-se que no parênquima paliçádico das plantas crescidas em solo contaminado evidenciou-se uma substância escura aderida à suas células. No parênquima clorofiliano do caule, observou-se uma acumulação de substância escura. Na braquiária, a principal diferença entre espécimes de solo controle e de solo contaminado, foi o número maior de cloroplastos no tecido fotossintetizante do controle. Adicionalmente, em plantas do solo contaminado, verificou-se o acúmulo de uma substância escura nas paredes anticlinais das células da bainha. A natureza dessas imagens está sendo investigada em continuidade ao presente estudo. Na soja observou-se a presença de vagem, porém não foi avaliado o tecido da vagem, futuras investigações devem ser realizadas para saber se o contaminante pode ser armazenado na vagem.
- Aos 30 dias, a redução dos n-alcenos totais (nC10-nC36) do solo contaminado nos diferentes tratamentos, em ordem decrescente de desempenho foi: atenuação natural

(78%) > braquiária (74%) > soja (71%) > processos abióticos (23%). Aos 60 dias a ordem foi: atenuação natural (95,4%) > soja (93%) > braquiária (91%) > processos abióticos (62%).

- Aos 30 dias, a redução dos HTPs pelos diferentes tratamentos em ordem decrescente de desempenho foi: atenuação natural (35,8%) > processos abióticos (21,9%) = braquiária (21,3%) > soja (1%). O baixíssimo desempenho da soja não foi consistente com os demais dados do estudo, o que sugere um erro analítico ou de digitação; o cromatograma será reanalisado para confirmação do dado. Aos 60 dias, os tratamentos em ordem decrescente de eficiência foram: soja (62,2%) > atenuação natural (57,9%) > braquiária (41,3%) > processos abióticos (44,5%).
- Aos 30 dias, uma grande redução de BTEX foi observada na seguinte ordem decrescente de desempenho dos tratamentos: soja (99,2%) = braquiária (99,2%) = atenuação natural (99,1%) = processos abióticos (86,5%). Aos 60 dias, somente nos processos abióticos havia alguns compostos do grupo acima do limite de detecção (etilbenzeno, m,p-xileno e o-xileno); os demais compostos e tratamentos apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção. A alta eficiência dos processos abióticos na redução de BTEX, com apenas uma leve superioridade dos processos biológicos (atenuação natural e fitorremediação), confirma dados de literatura de que volatilização e/ou foto-oxidação são os processos responsáveis pelo decaimento desses compostos no solo contaminado.
- Os HPAs totais extraídos do solo de diferentes tratamentos apresentaram aos 30 dias redução na seguinte ordem decrescente de desempenho dos tratamentos: atenuação natural (25,1%) > braquiária (23%) > soja (8,2%) > processos abióticos (aumento de 153,9%) . Aos 60 dias, a ordem foi: soja (82,9%) > atenuação natural (76,8%) > braquiária (69,4%) > processos abióticos (43,8%).
- Quando os HPAs são agrupados pelo número de anéis aromáticos, aos 30 dias observa-se um aumento dos HPAs com 2+3 anéis (no controle de processos abióticos) e de HPAs com 4, 5 e 6 anéis (em todos os tratamentos), variando de 127% a 364%. Aos 60 dias, somente os HPAs de 4 anéis permaneceram com teores acima dos valores iniciais em todos os tratamentos com exceção da soja onde houve uma redução de 6%. O aumento de HPAs está relacionado com etapas de degradação e conversão de compostos maiores em menores, mecanismos de adsorção-desorção de HPAs previamente existentes na matriz do solo e distribuição não homogênea no solo, afetando a representatividade da amostra.
- Os resultados indicam que os processos abióticos são de alta relevância no decaimento de algumas frações de HTPs, n-alcanos, BTEX e HPAs do solo. Tais processos são

particularmente relevantes nos primeiros 30 dias após a contaminação. Após esse período, os processos biológicos apresentam superioridade de desempenho.

- Os dados sugerem que os processos abióticos não ocorrem igualmente em todos os tratamentos. A existência de sombra formada pelos ramos e folhas das plantas provavelmente reduz a volatilização e a foto-oxidação no solo plantado.
- A atenuação natural apresentou melhor desempenho do que as plantas aos 30 dias, superioridade esta que praticamente desapareceu aos 60 dias comparada com a soja.
- A soja apresentou um desempenho ligeiramente superior à braquiária na fitorremediação de solos contaminados com petróleo.
- Observou-se de uma maneira geral, que aos 60 dias a fitorremediação começa a apresentar resultados superiores em termos de redução de alguns hidrocarbonetos, comparada aos demais tratamentos e ao desempenho da própria fitorremediação aos 30 dias. O fato da soja ter atingido o ápice de sua maturidade aos 60 dias impediu a continuação do tratamento; sugere-se que um desempenho superior da fitorremediação possa ser obtida com mais tempo de tratamento.
- Portanto, embora espécies com padrão de crescimento rápido apresentem vantagens e sejam a princípio candidatas preferenciais para remediação rápida do solo, cultivares que alcançam a maturidade em espaço muito curto de tempo (ex: a cultivar de soja utilizada no presente estudo) podem limitar o potencial de fitorremediação da espécie.
- A continuidade da presente investigação prevê a utilização de cultivares e/ou espécies de desenvolvimento mais lento, mas dentro dos limites que não comprometam a eficácia do processo.

## 10 Referências Bibliográficas

- ACCIOLY, A.M.A. e SIQUEIRA, J.O. 2000. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F., ALVAREZ, V.H., SCHAEFER, C.E.G.R.(ed.). Tópicos em ciência do solo. V.1. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2000. p. 299-352.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1995. Toxicological Profile polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Total Petroleum hydrocarbons. 1999. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxiprofiles>>. Acesso em: Fevereiro de 2006.
- ALEXANDER, M. (1999). Biodegradation and biorremediation. Academic Press, 2<sup>nd</sup> ed., San Diego, U.S.A., p. 239.
- American Petroleum Institute (API) (2001). *Risk-based methodologies for evaluating petroleum hydrocarbon impacts at oil and natural gas E&P sites*. API publication number 4709.
- APEZZATO, DA GLÓRIA, B. A.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. 2003. Anatomia Vegetal. Viçosa, UFV. 438 p.
- APRIL, W & SIMS, R.C. Evaluation and use of prairie grasses for simulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere* 20:253-265. 1990.
- ATLAS, R. (1991): "Microbial Hydrocarbon Degradation-Bioremediation of oil Spills!", *Journal of Chemical Technical Biotechnol.*, vol, 52, pp. 149-156.
- BACKER, K.H e HERSON, D.S.(1994). *Bioremediation*. McGraw-Hill, New York, pp. 97-120.
- BAIRD, C Química ambiental. Trad. Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera. – 2<sup>a</sup> ed. – Porto Alegre: Bookman, 2002
- BARNET, H.L.; HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4th ed., APS PRESS: St. Paul, Minnesota, 218 p., 1998.
- BELL, R. M. 1992. Higher Plant Accumulation of Organic Pollutants from Soils. Risk Reduction Engineering Laboratory, Cincinnati, OH. EPA/600/R-92/138.
- BELMONT, M.A., C.D. METCALFE Feasibility of using ornamental plants (*Zantedeschia aethiopicoides*) in subsurface flow treatment wetlands to remove nitrogen, chemical oxygen demand and nonylphenol ethoxylate surfactants- a laboratory-scale study. *Ecological Engineering* 21, 233-247, 2003.
- BITTAR, P.R. (2000). *A biorremediação através do uso de biopilhas*. Informativo CRQ-IV, Edição Set/Out.
- BLACK, H.1995. Absorbing possibilities: Phytoremediation. *Environmental Health Perspective*, 103(12): 1106-1108.

- BOOPATHY, R. e MANNING, J.1998. A laboratory study of the bioremediation of 2,4,6 – trinitrotoluene-contaminated soil using aerobic anaerobic soil slurry reactor. *Water Environ. Res.* 70, 80-86.
- BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. In: *Bioresource Technology* 74 (2000) 63-67.
- BRATBERG, D., HOPKINS, L. Risk Based Corrective Action and Risk Assessment Procedures in the United States: a 1995 Survey. In: *Proceedings of the 1995 Petroleum Hydrocarbon and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection, and Restoration Conference*, Houston, Texas. Nov. p. 25-31.
- BRITO, C. J.F.A.; RODELLA, R. A. 2002. Caracterização morfo-anatômica da folha e do caule de *Brachiária brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. (Poaceae). 2002. *Revista Brasileira de Botânica*, 25, (2): 221-228.
- BROOKS, R.R. Phytoremediation by volatilisation. In: Brooks, R.R. (ed), *Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals*, CAB International, Walling-ford, p.289 (1998).
- BROWN, S.L.; CHANEY, R.L.; ANGLE, J.S., BAKER, A.J.M (1994). Phytoremediation potential of *thalspi caerulescens* and bladder campion for zinc and cadmium-contaminated soil. *J. Environ Qual* 23:1151-1157.
- CAMPESTRINI, A.; INZUNZA, C.P.C. (2005) Biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. Monografia de Conclusão de Pós Graduação no Núcleo de Ciências Ambientais do Instituto de Biologia & Escola Politécnica da UFRJ, RJ.
- Canadian Council of Ministers of Environment (CCME). 2004. *Canadian Environmental Quality Guidelines*. Update 2.
- CENPES - CENTRO DE PESQUISAS E DESENVOLVIMENTO LEOPOLDO A. MIGUEL DE MELLO. *Relatório da produção anual de óleo e gás*. Rio de Janeiro: PETROBRAS/CENPES/PDEAB/TAP, 2001.
- CEPA (2006). Disponível em: <http://www.cepa.if.usp.br>. Acesso em: Fevereiro de 2006.
- CHANEY, R.L.; MALIK, M.; LI, Y.M.; BROWN, S.L.; BREWER, E.P.; ANGLE J.S.; BAKER, A.J.(1997). Phytoremediation of soils metals. *Curr Opin Biotechnol* 8:279-284.
- CHAPPELL, j. 1998. Phytoremediation of TCE in Groundwater using *Populus*. EPA, Washington-D.C.
- COATES, J.D.; CHAKRABORTY, R.; McINERNEY, M.J.( 2002) Anaerobic benzenebiodegradation – a new era. *Res Microbiol* 153:621-628.
- Companhia e Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) 2001a. *Manual de Gerenciamento de Áreas Contaminadas*. Relatório Técnico. Relatório Técnico.
- Companhia e Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). (1993). *Resíduos Sólidos Industriais*, São Paulo – SP. 223 p.

- Companhia e Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). 2001b. *Relatório de Estabelecimento de Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneos no Estado de São Paulo*. Relatório Técnico.
- Companhia e Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). (2006). Solo. Disponível em: [http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas\\_contaminadas/relação\\_areas.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/relação_areas.asp) Acesso em: Setembro de 2006.
- CORSEUIL, H.X. Enhanced Degradation of Monoaromatic Hydrocarbons in Sandy Aquifer Materials by Inoculation Using Biologically Active Carbon Reactors. PhD dissertation, Ann Arbor, MI, EUA, 1992.
- CRAPEZ, M.A.C.; BORGES, A.L.M.; BISPO, G.S.; PEREIRA, D.C. (2002) *Biorremediação: tratamento para derrames de petróleo*. Ciência Hoje, jan/fev.
- CUNNINGHAM, S.D., SHANN, J.R., CROWLEY, D.E., ANDERSON, A.A. 1997. Phytoremediation of contaminated water and soil. In: Kruger EL, Anderson TA, Coats JR [eds] Phytoremediation of soil and water contaminants, vol. 664 American Chemical Society, Washington, D.C., pp.2-17.
- CUNNINGHAM, S.D., W.R. BERTI, J.W. HUANG. Phytoremediation of Contaminated Soils. *Trends Biotechnol.* 13:393-397. DIAS, A. E.X.O. 2000. Biorremediação de Áreas Afetadas por Resíduos Tóxicos. In Sissinno, C. L. S., Oliveira R. M. (eds), Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde: uma Visão Multidisciplinar, 1 ed. , Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro, 1995b.
- CUNNINGHAM, S.D.; ANDERSON, T.A.; SCHWAB,P. AND HSU, F. C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.* (56)p55 (1996).
- DALCERO, A.; MAGNOLI, C.; CHIACCHIERA, S.; PALACIOS, G.; REYNOSO, M. Mycoflora and incidence of aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia*, v. 137, p. 179-184, 1997.
- DAVET, P.; ROUXEL, F. Detection and Isolation of Soil Fungi. Science Publishers: França, 2000. 573 p.
- DIAS, L. E. et al. The use of nitrogen-fixing trees to revegetate bauxite and gold mined areas in the tropics: "Can trees substitute topsoil return?" In: BEIJING INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON LAND RECLAMATION (ISLR), 1999, Beijing. Proceedings Beijing: China Coal Industry Publishing House, 1999. p. 317-325.
- DINARDI, A.L.; FORMAGI, V.M.; CONEGLIAN, C.M.R.; BRITO, N.N.; SOBRINHO, G.D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. 2003 Fitorremediação. Em <<http://www.ceset.unicamp.br/lte/Artigos/3fec2407.pdf>> Acesso em Setembro de 2005.
- DOMASK, W. G. Introduction to petroleum hydrocarbons: chemical and composition in relation to petroleum-derived fuels and solvents. In: MacFARLAN, H. N.; HOLDSWORTH, C. E. (Eds.). *Advances in modern environmental toxicology*. Princeton, N.J.: Princeton Scientific, 1984. v. 6.
- DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. *Compendium of soil fungi*. Vol I, Academic Press, London , UK . 1980. 860 p.

- DUSHENKOV, S., D. VASUDEV, Y.KAPULNIK, D.GLEBA, D.FLEISCHER, K.C TING, B.ENSLEY. Removal of Uranium from Water Using Terrestrial Plants. *Environ Sci Technol*. 31(12):3468-3474, 1997.
- DUSHENKOV, V.; KUMAR, P.B.; MOTTO, A.H.; RASKIN, I. (1995). Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ Sci Technol* 29:1239-1245.
- ENTRY, J.A., WATRUD, L.S., MANASSE, R.S. & VANCE, N.C. Phytoremediation and reclamation of soils contaminated with radionuclides. In: Kruger EL, Anderson TA, Coats JR [eds] *Phytoremediation of soil and water contaminants*, vol. 664 American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 299-306. 1997.
- European Oil Companies Organization for Environmental and Health Protection. (CONCAWE). *Environmental classification of petroleum substances: summary data and rationale*. Brussels, 2001. Report n. 01/54.
- EWEIS, J.B.; ERGAS, S.J.; CHANG, D.P.Y.; SCHROEDER, E.D. (1998) *Bioremediation Principles*. p. 296.
- FERRO, A.M., ROCK, J.; Kennedy, J.J. Herrick, and D.L Turner (1999). Phytoremediation of soils contaminated with wood preservatives: greenhouse and field evaluations. *Int. J. Phytoremed*. 1(3):289-306.
- FRANKENBERGER, W. T. The need for laboratory feasibility study in bioremediation of petroleum hydrocarbons. In: CALABRESE, E.; KOSTECKI, P. (Eds.). *Hydrocarbon contaminated soils and groundwater*. Chelsea, MI: Lewis Publishers, 1992. v. 2, p. 237-293.
- FREEMAM, H.M. e HARRIS, E.F. *Hazardous waste remediation: innovative treatment technologies*. Lancaster: Technomic, 1995.
- FRICK, C.M.; FARREL, R.E.; GERMIDA, J.J. Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites. *University of Saskatchewan (Department of Soil Science)-Canada*, 1999.
- GATLIFF, E.G. Vegetative Remediation Process Offers Advantages over Traditional Pump-and-Treat Technologies. *Remed. Summer*. 4(3):343-352, 1994.
- GILL, L.S.; NYAWUAME, H.G.K. Effect of crude oil on the growth and anatomical features of *Chromolaena odorata* (L.) K. & R. Em <<http://www.ehs.cdu.edu.au/chromolaena/pubs/oil.html>> Acesso em 03 de maio de 2006.
- GLASS, D.1988. The United States Market for Phytoremediation. D. Glass Associates, Inc. Needham, MA, 1998.
- GÓES, R. C. S. Toxicologia industrial: um guia prático para prevenção e primeiros socorros. Rio de Janeiro, Revinter, 1997.
- GOMES, N.C.M.; HEUER, H.; SCHONFELD, J.; COSTA, R.; MENDONÇA-HAGLER, L.; SMALLA, K. Bacterial diversity of the rhizosphere of maize (*Zea Mays*) grow in tropical soil studied by temperature gradient gel electrophoresis. *Plant and Soil*, v. 232, 167-180, 2001.

- GRUBB, D.G. – “Review Technologies for Management of NAPL Contaminant Sites” – Simpósio Brasileiro de Geotecnia Ambiental – SIGA/98, setembro, 1998. (1998)
- HERNANDEZ-VAENCIA, I.; MAGER, D. Uso de *Panicum maximum* Y *Brachiária brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. *Biagro*, n.15, v. 3, p. 149-155, 2003.
- HERNANDEZ-VALENCIA, I.; MAGER, D. Uso de *Panicum maximum* Y *Brachiária brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. *Biagro*, n.15, v. 3, p. 149-155, 2003.
- HINCHMAN, R.R.; NEGRI, M.C. & GATLIFF, E.G. Phytoremediation: using green plants to clean up contaminated soil, groundwater, and wastewater. Illinois, Report of Argonne National Laboratory and Applied Natural Sciences, 1998. 13p. 1998
- HUANG, X-D.; EL-ALAWI, Y.; GURSKA, J.; GLICK, B.R.; GREENBERG, B.M. (2005) A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (HTPs) from soils. *Microchemical Journal* 81(2005) 139-147.
- HUTCHINSON, S.L.; SCHWAB, A.P. and BANKS, M.K. (2003). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. In: MCCUTCHEON, S.C. & SCHONOR, J.L. (2003). *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*. John Wiley & Sons (Eds.). New Jersey, p. 987p
- HYNES, R.K.; FARRELL, R. E.; GERMIDA, J. 2004. Plant-Assisted Degradation of Phenanthrene as Assessed by solid-phase microextraction (SPME). In: *International Journal of Phytoremediation*, 6(3): 253-268.
- IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. *Occupational exposures in petroleum refining: crude oil and major petroleum fuels*. Lyon, 1989. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.
- JIPSON, E.1996. Chevron grows new remediation technology: Alfafa and Poplars. *Envirobiz News and Press Release Archive*.
- KAUTSKY, L & GREGER, M. (2003) Influence of temperature and salinity on heavy metal uptake by submersed plants. *Environmental Pollution* (corrected proof, in press).
- KRIIPSALU, M., MARQUES, M. HOGLAND, W. 2006a. Remediation of an oil pond: Case study at Laguja landfill, Estonia. *Waste Management and Research*, 23:541-549.
- KRIIPSALU, M., MARQUES, M., HOGLAND, W. 2006b. Fate of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons during Aerobic Bio-treatment of Oily Sludge. *Submitted*.
- KRIIPSALU, M., MARQUES, M., NAMMARI, D.R., HOGLAND, W. 2006c. Biotreatment of oily sludge - amendments contribution to the content of target contaminants and biodegradation dynamics. *Submitted*.
- KUMAR, P.B.; DUSHENKOV, V; MOTTO, H.; RASKIN, I. (1995) Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from the soils. *Environ Sci Technol* 29:1232-1238.
- LABUNSKA, I; STRINER, R. & BRIGDEN, K. Poluição por metais e compostos orgânicos associada à unidade da Bayer em Belford Roxo, Rio de Janeiro, Brasil. 2000.

- LEPSCH, I.F. Formação e Conservação dos Solos. São Paulo: Oficina dos Textos, 2002.
- LIMA, C. A. *Quantidade do Decréscimo de Risco Associado a Biorremediação de um solo contaminado por Hidrocarboneto de Petróleo* (2004). Dissertação (Mestrado) em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 109 p.
- LOPES, B. C.; BARBOSA, M. V. D.; AGUIAR, C. R. C.; MARQUES, M. G. Efeitos morfológicos e anatômicos sofridos por plantas empregadas em fitorremediação. Trabalho apresentado no Encontro Nacional de Biólogos do ano de 2006.
- MANNING, J.; Boopathy, R.; Kulpa, C.F. 1995. A laboratory study in support of the pilot demonstration of a biological soil slurry reactor. Report no. SFIM-AEC- TS-CR- 94038. US ARMY Environmental Center, Aberdeen Proving Ground, MD.
- MARKOVINA A.; PITT, J.I.; HOCKING, A.D.; CARTER, D.A.; MCGEE, P.A. Diversity of the Trichocomaceae in the Katandra Nature Reserve, Central Coast, NSW, Australia. *Mycol. Res.*, v. 109, p. 964-973, 2005.
- MARQUES, M. *Biorremediação e Fitorremediação de solos contaminados com Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (PAHs)*. Projeto aprovado pelo Edital Universal CNPq No 019/2004, Processo No 473198/2004-5 no âmbito do Programa de Ciência e Tecnologia do Petróleo CTPETRO. 2004.
- MARQUES, M. Phytoremediation. In: Proceedings of Kalmar Eco-Tech'05: Waste to Energy, Bioremediation and Leachate Treatment Nov 28-30, 2005. Vol 1. p.19-26
- MARQUES, M. ROSA, G.S., AGUIAR, C.C.R. 2006. Plants with potential for phytoremediation of oil-contaminated soil based on germination and biomass growth. Proceedings of the 4th NATO/CCMS Workshop on Management of Industrial Toxic Waste.8p.
- MARQUES, M., HOGLAND, W., KRIIPSALU, M., ROSA, G.S., AGUIAR, C.R.C. CORREA, S.M. 2006. Bioremediation of Oil-contaminated Sediments and Screening Procedure to Select Plant Species for Phytoremediation of Oil-contaminated Soils. In: Simpósio Internacional de Tecnologias e Tratamento de Resíduos Sólidos; Rio de Janeiro, RJ. 8p. CD Rom.
- MARQUES, M., ROSA, G.S., AGUIAR, C.C. 2006. Plants with potential for phytoremediation of oil-contaminated soil based on germination and biomass growth. In: Proceedings of the 4th NATO/CCMS Workshop on Management of Industrial Toxic Waste, Ioannina, Greece.
- McCUTCHEON, S.C. & SCHONOR, J.L. (2003). *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*. John Wiley & Sons (Eds.). New Jersey, p. 987p
- McGRATH, S.P. Phytoextraction for soil remediation. In: Brooks, R.R (Ed), *Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals*, CAB International, Wallingford, p.261 (1998)
- MERKL, N., SCHULTZE-KRAFT, R., INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Water Air Soil Pollut.*, v. 165, Impresso, 2004a

- MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics – The effect of Crude Oil on the Growth of Tropical Plants. *Bioremediation Journal*, v.8, p.177-184, 2004b
- MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, (2005) 165:195-209.
- MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; ARIAS, M. Effect of the tropical grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf on microbial population and activity in petroleum-contaminated soil. In: *Microbiological Research* 161 (2006) 80-91.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford, Clarendon press. 724 p.
- MILNE, B.J., BAHARI, H.R. & HILL, G.A. Composting of heavy oil refinery sludge. *Environmental Progress* 17: 24-27. 1998.
- MORIKAWA, H. & ERKIN, Ö.C. (2003) Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control. *Chemosphere*, V 52(9):1553-1558. FRITIOFF, Å.
- NEDUNURI, K., R.S. GOVINDARAJU, M.K. BANKS, A.P. SCHWAB, and Z. CHEN (2000). Evaluation of phytoremediation for field-scale degradation of total petroleum hydrocarbons. *J. Environ. Eng.* 126: 483-490.
- NELSON, S. Use of Trees for Hydraulic Control of Groundwater Plumes. In W.W. KOVALICK, R. OLEXSEY (eds.), *Workshop on Phytoremediation of Organic Wastes*, December 17-19, Ft. Worth, TX. A EPA unpublished meeting summary (<http://www.rtdf.org>), 1996.
- NOBRE, M.M. e NOBRE, R.C.M. *Revista Química e Derivados*, Edição nº 417- jul/2003. Disponível em: <<http://www.quimica.com.br/indice.htm>>. Acesso em: Janeiro de 2006.
- NYER, E.K. & GATLIFF, E.G. Phytoremediation. *Ground. Mon. Remed.*, 16:58-62, 1996.
- Organización Panamericana de La Salud (OPS). *Hidrocarburos aromáticos y salud: el estado del arte*. IN: MENDES, R. *Salud ocupacional en la industria del petróleo*. Bogotá, 1996.
- OUDENHOVEN, J.A.C.M.V 1995 Oil refinery waste disposal methods, quantities and costs 1993 survey. 1/95, Concave Task Force WQ/STF-25, Brussels. RAMZI.
- OU DOT, J.; MERLIN, F.X.; PINVIDIC, P. Weathering rates of oil components in a bioremediation experiment in estuarine sediments. *Marine Environ. Res.*, v. 45, n. 2, p. 113-125, 1998
- PARRISH, Z.D.; WHITE, J.C.; ISLEYEN, M.; GENT, P.N.M. IANNUCCI-BERGER, W.; EITZER, B.D.; KELSEY, J.W.; MATTINA, M.I. Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species. *Chemosphere* (2005).
- PEDROZO, M.F.M.; BARBOSA, E.M.; CORSEUIL, H.X.; SCHNEIDER, M.R.; LINHARES, M.M. *Ecotoxicologia e avaliação de risco do petróleo*. Salvador: Centro de Recursos Ambientais. Série Cadernos de Referência Ambiental, v. 12, 2002, 246p.

- PENNER, G.C. (2000). Estudos Laboratoriais da Contaminação do Solo por Gasolina com o Uso de Detetor de Fotoionização. São Carlos, 2000. 109p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- PEREIRA, B.F.F. Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em latossolo vermelho contaminado com chumbo. (2005). Campinas: Instituto Agrônomo, SP.
- PEREIRA, L.T.C.P.; LEMOS, J.L.S. Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por *Aspergillus niger* e *Penicillium corylophilum*. Em: [http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie\\_anais\\_XII\\_jic\\_2004/22Artigo%20JIC%202004%20Lucas%20Tupi%20e%20Judith%20Liliana.pdf](http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie_anais_XII_jic_2004/22Artigo%20JIC%202004%20Lucas%20Tupi%20e%20Judith%20Liliana.pdf) Acesso em 4 de maio de 2006.
- PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO. Assessoria de Saúde Ocupacional do Serviço de Recursos Humanos. *Exposições ocupacionais a agentes potencialmente perigosos na indústria do petróleo*. Rio de Janeiro: PETROBRAS/ SEREC/ASSAO, 1994. (Tema de saúde ocupacional, n. 25/94).
- Petróleo Brasileiro. PETROBRAS (2005). Disponível em: <http://www.cepetro.com.br>. Acesso em: Agosto de 2005.
- PEZESHKI, S. R.; HESTER, W.; LIN, Q.; NYMAN, J. A. The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review. *Environ. Poll.*, v. 108, p. 129-139, 2000.
- PIERZYNSKI, G.M., J.L. SCHNOOR, M.K. BANKS, J.C. TRACY, L.A. LICHT, L.E. ERCKSON. Vegetative Remediation at Superfund Sites. Mining and its Environ. Impact (Royal Soc. Chem. Issues in *Environ. Sci. Technol. I*).pp. 49-69, 1994.
- PITTER, P and CHUDOBA, J. (1990). Biodegradability of Organic Substances in the Aquatic Environment. CRC Press, Boca Raton, FL.
- PIVETZ, B., R. COCHRAN, S. HULING. Abstract: Phytoremediation of PCP and PAH-Contaminated Soil. Poster 54. In 12<sup>th</sup> Annual Conference on Hazardous Waste Research-Abstracts Book, May 19-22, Kansas City, MO, 2001.
- PLUMMER, C.1997. Interest increases in using plants for environmental remediation. In: Industrial uses of agricultural materials. Situation & Outlook Report. *Econ. Res. Serv.*, U.S. Department of Agriculture.
- PONS, A.M.A.; OLIVEIRA, I.V.; ROSA, L.S.; COSTA, M.A.G.; CRUZ, A.S. Derramamentos de petróleo e conseqüências para o meio ambiente. Disponível em: <[http://www.arvore.com.br/artigos/htm\\_2003/ar1407\\_1.htm](http://www.arvore.com.br/artigos/htm_2003/ar1407_1.htm)>. Acesso em Agosto de 2006.
- PRICE, R.C. e SAMBASIVAM (1993). Bioremediation of petroleum wastes from the microbial degradation of recalcitrant compounds. *Journal of Industrial Microbiology*, 12, p. 379-395.
- RASKIN, I., P.B.A. NANDA KUMAR, S. DUSHENKOV, M.J. BLAYLOCK, D.SALT. Abstract: Phytoremediation- Using Plants to Clean up Soils and Waters Contaminated with Toxic Metals. Emerging Technologies in Hazardous Wastes Management VI, ACS Industrial & Engineering Chemistry Division Special Symposium, Volume I, September 19-21, Atlanta, GA, 1994.

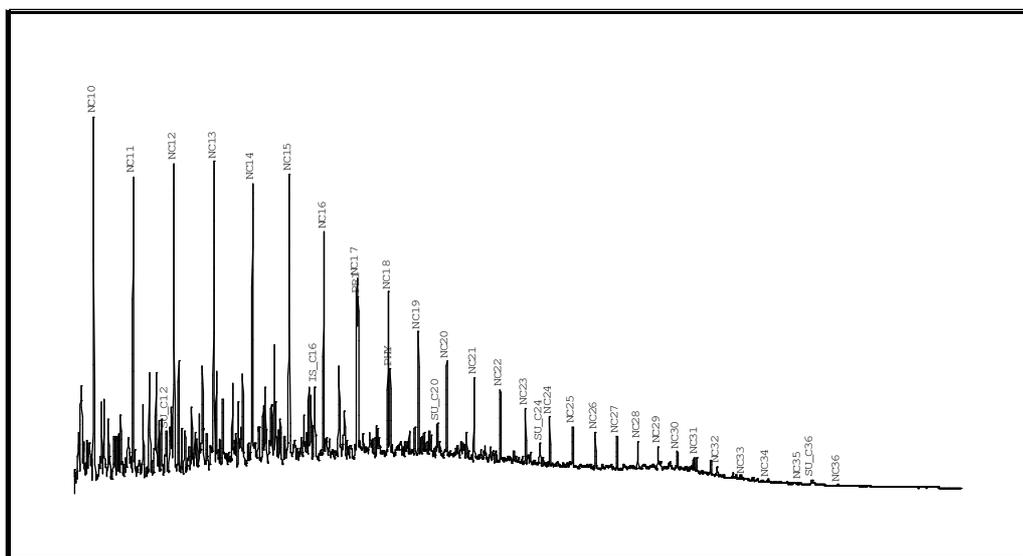
- REID, B.J.; JONES, K.C.; SEMPLE, K.T.; Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments: a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environ. Pollut.*, v.108, p. 103-112, 2000.
- REILLEY, K.A., BANKS, M.K. & SCHWAB, A.P. Organic chemicals in the environment: dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J Environ Qual.* 25:212-219. 1996.
- RICHMAN, 1997; Terrestrial plants tested for cleanup of radionuclides, explosives, residue. *Water Envir. And Techn.* 8(5): 17-18.
- RISER-ROBERTS, E. Remediation of petroleum contaminated soils. Lewis Publishers, Boca Raton, London, New York, Washington D.C., 542 p. 1998b.
- RISER-ROBERTS, E. Remediation of petroleum contaminated soils: Biological, Physical and Chemical Processes. Lewis Publishers. 1998a.
- ROCK, S.A. Field Evaluations of Phytotechnologies. In: MCCUTCHEON, S.C. & SCHONOR, J.L. (2003). Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants. John Wiley & Sons (Eds.). New Jersey, p. 987p;
- ROMEIRO, S.; LAGÔA, A.M.M.A.; FURLANI, P.R.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; PEREIRA, F.F. Fitorremediação: Avaliação do potencial de *Ricinus communis* L.(mamona) e de *Helianthus annuus* L. (girassol) na fitoextração de chumbo. Campinas, Tese de Mestrado, IAC, 2005.
- ROSA, G.S. (2006). Avaliação do potencial de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por petróleo – Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia/ Centro de Tecnologia e Ciências/UERJ, RJ.
- ROSATO, Y. B. Biodegradação do petróleo. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. Microbiologia ambiental. Jaguariúna: EMBRAPA/CNPMA, 1997. p. 308-334.
- SÁ, M.C.C. (2002). *Tratamento biológico de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo* – Tese de Mestrado, Escola de Química/UFRJ, RJ.
- SADOWSKY, M.J. Phytoremediation: Past promises and future practices. Plant-Microbe Interactions Microbial Biosystems: New Frontiers. In: Bell CR, Brylinsky M, Johnson-Green P (eds). Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada, 1999.
- SALT, D.E.; BLAYLOCK, M.; Kumar, N.P.; DUSHENKOV, V.; ENSLEY, B.D.; CHET, I.; RASKIN, I. (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio/Technol.* 13:468-474.
- SCHNOOR, J.L., L.A. LICHT, S.C. MCCUTCHEON, N.L. WOLFE, L.H. CARREIRA. Phytoremediation of Organic and Nutrient Contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 29:318-323A, 1995.
- SEMPLE, K.T.; REID, B.J.; FERMOR, T.R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution*, 112, p. 269-283.
- SINGH, A e WARD, O.P. (Eds) 2004. Biodegradation and Bioremediation. Springer, p. 308.

- SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. *Biotecnologia do Solo: Fundamentos e Perspectivas*. Brasília: MEC Ministério da Educação, ABEAS; Lavras, ESAL, FAEPE, 1988.
- SMITH, B.; STACHOWISK, M.; VOLKENBURGH, E. Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic root stress. *J. Exptl. Bot.*, v. 40, p. 89-94, 1989.
- STRASBURGUER, E. 1924. *Handbook of practical botany*. London, George Allen e Nonviirn, Ltd. 533 p.
- TRINDADE, P.V.O. (2002). *Avaliação das técnicas de bioaumentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarboneto de petróleo – Tese de Mestrado*, Escola de Química/UFRJ, RJ.
- TRUDGILL, P.W. (1984): Microbial Degradation of the Alicyclic Ring: Structural Relationships and Metabolic Pathways”, in Gibson, D.T., (ed), *Microbial Degradation of Organic Compounds*, Marcel Dekker, New York, pp. 131-180.
- Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Departamento de Engenharia de Petróleo. *O Petróleo*. Campinas, 2001. Disponível em: <http://www.dep.fem.unicamp.br/>. Acesso em: Maio de 2006.
- URURAHY, A.F.P. (1998). *Biodegradação de resíduo oleoso proveniente de refinaria de petróleo – Tese de Doutorado*, Escola de Química/ UFRJ, RJ.
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (1995). *Solid Waste and Emergency Response. How to evaluate alternative cleanup technologies for underground storage tank sites*. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, 1995.
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (1996). *Guía del Ciudadano: Medidas Fitocorrectivas*. Office of Solid Waste and Emergency Response. United States Environmental Protection Agency. Washingtons D.C.
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (1997). *Office of Underground Storage Tanks, Expedited Site Assessment Tools for USTs: A Guide for Regulators*, EPA-510-B97-001, March 1997.
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (1999a). *Technical & Professional Training. Training in the performance, use and application of ASTM standard: RBCA fate and transport models: compendium and selection guidance*. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, 1999a. 104 p.
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (2000). *Introduction to Phytoremediation*. Cincinnati- Ohio, (EPA/600/R-99/107). Disponível em: <<http://www.clu-in.org/download/remed/introphyto.pdf>>. Acesso em: Novembro de 2005.
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (2001). *Tecnology Innovation Office. Treatment technologies screening matrix and reference guide: version 4.0*. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, 2001. <<http://www.frtr.gov/matrix2/section2/2-7-1.html>>. Acesso em: Março de 2006.
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (2004). *EPA Region 9 Preliminary Remediation Goals (PRG's) - San Francisco, CA 2004* Disponível em <http://www.epa.gov/region09/waste/sfund/prg/index.htm>.

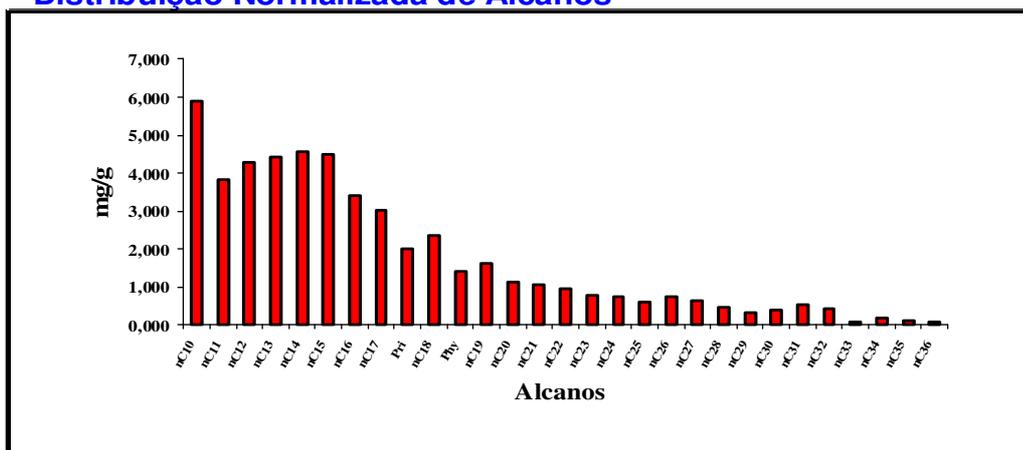
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. METHOD 5021A - Volatile organic compounds in various sample matrices using equilibrium headspace analysis
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. METHOD 8015B - Nonhalogenated Organics Using Gc/Fid
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. METHOD 8021B - Aromatic and halogenated volatiles by gas chromatography using photoionization and/or electrolytic conductivity detectors
- USEPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. METHOD 8270D - Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (Gc/Ms)
- USP – Universidade do Estado de São Paulo (2006). Disponível em: <<http://educar.sc.usp.br/licenciatura/2003/ee/PoluentesAtmosfericos.htm>> Acesso em: Julho de 2006.
- VARGAS, M. (1977). *Introdução à mecânica dos solos*. São Paulo. EDUSP.
- VASUDEVAM, N. e RAJARAM, P. (2001). Biorremediation of oil sludge contaminated soil. *Environmental International*, 26, p. 409-411.
- WATANABE, T. 2002. Pictorial Atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species. Boca Raton : CRC PRESS. p. 486.
- WHITE, JR, P.M. WOLF, D.C., THOMA, G.J.; REYNOLDS, C.M. (2005). Phytoremediation of Alkylated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in a Crude oil-Contaminated Soil. In: Water, Air, and Soil Pollution (2006) 169: 207-220.
- WONG, M.H. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. (2003) *Chemosphere*, V50 (6): 775-780,
- World Health Organization (WHO). International Programme on Chemical Safety – IPCS. *Selected petroleum products*. Geneva, 1982 (Environmental Health Criteria, v. 20).
- XU, J.G.; JONNISON, R.L. Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea. *Plant Soil*, v. 173, p. 3-1, 1995.

# 11 Anexos

As figuras 28, 29, 30 e 31 apresentam ilustração dos cromatogramas.

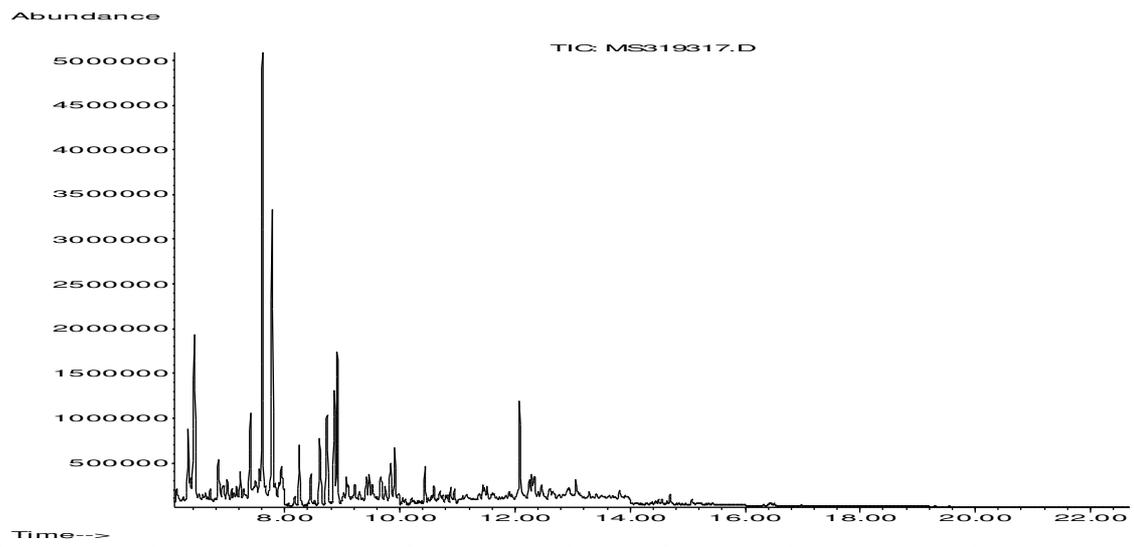


## Distribuição Normalizada de Alcanos

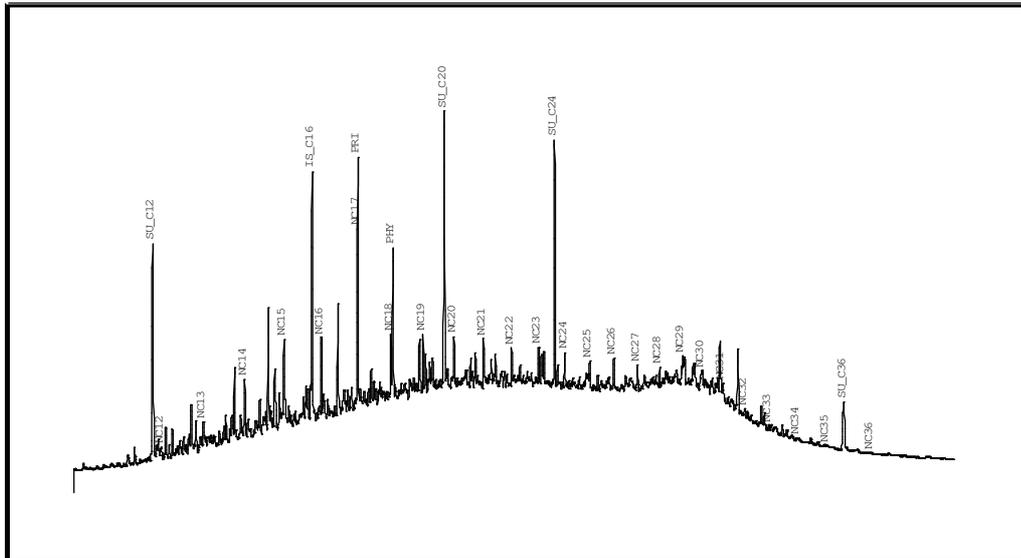


Quantidades (mg/g)	
<b>n-Alcanos:</b>	47,255
<b>HRP</b>	145,518
<b>UCM</b>	423,974
<b>HTP</b>	569,493

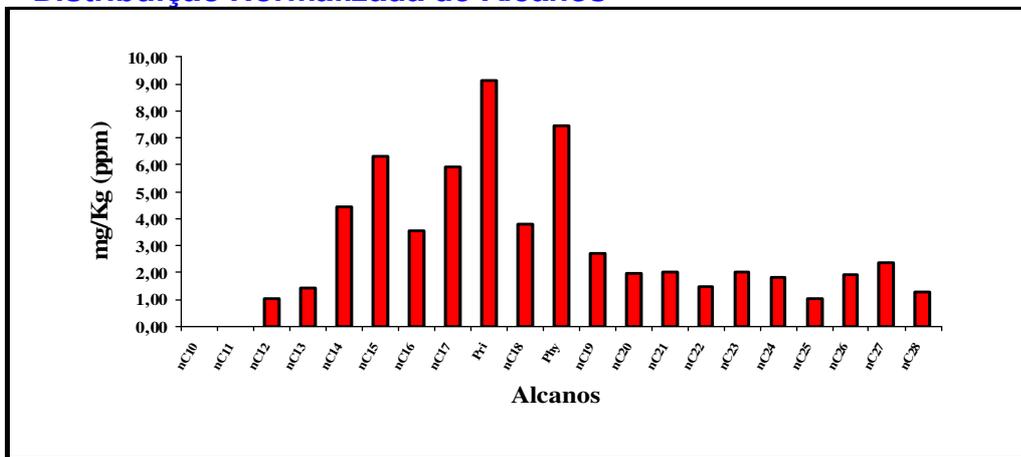
Figura 28 – Cromatograma de TPH Finger Print do petróleo da Bacia de Campos utilizado.



**Figura 29** - Cromatograma de HPAs do petróleo da Bacia de Campos utilizado.

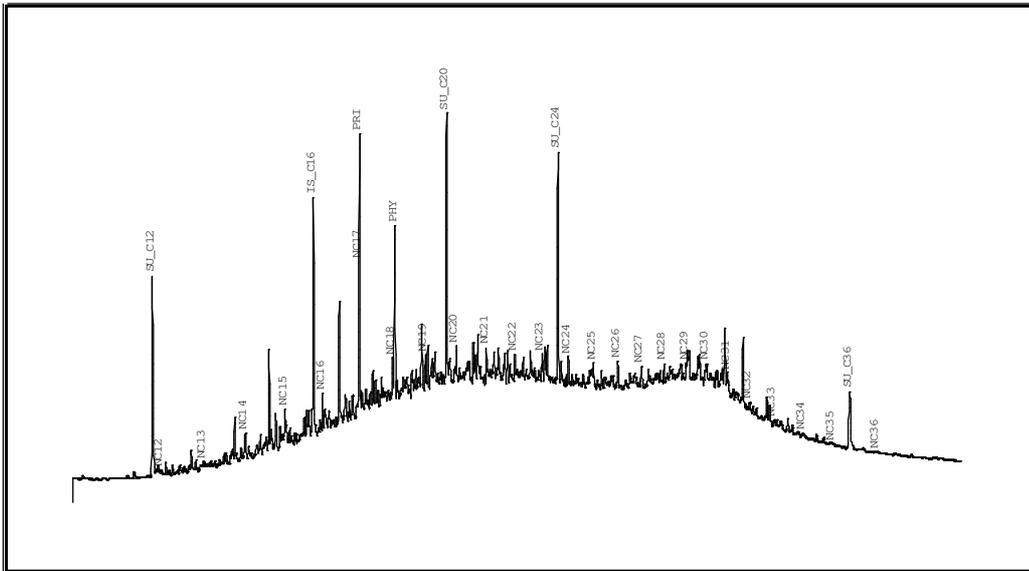


**Distribuição Normalizada de Alcanos**

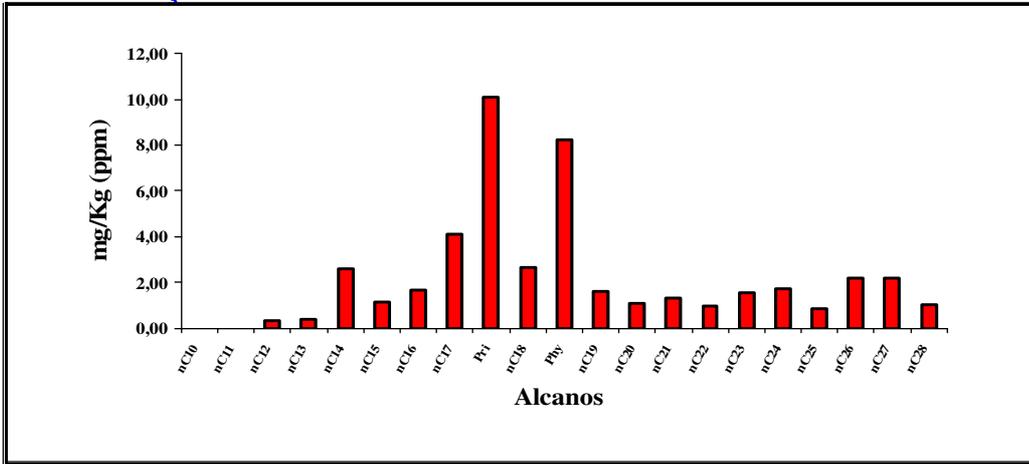


Quantidades (mg/Kg, ppm)	
<i>n</i> -Alcanos:	55,42
HRP	330,46
UCM	4138,75
HTP	4469,21

**Figura 30** – Cromatograma de TPH Finger Print da fitorremediação com soja.



**Distribuição Normalizada de Alcanos**



<b>Quantidades (mg/Kg, ppm)</b>	
<b>n-Alcanos:</b>	36,04
<b>HRP</b>	313,54
<b>UCM</b>	4665,35
<b>HTP</b>	4978,89

**Figura 31** – Cromatograma de TPH Finger Print da atenuação natural.