COPPE/UFRJ

POTENCIAL DA ACACIA HOLOCERICEA E DA MIMOSA CAESALPINIIFOLIA EM FITORREMEDIAR SOLO TROPICAL CONTAMINADO COM HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Alcíone Chagas Ribeiro

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil.

Orientador(es): Márcio de Souza Soares de Almeida
Eduardo Francia Carneiro Campello

Rio de Janeiro
Janeiro de 2009

POTENCIAL DA ACACIA HOLOCERICEA E DA MIMOSA CAESALPINIIFOLIA EM FITORREMEDIAR SOLO TROPICAL CONTAMINADO COM HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Alcíone Chagas Ribeiro

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA CIVIL.

Aprovada por:

_____

Prof. Márcio de Souza Soares de Almeida, PhD.

_____

Dr. Fernando Jorge Santos de Oliveira, DSc.

_____

Profª Eliana Flavia Camporese Servulo, DSc.

_____

Prof. Francisco José Casanova de Oliveira e Castro, DSc.

_____

Prof. Mauricio Ehrlich; DSc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

JANEIRO DE 2009

Ribeiro, Alcíone Chagas

Potencial da *acacia holocericea* e da *mimosa caesalpiniifolia* em fitorremediar solo tropical contaminado com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos/ Alcíone Chagas Ribeiro. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2009.

XI, 200 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Márcio de Souza Soares de Almeida
Eduardo Francia Carneiro Campello

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Civil, 2009.

Referencias Bibliográficas: p. 139-154.

1. Fitorremediação. 2. Área Contaminada. 3. Contaminação de solos. I. Almeida, Márcio de Souza Soares de *et al* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Civil. III. Titulo.

A minha MÃE

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus e ao Fé, amigo espiritual, pela força para terminar esse trabalho.

À minha mãe por estar sempre ao meu lado e me segurando no colo.

À Profª Eliana Flávia Camporese por toda a orientação, apoio, força e exemplo de docente de Pós-Graduação.

Ao Prof. Márcio Almeida pela paciência, incentivo, confiança e apoio para a realização da tese.

Ao meu gerente da Petrobras INTER-CORP/SMS Luiz Alberto de Melo Igrejas pelo total apoio para concretizar esta etapa de minha vida.

Aos meus colegas da Inter-Corp/SMS

À Diretoria de Abastecimento da Petrobras por acreditar em meu Projeto e ter viabilizado através do CENPES a realização desta Pesquisa.

Aos Gerentes Executivo e Geral do CENPES, CarlosTadeu da Costa Fraga e Ricardo Castello Branco pela viabilização do suporte financeiro do meu Projeto de Tese.

À maravilhosa Rosa Mosqueta e aos jardineiros do Cenpes.

À Rosana Cardoso pela orientação carinhosa e descomprometida nos temas de química orgânica.

Ao Fernando Jorge Santos de Oliveira e a Profª Adriana Hadad da PUC-RJ pelo apoio na verificação e exigência na qualidade da geração dos resultados das análises orgânicas pelo laboratório Bioagri Ambiental.

Um agradecimento especial à Gina Vasques, Paulo Negrais, Adriana Ururahy e Antônia Volpon por testarem a minha fé, estimularem a minha força de vontade e testarem a minha auto-estima nesta minha caminhada acadêmica.

À UFRJ/COPPE/PEC/GEOTECNIA (Família da Geotecnia), meus amigos do coração, sempre disponíveis a ajudar e que eu sentirei saudade eterna! (Alice, Carlos Alberto Rocha (Rochinha), Eduardo Nazareth Paiva - Dudu, Elisabeth - Beth, Hélcio Gonçalves de Souza, Luis Carlos de Oliveira (Carlinhos), Maiara Neto Lacerda, Marcos Pereira Antunes - Bororó, Maria da Glória Marcondes Rodrigues, Mauro Dias de Souza, Max Gomes de Souza - Tuninho, Sérgio Iorio (Serginho), Thelmo Fernandes.

Ao Laboratório Bioagri Ambiental, Leonardo A.Valentin, Nádia, Marcos Ceccato, Elton e Viviane pela atenção de pronto e pela dedicação e competência.

À EMBRAPA – AGROBIOLGIA, à Drª. Janaina Ribeiro Costa – Pesquisadora - Estatística Experimental pelo planejamento do experimento e análise estatística e ao Laboratório de Leguminosa em especial aos técnicos Telmo Félix da Silva e Carlos Fernando da Cunha pelo suporte técnico e ótimas idéias!

As amigas Vera Lúcia G. de Oliveira, Mônica Aparecida, Neuza Planinschek, pelo incentivo durante o período da defesa desse trabalho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para execução desse trabalho.

Aos membros da banca pelo debate e sugestões durante a defesa da tese e que enriqueceram o meu trabalho.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (DSc.).

POTENCIAL DA ACACIA HOLOCERICEA E DA MIMOSA CAESALPINIIFOLIA EM FITORREMEDIAR SOLO TROPICAL CONTAMINADO COM HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Alcíone Chagas Ribeiro

Janeiro/2009

Orientadores: Márcio de Souza Soares de Almeida
Eduardo Francia Carneiro Campello

Programa: Engenharia Civil

Fitorremediação é uma técnica que emprega microrganismos aeróbicos associados à vegetação capazes de degradar compostos complexos em outros mais simples. No Brasil, por suas características climáticas, os estudos para a identificação de espécies tolerantes aos diversos contaminantes no solo é crescente uma vez que, através destas espécies, é possível aplicar, de forma mais efetiva, a técnica da fitorremediação na recuperação de áreas contaminadas. O objetivo desta tese é avaliar o potencial de duas arbóreas em fitorremediar solo contaminado com óleo rico em HPAs. A pesquisa foi realizada em duas etapas. A primeira etapa avaliou o desempenho da *Acacia holocericea* (A) e *Mimosa caesalpiniifolia (M)*, e os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação plantando as duas espécies em solo contaminado com 4 concentrações (2, 4, 6 e 9%) do contaminante utilizado, óleo – LCO. O planejamento experimental foi feito para 1x1x2x4 (solo, óleo, espécies e óleo) com 3 repetições e duas estações de coleta (0 e 321 dias). A segunda etapa avaliou a tolerância da espécie (M) frente a duas variáveis, pH e fertilizante. O planejamento experimental utilizou fatorial 3x2 na parcela em que foram avaliados 3 níveis de pH (4,5; 5,5 e 6,5) e 2 níveis de fertilizante (com e sem o fertilizante: Termofosfato Yorrin + Cloreto de Potássio). Nas subparcelas foram avaliadas 2 épocas de coletas de dados (0 e 180 dias). Na primeira etapa observou-se que *(M)* se destacou como a espécie mais tolerante ao contaminante utilizado, na concentração de 6%, nas condições estabelecidas, Na segunda etapa observou-se que os tratamentos com a adição de fertilizante associados ao ajuste de pH do solo, se mostraram mais efetivos na remediação de HPAs do que os tratamentos sem a adição de fertilizante.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

ACACIA HOLOCERICEA AND MIMOSA CAESALPINIIFOLIA POTENCIAL TO PHYTOREMEDIATE TROPICAL SOIL CONTAMINATED WITH AROMATIC POLICYCLICS HYDROCARBONS

Alcíone Chagas Ribeiro

Janeiro/2009

Advisors: Márcio de Souza Soares de Almeida
Eduardo Francia Carneiro Campello

Department: Civil Engineering

Phytoremediation is a technical method used in the degradation of complex compounds in simpler ones by using aerobic microorganisms associated with vegetation. Studies to identify tolerant species for various soil contaminants in order to restore contaminated areas by phytoremediation have been increasing in Brazil, mainly because of its good climate condition. The main purpose of this work is to evaluate the potentiality of two species of trees in the phytoremediation of lands contaminated with oil rich in aromatic polycyclic hydrocarbons (**L**ight **C**ycle **O**il – LCO). The experiments were conducted in a greenhouse, where two species (*Acacia holocericea* "A" and *Mimosa caesalpiniifolia* "M') were planted. The research was conducted in two stages. The first stage evaluated the tolerance of the two species to four concentrations (2, 4, 6 and 9%) of LCO. The experimental design was done in a factorial of 1x1x2x4 (soil, oil, tree species and oil concentration) with three replicates and two stages of collection (0 and 321 days). The second stage evaluated the M species' tolerance to pH and fertilizer. The experimental design was done in a 3x2 factorial trial in the plot. Three levels of pH (4,5; 5,5 and 6,5) and two levels of fertilizer (with and without the fertilizer Termofosfato Yorrin + Potassium Chloride) were evaluated in the plot. Subplots were evaluated in two phases of data collection (0 and 180 days). In the first phase, the "M" species stood out as the most tolerant species to a LCO concentration of 6% in the established conditions. The second phase showed that the treatments with the addition of fertilizers and pH adjustment were more effective in the process of phytoremediation of LCO than the treatments without fertilizers.

ÍNDICE

Folha de Rosto
Ficha Catalográfica iii
Dedicatória iv
Agradecimentos v
Resumo vi
Abstract vii
Índice viii
Capítulo 1: INTRODUÇÃO 1
1.1. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO 1
1.2. RELEVÂNCIA 3
1.3. OBJETIVOS DA PESQUISA 4
1.3.1. Objetivos Gerais 4
1.3.2. Objetivos Específicos 4
1.4. DESCRIÇÃO DOS CAPÍTULOS 5
Capítulo 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 6
2.1. ÓLEO LEVE DE RECICLO E OS HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS 6
2.2. REMEDIAÇÃO DE SOLOS 10
2.3. DEGRADAÇÃO DOS HPA'S NO SOLO 12
2.4. FITORREMEDIAÇÃO 13
2.4.1. Métodos de Aplicação da Fitorremediação 16
2.4.2. Processos de Fitorremediação 17
2.4.2.1. Fitovolatilização 18
2.4.2.2. Fitodegradação 19
2.4.2.3. Fitoextração 19
2.4.2.4. Rizofiltração 21
2.4.2.5. Rizodegradação 21
2.4.2.6. Fitoestabilização 21
2.4.3. Seleção das Espécies 22
2.5. FITORREMEDIAÇÃO: INTERAÇÃO SOLO-PLANTA-MICRORGANISMO 26
2.5.1 - Propriedades do Solo: Influência no Destino e Transporte de Contaminantes 28
2.5.1.1. Densidade 28

2.5.1.2. Agregação do solo 29
2.5.1.3. Matéria orgânica 30
2.5.1.4. Conteúdo de água 32
2.5.1.5. Disponibilidade de oxigênio 33
2.5.1.6. Microrganismos do solo 33
2.5.2. Os Processos de Transporte e Destino dos Contaminantes 38
2.5.2.1. Advecção 39
2.5.2.2. Dispersão 40
2.5.2.3. Sorção 42
2.5.2.4. Dissolução e Hidrólise 43
2.6. VANTAGENS E LIMITAÇÕES 45
2.7. CUSTOS 47
2.8. LEGISLAÇÃO 47
Capítulo 3: MATERIAIS E MÉTODOS 51
3.1. INTRODUÇÃO 51
3.2. SOLO 55
3.2.1 Coletas 58
3.2.1.1. Coleta do solo para implantação dos experimentos 58
3.2.1.2. Coleta do solo na desmobilização dos experimentos 59
3.2.2.. Análises: Físicas 60
3.2.2.1. Composição Granulométrica 60
3.2.2.2. Densidade real dos grãos e Diâmetro médio das partículas 61
3.2.2.3. Limites de Atterberg 61
3.2.2.4. Capacidade de Campo 61
3.2.3. Análises: Químicas 62
3.2.3.1. pH 62
3.2.3.2. Cátions Trocáveis 62
3.2.3.3. Fósforo Assimilável 63
3.2.3.4.. Percentagem de Saturação com Alumínio 63
3.2.3.5. Ataque Sulfúrico 63
3.2.3.6. Perda ao Fogo 64
3.2.3.7 Teor de Matéria Orgânica 64

3.2.3.8. Fertilidade 65
3.2.3.9. Teor de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH) 66
3.2.3.10. Teor de Metais 66
3.2.3.11. Teor de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos - HPA 66
3.2.4. Análise Mineralógica 69
3.2.5. Contagem Microbiana - Bactérias Hidrocarbonoclásticas 69
3.3. ÓLEO LEVE DE RECICLO - LCO 70
3.4 – ESPÉCIES VEGETAIS 70
3.4.1. Preparação e extração de HPAs do tecido vegetal 74
3.5. CASA DE VEGETAÇÃO 78
3.5.1. Primeira etapa do experimento 79
3.5.2. Segunda etapa do experimento 81
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA 83
Capítulo 4: RESULTADOS E DISCUSSÕES 84
Caracterização do Solo e do Óleo - LCO
4.1. SOLO 84
4.1.1. Caracterização Física 84
4.1.1.1. Distribuição Granulométrica 84
4.1.1.2. Composição e Plasticidade 87
4.1.2. Caracterização Química 87
4.1.3. Micronutrientes (Cu, Fe, Zn, B e Mn) 90
4.1.4. Análise Microbiológica 90
4.1.5. Estado da Contaminação 91
4.1.5.1. Contaminação por HPAs 91
4.1.5.2. Contaminação por Metais 92
4.2. CONTAMINANTE -LCO 93
4.2.1. Determinação de HPAs no Óleo - LCO 93
4.2.2. Determinação de Metais no Óleo - LCO 93
4.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 94
Capítulo 5: RESULTADOS E DISCUSSÕES 96
1º Experimento

5.1. *MIMOSA CAESALPINIFOLIA* 97
...5.1.1. Crescimento e sobrevivência da espécie 97
5.1.2. Redução de Fenantreno e Pireno em solo plantado com *Mimosa caesalpinifolia* 99
5.1.3. *Mimosa caesalpinifolia:* fitoextração fenantreno/pireno 101
5.1.4. Atividade Microbiana no solo 102
5.2. ACACIA HOLOCERICEA 103
5.2.1. Crescimento e sobrevivência da espécie 103
5.2.2. Redução de Fenantreno e Pireno em solo plantado *com Acácia holocericea* 105
5.2.3. Fitoextração do fenantreno e pireno por *Acácia holocericea* 106
5.2.4. Atividade Microbiana no solo 107
5.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 107
5.4. COMENTÁRIOS FINAIS 109
Capítulo 6: RESULTADOS E DISCUSSÕES 110
2^{0} Experimento
6.1. DESENVOLVIMENTO DA *MIMOSA CAESALPINIIFOLIA* 110
6.2. MONITORAMENTO DO pH DO SOLO 113
6.3. VARIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS HIDROCARBONOCLÁSTICAS 115
6.4. REDUÇÃO DOS HPAs - SOLO 116
6.4.1. Tratamentos 1, 2, 3 116
6.4.2. Tratamentos 4, 5, 6 122
6.5. FITOEXTRAÇÃO DOS HPAs – TECIDO VEGETAL 127
6.6. LEGISLAÇÃO 133
Capítulo 7: CONCLUSÕES E RECOMENDACÕES 135
7.1. CARACTERIZAÇÃO 135
7.2. 1º EXPERIMENTO 136
7.3. 2º EXPERIMENTO 137
7.4. RECOMENDAÇÕES 138
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS 139
ANEXOS 155

CAPÍTULO1
INTRODUÇÃO

1.1. Justificativa do Estudo

A indústria petrolífera é classificada como uma das atividades industriais com maior potencial de riscos ao meio ambiente, pois pode ocasionar a contaminação dos meios terrestre, aquático e atmosférico ao longo de sua cadeia produtiva, desde a origem ao pós consumo. A expansão industrial, especialmente das indústrias petroquímicas e dos transportes ao longo do século XX, ocasionou o aumento da produção e utilização de compostos químicos e derivados de petróleo, o que por sua vez resultou no aumento da contaminação de um significante número de locais com petróleo e seus subprodutos (CARDOSO, 2004).

O petróleo e seus derivados são constituídos por uma mistura complexa de variados compostos orgânicos e inorgânicos, destacando-se os hidrocarbonetos, que podem atingir até 98% da sua composição total Os hidrocarbonetos de petróleo são compostos de n-alcanos, isoalcanos, cicloalcanos e aromáticos. Alguns desses compostos aromáticos, com a presença de oxigênio, nitrogênio e enxofre. Pode-se também, encontrar no petróleo metais como vanádio, urânio, mercúrio, cálcio, sódio, níquel e cobre (POSTTHUMA, 1977). Em geral, a contaminação pelos hidrocarbonetos do petróleo decorre de atividades humanas, como por exemplo, pela queima de combustíveis automotores.

O Gás natural, óleo cru e asfaltos são formados por diversas proporções de alcanos (p.ex. metanos, etano, propano), aromáticos (p.ex. benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, conhecidos por BTEX) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), como por exemplo, naftaleno, fenantreno, antraceno e benzo[a]pireno (LYONS, 1996). Por sua vez, os HPAs - uma classe de compostos químicos orgânicos que contém dois ou mais anéis de benzeno em diversos arranjos - são hidrofóbicos, e sua solubilidade em água, contribui para a sua persistência no meio ambiente. Tal persistência é tanto maior quanto maior for a sua massa molecular (CERNIGLIA, 1992). São poluentes orgânicos sendo que muitos apresentam propriedades pré-carcinogênicas e/ou mutagênicas para os seres humanos e animais, sendo por isso considerados de importância ambiental e toxicológica (PEREIRA *et al*., 2000).

A concentração máxima permitida dos HPAs em ambientes contaminados é estabelecida em lei. porém, mesmo quando em níveis aceitáveis, estes compostos podem representar riscos por estarem biologicamente disponíveis, uma vez que a biodisponibilidade é de difícil definição e quantificação (ALEXANDER, 1999). Dessa forma, a remediação de áreas contaminadas por HPAs vem se tornando atividade com forte crescimento de forma a garantir a recuperação dessas áreas bem como permitir o crescimento sustentável da indústria.

Dentre as técnicas de remediação, a biorremediação tem-se apresentado como uma técnica alternativa para o tratamento de solos contaminados por compostos orgânicos como os produtos de petróleo. Esta técnica utiliza os microrganismos para decompor os poluentes do solo e também por ser um processo de baixo custo efetivo e com o benefício da mineralização do poluente em CO_2 e H_2O. Esta tecnologia acelera a biodegradação que ocorreria naturalmente, através do estabelecimento de condições otimizadas como o fornecimento de oxigênio, variação de temperatura, de pH, presença ou adição de população microbiana adequada, nutrientes (bioestimulação), umidade e aeração (TRINDADE *et al*., 2004).

A técnica de biorremediação originou ramificações, ou seja, tecnologias que utilizam os mesmos princípios básicos como, por exemplo, a técnica da fitorremediação que por definição é um processo de utilização, *in situ*, de plantas e microrganismos associados para degradar, conter ou transferir contaminantes no solo ou água subterrânea (CUNNINGHAM *et al*., 1996). Como essa técnica depende do relacionamento sinergético entre plantas, microrganismos e solo, não necessita de intervenção significativa de equipamentos, sendo a intervenção humana necessária para estabelecer uma apropriada comunidade planta-microrganismos no local ou aplicar técnicas agronômicas (como culturas e aplicação de fertilizantes) para melhorar o processo de degradação natural ou contenção.

A fitorremediação apresenta elevado potencial de utilização devido às vantagens que apresenta em relação às outras técnicas de remediação. Citam-se por exemplo, a utilização da energia solar para realizar o processo e o controle do processo erosivo, eólico e hídrico pelas espécies vegetais que no caso do controle hídrico, evita o carreamento de contaminantes com a água e com o solo e, por conseguinte, reduzem a possibilidade de contaminação de lagos e rios.

Os registros na literatura sobre temas relacionados à fitorremediação datam da década de 70 e com o progresso das pesquisas, algumas limitações sobre o emprego dessa técnica também têm sido registrados. Walker (1978) e Baker (1970) citaram a dificuldade na seleção das plantas em razão da baixa quantidade de espécies previamente avaliadas bem como o longo tempo requerido para uma remediação satisfatória uma vez que usualmente necessita de mais de uma estação de crescimento

Segundo Dinardi *et al*. (2003), a estimativa mundial para os gastos anuais com a despoluição ambiental gira em torno de 25 a 30 bilhões de dólares. Esta atividade tende a crescer no Brasil, uma vez que os investimentos para tratamento dos rejeitos humanos, agrícolas e industriais têm aumentado devido às exigências da sociedade e à aplicação de leis mais rígidas. Dessa forma, a demanda de pesquisas neste e em outros temas de remediação é crescente. Registra-se entretanto que, em muitos países, a remediação de áreas contaminadas fica restrita às condições econômicas e financeiras desses países e de suas respectivas indústrias (ERAKHRUMEN, 2007).

1.2. Relevância

Pesquisas indicam que a fitorremediação possui potencial para servir como uma alternativa bastante efetiva para remediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo. Tentativas bem–sucedidas envolveram uma variedade de espécies vegetais, mas a maioria das pesquisas foi concentrada em espécies de gramíneas e leguminosas (REZEK *et al*, 2008; GUPTA, 2007; VIANA, 2007, SILVA, 2006).

A fitorremediação apresenta custos ligeiramente inferiores aos da biorremediação (USEPA, 2000) e muito inferiores aos custos dos tratamentos que utilizam técnicas convencionais. A fitorremediação é mais rápida do que a atenuação natural, mas é mais lenta do que as soluções convencionais e/ou bioremediação. Por ser uma técnica *in-situ*, é tipicamente menos agressiva ou disruptiva para o local do que as técnicas convencionais.

Assim sendo, os resultados do experimento permitirão identificar espécies vegetais, cuja utilização imediata poderá ser recomendada ou não, nos tratamentos secundários pela técnica da fitorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, uma vez que não existe hoje no Brasil, uma seleção de espécies que possam efetivamente serem utilizadas nesses tratamentos.

1.3. Objetivos da Pesquisa

1.3.1. Objetivos Gerais

A presente pesquisa tem como objetivo e caráter inovador, a proposta de avaliar a efetividade da técnica de fitorremediação utilizando duas espécies arbóreas para a remediação de um solo tropical contaminado com óleo leve de reciclo – LCO (**L**ight **C**ycle **O**il), derivado de petróleo rico em **H**idrocarbonetos **P**olicíclicos **A**romáticos – HPAs.

1.3.2. Objetivos Específicos

- avaliar o potencial das espécies *Acácia holocericea* e *Mimosa caesalpiniifolia* em fitorremediar o contaminante (óleo leve de reciclo– LCO) monitorando o teor de hidrocarbonetos policiclicos aromáticos (HPAs) no solo e no tecido vegetal;

- avaliar o crescimento e sobrevivência das duas espécies em solo contaminado para diferentes concentrações do contaminante;

- avaliar o efeito da remediação do solo, com a adição de fertilizante e corretor de pH, pela espécie mais resistente;

- avaliar a relação da população de bactérias hidrocarbonoclásticas com a espécie arbórea e o seu efeito na fitorremediação.

1.4 Descrição dos Capítulos

O presente trabalho está estruturado em 7 capítulos na formatação descrita abaixo:

O Capítulo 2 referente à Revisão Bibliográfica, apresenta a revisão da literatura sobre fitorremediação, e particular interesse em estudos de espécies na recuperação de áreas degradadas. Informações foram coletadas, resumidas e descritas em relação ao papel das plantas e microrganismos na fitorremediação de hidrocarbonetos de petróleo.

O Capítulo 3, Materiais e Métodos, descreve os insumos utilizados, a implantação dos experimentos, as metodologias analíticas empregadas nas caracterizações dos insumos assim como as metodologias utilizadas no acompanhamento deste estudo,

O Capítulo 4, Resultados e Discussões da etapa de caracterizacao do solo e do óleo – LCO, apresenta os resultados obtidos com seus respectivos comentários e observações.

O Capítulo 5, Resultados e Discussões .da 1ª etapa do experimento, apresenta os resultados obtidos com seus respectivos comentários e observações, da avaliação do potencial das espécies, *Acácia holocericea* e *Mimosa caesalpiniifolia,* em fitorremediar o contaminante (óleo leve de reciclo– LCO) monitorando o teor de hidrocarbonetos policiclicos aromáticos (HPAs) no solo e no tecido vegetal e a avaliação do crescimento e sobrevivência das espécies no solo contaminado com diferentes concentrações do contaminante;

O Capítulo 6, Resultados e Discussões da 2ª etapa do Experimento, apresenta os resultados obtidos com seus respectivos comentários e observações da avaliação do efeito da remediação do solo, com a adição de fertilizante e corretor de pH, pela espécie mais resistente e da avaliação da relação da população de bactérias hidrocarbonoclásticas com uma espécie arbórea e o seu efeito na fitorremediação.

O Capitulo 7, Conclusões e Recomendações, apresenta as conclusões e considerações finais.

CAPÍTULO 2
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. – ÓLEO LEVE DE RECICLO - LCO e os HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS - HPAs

A figura 2.1 apresenta as frações obtidas durante o refino do petróleo onde pode-se localizar a faixa de destilação em que o óleo leve de reciclo – LCO (**L**ight **C**ycle **O**il) é obtido. É um produto do processo de craqueamento catalítico, formado por uma mistura complexa de hidrocarbonetos na faixa de C9 a C25 e, constituído em sua maioria por **H**idrocarbonetos **P**olicíclicos **A**romáticos – HPAs. Possui pressão de vapor inferior a 7 kPa (20ºC) e ponto de ebulição entre 148,9°C a 454,5°C, estando na faixa de destilação do óleo diesel-destilados médios (VALERO, 2006). Este óleo é utilizado como combustível em refinarias e em outros processos industriais.

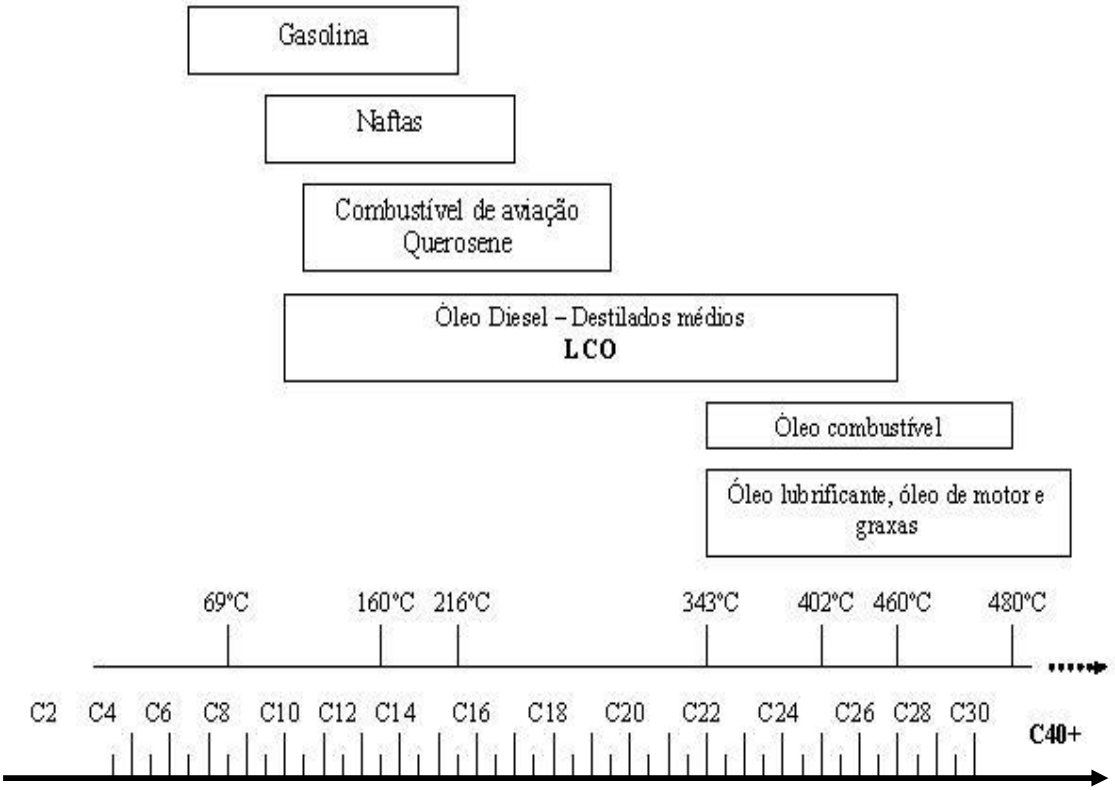


Figura 2.1: Frações da destilação do petróleo: faixa de obtenção do LCO
FONTE: Weisman (1998) adaptada

O LCO é um destilado de petróleo rico em HPAs, classe de compostos químicos orgânicos que contém dois ou mais anéis de benzeno em diversos arranjos e que são conhecidos também como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), substâncias resistentes à degradação e que se bioacumulam, podendo representar risco á saúde humana e ao meio ambiente (MESQUITA, 2004; CERNIGLIA, 1992; POSTTHUMA, 1977).

Os HPAs são hidrofóbicos, solúveis apenas em solventes orgânicos, porém em condições naturais, sua solubilidade efetiva no ambiente depende da transferência facilitada por um composto mais miscível, através de um processo chamado *efeito co-solvência*. Esse efeito permite que, mesmo com baixa solubilidade, esses compostos possam ser lixiviados juntamente com o composto que atua como solvente. A baixa solubilidade dos HPAs resulta na tendência desses compostos ficarem retidos próximo à fonte. Além disso, quanto maior o teor de matéria orgânica presente no sítio, maior a capacidade de adsorção dos HPAs no solo (THOMAS *et al*, 2001; GABORIAU, 2001; CORDAZZO, 1999).

Existem mais de 100 diferentes tipos de HPAs originados de diversas fontes. Em condições naturais, os HPAs são formados durante reações geológicas associadas à produção de combustíveis fósseis minerais, durante a queima de vegetação em florestas e também como resultado de algumas reações entre espécies vegetais e bactérias (WILSON, 1993). Porém, as emissões antropogênicas, estimadas em aproximadamente 90% da liberação total, são as que mais se evidenciam como fonte desses compostos. A exaustão de motores a diesel ou a gasolina, a exaustão de fábricas de incineração de rejeitos, fumaça de cigarros, queima de carvão, fotocopiadoras, ou seja, processos de combustão de material orgânico são exemplos de algumas das fontes antropogênicas que liberam HPAs. Podendo-se citar também os processos industriais como o de produção de alumínio, gaseificação de coque, etc. Portanto, os HPAs são formados sempre quando materiais orgânicos são queimados, e a composição e complexidade de seus constituintes dependem diretamente das fontes emissoras e das condições de queima (BRANDLI *et al*, 2004; PEREIRA *et al*., 2000).

Dessa forma, os HPAs são poluentes orgânicos e muitos apresentam propriedades pré-carcinogênicas e/ou mutagênicas para os seres humanos e animais, por isso são considerados de importância ambiental e toxicológica. E para efeito de monitoramento ambiental o EPA (**E**nvironmental **P**rotection **A**gency – USA) classificou 16 destes compostos como prioritários (SISINNO *et al,* 2003; KEITH e TELLIARD, 1979). A International Agengy for Research on Câncer (IARC, 2002), European Union – EU,

American Conference of Governmental Industrial Hygienists – ACGIH, National Toxicology Program – NTP, Environmental Protection Agency - EPA e a Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT estabeleceram uma classificação para os HPAs de acordo com sua carcinogenicidade, ocorrência e periculosidade conforme apresentado na tabela 2.1.a seguir:

Tabela 2.1: Classificação dos HPAs estudados quanto à sua carcinogenicidade, ocorrência e periculosidade. (Cadernos de Saúde Pública, 2003).

HPAs	IARC	EU	ACGIH	NTP	EPA	ABNT
LCO	2A	2	A2	2	NM	NM
Naftaleno	3	NM	A4	NM	P	NM
Acenaftileno	3	NM	NM	NM	P	NM
Fluoreno	3	NM	NM	NM	P	NM
Acenafteno	3	NM	NM	NM	P	NM
Antraceno	3	NM	NM	NM	P	NM
Fenantreno	3	NM	NM	NM	P	CP
Criseno	2A	NM	NM	NM	P	CP
Pireno	3	NM	NM	NM	P	CP
Fluoranteno	2B	NM	NM	NM	P	CP
Benzo (a) antraceno	2B	NM	NM	NM	P	NM
Benzo (a) pireno	3	NM	NM	NM	P	NM
Benzo(b) fluoranteno	2A	NM	NM	NM	P	CP
Benzo(k) fluoranteno	2B	NM	NM	NM	P	CP
Dibenzo (a, h) antraceno	2A	NM	NM	NM	P	CP
Benzo (g, h, i) perileno	3	NM	NM	NM	P	NM
Indeno (1, 2, 3, c, d) pireno	3	NM	NM	NM	P	NM

IARC=International Agency for Research on Câncer; 2A = Provável carcinogênicos para humanos – limitada evidência em humanos e suficientes em animais; 2B= Possível carcinogênico para humanos - limitada evidência em humanos e insuficiente em animais; 3= Não é classificado como carcinogênico para humanos;
EU= European Union; 2= Suspeito para humanos; NM= Não mencionado no texto
ACGIH= American Conference of Governmental Industrial Hygienists; A2 = Suspeito para humanos; A4 = Não classificado; NM= Não mencionado no texto
NTP - National Toxicology Program; 2 = Suspeito para humanos; NM= Não mencionado no texto
EPA= Environmental Protection Agengy; P=Prioritário; NM= Não mencionado no texto
ABNT= Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR 10004). CP= Confere periculosidade; NM= Não mencionado no anexo D, listagem nº 4.

A persistência no meio ambiente e o grau de periculosidade estão relacionados diretamente com o número de anéis aromáticos, ou seja, aumentam quando o número de anéis aromáticos aumenta na molécula. (BRANDLI, 2004; CARMICHAEL, 1997).

A solubilidade em água tende a diminuir com o número crescente de anéis aromáticos conforme apresentado na tabela 2.2 juntamente com mais algumas propriedades físicas dos 16 HPAs.

Tabela 2.2: Propriedades físicas dos 16 HPAs

HPA Prioritários	Fórmula	Nº de anéis	Massa Molecular ($g.mol^{-1}$)	PF, ℃	PE, ^oC	Solubilidade em Água, mg/L	Pressão de Vapor (torr a 20℃)	Densidade relativa	Constante da Lei de Henry	Log K_{ow} (25℃)
naftaleno	$C_{10}H_8$	2	128	80	218	30	$4,92 \times 10^{-2}$	1,030	$1,74 \times 10^{-2}$	3,37
acenaftileno	$C_{12}H_8$	3	152	92	265	3,93	$2,9 \times 10^{-2}$	0,890	$3,39 \times 10^{-3}$	4,00
acenafteno	$C_{12}H_{10}$	3	154	96	279	3,47	$2,0 \times 10^{-2}$	1,190	$4,91 \times 10^{-3}$	3,92
Fluoreno	$C_{13}H_{10}$	3	166	116	293	1,98	$1,3 \times 10^{-2}$	1,202	$3,19 \times 10^{-3}$	4,18
Fenantreno	$C_{14}H_{10}$	3	178	101	340	1,29	$6,8 \times 10^{-4}$	1,030	$1,31 \times 10^{-3}$	4,57
Antraceno	$C_{14}H_{10}$	3	178	216	340	$7,0x10^{-2}$	$1,96 \times 10^{-4}$	1,283	$1,60 \times 10^{-3}$	4,54
Fluoranteno	$C_{16}H_{10}$	4	202	111	375	$2,6 \times 10^{-1}$	6,0 x 10	1,252	$4,17 \times 10^{-4}$	5,22
Pireno	$C_{16}H_{10}$	4	202	149	360	$1,4 \times 10^{-1}$	$6,85 \times 10^{-7}$	1,271	$3,71 \times 10^{-4}$	5,18
Benzo(a)antraceno	$C_{18}H_{12}$	4	228	158	400	$1,4 \times 10^{-2}$	$5,0 \times 10^{-9}$	1,254	$2,34 \times 10^{-4}$	5,91
Criseno	$C_{18}H_{12}$	4	228	255	448	$2,0 \times 10^{-3}$	$6,3 \times 10^{-7}$	1,274	$1,80 \times 10^{-4}$	5,79
Benzo(b)fluoranteno	$C_{20}H_{12}$	5	252	167	481	$1,2 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^{-7}$	-	-	5,80
Benzo(k)fluoranteno	$C_{20}H_{12}$	5	252	217	480	$5,5 \times 10^{-4}$	$5,0 \times 10^{-7}$	-	$6,46 \times 10^{-6}$	6,00
Benzo(a)pireno	$C_{20}H_{12}$	5	252	179	496	$3,8 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^{-7}$	-	$1,86 \times 10^{-5}$	6,04
Indeno(1,2,3 –cd) pireno	$C_{22}H_{12}$	6	276	163	536	$6,2 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-10}$	-	$2,07 \times 10^{-11}$	7,00
Dibenzo(a,h) antraceno	$C_{22}H_{14}$	5	278	262	524	$5,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-10}$	1,280	$3,07 \times 10^{-6}$	6,75
Benzo(g,h,i) pirileno	$C_{22}H_{12}$	6	276	222	525	$2,6 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-10}$	-	$3,03 \times 10^{-5}$	6,50

Fonte: TPHCWG, 1997 - adaptado

P.M= peso molecular; P.F.= ponto de fusão; P.E.= ponto de ebulição

A divulgação da relação entre a incidência de câncer e a exposição dos seres humanos a esses compostos no último século tem motivado pesquisas sobre as fontes geradoras, bioacumulação, metabolismo e a disposição em ecossistemas aquáticos e terrestres (MESQUITA, 2004; PEREIRA *et al*., 2000).

2.2. - REMEDIAÇÃO DE SOLOS

Nos países de todos os continentes evidencia-se a ocorrência de contaminação de solos, freqüentemente associada aos centros urbanos, áreas de armazenamento e manuseio de petróleo e seus derivados e áreas de atividade industrial. Porém, a remediação dessas áreas está restrita às condições econômicas e financeiras dos países, e de sua industrialização (ERAKHRUMEN, 2007).

A remediação de solos é um processo que requer consideráveis investimentos, mas que nem sempre leva ao êxito, visto que as técnicas aplicadas têm se mostrado limitadas (RISER-ROBERTS, 1998). Técnicas que vão desde a atenuação natural, processo sem manuseio em que a natureza atua isoladamente para remediar sem a intervenção humana até técnicas de engenharia. Essas limitações têm levado ao desenvolvimento de vários processos de tratamentos químicos e físicos para remoção ou contenção de contaminantes do solo. Muitas vezes, a aplicação desses processos é onerosa e não adequada ambientalmente, pois pode promover a desestruturação do solo e a redução da biodiversidade, além de eventualmente transferir um problema de poluição em meio sólido em geral para um meio líquido. Assim, a escolha do tratamento adequado depende de vários fatores como, por exemplo, as características do local, o tipo de contaminante, as exigências legais e os custos. (STEGMANN *et al*., 2001; HENNER, 1997 ; CHAMBERS, 1991).

Os tratamentos são classificados como químicos, físicos ou biológicos e podem ser realizados "*ex-situ"* e "*in-situ*", como mostrado na tabela 2.3. Os físicos ou químicos realizados "*ex-situ*", envolvem processos de lavagem do solo, extração química, oxidação de fluido supercrítico (SCF), volatilização, extração de vapor, solidificação/estabilização, encapsulamento, extração por fluido supercrítico e os térmicos como por exemplo, a incineração. Os tratamentos físicos ou químicos "*in-situ"* comumente aplicados são hidrólise, oxidação/redução, neutralização, estabilização/solidificação, imobilização, extração a vapor, barreiras tensiométricas, vitrificação, campos elétricos e aquecimento do solo (RISER-ROBERTS, 1998).

Nos tratamentos biológicos "*ex-situ*" são aplicadas as técnicas de "*landfarming*", compostagem, bioreatores, biopilhas e fotólise. Já nos tratamentos biológicos "*in situ"*

são aplicadas as técnicas de bioventilação, remediação eletroquímica, biopolímeros, biorremediação, fitorremediação e atenuação natural.

Tabela 2.3: Tecnologias de tratamento de compostos orgânicos (Adaptado de SCHACKELFORD, 1999).

TECNOLOGIAS	**TIPO**	**CATEGORIA**	**PROCESSO**	**FASES**
Incineração Processos Térmicos	*Ex-Situ*	Tratamento	Físico (Térmico)	Adsorvida Vap., Cond.
Aterro de cobertura	*Ex-Situ*	Contenção	Físico (Disposição)	Adsorvida Vap., Cond.
Solidificação Estabilização	*Ex-Situ* *In-Situ*	Tratamento	Químico Físico	Todas
Lavagem do solo	*Ex-Situ* *In-Situ*	Tratamento	Físico	Adsorvida Vap., Cond.
Extração a vapor	*In-Situ*	Tratamento	Físico	Adsorvida Livre
Air-Sparging	*In-Situ*	Tratamento	Físico	Todas
Bioslurping	*In-Situ*	Tratamento	Físico Biológico	Todas (exceto dissolvida)
Barreiras	*In-Situ*	Contenção	Físico	Livre Dissolvida
Extração de 2 fases	*In-Situ* *Ex-Situ*	Contenção Tratamento	Químico Biológico	Livre Dissolvida
Landfarming	*Ex-Situ*	Tratamento	Biológico	Adsorvida Vap., Cond
Biopilha	*Ex-Situ*	Tratamento	Biológico	Adsorvida Vap., Cond
Bioreator	*Ex-Situ*	Tratamento	Biológico	Adsorvida Vap., Cond
Biorremediação do solo	*In-Situ*	Tratamento	Biológico	Todas
Biorremediação superficial	*In-Situ*	Tratamento	Biológico	Adsorvida Condensada
Bioventilação	*In-Situ*	Tratamento	Biológico	Adsorvida Livre
Atenuação natural	*In-Situ*	Tratamento	Biológico Fís./Quím.	Todas
Fitorremediação	In-Situ	Tratamento	Biológico	Todas

Segundo Neely *et al* (1981), a aplicação dos tratamentos físicos e químicos em locais impactados com resíduos perigosos tem sido parcialmente efetiva em 54% dos casos e totalmente efetiva em somente 16% dos casos. No entanto, de acordo com

Schackelford (1999) em estudos de remediação de solos contaminados com HPAs, verificou-se que aproximadamente 80% da remoção destes contaminantes foram causados por fatores químicos e físicos seguido de fatores associados à atividade aeróbica. O fato é que a maioria desses tratamentos, além de não efetivos, não oferecem soluções permanentes e em alguns casos, podem gerar outros produtos de igual ou superior periculosidade (LOEHR,1996).

Dessa forma, buscando o aumento da efetividade nas remediações de solos contaminados com hidrocarbonetos, foram desenvolvidos tratamentos baseados no metabolismo microbiano que ocorrem em ecossistemas naturais, como a mineralização, detoxicação e cometabolismo que decorrem da quebra dos compostos orgânicos pela ação de microrganismos, como bactérias, actinomicetos e fungos, chamados de processos ou técnicas de biorremediação (ONWURAH, 2007; MENDELSSOHN, 2003).

Dentre as técnicas de remediação de solos contaminados por hidrocarbonetos baseadas nos métodos biológicos, a biorremediação, com destaque à fitorremediação, tem se apresentado como alternativa de remediação dos solos, por ser uma técnica efetiva de baixo custo e com o benefício de alcançar a mineralização do poluente em CO_2 e H_2O. As técnicas de biorremediação aceleram a biodegradação do poluente, processo que ocorre naturalmente, porém, muitas vezes são estimuladas mediante condições favoráveis. Dentre as quais, citam-se o fornecimento de oxigênio, controle de temperatura, umidade e pH, aeração, introdução de populações microbiana adequadas, capazes de degradar os contaminantes (bioaumento) e o fornecimento de nutrientes (bioestimulação) (TRINDADE *et al*., 2004; RISER-ROBERTS, 1998; McINTYRE, 1997).

2.3 - DEGRADAÇÃO DOS HPAs NO SOLO

Os hidrocarbonetos policícliclos aromáticos - HPAs podem ser degradados por oxidação química, fotólise, hidrólise, volatilização, bioacumulação, adsorção de partículas sólidas e lixiviação, e mais recentemente pela biorremediação, processo que tem apresentado crescente destaque na descontaminanção de HPAs no meio ambiente (JOHNSEN, 2005; REDDI, 2000; RISER-ROBERSTS, 1998).

No processo de biorremediação, as bactérias, fungos filamentososqa, tais como as diatomáceas e algas eucarióticas, possuem capacidade enzimática para oxidar HPAs da faixa do naftaleno até o benzo(a)pireno (EWEIS, 1998; COOKSON, 1995). Os

microrganismos procarióticos, bactérias e cianobactérias utilizam caminhos diferentes dos eucarióticos - fungos e algas - porém todos são dependentes de oxigênio (HULDDLESTON *et al*, 1986; CERNIGLIA, 1984). O metabolismo microbiano dos HPAs tem sido estudado utilizando culturas puras e compostos simples em escala de laboratório. Heitkamp (1989) e Gibson (1984) relataram que a degradação total ou parcial dos HPAs no processo de biorremediação ocorre através da ação de microrganismos atuando individualmente ou em comunidades interdependentes. Cerniglia (1992) observou que a degradação total de HPAs de alto massa molecular pode ser realizada somente por um número limitado de espécies microbianas e que a oxidação do primeiro anel é a etapa determinante na biodegradação de HPAs. Xiang *et al* (2006) observaram que a capacidade da bactéria em degradar benzo[a]pireno aumentou com o aumento de benzo[a]pireno no solo.

Entre as técnicas de biorremediação de solos contaminados a técnica da fitorremediação tem despertado interesses na comunidade científica por ser um processo de tratamento *in situ* pelo uso associado de plantas com microrganismos associados para degradar, conter ou transferir contaminantes no solo ou águas subterrâneas, com investimento e custo de operação significativamente baixo, utilizando o sol como fonte de energia,

2.4. – FITORREMEDIAÇÃO

Na década passada, várias publicações científicas descreveram os efeitos benéficos da vegetação na remediação de solos contendo contaminantes orgânicos e inorgânicos (ANDRADE, 2002, BOYAJIAN, 1997; KUMAR *et al.,* 1995; DAVIS *et al.*, 1994; ERICKSON *et al.,* 1994; SHIMP *et al.*, 1993). Observou-se também que muitas plantas são capazes de se desenvolverem em uma variada gama de despejos e sítios contaminados, indicando que as mesmas são capazes de interagir com os contaminantes (DAVIS *et al*., 1994). Os efeitos observados da ação das plantas incluem a habilidade de captação do óleo pela vegetação, faixas de recuperação de plantas perenes, vantagem competitiva de algumas espécies e estimulação do crescimento (BAKER, 1970). Dados publicados confirmam a eficiência do uso de vegetação para descontaminar solos poluídos (LEE, 1999; SCHWAB, 1999; CARMEN *et al*., 1998). Em particular, Günther (1996) e Reynolds (1999) evidenciaram uma redução significante do teor de hidrocarbonetos em solos com vegetação, em comparação com solos não plantados.

Desde então vários autores têm relatado suas observações com as alterações ocorridas nas plantas devido a estresses ambientais em sítios contaminados por petróleo, indicando o potencial de adaptação de espécies às novas condições através de alterações fisiológicas, morfológicas e anatômicas. As alterações vão desde o aumento no crescimento, o amarelecimento das folhas, até danos irreversíveis como a morte da planta para algumas espécies (AL-ZALZALEH , 2004; BONA, 2003; ADAM, 1999).

Maranho (2004) analisando plantas adultas de *Podocarpus lambertii* (pinheirinho) que sofreram o efeito direto do derramamento de petróleo, registrou alterações morfológicas e anatômicas e relatou que estas alterações provavelmente se relacionavam ao estresse hídrico causado pela impermeabilização das raízes pelo petróleo. Também, Farias (2005) registrou alterações na área foliar de *Rhyncospora corymbosa* (tiririca*)*, espécie que predominou em uma área contaminada com petróleo. Merkel (2004) detectou alta taxa de brotação, redução no crescimento das raízes e menor massa seca para leguminosas, em solo contaminado com óleo bruto.

Segundo Mayer (2005), a espécie *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba) apresentou desenvolvimento, em solo contaminado por petróleo, evidenciado pelo aumento no diâmetro do caule e na altura, sistema radicular com ramificações superficiais, maior massa seca das raízes e da planta. Adam (1999) observou a formação de raízes adventícias, ou seja, raízes que se formam a partir do caule ou das folhas, o que foi atribuído como uma estratégia da planta de evitar o contato com o solo contaminado. Oliveira (2004) registrou que plantas jovens de *Schinus terebemthifolius* - aroeira mansa - são tolerantes à contaminação do solo com petróleo, em razão desta espécie não ter apresentado alterações significativas no crescimento e não ter tido diminuição da biomassa. Além disso, tal espécie desenvolveu sistema radicular mais ramificado no solo contaminado, evidenciando uma adaptação ao estresse hídrico.

A identificação de espécies tolerantes a contaminantes de petróleo e seus derivados no solo é importante uma vez que, através destas espécies, é possível aplicar, de forma mais efetiva, a técnica da fitorremediação na recuperação de áreas contaminadas (VIANA, 2007).

A fitorremediação depende do relacionamento sinergético entre plantas, microrganismos e meio ambiente, baseando-se no potencial catabólico dos

microrganismos associados às raízes das plantas. Esses microrganismos são sustentados pelos substratos orgânicos nas excreções das raízes e pelo favorável ambiente na rizosfera (ORTEGA-CALVO *et al*, 2003), originando assim, várias interações bióticas e abióticas, onde estão envolvidos mecanismos de biodegradação, imobilização, fotodegradação e quimiodegradação. A fitorremediação melhora a atenuação natural de locais contaminados aplicando técnicas agronômicas para melhorar o processo de degradação natural ou contenção, quando a concentração do contaminante presente no solo não for fitotóxico. Geralmente é uma técnica utilizada em associação a outras técnicas devido ao tempo para realizar a descontaminação ser maior do que as técnicas tradicionais para fins de recuperação. A fitorremediação é, portanto, uma técnica intermediária entre as técnicas de engenharia e a de atenuação natural (ANDRADE, 2007; MERKL, 2004; VANCE, 1996).

A fitorremediação possui um alto potencial de desenvolvimento, pois existe uma grande quantidade de fenogenótipos a serem testados, uma vez que existem cerca de 250.000 espécies de plantas superiores descritas, que se subdividem em um número maior de variedades das quais, somente uma fração insignificante foi investigada para este uso até o presente momento. Tendo em conta que 170.000 espécies ocorrem nos trópicos e subtrópicos, a aplicação desta técnica em países de clima tropical é muito favorecida devido à biodiversidade vegetal e de microrganismos nestes locais. (MERKL, 2005, NULTSCH, 2000; BRIEN, 1995). A fitorremediação, no Brasil, favorecida pela existência de condições climáticas e ambientais, está conquistando o seu espaço com a crescente demanda por tecnologias de remediação ambiental.

Essa técnica de remediação tem sido utilizada para tratar solos contaminados por metais (Pb, Zn, Cu, Ni, Hg, Se), compostos inorgânicos ($NO3^-$, $NH4^+$, PO_4^{-3}), elementos químicos radioativos (U, Cs, Sr), hidrocarbonetos derivados de petróleo (como os BTEX e HPA), pesticidas e herbicidas (atrazina, bentazona, compostos clorados e nitroaromáticos), explosivos (TNT, DNT), solventes clorados (TCE, PCE) e resíduos orgânicos industriais (PCPs), entre outros (FIORENZA , 2000; USEPA, 2000; CUNNINGHAM *et al*., 1996).

Pesquisas conduzidas em sítios com sedimentos dragados de rios e solos contaminados com poluentes orgânicos têm demonstrado eficácia na remoção e acumulação destes poluentes para algumas espécies arbóreas (EULISS *et al*., 2008; AMIT, 2007; RODRIGUES, 2006).

Rezek *et al* (2008) observaram que houve diminuição da concentração da maioria dos 15 HPA's estudados pelo *Lolium perene* (azevém) no solo contaminado há um longo

tempo (desde a Segunda Guerra Mundial) apesar da baixa biodisponibilidade devido à blindagem do contaminante pelas partículas do solo.

Gupta (2007) estudou a capacidade de fitoextração de quatro espécies vegetais, *Sida acuta (*vassoura), *Ricinus communis (*mamona), *Calotropis procera* (janaúba) e *Cássia fistula (*chuva de ouro), crescendo em local de disposição de lodo de indústria coureira. O nível de acúmulo de metais foi alto para todas as quatro espécies estudadas, sendo que a C.procera apresentou maior desenpenho na remoção de metais do que as outras três espécies e, a *R. communis* demonstrou igual desempenho que a *C. fistula*. No geral, o acúmulo dos metais seguiu a seguinte ordem: K > Na > Fe > Cr > Mn > Zn > Cu > Pb > Ni > Cd > Co.

Parrish *et al* (2006) conduziram experimentos para avaliar a biodisponibilidade de HPAs em solo de uma Planta de Produção de Gás cultivando três espécies vegetais, *Curcubita pepo* ssp *(*abóbora), *Cucumis sativus (*pepino) e *Cucurbita pepo ssp ov*ifera (abóbora) e, observaram que tecidos de *Curcubita pepo* ssp acumularam maiores quantidades de HPAs que os tecidos de *Cucumis sativus e Cucurbita pepo* ssp *ov*ifera. *Curcubita pepo* ssp acumulou cerca de 5 vezes mais HPAs do que as outras duas espécies, inclusive os HPAs de 6 anéis de carbono em concentrações até 3 vezes maiores.

Silva (2006) detectou baixa germinação, baixo índice de velocidade de germinação e inibição do desenvolvimento de plântulas de *Sebastiana commersoniana (*branquilho), em solo contaminado com óleo diesel.

2.4.1 – Métodos de Aplicação da Fitorremediação

A técnica de fitorremediação pode ser aplicada *in situ* e *ex-situ*. (SUSARLA, 2002). A aplicação *in situ* é realizada no local contaminado envolvendo o cultivo de plantas na superfície contaminada, água, solo ou sedimento. A fitorremediação ocorre através da interação planta-meio contaminado.

A aplicação *ex-situ* ocorre em lugares onde o contaminante não está acessível às plantas. Utilizando recursos mecânicos, o meio contaminado é transferido para uma área de tratamento secundário onde é exposto às plantas selecionadas para a realização da fitorremediação. Após o tratamento, o solo ou a água remediados devem ser retornados ao local de origem e as plantas destinadas para disposição, se

necessário. Esta aplicação pode ser no local da contaminação ou em outro local. O custo da aplicação desta técnica é maior do que o custo da aplicação *in situ.*

2.4.2 – Processos da Fitorremediação

Os processos que estão envolvidos na técnica de fitorremediação conforme mostrado na figura 2.2, ocorrem na zona da raiz e/ou na planta. Estes processos são descritos por diversos autores de formas semelhantes (MERKEL, 2005; DINARDI, 2003; SUSARLA, 2002; CUNNINGHAM *et al*., 1996).

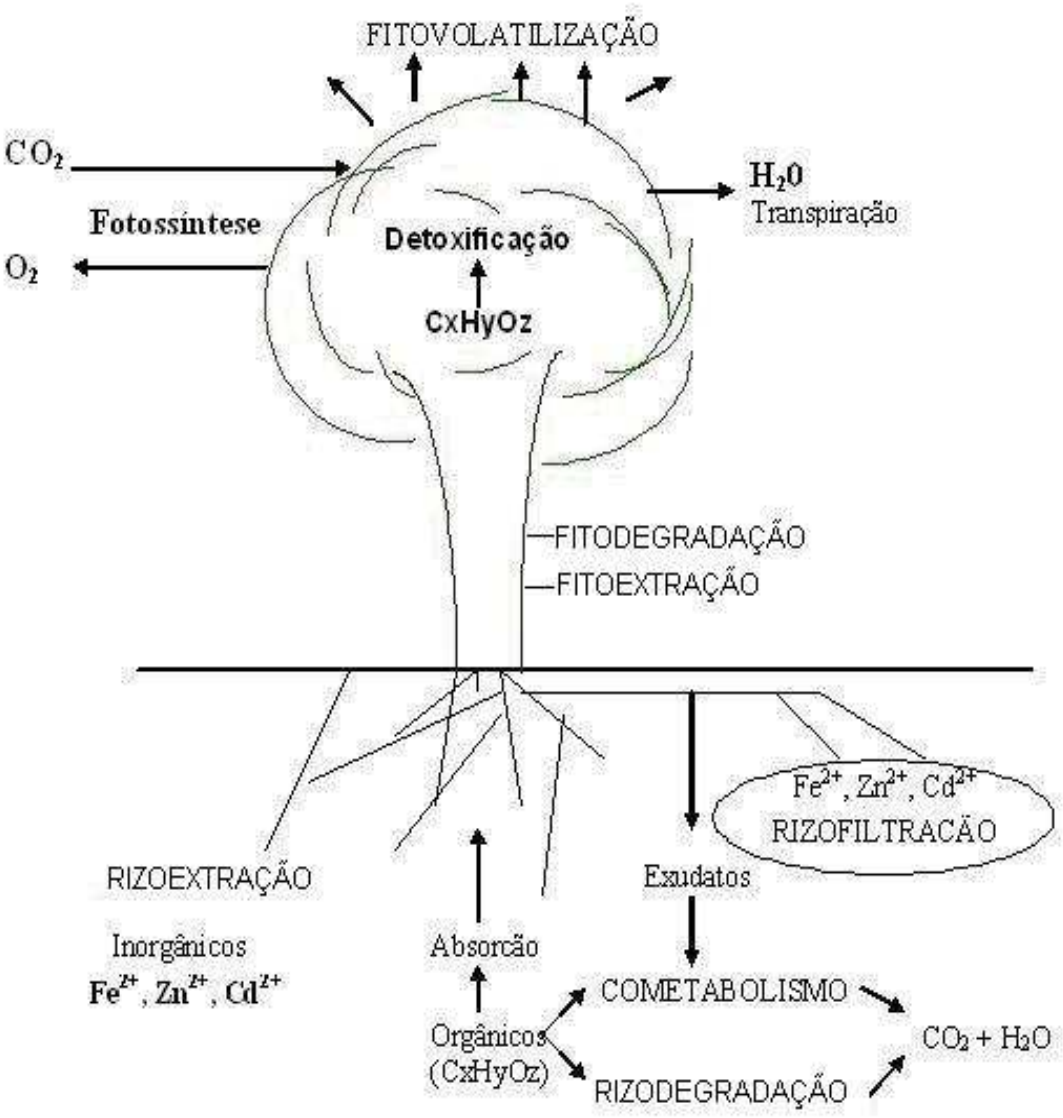


Figura 2.2: Processos de Fitorremediação (MORENO, 2001)

A tabela 2.4 apresenta resumidamente os diferentes mecanismos de fitorremediação que serão abordados a seguir:

Tabela 2.4: Mecanismos de Fitorremediação (REDDI, 2000)

MEIO IMPACTADO	MECANISMO		
	COMPOSTOS ORGÂNICOS	CONTAMINANTE REMEDIADO	COMPOSTOS INORGÂNICOS
ATMOSFERA Contaminante no ar	Fitovolatilização		Fitovolatilização
PLANTA Contaminante na planta	Fitodegradação Fitoextração		Fitoextração
SOLO Contaminante na zona da raiz (Rizosfera)	Rizofiltração Rizodegradação Fitoestabilização		Rizofiltração Fitoestabilização

2.4.2.1 - FITOVOLATILIZAÇÃO

A fitovolatilização é o processo pelo qual as plantas convertem um contaminante para uma forma volátil, removendo, dessa forma, o contaminante do solo ou da água, conforme mostrado na figura 2.3. Por exemplo, plantas possivelmente associadas com microrganismos podem converter compostos tóxicos para suas formas menos tóxicas como compostos orgânicos de mercúrio para mercúrio elementar e o selênio em compostos voláteis de selênio como o dimetil selênio (SUSARLA, 2002; USEPA, 2000). Porém, há o risco do contaminante e dos metabólitos perigosos também serem lançados na atmosfera através deste processo.

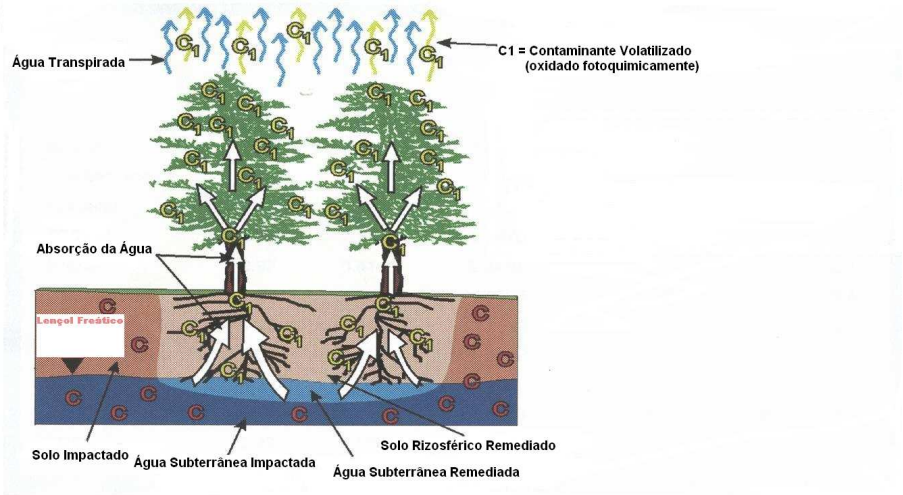


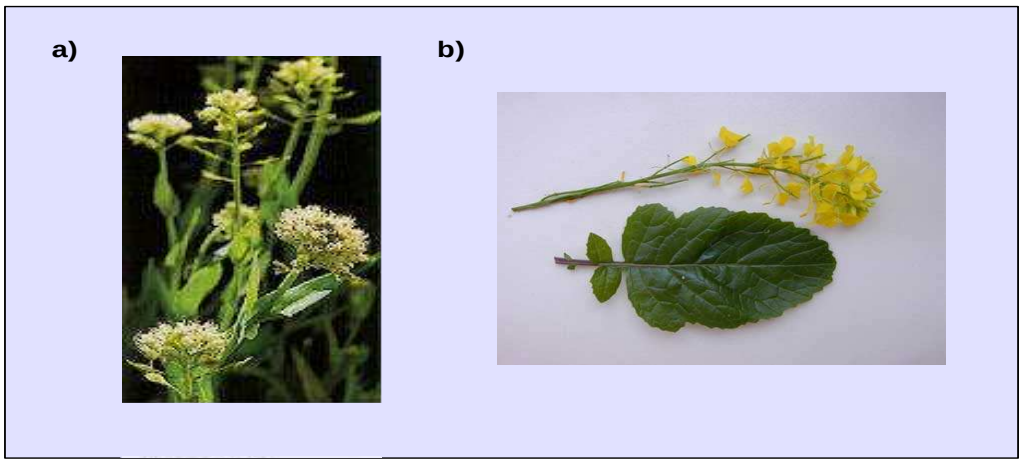
Figura 2.3: Fitovolatilização (GELLER, 1999)

2.4.2.2 - FITODEGRADAÇÃO

A fitodegradação, também conhecida como fitotransformação, é o processo no qual a planta decompõe o composto orgânico absorvido através de seus processos metabólicos (RUBIN, 2007; FAN, 2007). Os contaminantes orgânicos são degradados ou mineralizados dentro das células vegetais por enzimas específicas. Entre essas enzimas destacam-se as nitroredutases (degradação de nitroaromáticos), desalogenases (degradação de solventes clorados e pesticidas) e lacases (degradação de anilinas). *Populus* sp. - álamo negro e *Myriophyllium spicatum* são exemplos de plantas que possuem tais sistemas enzimáticos (FIORENZA, 2000).

2.4.2.3 - FITOEXTRAÇÃO

Fitoextração, também chamada de fitoacumulação, é o processo no qual há a remoção por uma planta de contaminantes do solo, da água subterrânea ou da água superficial (REDDI, 2000). Envolve a absorção dos contaminantes pelas raízes, os quais são armazenados ou são transportados e acumulados nas partes aéreas das plantas. É aplicada principalmente para metais (Cd, Ni, Cu, Zn, Pb) podendo ser usada também para outros compostos inorgânicos (Se) e compostos orgânicos como herbicidas e solventes clorados. Esta técnica utiliza plantas chamadas hiperacumuladoras, que tem a capacidade de armazenar altas concentrações de metais específicos (0,1% a 1% da massa seca, dependendo do metal). As espécies *Brassica juncea* (mostarda); *Aeolanthus biformifolius*, *Alyssum bertolonii* e *Thlaspi caerulescens* são exemplos de plantas acumuladoras de Pb, Cu/Co, Ni e Zn respectivamente (McGRATH, 1998) (Figura 2.4).



2.4: Espécies hiperacumuladoras: a) *Thlaspi caerulescens*. b) *Brassica juncea*.

A acumulação de metais pelas plantas só é eficiente se o contaminante for removido posteriormente do solo, através, por exemplo, da colheita da matéria vegetal. Se a maior parte dos metais pesados capturados se localizar na parte aérea das plantas, a colheita poderá ser realizada utilizando os métodos de agricultura tradicionais. Em geral, é necessário colher as plantas antes da queda das folhas ou antes da sua morte e decomposição, de modo a que os contaminantes não se dispersem ou retornem ao solo (ZEITOUNI, 2003).

Depois da colheita, a biomassa deverá ser processada para extração e recuperação da maior parte dos metais. Se forem solos com Ni, Zn, Cu ou Co, o valor do metal extraído pode incentivar a remediação. Alternativamente, o volume ou a massa do vegetal podem ser reduzidos por meio de processos térmicos, físicos, químicos ou microbiano. No caso da queima das plantas, por exemplo, a energia produzida representa uma valorização econômica do processo. As cinzas podem ser tratadas como um minério, do qual pode ainda ser extraída a contaminação metálica (especialmente, se as cinzas estiverem enriquecidas em apenas um ou dois metais). A figura 2.5 apresenta os processos envolvidos com a técnica de fitoextração.

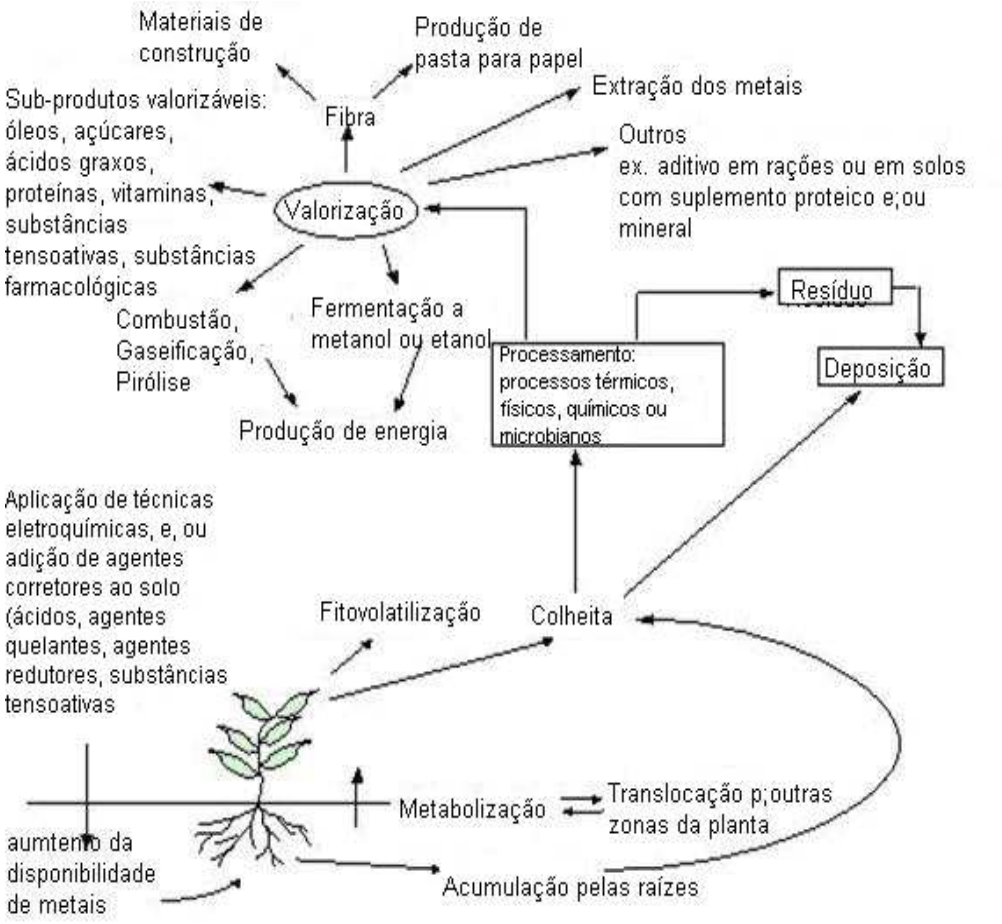


Figura 2.5: Processos envolvidos na fitoextração (KUMAR, 1995).

No caso dos metalóides, Se e Hg, por exemplo, a remoção é realizada espontaneamente, por volatilização desses metais absorvidos pela vegetação. O metalóide selênio, se volatiliza em alguns sistemas vegetativos, sob a forma de dimetilselenídeo ($Se(CH_3)_2$) e dimetildiselenídeo ($Se_2(CH_3)_2$). O arroz, os brócolis, as couves, e algumas outras plantas, são capazes de volatilizar o selênio. Também foi desenvolvido um método para a volatilização do mercúrio.
Este método envolve a introdução do gene bacteriano - redutase do íon mercúrico - que reduz o cation ao metal (Hg) nas plantas, o qual é volátil à temperatura ambiente (MAZZUCO, 2008; ZAYED *et al*, 2000; BAÑUELOS, 2000).

2.4.2.4 - RIZOFILTRAÇÃO

A rizofiltração é o processo no qual os poluentes são adsorvidos ou precipitados nas raízes das plantas ou absorvidos pelas raízes das plantas através das suas membranas por processos bióticos ou abióticos (USEPA, 2000).

A rizofiltração é utilizada principalmente para o tratamento de águas contaminadas. Similarmente a fitoextração, as plantas utilizadas apresentam raízes que desenvolvem um sistema radicular com grande área de contato. Quando as raízes tornam-se saturadas com os contaminantes, as plantas são coletadas e trocadas para a continuação da remediação (MELO, 2001; REDDI, 2000).

2.4.2.5 - RIZODEGRADAÇÃO

A rizodegradação é um processo semelhante a fitodegradação ocorrendo porém, na rizosfera. Na parte externa, da planta, o composto orgânico é decomposto pelas bactérias e fungos que são estimulados pela liberação de exsudatos da raiz (matéria orgânica solúvel, nutrientes) e enzimas (SUSARLA, 2002; REDDI, 2000).

2.4.2.6 - FITOESTABILIZAÇÃO

A fitoestabilização é o processo que pode ser usado para minimizar a migração do contaminante no solo. Neste processo, as raízes da planta têm a capacidade para alterar o pH e a composição do solo (SUSARLA, 2002).

Também é definido como o processo de imobilização do contaminante do solo através da absorção e acumulação pelas raízes, adsorção nas raízes ou precipitação na zona

das raízes das plantas ou como o processo que utiliza plantas e suas raízes para impedir a migração de contaminantes através dos ventos, erosão, lixiviação e dispersão do solo. A fitoestabilização ocorre através da química e da microbiologia da zona da raiz e/ou pela alteração do ambiente do solo ou do contaminante. O pH do solo pode ser alterado pelos exudatos da raiz da planta ou através da produção de CO_2. A fitoestabilização pode mudar a solubilidade de um metal ou mobilizar ou impactar a dissociação de compostos orgânicos (USEPA, 2000).

A tabela 2.5 apresenta algumas espécies de planta que são utilizadas na fitorremediação.

Tabela 2.5: Espécies utilizadas em diferentes aplicações de fitorremediação (SUSARLA, 2002)

PLANTA	APLICAÇÃO	CONTAMINANTES	MEIO	LOCAL
Miscanthus x giganteus	Fitoextração	Metais	Sedimento	Portugal
Alfafa (*Medicago sativa*) Álamo negro (*poplar*)	Fitoextração	HPAs	Solo Água subterrânea	Ogden, USA
Trevo (*Trifolium spp*.)	Rizofiltração, Fitodegradação	HPAs	Solo	Portsmouth, USA
Lentilha *(Lens esculenta*)	Fitodegradação	TNT	Água Subterrânea	Tennessee, USA
Álamo negro (*poplar*)	Fitovolatilização Rizofiltração	TCE, PCE	Água Subterrânea	Maryland, USA

TNT=trinitrotolueno; TCE=tricloroetileno; PCE= tetracloroetileno

2.4.3. – Seleção das Espécies

O processo da fitorremediação deve focar essencialmente a dissipação do contaminante através da biomassa radial e aérea, bem como o aumento da atividade microbiana para promover a degradação e bioacumular o poluente.

Alta densidade radicial e raízes profundas são características favoráveis para a fitorremediação, como ilustrado na figura 2.6. Compostos com alta solubilidade podem ser absorvidos por espécies arbóreas que podem controlar o nível do lençol freático. As espécies forrageiras são mais documentadas para a cobertura e descontaminação de solos e, ao contrário de plantios com finalidades comerciais, não visam alta produção de grãos.

As plantas devem estar adaptadas aos fatores físicos e ambientais da região, tais como a cota de elevação do local, o regime de chuvas e a média de temperatura. Cabe observar também a fisiologia da espécie quanto à fotossíntese.

Testes de fitotoxicidade das espécies aos contaminantes são importantes antes da implantação do processo de fitorremediação. Geralmente são consideradas a porcentagem de germinação e o desenvolvimento vegetativo.

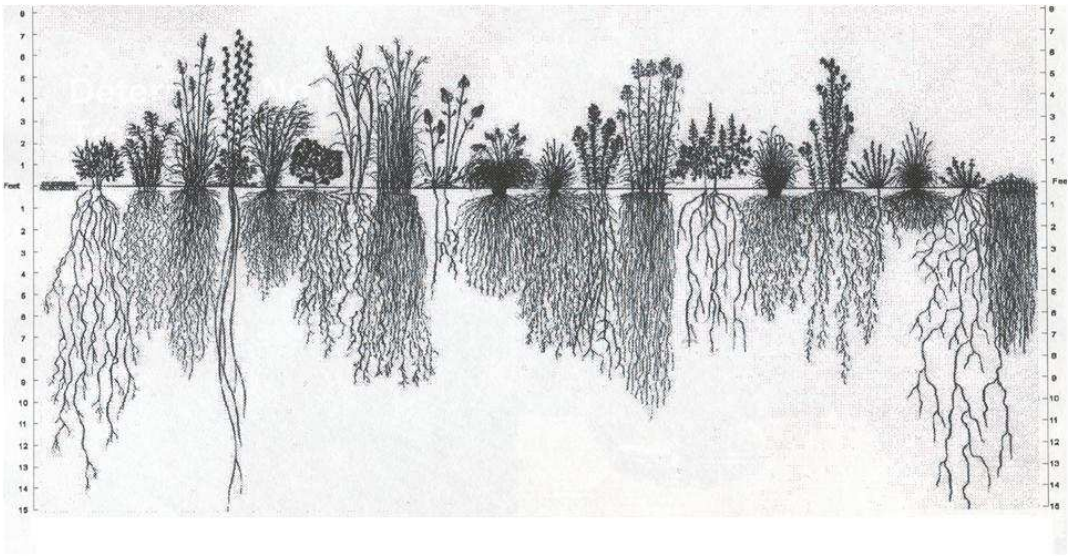


Figura 2.6: Seleção das espécies: morfologia das raízes (USEPA, 2000).

É desejável que as plantas que apresentem potencial para fitorremediação possuam algumas características que devam ser usadas como indicativos para seleção. Com base nas análises apresentadas por diversos autores (BAÑUELOS, 2000; VOSE *et al*, 2000; FRICK, 1999; BAÑUELOS, 1997; CUNNINGHAM, 1996; ROGERS, 1996), essas características devem ser:

- capacidade de absorção, concentração e/ou metabolização e tolerância ao contaminante;
- retenção do contaminante nas raízes, no caso da fitoestabilização, como oposto à transferência para a parte aérea, evitando sua manipulação e disposição;
- sistema radicular profundo e denso;
- alta taxa de crescimento e produção de biomassa;
- capacidade transpiratória elevada, especialmente em árvores e plantas perenes;
- fácil colheita, quando necessária a remoção da planta da área contaminada;
- elevada taxa de exsudação radicular;
- resistência a pragas e doenças;

- fácil aquisição ou multiplicação de propágulos;
- fácil controle ou erradicação;
- capacidade de desenvolver-se bem em ambientes diversos; e
- ocorrência natural em áreas poluídas (importante na identificação, porém não é pré-requisito).

Duas espécies da família *Leguminosae*, uma espécie exótica e outra nativa do Brasil, foram selecionadas para esse estudo. Essa família apresenta um grande número de espécies que ocorrem em várias regiões do Brasil e apresenta relativa facilidade na obtenção de sementes.

A escolha pelo uso das espécies leguminosas, ocorreu pela característica especial que elas possuem em relação à outras espécies, que é a capacidade de se associarem com microrganismos do solo, como bactérias fixadoras de nitrogênio, denominadas de rizóbio. O rizóbio transforma o nitrogênio do ar, em compostos nitrogenados assimiláveis pelos vegetais, podendo tornar a planta parcial ou totalmente independente do aporte externo desse nutriente.

O estudo sobre a família *Leguminosae* está estabelecido no Brasil por diversas instituições onde são comumente recomendadas para revegetação de áreas degradadas.

Machado *et al* 2006, citam outra associação muito importante também que é a que ocorre com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Esses microrganismos, através de suas hifas, aumentam a área de contato entre o solo e as raízes das plantas, o que lhes possibilita uma maior absorção de água e nutrientes com destaque para o elemento fósforo, por sua baixa mobilidade nos solos tropicais. Nitrogênio e fósforo estão entre os nutrientes mais requeridos pelos vegetais, e aliado a isso, a disponibilidade deles em solos pobres, é muito baixa, devido ao baixo teor de matéria orgânica, limitando assim o crescimento do vegetal.

Algumas espécies de leguminosas fixadoras de nitrogênio estão identificadas e relacionadas com as várias condições ambientais de altitude, regime hídrico, temperatura adequada e as várias condições de solo como ácido, alcalinos, salinos, pouco drenados e as suas respectivas limitações. Esses dados servem de subsídio na seleção de espécies adequadas a serem introduzidas no ecossistema a ser fitorremediado, possibilitando a revegetação de áreas degradadas. (FARIA, 2000).

A tabela 2.6 reúne algumas espécies utilizadas em estudos sobre a técnica de fitorremediação.

Tabela 2.6: Estudos sobre fitorremediação e algumas das espécies utilizadas

Espécie	**Tipo**	**Contaminante**	**Efeito estudado**	**Referência**
Medicago sativa L. (alfafa)	L	Pireno/antraceno	Rizosfera	Wiesel, 1997
Populus fastigiata Poplar tree		Tricloroetileno	Metabolismo	Newman, 1998
Galega orientalis	L	BTX	Efeito fix N2	Suominen, 2000
Lolium perene (azevém)	G	HPA	Rizosfera	Joner,. 2003
Lolium multiflorum Lam. (azevém)	G	Pireno	Solo/rizosfera	Lalande. *et al*., 2003
Leuceana leucocephala (leucena)	L	Dibromoetano Tricloroetileno	Degradação metabólito	Doty, 2003.
Medicago sativa L. (alfafa)	L	Betume	Rizosfera	Muratova, 2003
Festuca arundinacae	G	HPA	Rizosfera	Banks, 2004
Medicago sativa L. (alfafa)	L	Petróleo	Efeito fix N2 na fito HPA	Rooney, 2004
Medicago sativa L. (alfafa)	L	Petróleo	Rizosfera	Kirk, *et al*., 2005
Sebastiania commersoniana		Petróleo	Nutrientes	Thibes *et al*, 2006.
Sebastiana commersoniana (branquilho),		Óleo diesel	Germinação	Silva, 2006
Spartina alterniflora	G	Petróleo	Degradação	Viana, 2007
Sida acuta (vassoura) *Ricinus communis* (mamona) *Calotropis procera* (janaúba) *Cássia fistula (*chuva de ouro)		Metais	Extração	Gupta, 2007
Lolium perene (azevém)	G	HPA	Extração	Rezek *et al*, 2008
Stachys sylvatica (mostarda) *Calamagrostis arundinacea*	G	Metais	Extração	Antosiewicz. *et al.* 2008
Buddleja asiatica *B. paniculata*		Pb	Extração	Piyaporn *et al*, 2008
***Acácia holoserícea* (acácia)**	**L**	**Pireno/LCO**	Degradação	Ribeiro, 2008
***Mimosa caesalpiniifolia* (sabiá)**	**L**	**Pireno/LCO**	Degradação	Ribeiro, 2008

L=leguminosa; G=gramíneas

Torna-se difícil reunir todas essas características numa só espécie, porém aquela que for selecionada deve reunir o maior número delas. Outro aspecto a ser observado é

que, embora a maioria dos testes avalie plantas isoladas, várias espécies podem ser usadas em um mesmo local, ou ao mesmo tempo ou subseqüentemente, para remover mais de um contaminante (MILLER, 1996).

2.5. FITORREMEDIAÇÃO: INTERAÇÃO SOLO-PLANTA-MICRORGANISMOS

As plantas podem transpirar no subsolo e reduzir as concentrações de contaminantes orgânicos no solo e no lençol freático. Essa atividade de evapotranspiração da vegetação atuando como um sistema natural de bombeamento e tratamento (*"pump and treatment")* tem mostrado a capacidade das plantas de absorver, processar e converter contaminantes orgânicos para metabólitos menos tóxicos tanto em laboratório quanto em estudos de campo (RUBIN, 2007). A vegetação também possui um papel significante na biorremediação porque ela estimula a degradação de compostos orgânicos na rizosfera pela liberação de exudatos e enzimas pelas raízes. O sucesso de qualquer planta baseado no sistema de remediação depende da interação dela com os sistemas solo e contaminante. Conhecendo o destino de um contaminante no solo pode-se determinar sua persistência no meio ambiente terrestre e obter o sucesso do método de remediação aplicado. Para isso, é necessário uma compreensão das interações microrganismo-planta-solo que determinam o destino dos contaminantes orgânicos no ecossistema planta-solo (KARTHIKEYAN, 2003).

As plantas possuem um significante papel nas alterações das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e o efeito delas no meio ambiente do solo altera o destino e o processo de transporte do contaminante. As plantas podem, por exemplo, alterar a mobilidade do contaminante por uma mudança do conteúdo de água no solo, liberando exudatos pelas raízes que podem conduzir a uma alteração de pH que, por sua vez, afeta o movimento de elementos traço no solo. Também, ao aumentarem a população de microrganismos no entorno da superfície das raízes, estimulam a biodegradação dos compostos orgânicos.

É sabido da importante influência das raízes das plantas na estrutura do solo porém, os mecanismos pelos quais alteram a sua estrutura ainda são desconhecidos. Em particular, as mudanças estruturais nas raízes das plantas não podem ser atribuídas somente à produção de resíduos em decomposição da planta. As plantas também afetam a densidade do solo, a matéria orgânica, a agregação e a disponibilidade de oxigênio. Assim, todas essas propriedades afetam no final, o destino e o processo de transporte dos contaminantes orgânicos no solo (COSTA, 2004).

Diversas plantas têm sido estudadas quanto à interação de produtos químicos de natureza xenobiótica complexa com as comunidades microbianas a nível molecular buscando facilitar o processo de biotransformação (ARAÚJO, 2000; BANKS, 2000).

Já o solo é um sistema complexo constituído de uma mistura heterogênea de componentes sólidos, líquidos e gasosos, sendo a fase sólida composta de uma porção mineral e uma fração orgânica, contendo partículas de variada composição e propriedades físicas e químicas (BRADY, 1996). A fração orgânica é complexa, composta por uma diversa população de organismos ativos, e resíduos de plantas e animais em vários estados de decomposição (SPOSITO, 1989). A fase líquida do solo consiste essencialmente de água, que preenche parte ou todos os espaços vazios entre as partículas do solo. A água do solo contém solutos que podem ter sido dissolvidos da fase mineral do solo ou podem ser absorvidos através da superfície do solo por meios naturais ou antropogênicos, e é contida por forças na matriz do solo, variando significantemente na sua mobilidade dependendo da sua localização. A fase gasosa do solo ocupa os espaços vazios ocos que não foram preenchidos com água ou outro líquido. Esta fase pode ter gases que diferem consideravelmente daqueles do ar acima da superfície do solo e pode sofrer mudanças em curto espaço de tempo. A relação entre os constituintes das três fases é afetada pelas propriedades físicas e químicas, como por exemplo, a temperatura, a pressão e a luminosidade (KARTHIKEYAN, 2003).

Os solos são sistemas que sofrem contínuas transformações químicas e biológicas que os ligam fisicamente com a atmosfera e a hidrosfera e uma das formas de interação é a presença de plantas. Enquanto o solo fornece o meio suporte e a fonte de nutrientes para a vida das plantas, essas acumulam matéria orgânica na matriz do solo, mantêm a comunidade microbiana, captam e transpiram a água do solo na atmosfera. Isso muda as condições hidrológicas que regulam as fases líquidas e gasosas na matriz do solo e cada uma dessas interações afetam o meio ambiente do solo (ANDRADE, 2001; BRADY, 1996).

Assim, o sucesso da fitorremediação do solo depende de vários fatores inter-relacionados os quais incluem as condições do solo, processo de transporte, características microbianas e o tipo de vegetação, além das propriedades, concentrações e distribuição dos contaminantes. As propriedades do solo que influenciam no destino e no transporte do contaminante estão representadas na figura 2.7.

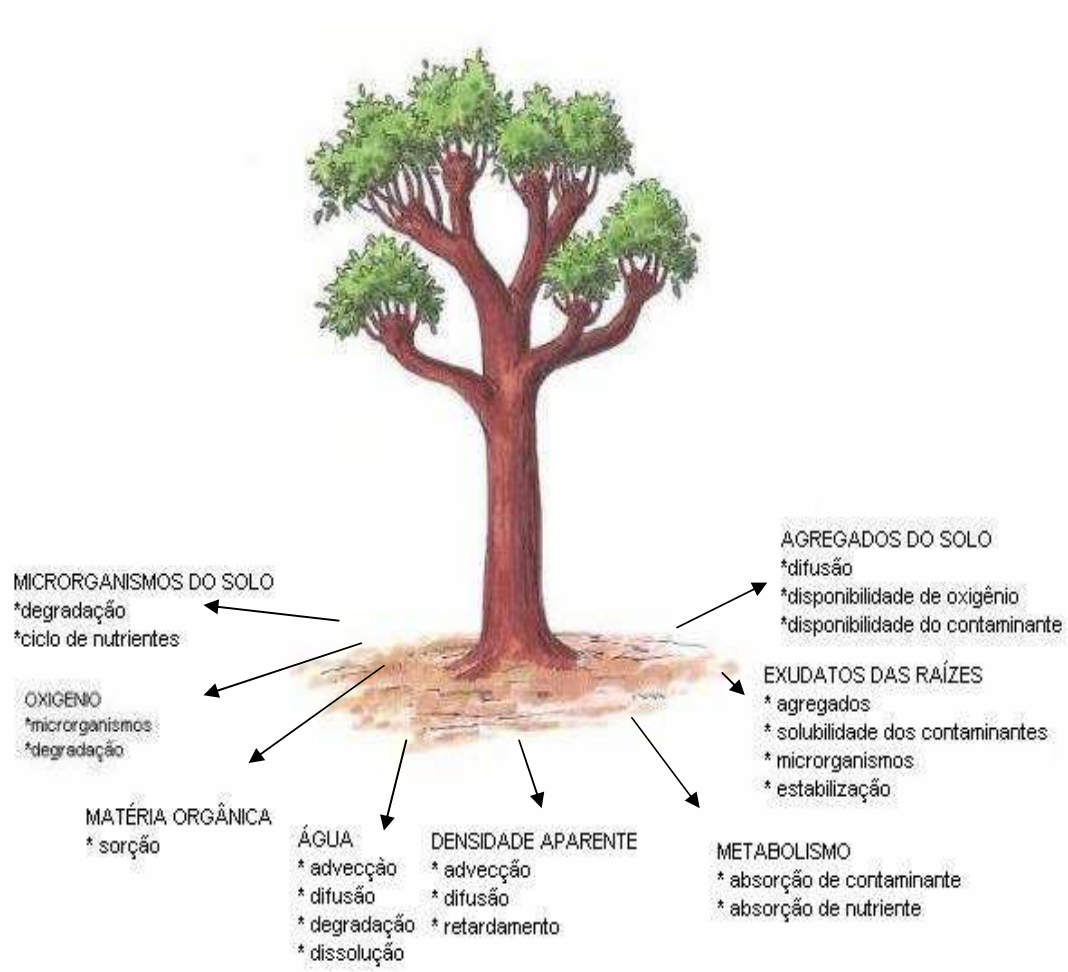


Figura 2.7: Efeito das plantas e das propriedades do solo que influenciam no destino e no processo de transporte do contaminante. Fonte: KARTHIKEYAN e KULAKOW (2003) Adaptado.

2.5.1. - Propriedades do Solo: Influência no Destino e Transporte de Contaminantes

2.5.1.1 - Densidade

A densidade do solo é a relação entre a massa e o volume do solo. Pode ser afetada por vários processos, naturais e antropogênicos, como por exemplo, o desenvolvimento de raízes de plantas e a utilização de máquinas pesadas, respectivamente. Em geral, a compactação do solo resulta na diminuição do volume e consequentemente em aumento da densidade.

A densidade altera a estrutura do solo em termos de volume, tamanho e forma dos espaços vazios. E, assim, altera a direção do transporte de água e o fluxo de massa de contaminantes pela criação de gradientes de pressão. O transporte de gases no solo, que derivam da atmosfera ou de contaminantes voláteis, ocorre principalmente

entre poros do solo preenchidos com ar. O aumento da densidade reduz a porosidade do solo, o que pode parar ou limitar a transferência de contaminantes voláteis na fase gasosa. A difusão gasosa é reduzida e a distribuição do tamanho dos poros torna-se alterada, resultando na perda de poros maiores onde a maioria da transferência de massa ocorre. A alteração da densidade também pode alterar a temperatura do solo podendo comprometer a cinética da degradação já que a degradação de muitos contaminantes é dependente da temperatura.

As plantas transportam o oxigênio da atmosfera para a zona das raizes e durante esse processo, bolsas de ar podem ser criadas no entorno das raizes soltando as partículas do solo e aumentando o volume do solo por massa, resultando em uma menor densidade aparente. Quando raízes crescem em solos não-saturados, a água neles presente é deslocada dos espaços vazios e a área de contato entre as partículas adjacentes aumenta. Este aumento depende do grau de deformação das partículas do solo pelas raízes das plantas. Entretanto, normalmente assume-se que a deformação é elástica na natureza e que as partículas de solo retornarão a sua posição anterior uma vez que as raízes morram. Assim, a compactação do solo depende do arranjo das partículas e do grau de carga aplicado pelas raízes.

Quando as raízes das plantas se decompõem aumenta a permeabilidade do solo com a água fluindo pelos canais criados pela decomposição das raízes. Isso foi demonstrado por Larson (1971), num solo arenoso sintético onde as raízes inicialmente causaram a redução dos espaços porosos devido a compactação pelas raízes, mas depois, com o resíduo da raiz decomposta, a permeabilidade aumentou e a densidade diminuiu.

Apesar do crescimento da planta ter efeitos a longo prazo, solos compactados com densidade relativamente alta podem limitar o desenvolvimento das raizes e o crescimento da planta. Isto pode ser um problema em zonas industriais com estrutura de solo pobre e compactado por equipamentos pesados (BRADSHAW, 1980). Portanto, o estabelecimento bem sucedido de plantas em locais contaminados depende do gerenciamento do solo e das operações de preparo da terra para o plantio que minimizem a compactação.

2.5.1.2. - Agregação do solo

A agregação do solo é um fator controlador da atividade microbiana e da presença de matéria orgânica. A formação de agregados se inicia quando a microbiota do solo e as

raízes das plantas produzem fibrilos, filamentos e polissacarídeos que se combinam com a fração argila para formar complexos organominerais. Forças físicas como contração-dilatação, temperatura, compactação, movimento de animais e crescimento de raízes também contribuem para a formação de agregados no solo. As argilas são a base para a formação dos agregados, porém moléculas orgânicas, microrganismos, partículas de silte e pequenas raízes também participam de sua formação. Os agregados variam de tamanho, sendo classificados em macro agregados (partículas > 250 μm de diâmetro) e em micro agregados (partículas < 250 μm de diâmetro), conforme KARTHIKEYAN (2003).

A agregação do solo aumenta a sua permeabilidade facilitando o transporte de água e nutrientes pela formação de fluxo macro-poro, o que pode facilitar a degradação de contaminantes. O destino dos contaminantes e dos microrganismos contidos em um agregado é completamente diferente do destino dos localizados fora de um agregado. Dentro de um agregado há a limitação de transferência de oxigênio, ou seja é um meio anaeróbico. Os contaminantes contidos em um agregado estarão sujeitos a degradação anaeróbica, que não é tão eficiente quanto à degradação aeróbica para muitos contaminantes, consequentemente, esses contaminantes serão degradados mais lentamente do que os contaminantes fora dos agregados podendo persistir por anos e até não serem biodisponibilizados aos microrganismos (KARTHIKEYAN, 2003). Sewell (1991) e Vogel (1987) descreveram como a agregação pode afetar o destino do tricloroetileno (TCE), um composto tóxico que se biotransforma anaerobicamente em outro composto tóxico, cloreto de vinila, e só pode ser degradado completamente em condições aeróbicas, continuando a ser uma ameaça ao meio ambiente por estar impedido de ser degradado por estar dentro do agregado.

Pezeshki *et al* (2000) observaram que a granulometria e a composição do solo (areia, argila, silte) influenciaram no grau de degradação do petróleo e que as características do solo contaminado tiveram um papel importante no grau de remediação pelas plantas.

2.5.1.3 - Matéria Orgânica

A matéria orgânica é um componente importante do solo e pequenas alterações podem trazer grandes diferenças nas características físicas do solo, incluindo capacidade de sorção, retenção de água e formação da estrutura. A matéria orgânica

influencia nas propriedades químicas do solo como a capacidade de troca catiônica, a quelação de metais e outros íons. Em termos de massa, os microrganismos contribuem pouco para o conteúdo de matéria orgânica no solo, porém as ações desses organismos são responsáveis pelo destino da matéria orgânica e dos contaminantes no solo. A maior parte da matéria orgânica do solo é derivada tanto de exudatos como de resíduos de plantas, sendo composta de proteínas, gorduras, açúcares e uma mistura de materiais poliméricos. Os compostos contendo nitrogênio, incluindo polipeptídios complexos e ácidos nucléicos são rapidamente decompostos pelos microrganismos. Os óleos e gorduras são mais lentamente decompostos, em parte porque são insolúveis em água (COUKLIN,1998).

A presença de vegetação pode aumentar o conteúdo de matéria orgânica pela liberação de exudatos das raízes e alguns hidrocarbonetos podem tornar-se parte do húmus do solo por via microbiana ou por incorporação direta. Os exudatos liberados pelos microrganismos e pelas raízes das plantas influenciam o pH do solo, o ciclo de nutrientes e o movimento dos metais traço (WESTGATE,1995).

Schnoor (1995) oservou que os níveis de produção de enzimas são dependentes das espécies de plantas e que algumas dessas enzimas podem metabolizar poluentes xenobióticos. Dependendo do tipo de enzima, podem ser encontradas interna ou externamente ao sistema da planta (SCHNOOR, 1995).

O ambiente no entorno das raízes das plantas tem sido estudado de diferentes perspectivas como por exemplo, o efeito enzimático na planta e efeito da microbiota associada à planta (NEWMAN, 1998; SHIMP, 1993). Além disso, as diferenças na velocidade e tempo (idade, estação, estresse induzido, etc.) de liberação de enzimas ainda estão sendo objeto de pesquisa.

A matéria orgânica do solo tem um papel importante no destino, transporte e na degradação dos contaminantes orgânicos tendo em vista que esses hidrocarbonetos tendem a fazer a partição da matéria orgânica do solo que, uma vez sorvida, a degradação pode ser dependente da velocidade que os contaminantes são dessorvidos na fase aquosa (CARMICHAEL,1997; SPOSITO, 1989; MEANS, 1980).

2.5.1.4. - Conteúdo de água

A extração de água do solo pelas raízes das plantas altera significativamente o seu conteúdo de água que por sua vez, influencia no processo microbiano, no crescimento da planta e no destino e transporte de contaminantes (CHANG, 2008).
O conteúdo de água no solo influencia muitos processos, incluindo a troca de gases com a atmosfera, a difusão de contaminantes e nutrientes para as raízes das plantas, a difusão de contaminantes dentro da matriz do solo, a temperatura do solo e a velocidade com que os contaminantes se movem através da zona das raízes durante uma chuva ou irrigação. As forças que conservam a água na matriz do solo também afetam muitos processos no solo incluindo a eficiência da extração de água da planta e a quantidade de lixiviado. A relação solo-água pode afetar a decomposição de compostos orgânicos e a taxa de volume de matéria orgânica (WEAVER, 2000).

O conteúdo de água no solo diminui devido à atividade da planta e por conseguinte, aumenta a porcentagem de poros preenchidos com ar resultando no aumento da tensão de oxigênio no solo. Como resultado, o solo torna-se mais aeróbico, podendo aumentar a taxa de degradação de alguns contaminantes pela estimulação da atividade microbiana. Microrganismos do solo existem em uma microscópica cavidade dentro do solo e sobrevivem ativos somente quando nutrientes e água são disponibilizados. E o conteúdo ótimo de água para ocorrer essa degradação corresponde ao preenchimento de até 60% dos poros do solo com água. Quando o conteúdo de água aumenta acima de 60%, a decomposição pode diminuir ou cessar totalmente, em razão da redução de disponibilidade de oxigênio no solo, que reduz as atividades microbianas. Em geral, o processo aeróbico ocorre quando 20 à 60% dos poros estão preenchidos com água enquanto processos anaeróbicos podem ocorrer quando mais de 60% dos poros estão preenchidos. Abaixo de 20%, o volume de água é insuficiente para atuar como um meio adequado para suportar os microrganismos (SAWATSKY,1997).

O crescimento das raízes das plantas também está intimamente relacionado com o conteúdo de água no solo, existindo uma relação direta entre o conteúdo de água do solo e a taxa media diária de água consumida pela vegetação (PAUL, 1996).

2.5.1.5. - Disponibilidade de oxigênio

Organismos vivos, particularmente os microrganismos do solo podem obter energia da oxidação de compostos químicos reduzidos. Além da disponibilidade de carbono, os microrganismos requerem receptores de elétrons para que ocorra a degradação. Para os microrganismos aeróbicos, o oxigênio atua como o receptor terminal de elétrons para a degradação dos contaminantes orgânicos Além disso, vários estudos têm mostrado que muitos hidrocarbonetos não necessitam absolutamente de oxigênio para que uma significante biodegradação ocorra. Em muitos casos, a concentraçao de oxigênio disponível é o fator limitante na biodegradaçao e, na ausência do oxigênio, formas oxidadas de nitrogênio, manganês e ferro podem servir como receptores de elétrons (SPOSITO, 1989).

A presença ou ausência do oxigênio depende de vários fatores tais como, o conteúdo de água e a densidade aparente, assim como da quantidade total de espaços porosos preenchidos com ar, do tamanho dos poros, da taxa de consumo de oxigênio e da distribuição geométrica dos microrganismos aeróbicos na camada de solo. Altas quantidades de espaços porosos preenchidos com ar asseguram a existência de altas reservas de oxigênio e permitem uma rápida difusão de oxigênio. Em solos finamente texturizados -solo argiloso pesado - o pequeno tamanho dos poros impede a difusão do oxigênio e a presença de substratos orgânicos metabolizados, incluindo os hidrocarbonetos, e tendem a reduzir a reserva de oxigênio, especialmente se a taxa de ressuprimento for limitada. Assim, a taxa de difusão do oxigênio diminui nas camadas mais profundas de solo. Contudo, as raízes das plantas podem melhorar a difusão de oxigênio nas camadas mais profundas pela existência de canais nas raízes para o fluxo de ar (GIBSON, 1984).

2.5.1.6.- Microrganismos do solo

O solo proporciona um habitat para uma diversidade de organismos desde microrganismos até seres macroscópicos como as plantas. As propriedades biológicas do solo incluem as atividades dos microrganismos no solo, sendo as bactérias os menores e o mais numeroso de todos os organismos do solo, com mais de 400 gêneros e uma estimativa de 10^4 espécies (PAUL, 1996; ATLAS, 1993).

As plantas liberam nutrientes tais como aminoácidos, açúcares simples, carboidratos e enzimas que são substratos potenciais para os microrganismos. Os exudatos das

raízes normalmente são substâncias de baixa massa molecular que escapam das células das plantas dentro do solo através dos espaços entre células ou diretamente da parede epidermal da célula; as secreções das raízes e hormônios das plantas incluem compostos com baixa massa molecular e mucilagens de alta massa molecular sendo os dois liberados por processos metabólicos. A rotatividade das raízes é o mecanismo que mais adiciona carbono orgânico à matriz do solo, que é uma fonte potencial de energia para os microrganismos. Análises de compostos orgânicos revelaram encontrar nas raízes e próximo delas uma grande variedade de ácidos alifáticos, aminoácidos e ácidos aromáticos, assim como amido, açúcares e açúcares aminados. Além disso, para cada composto solúvel e difusível, existem vários compostos insolúveis ocorrendo nas raízes como celulose, lignina e proteína. Estes compostos insolúveis são liberados das raízes pela exfoliação celular bem como pela sua poda. Alguns ácidos aromáticos e enzimas ocorrem somente na zona das raízes de espécies específicas.

Durante a atividade do crescimento, os microrganismos necessitam de 30 partes de carbono para cada parte de nitrogênio que eles utilizam (PAUL, 1996). Assim, eles podem rapidamente esgotar de um solo as fontes de carbono e nitrogênio disponíveis, derivados da decomposição das plantas, dos exudatos das raízes e da decomposição microbiana da matéria orgânica do solo (ATLAS, 1993). O fósforo e outros nutrientes inorgânicos na fase aquosa também são essenciais para o crescimento microbiano e a biodegradação. Vários estudos mostraram que a rotatividade da matéria orgânica do solo e o processo do ciclo de nutrientes são conduzidos microbiologicamente (KOCHETKOV, 1997), tendo sido observado que os microrganismos podem ser considerados reatores bioquímicos que conduzem o processo da biodegradação. As bactérias dos gêneros *Pseudomonas, Mycobacterium, Actinobacter, Flavobacterium, Arthrobacter, Bacillus* e *Nocardia* (WALTON, 1994; ATLAS, 1992) são alguns dos componentes da microbiota que mineralizam muitos contaminantes orgânicos conforme estudos que documentam a capacidade de degradação destes compostos (LEE *et. al*, 2008; YATEEM, 2007; MUCKIAN *et. al*, 2007; PRADHAN, 1998).

Muitas bactérias possuem a tendência de agregar partículas sólidas e formar um biofilme o qual é rico em substratos desejáveis pelos microrganismos e devido a abundante liberação de exudatos pelas raízes das plantas, há uma rápida formação de um biofilme que geralmente ocorre em torno de 50 um da superfície da raiz. Nessa proximidade, o tamanho da população microbiana pode ser 50 à 100 vezes maior que em um solo sem vegetação (tabela 2.7).

Tabela 2.7: Número de bactérias em relação à distância entre a superfície e a raiz (Paul, 1996)

Distância da superfície (mm)	Freqüência estimada (10^9 células.mL)	Morfologia perceptível
0-1	120	11
1-5	96	12
5-10	41	5
10-15	34	2
15-20	13	2

A maioria dos membros da microbiota do solo são organotrópicos e a maior fonte de carbono para esses organismos são as raízes das plantas e os resíduos orgânicos provenientes do crescimento da planta (BACHMANN, 1992). Portanto, as plantas suportam as comunidades microbianas na rizosfera pelo abastecimento dos microrganismos com nutrientes via exudatos das raízes.

Rizosfera é a porção do solo associada à raiz da planta onde os processos de biodegradação ocorrem, envolvendo a interação da planta com o contaminante na superfície da raiz ou no solo próximo a raiz da planta.

O termo “rizosfera” foi introduzido pela primeira vez em 1904 para descrever a interação específica entre bactérias e as raízes de legumes; tal denominação tem sido aprimorada para considerar a rizosfera como a região do solo sob a influência imediata das raízes das plantas onde existe um aumento da população microbiana, conforme mostrado na figura 2.8. Não se estende muito além da superfície da raiz, sendo que o principal fator que a caracteriza é o contínuo abastecimento de compostos orgânicos de baixa massa molecular excretados pelas raízes. Estes compostos servem como fontes de carbono e energia para a comunidade bacteriana (PIRES *et al.*, 2005).

Diferentemente, as fontes de carbono da área que não é a do solo e que está associada à rizosfera são de massa molecular alta, de difícil disponibilidade, que são utilizadas lentamente e dão suporte a uma comunidade de bactérias e fungos que não estão metabolicamente ativos. Sendo uma região extensa e com uma comunidade de bactérias muito ativas metabolicamente e continuamente recebendo excreções para suportar o crescimento e a atividade das plantas, a microbiota da rizosfera reside numa região com diferentes concentrações de oxigênio e nutrientes inorgânicos e propriedades físicas diferentes que contrastam com a microbiota do solo. O sistema solo-planta é reconhecidamente capaz de absorver e transformar compostos orgânicos, incluindo halogenados e hidrocarbonetos poliaromáticos sendo também capaz de hiperacumular metais pesados nas raízes das plantas. (JONER, 2003)



Figura 2.8: Rizosfera: a) esquema; b) Muda de *Mimosa*; c) e d) vista da rizosfera da Mimosa

A presença de compostos orgânicos na rizosfera estimula o desenvolvimento de microrganismos que degradam estas substâncias, promovendo até certo ponto uma proteção à planta contra os efeitos tóxicos destes compostos (SUSARLA, 2002).

A microbiota na rizosfera é afetada por vários fatores. A quantidade de bactérias aumenta com a proximidade da superfície,em conseqüência disso, o conteúdo de CO_2 próximo a raiz é maior mas, por outro lado, a população microbiana diminui com a profundidade do solo.

A rizosfera é conhecida por abrigar uma grande diversidade de espécies de bactérias denitrificantes e Gram negativas (*Pseudomonas, Achromobacter*) mais do que Gram positivas (PAUL, 1996).

A interação entre a planta e a microbiota na rizosfera pode fornecer um método econômico para descontaminar grandes áreas (ADAM, 1999). Acredita-se que grande parte da degradação de hidrocarbonetos de petróleo seja realizada pelos

microrganismos associados às raízes (rizosfera) das plantas, que por sua vez proporcionam condições favoráveis para o desenvolvimento destes microrganismos (MERKEL, 2004).

Gudin (1975) registrou a ocorrência de leguminosas em solos contaminados com hidrocarbonetos poderia ser devido à sua habilidade de fixar nitrogênio e que, tais espécies de leguminosas tolerantes aos hidrocarbonetos deveriam ser identificadas e testadas quanto à habilidade de degradação desses poluentes.

Algumas espécies vegetais têm a capacidade de fixar nitrogênio no solo, dentre as quais, podemos citar aquelas pertencentes à família *Mimosaceae*, como por exemplo a *Mimosa pilulifera* (bracatinga do banhado). Estas espécies leguminosas, denominadas de pioneiras, são de suma importância para a recuperação de áreas degradadas, pois favorecem o restabelecimento de outras espécies (JONER, 2003).

Bona (2003) observou que a adição de nutrientes aos solos contaminados podem reduzir drasticamente o efeito negativo do petróleo sobre o crescimento da M*imosa scabrela* (abracatinga).

Muratova (2003) realizou experimentos em vasos contaminados com betume, plantados com *Medicago sativa* (alfafa) e *Phragmites australis* (junco) e não plantados. O autor observou que o contaminante reduziu mais significativamente o número de microrganismos no solo ynão plantado (75%) do que nos solos com rizosfera (42% e 7% para o junco e alfafa respectivamente). Também observou que a microbiota da rizosfera da alfafa foi pouco inibida pelo contaminante e mostrou possuir um potencial degradativo maior do que o junco.

Segundo AL-ZALZALEH (2004), o crescimento das quatro espécies de gramíneas estudadas (*Cynodon dactylon, Paspalum vaginatum, Pennesetum rubra* e *Zoysia tenuifolia*) foi afetado pela diminuição dos teores de nitrogênio e a outros nutrientes devido aos microrganismos decompositores de óleo competirem com as plantas por esses componentes.

Outros estudos publicados têm avaliado o efeito das plantas e a associação da rizosfera no destino dos contaminantes de petróleo (XIN *et al*., 2008; MERKEL, 2005, PIRES, 2005; JONER, 2003; REILLEY, 1996). Para a maioria, a presença de plantas aumenta a dissipação de contaminantes. Estudos utilizando contaminantes marcados com C^{14} em plantas em recipientes fechados, evidenciaram ser a mineralização maior

na rizosferera que em solo não vegetado, o que indicou que a biodisponibilidade do contaminante foi aumentada na rizosfera (SCHWAB, 1999; FERRO, 1997; ANDERSON, 1995). A redução da toxicidade do contaminante no solo relacionada à fitorremediação ainda não foi quantificada.

2.5.2 - Os processos de transporte e destino de contaminantes

Este item será tratado com menor profundidade visto que teses de Doutorado da COPPE, (e.g., Barbosa, 1994; Ritter,1998), já trataram este tema em detalhes.

Os processos de transporte e destino do contaminante na matriz do solo dependem de suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Assim, pode-se relacionar a eficiência da técnica da fitorremediação com algumas propriedades físicas e químicas do contaminante, como a massa molecular, solubilidade na água, pressão de vapor e sorção.

A capacidade do contaminante de interagir com o meio ambiente determina a sua persistência, enquanto que os processos de destino bióticos, tal como a biodegradação, determina o potencial de biorremediação. O destino do contaminante é determinado pelos processos de transferência de massa como a dissolução, hidrólise e a sorção que, em alguns casos, incluem as reações de oxi-redução, ácido-base, complexação e precipitação e pelos processos de transporte de massa (advecção, difusão e dispersão) (REDDI, 2000).

Newman *et al* (1998) estudaram o transporte e o destino de contaminante orgânico nas plantas através de traçadores, utilizando carbono isótopo radioativo, C^{14} e, observaram que compostos foram metabolizados pela álamo negro (*poplar trees*), em tricloroetanol, ácido tricloroacético e metabólitos do ácido dicloroacético sorvidos pelo solo e raiz e mineralizado à $^{14}CO_2$

2.5.2.1. – Advecção

A advecção é o processo pelo qual um contaminante se move com a água do poro do solo. Portanto, está relacionada à velocidade do fluxo de água e é diretamente afetada pelas mudanças do conteúdo de água no solo. O transporte advectivo diminui com a redução do conteúdo de água no solo por causa da diminuição da condutividade hidráulica efetiva do contaminante em solos insaturados. Os mecanismos de transporte dos contaminantes solúveis e insolúveis diferem entre si e são referentes a água contida no poro. O transporte dos contaminantes solúveis está rigorosamente

relacionado ao fluxo da água contida no poro, enquanto que o transporte dos contaminantes imiscíveis é governado por mecanismos dos poros não relacionados ao do fluxo da água (KARTHIKEYAN, 2003). O termo advecção descreve o transporte do soluto devido somente ao fluxo de água, no qual este soluto está dissolvido.

O fluxo de um material por advecção está associado à velocidade do próprio material, ou do meio no qual ele está sendo transportado, sendo portanto a velocidade a força diretriz no processo de advecção. O fluxo por advecção de um soluto com concentração C [ML^{-3}] na fase líquida, e velocidade da água (velocidade de advecção) através dos poros do solo v_a, pode ser expresso por:

$$F = C.v_a \qquad \text{(Equação 2.1)}$$

No caso de fluxo de contaminação através do solo, esta velocidade de advecção, v_a, ou velocidade linear média, é a velocidade aparente ou de Darcy, dividida pelo teor de umidade volumétrico (θ), que para solos saturados é igual a porosidade (n):

$$V_a = \frac{k\ \delta h}{n\ \delta x} \qquad \text{(Equação 2.2)}$$

Onde,
k = condutividade hidráulica [L/T]
$\delta h/\delta x$ = gradiente hidráulico [L/L]
n = porosidade

O fluxo por advecção está diretamente relacionado com a condutividade hidráulica, k (ou coeficiente de permeabilidade).

A condutividade hidráulica é uma propriedade que compreende a maior ou menor capacidade do solo em permitir a permeação através de seus poros. A condutividade e sua suscetibilidade a alterações com o tempo ou exposição a produtos químicos são fatores importantes na escolha de um solo para o uso em barreiras para controle de contaminantes. Os fatores e parâmetros que determinam a condutividade hidráulica do solo podem ser divididos em três grupos:

- Fatores e parâmetros que estão associados ao líquido que está sendo permeado (como por exemplo a viscosidade e a densidade);
- Fatores e parâmetros que estão associados às propriedades físicas e químicas do solo (como por exemplo o índice de vazios e grau de saturação);
- Fatores e parâmetros associados às interações físico-químicas que estão ocorrendo durante a percolação da solução no solo (como por exemplo a constante dielétrica e o momento dipolar).

O coeficiente de permeabilidade, k, é uma função do índice de vazios. Este é influenciado pela razão entre a densidade e a viscosidade da solução. O pH da solução percolada também pode ter influência na permeabilidade do solo, uma vez que variações no pH podem levar a estruturas do solo floculada ou dispersa, e portanto aumentar ou diminuir o valor do coeficiente de permeabilidade. Quando se trata de um material através de um fluxo turbulento ou seja, gradientes internos de velocidade, o processo é denominado dispersão mecânica

2.5.2.2. Dispersão

O processo por mecanismos dispersivos se caracteriza pelo espraiamento do material através do meio. Quando se trata de dispersão de moléculas, átomos ou íons sob ação de forças de natureza intermolecular em gases, fluidos ou sólidos, o processo é denominado difusão molecular.

A Difusão Molecular é definida como um processo onde a massa dissolvida é transportada de uma parte do sistema para outra, como um resultado de movimentos randômicos de íons, átomos ou moléculas. O transporte de contaminantes por difusão molecular torna-se o principal fator de transporte em solos finos de baixa permeabilidade, onde o transporte por difusão molecular é bem mais relevante do que o transporte por advecção. De um modo geral, quando se analisa transporte de contaminante dissolvido, a baixa condutividade hidráulica indica um crescimento na importância relativa da difusão molecular como mecanismo de transporte. A difusão molecular é descrita matematicamente por uma lei empírica denominada 1ª lei de Fick:

$$J = D_0 (\delta C/\delta x)$$ (Equação 2.3)

onde,

J = fluxo de massa da espécie dissolvida [M/L^2T];

C = concentração do soluto na fase líquida [M/L^3];

X = direção do transporte [L];

D_0 = coeficiente de difusão em solução livre [L^2/T].

A energia responsável pela difusão de íons, átomos ou moléculas é atribuída a uma variação no potencial químico. A variação no potencial químico é proporcional a uma variação na atividade química.

Em soluções diluídas, o coeficiente de atividade química se aproxima da unidade, e a atividade química é portanto, aproximadamente igual a concentração da solução. De modo que, para soluções diluídas, a variação no potencial químico pode ser

representada por uma variação na concentração da solução. O fluxo por difusão está associado a variações de concentração de espécies químicas, sendo portanto o gradiente de concentração a força diretriz deste processo. De forma que a difusão molecular ocorre independente da presença de movimento do fluido em qualquer meio, desde que exista um gradiente de concentração, o qual pode ser variável com o tempo.

A Difusão Molecular através do Solo pode também ser descrito pela 1ª lei de Fick. Alguns fatores influenciam a difusão no solo, tais como o efeito da redução na área da seção transversal de fluxo, efeito da trajetória tortuosa, fluidez ou mobilidade (relacionada com a água da dupla camada adsorvida) e a interação eletrostática.

A difusão molecular através de meios porosos é mais lenta do que através de soluções livres devido ao efeito combinado das colisões das moléculas com as paredes dos canais e do caminho a ser percorrido em decorrência da tortuosidade dos poros, já citado anteriormente. Fluxos difusionais mais lentos podem ser considerados o resultado de coeficientes de difusão mais baixos em relação à difusão molecular através de soluções livres.

A relação entre os coeficientes de difusão nas duas situações pode ser expressa como:

$$D_E = D_0 \,.\, W \qquad (L^2T^{-1}) \qquad \text{(Equação 2.4)}$$

onde:

D_0 = coeficiente de difusão da espécie em solução livre (L^2T^{-1})
D_e = coeficiente de difusão da espécie no meio poroso (L^2T^{-1})
W = fator de tortuosidade tal que:
W = 1 em soluções livres;
W < 1 em meios porosos.

Em solos granulares o fator de tortuosidade é uma função da porosidade (n), da granulometria e do arranjo dos grãos. Já para solos argilosos, o coeficiente de tortuosidade W é uma função bem mais complexa. A difusão de íons de eletrólitos através de um solo argiloso sob a ação de um gradiente de concentração envolve não apenas a difusão propriamente dita em direção à fronteira de menor concentração como também fluxos eletro-osmóticos em ambas as direções, sendo o fluxo resultante da fronteira de maior concentração para a fronteira de menor concentração.

Já o mecanismo de dispersão mecânica pode ser também representado pela 1ª lei de Fick na forma:

$$F_x = D_m \,(\delta C/\delta x) \qquad \text{(Equação 2.5)}$$

Onde:

F_x = fluxo químico através da espécie	$ML^{-2}T^{-1}$
D_m = coeficiente de dispersão hidrodinâmica ou mecânica	(L^2T^{-1})
C = concentração da espécie na solução em qualquer ponto x	(ML^{-3})
x = distância à interface de maior concentração	(L)

No processo de transporte de poluentes através dos solos dificilmente haverá condições para a formação de vórtices e turbulências, embora em solos granulares o fluxo muitas vezes não seja laminar. No entanto há um mecanismo de dispersão hidrodinâmica de magnitude intermediária entre a difusão molecular e a dispersão mecânica em meios turbulentos: é a dispersão associada aos gradientes de velocidade que se desenvolvem na seção transversal ao fluxo de água através dos poros do solo e que resultam no movimento de substâncias dissolvidas nas direções paralela e perpendicular ao fluxo.

O limite entre a predominância da difusão molecular e da dispersão mecânica depende do diâmetro médio dos grãos, da velocidade de advecção e do coeficiente efetivo de difusão molecular.

2.5.2.3. Sorção

Sorção é o processo de transferência de fase descrito pelo movimento dos contaminantes da fase líquida para a fase sólida, sendo um processo que influencia os contaminantes dissolvidos no lençol freático. Sorção é definida como a interação de um contaminante com uma superfície sólida. (PIWONI, 1990).

Dos vários fenômenos que podem contribuir para a sorção, as interações químicas constituem o de maior interesse na interação solo-contaminante. Devido à dificuldade de distinguir entre os mecanismos de adsorção física, adsorção química e precipitação, o termo sorção é usado para indicar a transferência geral de material para as interfaces. O termo sorção também é definido como um fenômeno que envolve os processos de adsorção física, absorção, dessorção, troca catiônica, retardamento iônico, quimissorção e diálise.

O processo de sorção quando comparado com a velocidade de fluxo do contaminante no meio poroso pode ser rápido ou lento. Quando o processo é rápido ocorre um equilíbrio químico local, podendo ser descrito por uma isoterma de sorção. Sendo o processo lento, o soluto não entra em equilíbrio imediato com a fase sorvida, e este processo poderá ser descrito por um modelo de sorção cinética, onde será levado em conta a cinética química.

A sorção de espécies químicas de uma solução pela fase sólida do solo ocorre devido às várias interações entre a superfície ativa das partículas e as espécies químicas da solução. De forma que a sorção é determinada experimentalmente pela medida da quantidade de um determinado soluto que pode ser sorvida pelas partículas do solo. A sorção de espécies químicas pela fase sólida do solo, a temperatura e pressão constantes é descrita quantitativamente por uma relação empírica conhecida como isoterma de sorção. Uma isoterma de sorção é uma representação gráfica, a qual expressa a quantidade do componente sorvido como uma função da concentração de equilíbrio, ou seja, expressa a relação entre a quantidade de espécies químicas sorvidas pelas partículas sólidas e a concentração destas espécies no líquido total em equilíbrio.

Numerosos parâmetros afetam a sorção como por exemplo, solubilidade, polaridade, troca catiônica, pH, potencial redox, e coeficiente de partição octanol-água. A solubilidade na água determina a sorção de compostos orgânicos para matéria orgânica e superfícies minerais. A sorção é uma função da fração do carbono orgânico do solo (f_{∞}) e a capacidade de partição do contaminante expresso pelo coeficiente octanol-água (K_{ow}) (PIWONI, 1990).

2.5.2.4. - Dissolução e Hidrólise

A dissolução se refere à solubilização de um composto. A água é considerada solvente universal já que muitos químicos nas fases sólida, líquida e gasosa podem se dissolver na água. Um contaminante orgânico que existe em fase imiscível quando em contato com a água e/ou o ar é tido como líquido em fase não aquosa (NAPL). Um contaminante orgânico em contato físico com água subterrânea pode dissolver completa ou parcialmente (solubilização ou partição) na fase aquosa. A solubilidade de um composto orgânico é a concentração em equilíbrio deste composto na água em uma temperatura e pressão específica. Para todos os propósitos práticos, solubilidade representa a concentração máxima de um composto na água. Dentre os parâmetros que afetam a solubilidade pode-se citar a atividade química de um composto, a temperatura, o pH, cosolvência, matéria orgânica dissolvida e compostos orgânicos dissolvidos.

A solubilidade de compostos orgânicos é bastante variável e normalmente é proporcional a sua massa. Os compostos orgânicos polares ou aqueles contendo oxigênio ou nitrogênio geralmente são mais solúveis. O coeficiente de partição octanol/água (K_{OW})é usado para indicar a solubilidade de compostos orgânicos na

água. Contaminantes altamente hidrofóbicos ou com um alto conteúdo de matéria orgânica no solo podem ser absorvidos pelo solo irreversivelmente. Poluentes com baixa hidrofobicidade (Log K_{ow} < 1) poderão ser removidos por lixiviação e advecção do lençol freático e passarão através das membranas das plantas. (COFIELD, 2007; USEPA, 2000; CUNNINGHAN *et al*., 1997; SCHNOOR *et al*, 1995).

O coeficiente de partição octanol-água indica a capacidade do composto químico em penetrar no tecido da planta; assim, pode-se parametrizar que, para Log Kow < 1, o composto é muito polar para atravessar a camada de lipídio da membrana da raiz (barreira não-polar) e quando o Log Kow > 3,5, o composto não é suficientemente solúvel para entrar no tecido da planta através da solubilidade da água. A tabela 2.8 apresenta os parâmetros químicos críticos para alguns compostos orgânicos.

Tabela 2.8: Parâmetro Químicos Críticos na Fitorremediação

Produto Químico	**Hidrofobicidade Log K_{ow}**	**Solubilidade**	**Constante de Henry**	**Pressão de Vapor**
	1 – 3,5			kPa
Benzeno	2,13	1,64	0,2250	0,90
Tolueno	2,69	2,25	0,2760	1,42
Naftaleno	3,35	31		
Etilbenzeno	3,15	2,80	0,3240	1,90
m-xileno	3,20	2,77	0,2520	1,98
TCE	2,33	2,04	0,4370	1,01
Aminobenzeno	0,90	0,41	$2,2 \times 10^{5}$	2,89
Nitrobenzeno	1,83	1,77	0,0025	3,68
Fenol	1,45	0,20	$> 1 \times 10^{5}$	3,59
Pentaclorofenol	5,04	4,27	$1,5 \times 10^{4}$	6,75
Atrazina	2,69	3,81	$1,0 \times 10^{7}$	9,40
Triclorobenzeno	4,25	3,65	0,1130	3,21

Fonte: TPHCWG, 1997 - adaptado

A Constante de Henry e a Pressão de Vapor indicam a preferência do composto químico em permanecer na fase aquosa ou volatilizar. Assim, a fitorremediação é efetiva para poluentes com moderada hidrofobicidade (Log K_{ow} = 1 a 3,5) como benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno, solventes clorados, HPA, nitrotolueno, resíduos amoniacais, excesso de nutrientes (nitrato, amônia e fosfato) e metais pesados (SCHNOOR, 1997).

A hidrólise é o processo de transferência de massa que resulta na substituição de grupos funcionais entre um composto orgânico e a água. A introdução de um grupo hidroxila em uma molécula orgânica pode originar produtos mais solúveis, receptivos à biodegradação. Assim, a hidrólise poderia ser um importante mecanismo de transferência de massa na remediação, desde que transforme um composto orgânico, originalmente recalcitrante à biorremediação, em um composto degradável.

2.6. VANTAGENS E LIMITAÇÕES

A fitorremediação apresenta elevado potencial de utilização, devido às vantagens que apresenta em relação às outras técnicas de remediação de contaminantes do solo. Com base nos relatos de VOSE *et al*. (2000), CUNNINGHAM *et al.* (1996) e COLE *et al.* (1995) essas vantagens são descritas a seguir:

- menor custo em relação às técnicas tradicionalmente utilizadas que envolvem a remoção do solo para tratamento *ex situ*;

- na maioria das vezes os equipamentos e suprimentos empregados são os mesmos utilizados na agricultura, portanto, quando a fitorremediação é implantada em áreas agrícolas, o custo é ainda menor;

- os compostos orgânicos podem ser degradados a CO_2 e H_2O, removendo toda a fonte de contaminação, não havendo, nessa situação, a necessidade de retirada das plantas fitorremediadoras da área contaminada, exceto para o caso de metais pesados;

- as plantas são mais fáceis de serem monitoradas do que os microrganismos;

- as propriedades biológicas e físicas do solo são mantidas e, não raro, até melhoradas;

- incorporação de matéria orgânica ao solo, quando não há necessidade de retirada das plantas fitorremediadoras da área contaminada;

- a fixação de nitrogênio atmosférico, no caso de leguminosas;

- as plantas ajudam no controle dos processos erosivo, eólico e hídrico; nesse último caso, evitam o carreamento de contaminantes com a água e com o solo e, por conseguinte, reduzem a possibilidade de contaminação de lagos e rios;

- as espécies vegetais reduzem o movimento descendente de água contaminada de camadas superficiais do solo para o lençol freático;

- plantas são mais favoráveis, esteticamente, do que qualquer outra técnica de biorremediação e podem ser implementadas com mínimo distúrbio ambiental, evitando escavações e tráfego pesado;

- utiliza energia solar para realizar os processos e;

- tem alta probabilidade de aceitação pública, promovendo melhoria da paisagem e da biodiversidade.

Por outro lado, essa técnica não é aplicável universalmente e nem é um sistema perfeito. Ela oferece muitos aspectos positivos, mas também existem limitações as quais Macek (2000); Narayanan *et al* (1996), Cunningham, 1996, e Miller, (1996) observaram, conforme descrito a seguir:

- dificuldade na seleção de plantas para fitorremediação em razão da baixa quantidade de espécies previamente avaliadas e principalmente em relação à descontaminação de herbicidas de amplo espectro de ação ou em misturas no solo;

- o tempo requerido para obtenção de uma despoluição satisfatória, pode ser longo (usualmente mais de uma estação de crescimento);

- o contaminante deve estar dentro da zona de alcance do sistema radicular;

- clima e condições edáficas, ou seja, condições em que se encontra o solo em relação a sua fauna, podem restringir o crescimento de plantas fitorremediadoras;

- dificuldade de introdução em sítios com elevados níveis do contaminante;

- no caso de fitorremediação de orgânicos, as plantas podem metabolizar os compostos, com risco de surgimento de metabólitos mais tóxicos do que os compostos originais;

- potencial de contaminação da cadeia alimentar;

- necessidade de disposição da biomassa vegetal, quando ocorre a fitoextração de poluentes não-metabolizáveis ou metabolizados a compostos também tóxicos;

- risco da espécie fitorremediadora tornar-se “planta daninha” e ;

- necessidade de melhoria nas condições do solo, incluindo a quelação do contaminante, para facilitar sua absorção pelas plantas.

Apesar de existirem limitações, a fitorremediação pode se tornar uma técnica promissora, principalmente em razão do seu baixo custo, facilidade de implementação e clima favorável nos países tropicais. Contudo, requer ação conjunta de profissionais de diversas áreas, no intuito de identificar espécies capazes de atuar na descontaminação de solos, principalmente em condições edafoclimáticas (solo e clima).

2.7. – CUSTOS

No que se refere aos custos das técnicas de remedição, a tabela 2.9 apresenta dados comparativos levantados por Geller (1999) e Schnoor (1997), respectivamente com relação à fitodegradação e fitoextração.

Tabela 2.9: Custos: Fitorremediação x Outras tecnologias de remediação

TIPO DE TRATAMENTO	US$/TON
FITODEGRADAÇÃO	10 - 35
Biorremediação *in situ*	50 – 150
Lavagem do solo	80 - 200
Ventilação do solo	20 –220
Térmico	120 – 300
Estabilização/solidificação	240 – 340
Extração por solvente	360 – 440
Incineração	200 - 1500

TIPO DE TRATAMENTO	US$/TON
FITOEXTRAÇÃO	25 - 100
Lavagem do solo	50 – 150
Estabilização/solidificação	75 – 205
Eletrocinética	50 – 300
Desorção termal	150 – 500
Vitrificação	40 – 600

(GELLER, 1999; SCHNOOR, 1997).

2.8. - LEGISLAÇÃO

O Brasil ainda não possui valores de referência para proteção ou remediação de solos porém, existem iniciativas para estabelecimento de limites tomadas a nível local, como no caso de São Paulo, que realizou um estudo que estabeleceu restrições por meio de valores orientadores para solo e água subterrânea no Estado de São Paulo em 2001. Os valores orientadores foram definidos como Valor de Referência de Qualidade (VRQ), que corresponde à concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea; Valor de Prevenção (VP), concentração de determinada substância, compostos orgânicos e inorgânicos, acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais a qualidade do solo e da água subterrânea; e Valor de Intervenção (VI), concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, a saúde humana, considerando um

cenário de exposição genérico. Na publicação desse estudo, em 2001, a CETEB, estabeleceu referência apenas para o naftaleno, em relação aos HPAs no solo. Mas, já em 2005 na revisão deste trabalho, a CETESB ampliou a tabela de valores orientadores e estabeleceu limites para mais 9 HPAs. A tabela 2.10, apresenta a mais recente tabela da CETESB em que estabelece os limites para alguns HPAs.

A tabela 2.10 apresenta os valores limites estabelecidos para os HPAs e Metais (CETESB, 2005).

HPAs	SOLO (mg.Kg^{-1} de peso seco)			
		INTERVENÇÃO		
	PREVENÇÃO	AGRÍCOLA APmax	RESIDENCIAL	INDUSTRIAL
Naftaleno	0,12	30	60	90
Acenaftileno	-	-	-	-
Fluoreno	-	-	-	-
Acenafteno	-	-	-	-
Antraceno	0,039	-	-	-
Fenantreno	3,3	15	40	95
Criseno	8,1	-	-	-
Pireno	-	-	-	-
Fluoranteno	-	-	-	-
Benzo(a)antraceno	0,025	9	20	65
Benzo(a)pireno	0,052	0,4	1,5	3,5
Benzo(b)fluoranteno	-	-	-	-
Benzo(k)fluoranteno	0,38	-	-	-
Dibenzo(a,h)antraceno	0,08	0,15	0,6	1,3
Benzo(g,h,i)perileno	0,57	-	-	-
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,031	2	25	130
METAIS				
Alumínio	-	-	-	-
Antimônio	2	5	10	25
Arsênio	15	35	55	150
Bário	150	300	500	750
Boro	-	-	-	-
Cádmio	1,3	3,0	8	20
Chumbo	72	180	300	900
Cobalto	25	35	65	90
Cobre	60	200	400	600
Cromo	75	150	300	400
Ferro	-	-	-	-
Manganês	-	-	-	-
Mercúrio	0,5	12	36	70
Molibdênio	30	50	100	120
Níquel	30	70	100	130
Nitrato (como N)	-	-	-	-
Prata	2	25	50	100
Selênio	5	-	-	-
Vanádio	-	-	-	-
Zinco	300	450	1000	

Fonte: CETESB (2005)

O Grupo de Trabalho – GT para gerenciamento de áreas contaminadas do CONAMA é uma iniciativa recente, iniciado 12/06/2006, e propõe dispor sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.

Outra iniciativa foi o Projeto de Estabelecimento de valores de Referência para Solos e Águas Subterrâneas nos Campos de Produção da Petrobras UN-RNCE na Bacia Potiguar (*onshore*). O objetivo foi o estabelecimento dos valores naturais de concentração (valores de referência ou *background*) para substâncias tóxicas presentes em solos e águas subterrâneas de 3 áreas da Bacia Potiguar. Os estudos levaram em consideração as particularidades climáticas, geológicas e hidrogeológicas das condições semi-áridas da região. A análise estatística dos resultados de análises químicas para diversos parâmetros ambientais, mostraram que, na região estudada, os teores de contaminantes ambientais de interesse da indústria do petróleo não se encontram, via de regra, acima dos níveis de concentração indicados como “Valor de Referência de Qualidade” por órgãos ambientais nacionais (CETESB) e internacionais (EUA, Holanda, Canadá) que já desenvolveram estudos nessa linha.

Na ausência de legislação pertinente para os contaminantes, costuma-se adotar normas internacionais, em situações de tomada de decisões, para definir os níveis toleráveis de contaminação para os solos, sedimentos e águas subterrâneas (MESQUITA, 2004). Porém, a existência de diferenças nas condições climáticas, pedológicas e fisico-químicas de cada estado brasileiro e inclusive de cada país pode levar a avaliações e escolhas de tecnologias inadequadas.

A tabela 2.11 apresenta limites indicados pela Agência Americana de proteção Ambiental, *United States Environmental Protection Agency* – USEPA amplamente adotados no mundo.

Tabela 2.11:Limites para alguns HPAs ($\mu g.g^{-1}$) definidos pela USEPA em solo.

HPAs	URBANO	INDUSTRIAL
Naftaleno	5	5
Acenaftileno	-	-
Fluoreno	-	-
Acenafteno	-	-
Antraceno	100	1300
Fenantreno	5	10
Criseno	1,5	55
Pireno	-	-
Fluoranteno	15	1000
Benzo(a)antraceno	10	535
Benzo(a)pireno	-	-
Benzo(b)fluoranteno	-	-
Benzo(k)fluoranteno	-	-
Dibenzo(a,h)antraceno	-	-
Benzo(g,h,i)perileno	100	535
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	100	535

Fonte: CANALS (2005)

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. INTRODUÇÃO

Este capítulo apresenta os materiais e a metodologia utilizada no presente estudo.

Este estudo abordou a técnica de fitorremediação para um solo argiloso contaminando experimentalmente por óleo leve de reciclo – LCO utilizando duas espécies arbóreas e estabeleceu procedimentos para a verificação do potencial dessas espécies em remediar o solo contaminado, observando as alterações no solo e nas espécies utilizadas. A figura 3.1 apresenta os 16 HPAs prioritários indicados pela USEPA e que foram utilizados como parâmetros de avaliação nesse estudo de fitorrememediação. Desses 16 HPAs, o pireno e o fenantreno, foram evidenciados por não serem os HPA's mais voláteis, nem os mais recalcitrantes e, por possuírem um número intermediário de anéis benzênicos, 3 e 4 respectivamente, pois quanto maior o número de anéis, menor a sua quantidade no óleo e, por isso, mais difícil de acompanhar a sua degradação pela técnica analítica empregada, Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa – CG-MS (LEE, *et al*., 2008; *FAN et al*, 2007). Foi considerado também o fato destes compostos serem os comumente pesquisados e com informações de fácil acesso.

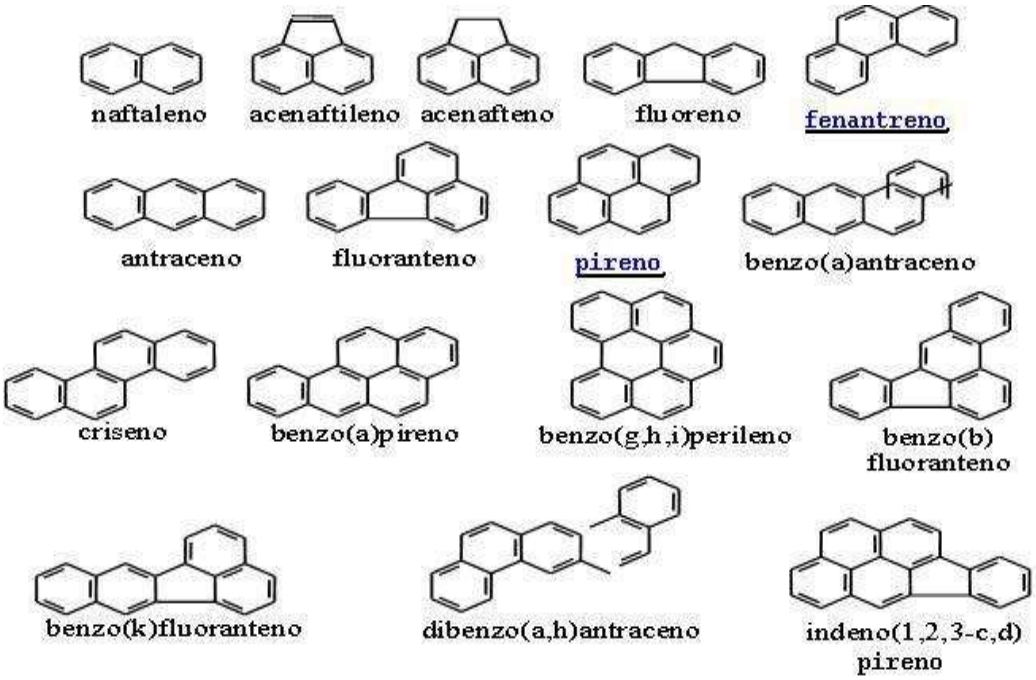


Figura 3.1: Estrutura dos 16 HPA's prioritários.

O estudo foi desenvolvido em duas etapas. A primeira etapa teve como objetivo verificar a resistência das espécies vegetais à maior concentração de contaminante ao serem expostas a solos contaminados com diferentes concentrações, e consistido em 8 tratamentos (fig. 3.2a). Na segunda etapa a espécie selecionada na primeira etapa, foi exposta a solos contaminados com melhoramentos pré-definidos, ajuste de pH e a adição de fertilizante, para a verificação do seu desempenho em fitorremediar o solo contaminado. Nesta etapa foram estabelecidos 6 tratamentos (figura 3.2b).

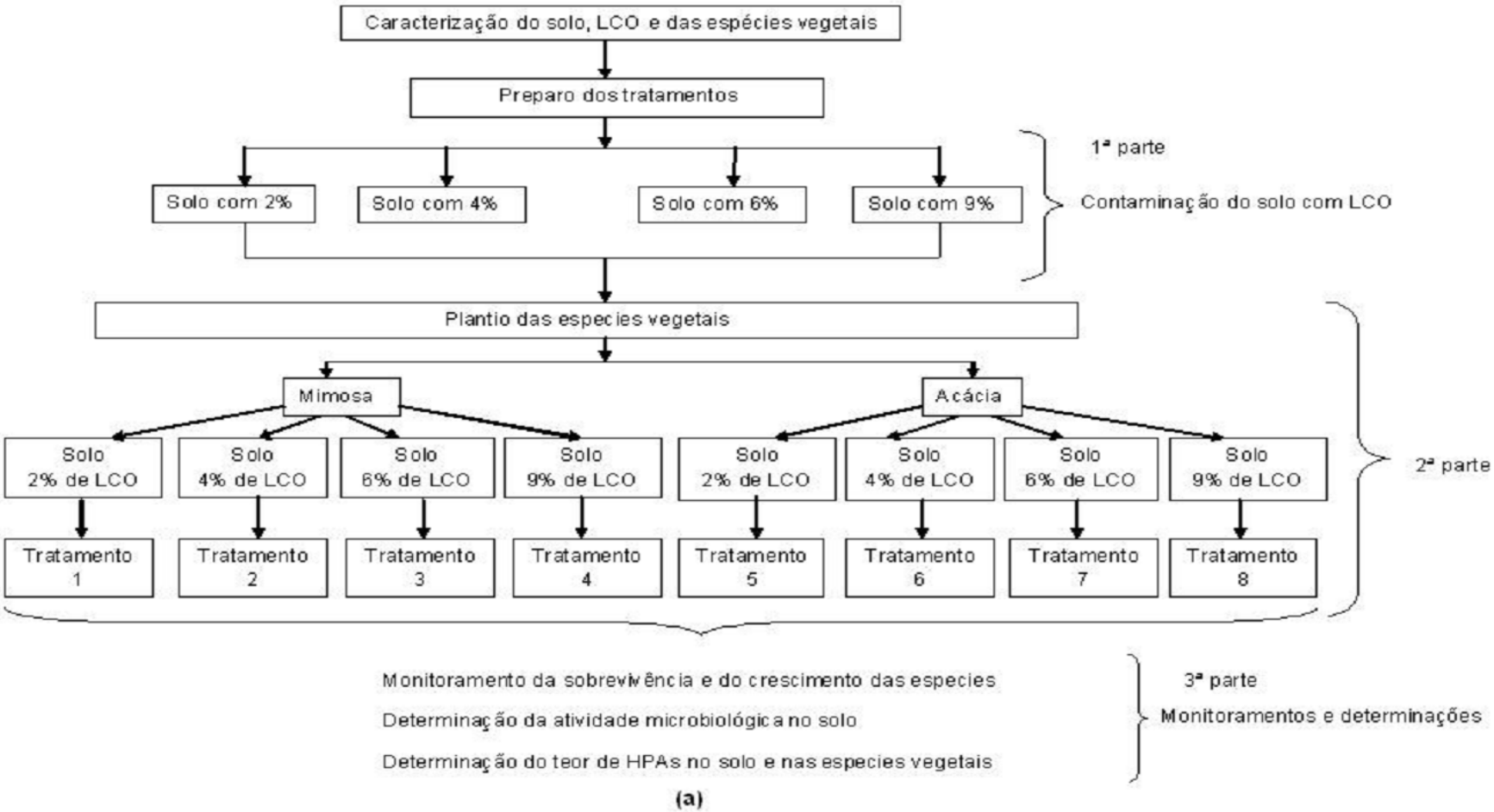
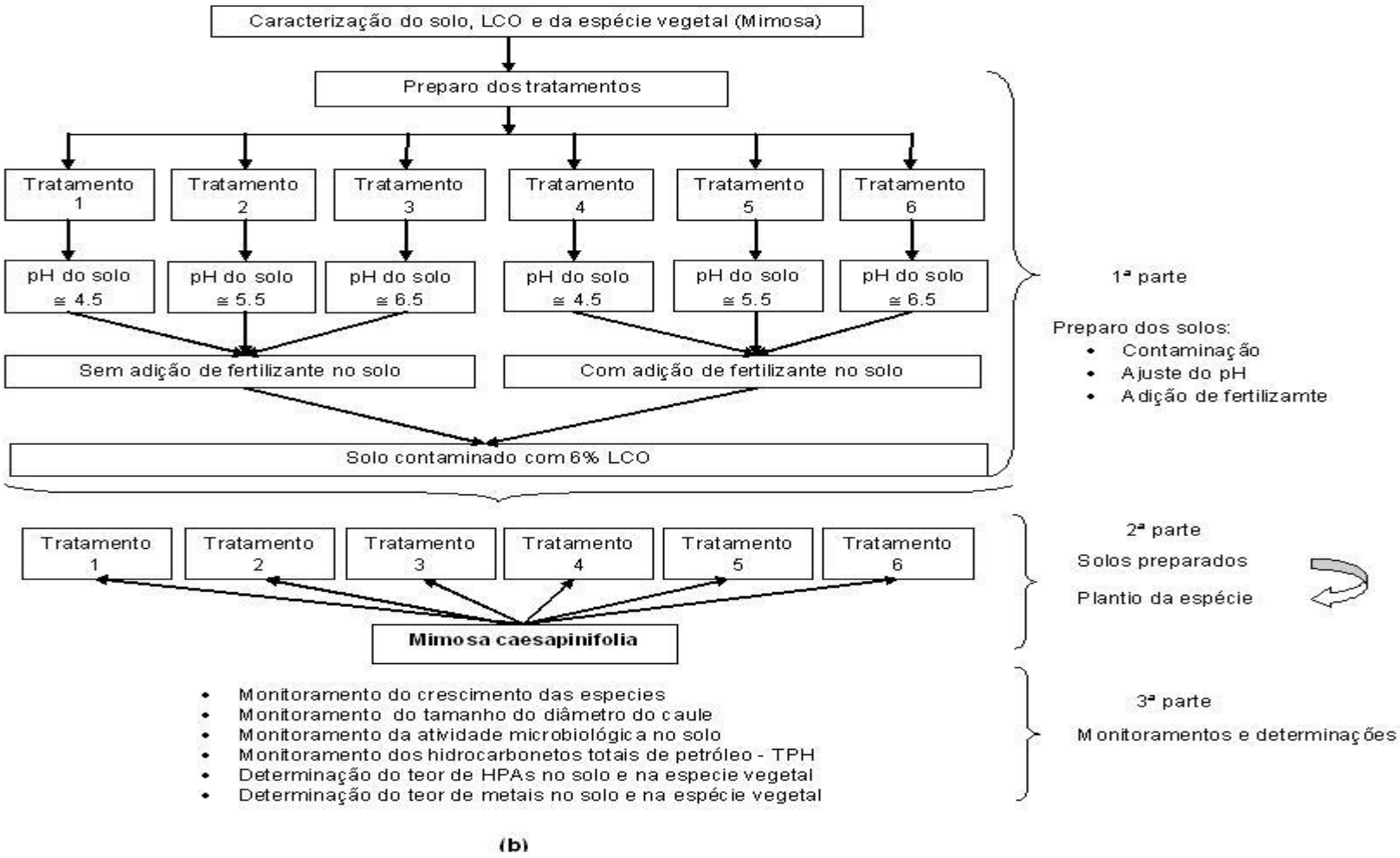


Figura 3.2a: Fluxograma das atividades desenvolvidas no presente estudo: etapa 1



(b)

Figura 3.2b: Fluxograma das atividades desenvolvidas no presente estudo: etapa 2

Este estudo está fundamentado em análises químicas, microbiológicas, físico-químicas e mineralógicas para alcançar os objetivos delineados na defesa dessa tese.

O solo, as espécies vegetais e o óleo foram caracterizados e os experimentos monitorados através das análises já acima citadas e, os resultados utilizados como referência inicial dos experimentos e para realizar as possíveis inter-relações entre eles.

Para tanto foram utilizados laboratórios capacitados para a realização das análises de caracterização e monitoramento necessárias. As análises químicas e físico-químicas para a caracterização do solo foram realizadas pelo Setor de Química do Laboratório de Geotecnia da COPPE/UFRJ/PEC. As análises microbiológicas para contagem das bactérias hidrocarbonoclásticas e química para a determinação do teor de hidrocarbonetos totais de petróleo – TPH foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química /EQ/UFRJ. A análise mineralógica do solo foi realizada pelo CENPES/PETROBRAS e as análises químicas para a determinação dos teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – HPAs e, teores de metais no solo e nos tecidos vegetais foram realizadas pelo Laboratório BIOAGRI AMBIENTAL.

O Laboratório BIOAGRI AMBIENTAL foi avaliado pelo Projeto da Petrobras de Avaliação de Laboratórios de Análises Químicas em Amostras Ambientais. Este projeto tem por objetivo assegurar que fornecedores de serviços de análises ambientais em amostras de resíduos, solo e água subterrânea atendam aos requisitos de qualidade e de boas práticas referentes à aplicação das tecnologias oferecidas, à gestão ambiental, assim como, o cumprimento das exigências legais em vigor. O laboratório BIOAGRI AMBIENTAL participou dessa avaliação de conformidade legal realizada pela ILIOS Consultoria, contratada pela Petrobras, obtendo nota B onde o classifica como empresa que apresenta pontos para melhorias no seu processo e/ou na sua gestão ambiental, cuja gravidade não impede a sua contratação pelo Sistema Petrobras desde que a empresa tenha apresentado plano de ações de melhorias, aceitos pela Petrobras e exequíveis em prazo considerado adequado. O laboratório possui acreditação do INMETRO pela ISO 17025 (anexo 1) e, Certificado de Credenciamento da FEEMA para as análises realizadas (anexo 2).

3.2. SOLO

Solo é um corpo natural, formado sob a ação de fatores (agentes externos) e processos (agentes internos) que interferem em sua diferenciação e caracterização, e com propriedades distintas dos corpos que atuaram em sua evolução (ANDRADE, 2001). Possui horizontes ou camadas relativamente homogêneas paralelas à superfície que são ambientes distintos e podem ser subdivididos (RESENDE *et al.*, 2002). Os vários horizontes componentes de um perfil de solo nem sempre são evidentes e têm limites bem definidos. A Figura 3.3 apresenta esquematicamente os principais horizontes do perfil de um solo, assim como suas características e implicações.

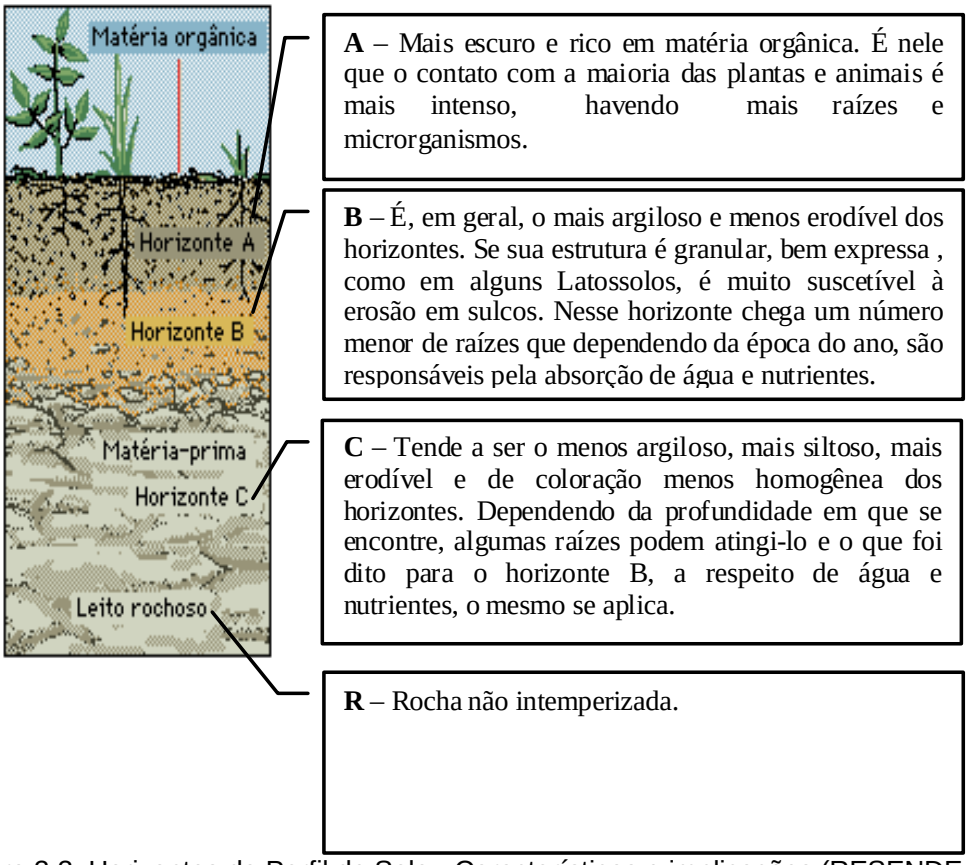


Figura 3.3: Horizontes do Perfil de Solo - Características e implicações (RESENDE *et al.* 2002 - adaptado).

O solo utilizado no experimento pertence à ordem dos argissolos (antigo podzólico vermelho-amarelo), solo residual de coloração avermelhada de textura siltoarenosa, classificado como uma argila de baixa compressibilidade (EMBRAPA, 1999), conforme a figura 3.4. a seguir:



Figura 3.4: Argissolo do local coletado

Prado (1995) relatou que em campo, este tipo de solo geralmente apresenta coloração amarelada ou vermelho-amarelada no horizonte B, o qual em geral apresenta maior teor de argila do que o horizonte A. Normalmente apresenta cerosidade, especialmente se a textura for argilosa. Quando eutrófico, existe condições favoráveis para o enraizamento ao longo do perfil. O enraizamento ocorre por ser um solo normalmente profundo. Os aspectos da paisagem e do próprio solo contribuem para que o processo erosivo se constitua no fator dos mais limitantes, pois o relevo é movimentado e o solo apresenta gradiente textural (média do teor de argila do horizonte B dividido pela média do teor de argila do horizonte A) em geral alto, especialmente se ocorrer o caráter abrupto, ou seja, se o teor de argila do horizonte B for muito maior do que no horizonte A na região de contato entre estes horizontes. Se for álico ou distrófico, há baixo potencial nutricional no horizonte B. Baixo teor de água disponível às plantas se a textura do horizonte A for arenosa. Solo sujeito à compactação, se o horizonte A for especialmente de textura média ou mais argilosa.

A escolha do solo argiloso, para este estudo, se deveu ao fato deste ser comum no Brasil (solos tropicais, intemperizados), representativo do Estado do Rio de Janeiro, muito utilizado como aterro em áreas de refinarias e em seu entorno e pouco estudado na literatura no que diz respeito tratamentos de biorremediação.

3.2.1. Coletas

3.2.1.1. Coleta do solo para implantação dos experimentos

O solo foi coletado em Belford Roxo, município do Rio de Janeiro, sendo que as amostras não foram coletadas de acordo com o horizonte do perfil do solo devido às características do local da amostragem ser de “empréstimo” de solo para aterros, conforme a figura 3.5 a seguir.



Figura 3.5: Local da coleta do argisolo: Belford Roxo-Rio de Janeiro

O local de coleta foi escolhido em função do solo lá existente estar isento de cotaminação à base de petróleo e derivados e por ser um solo utilizado em outras pesquisas, Curcio (2008) e Mendonça (2000) do Laboratório de Geotecnia da COPPE/UFRJ.

Para a coleta, foi utilizada uma pá e aproximadamente 1000 Kg de amostra do solo foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos de 50 Kg e transportadas ao Laboratório de Geotecnia para a realização das análises relativas à caracterização deste solo, descritas a seguir. O solo coletado foi armazenado em 6 tambores de 200 Kg cada, à temperatura ambiente.

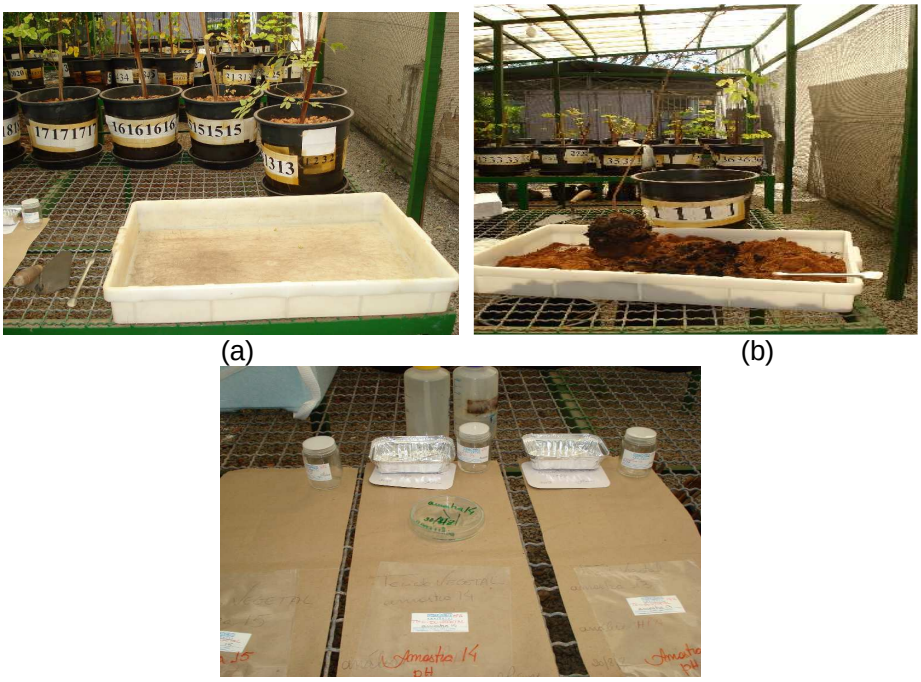
No laboratório de geotecnia o solo coletado foi devidamente peneirado para a retirada de resíduos mais grosseiros e posteriormente quarteado com o propósito de se obter uma composição mais homogênea. Após o quarteamento, foram realizadas as análises físicas e químicas necessárias para o desenvolvimento do estudo em questão.

Para a realização das análises, as amostras foram secas ao ar, destorradas e passadas em peneira de 20 cm de diâmetro e malha de 2 mm - n^{0} 10 (terra fina seca ao ar – TFSA). Utilizou-se água destilada em todas as determinações.

3.2.1.2. Coleta do solo na desmobilização dos experimentos

Ao final dos experimentos, amostras de solo de cada um dos vasos, (parcela do tratamento), foram coletadas utilizando dois procedimentos, obtendo-se duas amostras distintas que foram acondicionadas separadamente em bandejas de alumínio (tipo marmita). Para ambas as amostras foram analisados os teores de metais e HPAs. Este procedimento de coleta foi realizado somente para as análises de metais e HPAs com o objetivo de verificar a confiabilidade dos resultados. As amostras de solo foram preservadas a +/- 4℃ (USEPA, 1999), durante o transporte ao laboratório e armazenamento até a realização das análises.

O primeiro procedimento de coleta, consistiu em verter todo o solo (≅ 12Kg) contido no vaso em uma bandeja, retirar a planta (quando houvesse planta), homogeneizar e quartear o solo com o auxílio de uma pá e amostrar o solo. A figura 3.6 apresenta o solo coletado pelo primeiro procedimento.



(a) (b)

(c)

Figura 3.6: Coleta de solo: (a) bandeja para homogeneização do solo, (b) solo em processo de homogeneização, (c) recipientes utilizados para acondicionar amostras

O segundo procedimento de coleta, consistiu em retirar quatro amostras com um amostrador, confeccionado no Laboratório de Geotencia da COPPE/UFRJ, próximo a planta. Os quatro testemunhos foram colocados na bandeja, homogeneizados e quarteados com o auxílio de uma pá, o solo então foi amostrado. A figura 3.7. apresenta o solo coletado pelo segundo procedimento.

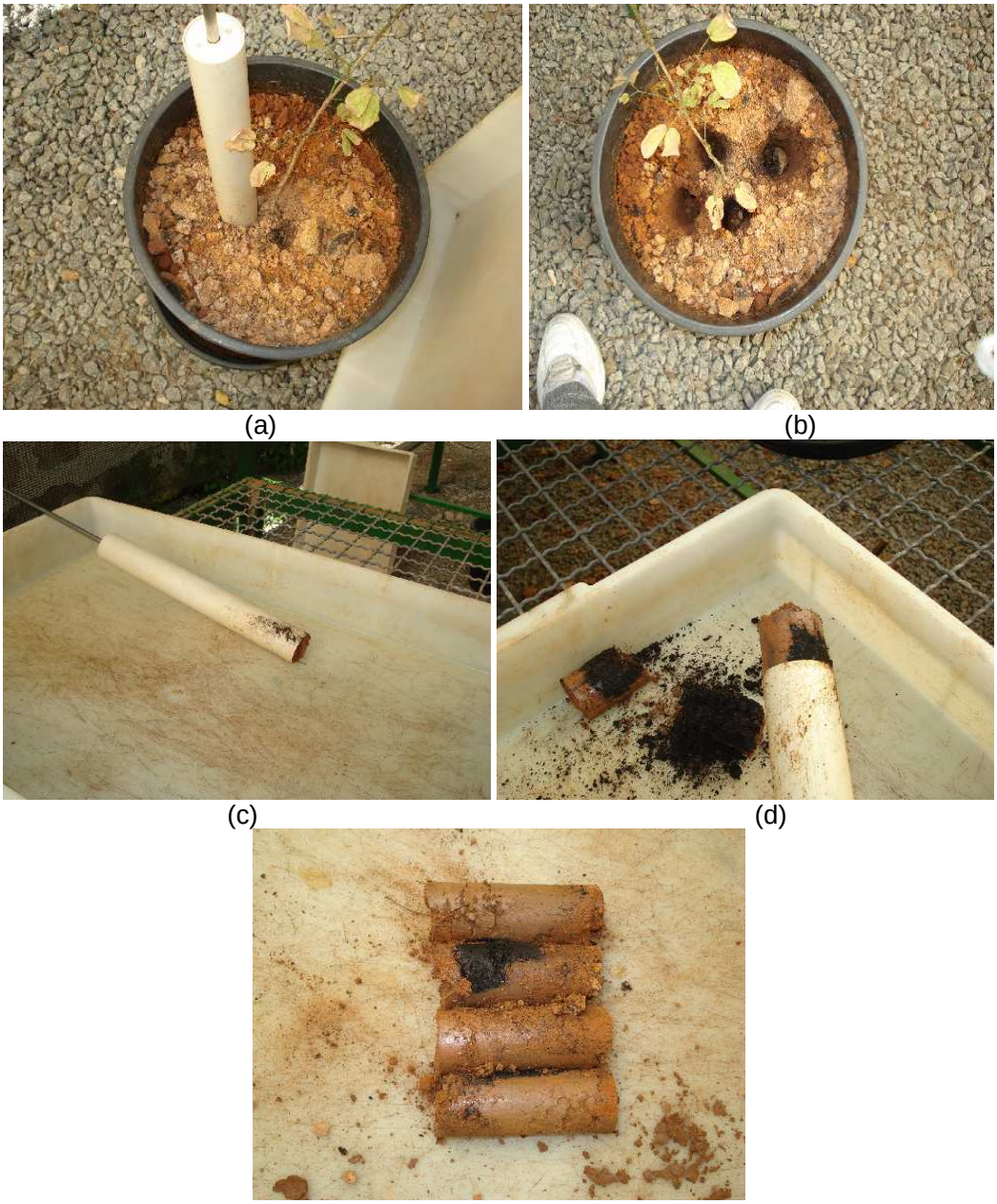


Figura 3.7: Coleta de solo utilizando o amostrador: (a)início da amostragem, (b) os quatro pontos coletados, (c) e (d) retirada dos solos coletados e (e) as quatros amostras antes de serem quarteadas

3.2.2.. Análises: Físicas

3.2.2.1. Composição Granulométrica

A determinação da composição granulométrica foi realizada segundo o método ABNT-NBR 7181/84 – “Composição Granulométrica”.

3.2.2.2. Densidade real dos grãos e Diâmetro médio das partículas

A determinação da densidade real dos grãos e do diâmetro médio das partículas foi realizada segundo o método DNER-ME 093/94 – “Densidade Real dos Grãos”,

3.2.2.3. Limites de Atterberg

Os Limites de Atterberg correspondem aos índices de consistência do solo e são todos característicos da fração fina do solo. O índice de plasticidade (I_P) é igual a diferença entre o Limite de Liquidez (W_L) e o Limite de Plasticidade (W_P).

$$I_P = W_L - W_P \qquad \text{(Equação 3.1)}$$

A determinação dos Limites de Atterberg foi realizada segundo o método ABNT-NBR 7180/84- “Limite de Liquidez e ABNT-NBR 6459/84-“Limite de Plasticidade”.

3.2.2.4. Capacidade de Campo

A determinação da Capacidade de Retenção de Água, também conhecida como Capacidade de Campo, foi realizada pelo laboratório de Química do Departamento de Química da Escola de Química /EQ/UFRJ segundo a metodologia descrita por WATWOOD (1991). Pesou-se, em uma proveta, uma determinada quantidade de solo, de forma que fosse formada uma pequena coluna. Adicionou-se água ao solo, gotejando, até que toda a coluna de solo fosse percolada chegando a água ao fundo da proveta – condição de saturação. Após pesagem ($m_{saturada}$), o sistema foi acondicionado por 24 horas em estufa a 110ºC. Após a secagem do material, o sistema foi novamente pesado (m_{seco}) e sua capacidade de campo determinada através da Equação 3.2.

$$C.C = \left(\frac{m_{sistema} - m_{seco}}{m_{úmido}} \right) * 100 \qquad \text{(Equação 3.2)}$$

Onde:

C.C = capacidade de campo [%]

$m_{úmido}$ = massa do solo antes de se adicionar água [g]

$m_{sistema}$ = massa do solo após adição da água [g]

m_{seco} = massa do solo após 24 horas a 110ºC [g]

3.2.3. Análises: Químicas

As análises químicas foram referentes à determinação de pH, capacidade de troca de cátions e bases trocáveis, determinações pelo ataque sulfúrico, perda ao fogo, teor de matéria orgânica e fertilidade e, realizadas segundo os métodos contidos no Manual de Métodos de Análise de Solo da EMBRAPA, 1997. A determinação do teor de TPH, HPAs e metais também foram realizadas. As análises foram realizadas nas amostras coletadas em 2005 e 2006.

3.2.3.1. pH

O pH do solo foi medido através do método potenciométrico, utilizando-se um potenciômetro marca Analion, modelo PM606F, previamente calibrado com solução tampão (pH 7,0 e 4,0). Pesou-se uma massa de solo e foram adicionados 25 mL de água destilada / cloreto de potássio - KCl 1N, agitou-se com bastão de vidro e deixou-se em repouso por 1 hora. A medição do pH foi realizada por meio de eletrodo combinado de vidro imerso na suspensão solo:líquido (H_2O e KCl 1N).

3.2.3.2. Cátions Trocáveis

A capacidade de troca catiônica do solo por definição é a soma total dos cátions que o solo pode reter na superfície coloidal prontamente disponível à assimilação pelas plantas. Esses cátions adsorvidos são removidos por soluções salinas de amônio, cálcio, bário e soluções de ácidos diluídas e posteriormente determinados pelo método espectrofotométrico de absorção atômica. O equipamento utilizado para a quantificação dos cátions foi um espectrômetro de absorção atômica, marca Perkin Elmer, modelo A Analyst 300.

Valor S

É a soma dos cátions trocáveis. É representada pela expressão:

$$S= (Ca^{++} + Mg^{++} + K^{+} + Na^{+})= cmol_c/Kg \qquad \text{(Equação 3.3)}$$

Valor T

É a capacidade de troca de cátions, CTC, representada pela expressão:

$$T= S + (H^{+} + Al^{+++}) = cmol_c/Kg = CTC \qquad \text{(Equação 3.4)}$$

Valor V

Representa a participação das bases trocáveis em relação ao total de cátions no complexo. Este valor é utilizado para a caracterização de solos eutróficos e distróficos.

Solos distróficos são solos em que a porcentagem de saturação por bases (V) é inferior a 50%. São solos de fertilidade média ou baixa.

Solos eutróficos são solos em que a porcentagem de saturação por bases (V) é superior a 50%. São solos de fertilidade alta.

É representado pela expressão: $V\% = 100S/T$ (Equação 3.5)

3.2.3.3. Fósforo Assimilável

Corresponde à fração do teor total de fósforo no solo, correspondente ao teor utilizado pelas plantas. Baseia-se na formação de um complexo fósforo-molibdico de cor azul obtido após redução do molibdato com ácido ascórbico e posteriormente determinado por espectrômetro de absorção molecular, marca HAACK, modelo DR2000.

3.2.3.4.. Percentagem de Saturação com Alumínio

Relação empregada na separação de classes de solo quanto ao caráter álico ou distrófico. É representada pela expressão: $100.\ Al^{+3}/(S + Al^{+3})$.

3.2.3.5. Ataque Sulfúrico

A solubilização de amostras de solo com H_2SO_4 na proporção de 1:1, visando à determinação de relações moleculares (Ki e Kr) permite a avaliação de estágios de intemperização de solos.

A amostra calcinada foi tratada com ácido sulfúrico (H_2SO_4 1:1) e no extrato obtido foram analisados os teores de Ferro (Fe_2O_3) e Alumínio (Al_2O_3). O resíduo foi tratado com Hidróxido de Sódio (NaOH 0,5N) e no extrato assim obtido foi analisada a percentagem de sílica (SiO_2). O resíduo final foi calcinado à 1000ºC, calculando-se então a percentagem de material.

- Determinação de Fe_2O_3 (%):

Determinação por complexometria pelo EDTA, utilizando o ácido salicílico como indicador e posteriormente determinado por espectrômetro de absorção molecular.

- Determinação de Al_2O_3 (%):

Determinação por complexometria pelo EDTA, após separação do ferro e titulando com $ZnSO_4$ utilizando o xilenol orange como indicador e posteriormente determinado por espectrômetro de absorção molecular.

- Determinação de SiO_2 (%):

Determinação por colorimetria com molibdato de amônio, desenvolvendo o composto amarelo que absorve no comprimento de onda de 410 nm no Spectronic 20 D e posteriormente determinado por espectrômetro de absorção molecular.

Relações Moleculares Ki e Kr

$Ki = \% SiO_2 \times 1{,}70 / \% Al_2O_3$ (Equação 3.6)

$Kr = (\% SiO_2 / 0{,}60)/(\% Al_2O_3 //1{,}02) + (\% Fe_2O_3)$ (Equação 3.7)

3.2.3.6. Perda ao Fogo

É obtida pela diferença de peso do solo ao ser calcinado à 550ºC em relação ao solo seco à 105ºC.

3.2.3.7 Teor de Matéria Orgânica

Determinada por oxidação com Dicromato de Potássio em meio sulfúrico a quente, usando o Sulfato de Prata como catalisador, sendo o excesso de dicromato (residual), após a oxidação, dosado por titulação com solução padrão de sulfato ferroso amoniacal, 0,5 N, utilizando difenilamina como indicador.Segundo a metodologia, 77% do carbono total da matéria orgânica é oxidado nas condições do ensaio, obtendo-se uma aproximação aceitável do conteúdo de carbono orgânico no solo. Para a conversão de matéria orgânica a carbono, considera-se que 58% da matéria orgânica é formada por carbono orgânico. Um ensaio em branco é realizado sem a adição de solo, para se descontar qualquer carbono orgânico presente nos reagentes.

O cálculo do teor de matéria orgânica (% m/m) das amostras de solo foi realizado segundo a Equação 3.8.

$$\%MO = V_{dicromato} * \left(1 - \left(\frac{V_{amostra}}{V_{branco}}\right)\right) * K \qquad \text{(Equação 3.8)}$$

Onde:

%MO = teor de matéria orgânica

$V_{dicromato}$ = volume de dicromato de potássio utilizado [mL]
$V_{amostra}$ = volume de sulfato ferroso 0,5 N utilizado na titulação da amostra [mL]
V_{branco} = volume de sulfato ferroso 0,5 N utilizado na titulação do branco [mL]
K = N*(0,003/0,77)*(100/*m*)*1,72
1,72 = fator de conversão do carbono na matéria orgânica

Sendo que:

N = normalidade da solução de dicromato de potássio
0,003 = miliequivalente grama do carbono
m = massa da amostra de solo [g]
0,77 = fator de conversão (77% do carbono total da matéria orgânica é oxidado)

3.2.3.8. Fertilidade

A fertilidade do solo pode ser definida como o estudo da capacidade dos solos em suprir nutrientes às plantas. Os nutrientes presentes no solo podem ser classificados segundo sua necessidade essencial para os microrganismos e plantas (MANAHAN, 1994):

- Macronutrientes: são os nutrientes requeridos em grande quantidade (carbono, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo e enxofre);
- Micronutrientes: são aqueles requeridos em menor quantidade e que quando empregados em alto teor são frequentemente tóxicos (ferro, manganês, zinco, cobre, molibdênio, cloro e boro).

Os macronutrientes determinados foram carbono, potássio, cálcio, magnésio, fósforo e o enxofre. Foram determinados os teores de ferro, manganês, zinco, cobre e boro para os micronutrientes.

3.2.3.9. Teor de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH)

A dosagem de TPH tem sido o método mais específico para análise de solo contaminado com óleo. Esse método utiliza o solvente S-316 para extrair o óleo do solo e um espectrofotômetro de infravermelho (equipamento OCMA-350), no qual é realizada a leitura da amostra (HORIBA, 1995). O equipamento opera numa faixa de comprimento de onda de 3,38 a 3,50 μm, sendo capaz de medir as configurações CH (3,38 μm), CH_2(3,42 μm) e CH_3 (3,50 μm) (USEPA, 2001). Para extrair os hidrocarbonetos totais de petróleo, foi utilizado 0,2 grama de solo seco em 20 mL de solvente S-316 em um recipiente de vidro devidamente limpo. Essa extração foi feita a frio por banho de ultra-som durante 1 hora. Após a extração, a solução resultante foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 40 com 2 gramas de sílica gel (60 a 200 *mesh*). A leitura é feita no equipamento OCMA-350, devidamente calibrado.

3.2.3.10. Teor de Metais

As análises químicas referentes à determinação de metais foram realizadas segundo o método EPA 3050B – "Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils"para realizar a digestão ácida do solo e posterior análise pelo método EPA 6010C – "Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry", Técnica de Plasma Indutivamente acoplado utilizando um equipamento de ICP-OES Perkin-Elmer Optima modelo 4300DV e sob as condições de análise de 1200 Watts para visão axial e 12L/min de vazão. O equipamento foi calibrado com curvas analíticas elaboradas a partir de diluições seqüenciais de padrões multielementares a cada lote de amostras preparadas.

3.2.3.11. Teor de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos - HPA

A determinação do teor dos 16 HPAs considerados poluentes prioritários poliaromáticos pelo EPA, foi realizada segundo o método EPA 3550C (modificado), para a obtenção do extrato e para a realização da etapa do *cleanup* na cromatografia líquida preparativa, para a obtenção da fração aromática. A fração aromática foi analisada utilizando-se a técnica do íon seletivo e impacto eletrônico de 70 e V para a ionização, baseada na metodologia EPA 8270C *Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry* (GC/MS) (modificado) – determinação de compostos orgânicos semivoláteis pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa da marca Agilent, modelo 7890/5975C*,* conforme figura 3.8.



Figura 3.8: Cromatógrafo Agilent utilizado nas determinações de HPA.

A tabela 3.1 apresenta os 16 HPAs prioritários e os respectivos m/z (relação massa-carga dos íons) dos íons moleculares. Os compostos padrão perdeuterados utilizados estão apresentados em itálico.

Tabela 3.1: 16 HPAs prioritários, padrão perdeuterados e seus respectivos m/z
Fonte:

Compostos	**m/z**
d8 naftaleno	136
Naftaleno	128
d10 acenafteno	164
Acenaftileno	152
Fluoreno	166
Acenafteno	154
Antraceno	178
d10 fenantreno	188
Fenantreno	178
Criseno	228
Pireno	202
Fluoranteno	202
Benzo(a)antraceno	228
d12 perileno	264
Benzo(a)pireno	252
Benzo(b)fluoranteno	252
Benzo(k)fluoranteno	252
Dibenzo(a,h)antraceno	278
Benzo(g,h,i)perileno	276
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	276

A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos tempos de retenção e pela abundância relativa dos respectivos íons moleculares dos componentes das amostras com os compostos padrões de referência.

A análise quantitativa foi realizada pela técnica de padronização interna, adicionando-se à fração aromática, concentrações conhecidas dos padrões perdeuterados naftaleno, acenaftaleno, fenantreno, criseno e perileno. As condições cromatográficas para a determinação dos HPAs no solo estão descritas na tabela 3.2 a seguir.

O controle de qualidade foi realizado através de injeções de soluções de calibração de 5µg/L (ppb) a cada dez amostras analisadas.

Tabela 3.2: Condições Cromatográficas para a determinação do teor de HPAs no solo

Forno (temperatura)	• Inicial do forno: 60℃ por 4 minutos • 30^0C/minuto até a temperatura de 130^0C • 20^0C/minuto até a temperatura de 300^0C por 8 minutos
Injetor *split/splitless*	• Temperatura de 260^0C • Pressão: 29,2 mL/min • Volume de injeção: 2 µL • Fluxo na Purga do Septo: 3 mL/min • Gás de arraste: Hélio
Coluna	• Agilent, DB5-MS(20 m x 179 um x 18 um + 2 m de pré-coluna) • Análise *FAST – Coluna com diâmetro interno e comprimento menor e velocidade de aquecimento maior.*
Fluxo	• 1mL/min
Espectrômetro de massa	• Modo de Aquisição: SIM (Monitoramento Seletivo de Íons) • *Solvent Delay*: 3.0 min • *EM Offset*: 200 • *Transfer line* 300^0C • *MS Quad*: 150^0C • *MS Source*: 230^0C • Faixa de Massa: 100 - 300

A curva de calibração do equipamento para a metodologia aplicada foi obtida com cinco soluções de calibração contendo todos os compostos descritos na tabela 3.1, que foram preparados a partir de compostos padrões de referência. As concentrações destas soluções variaram de 2, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 100, 150 e 200 ng/mL, conforme as concentrações dos analitos nas amostras, conforme estabelecido pelo método de padronização interna. A calibração foi considerada satisfatória quando o fator de resposta relativo apresentou um desvio padrão inferior a 30%.

3.2.4. Análise Mineralógica

As fases mineralógias da amostra de solo coletada em 2005 foram determinadas utilizando a técnica de difração de raios-X (DRX). Os difratogramas de raios-X da amostra analisada, foi obtido pelo método do pó e coletados em um equipamento difratômetro de raios-X marca PANalytical (antiga Philips), modelo X´Pert Plus utilizado com tubo de raios-X com anodo de cobre (lambda=1,54 angstrons), monocromador de grafite (40 kV/30 mA), filtro de níquel para absorver as radiações branca e k-beta, detector do tipo contador proporcional, velocidade do goniômetro de 2º/minuto e coletados de 5 a 80º 2q.

3.2.5. Contagem Microbiana - Bactérias Hidrocarbonoclásticas

A contagem de bactérias hidrocarbonoclásticas foi realizada através da técnica do Número Mais Provável (NMP) (VOLPON *et al.*,1997). Para esse procedimento foram preparadas diluições de até 10^{-7} em solução salina (NaCl 0,85%) e, de cada uma delas, foi transferida uma alíquota de 0,1 mL para 5 poços de uma placa com 24 poços, contendo 1,7 mL de meio mineral *Bushnell Haas*, cuja composição se encontra na tabela 3.2, e 5 μL de óleo. As placas foram incubadas a 30ºC durante 7 dias e o crescimento foi avaliado visualmente. Ao se observar alguma modificação em relação ao teste em branco, considerou-se o teste como positivo. Os resultados foram expressos em NMP/g de solo seco. O teste em branco consistiu da adição de meio estéril a 4 poços da placa, seguido da adição do óleo também estéril. Dessa forma, pode-se descontar qualquer efeito que não seja causado pela presença dos microrganismos a serem quantificados.

Tabela 3.3: Composição do Meio Mineral *Bushnell Haas*

Componentes	Quantidade (g/L)
Sulfato de magnésio	0,20
Cloreto de cálcio	0,02
Fosfato de potássio monobásico	1,00
Fosfato de potássio dibásico	1,00
Nitrato de amônio	1,00
Cloreto férrico	0,05

Fonte: SIGMA (1997)

3.3. ÓLEO LEVE DE RECICLO - LCO

A determinação da concentração de metais no óleo LCO foi realizada segundo o método EPA 3051 – "*Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils*" para a digestão ácida da amostra de LCO seguida do método EPA 6010C - *"Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry"*, Técnica de Plasma Indutivamente acoplado utilizando um equipamento de ICP-OES Perkin-Elmer Optima modelo 4300DV e sob as condições de análise de 1200 Watts para visão axial e 12L/min de vazão. O equipamento foi calibrado com curvas analíticas elaboradas a partir de diluições seqüenciais de padrões multielementares a cada lote de amostras preparadas.

Na determinação dos 16 HPAs no óleo LCO foi realizada uma diluição direta de 1,0g de óleo para 30 mL de volume final e a análise realizada segundo o método EPA 8270C – "*Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry* (GC/MS) (modificado) – determinação de compostos orgânicos semivoláteis pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa da marca Agilent, modelo 7890/5975C.

3.4 – ESPÉCIES VEGETAIS

Duas espécies da família *Leguminosae*, uma espécie exótica e outra nativa do Brasil, foram selecionadas para esse estudo.

A espécie exótica chamada *Acácia holosericea*, figura 3.9, uma das espécies utlizadas nesse trabalho, é uma leguminosa arbórea de ocorrência natural na Austrália e que vem sendo cultivada no Brasil já há alguns anos. Na fase inicial de crescimento apresenta folhas compostas, característica comum desta família. À medida que a planta cresce, seu pecíolo dilata e as folhas compostas caem, deixando uma cicatriz na extremidade do pecíolo dilatado, denominado filódio, que passa a exercer a função de folha. Além dessa interessante característica morfológica, esta espécie apresenta qualidades importantes para programas de recuperação ambiental. Elevadas concentrações de matéria orgânica em substratos cultivados com *Acácia holosericea* refletem sua grande capacidade de produção de biomassa, queda de filódios e, principalmente, produção de raízes, características desejáveis para espécies a serem utilizadas na revegetação de áreas degradadas (SARCINELLI, 2004; DIAS *et al*., 1999; FRANCO *et al*., 1992).



Figura 3.9: *Acácia holosericea*

A espécie nativa utilizada nesse trabalho foi a *Mimosa caesalpiniifolia*, figura 3.10, também conhecida como sabiá, cebiá, sansão-do-campo e unha-de-gato. Pertence ao Reino *Plantae*, *Phylum magnoliophyta*, Classe *Magnoliopsida*, Ordem *Fabales,* sendo da Família *Leguminosae Adans-Mimosoideae Kunth*, do Gênero *Mimosa L*.(*Mimosaceae*) e sua espécie denominada *Mimosa caesalpiniifolia Benth*. (RIBEIRO, 1984).

As folhas são utilizadas como fonte de alimento para o gado, especialmente durante a época de seca no semi-árido. A Mimosa é também muito utilizada como cerca viva, sendo ideal para recomposição de áreas degradadas (LORENZI, 2000). Árvore característica da caatinga, perde as folhas por ocasião da seca. Cresce em todos os solos, excluídos os alagados. É uma árvore pequena, atingindo uma altura de 7 a 8 m e legumes articulados de até 10 cm. A madeira é dura, compacta e muito durável, mesmo no solo. Espécie tolerante a longas estiagens (3 a 4 meses), à seca prolongada, a solos ácidos e à média anual pluviométrica entre 500 - 1.000 mm (FARIA e CAMPELLO, 2000).

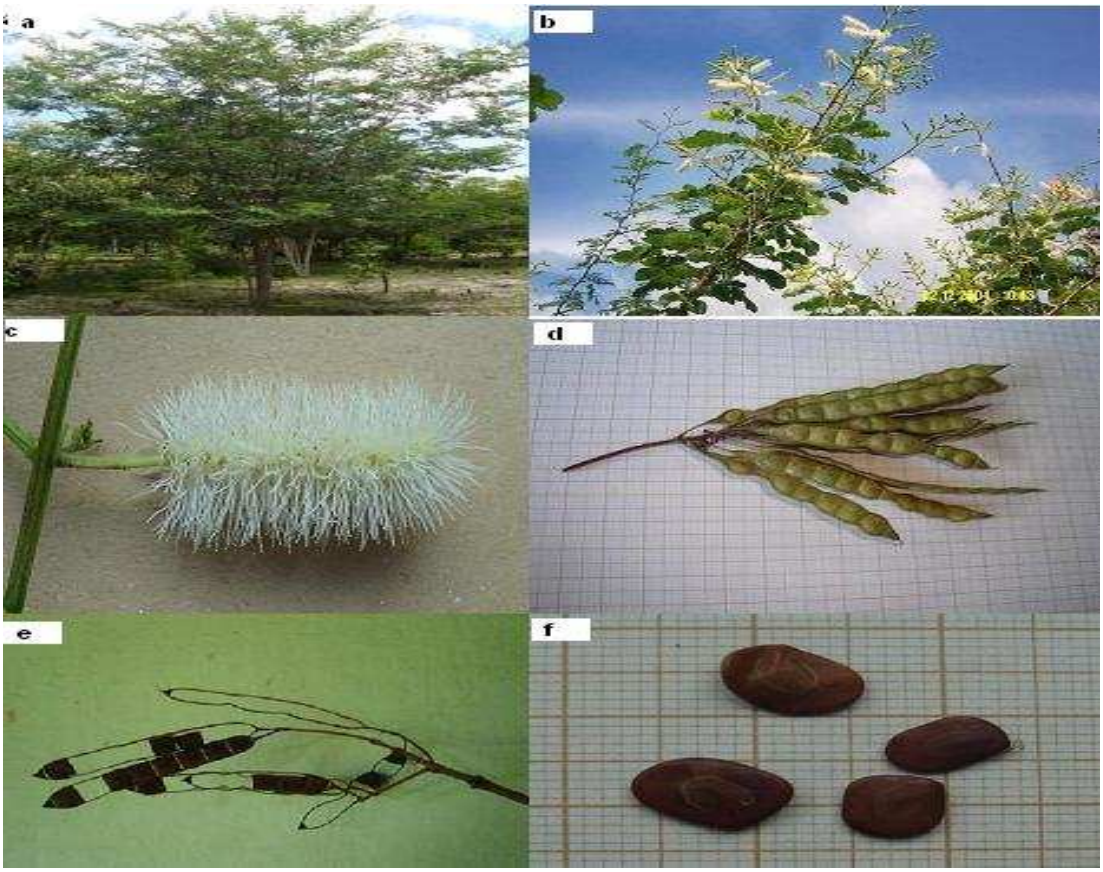


Figura 3.10 *Mimosa caesalpiniifolia*. a) indivíduo adulto. b) vista da folha, flor e fruto. c) flor. d) fruto imaturo. e) fruto maduro. f) semente.

A qualidade da muda produzida é fator determinante para o sucesso na implantação de um povoamento florestal.

As mudas foram cedidas pela Embrapa-Agrobiologia e preparadas realizando uma inoculação conjunta de rizóbio e os fungos micorrízicos arbusculares - FMAs para complementar a nutrição das plantas, resultando em uma maior taxa de pegamento e desenvolvimento das mudas em locais bastante degradados.

Cada planta foi coletada individualmente, limpa e realizada a medição das raízes. Não foram adicionados esses valores no trabalho pois, não houve medição das raízes das mudas no início do experimento. As plantas foram colocadas em sacos de papel, identificadas e enviadas ao laboratório para a realização das análises. No laboratório, as amostras de plantas foram secas e moídas inteiras (todas as três partes: raíz, caule e folhas) compondo uma única amostra de tecido vegetal para a realização das análises. Este foi o procedimento para cada uma das amostras de tecido vegetal enviadas ao laboratório para análises. A figura 3.11 apresenta uma espécie vegetal coletada.



(a) (b)



(c)

Figura 3.11: Espécie vegetal: (a) imediatamente após a coleta, (b) medição da raíz, (c)planta coletada

Foram realizadas análises químicas para a quantificação dos metais e do teor dos 16 HPAs nos tecidos vegetais antes e após o término dos experimentos.

A obtenção do extrato para a quantificação dos metais foi segundo o método EPA 3050B – "*Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils*"para realizar a digestão ácida do solo, e posterior análise pelo método EPA 6010C – "*Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry"*, Técnica de Plasma Indutivamente acoplado utilizando um equipamento de ICP-OES Perkin-Elmer Optima modelo 4300DV e sob as condições de análise de 1200 Watts para visão axial e 12L/min de vazão. O equipamento foi calibrado com curvas analíticas elaboradas a partir de diluições seqüenciais de padrões multielementares a cada lote de amostras preparadas.

Para a quantificação dos 16 HPAs no tecido vegetal da *Mimosa caesalpiniifolia* e da *Acácia holoserícea* fez-se necessário um estudo, realizado pelo laboratório BIOAGRIAMBIENTAL com supervisão da Doutoranda, para a obtenção dos extratos das plantas para a análise dos 16 HPAs prioritários pela técnica de cromatografia gasosa com espectrometria de massas - CG-EM. O estudo foi realizado em quatro

etapas, sendo a primeira a do preparo do extrato; a segunda a realização do *cleanup*; a terceira etapa, a realização das análises dos 16 HPAs pela técnica de CG-EM e a quarta e última etapa, a do estudo da recuperação dos compostos. O relatório completo relativo à validação desse procedimento de extração se apresenta no anexo 3**.** A seguir, está descrito resumidamente, as etapas de preparo do extrato e do *cleanup*.

3.4.1. Preparação e extração de HPAs do tecido vegetal

A sequência do preparo utilizando o ultrasom e a técnica do *cleanup* e da extração dos compostos aromáticos, HPAs, está descrita a seguir.

A figura 3.12 apresenta as mudas no laboratório antes de serem manipuladas.



Figura 3.12: Plantas *Acácia* e *Mimosa* antes da manipulação no Laboratório

Inicialmente as plantas foram limpas, secas e picotadas para irem para a moagem conforme figura 3.13.



Figura 3.13: Plantas sendo separadas do solo da muda, limpas e picotadas

A figura 3.14 apresenta como as plantas picotadas foram trituradas e secas com gelo seco (MEUDEC *et al*, 2006).



(a) (b)

Figura 3.14(a): moinho (b): planta após moagem com gelo seco

A figura 3.15 apresenta a etapa após a secagem, em que pesou-se 5 g da amostra em vials de 40 mL e foi adicionado padrão de HPA's para verificar a extração e adicionado su*rrogate* para se ter o controle de qualidade (Branco) de cada matriz.



Figura 3.15: Amostra pesada com adição de padrão e *surrogate.*

O solvente extrator diclorometano/acetato de etila (1:1) foi adicionado sendo em seguida e, colocado no Ultrasom da marca *Ultracleaner* por 20 min. Figura 3.16.



(a) (b)

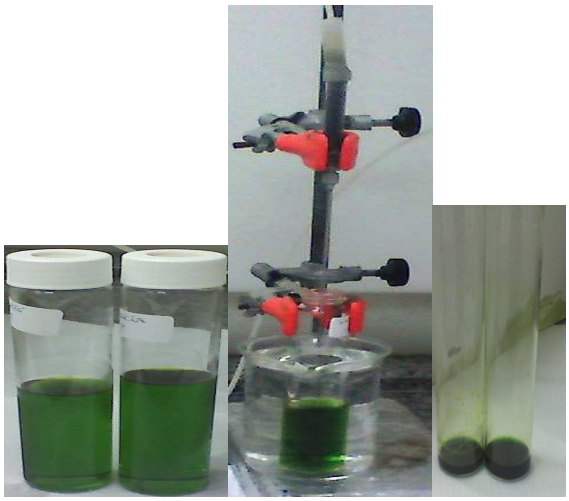
Figura 3.16: (a) ultrassom utilizado, (b) amostras com o solvente extrator no ultrassom.

Após 20 minutos no ultrassom, o extrato foi filtrado e refiltrado com sulfato de sódio (Na_2SO_4), para a retirada de água da amostra, para posterior concentração até 0,5 mL, conforme figura 3.17.



Figura 3.17: Filtragem da amostra com Na_2SO_4

A seguir o extrato foi concentrado sem *cleanup*, conforme figura 3.18.



(a) (b) (c)

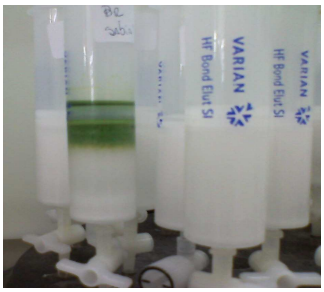
Figura 3.18: Sequência da concentração dos extratos: (a) extratos; (b) concentração com placa de aquecimento; (c) extratos concentrados

O *cleanup* se procedeu em *manifold* de SPE (*solid phase extraction*) com cartuchos de 10g de SiOH, conforme figura 3.19.

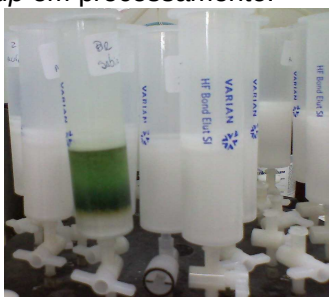


Figura 3.19: Etapa do *cleanup* em *manifold* de SPE

A figura 3.20 apresenta o *cleanup* em processamento.



(a)



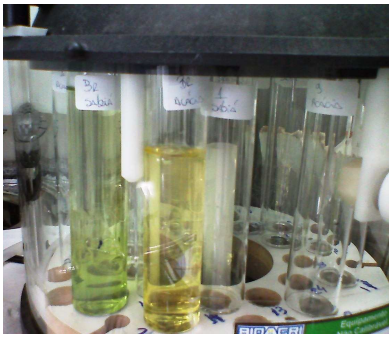
(b)



(c)

Figura 3.20 (a), (b) e (c): *cleanup* em processamento.

Processo de eluição do *cleanup* e os eluídos prontos para concentração final são mostrados na figura 3.21.



(a)



(b)



(c)

Figura 3.21: extratos com e sem *cleanup*

Após o *cleanup* os extratos foram concentrados para 1mL e injetados em CG-MS, conforme figura 3.22.



Figura 3.22: Extratos foram concentrados para 1 mL e injetados no CG-MS, após a etapa do *cleanup*.(RATOLA *et al*, 2006; SMITH *et al*, 2006).

As soluções-padrão dos compostos HPAs foram preparadas por meio de diluições partindo do padrão certificado marca *accustandard* e a identificação dos compostos orgânicos estudados foi realizada através da metodologia EPA 8270C *Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry* (GC/MS) (modificado) – determinação de compostos orgânicos semivoláteis pela técnica de

cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa da marca Thermo Finningan, modelo FOCUS - DSQ.

As condições cromatográficas para a determinação dos HPAs no tecido vegetal estão descritas na tabela 3.4 a seguir.

Tabela 3.4: Condições Cromatográficas para a determinação do teor de HPAs no tecido vegetal

Forno (temperatura)	• Inicial do forno: 45℃ por 1 minutos • 30^0C/minuto até a temperatura de 130^0C por 0 minutos • 20^0C/minuto até a temperatura de 300^0C por 10 minutos
Injetor *split*	• Temperatura de 260^0C • Pressão: 29,2 mL/min • Volume de injeção: 1 µL • Fluxo na Purga do Septo: 1,0 mL/min • Gás de arraste: Hélio
Coluna	• Varian, CPSil-8CB (35 m x 0.25 mm x 0.25 um)
Fluxo	• 1mL/min
Espectrômetro de massa	• Modo de Aquisição: *Full Scan* (60-300) • *Solvent Delay*: 3.5 min • *EM Offset*: 200 • *Transfer line* 280^0C^0C • MS Quad: 150^0C • *MS Source*: 230^0C • Faixa de Massa: 100 - 300

3.5. CASA DE VEGETAÇÃO

Os experimentos foram estabelecidos em casa de vegetação duas etapas, figura 3.23, construída no Laboratório de Geotecnia da COPPE/UFRJ com base no trabalho denominado “Estufas de baixo custo- Modelo Pesagro-Rio, (LEAL, 2000).



Figura 3.23: Casa de vegetação: UFRJ/COPPE/PEC/GEOTECNIA

3.5.1. Primeira etapa do experimento

O planejamento do experimento da primeira etapa foi elaborado para utilizar 1 tipo de solo, duas espécies arbóreas, quatro concentrações diferentes de LCO, três repetições e para realizar três coletas durante 1 ano, compondo assim 8 tratamentos, conforme mostrado na tabela 3.5. Para tanto, foram necessários 72 vasos de 20 Litros cada (12 Kg) forrados com BIDIM® RT21 para evitar a perda do solo pelos orifícios do vaso,

Tabela 3.5 Composição dos tratamentos

Tratamento	*Mimosa caesalpiniifolia*	*Acácia holoserícea*
	Contaminante - LCO	
1	2%	
2	4%	
3	6%	
4	9%	
5		2%
6		4%
7		6%
8		9%

Experimentos controles compondo 7 tratamentos, com 21 vasos de 20 Litros cada (12 Kg), também foram estabelecidos de acordo com o planejamento de experimento, conforme a tabela 3.6 a seguir.

Tabela 3.6: Composição dos controles

Controles	
1	Solo sem contaminante e sem espécies
2	Solo sem contaminante e *Mimosa caesalpiniifolia*
3	Solo sem contaminante e *Acácia holoserícea*
4	Solo com 2% LCO e sem espécies
5	Solo com 4% LCO e sem espécies
6	Solo com 6% LCO e sem espécies
7	Solo com 9% LCO e sem espécies

Cada vaso foi preparado individualmente.

A figura 3.24 apresenta o momento do preparo dos tratamentos. O momento em que o óleo foi pesado de acordo com a concentração desejada 2, 4, 6 e 9% ou seja, aproximadamente 240, 400, 700 e 1000 g de óleo respectivamente, para ser misturado (homogeneizado) à massa de solo previamente pesada, aproximadamente 12 Kg.



(a) (b)

Figura 3.24: (a) balanças para pesar o contaminante (LCO) e o solo; (b) bandejas para homogeneização solo/óleo.

Após a contaminação, todos os vasos foram deixados em repouso por 15 dias para o equilíbrio do sistema antes da introdução das espécies, conforme figura 3.25.



Figura 3.25 Sistema solo- contaminante entrando em equilíbrio durante 15 dias, antes de iniciar o plantio

O plantio das duas espécies (*Mimosa* e *Acácia*) iniciou ao fim dos 15 dias dando início ao experimento.

O experimento foi planejado com triplicatas e os vasos foram dispostos completamente aleatórios na casa de vegetação com a realização de rodízio a cada 15 dias. A figura 3.26 apresenta a disposição dos tratamentos em mesa na casa de vegetação.



Figura 3.26: Vasos com os tratamentos e controles dispostos em mesa da casa de vegetação.

A primeira etapa do experimento teve duração de 321 dias, considerando-se o evento da plantação como o início do experimento, em março de 2006, tempo inicial, t_i, e encerrando em janeiro de 2007, tempo final, t_f.

O conteúdo de água foi checado e ajustado regularmente e a irrigação se deu para 60% da capacidade de campo do solo.

Ao inicio e ao final desta etapa do experimento foram analisados o teor de HPAs, nas amostras de solo e de tecido vegetal, assim como, determinado o n^0 de microrganismos hidrocarbonoclásticos no solo.

3.5.2. Segunda etapa do experimento

O planejamento do experimento da segunda etapa foi elaborado para utilizar 1 tipo de solo, 1 espécie arbórea selecionada no primeiro experimento, 1 concentração de LCO, 6 repetições, com 2 ajustes de pH, com e sem adição de fertilizante e teve duração de aproximadamente 180 dias.

Os cálculos, realizados pela EMBRAPA AGROBIOLOGIA, para as doses de fertilizante, os produtos Termofosfato Yorrin e KCl, utilizadas foram 50 g/vaso e 4,5 g/vaso respectivamente; as doses de calcáreo dolomítico para correção de pH foram na proporção de 2,5 t/ha e 5,0 t/ha, considerando que um ha tem 2 milhões de kg de solo, utilizou-se cerca de 15 g/vaso e 30 g/vaso respectivamente.

Foram 6 tratamentos conforme mostrado na tabela 3.7, com 36 vasos de 20 Litros cada (12 Kg) forrados com BIDIM® RT21 para evitar a perda do solo pelos orifícios do vaso.

Tabela 3.7 Composição dos tratamentos da segunda etapa

Tratamento	*Mimosa caesalpiniifolia*		
	6% Contaminante - LCO		
	Ajuste de pH (Calcáreo Dolomítico)		Fertilizante (Termofosfato Yorrin + KCl)
1	4,5	Sem ajuste	Sem fertilizante
2	5,5	15 g/vaso	
3	6,5	30 g/vaso	
4	4,5	Sem ajuste	50 g + 4,5 g/vaso
5	5,5	15 g/vaso	
6	6,5	30 g/vaso	

Experimentos controles compondo 4 tratamentos, com 24 vasos de 20 Litros cada (12 Kg), também foram estabelecidos de acordo com o planejamento de experimento, conforme tabela 3.8.

Tabela 3.8: Composição dos controles da segunda etapa do experimento

Controles	
1	Solo sem contaminante e sem espécies
2	Solo sem contaminante e com a espécie (*Mimosa caesalpiniifolia*)
3	Solo com 6% LCO e sem espécie e biótico
4	Solo com 6% LCO e sem espécie e abiótico

Cada vaso foi preparado individualmente

Cerca de 700 g de óleo foi pesado e misturado a cerca de 12 Kg de solo.

Após a contaminação, todos os vasos foram deixados em repouso por 15 dias para o equilíbrio do sistema antes da introdução das espécies.

O plantio da espécie (*Mimosa caesalpiniifolia*) iniciou ao fim dos 15 dias dando início ao experimento, em março de 2008.

O experimento foi planejado com sextuplicatas, seis vasos para cada condição, e os vasos foram dispostos completamente aleatórios na casa de vegetação com a realização de rodízio a cada 15 dias.

A irrigação foi realizada manualmente em dias intercalados com volumes que variaram de 100 à 150 mL de água, com o cuidado de não haver percolação de água oleosa no prato suporte dos vasos.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação estatística dos dados foi feita por Análise de Variância (ANOVA), após verificar as pressuposições para sua realização, conforme o delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições, com medidas repetida no tempo com fatorial 3x2 na parcela em que foram avaliados 3 níveis de pH (4,5; 5,5 e 6,5) e 2 níveis de fertilizante (com e sem Termofosfato Yorrin + KCl). Nas subparcelas foram avaliadas 2 épocas de coletas de dados (0 e 180 dias). As médias entre os níveis dos fatores avaliados foram comparadas pelo teste de *Tukey* a 5% de probabilidade.

CAPÍTULO 4
RESULTADO E DISCUSSÃO
Caracterização do solo e do óleo-LCO

Neste capítulo são apresentados os resultados, do início dos experimentos, das análises realizadas de caracterização do solo e do óleo (LCO).

O capítulo apresenta a caracterização física, química, mineralógica e microbiológica do solo antes de contaminar o solo e para tanto foram determinados os aspectos relativos a fertilidade necessários ao desenvolvimento das plantas. Teores de alguns metais pesados e de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no solo e no óleo, bem como foi realizada a contagem de bactérias hidrocarbonoclásticas no solo.

A caracterização foi realizada para avaliar o estado inicial do material para iniciar as ações necessárias ao estabelecimento dos experimentos, ou seja as etapas de contaminação do solo e a plantação das espécies.

4.1. SOLO

4.1.1. Caracterização Física

4.1.1.1. Distribuição Granulométrica

A tabela 4.1 apresenta as principais características pedológicas e outros parâmetros do solo na área onde foi coletado.

Tabela 4.1: Descrição pedológica e características gerais do solo estudado

Parâmetros levantados	*Características*
Classificação	ARGISSOLO (antigo podzólico vermelho-amarelo) Textura argilosa Fase floresta tropical subperenifólia Relevo forte ondulado
Localização, município, estado	Município de Belford Roxo, Rio de Janeiro.
Litologia e idade	Gnaisses e migmatitos. Pré-cambriano
Material originário	Saprólito das rochas supracitadas
Pedregosidade	Não pedregoso
Rochosidade	Não rochoso
Relevo local	Forte ondulado
Erosão	Não aparente
Coletado	Dezembro/2006 e dezembro/2007

A tabela 4.2 apresenta as características físicas do solo estudado. A proporção granulométrica apresentada foi em média de 38% de areia, 6% de silte e 55% de argila desse modo sendo caracterizado como de textura ou granulométrica argilosa (35% < Argila < 60%). Essa textura possui aspectos relevantes que interferem nas atividades químicas e microbiológica do solo. As curvas granulométricas obtidas são apresentadas na Figura 4.1.

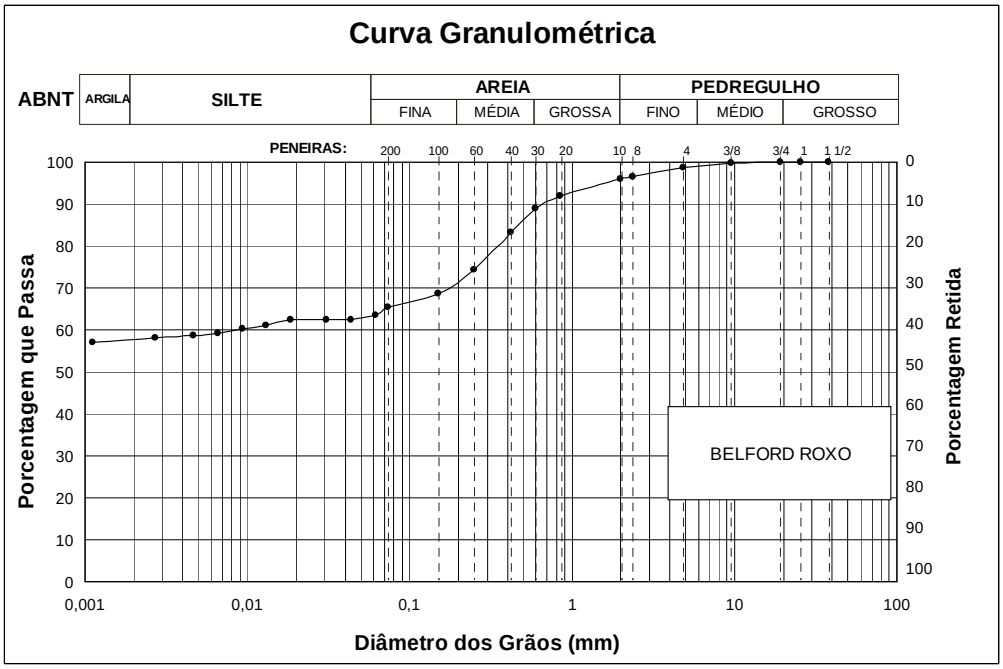
O soloi estudado por Chagas-Spinelli (2007), argiloso, apresentou valores de 38% de areia, 17% de silte e 45% de argila. Já Curcio (2005) encontrou valores de 56% areia, 22% de silte e 22% de argila e Mendonça (2000), 39%, 34% e 24% de areia, silte e argila respectivamente, em solo coletado no mesmo local do solo estudado neste trabalho.

Tabela 4.2: Caracterização física do solo estudado

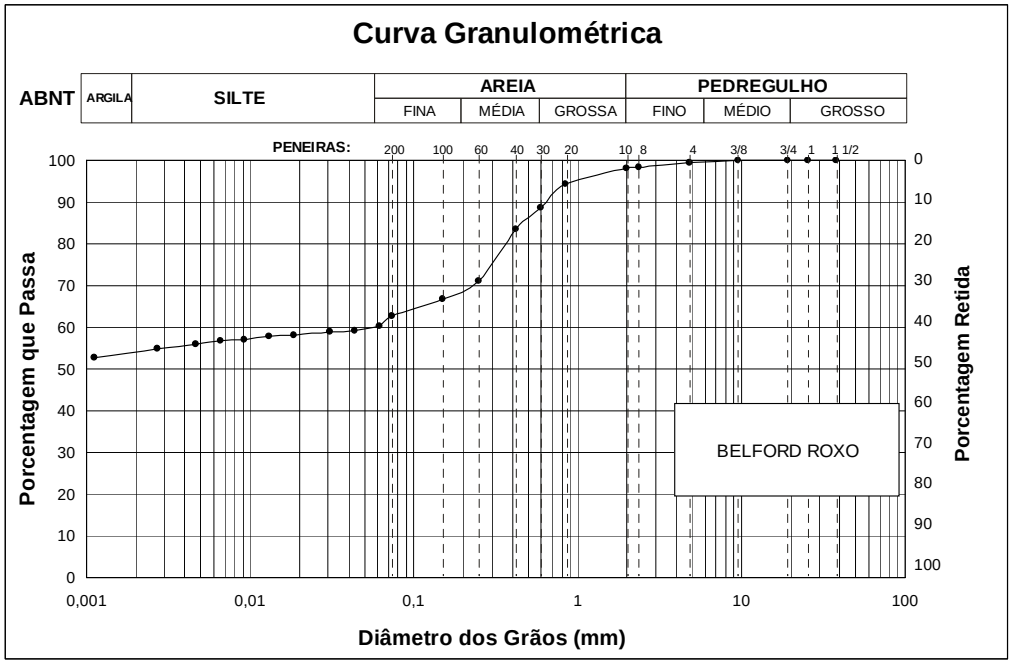
Coleta	Composição granulométrica			DRG	Limites de Atterberg %		
	Argila	Silte	Areia	g/cm^3	W_L	W_P	I_P
2006	54,0	6,0	9,0	2,697	60,4	24,2	36,2
2005	57,7	5,8	8,4	2,687	67,8	33,6	32,2

DRG: Densidade real dos grãos; D_{50}:diâmetro médio; WL: Limite de liquidez; WP: Limite de plasticidade e I_P: Índice de plasticidade

A fração argilosa tende a ter uma alta atividade química, sendo capaz de reter água em sua superfície, além de certos nutrientes e contaminantes (SEMPLE, 2003). Porém, o comportamento do solo é muito complexo e dependente da composição mineralógica e orgânica de sua matriz.



(a)



(b)

Figura 4.1: Curva granulométrica do solo amostrado em Belford Roxo – RJ: (a) Coleta 2005; (b) Coleta 2006

A densidade real dos grãos (DRG) do solo foi de 2,697 e 2,687 g/cm^3 para as coletas de 2005 e 2006 respectivamente. Valores referentes ao mesmo material exibidos por Chagas-Spinelli (2007), Curcio (2005) e Mendonça (2000) foram de 2,56, 2,656 e de 2,689 g/cm^3 respectivamente.

4.1.1.2. Composição e Plasticidade

O Teor de Matéria Orgânica (TMO) encontrado foi de 0,35%.
Os limites de Atterberg tiveram o Limite de Liquidez (WL) foram de 67,8 e 60,4% para as coletas de 2005 e 2006 respectivamente. O Limite de Plasticidade (WP) apresentou valores de 33,6 e 24,2% e o índice de Plasticidade (IP) os valores de 32,2 e 36,2% para as coletas realizadas em 2005 e 2006 respectivamente.

4.1.2. Caracterização Química

A tabela 4.3 apresenta valores de área específica e capacidade de troca catiônica para alguns argilominerais como auxílio na discussão dos resultados a seguir.

Tabela 4.3: Áreas específicas e CTCs de alguns argilominerais.

Mineral e tamanho da partícula		Estrutura	Área específica ($m^2.g^{-1}$)	Capacidade de troca catiônica (CTC) ($cmol_c.Kg^{-1}$)
ARGILOMINERAIS	Caolinita	1:1	10-20	3-15
	Haloisita	1:1	21-43	5-50
	Ilita	2:1	70-120	10-40
	Clorita	2:1	79-120	10-40
	Vermiculita	2:1	300-500	100-150
	Montmorilonita	2:1	800	80-120
	Esmectita	2:1	700-800	60-150
	Alofana	amorfa	70-300	25-70

Fonte: Picarelli (2003)

A tabela 4.4 apresenta os resultados referentes às análises químicas realizadas no solo. A acidez do solo medida potenciometricamente pela análise de pH foi de 4,37 e 4,35 em meio aquoso e, o pH do solo medido em meio salino (KCl) foi de 3,90, o mesmo, para os solos coletados em 2005 e 2006 respectivamente. No estudo realizado por Curcio (2005) os valores de pH em meio aquoso e salino foram de 4,72 e 3,95 respectivamente. Mendonça (2000) em seu estudo apresentou valores de pH de 4,13 e 3,83 em meio aquoso e salino, respectivamente. O pH do solo, segundo a classificação química, se apresenta fortemente ácido, conforme Alvarez *et al*. (1999) e Almeida (1988).

Tabela 4.4 Caracterização química do solo – Determinação dos cátions trocáveis e macronutriente

Coleta	CC %	pH		Al^{3+}	Ca	Mg	Na	K	Valor S	H	Valor T	Valor t	Valor V	P	100 Al / (S + Al)
				cmolc/Kg.									%	mg/Kg	
		H_2O	KCl												
2006	22,4	4,37	3,90	1,00	0,15	0,00	0,20	0,01	0,36	1,99	2,90	1,50	10,3		73
2005	-	4,35	3,90	1,10	0,30	0,10	0,01	0,01	0,42	2,20	3,72	1,80	11,3	1	77

Valor T = CTC:Capacidade de troca catiônica;
Valor t – CTC a pH=7
CC = capacidade de campo

Em relação ao Complexo Sortivo do solo nas duas coletas realizadas, a soma das bases trocáveis (valor S) apresentou valores de 0,36 e 0,42 cmolc/Kg. A soma das bases trocáveis (valor S) nos estudos de Curcio (2005) e Mendonça (2000) apresentaram ambos valores de 0,10 cmolc/Kg. Tais valores apresentaram-se baixo de acordo com a classificação estabelecida por Alvarez *et al*. (1999).

Em relação à percentagem de saturação por bases, valor V, foram apresentados valores de 10,3 e 11,3 % respectivamente, valores inferiores a 50%, um solo ácido, distrófico, ou seja indicando ser um solo de fertilidade média ou baixa.

Um solo argiloso com predomínio de caolinita apresenta baixa capacidade de reter nutrientes, água, etc. conferindo uma reduzida capacidade sortiva desse solo, decorrente especialmente de sua baixa capacidade de troca catiônica (CTC). Dentre os argilominerais, a caolinita foi a que apresentou a menor capacidade de troca catiônica (3-15 $cmol_c.dm^3$), em função do seu arranjo estrutural (Si:Al, 1:1), conforme tabela 4.3. Nos estudos de Curcio (2005) e Mendonça (2000) foram encontrados os valores de 1,2 e 4,4 cmolc/Kg, respectivamente.

De acordo com os resultados observados (tabela 4.4), a CTC do solo estudado apresentou atividade dentro do esperado para solos argilosos (EMBRAPA, 1999). O valor da CTC efetiva foi de 2,90 e 3,72, respectivamente, portanto está correspondendo a solos argilosos que possui uma faixa entre 3-15 $cmol_c.dm^{-3}$ (tabela 4.3). Esse resultado reflete que sob condições naturais ácidas, o solo estudado apresenta moderada capacidade de reter cátions. A baixa CTC demonstra um potencial de perdas por lixiviação de nutrientes, sob condições naturais, dificultando o desenvolvimento da microbiota nativa. Solos com CTC entre 1 a 5 cmolc.dm-3 tendem a apresentar um baixo teor de nitrogênio (N) e de fósforo (P) (LOPES, 1992).

A capacidade de campo (CC), parâmetro que corresponde à quantidade máxima de água que um solo pode reter em condições normais ou o limite máximo de disponibilidade de água presente no solo para as plantas e microrganismos, foi de 22,4 % para o solo antes da contaminação. (tabela 4.4). De acordo com Trindade (2002), para o crescimento favorável da microbiota, a umidade do solo deve estar em torno dos 50% de sua CC e, baseado nos dados experimentais obtidos, durante os tratamentos de remediação tal correção foi efetuada a fim de manter essa proporção.

A análise da amostra de solo por difratograma de Raios-X (DRX) permite a identificação dos minerais presentes e também, até certo ponto, avaliar a sua proporção. A análise por DRX do solo estudado, apresentado na tabela 4.5 e o respectivo difratograma na figura 4.2, identificou quartzo e a caulinita como o argilomineral predominante. No estudo realizado por Mendonça (2000) foi identificado goethita, hidromica e também a predominância de caolinita. Minerais bastante representativos dos argissolos (EMBRAPA, 1999).

Tabela 4.5: Caracterização mineralógica do solo estudado.

Amostras	Difração de Raio X	
	Fração Argila	Amostra Total
Solo 2006	-	Caolinita e Quartzo

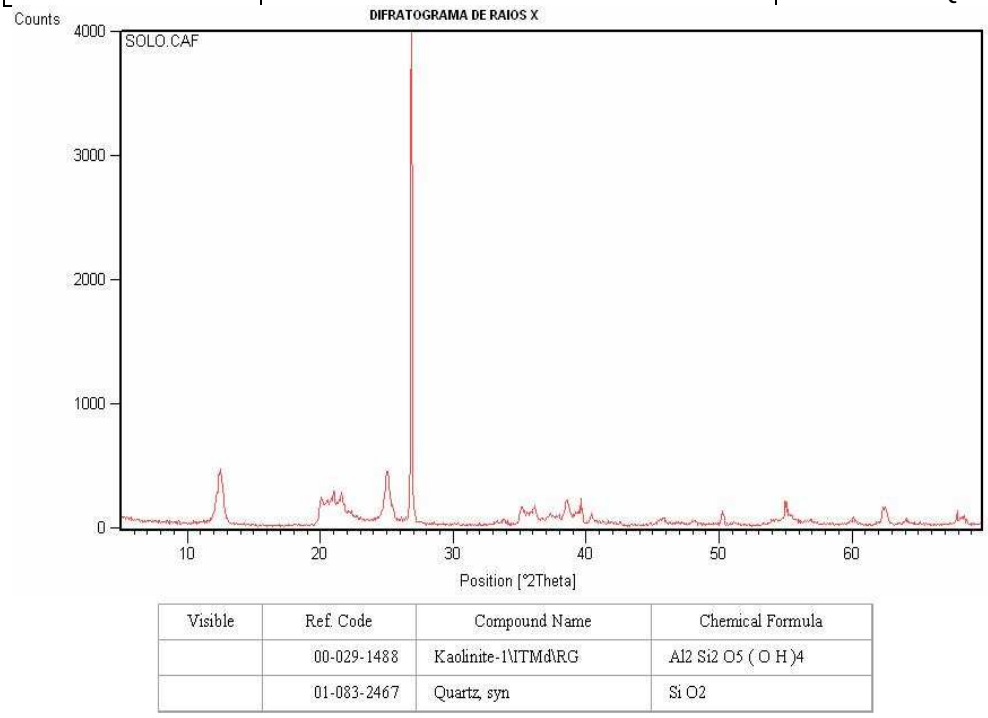


Figura 4.2: Difratograma de Raios X do solo estudado.

4.1.3. Micronutrientes (Cu, Fe, Zn, B e Mn)

Para os micronutrientes analisados foram quantificados baixos teores de cobre, ferro, zinco, boro e manganês. Segundo Alvarez *et al* (1999), todos os valores estão abaixo do nível crítico ou seja, o nível que pode causar toxidez nas plantas.A tabela 4.6 apresenta os teores dos micronutrientes encontrados.

Tabela 4.6: Micronutrientes

Micronutrientes				
Cu	**Fe**	**Zn**	**Mn**	**B**
---------- DTPA ----------				(água quente)
---------- mg/Kg ----------				
0,1	3	0,3	0,1	0,30

DTPA= solução extratora de micronutrientes do solo

4.1.4. Análise Microbiológica - Contagem de Bactérias Hidrocarbonoclásticas - BHC

Quanto à população microbiana do solo em estudo, os resultados mostraram que as bactérias hidrocarbonoclásticas encontravam-se abaixo da ordem de 10^5 NMP/g de solo seco (tabela 4.7), o que segundo Mishra *et al*, (2001), esses valores encontrados são inadequados para o processo de biorremediação. Porém, em ecossistemas não poluídos, como no caso do solo original e do Controle (*Mimosa caesalpinifolia*), os microrganismos degradadores de hidrocarbonetos geralmente constituem menos que 0,1% da população microbiana.(ATLAS, 1981).

O objetivo da realização dessa análise foi o monitoramento da população das bactérias hidrocarbonoclásticas visto que esses microrganismos são considerados degradadores de hidrocarbonetos de petróleo e assim, investigar a interação dessa população de bactérias com as espécies vegetais utilizadas e sua relação com a degradação dos contaminantes HPAs do solo estudado. A tabela 4.7 mostra que as amostras de solo inicialmente, sem contaminação e sem a espécie (original) e sem contaminação e com a espécie (Controle Mimosa) apresentaram uma baixa contagem de microrganismos, porém no solo contendo 2% de LCO e com a espécie([1] sabiá), apresentou um aumento da população microbiana, possivelmente pelo aumento de carbono no solo, devido a contaminação do óleo – LCO.

Tabela 4.7: Contagem de bactérias hidrocarbonoclásticas.

Amostra de solo	pH		Umidade	Bactérias Hidrocarbonoclásticas
	H_2O	KCl	%	NMP/g solo
Sem contaminação 2006	4,37	4,01	17,6	$2,7 \times 10^2$

4.1.5. Estado da Contaminação

4.1.5.1.Contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – HPAs

A determinação dos teores dos 16 HPAs foi realizada no solo no início dos dois experimentos, 2007 e 2008. Os resultados encontram-se na tabela 4.8. Nas duas épocas, o solo apresentou teores de HPAs inferiores aos valores definidos pela CETESB, 2005 para a Intervenção Agrícola, pois são os limites admisíveis mais restritivos para se realizar qualquer atividade agrícola.

Tabela 4.8:Contaminantes orgânicos no solo antes e depois da contaminação com LCO, no tempo inicial (T_0) do experimento.

HPAs	**Número de anéis**	**Solo 2005 (mg/Kg)**					**Solo 2006 (mg/Kg)**		**CETESB Intervenção Agrícola mg/Kg)**
		S/C	2 %	4%	6 %	9 %	S/C	6%	
Naftaleno	2	< 0,01	113	192	295	390	< 0,01	23	30
Acenaftileno	3	< 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,01	13	-
Fluoreno	3	< 0,01	25	47	69	93	< 0,01	58	-
Acenafteno	3	< 0,01	37	62	81	112	< 0,01	86	-
Antraceno	3	< 0,01	15	29	37	51	< 0,01	36	-
Fenantreno	3	< 0,01	86	153	235	310	< 0,01	233	15
Criseno	4	< 0,01	3,2	7,1	12	15	< 0,01	17	-
Pireno	4	< 0,01	15	25	35	61	< 0,01	37	-
Fluoranteno	4	< 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,01	7.9	-
Benzo(a)antraceno	4	< 0,01	10	19	25	38	< 0,01	10	9
Benzo(a)pireno	5	< 0,01	0,95	0,95	1,6	2,1	< 0,01	2.3	0,4
Benzo(b)fluoranteno	5	< 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,01	0.73	-
Benzo(k)fluoranteno	5	< 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,01	0.01	-
Dibenzo(a,h)antraceno	5	< 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,01	0.38	0,15
Benzo(g,h,i)perileno	6	< 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,01	0.28	-
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	6	< 0,01	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,01	0.47	2

S/C= sem contaminação

4.1.5.2.Contaminação por Metais

A tabela 4.9 apresenta os teores de metais encontrados no solo na segunda coleta, realizada em 2006, após a contaminação com o óleo e no óleo, LCO.

Tabela 4.9: Teores de metais no solo e no óleo – LCO.

Amostragem 2006, mg/Kg				
METAL	**SOLO Sem contaminaçào**	**ÓLEO LCO**	**SOLO Contaminado com 6% LCO**	**CETESB Intervenção Agrícola**
Alumínio	26525	1	28562	-
Cálcio	46	63	50	-
Cádmio	< 0,5	0,1	< 0,5	**3**
Cobalto	< 0,5	1	< 0,5	**35**
Cromo	11	1	13	**150**
Cobre	1,2	1	1,3	**200**
Ferro	26099	1	26782	-
Potássio	146	63	65	-
Magnésio	29	63	26	-
Manganês	17	1	20	-
Sódio	< 23	63	<17	-
Níquel	< 0,5	1	0,5	**70**
Chumbo	5,8	1	5,5	**180**
Estrôncio	3,7	1	7,4	-
Zinco	6,1	12	1	**450**

Os metais pesados podem ser retidos pelo solo através de três processos distintos: adsorção na superfície das partículas minerais, complexação das partículas e por reações de precipitação.

Na química dos metais pesados no solo, a adsorção provavelmente é o processo mais importante. Sposito (1989), relatou que a quantidade de cátions que pode ser adsorvida por troca de íons da solução pela fase sólida em condições específicas de temperatura, força iônica e pH (CTC) é dependente das espécies envolvidas. Quanto maior a CTC do solo, maior a sorção e imobilização do metal. Uma fração dos metais pesados se encontra associada à superfície de partículas argilosas, orgânicas e aos precipitados insolúveis como hidróxidos, carbonatos e fosfatos, podendo se tornar disponíveis ao sistema radicular das plantas. Alloway (1996) relatou que a adsorção específica ocorre quando metais como Cd, Cu, Ni e Zn formam íons complexos (MOH) em superfícies que contêm grupos hidroxilas, especialmente hidróxidos de Fe, Mn e Al. Esta adsorção é fortemente dependente do pH, e responsável pela retenção de uma maior quantidade de metais que a troca de cátions. Segundo Alloway (1997), a ordem de força de adorção dos metais na superfície das partículas do solo é, em ordem decrescente, o cádmio, níquel, cobalto, zinco, cobre, chumbo e mercúrio.

Os teores de metais se apresentaram inferiores quando comparados aos teores estabelecidos pela CETESB, 2005, para a Intervenção Agrícola, que são os limites admisíveis mais restritivos.

4.2. CONTAMINANTE - LCO

4.2.1. Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos no Óleo - LCO

A tabela 4.10 apresenta os teores relativos a cada um dos 16 HPAs no óleo utilizado como contaminante neste experimento. A tabela está apresentada em ordem crescente de número de anéis aromáticos mostrando que a concentração do HPA no óleo diminuiu com o aumento do número de anéis aromáticos do composto.

Tabela 4.10: Teor de HPAs no óleo – LCO em µg/L

HPAs	Número de anéis	Óleo 2005	Óleo 2006
Naftaleno	2	8.572.476	6.731.896
Acenaftileno	3	< 1500	< 1.500
Fluoreno	3	975.565	1.057.879
Acenafteno	3	1.430.116	1.540.125
Antraceno	3	593.557	779.351
Fenantreno	3	3.354.636	4.216.645
Criseno	4	358.710	472.963
Pireno	4	380.474	584.621
Fluoranteno	4	< 1.500	< 1.500
Benzo(a)antraceno	4	225.044	314.002
Benzo(a)pireno	5	33.988	60.600
Benzo(b)fluoranteno	5	< 1.500	< 1.500
Benzo(k)fluoranteno	5	< 1.500	< 1.500
Dibenzo(a,h)antraceno	5	13.087	21.327
Benzo(g,h,i)perileno	6	6.577	8.960
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	6	< 1.500	< 1.500

Os resultados na tabela 4.10 mostram que o óleo LCO, como descrito no item 2.1, possui um elevado teor de **H**idrocarbonetos **P**olicíclicos **A**romáticos – HPAs.

4.2.2. . Determinação de Metais no Óleo - LCO

O óleo estudado apresentou baixos teores de metais.

Tabela 4.11: Teor de Metais no óleo – LCO em mg/L

METAL	Óleo LCO
	mg/L
Alumínio	1
Cálcio	63
Cádmio	**0,1**
Cobalto	**1**
Cromo	**1**
Cobre	**1**
Ferro	1
Potássio	63
Magnésio	63
Manganês	1
Sódio	63
Níquel	**1**
Chumbo	**1**
Estrôncio	1
Zinco	**12**

4.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O solo estudado foi um argissolo vermelho amarelo, de textura argilosa, tendo a caulinita como o argilomineral característico. De acordo com os resultados da caracterização e segundo a EMBRAPA (1999), é um solo ácido, de saturação por bases inferior a 50%, dando caráter distrófico.

Apresentou baixo teor de matéria orgânica (MO), inclusive os teores de metais e de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) foram inferiores aos teores de intervenção agrícola, estabelecido pela CETESB como sendo o mais, caracterizando-o como um solo não contaminado.

Em relação ao pH do solo, ≅ 4,5, estava abaixo da faixa considerada ótima (pH entre 6,5 e 8,0) mencionado por RISER-ROBERTS (1998). O baixo valor de pH pode indicar uma capacidade do solo em reter metais favorecendo a solubilização e mobilidade destes elementos. Simão (2001) observou para solos neutros a alcalinos que os metais tornaram-se mais disponíveis por formarem precipitados com hiróxidos e carbonatos.

Esses resultados sugerem que condições devam ser otimizadas para favorecer a degradação dos HPAs no solo em estudo, porém importante ressaltar que o sucesso depende de alguns fatores que estão associados. A degradação do petróleo e derivados, como o óleo LCO (na faixa do óleo diesel), com uma série de

hidrocarbonetos recalcitrantes, depende de uma diversidade genética, de uma versatilidade metabólica alcançada a partir de um consórcio de microrganismos (MARCHAL *et al,* 2003). Assim, todo esse processo é dependente também de um contato direto entre o contaminante e os microrganismos, ou seja, da biodisponibilidade do composto a ser degradado. Os contaminantes orgânicos tendem a interagir de várias formas com os constituintes solo, reduzindo ou aumentando a sua disponibilidade e, dessa forma, influenciando no potencial de biodegradação (AMELLAL *et al* 2001).

Outros fatores, como condições nutricionais adequadas, fatores abióticos, índice de toxicidade que também são importantes na fitorremediação, como processo biodegradativo serão discutidos oportunamente ao longo desse trabalho.

CAPÍTULO 5
RESULTADO E DISCUSSÃO
1º Experimento

Neste capítulo são apresentados os resultados do primeiro experimento cujo objetivo foi selecionar a espécie com maior potencial fitorremediador de HPAs para o solo e o contaminante selecionados para este estudo.

A metodologia do experimento foi descrita no capítulo 3, sendo este experimento planejado em esquema de Delineamento Inteiramente Cazualizado - DIC fatorial 1x1x2x4 (solo, contaminante, espécies vegetais e níveis de concentração do contaminante) com 3 repetições e duas épocas de coletas de dados (0 e 321 dias).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação utilizando, *Mimosa caesalpinifolia* e *Acácia holocericea*, espécies vegetais arbóreas com estudos e publicações acadêmicas já estabelecidas na aplicação da tecnologia de revegetação de áreas degradadas pela EMBRAPA. Ou seja, são espécies anteriormente já mostraram resistência a situações de estresse como as intempéries (por exemplo, regimes de pouca ou muita chuva, solo “pobre”,etc.).

Neste estudo, característico de áreas contaminadas, as espécies foram expostas a um a um óleo contido no solo em quatro níveis de contaminação. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e espécies plantadas em vasos (volume restrito), contendo o solo que era ácido, argiloso, “pobre em nutrientes” e em microrganismos.

Foram medidos os teores de HPAs nas espécies vegetais (*Mimosa caesalpinifolia* e *Acácia holocericea*) antes do plantio, cujos resultados estão apresentados na tabela 5.1. Os resultados relacionados aos parâmetros medidos, físicos (crescimento e sobrevivência) das espécies e químicos (teor de HPAs no solo e espécies vegetais) estão apresentados por espécie e serão discutidos a seguir.

Tabela 5.1: Teores de HPAs nos tecidos vegetais antes do plantio

HPAs mg/Kg	**Número de anéis**	***Mimosa caesalpinifolia***	***Acácia holocericea***
Naftaleno	2	< 0,01	< 0,01
Acenaftileno	3	< 0,01	< 0,01
Fluoreno	3	< 0,01	< 0,01
Acenafteno	3	< 0,01	< 0,01
Antraceno	3	< 0,01	< 0,01
Fenantreno	3	< 0,01	< 0,01
Criseno	4	< 0,01	< 0,01
Pireno	4	< 0,01	< 0,01
Fluoranteno	4	< 0,01	< 0,01
Benzo(a)antraceno	4	< 0,01	< 0,01
Benzo(a)pireno	5	< 0,01	< 0,01
Benzo(b)fluoranteno	5	< 0,01	< 0,01
Benzo(k)fluoranteno	5	< 0,01	< 0,01
Dibenzo(a,h)antraceno	5	< 0,01	< 0,01
Benzo(g,h,i)perileno	6	< 0,01	< 0,01
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	6	< 0,01	< 0,01

5.1. MIMOSA CAESALPINIFOLIA

5.1.1. Crescimento e sobrevivência da espécie

O desenvolvimento da *Mimosa caesalpinifolia* foi avaliado através de 4 medições das alturas para todas as espécies plantadas, conforme tabela 5.2

Tabela 5.2: Medição do crescimento da *Mimosa caesalpiniifolia*

Concentração de LCO %	Média do Tamanho da Espécie, cm		
	Mimosa caesalpiniifoli		
	124 dias	252 dias	321 dias
Controle	33	38	39
2	33	33	47
4	35	40	40
6	35	36	36
9	8	8	0

A figura 5.1 apresenta o crescimento da *Mimosa caesalpinifolia,* em valores médios, nos solos contaminados ao longo de 321 dias. A altura média inicial das mudas foi de 18 cm. A tabela 5.2 e a figura 5.1 mostram o crescimento da espécie vegetal em 2%, 4% e 6% de LCO. O crescimento das espécies em solos contaminados com 2, 4 e 6% de óleo foi semelhante ao controle, apresentando taxa de crescimento de aproximadamente 0,3 cm.dia^{-1}, sendo que a espécie plantada no solo com 2% de LCO

alcançou a maior altura, 47 cm, ao final dos 321 dias. A espécie plantada no solo contaminado com 9% de *LCO* apresentou o menor crescimento, 8 cm, em relação às espécies plantadas nas outras concentrações e nenhuma dessas espécies sobreviveu ao término do experimento.

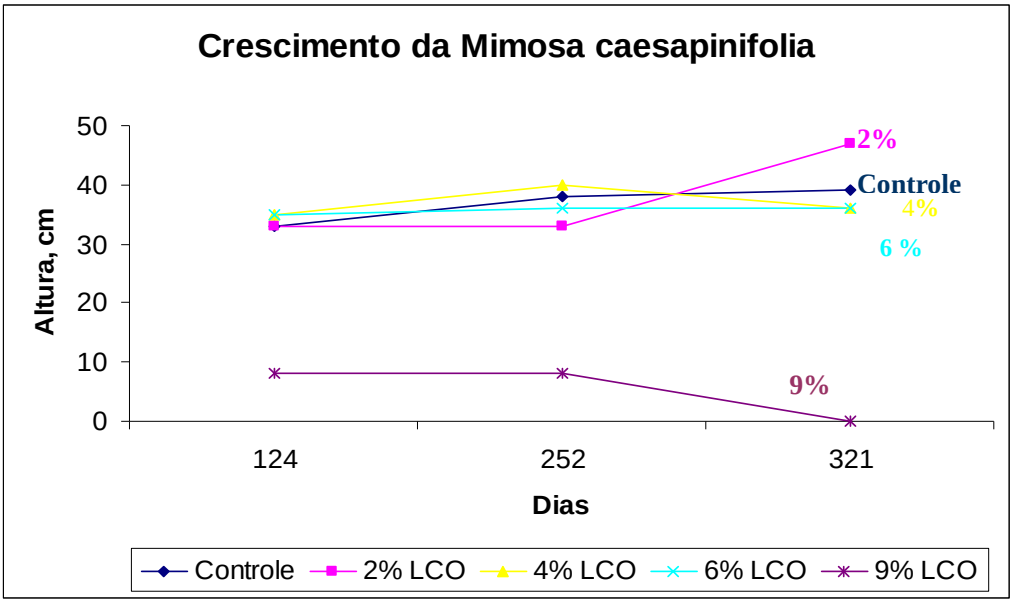


Figura 5.1: Crescimento de *Mimosa caesalpinifolia* em solo contaminado com LCO.

A sobrevivência da *Mimosa caesalpinifolia* frente aos níveis de contaminação do solo foi verificada através da contagem dos vasos contendo espécies vivas para cada concentração.

Tabela 5.3: Controle de *Mimosa caesalpinifolia* - sobreviventes

Dias	Concentração de contaminante nos tratamentos				
	0% Controle	2% Tratamento 1	4% Tratamento 2	6% Tratamento 3	9% Tratamento 4
	Número de Espécies sobreviventes				
0	9	9	9	9	9
14	9	9	9	3	1
27	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
54	9	9	9	7	5
81	9	9	9	4	1
108	9	9	9	3	1
135	9	9	9	3	1
162	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
189	9	9	9	6	4
216	9	9	9	6	2
243	9	9	9	5	2
270	9	9	9	5	1
321	9	9	8	4	0

Na tabela 5.3 e na figura 5.2 são apresentados os resultados da sobrevivência de *Mimosa caesalpinifolia* plantada em solos contaminados nas 4 concentrações diferentes de LCO. As espécies plantadas no solo contaminado com 2% e 4% de LCO sobreviveram 100% em relação ao controle nos 321 dias de experimento.

Nos 27 e 162 dias do experimento dois replantios foram realizados nos solos com 6 e 9 % de contaminante pois, o número de sobreviventes foram reduzidos a 33% e 11% respectivamente. Ao final dos 321 dias a sobrevivência dessas espécies foi 44% e 0% respectivamente em relação às espécies plantadas.

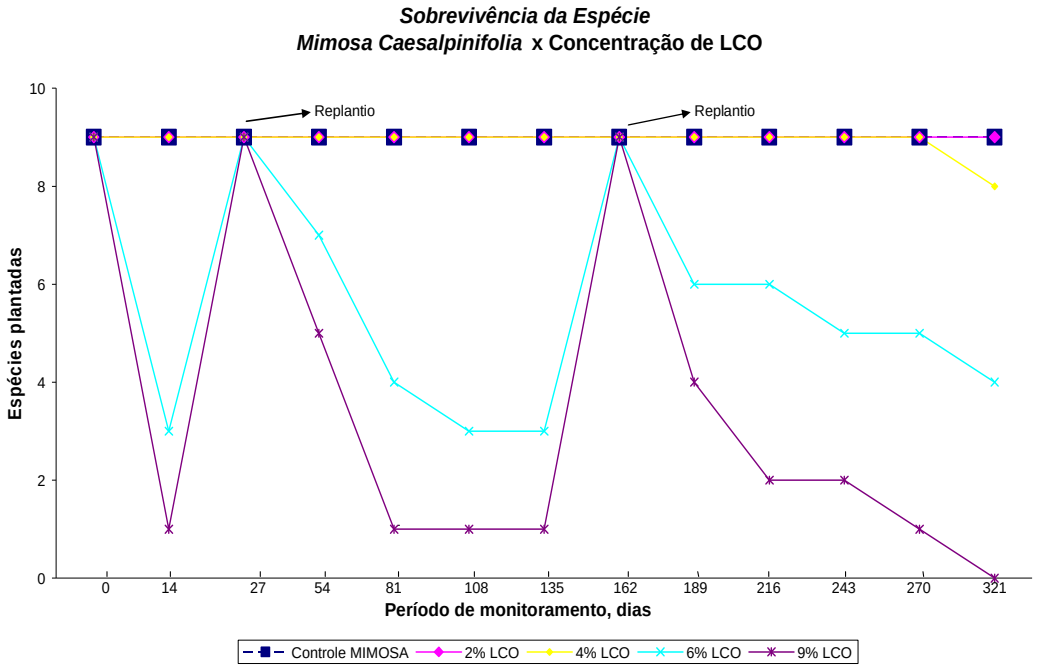


Figura 5.2: Sobrevivência de *Mimosa caesalpinifolia* em solo contaminado com LCO.

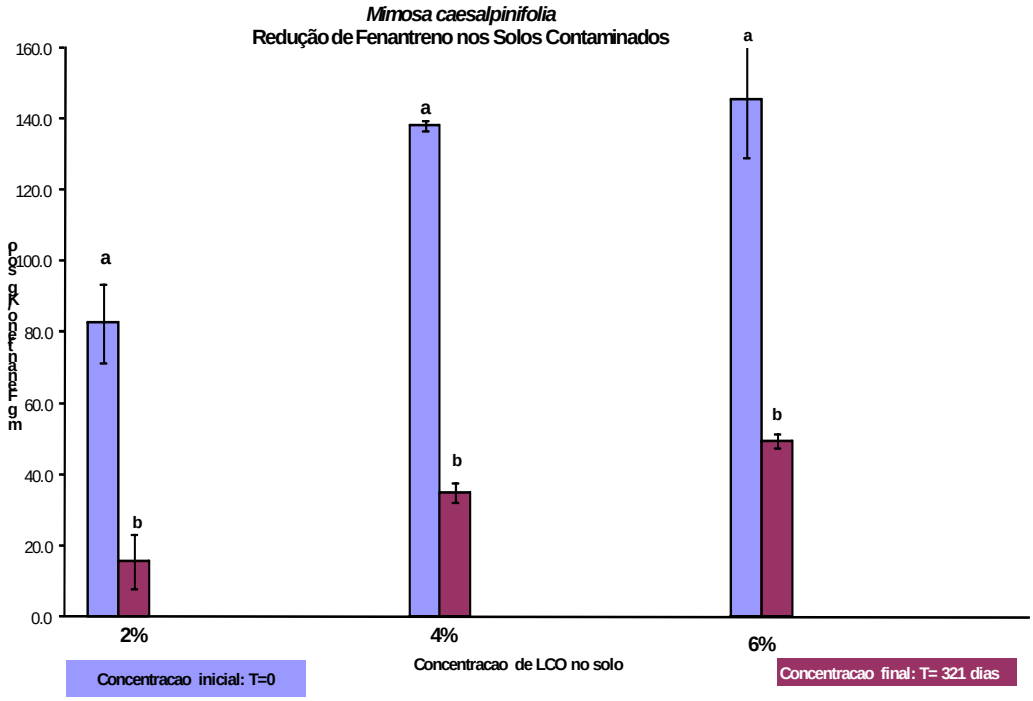
A concentração de 6 e 9% de LCO se mostraram tóxica para a espécie estudada.

5.1.2. Redução de Fenantreno e Pireno em solo plantado com *Mimosa caesalpinifolia*

Na figura 5.3 o fenantreno apresenta maior redução do que o pireno; o que está de acordo com Cerniglia (1992) em estudo que sugere que quanto maior a massa molecular do HPA maior a resistência ao ataque microbiano do que as moléculas menores de HPA.

As concentrações de fenantreno foram reduzidas de 86, 120 e 145 mg/Kg para valores menores que 16, 20 e 40 mg/Kg em 321 dias de experimento. A redução nos vasos plantados foi significativamente maior do que nos vasos não plantados. Nos vasos

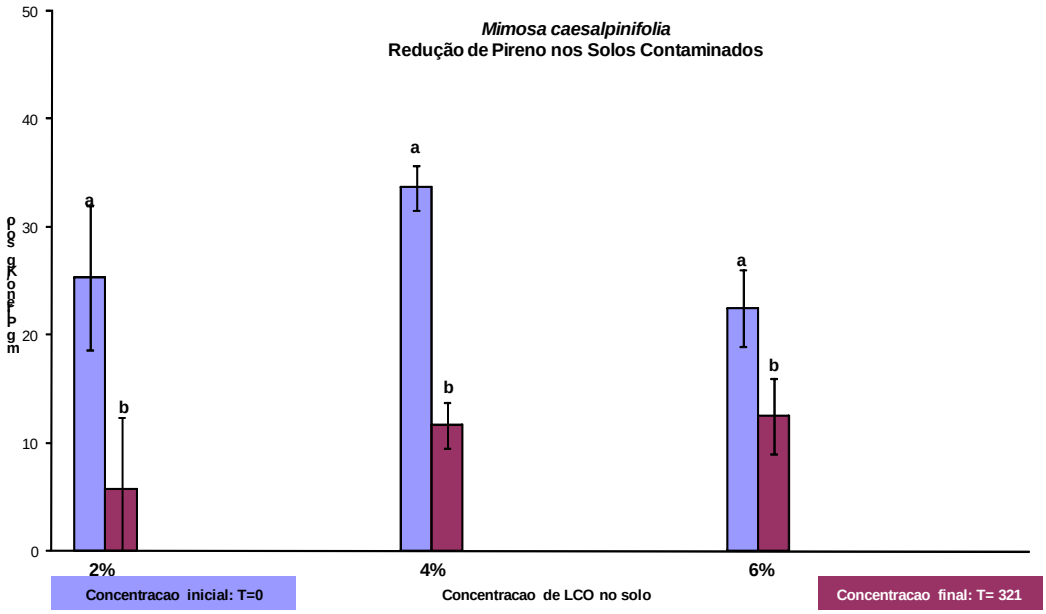
plantados a redução do fenantreno foi de 81%, 83,3 % e 72,6% m/m respectivamente e nos vasos não plantados de 67,4%, 75,6% e 65,7% m/m respectivamente.



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 5.3: Redução do fenantreno em solo contaminado e plantado com *Mimosa caesalpiniifolia*

Na figura 5.4 as concentrações de pireno foram reduzidas de 25 mg/Kg, 33,7 mg/Kg e 22,5 mg/kg p/p respectivamente, para valores menores 6 mg/Kg, 12 mg/Kg e 13 mg/kg p/p respectivamente. Nos vasos plantados a redução do pireno foi de 69,5%, 65,5% e 69,5% p/p respectivamente e nos vasos não plantados de 59,3, 63,6 % e 74,7,6% p/p respectivamente.



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 5.4: Redução do pireno em solo contaminado e plantado com *Mimosa caesalpiniifolia*

5.1.3. *Mimosa caesalpinifolia:* fitoextracao fenantreno/pireno

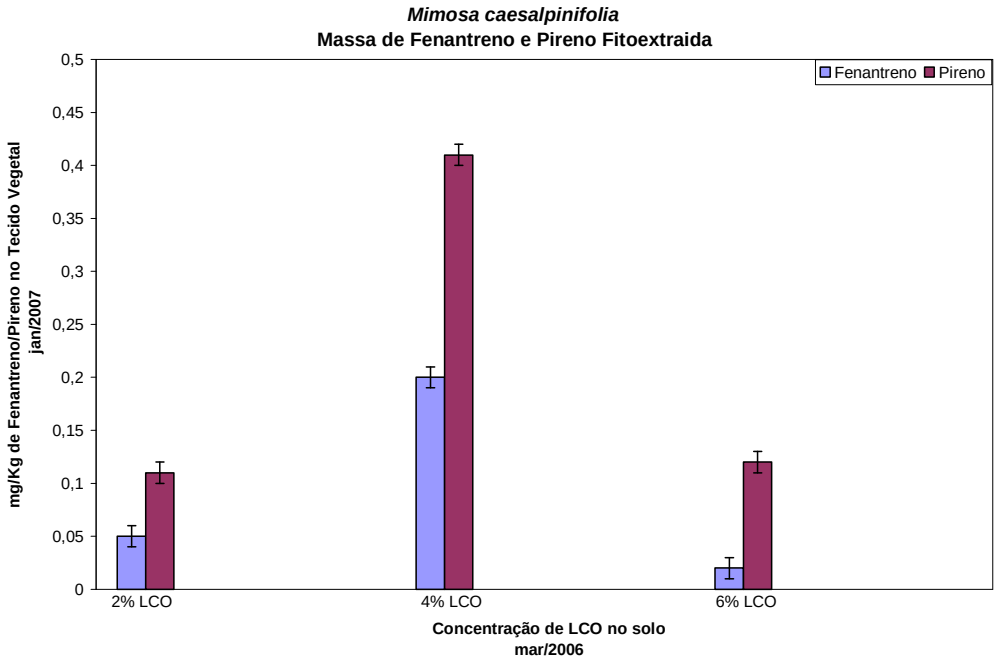


Figura 5.5: Fitoextração de fenantreno e pireno pela *Mimosa caesalpiniifolia*

No tecido vegetal foi observado que ocorreu o processo de fitoextração porém o pireno foi mais fitoextraido do que o fenantreno, provavelmente devido a dificuldade dos microrganismos em degradar HPAs com alta massa molecular, conforme apresentado na figura 5.5. Também foi observado que a quantidade de fenantreno e pireno fitoextraída foi muito inferior à quantidade destes dois compostos no solo sugerindo que o processo preferencial desta fitorremediação seria a fitodegradação/rizodegradação.

5.1.4. Atividade Microbiana no solo

A figura 5.6 apresenta o comportamento da população de Bactérias Hidrocarbonoclásticas - BHC no solo em relação a presença de espécie vegetal *Mimosa caesalpiniifolia* e as quatro diferentes concentrações de contaminante, LCO.

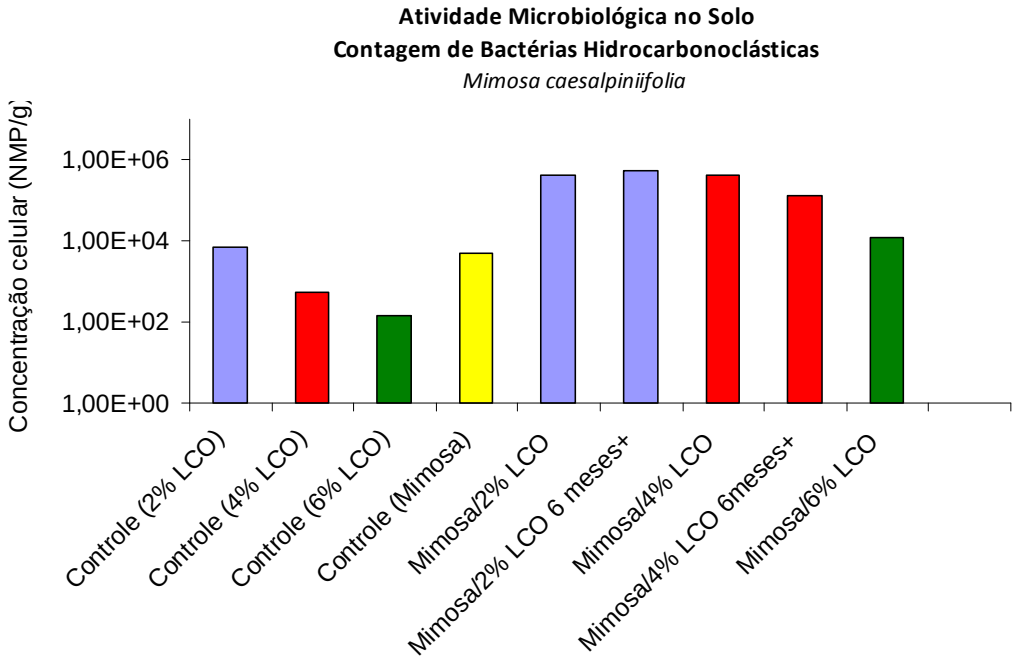


Figura 5.6: *Mimosa caesalpiniifolia* plantada em solo em 4 concentrações de LCO:

A parcela controle não continha contaminante (LCO) e nem a espécie. Observa-se na figura 5.6 que ao adicionar 2% de LCO houve um estímulo ao aumento da população de bactérias hidrocarbonoclásticas - BHC. Ao adicionar 4 e 6% de LCO observou-se uma inibição do crescimento da população de BHC e ao adicionar 9% de LCO a população de BHC se manteve constante. A parcela controle (*Mimosa caesalpiniifolia*) não continha contaminante e a população de BHC se mostrou na mesma ordem de grandeza do que a parcela controle, na ordem de 10^3.

Ao adicionar a espécie Mimosa às parcelas com 2, 4, 6 e 9% de contaminante observou-se que a espécie vegetal estimulou o aumento da população de BHC para as parcelas com 2, 4 e 6% de contaminante respectivamente, observando-se também que quanto maior a concentração de contaminante, menor o aumento da população de BHC. Na parcela com 9% de contaminante não foi observado aumento significativo da população de BHC ao introduzir a espécie vegetal.

5.2. ACACIA HOLOCERICEA

5.2.1. Crescimento e sobrevivência da espécie

O desenvolvimento da *Acácia holocericea* foi avaliado através de 4 medições das alturas para todas as espécies plantadas.

Tabela 5.4 Medição do crescimento da *Acácia holocericea*

Concentração de LCO %	Média do Tamanho da Espécie, cm *Acácia holocericea*		
	T_2 124 dias	T_3 252 dias	T_4 321 dias
Controle	29	34	34
2	4	16	57
4	12	12	66
6	19	19	0
9	4	4	0

A tabela 5.4 e a figura 5.7 apresentam o crescimento da *Acácia holocericea,* em valores médios, nos solos contaminados ao longo de 321 dias. O crescimento da espécie vegetal em 2%, 4% e 6% de LCO foi semelhante ao controle, apresentando taxa de crescimento de cerca de 0,3 $cm.dia^{-1}$, sendo que a espécie plantada no solo com 4% de LCO alcançou a maior altura, 90 cm ou seja, obteve um crescimento de 66 cm, ao final dos 321 dias. As espécies plantadas no solo contaminado com 6 e 9% de *LCO* atingiram 43 e 28 cm, ou seja obtiveram um crescimento de 19 e 4 cm respectivamente aos 252 dias do experimento porém, não resistiram a alta concentração de óleo e não sobreviveram ao término do experimento, como mostrado na figura 5.8.

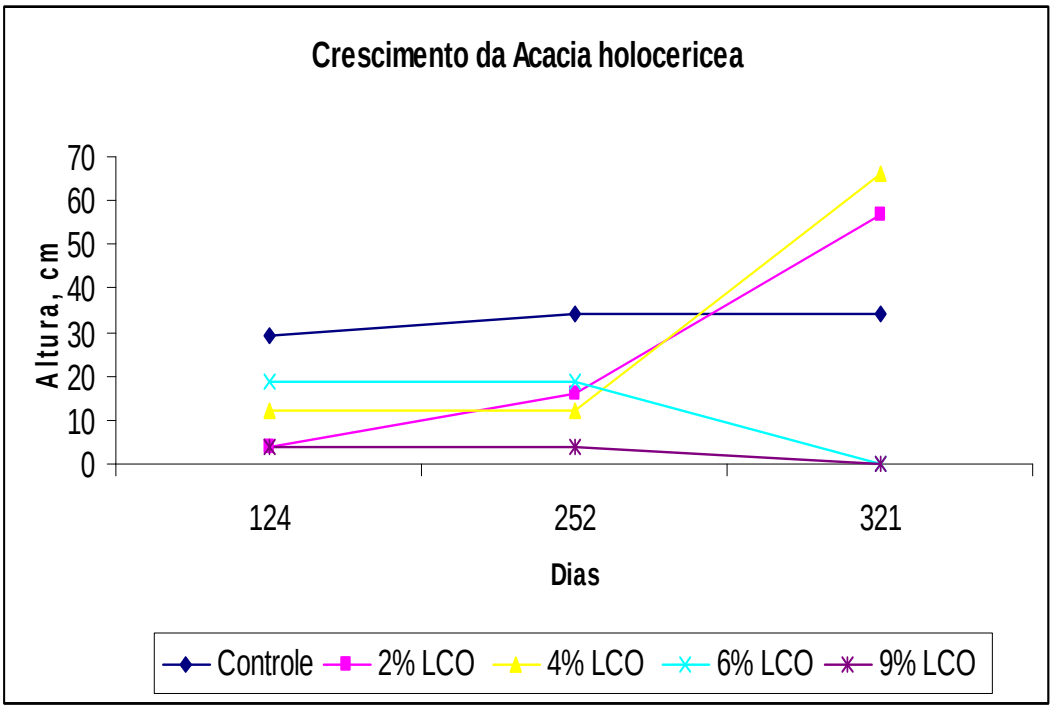


Figura 5.7: Crescimento da espécie *Acácia holocericea*

Tabela 5.5 Controle de *Acácia holocericea* - sobreviventes

	Concentração de contaminante nos tratamentos				
Contagem (dias)	0% Controle	2% Tratamento 1	4% Tratamento 2	6% Tratamento 3	9% Tratamento 4
	Espécies sobreviventes				
0	9	9	9	9	9
14	9	9	9	3	1
27	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
54	9	9	9	7	5
81	9	9	9	4	1
108	9	9	9	3	1
135	9	9	9	3	1
162	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
189	9	9	9	4	4
216	9	9	8	4	0
243	9	9	6	0	0
270	9	8	5	0	0
321	9	8	5	0	0

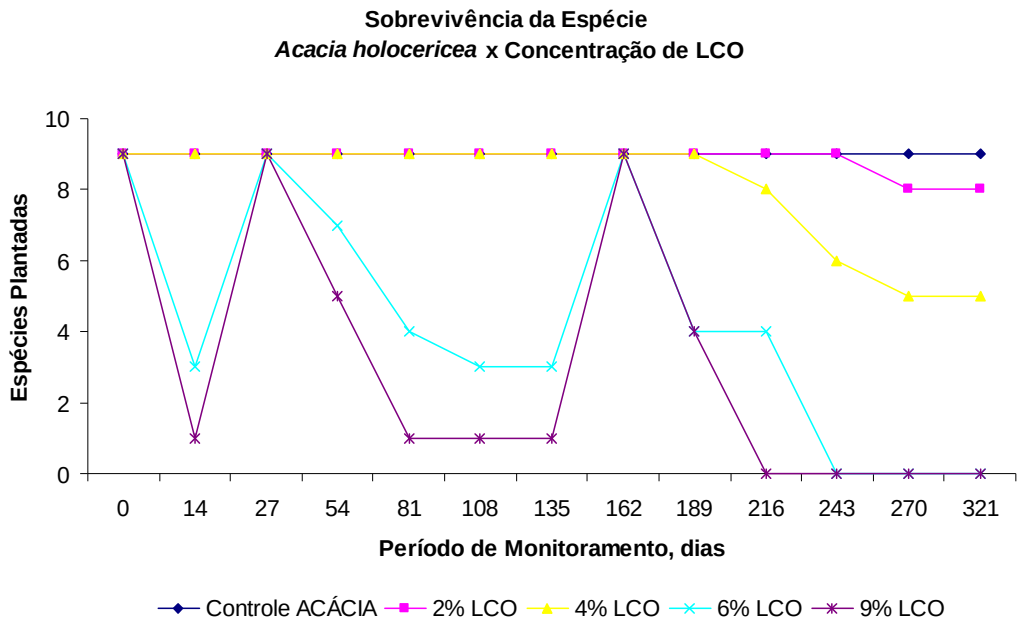
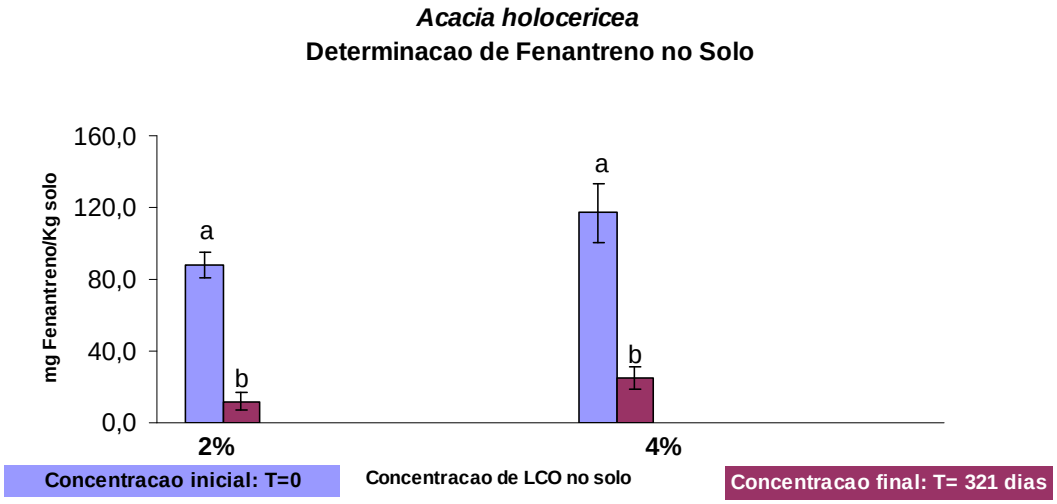


Figura 5.8: Sobrevivência da *Acácia holocericea* em solo contaminado com LCO.

5.2.2. Redução de Fenantreno e Pireno em solo plantado com *Acácia holocericea*

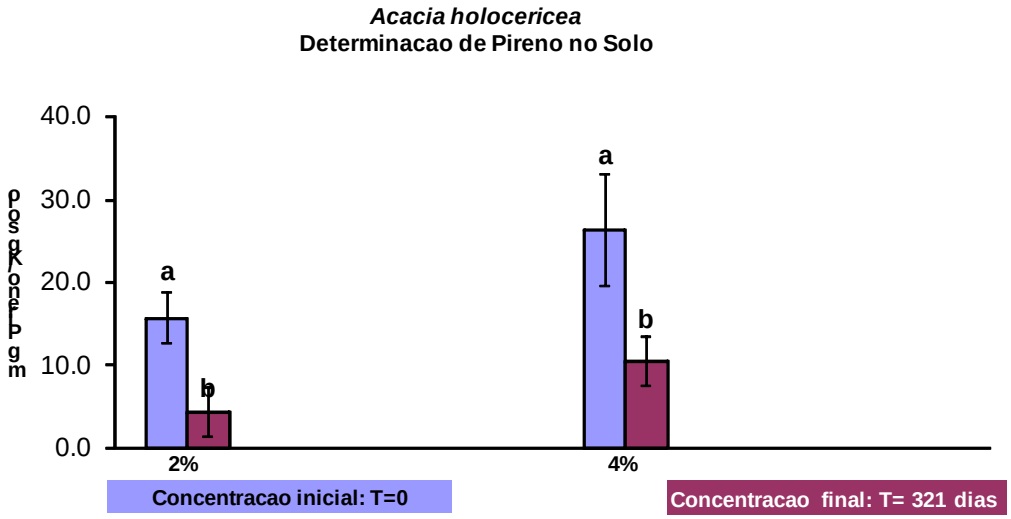
As concentrações de fenantreno foram reduzidas de 88, 120 mg/Kg para valores menores que 12, 25 mg/Kg em 321 dias de experimento. A redução nos vasos plantados foi significativamente maior do que nos vasos não plantados. Nos vasos plantados a redução do fenantreno foi de 86,4% e 78,6% p/p respectivamente e nos vasos não plantados de 67,4%, 75,6% p/p respectivamente conforme figura 5.9.



- +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 5.9: Redução do fenantreno no solo contaminado e plantado com *Acácia holocericea*

As concentrações de pireno foram reduzidas de 15,7 mg/Kg e 26,3 mg/Kg m/m respectivamente, para valores menores 4,3 mg/Kg e 10,6 mg/Kg m/m respectivamente. Nos vasos plantados a redução do pireno foi de 73% e 60% m/m respectivamente e nos vasos não plantados de 59,3 e 63,6 % m/m respectivamente conforme figura 5.10



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 5.10: Redução do pireno no solo contaminado e plantado com Acácia *holocericea*

5.2.3. Fitoextracao do fenantreno e pireno por *Acácia holocericea*

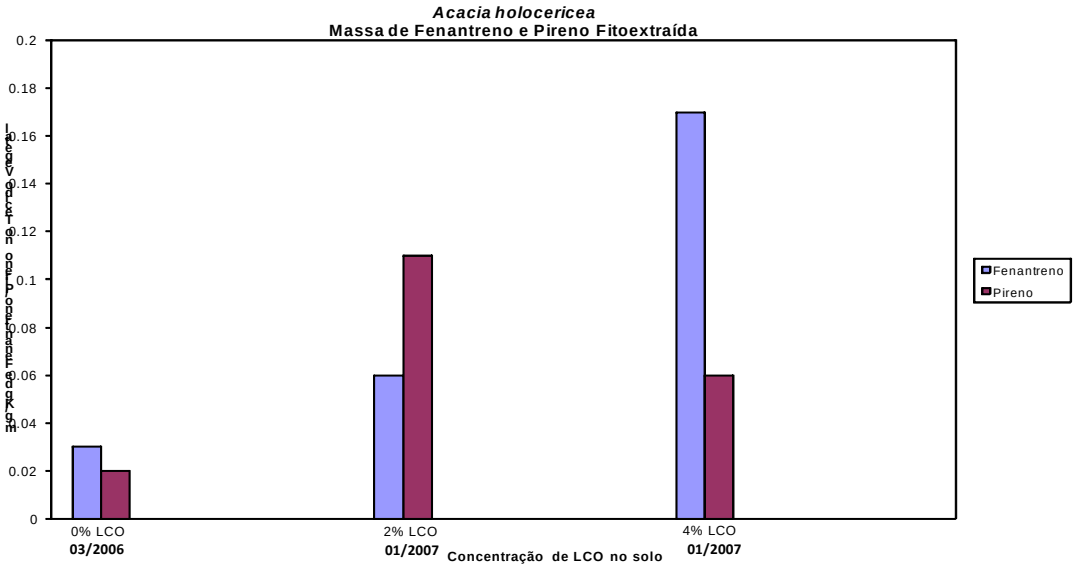


Figura 5.11: Fitoextração de fenantreno e pireno pela espécie *Acácia holocericea*

5.2.4. Atividade Microbiana no solo

A figura 5.12 apresenta o comportamento da população de BHC no solo em relação a presença de espécie vegetal *Acácia holocericea* e a quatro diferentes concentrações de contaminante, LCO.

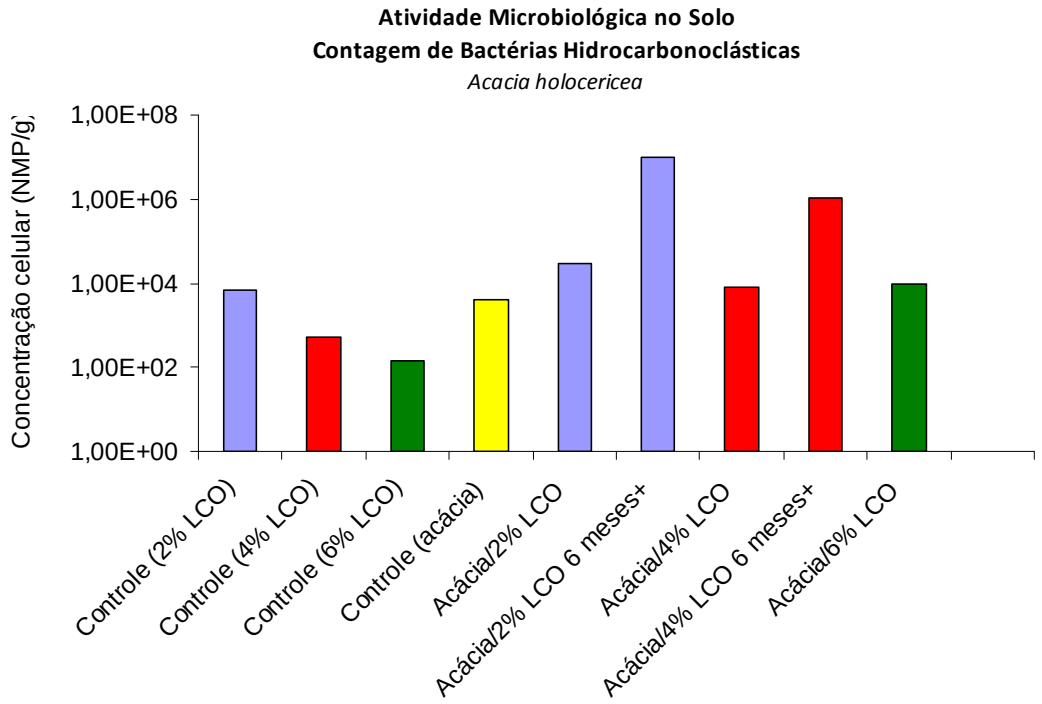


Figura 5.12: *Acácia holocericea* plantada em solo com diferentes concentrações de LCO: contagem de bactérias hidrocarbonoclásticas.

O aumento de microrganismos nos solos controle foi estimulado no solo contaminado com 2% de *LCO* e foi sendo inibido a medida que se foi aumentando a concentração do contaminante no solo. Os solos contaminados e plantados apresentaram um maior estímulo ao crescimento dos microrganismos em relação aos solos não plantados porém um decrescimo do número de microrganismos foi observado ao aumentar a concentração do contaminante igualmente aos solos não plantados. O solo proporciona um habitat para uma grande faixa de organismos desde micróbios ate as mais superiores espécies tal como as plantas. As propriedades biológicas do solo incluem as atividades e diversidade dos microrganismos do solo.

5.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Quanto ao crescimento e desenvolvimento das espécies foi observado que a concentração de óleo causou um stress nas espécies de forma distinta. A *Mimosa*

caesalpinifolia sofreu um efeito negativo do óleo, crescendo menos do que a espécie *Acacia holocericea* porém, resistiu ao efeito da concentração do óleo, sobrevivendo a concentração de 6% de óleo.

Alguns estudos tem observado um efeito negativo dos hidrocarbonetos de petróleo no solo sobre o crescimento das plantas (MERKEL *et al.*, 2005; RIVERA-CRUZ, 2004). Esta redução no crescimento pode ser devido à baixa retenção de água no solo com hidrocarbonetos como conseqüência de sua hidrofobicidade (MORLEY *et al.*, 2005). Porém, alguns estudos também sugerem que, sob baixas concentrações de petróleo, algumas frações dos hidrocarbonetos podem estimular o crescimento das plantas (BAMIDELE, 2000; SALANITRO *et al.*, 1997).

Em relação ao potencial de redução dos HPAs, fenantreno e pireno, do solo, a tabela 5.6 apresenta que tanto a mimosa quanto a acácia reduziram entre 79 e 86% o fenantreno e 60 e 73% o pireno do solo, respectivamente. A espécie *Mimosa caesalpinifolia* sobreviveu a concentração de até 6% de HPAs no solo, reduzindo na faixa de 70% o fenantreno e pireno do solo contaminado.

Tabela 5.6: Redução Percentual de Fenantreno e Pireno no solo.

Concentração de HPAs no solo %	Redução de Fenantreno e Pireno no solo, %			
	Mimosa caesalpinifolia		*Acácia holocericea*	
	fenantreno	pireno	fenantreno	pireno
2	81	70	86	73
4	83	65	79	60
6	73	70	-	-

E na tabela 5.7, observa-se que dos HPAs extraídos do solo, uma parcela mínima foi fitoextraída para o tecido vegetal. Estando os valores encontrados para o fenantreno na *Mimosa caesalpinifolia* plantada em solo com 2% e 6% de óleo – LCO e para os valores encontrados para o fenantreno e pireno na *Acácia holocericea* plantada em solo com 2% e 4% de óleo – LCO respectivamente, muito próximos do limite de detecção do método utilizado para a determinação dos HPAs no tecido vegetal.

Tabela 5.7 Fitoextração do fenantreno e pireno pelo tecido vegetal, mg/Kg

Concentração de HPAs no solo, %	Fitoextração do fenantreno e pireno pelo tecido vegetal, mg/Kg			
	Mimosa caesalpinifolia		*Acácia holocericea*	
	fenantreno	pireno	fenantreno	pireno
2	0,05 (0,07%)	0,11(0,6%)	0,06 (0,08%)	0,11 (1%)
4	0,22 (0,21%)	0,41 (2%)	0,17 (0,18%)	0,06 (0,4%)
6	0,02 (0,02%)	0,12 (1,2%)		

5.4. COMENTÁRIOS FINAIS

O experimento em casa de vegetação demonstrou que a *Acácia holocericea* foi sensível ao contaminante nas concentrações de 6 e 9% com a morte de todas as espécies plantadas nestas concentrações.

A *Acácia holocericea* foi a espécie menos afetada pelo contaminante nas concentrações 2 e 4% com um maior crescimento em relação à *Mimosa caesalpinifolia* nas mesmas concentrações.

As espécies testadas apresentaram potencialidade na fitorremediaçào de solos (argissolo vermelho amarelo) contaminados com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, porém a *Mimosa caesalpinifolia* se mostrou mais tolerante. Apesar da *Acácia holocericea* ter sido a espécie que obteve um maior crescimento e estimulado um maior aumento da população de BHC do que a espécie *Mimosa caesalpinifolia,* a redução dos HPAs para ambas as espécies se encontraram na mesma ordem de grandeza.

A *Mimosa caesalpinifolia* foi a espécie selecionada, pelo experimento, para dar continuidade ao estudo, segunda etapa, pois se mostrou mais tolerante ao contaminante, um maior nível de concentração (6%), do que a *Acácia holocericea.*

CAPÍTULO 6
RESULTADO E DISCUSSÃO
$2^{\underline{0}}$ Experimento

No primeiro experimento, a *Mimosa caesalpiniifolia* foi avaliada como a espécie mais tolerante as condições do experimento do que a *Acacia holocericea.* Com base neste resultado o segundo experimento foi estabelecido segundo a metodologia descrita no capítulo 3, item 3.5.2 e, planejado segundo delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições, com medidas repetida no tempo com fatorial 3x2 na parcela em que foram avaliados 3 níveis de pH (4,5; 5,5 e 6,5) e 2 níveis de fertilizante (com e sem Termofosfato Yorrin + Cloreto de Potássio) e com subparcelas avaliadas em 2 épocas de coletas de dados (0 e 180 dias), como também já anteriormente descrito.

A realização do experimento teve como objetivo verificar o melhor desempenho da espécie estudada em fitorremediar o solo contaminado nas condições em que foi exposta.

No início e ao final do experimento, 0 e 180 dias, foram determinados os teores de pH, hidrocarbonetos totais de petróleo – TPHs, de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - HPAs e feita a contagem de bactérias hidrocarbonoclásticas - BHC no solo. Durante o experimento foi monitorado o desenvolvimento da espécie através das medidas de altura e diâmetro do caule.

A tabela 6.1 apresenta resumidamente o que foi apresentado no fluxograma da Figura 3.2b para compreeensão no desenvolvimento deste capítulo.

Tabela 6.1: Tratamentos referentes ao $2^{\underline{0}}$ experimento

Tratamentos								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
pH≅4,5	pH≅5,5	pH≅6,5	pH≅4,5	pH≅5,5	pH≅6,5	pH≅4,5	pH≅4,5	pH≅4,5
Sem fertilizante			Com fertilizante			Abiótico	Biótico	Controle

6.1. Desenvolvimento da *Mimosa caesalpiniifolia*

A tabela 6.2 apresenta o acompanhamento do crescimento da *Mimosa caesalpiniifolia* em todos os tratamentos durante os 180 dias do experimento.
As mudas utilizadas no plantio, no início do experimento, tinham o tamanho médio de 26,0 cm.

Tabela 6.2: Crescimento da *Mimosa caesalpiniifolia* x Tempo

Dias	Tratamentos						
	Sem fertilizante			Com fertilizante			Controle
	1	2	3	4	5	6	9
	Crescimento da espécie vegetal, cm						
30	4,0	5,9	1,1	5,2	5,8	5,8	1,9
45	8,4	15,7	6,2	9,2	7,7	10,2	8,5
60	15,0	18,2	7,7	15,7	9,8	13,2	11,1
75	19,0	19,7	10,2	17,0	10,7	15,3	13,0
90	21,0	20,7	13,7	22,7	13,5	21,3	14,7
105	24,5	25,2	18,7	25,8	19,0	25,8	21,2
120	25,7	29,2	20,5	26,5	21,0	27,5	22,9
135	26,4	30,4	21,0	28,8	22,0	28,2	23,7
180	26,4	31,0	21,0	28,8	22,0	28,2	23,7

A figura 6.1 apresenta o desenvolvimento da mimosa nos seis tratamentos. A *Mimosa caesalpiniifolia* atingiu um maior crescimento nos vasos contaminados referentes aos tratamentos 2, 4 e 6 ou seja nos solo com pH≅5,5 e sem fertilizante, pH≅4,5 com fertilizante e pH≅6,5 com fertilizante, respectivamente. Nos vasos sem contaminante, tratamento 9, as espécies cresceram menos do que os vasos contaminados. Santos (2006) observou que a *Mimosa scabrella* teve seu crescimento significativamente reduzido pela presença do contaminante no solo. O efeito negativo dos hidrocarbonetos no crescimento de *Mimosa scabrella,* reportado por Santos (2006), já foi observado para outras leguminosas (MERKEL *et al.*, 2005) porém, diverge do trabalho de Gudin (1975) o qual afirma que as leguminosas são freqüentes em solos contaminados com hidrocarbonetos. Inckot (2007) observou que a velocidade de germinação da *Mimosa pilulifera* não foi afetada significativamente pelo solo contaminado com petróleo.

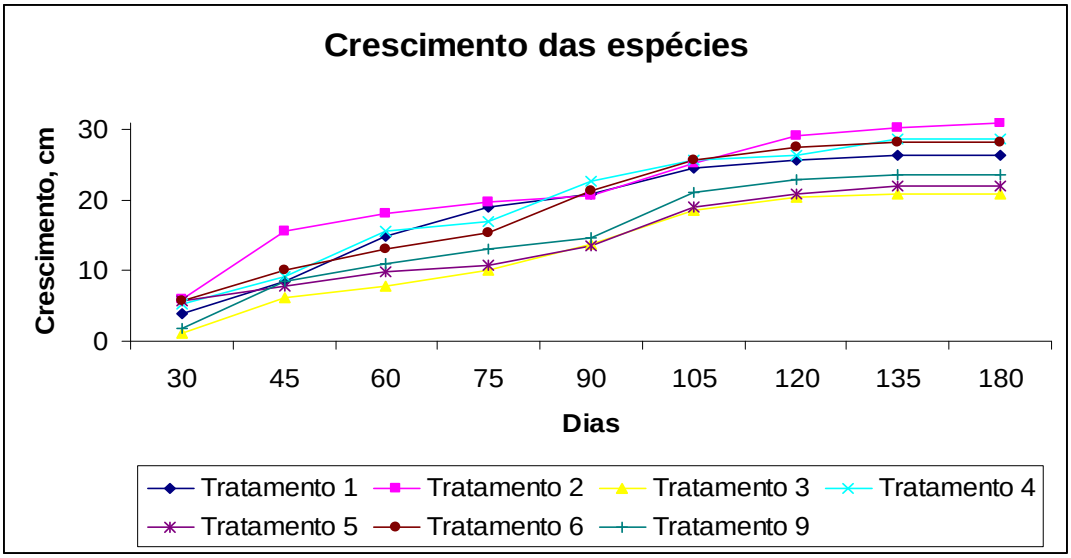


Figura 6.1: Crescimento da *Mimosa caesalpiniifolia* nos diferentes tratamentos

A tabela 6.3 apresenta a média das leituras do diâmetro da altura do caule em relação aos tratamentos.

Tabela 6.3: Diâmetro do caule x tempo

Dias	**Tratamento**						
	1	2	3	4	5	6	9
	Leituras, mm						
30	0,48	0,73	1,01	1,03	0,68	0,96	0,03
45	0,86	0,87	1,19	1,20	0,90	1,21	0,19
60	1,09	1,02	1,35	1,36	1,10	1,36	0,30
75	1,34	1,18	1,39	1,53	1,19	1,50	0,33
90	1,86	1,43	1,40	1,77	1,43	1,59	0,57
105	1,95	1,53	1,48	1,85	1,56	1,70	0,63
120	1,95	1,57	1,49	1,90	1,60	1,72	0,69
135	1,95	1,83	1,51	2,03	1,67	1,79	0,73
180	1,99	1,96	1,63	2,18	1,68	1,86	0,76

Os vasos das espécies que cresceram nos solos contaminados dos tratamentos 1, 2 e 4 dobraram o seu diâmetro da altura do caule em relação as espécies em vasos não contaminados, tratamento 9.

Santos (2006) observou que os vasos plantados com *Mimosa scabrella* em solo contaminado reduziram em 15% seu comprimento, 52% o diâmetro e 16% a espessura da parede celular quando comparados com as plantas em solo não contaminado, sugerindo que a *Mimosa scabrella* encontrava-se sob severo estresse hídrico, ou seja, uma hidrofobicidade do solo causada pela presença de contaminantes orgânicos, com redução no comprimento e diâmetro nos vasos.

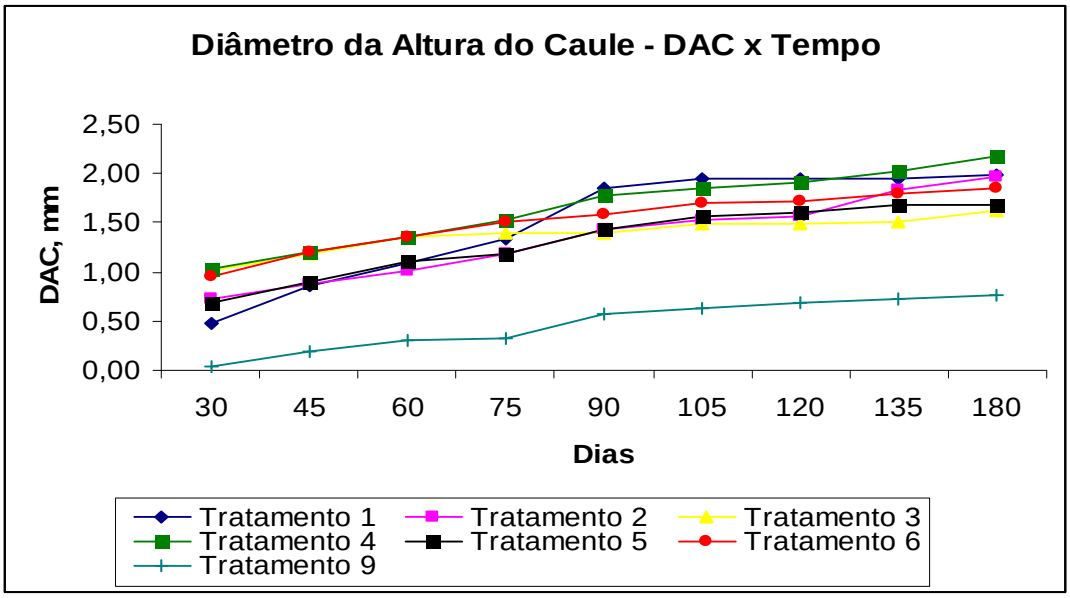


Figura 6.2: Aumento do DAC em cada tratamento

6.2. Monitoramento do pH do solo

O experimento foi planejado para solos com 3 pHs distintos, o pH do solo original e mais dois ajustes de pH conforme tabela 3.7.

O pH dos solos foram então monitorados ao longo do experimento, conforme apresentado na tabela 6.4.

Observou-se que para os tratamentos 3 e 5 o pH inicial não correspondeu ao ajuste realizado com calcáreo dolomítico que deveria ser de aproximadamente, 6,5 e 5,5 respectivamente.

As figuras 6.3 e 6.4 apresentam o pH do solo, de acordo com o tratamento, durante os 180 dias do experimento.

Tabela 6.4: Monitoramento do pH do Solo x Tempo

	Tratamento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tempo, dias	**pH**								
T_0	4,6	5,1	5,8	4,7	6,1	6,6	3,0	4	4,3
T_{60}	4,6	5,1	5,8	5,6	6,1	6,6	3,0	4	4,3
T_{90}	5,6	5,9	7,0	7,0	7,5	7,6	2,9	3,7	4,9
T_{180}	6,1	6,5	7,1	7,4	7,7	7,7	2,8	3,7	6,1

Foi observado aumento de pH do solo durante o experimento em todos os tratamentos que tinham a espécie plantada. Como todos os vasos foram irrigados igualmente, a alcalinidade da água não indicou ser a responsável direta pelo aumento do pH do solo, provavelmente devido a atividade microbiana da rizosfera da planta. As figuras 6.3 e 6.4 apresentam o aumento do pH do solo durante os 180 dias do experimento para os tratamentos sem adição de fertilizante e com adição de fertilizante, respectivamente.

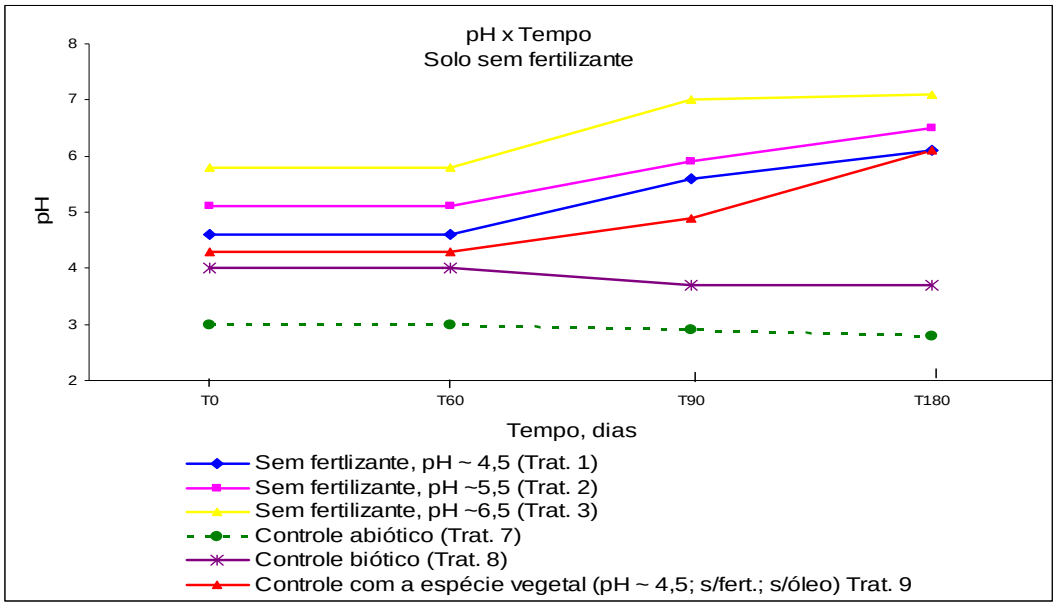


Figura 6.3:Monitoramento do pH para os tratamentos sem fertilizante.

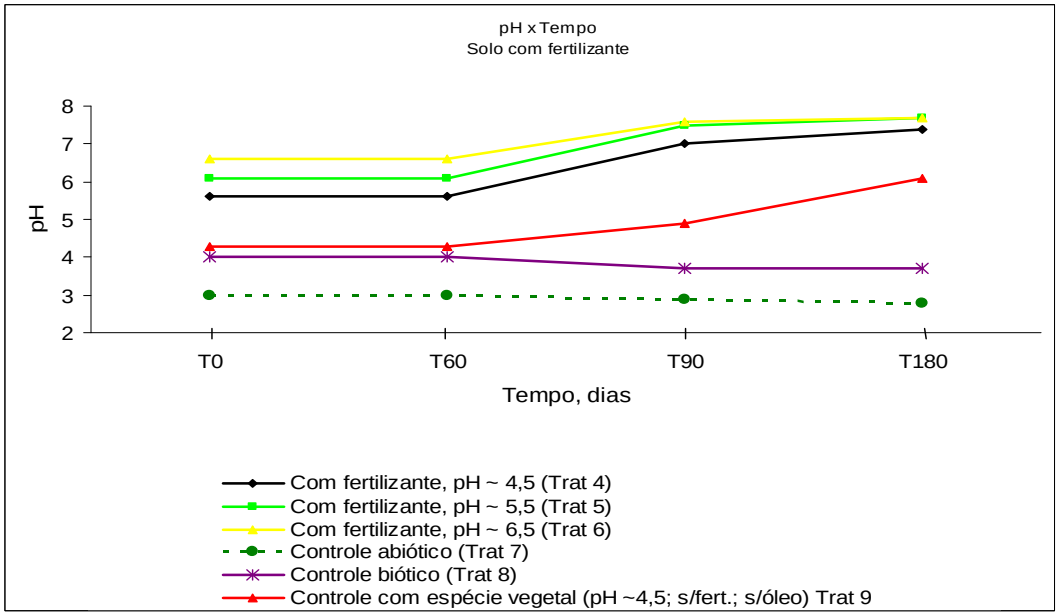


Figura 6.4: Monitoramento do pH para os tratamentos com fertilizante.

6.3. Variação da População de Bactérias Hidrocarbonoclásticas – BHC

Observa-se, na figura 6.5, que para os vasos com solo contaminados, plantados e sem fertilizante, o tratamento 3 (com ajuste de pH≅6,5) obteve o maior aumento da população de bactérias hidrocarbonoclásticas - BHC, na ordem de 10^8 NMP/g solo em pH de 7,1. E os vasos com contaminante e sem a espécie (controle biótico) obtiveram um aumento da população de BHC na ordem de 10^6 NMP/g de solo em pH≅3,7, sugerindo a influência da espécie plantada e do pH do solo no aumento da população de BHC.

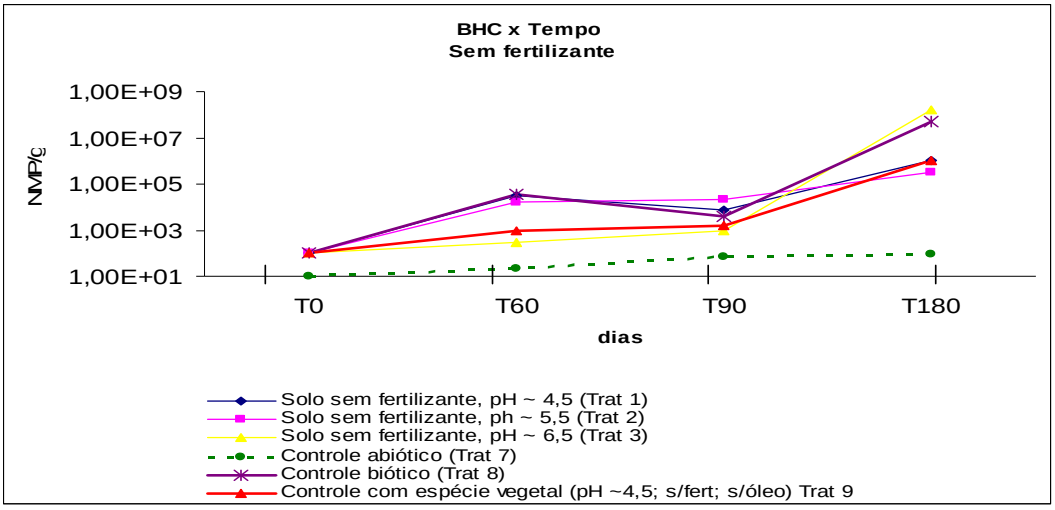


Figura 6.5: Monitoramento da população de BHC para os tratamentos sem fertilizante.

De acordo com a figura 6.6, os tratamento 4 e 5 (com ajuste de pH≅ 4,5 e 5,5 com adição de fertilizante) obtiveram maior aumento da população de bactérias hidrocarbonoclásticas - BHC, na ordem de 10^{11} e 10^9 NMP/g solo em pH de 7,4 e 7,7 respectivamente.

Em solos vegetados, as plantas e os microrganismos competem por nutrientes disponíveis dos quais cita-se o ferro, zinco, potássio, cálcio, enxofre, nitrogênio, fósforo, magnésio, boro, molibdênio (GARDNER *et al*, 1984).

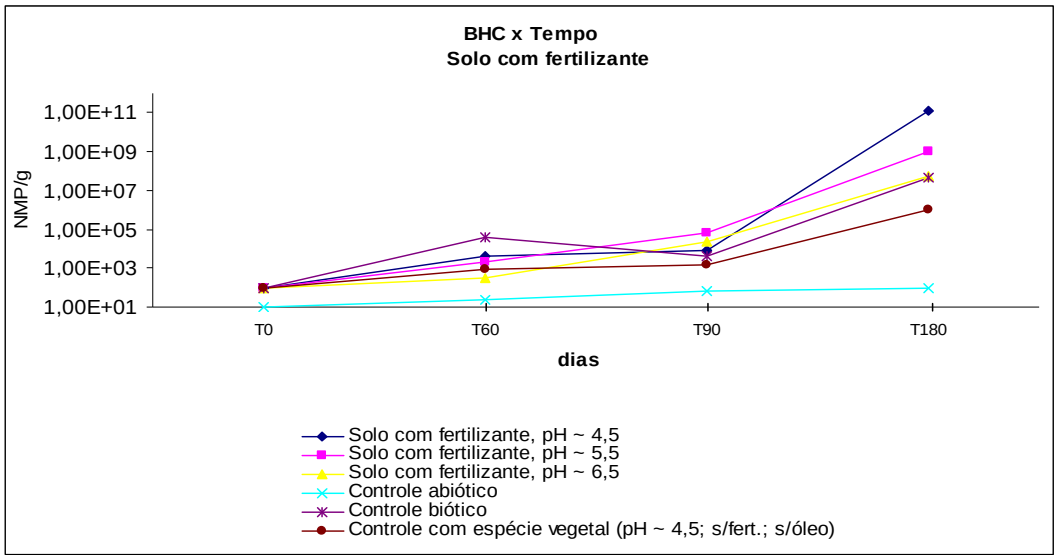


Figura 6.6: Monitoramento da população de BHC para os tratamentos com fertilizante.

6.4. Redução dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – HPAs – SOLO

Os HPAs que se encontram em maior concentração no óleo contaminante (LCO), os que estão na faixa do naftaleno ao pireno (2 à 4 anéis aromáticos) foram os compostos que apresentaram maior redução no solo, após os 180 dias de experimento, para todos os tratamentos, exceto o tratamento 9 em que não havia contaminação no solo.

Os compostos em menor concentração no óleo contaminante (LCO) do fluoranteno ao Indeno(1,2,3,c,d)pireno, os mais difíceis de serem degradados pelos microrganismos do solo, na rizosfera da planta e pela planta, foram os que apresentaram menor redução no solo, para todos os tratamentos.

Os resultados apresentados são as médias dos valores das seis repetições de cada tratamento.

6.4.1. Tratamentos 1, 2 e 3

Para os tratamentos 1, 2 e 3 foi observado que a espécie mais afetada pelo contaminante com redução no crescimento foi a do tratamento 3, crescendo 21 cm, porém apresentou um melhor desempenho na redução dos HPAs que chegou ao final do experimento com pH de 7,1 e com uma população de BHC na ordem de 10^8 NMP/g

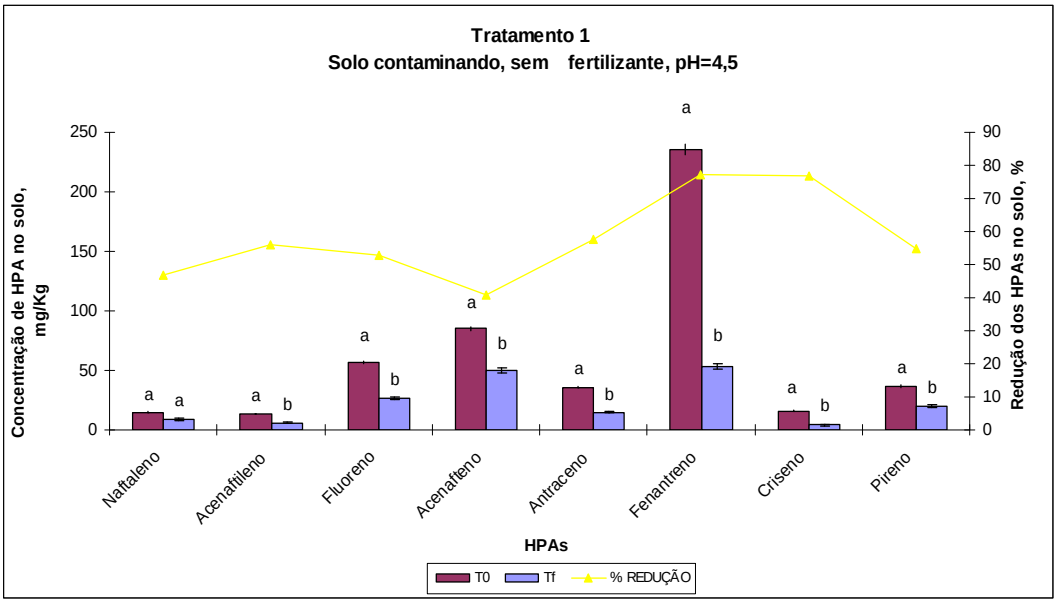
de solo contra um pH de 6,5 e 6,1 com uma população de BHC na ordem de 10^5 e 10^6 para os tratamentos 2 e 1 respectivamente.

As tabelas 6.5 à 6.7 apresentam a redução dos 16 HPAs nos solos em mg/Kg de solo e em porcentagem de HPA reduzido assim como o erro padrão da média de cada HPA, calculados para os tratamentos 1, 2 e 3.

As figuras 6.7 e 6.8 apresentam as médias da redução do naftaleno ao pireno, em mg/Kg e, em porcentagem nos solos e as médias da redução do fluoranteno ao indeno (1,2,3,c,d) pireno, em mg/Kg e, em porcentagem nos solos, respectivamente.

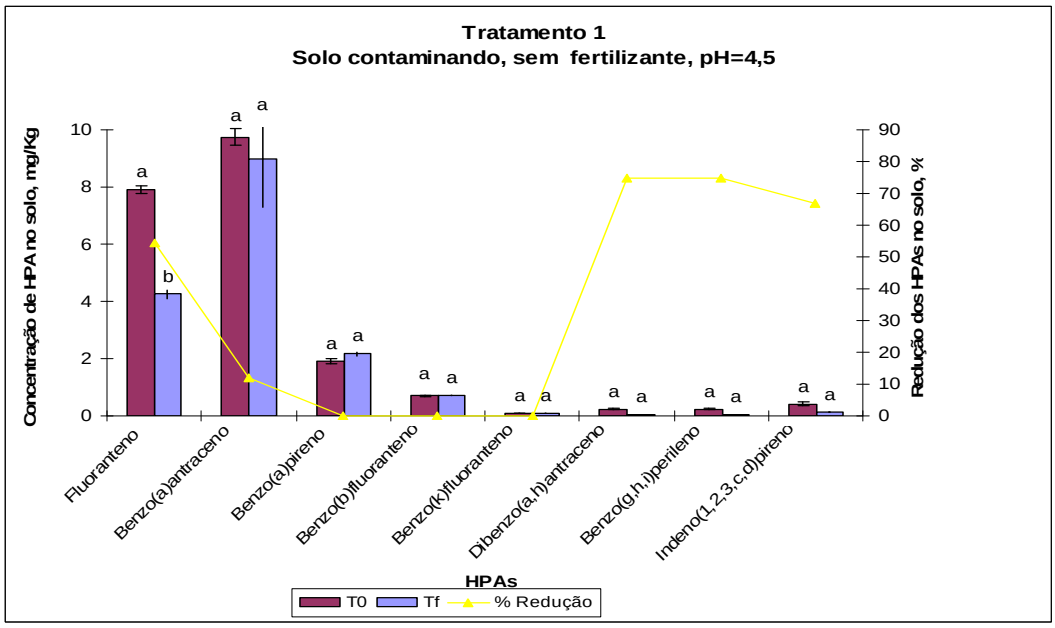
Tabela 6.5: Redução dos 16 HPAs nos solos do tratamento 1

Tratamento 1: Solo contaminado (6% LCO), pH ≅4,5; sem fertilizante					
HPAs	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Redução de [HPA] %**	**Erro Padrão da Média EP_0= DP/Vr**	**Erro Padrão da Média EP_f= DP/Vr**
	T_0	**T_f**			
Naftaleno	15a	9a	47	1,0	1,10
Acenaftileno	13a	6b	56	0,2	0,26
Fluoreno	57a	27b	53	1,1	1,30
Acenafteno	85a	50b	41	1,5	2,12
Antraceno	36a	15b	58	0,6	0,72
Fenantreno	235a	53b	77	4,2	2,25
Criseno	16a	4b	77	0,7	0,13
Pireno	37a	20b	55	0,8	0,82
Fluoranteno	8a	4b	54	0,1	0,15
Benzo(a)antraceno	10a	9a	12	0,3	1,73
Benzo(a)pireno	2a	2a	0	0,1	0,07
Benzo(b)fluoranteno	0,7a	0,7a	0	0,0	0,01
Benzo(k)fluoranteno	0,1a	0,1a	0	0,0	0,00
Dibenzo(a,h)antraceno	0,2a	0,1a	75	0,0	0,00
Benzo(g,h,i)perileno	0,2a	0,1a	75	0,0	0,00
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,4a	0,1a	67	0,1	0,00



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.7: Tratamento 1 - Médias da redução do naftaleno ao pireno nos solos

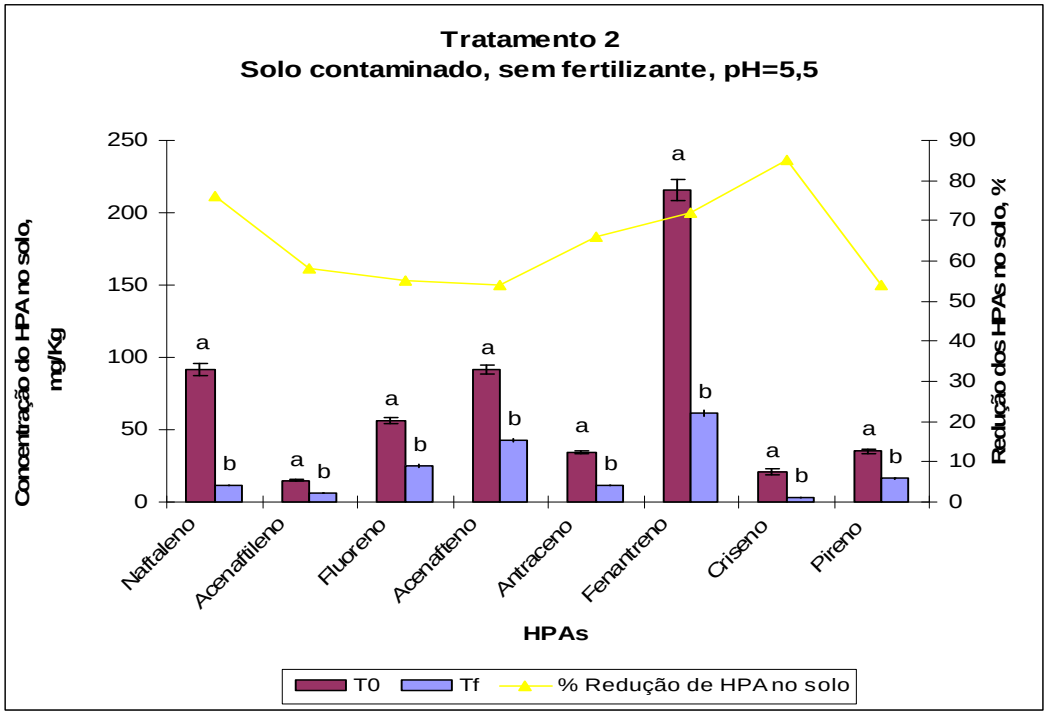


* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.8: Tratamento 1 - Médias da redução do fluoranteno ao indeno (1,2,3,c,d) pireno nos solos.

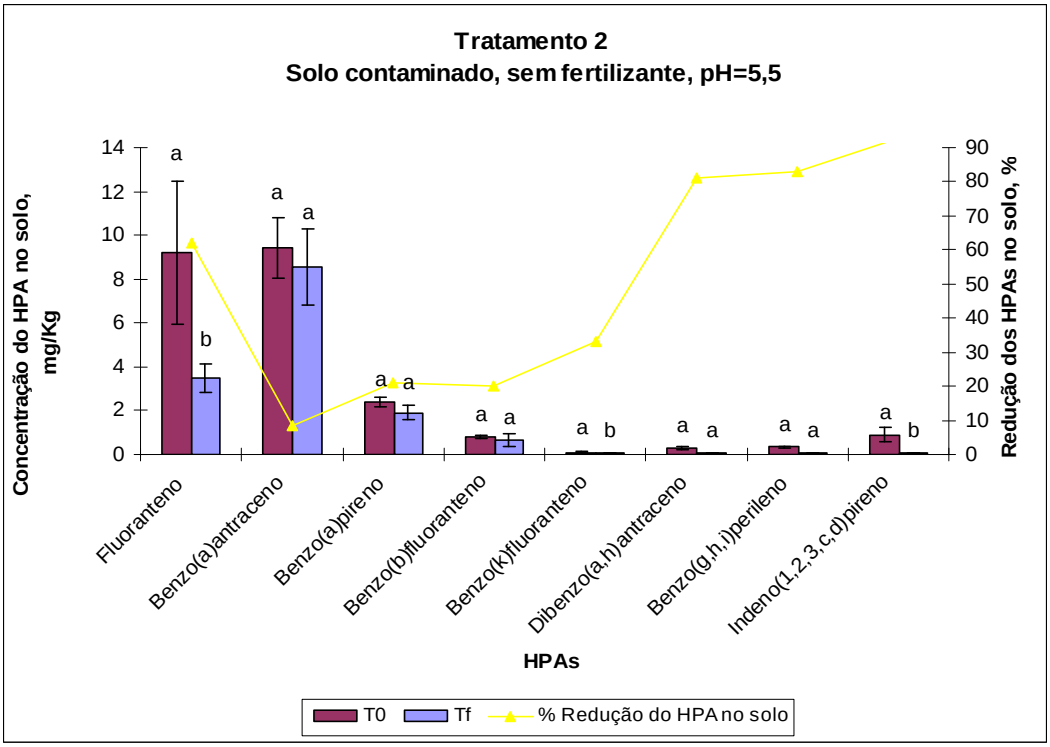
Tabela 6.6: Redução dos 16 HPAs nos solos do tratamento 2

Tratamento 2: Solo contaminado (6% LCO), pH ≅ 5,5; sem fertilizante					
HPAs	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Redução de [HPA] %**	**Erro Padrão da Média EP_0= DP/Vr**	**Erro Padrão da Média EP_f= DP/Vr**
	T_0	**T_f**			
Naftaleno	92a	12b	76	4,5	0,3
Acenaftileno	15a	6b	58	0,4	0,2
Fluoreno	56a	25b	55	1,9	0,8
Acenafteno	92a	43b	54	3,1	1,0
Antraceno	34a	12b	66	1,2	0,4
Fenantreno	216a	62b	72	7,2	2,5
Criseno	21a	3b	85	1,8	0,1
Pireno	35a	16b	54	1,2	0,4
Fluoranteno	9a	3b	62	0,5	0,1
Benzo(a)antraceno	9a	9a	9	0,2	0,3
Benzo(a)pireno	2a	2a	21	0,0	0,1
Benzo(b)fluoranteno	1a	1a	20	0,0	0,1
Benzo(k)fluoranteno	0,10a	0,06b	33	0,0	0,0
Dibenzo(a,h)antraceno	0,3a	0,1a	81	0,0	0,0
Benzo(g,h,i)perileno	0,35a	0,06a	83	0,0	0,0
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,9a	0,1b	93	0,0	0,0



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.9: Tratamento 2 - Médias da redução do naftaleno ao pireno nos solos

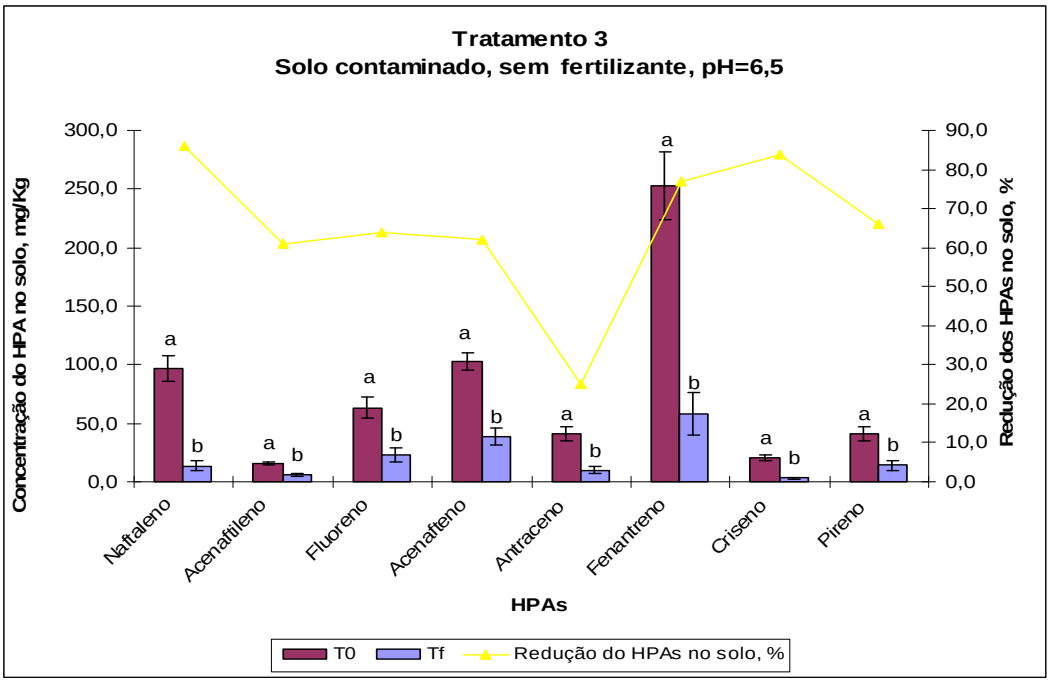


* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.10: Tratamento 2 - Médias da redução do fluoranteno ao indeno (1,2,3,c,d) pireno nos solos.

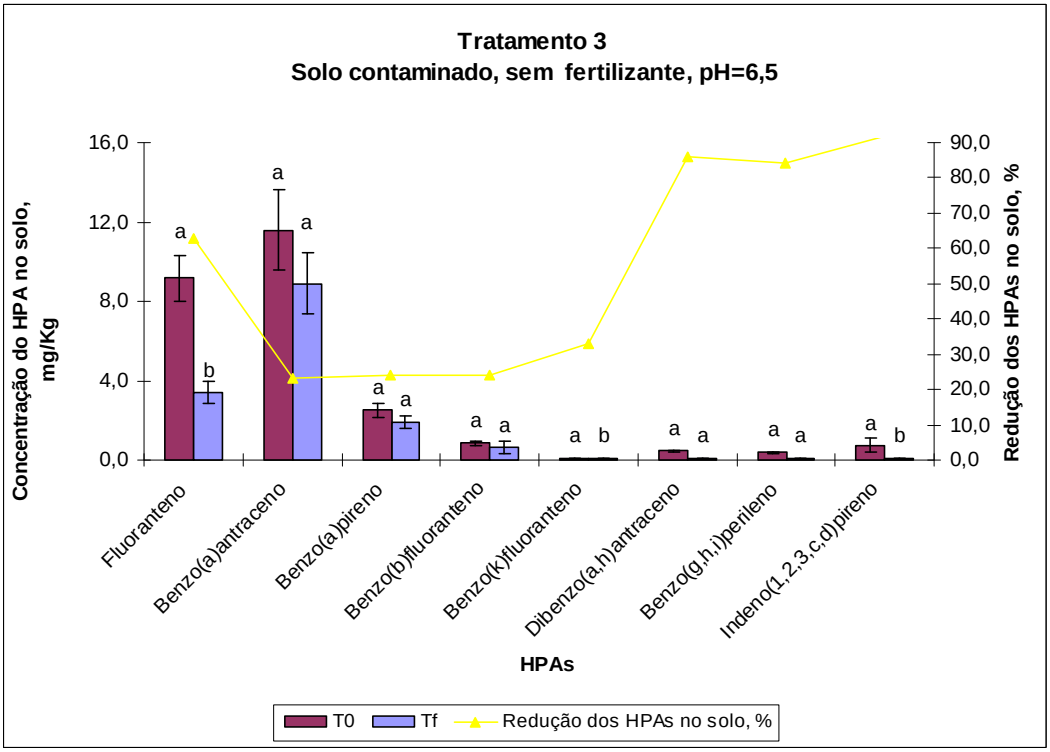
Tabela 6.7: Redução dos 16 HPAs nos solos do tratamento 3

Tratamento 3: Solo contaminado (6% LCO), pH ≅6,5; sem fertilizante					
HPA	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Redução de [HPA] %**	**Erro Padrão da Média EP_0= DP/Vr**	**Erro Padrão da Média EP_f= DP/Vr**
	T_0	**T_f**			
Naftaleno	97a	14b	86	1,8	0,7
Acenaftileno	16a	6b	61	0,2	0,2
Fluoreno	64a	23b	64	1,5	0,9
Acenafteno	103a	39b	62	1,2	1,2
Antraceno	41a	10b	25	1,0	0,4
Fenantreno	253a	58b	77	4,9	3,1
Criseno	20a	3b	84	0,5	0,1
Pireno	41a	14b	66	1,0	0,6
Fluoranteno	9a	3b	63	0,2	0,1
Benzo(a)antraceno	12a	9a	23	0,3	0,3
Benzo(a)pireno	3a	2a	24	0,1	0,1
Benzo(b)fluoranteno	0,84a	0,64a	24	0,0	0,1
Benzo(k)fluoranteno	0,09a	0,06a	33	0,0	0,0
Dibenzo(a,h)antraceno	0,44a	0,06a	86	0,0	0,0
Benzo(g,h,i)perileno	0,37a	0,06a	84	0,0	0,0
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,73a	0,06a	92	0,1	0,0



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.11: Tratamento 3 - Médias da redução do naftaleno ao pireno nos solos



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.12: Tratamento 3 - Médias da redução do fluoranteno ao indeno (1,2,3,c,d) pireno nos solos.

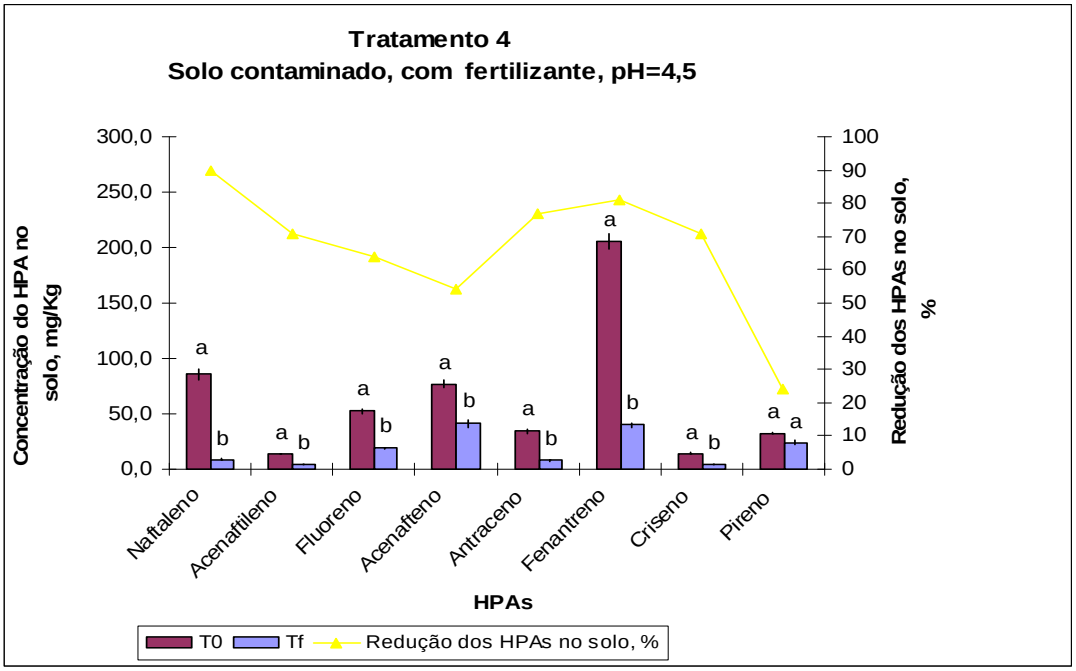
6.4.2. Tratamentos 4, 5 e 6.

Para os tratamentos 4, 5 e 6 que tiveram ajustes de pH e fornecimento de fertilizante foi observado que a espécie mais afetada pelo contaminante com redução no crescimento foi a do tratamento 5, com crescimento de 22 cm porém, apresentou um melhor desempenho na redução dos HPAs que chegou ao final do experimento com pH de 7,7 e com uma população de BHC na ordem de 10^9 NMP/g de solo contra um pH de 6,5 e 6,1 com uma população de BHC na ordem de 10^7 e 10^{11} para os tratamentos 6 e 4 respectivamente.

Foi observado que os tratamentos com fertilizante (tratamentos 4, 5 e 6) tiveram melhor desempenho na redução dos HPAs do que os tratamentos sem adição de fertilizante (tratamentos 1, 2 e 3).

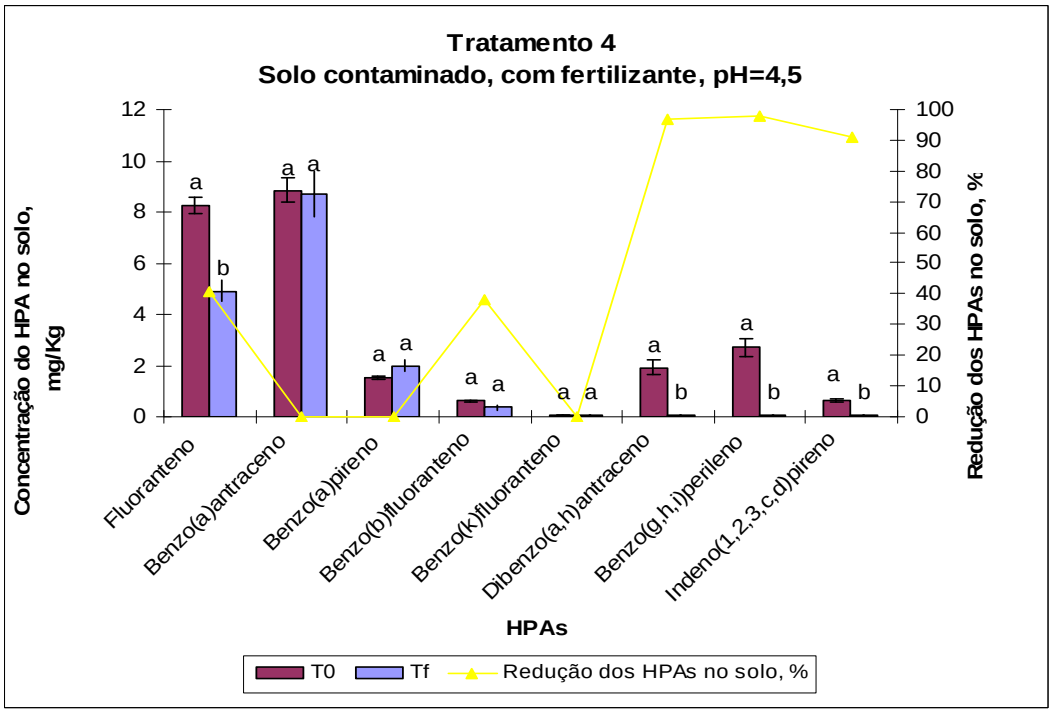
Tabela 6.8: Redução dos 16 HPAs nos solos do tratamento 4

Tratamento 4: Solo contaminado (6% LCO), pH ≅ 4,5; com fertilizante					
HPAs	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Redução de [HPA] %**	**Erro Padrão da Média EP0= DP/Vr**	**Erro Padrão da Média EPf= DP/Vr**
	T_0	**T_f**			
Naftaleno	86a	9b	90	5,2	0,7
Acenaftileno	14a	4b	71	0,6	0,4
Fluoreno	52a	19b	64	2,5	0,7
Acenafteno	77a	41b	54	3,4	3,4
Antraceno	35a	8b	77	2,1	0,6
Fenantreno	205a	40b	81	7,0	1,8
Criseno	14a	4b	71	0,4	0,4
Pireno	32a	24a	24	0,7	2,3
Fluoranteno	8a	5b	41	0,30	0,42
Benzo(a)antraceno	9a	9a	0	0,47	0,92
Benzo(a)pireno	1,5a	2a	0	0,06	0,22
Benzo(b)fluoranteno	0,6a	0,37a	38	0,02	0,10
Benzo(k)fluoranteno	0,1a	0,06a	0	0,00	0,00
Dibenzo(a,h)antraceno	1,9a	0,06b	97	0,27	0,00
Benzo(g,h,i)perileno	2,7a	0,06b	98	0,33	0,00
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,64a	0,06b	91	0,07	0,00



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.13: Tratamento 4 - Médias da redução do naftaleno ao pireno nos solos

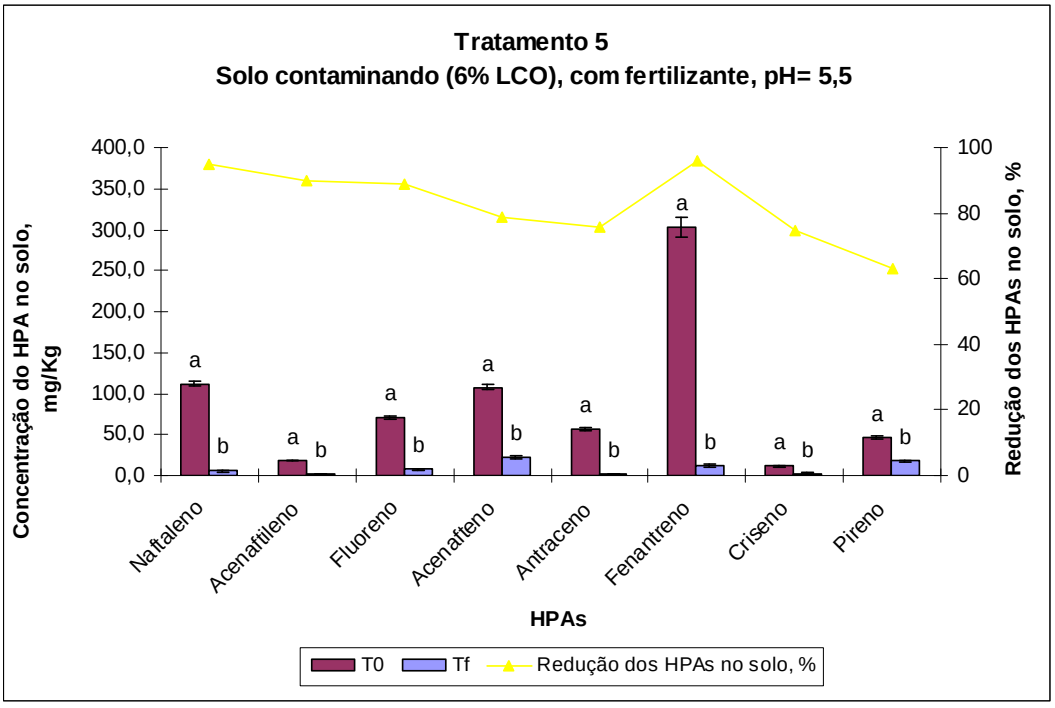


* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.14: Tratamento 4 - Médias da redução do fluoranteno ao indeno (1,2,3,c,d) pireno nos solos.

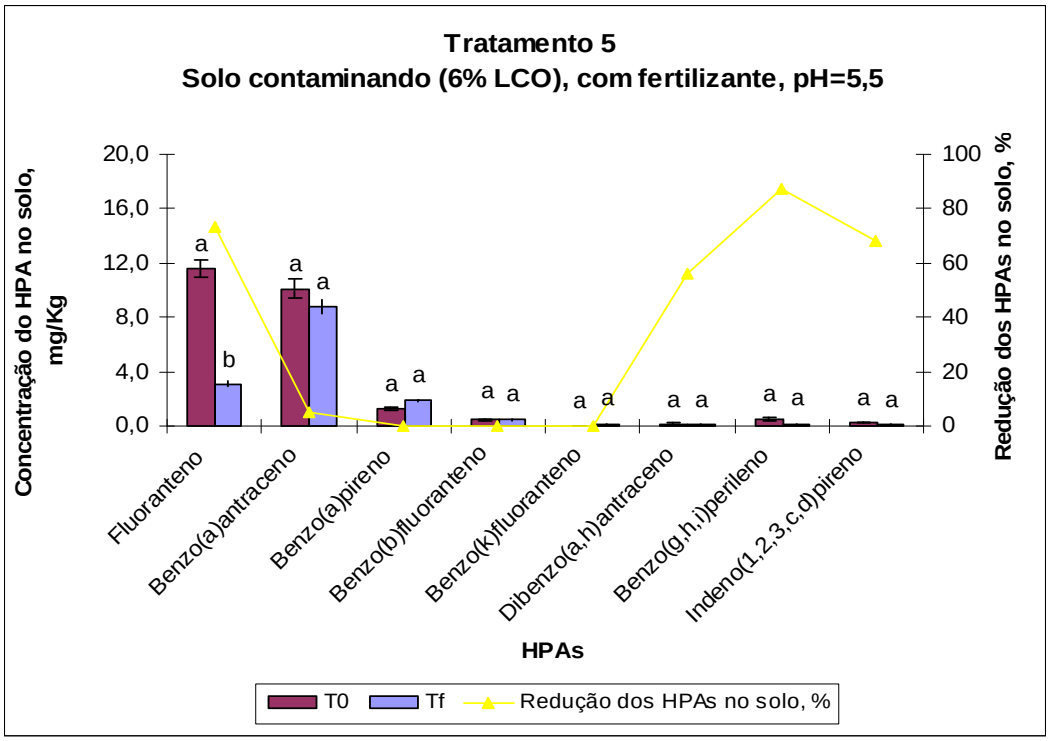
Tabela 6.9: Redução dos 16 HPAs nos solos do tratamento 5

Tratamento 5: Solo contaminado (6% LCO), pH ≅ 5,5; com fertilizante					
HPAs	Concentração de HPA, mg/Kg		Redução de [HPA] %	Erro Padrão da Média EP_0= DP/Vr	Erro Padrão da Média EP_f= DP/Vr
	T_0	T_f			
Naftaleno	112a	5b	95	3,3	0,3
Acenaftileno	19a	2b	90	0,2	0,2
Fluoreno	71a	7b	89	2,2	0,6
Acenafteno	108a	22b	79	2,3	1,4
Antraceno	56a	2b	76	2,1	0,5
Fenantreno	303a	12b	96	11,9	1,4
Criseno	11a	3b	75	0,7	0,2
Pireno	47a	17b	63	2,3	1,0
Fluoranteno	12a	3b	73	0,6	0,2
Benzo(a)antraceno	9a	9a	5	0,7	0,5
Benzo(a)pireno	1,31a	1,85a	0	0,1	0,1
Benzo(b)fluoranteno	0,48a	0,48a	0	0,0	0,1
Benzo(k)fluoranteno	0,06a	0,07a	0	0,0	0,0
Dibenzo(a,h)antraceno	0,16a	0,07a	56	0,0	0,0
Benzo(g,h,i)perileno	0,53a	0,07a	87	0,1	0,0
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,22a	0,07a	68	0,0	0,0



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.15: Tratamento 5 - Médias da redução do naftaleno ao pireno nos solos

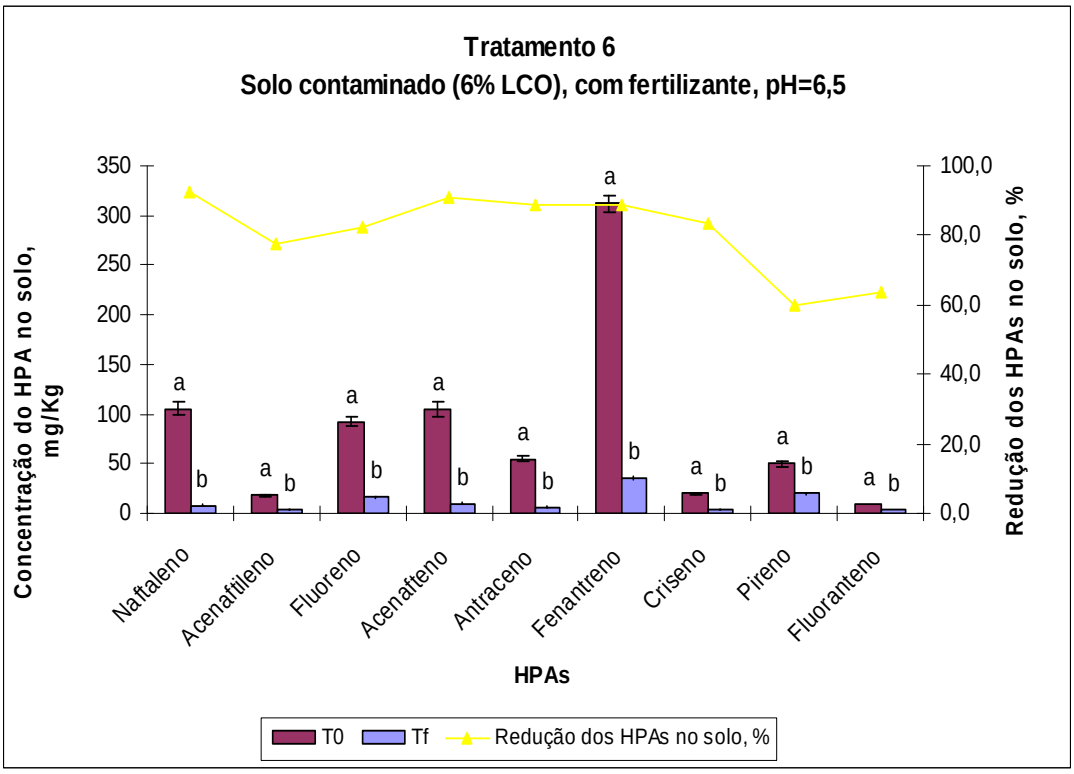


* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.16: Tratamento 5 - Médias da redução do fluoranteno ao indeno (1,2,3,c,d) pireno nos solos.

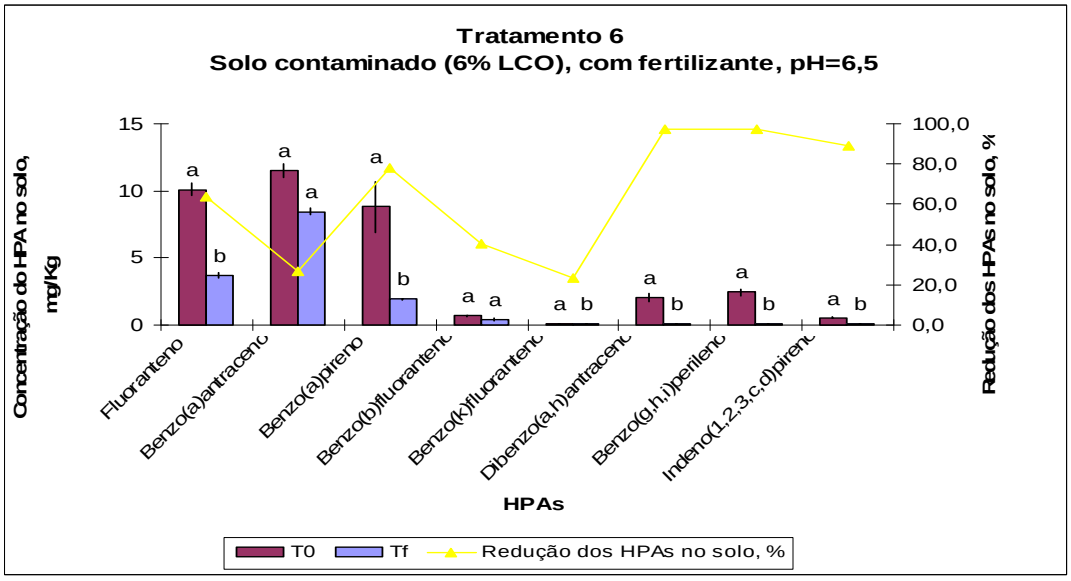
Tabela 6.10: Redução dos 16 HPAs nos solos do tratamento 6

Tratamento 6: Solo contaminado (6% LCO), pH ≅ 6,5; com fertilizante					
HPAs	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Redução de [HPA] %**	**Erro Padrão da Média EP_0= DP/Vr**	**Erro Padrão da Média EP_f= DP/Vr**
	T_0	**T_f**			
Naftaleno	105a	8b	92	6,5	0,50
Acenaftileno	18a	4b	77	1,1	0,10
Fluoreno	92a	16b	83	4,7	0,68
Acenafteno	104a	9b	91	7,1	0,94
Antraceno	55a	6b	89	3,3	0,45
Fenantreno	312a	35b	89	7,9	2,22
Criseno	20a	3b	83	0,7	0,16
Pireno	50a	20b	60	2,8	1,35
Fluoranteno	10a	4b	64	0,5	0,19
Benzo(a)antraceno	12a	8a	27	0,5	0,28
Benzo(a)pireno	9a	2b	78	1,9	0,07
Benzo(b)fluoranteno	0,69a	0,41a	40	0,0	0,06
Benzo(k)fluoranteno	0,08a	0,06b	23	0,0	0,00
Dibenzo(a,h)antraceno	2,0a	0,06b	97	0,3	0,00
Benzo(g,h,i)perileno	2,4a	0,06b	98	0,3	0,00
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,54a	0,06b	89	0,1	0,00



* +/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.17: Tratamento 6 - Médias da redução do naftaleno ao pireno nos solos



+/- erro padrão da média; barras de cores diferentes seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 6.18: Tratamento 6 - Médias da redução do fluoranteno ao indeno (1,2,3,c,d) pireno nos solos.

6.5. Fitoextração dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - TECIDO VEGETAL

Foi observada a concentração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nos tecidos vegetais para todos os tratamentos caracterizando a fitoextração destes compostos do solo.

Porém as porcentagens fitoextraídas de HPAs foram calculadas em relação as concentrações de HPAs reduzidas do solo ou seja, sugerindo que a maior porcentagem dos HPAs foram reduzidos do solo pelo processo de fitodegradação/rizodegradação.

As tabelas 6.11 à 6.16 apresentam os resultados do teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos fitoextraídos do solo contaminado, dosados no tecido vegetal ao final do experimento, para as espécies de *Mimosa caesalpiniifolia* plantadas nos tratamentos 1 ao 6.

Tabela 6.11: HPAs fitoextraídos no tratamento 1.

Tratamento 1					
HPAs	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Fitoextração [HPA] %**	**Erro padrão da média - EP**	
	T_0	**T_f**		**T_0**	**T_f**
Naftaleno	0,01	0,15	0,9	0,00	0,13
Acenaftileno	0,01	0,18	1,4	0,00	0,19
Fluoreno	0,01	0,66	1,2	0,00	0,41
Acenafteno	0,01	0,64	0,8	0,00	0,46
Antraceno	0,01	0,09	0,3	0,00	0,06
Fenantreno	0,01	1,26	0,5	0,00	0,59
Criseno	0,01	0,49	3	0,00	0,35
Pireno	0,01	1,25	3	0,00	0,80
Fluoranteno	0,01	0,45	6	0,00	0,44
Benzo(a)antraceno	0,01	0,20	2	0,00	0,11
Benzo(a)pireno	0,01	0,12	6	0,00	0,03
Benzo(b)fluoranteno	0,01	0,08	11	0,00	0,02
Benzo(k)fluoranteno	0,01	0,02	25	0,00	0,00
Dibenzo(a,h)antraceno	0,01	0,03	13	0,00	0,00
Benzo(g,h,i)perileno	0,01	0,04	17	0,00	0,00
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,01	0,03	7	0,00	0,00

As figuras 6.19 à 6.24 apresentam os resultados do teores, em mg/Kg, de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos fitoextraídos do solo contaminado, dosados no tecido vegetal ao final do experimento, para as espécies de *Mimosa caesalpiniifolia* plantadas nos tratamentos 1 ao 6 assim como, as porcentagens fitoextraídas das massas de HPAs reduzidas dos solos contaminados.

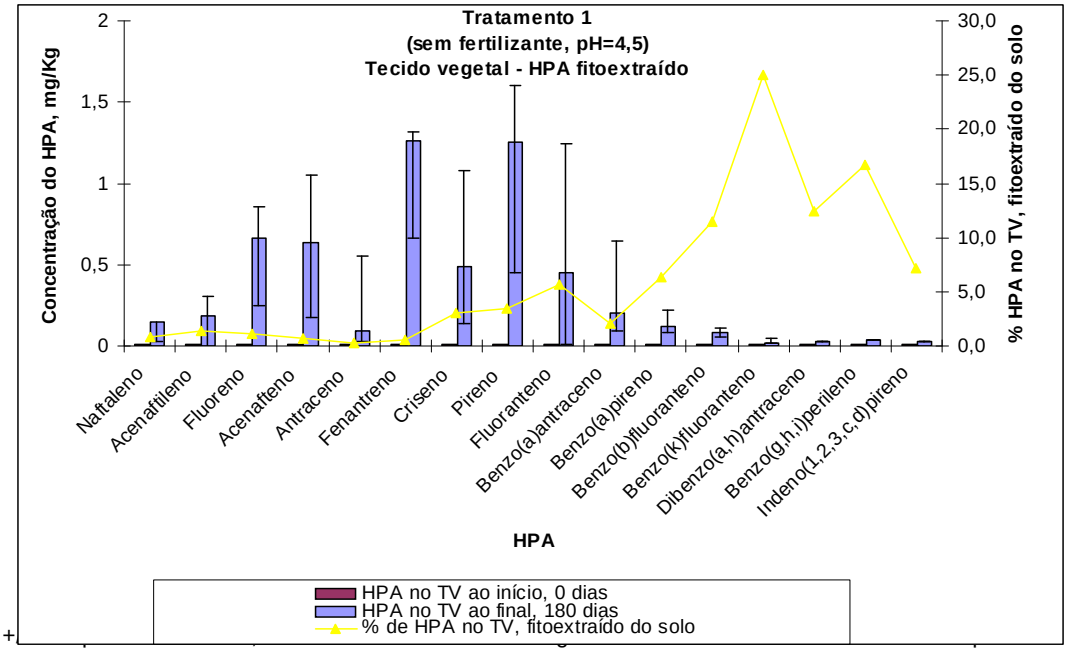


Figura 6.19: Tratamento 1: Médias dos HPAs fitoextraídos dos solos.

Tabela 6.12: HPAs fitoextraídos no tratamento 2

Tratamento 2					
	Concentração de HPA, mg/Kg		Fitoextração [HPA] %	Erro padrão da média- EP	
HPAs	T_0	T_f		T_0	T_f
Naftaleno	0,01	0,36	0,8	0,0	0,1
Acenaftileno	0,01	0,36	2,4	0,0	0,4
Fluoreno	0,01	1,3	2,3	0,0	1,4
Acenafteno	0,01	1,2	1,3	0,0	1,0
Antraceno	0,01	0,05	0,1	0,0	0,1
Fenantreno	0,01	1,19	0,6	0,0	0,7
Criseno	0,01	1,21	6	0,0	0,9
Pireno	0,01	2,7	8	0,0	2,0
Fluoranteno	0,01	0,37	4	0,0	0,3
Benzo(a)antraceno	0,01	0,49	5	0,0	0,4
Benzo(a)pireno	0,01	0,30	13	0,0	0,4
Benzo(b)fluoranteno	0,01	0,22	28	0,0	0,2
Benzo(k)fluoranteno	0,01	0,08	89	0,0	0,1
Dibenzo(a,h)antraceno	0,01	0,05	16	0,0	0,0
Benzo(g,h,i)perileno	0,01	0,07	20	0,0	0,1
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,01	0,04	4	0,0	0,0

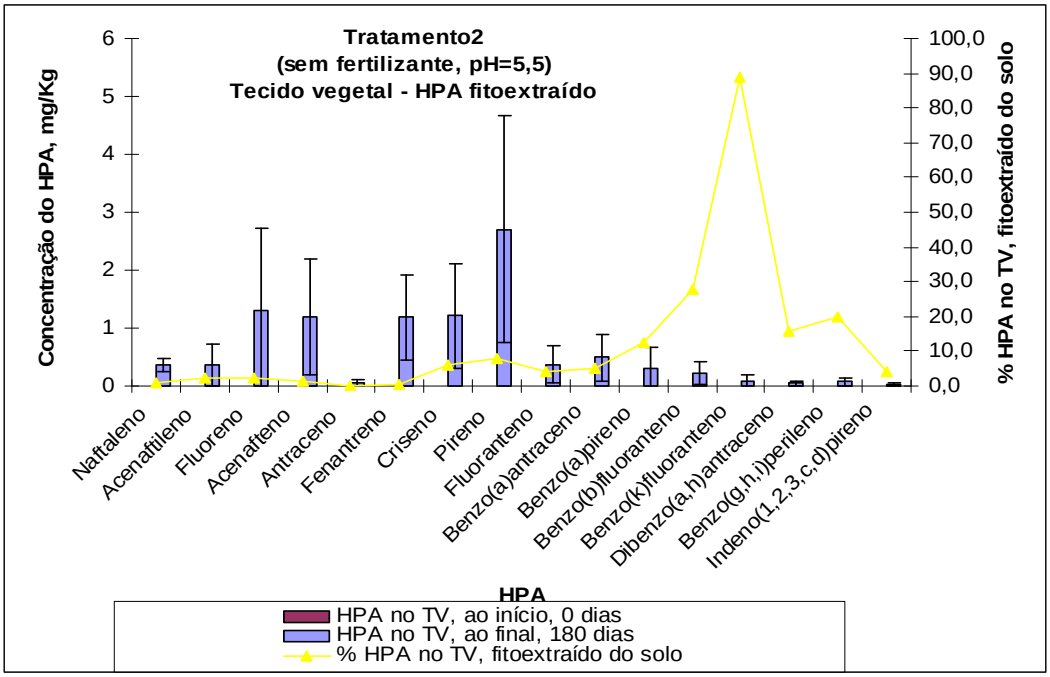


Figura 6.20: Tratamento 2: Médias dos HPAs fitoextraídos dos solos

Tabela 6.13: HPAs fitoextraídos no tratamento 3

Tratamento 3					
HPAs	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Fitoextração [HPA] %**	**Erro padrão da média - EP**	
	T_0	T_f		T_0	T_f
Naftaleno	0,01	0,27	0,3	0.0	0,3
Acenaftileno	0,01	0,22	1,4	0,0	0,1
Fluoreno	0,01	1,85	2,9	0,0	1,1
Acenafteno	0,01	1,40	1,4	0,0	0,8
Antraceno	0,01	0,13	0,3	0,0	0,0
Fenantreno	0,01	6,77	2,7	0,0	3,4
Criseno	0,01	2,60	13	0,0	1,9
Pireno	0,01	4,62	11	0,0	2,5
Fluoranteno	0,01	0,95	10	0,0	0,6
Benzo(a)antraceno	0,01	1,10	10	0,0	0,6
Benzo(a)pireno	0,01	0,49	20	0,0	0,6
Benzo(b)fluoranteno	0,01	0,62	74	0,0	0,9
Benzo(k)fluoranteno	0,01	0,35	0,0	0,0	0,6
Dibenzo(a,h)antraceno	0,01	0,14	32	0,0	0,0
Benzo(g,h,i)perileno	0,01	0,16	43	0,0	0,01
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,01	0,13	18	0,0	0,0

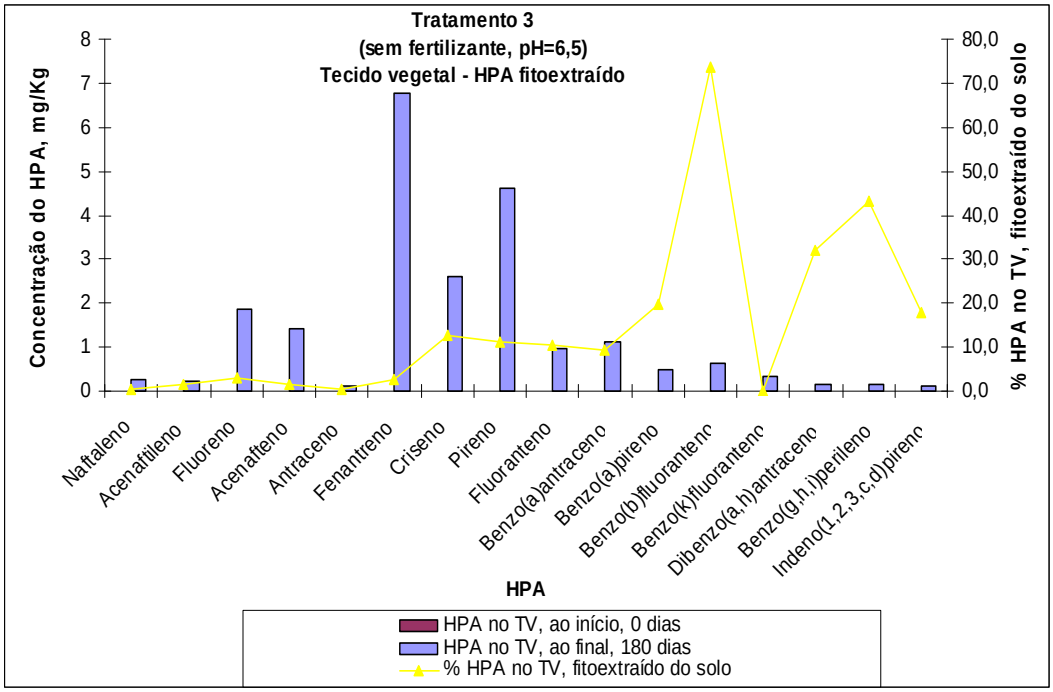


Figura 6.21: Tratamento 3: Médias dos HPAs fitoextraídos dos solos.

Tabela 6.14: HPAs fitoextraídos no tratamento 4.

Tratamento 4					
HPAs	**Concentração de HPA, mg/Kg**		**Fitoextração [HPA] %**	**Erro padrão da media - EP**	
	T_0	**T_f**		**T_0**	**T_f**
Naftaleno	0,01	0,10	0,1	0,0	0,1
Acenaftileno	0,01	0,24	1,7	0,0	0,4
Fluoreno	0,01	0,36	0,7	0,0	0,4
Acenafteno	0,01	0,55	0,7	0,0	0,4
Antraceno	0,01	0,04	0,1	0,0	0,0
Fenantreno	0,01	3,3	1,6	0,0	2,3
Criseno	0,01	0,92	6,4	0,0	0,7
Pireno	0,01	2,9	9,1	0,0	3,7
Fluoranteno	0,01	0,42	5,1	0,0	0,3
Benzo(a)antraceno	0,01	0,27	3,1	0,0	0,2
Benzo(a)pireno	0,01	0,30	20	0,0	0,4
Benzo(b)fluoranteno	0,01	0,18	30	0,0	0,2
Benzo(k)fluoranteno	0,01	0,10	0,0	0,0	0
Dibenzo(a,h)antraceno	0,01	0,05	2,6	0,0	0
Benzo(g,h,i)perileno	0,01	0,07	2,6	0,0	0,1
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,01	0,02	3,1	0,0	0

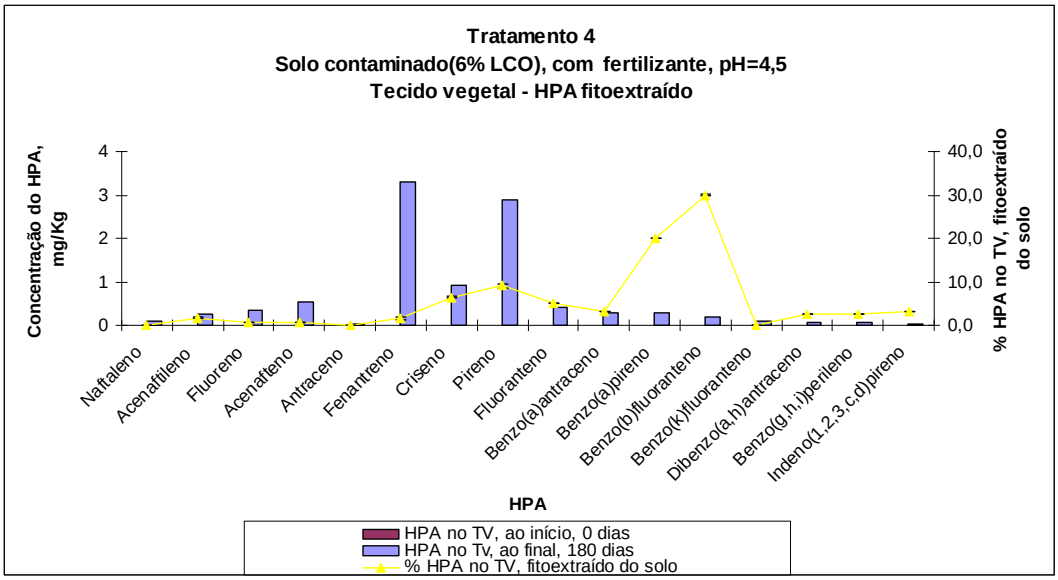


Figura 6.22: Tratamento 4: Médias dos HPAs fitoextraídos dos solos.

Tabela 6.15: HPAs fitoextraídos no tratamento 5

Tratamento 5					
HPAs	**Médias**		**Fitoextração [HPA] %**	**Erro padrão da média - EP**	
	T_0	**T_f**		**T_0**	**T_f**
Naftaleno	0,01	0,13	0,1	0,0	0,1
Acenaftileno	0,01	0,12	0,6	0,0	0,4
Fluoreno	0,01	0,73	1,0	0,0	0,4
Acenafteno	0,01	0,97	0,9	0,0	0,4
Antraceno	0,01	0,17	0,3	0,0	0,0
Fenantreno	0,01	1,3	0,4	0,0	2,3
Criseno	0,01	0,42	3,7	0,0	0,7
Pireno	0,01	1,48	3,2	0,0	3,7
Fluoranteno	0,01	0,27	2,3	0,0	0,3
Benzo(a)antraceno	0,01	0,29	2,9	0,0	0,2
Benzo(a)pireno	0,01	0,14	11	0,0	0,4
Benzo(b)fluoranteno	0,01	0,08	17	0,0	0,2
Benzo(k)fluoranteno	0,01	0,01	0,0	0,0	0
Dibenzo(a,h)antraceno	0,01	0,01	0,0	0,0	0
Benzo(g,h,i)perileno	0,01	0,05	9,4	0,0	0,1
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,01	0,01	0,0	0,0	0

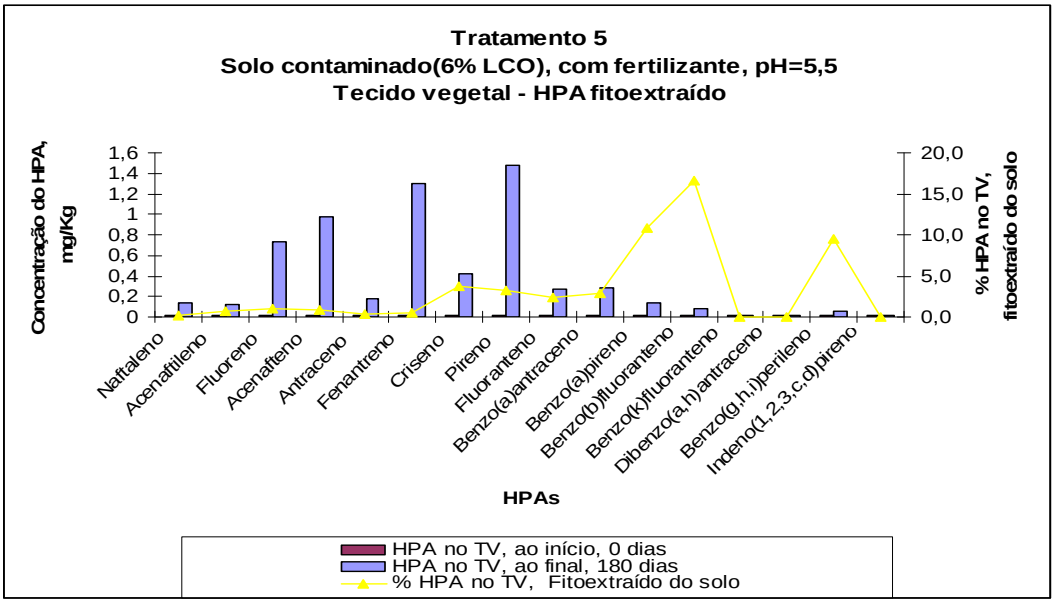


Figura 6.23: Tratamento 5: Médias dos HPAs fitoextraídos dos solos.

Tabela 6.16:HPAs fitoextraídos no tratamento 6

Tratamento 6					
HPAs	Médias		Fitoextração [HPA] %	Erro padrão da média - EP	
	T_0	T_f		T_0	T_f
Naftaleno	0,01	0,14	0,1	0,0	0,09
Acenaftileno	0,01	0,19	1,1	0,0	0,22
Fluoreno	0,01	0,69	0,7	0,0	0,44
Acenafteno	0,01	0,90	0,9	0,0	0,49
Antraceno	0,01	0,03	0,1	0,0	0,05
Fenantreno	0,01	2,7	0,9	0,0	1,86
Criseno	0,01	0,65	3,3	0,0	0,27
Pireno	0,01	3,2	6,4	0,0	0,13
Fluoranteno	0,01	0,99	9,8	0,0	0,56
Benzo(a)antraceno	0,01	0,5	4,3	0,0	0,10
Benzo(a)pireno	0,01	0,19	2,2	0,0	0,10
Benzo(b)fluoranteno	0,01	0,13	18,8	0,0	0,13
Benzo(k)fluoranteno	0,01	0,02	0,0	0,0	0,00
Dibenzo(a,h)antraceno	0,01	0,15	7,4	0,0	0,00
Benzo(g,h,i)perileno	0,01	0,05	2,1	0,0	0,02
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,01	0,04	7,4	0,0	0,04

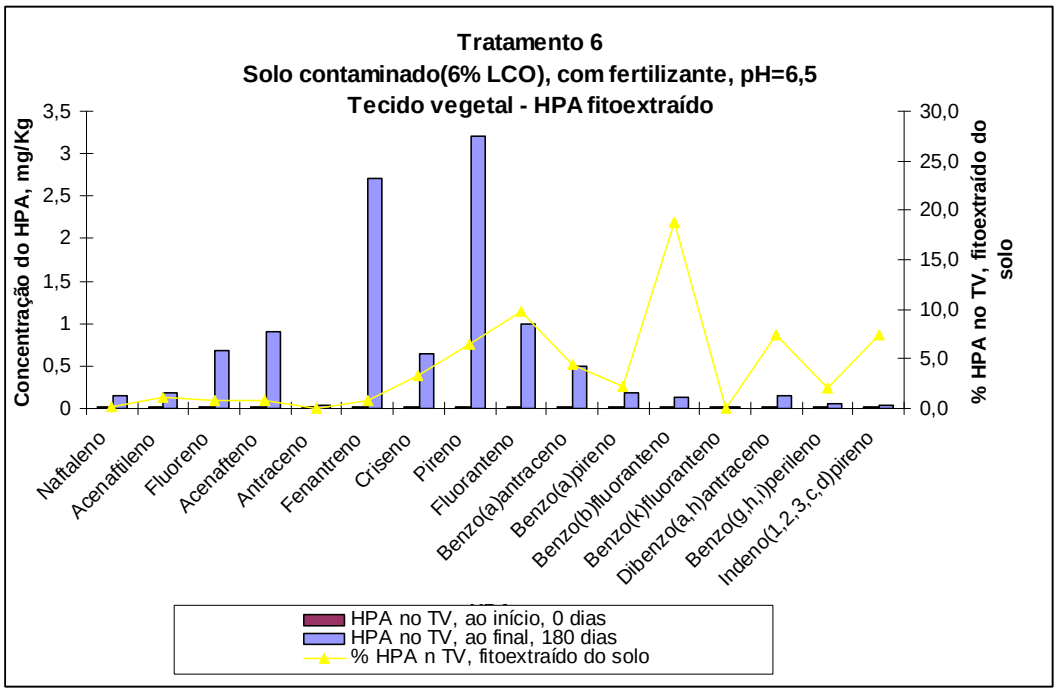


Figura 6.24: Tratamento 6: Médias dos HPAs fitoextraídos dos solos.

6.6. Legislação

A tabela 6.17 apresenta as concentrações dos HPAs, em mg/Kg de solo, alcançadas após 180 dias de remediação dos solos com a *Mimosa caesalpiniifolia* para os 6 tratamentos em comparação aos valores orientadores estabelecidos pela CETESB(2005).

Tabela 6.17: Valores orientadores para HPAs em solo x Tratamentos

	Valores Orientadores para HPAs no solo (CETESB, 2005)									
HPAs	SOLO (mg.Kg^{-1} de peso seco)				Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4	Trat 5	Trat 6
		INTERVENÇÃO								
	PREVENÇÃO	AGRÍCOLA	RESIDENCIAL	INDUSTRIAL						
Naftaleno	0,12	30	60	90	9	12	14	9	5	8
Antraceno	0,039	-	-	-	15	12	10	8	2	6
Fenantreno	3,3	15	40	95	53	62	58	40	12	35
Criseno	8,1	-	-	-	4	3	3	4	3	3
Benzo(a)antraceno	0,025	9	20	65	9	9	9	9	9	8
Benzo(a)pireno	0,052	0,4	1,5	3,5	2	2	2	2	1,9	2
Benzo(k)fluoranteno	0,38	-	-	-	0,1	0,06	0,06	0,06	0,07	0,06
Dibenzo(a,h)antraceno	0,08	0,15	0,6	1,3	0,1	0,1	0,06	0,06	0,07	0,06
Benzo(g,h,i)perileno	0,57	-	-	-	0,1	0,06	0,06	0,06	0,07	0,06
Indeno(1,2,3,c,d)pireno	0,031	2	25	130	0,1	0,1	0,06	0,06	0,07	0,06

Observa-se que todos os seis tratamentos, ao final de 180 dias, foram efetivos para alcançarem os valores de intervenção agrícola, a mais restritiva, para os compostos naftaleno, benzo(a)antraceno, Benzo(k)fluoranteno, Dibenzo(a,h)antraceno, Benzo(g,h,i)perileno, Indeno(1,2,3,c,d)pireno. Somente o tratamento 5 reduziu o fenantreno à faixa de intervenção agrícola.

Em relação aos metais, tanto o solo quanto o óleo contaminante tinham baixos teores de metais, conforme tabela 4.9, mesmo assim os teores metálicos dos solos contaminados foram monitorados e estão expressos na tabela 6.18 em que apresenta as concentrações médias dos metais analisados, em mg/Kg de solo, alcançadas após 180 dias de remediação dos solos com a *Mimosa caesalpiniifolia* para os 6 tratamentos em comparação aos valores orientadores estabelecidos pela CETESB em 2005.

Tabela 6.18: Valores orientadores para METAIS em solo x Tratamentos

METAIS	SOLO ($mg.Kg^{-1}$ de peso seco)				Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4	Trat 5	Trat 6
		INTERVENÇÃO								
	PREVENÇÃO	AGRÍCOLA	RESIDENCIAL	INDUSTRIAL						
Antimônio	2	5	10	25	-	-	-	-	-	-
Arsênio	15	35	55	150	-	-	-	-	-	-
Bário	150	300	500	750	-	-	-	-	-	-
Cádmio	1,3	3	8	20	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Chumbo	72	180	300	900	5	5,1	6,2	8,4	4,2	5,5
Cobalto	25	35	65	90	0,7	0,8	0,7	< 0,3	< 0,3	0,9
Cobre	60	200	400	600	2,8	2,3	2,2	7,3	6	8
Cromo	75	150	300	400	13	13	12	12	13	15
Mercúrio	0,5	12	36	70	-	-	-	-	-	-
Molibdênio	30	50	100	120	-	-	-	-	-	-
Níquel	30	70	100	130	0,7	0,8	0,7	2,5	1,7	2,1
Prata	2	25	50	100	-	-	-	-	-	-
Selênio	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zinco	300	450	1000	-	14	14	12	26	22	25

CAPÍTULO 7

CONCLUSÕES e RECOMENDAÇÕES

Esta pesquisa se baseou em estudos já realizados e literaturas consagradas internacionalmente sobre o assunto de fitorremediação, buscando conhecer um pouco mais sobre espécies vegetais arbóreas e seu potencial em remediar um solo contaminado com um determinado óleo rico em hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

Inicialmente foram realizadas as caraterizações dos materiais a serem utilizados nos experimentos, solo, óleo e as espécies vegetais. Para tanto foram realizadas diversas análises qímicas e físico-químicas e obtidas essas informações dois experimentos foram implantados. O primeiro basicamente para selecionar entre duas espécies vegetais arbóreas qual se adaptaria melhor as condições adversas ambientalmente a que foram expostas. A partir dessa seleção, foi implantado o segundo experimento, no qual a espécie selecionada foi exposta a situações distintas (6 tratamentos) em que foi observado o comportaento da espécie vegetal em cada situação em foi exposta (tratamento).

As conclusões estão apresentadas a seguir, de acordo com cada etapa em que foi vivenciado o estudo e ao final algumas recomendações são feitas a partir da experiência vivenciada nesta pesquisa.

7.1. Caracterização

- O solo selecionado para este estudo foi um solo isento de contaminação de metais e compostos orgânicos de acordo com os valores orientadores para solos citados pela CETESB, 2005.

- Um argissolo (antigo podzólico vermelho-amarelo), com predomínio de caolinita apresentando assim, baixa capacidade de reter nutrientes, água, etc. conferindo uma reduzida capacidade sortiva desse solo, decorrente especialmente de sua baixa capacidade de troca catiônica (CTC). Alto teor de argila, solo ácido, com baixos teores de matéria orgânica, nutrientes e de população de bactérias hidrocarbonoclásticas.

- O óleo apresentou alto teor de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e baixo teor de metais.

- Os tecidos vegetais analisados para metais e compostos orgâncicos (HPAs), nas mudas antes do plantio na implementação dos experimentos não apresentaram contaminação por esses compostos.

7.2. 1º Experimento

- O contaminante foi fitotóxico para as duas espécies à concentração de 9%;
- A *Acácia holocericea* se apresentou mais sensível a concentração de 6% de óleo do que a *Mimosa caesalpinifolia;*
- A *Acácia holocericea* foi a espécie menos afetada pelo contaminante nas concentrações 2 e 4% com um maior crescimento em relação à *Mimosa caesalpinifolia* nas mesmas concentrações.
- As duas espécies estudadas reduziram os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, fenantreno e pireno do solo entre 79 e 86% e 60 e 73% respectivamente;
- A espécie *Mimosa caesalpinifolia* sobreviveu a concentração de até 6% de HPAs no solo, com um potencial de redução o fenantreno e pireno no solo contaminadona faixa de 70%;
- Sob o ponto de vista dessas espécies apresentarem potencialidade na fitorremediaçào de solos contaminados com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, os resultados apresentados sugerem que ambas as espécies favoreceram a fitorremediação do solo utilizado (argissolo vermelho amarelo) porém a *Mimosa caesalpinifolia* se mostrou mais tolerante. Apesar da *Acácia holocericea* ter sido a espécie que obteve um maior crescimento e estimulado um maior aumento da população de BHC do que a espécie *Mimosa caesalpinifolia,* a redução dos HPAs para ambas as espécies se encontraram na mesma ordem de grandeza.
- A *Mimosa caesalpinifolia* foi à espécie selecionada, no 1º experimento, para dar continuidade ao estudo pois, se mostrou mais tolerante ao contaminante, em um maior nível de concentração (6%) do óleo utilizado - LCO, do que a *Acácia holocericea.*

7.3. 2º Experimento

- A *Mimosa caesalpiniifolia* não apresentou sinais de estresse hídrico, não havendo redução de seu crescimento no solo contaminado em relação ao crescimento em solo não contaminado no experimento realizado em vasos na casa de vegetação.

- Dos 36 vasos plantados em solo contaminado com 6% de óleo LCO apenas dois vasos tiveram a morte da espécie plantada, cerca de 5% de mortalidade.

- Neste estudo pode-se observar que para o solo argiloso contaminado com 6% de óleo LCO os oito primeiros hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, em ordem crescente de anéis aromáticos, 2 à 4, (naftaleno, acenafitileno, fluoreno, acenafteno, antraceno, fenantreno, criseno e pireno), que estavam em maior concentração no óleo foram os mais degradados nos solos plantados com a espécie *Mimosa caesalpiniifolia*;

- Os outros oito hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em ordem crescente de anéis aromáticos, 4 à 6, (fluoranteno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno, Indeno(1,2,3,c,d)pireno) que estavam em menor concentração no óleo e que são os HPAs mais recalcitrantes, apresentaram pequenas diferenças no balanço de massa porém os valores estavam muito próximo do limite de detecção do método analítico utilizado e os valores encontrados não diferiram entre si estatisticamente assim, pode-se inferir que estes compostos não foram degradados pela espécie *Mimosa caesalpiniifolia* no período do experimento;
- Os tratamentos com a adição de fertilizante se mostraram mais efetivos na remediação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos do que os tratamentos sem a adição de fertilizante.
- Observou-se que o ajuste de pH do solo é importante para o crescimento da população de bactérias hidrocarbonoclásticas e consequentemente para a degradação dos compostos orgânicos estudados;
- Observou-se que a adição de fertilizante associada ao ajuste de pH do solo foi importante para alcançar uma maior redução de contaminantes do solo

Sob o ponto de vista dessas duas espécies, *Acácia holocericea* e *Mimosa caesalpiniifolia,* apresentarem potencialidade na fitorremediação de solo tropical contaminado com HPAs, a *Acácia holocericea* apresentou potencial para fitorremediar solos contaminados com HPAs porém, o seu estudo não foi aprofundado por ela apresentar sensibilidade ao contaminante. Já a espécie *Mimosa caesalpiniifolia* apresentou tolerância ao contaminante utilizado. A suplementação nutricional, adição do fertilizante, juntamente com o ajuste de pH do solo resultou num melhor crescimento da *Mimosa caesalpiniifolia* e maior redução do contaminante do solo, indicando que estas intervenções podem otimizar o meio e minimizar o estresse causado pelo contaminante no solo.

7.4. Recomendações

Na relevância deste estudo cita-se que os resultados do experimento permitiriam identificar espécies vegetais, cuja utilização imediata poderia ser recomendada ou não, nos tratamentos secundários pela técnica da fitorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, uma vez que não existe hoje no Brasil, uma seleção de espécies que possam efetivamente serem utilizadas nesses tratamentos. Assim, sendo a pesquisa dinâmica e, com base neste estudo, recomenda-se:

- Investigar os mecanismos de degradação dos HPAs no solo através de medições de compostos intermediários formados como os compostos fenólicos;
- Investigar a relação da atividade microbiana e a degradação dos compostos orgânicos utilizados
- Prosseguir com pesquisas sobre fitorremediação nas condições ótimas encontradas neste estudo por um período mais longo e com maior quantidade de amostragens durante o experimento;
- Eliminar o fator de estresse para as espécies vegetais existente nos experimentos em casa de vegetação realizando também experimentos em Campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, G., DUNCAN, H. J. Effect of diessel fuel on growth of selected plant species. **Enviromenment Geochemistry and Health,** Amsterdam, v. 21, p. 353-357. 1999.

ALLOWAY, B.J. Soil pollution and land contamination. In: HARRISON, R.M. *Pollution*: causes, effects and control. 3.ed. Cambridge: The Royal Society of Chemestry, 1996.

ALLOWAY, B.J.; AYRES, D.C. *Chemical priciples of environmental pollution*. 2.ed. London: Chapman &Hall, 1997.

AL-ZALZALEH, H., SHABBIR, G. Effect of bioremediated soil on growth of different plant species. **J. Eci. Eng,** Kiwait, v. 31, n. 1, p. 107-118, 2004.

ALEXANDER, M., Bioremediation Technologies: In Situ and Solid Phase **Biodegradation and Bioremediation**, New York: Academic Press. Cap.16. 2 ed, USA, 1999.

ALVAREZ V., *et al*. 1999. **Uso de gesso agrícola**. In: RIBEIRO, A.C.,ALVAREZ V., V.H. GUIMARÃES, P.T.G. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 5ª Aproximação, RIBEIRO, A.C., ALVAREZ V., GUIMARÃES P.T.G. MG. 359p.

AMELLAL, N, PORTAL, J.M., BERTHELIN, J., 2001. Effect of soil structure on the biavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons within aggregates of a contaminated soil**. Applied geochemistry**, 16:1611-1619.

AMIT K. GUPTA, S.S. Phytoextraction capacity of the plants growing on tannery sludge dumping sites. **Bioresource Technology**. v. 98, p.1788–1794. 2007.

ANDERSON, T. A., WHITE DC, WALTON BT. Degradation of Hazardous Organics Compounds by Rhizosphere Microbial Communities. Prog Ind Microbiol 32:205, 1995.

ANDRADE, H. **Solos: origem, componentes e organização**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 134p.

ANDRADE, J.C.M., 2002. **Fitorremediação do solo – O que é isso companheiro?.** Seminário de Qualificação ao Doutorado. Programa de Engenharia Civil. COPPE/UFRJ. RJ. Brasil.

ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S.R.L.; MALHER, C.F. **Fitorremediaçào. O uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental.** 2007. 1v. 176p.

ANTOSIEWICZ D. M. *et al*. Indigenous Plant Species with the Potential for the Phytoremediation of Arsenic and Metals Contaminated Soil. **Water Air Soil Pollut** 193:197–210p. 2008.

ARAUJO, B. S. "**Fitorremediação: tolerância e metabolismo de compostos xenobióticos por raízes de Dacus carota, transformadas pela Agrobacterium rhizogenes**". Maceió. AL. UFAL. 2000. Dissertação (Mestrado em Ciências agronômicas).

ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbial Reviews**, 1981 v.45 (1), p. 180-209.

ATLAS, R. M. **Principles of Microbiology**. Mosby: Toronto. 1992

_____; BARTHA, R, **Microbial Ecology: Fundamentals and Applications.** 3rd ed. Benjamin/Cummings, Menlo, Park, C.A. 1993.

BACHMANN, G.; KINZEL, H. Physiological and ecological aspects of the interactions between plant roots and rhizosphere soil. **Soil Biology and Biochemistry.** 24 (6): 543-552. 1992.

BAKER, A. J., *et al*. "**The potential for heavy metal decontamination**". Mining Environ. Manage, 1995, v. 3, n. 3, pp. 12-14. *Apud* Epa - United States Environmental Protection Agency (EPA/600/R-99/107). "**Introduction to Phytoremediation"**. EPA, Cincinnati – Ohio, 2000.

BAKER, J.M. The effects of Oils on Plants. **Environ. Pollut***.,* v.1, pp. 27-44, 1970.

BAMIDELE, J.F.; AGBODIGI, O.M. 2000. Toxic of odid petroleum oil and its water soluble faction on three aquatic macrophytes. **Nigerian Journal of Science and Environment**, Zaria, v.2, n.1, p.113-121.

BANKS, M.K, *et al*. Field Demonstration. In: FIORENZA S, OUBRE CL, WARD CH(eds). **Phytoremediation of Hydrocarbon-Contaminated Soil**. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, p.3. 2000.

BAÑUELOS, G.S., *et al*. Evaluation of different plant species used for phytoremediation of high soil selenium. **Journal of Environmental Quality***.* 26: 639-646. 1997.

_____. Factors influencing field phytoremediation of selenium Ladensoils. In: TERRY, N. and Bañuelos, G. (eds), **Phytoremediation of contaminated Soil and water,** Lewis Publishers, Boca Raton, EUA, pp 41-59. 2000.

BARBOSA, M.C. **Investigação geoambiental do depósito de argila orgânica sob o Aterro de Resíduos Urbanos de Gramacho, RJ.** Orientadores: Márcio de Souza Soares de Almeida,Maurício Ehrlich, Rio de janeiro: PEC/COPPE/UFRJ, 1994. Tese (Doutorado em Engenharia Civil).

BARNSLEY, E. A.. The bacterial degradation of fluoranthene and benzo[a]pyrene. **Canadian Journal of Microbiology***.* 21: 1004-1008. 1975.

BONA, C.; SANTOS, G.O. **Adaptações morfo-fisiológicas de espécies vegetais crescendo em solo contaminado com petróleo**. Curitiba: FUNPAR/UFPR, 2003. Relatório Técnico.

BOYAJIAN, G.E., DEVEDJIAN, D.L. Phytoremediation: It grows on you. **Soil & Groundwater Cleanup,** february/march, pp. 22-26. 1997.

BRADSHAW A.D., Chadwick M.J., 1980. The Restoration of Land. Blackwell, Oxford, UK

BRADY NC; Weil, R. R.. **The nature and properties of soils.** Prentice Hall: Upper SaddleRiver, New Jersey. 1996.

BRANDLI, R. *et al*. 2004. Occurrence and relevance of organic pollutants in compost, digestate and organic residues – Literature review. EPF Lausanne – ENAC – ISTE – CECOTOX; Agroscope FAL Reckenholz. Disponível na INTERNET via www.umwelt-schweiz.ch/imperia/md/content/abfall/sm1.pdf. Arquivo consultado em 2007.

BRIEN O M.J.P.; BRIEN O C.M. **Ecologia e modelamento de florestas tropicais.** Belém, FCPA, 1995.

Cadernos de Saúde Pública. Vol. 19 n.2. Rio de Janeiro. Março 2003.

CANALS, M.V. 2005. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Tesis. Universitat de Barcelona. 343p.

CARDOSO, L.C.S. **Logística do petróleo: transporte e armazenamento**. Rio de Janeiro: Interciência, 2004. 192p.

CARMEN, E.P., CROSSMAN, T.L., GATIFF, E.G. Phytoremediation of n.2 Fuel Oil-Contaminated Soil. **J. Soil Contm**. v. 7, pp. 455-466. 1998.

CARMICHAEL, L. M., PFAENDER, F. K. Polynuclear aromatic hydrocarbon metabolism in soils: relationship to soil characteristics and preexposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**.16 (4): 666-675. 1997.

CERNIGLIA, C.E;, YANG, S.K. Stereoselective metabolism of anthracene and phenanthrene by fungus Cunninghamella elegans. **Appl Environ Microbiol** 47:119-124. 1984.

_____. Biodegradation of polycyclic aromatics hydrocarbons. **Biodegradation.** v 3:351-368. 1992.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. 2001. Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. Dorothy C.P., Casarini *et al*. São Paulo – SP. 73p. Série Relatóros Ambientais.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. Decisão de Diretoria n^{0}195/2005 de 23/11/2005. CETESB, SP. 4p.

CHAGAS-SPINELLI, A.C.O. **Biorremediação de solo argiloso contaminado por hidrocarbonetos poliaromáticos provenientes de derrame de oleo diesel**. Orientador: Edmilson Santos de Lima. 2007. Recife. PE. UFPE. Tese. (Doutorado em Geociências).

CHAMBERS C.D, *et al*. 1991. **In Situ Treatment of Hazardous Waste Contaminated Soils,** 2nd edn. Noyes Data Corporation, Park Ridge, NJ.

CHANG B.V.; CHANG; E I. T.; YUAN, E S. Y. Anaerobic Degradation of Phenanthrene and Pyrene in Mangrove Sediment. **Bull Environ Contam Toxicol** v.80:145–149. 2008.

COLE, M. A.; ZHANG, L.; LIU, X. Remediation of pesticide-contaminated soil by planting and compost addition. **Compost. Sci. Utiliz**., v. 3, p. 20-30, 1995.

COFIELD, N., BANKS, M. K., SCHWAB A. P. Evaluation of hydrophobicity in PAH-contaminated soils during phytoremediation. **Environmental Pollution.** v. 145. 60-67p. 2007.

COOKSON, H.T.J. 1995. **Bioremediation Engineering: Design and Application**. McGraw-Hill Inc.:Toronto.

CORDAZZO, J, MALISKA, C.R., CORSEUIL, H.X. Solução numérica do problema de derramamento de gasolina acrescida de álcool no solo. In: ENPROMER'99 – II CONGRESSO DE ENGENHARIA DE PROCESSOS DO MERCOSUL. p.108, 1999. Florianópolis, SC.

COSTA, S.N.S.P. 2004. **Avaliação do potencial de plantas nativas do Brasil no tratamento de esgoto doméstico e efluentes industriais em "Wetlands" construídos.** Tese de Doutorado – Universidade Federal de Campinas, SP.

COUKLIN A.R. 1998. **Soil Groundwater Cleanup**. V.34

CUNNINGHAM, S.D.; OW, D.W.. Promises and prospects of phytoremediation. **Plant Physiology***.* 110 (3): 715-719. 1996.

CUNNINGHAM, S.D.;, SHANN J.R., *et al.* 1997. Phytoremediation of contaminated water and soil. In: Kruger, E.L., Anderson, T.A.; Coats; J.R. (eds). PHYTOREMEDIATION OF SOIL AND WATER CONTAMINANTS. ACS Symposium Series No. 664. American Chemical Society, Whashington, DC.

CURCIO, D.S. **Comportamento hidromecânico de compósito solo-fibra** Orientadores: Márcio de Souza Soares de Almeida e Mauríco Herlich. Rio de Janeiro. UFRJ/COPPE/PEC, 2008.164p. Tese. (Doutorado em Engenharia civil).

DAVIS, L.C., *et al*. **Alfalfa plants and associated microorganisms promote biodegradation rather than volatilization of organic substances from ground wate**r - **Bioremediation through rhizosphere technology.** Anderson T.A; Coats, J.R. Washington, D.C.: American Chemical Society: ACS Symposium Series Chapter 10. 563. 112-122. 1994.

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., *et al.* Fitorremediação. In: III FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS*,* 1-14, 2003. Faculdades Integradas Claretianas, Rio Claro, SP.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA), 1997. Manual de métodos de análise de solos. 2ª. Ed. Rio de Janeiro. RJ. Centro Nacional de Pesquisa de Solo, 212p.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA), 1999. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, 412p.

ERAKHRUMEN, A.A. Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries. **Educ. Research and Review** v.2 (7), p. 151-156. 2007.

ERICKSON, L.E.; DAVIS, L.C.; MURALIDHARAN, N. Bioenergetics and bioremediation of contaminated soil. **Thermochimica Acta.** 250: 353-358. 1995.

_____ *et al.* Using Vegetation to Enhance In Situ Bioremediation. **Environmental Progress***.* 1994.

EULISS, K. *et al*. Greenhouse and field assessment of phytoremediation for petroleum contaminants in a riparian zone. **Bioresource Technology**. v. 99, p. 1961–1971. 2008.

EWEIS, J.B. 1998. Bioremediation Principles. McGraw-Hill, Inc.: Toronto.

FAN, S. *et al*. Promotion of pyrene degradation in rhizosphere of alfafa (*Medicago sativa L*.) **Chemosphere (2007),** doi: 10.1016;j.chemosphere 2007.10.068.

FARIA, M.S.; CAMPELLO, E.F.C. 2000. Algumas espécies de leguminosas fixadoras de nitrogênio recomendadas para revegetação de Áreas degradadas. Recomendação Técnica. EMBRAPA Agrobiologia. Nº7, maio/2000, p. 1-8

FARIAS, L.H.M. **Efeitos do solo contaminado por petróleo nas folhas e raízes de *Rhynchospora corymbosa* (L.) Britt. (Cyperaceae).** Orientador: Curitiba: UFPR, 2005, 75 p. Dissertação (Mestrado em Botânica)

FERRO, A., *et al.* 1997. Chapter 16 Fate of benzene in soils planted with alfalfa: uptake, volatilization, and degradation. Phytoremediation of Soil and Water Contaminants.

FIORENZA S., OUBRE, C.L., WARD, C.H. **Phytoremediation of hydrocarbon contaminated soil.** Ed. Lewis Publishers. 2000.

FRANCO, A.A.; DIAS, L.E.; FARIA, S.M. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. In: SIMPÓSIO SOBRE ESTRUTURA, FUNCIONAMENTO E MANEJO DE ECOSSISTEMAS. Rio de Janeiro. **Resumos.** Rio de Janeiro: UFRJ - Inst. de Biologia, 1992. p. 93.

FRICK, C.M., FARRELL, R.E., GERMIDA. J.J. **Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites.** Dez. 1999. Soil Sci Dept.. Saskatchewan' University, Canada.

GABORIAU, H.; SAADA, A. Influence of heavy organic pollutants of anthropic origin on PAH retention by kaoli*nite*, **Chemosphere**, vol. 44, no 7, p. 1633-1639. 2001.

GELLER, K., ROCK, S., TSAO D., Phytotecnologies. Interstate Technology Regulatory Cooperation – ITRC. 1999

GIBSON, D.T.; SUBRAMANIAN, V. Chapter 7 Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. ***Microbial Degradation of Organic Compound*s**. D. T. Gibson. Marcel Dekker, Inc.: New York. 1984. p.181-252. 1984.

GUDIN, C.; SYRATT, W.J. Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. **Environmental Pollution** v.8 p. 107-112. 56. 1975

GUNTHER, T., DORNBERGER, U.; FRITSCHE, W.. Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. **Chemosphere**. v.33 (2): p. 203-215.1996.

GUPTA, A.K.; SARITA, S. Phytoextraction capacity of the plants growing on tannery sludge dumping sites. **Bioresource Technology** v.98 p. 1788-1794, 2007.

HEITKAMP, M.A.; CERNIGLIA, C.E. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a *Mycobacterium sp*. in microcosms containing sediment and water from a prestine ecosystem. **Applied and Environmental Microbiology.** 55 (8): p.1968-1973, 1989.

HENNER, P. SCHIAVON, M., MOREL, J.L.; LICHTFOUSE, E. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) occurrence and remediation methods. ***Analysi*s**. 25(9-10): M56-M59. 1997

HUDDLESTON, R.L., BLECKMANN, C.A.; WOLFE, J.R. Land treatment biological degradation process In: LAND TREATMENT A HARZADOUS WSATE MANAGEMENT ALTERNATIVE WATER RESOURCES SYMPOSIUM NUMBER 13 LOEHR, R.C. and Malina, J.F., Eds Center for research in Water Resources, University of texas, Austin 1986. pp 41-62.

IARC (International Agency for Research on Cancer), 2002. **Complete List of Agents, Mixtures and Exposures Evaluated and Their Classification**. 3 May 2002. Disponível na INTERNET via http://www.iarc.fr. Arquivo consultado em 2007.

INCKOT, R.C. Germinação, desenvolvimento e morfoanatomia de Mimosa pilulifera Bentham (leguminosae) em solo contaminado por petróleo e solo biorremediado. Orientadores: Luiz Antônio de Souza, Cleusa Bona e Gedir de Oliveira Santos, Universidade Federal do Paraná – UFPR. Curitiba-PR, 2007. Dissertação (Mestrado em Botânica).

JOHNSEN, A.R., WICK, L.Y; HARM, H. Principles of microbial PAH-degradation in soil. **Environ. Pollut**. v. 133. 71-84p. 2005.

JONER, E.J.; LEYVAL C. Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rizosphere interacts. **Agronomie**. v.23. p.495-502. 2003.

KARTHIKEYAN, R; KULAKOW, P.A. Soil plant microbe interactions in phytoremediation. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**. v. 78 p. 51-74. 2003.

KEITH, L.H.; TELLIARD, W.A. Priority Pollutants: A perspective View. **Environ. Sci. Technol**. 13:416-423. 1979.

KIRK, J.L., KLIRONOMOS, J.N., LEE, H., TREVORS, J.T., 2005. The effects of perennial ryegrass and alfafa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil. **Environmental Pollution**, v. 133, pp. 455-465.

KOCHETKOV, V., *et al*. Plasmids encoding naphthalene biodegradation in rhizosphere bacteria of the genus **Pseudomonas. Microbiology***.* 66 (2): 173-177. 1997.

KUMAR, P.B.A.N., *et al*. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. **Environ. Sci. Technol**., 29 (5), 1232-1238. 1995.

LARSON W.E, ALLMARAS R.R Management Factors and Natural Forces as Related to Compaction. In: **Barnes KK** Campaction of agricultural Soils. ASAE Monograph, St. Joseph, MI, p.367. 1971.

LEAL, M.A.A.; CAETANO, L.C.S., FERREIRA, J.M. Estufas de baixo custo Modelo Pesagro-Rio, Pesagro-Rio. PESAGRO-RIO. 2000.

LEE, K. DE MORA, S. In Situ Bioremediation Strategies for Oiled Shoreline Environments **Environ. Technol**. v. 20, pp. 783-794. 1999.

LEE, S.-H; *et al*. Degradation of phenantrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. **J. Hazard Mater**. 2008.

LOEHR, R.C.; WEBSTER, M.T. Performance of long-term, field-scale bioremediation processes. **Journal of Hazardous Materials**. 50: 105-128. 1996.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 351p.

LYONS, W. C.. Standard Handbook of Petroleum and Natural Gas Engineering. Gulf Publishing Company: Houston. 1996.

MACEK, T.; MACKOVÁ, M.; KÁS, J. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. **Biotechnol. Adv.,** v. 18, p. 23-34, 2000.

MANAHAN, S.E. **Environmental chemistry**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. 811p.

MARANHO, L.T. **Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha e do lenho de *Podocarpus lambertii* Klotzsch *ex* Endl. (Podocarpaceae).** Orientador: Curitiba: UFPR, 2004. 201 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais).

MAYER, J. L.S.; BONA, C.; SANTOS, G, de O. & KOEHLER, H.S. **Efeito do solo contaminado com petróleo no crescimento e desenvolvimento de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae)**. VI Simpósio Nacional e Congresso Latino-americano Recuperação de áreas degradaadas, Curitiba 2005.

MAZZUCO, K.T.M. **Uso da Canavalia ensiformis como fitorremediador de solos contaminados por chumbo**. Orientador: Humberto Gracher Riella. Florianópolis. SC. 2008. UFSC. Tese (Doutorado em Engenharia Química).

McGRATH, S.P. Phytoextraction for Soil Remediation. In: Brooks, R.R. [ed.]. Plantas that Hyperaccumulate Heavy Metals, CAB International, Wallingford, p.261. 1998.

McINTYRE, T.; LEWIS, G.M. The advancement of phytoremediation as an innovative environmental technology for stabilization, remediation, or restoration of contaminated sites in Canada: a discussion paper. **Journal of Soil Contamination**. 6 (3): 227-241. 1997.

MEANS J.C., WOOD S.G.; BANWART W.L.1980. **Environ.Sci.Technol**. 14:1524

MELO, I. S. “**Rizoremediação**”. In: ITAMAR S. M., SILVA, C. M. M. S., SCRAMIN, S., SPESSOTO, A. (Edit.). “**Biodegradação**”. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, pp.29-33, 2001.

MENDELSSOHN, I.A.; OIANXIN, L. 2003. The development of bioremediation for oil spill cleanup in coastal wetlands. U.S. Dept. of the interior, Minerals Management Service, Gulf of Mexico OCS Region, New Orleans, LA. OCS Study MMS 2002 -048. 84p.

MENDONÇA, R.M.G. **Transporte e Retenção de Ânions em Solo Tropical Residual Saprolítico do Estado do Rio de Janeiro**. Orientador: Maria Cláudia Barbosa. Rio de janeiro: PEC/COPPE/UFRJ, 2000. 200p Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil).

MERKEL, N., SCHULTZE-KRAFT, R., INFANTE, C. Phytoremediation in tropcs – the effect of crude oil on the growth os tropical plants. **Biorremediation Journal,** Stuttgart, v. 8, n. 3-4, p. 177-184, 2004.

_____., _____., _____. Phytoremediation in the tropics influence of heavy crude oil on root morphological characteristics of graminoids. **Environmental Pollution**. v.138, p.86 e 91. 2005.

MESQUITA, Ana Carla. **Uso das técnicas de oxidação química e biodegradação na remoção de alguns compostos orgânicos recalcitrantes**. Orientador: Márcio de Souza Soares de Almeida. Rio de Janeiro. UFRJ/COPPE/PEC, 2004.158 P. Tese. (Doutorado em Engenharia civil).

MEUDEC A., *et al*, Gas chromatographic–mass spectrometric method for polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in plant biota, **Journal of Chromatography** A, 1108 240–247. 2006.

MILLER, R.R. **Phytoremediation.** 1996. Disponível na INTERNET via http://www.gwrtac.org. Arquivo consultado em 2006.

MORENO, F.N., CORSEUIL, H.X., Fitorremediação de Aqüíferos Contaminados por Gasolina. .**Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 5 n. 1. 2001.

MORLEY, C.P.; MAINWARING, K.A.; DOERR, S.H.; DOUGLAS, P.; LLEWELLYN, C.T.; DEKKER, L.W. Organic Compouds at different depths in a sand soil and their role in water repellency. **Australian Journal of Soil Research**, Vitoria, v.43, n.3, p. 239-249, 2005.

MUCKIAN, L.; *et al*. Bacterial community structure in soils contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons. **Chemosphere.** 68. p. 1535-1541. 2007.

MURATOVA A., HÜBNER, .NARULA N., Rhizosphere microflora of plants used for the phytoremediation of bitumen-contaminated soil. **Microbiol. *Res***. v.158, pp. 151-161. 2003.

NARAYANAN, M. *et al*. Experimental and modeling studies of the fate of trichlorethylene in a chamber with alfafa plants. 1996. Disponível na INTERNET via http://www.engg.ksu.edu/HSRC/home.html. Arquivo consultado em 2005.

NEELY, N.S., *et al.* Remedial actions at uncontrolled waste sites In: Land Disposal: Harzadous Waste, PROC 7TH ANNU RES SYNP, PHILADELPHIA
SHELTZ, D.W., ED.EPA REPORT No EPA-600/0-81-002b Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH. 1981 p 312-319.

NEWMAN, L.A., *et al*. Phytoremediation of organic contaminants: a review of phytoremediation research at the Univeristy of Washington. **Journal of Soil Contamination**. 7(4): 531-542.58.1998.

NULTSCH, W. **Botânica geral**. trad. Paulo Luiz de Oliveira. 10 ed. Porto Alegre, Artes Médicas Sul, 489pp. 2000.

OLIVEIRA, L. S. **Influência do solo contaminado com petróleo na morfologia e fisiologia de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae).** Curitiba, 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

ONWURAH, I. N. E. *et al.* Crude oil spills in the environment, effects and some innovative clean-up biotechnologies**. Int. J. Environ. Res**. 1(4): 307-320. 2007.

ORTEGA-CALVO, J.J., *et al*, Chemotaxis in Polçyciclic Aromatic Hydrocarbon Degrading Bacteria Isolated from Coal-Tar and Polluted Rhizospheres. **Microbiology Ecology** v. 44, pp. 373-381. 2003.

PARRISH Z.D *et al*. Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species. **Chemosphere** 64, p. 609-618. 2006.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. 1996. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, San Diego, C.A.

PEREIRA N.A.D.; *et al*., 2000. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): Uma revisão metodológica. **Química Nova**, 23: 765-773.

PEZESHKI, S. R., Hester, M. W., Lin, Q., Nyman, J. A. The effects of oil spill and clean-up on dominant us gulf coast marsh macrophytes: a review. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 108, n. 2, p. 129-139, 2000.

PICARELLI, S., 2003. **Avaliação da contaminação de solos por hidrocarbonetos e metais pesados em diques de contenção**. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Matérias – PPGEM. UFRGS. Porto Alegre, RS, 95p.

PIRES, F.R.; *et al*. (2005) Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para a fitorremediação do herbicida tebuthiuron. R. Bras. Ci. Solo, 29:627-634.

PIWONI, M.D.; KEELEY, J.W. **Basic concepts of contaminantes sorption at harzardeous waste sites, ground water Issue**, EPA Document EPA⁄50⁄4-90⁄053, r.s. Kerr Environmental Research Laboratory, Ada,OK. 1990.

PIYAPORN W.; *et al*. Evaluation of Pb Phytoremediation Potential in Buddleja asiatica and B. paniculata**. Water Air Soil Pollut** 193:79–90p. 2008.

POSTTHUMA, J. **The composition of petroleum**. Rapp. P. V. Reun. Cons. Perm. Int. Explor. Mer., v.171, n.1, p.7-16, 1977.

PRADHAN, S.P., *et al*. Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP sites. **Journal of Soil Contamination**. 7(4): 467-480. 1998.

PRADO, H. **Pedologia simplificada**. Arquivo Agronômico n 1. 1995. 16p.

RATOLA N., *et al*. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles by gas chromatography–mass spectrometry Comparison of different extraction and clean-up procedures, **Journal of Chromatography** A, 1114 198–204. 2006.

REDDI L.N., INYANG, H. 2000. **Geoenvironmental Engineering: Principles and Applications,** Mercel Dekker, Inc, NY.

REILLEY, K.A., BANKS, M.K.; SCHWAB, A.P. Organic chemicals in the environment: dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. **Journal of Environmental Quality***.* 25: 212-219. 59.1996.

RESENDE, M., CURI, N., REZENDE, S.B., CORRÊA, G.F. **Pedologia – base para distinção de ambientes**. Viçosa: NEPUT, 2002. 338p.

REYNOLDS, C.M.; WOLF, D.C. Microbial based strategies for assessing rhizosphere-enhanced phytoremediation. Proceedings of the Phytoremediation Technical Seminar. Calgary, *A*B. **Environment Canada**. Ottawa. 125-135. 1999

REZEK, J. *et al*. The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil. **Chemosphere** 70, p.1603-1608, 2008.

RIBEIRO, D.V. Programa de produção e tecnologia de sementes de espécies florestais nativas e estudo desenvolvido pela Estação Florestal de experimentação agrícola Eng. Agr. Mário Xavier. In: SIMPÓSIO DE

TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 1. 1984, Belo Horizonte. p. 109-118.

RISER-ROBERTS, E. **Remediation of petroleum contaminated soils: biological, physical and chemical process**. USA: Lewis Publishers. 542P. 1998.

RITTER, E. **Efeito da Salinidade na Difusão e Sorção de Alguns Íons Inorgânicos em Um Solo Argiloso Saturado**. Orientadores: Maurício Ehrlich, Maria Cláudia Barbosa. Rio de janeiro: PEC/COPPE/UFRJ, 1998. 200p Tese (Doutorado em Engenharia Civil).

RIVERA-CRUZ, M.C.; TRUJILLO-NARCIA, A. Estúdio de toxicidad vegetal em suelos com petróleos nuevos y intemperizados. INCI, Caracas, v.29, n.7, p.369-376, 2004.

RODRIGUES, T.T. *et al*. Caracterização nutricional de branquilho (*sebastiania Commersoniana* (baillon) smith & downs - euphorbiaceae), Cultivado em solo contaminado por petróleo. **FLORESTA**, Curitiba, PR, v. 36, n. 3, set./dez. 2006.

ROGERS, H.B., *et al*. Selection of cold-tolerant plants for growth in soils contaminated with organics. **Journal of Soil Contamination***.* 5 (2): 171-186. 1996

RUBIN, E.G.; RAMASWANI, A. Evidence for phytodegradation of MTBE from coupled bench-scale and intermediate-scale tests. **Jornal of Environmental Engineering**, p.389-396, v.133. 2007.

SALANITRO, J. et al. Crude oil hydrocarbon bioremediation and soil ecotoxicity assessment. **Environ Sci. technol**. Lowa City, v.31, n.6, p.1769-1776, 1997.

SANTOS, G.O. Crescimento. Nutrição e estrutura do lenho juvenil de três espécies florestais com potencial de fitorremediação em solos contaminados com petróleo. Orientadores: Carlos Bruno Reissmann, Renato Marques e Henrique S. Koehler, Curitiba. Universidade Federal do Paraná - UFPR, 2006 Tese (Doutorado em Engenharia Florestal).

SARCINELLI, T.S.; *et al.* Sintomas de deficiência nutricional em mudas de *Acácia holosericea* em resposta à omissão de macronutrientes. **Revista. Árvore** vol.28 no.2 Viçosa Mar./Apr. 2004.

SAWATSKY, N.; LI, X. Importance of soil-water relations in assessing the endpoint of bioremediate soils. I. Water-repellency in hydrocarbon contamined soils. **Plant and Soil,** v. 192, p. 227-236. 1997.

SCHACKELFORD, C.D., 1999. Remediation of contaminated land: An Overview. In: Proceedings of the 11th Panamerican Conference of Soil Mechanics and Geotchenics Engineering, pp. 1-60. Iguassu Falls, Brazil.

SCHNOOR, J.L., *et al*. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. **Environ. Sci. Technol.**. 29 (7): 318-323, 1995.

_____.; *et al*. Phytoremediation of Organic and Nutrient Contaminants. **Environ. Sci. Technol**. 29:318-323. 1997.

SCHWAB, A.P.; Banks, M. K. Phytoremediation of Petroleum Contaminated Soil. In: **Bioremediation of Contaminated Soils**. American Society of Agronomy Monography, 1999. v.37 pp. 783-795.

SEMPLE, K.T.; MORRISS, W.; PATON, G.I. **European Journal of Soil Science**. 2003. 54,809.

SEWELL, G.W., GIBSON, S.A. **Environ. Sci. Technol**. 25(5):982, 1991.

SHIMP J.F., *et al.* 1993. "**Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials**". Environ. Sci. Technol. 23: 41-77. *Apud* EPA. "**Introduction to Phytoremediation"**. EPA, Cincinnati, 2000.

SIGMA. Catálogo – Bioquímicos e reagentes para pesquisa nas ciências da vida. RJ. Brasil, 1997.

SIMÃO, J.B.P.; SIQUEIRA, J.O. Solos contaminados por metais pesados: características, implicações e remediação. **Informe Agropecuário,** v.22, n. 210, p. 18 – 26, 2001.

SILVA, M.Y.B. **Influência do solo contaminado com óleo diesel na germinação,crescimento e morfo-anatomia de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm. & Downs (Euphorbiaceae).** Curitiba, 2006. 81f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

SISINNO O.C.; *et al.* 2003. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em resíduos sólidos industriais: uma avaliação preliminar do risco potencial de contaminação ambiental e humana em áreas de disposição de resíduos**. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 19(2):671-676, mar-abr.

SMITH K.E.C., Grant L. Northcott , Kevin C. Jones, Influence of the extraction methodology on the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pasture vegetation **Journal of Chromatography** A, 1116 20–30. 2006.

SPOSITO G **The Chemistry of Soil**. New York: Oxford University Press.1989.

STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 20th.1999. APHA-AWWA-WEF. Washington.

STEGMANN, R.; *et al*. **Treatment of contaminated soil: fundamentals, analysis, applications**. New York Springer, Berlin Heidelberg, 2001. 148p.

SUSARLA, S., MEDINA, V.F., MCCUTCHEON, S.C. “Phytoremediation: An Ecological Solution to Organic Chemical Contamination”. **Ecological Engeneering** v.18, p. 647-658, 2002.

THIBES-RODRIGUES, T. *et al*. Caracterização nutricional de branquilho (*sebastiania commersoniana* (baillon) smith & downs - euphorbiaceae), cultivado em solo contaminado por petróleo. **FLORESTA**, Curitiba, PR, v. 36, n. 3, set./dez. 2006.

THOMAS, J.E., *et al*. **Fundamentos de engenharia de petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência/PETROBRAS, 2001. 271p.

TPHCWG – TOTAL PETROLEUM HYDROCARBON CRITERIA WORKING GROUP. **Selection of representative TPH fractions based on fate and transporte considerations**. Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, Volume 3. Amherst scientific Publishers. 1997.

TRINDADE P.V.O., *et al*, Bioremediation of a Weathered and Recently Oil Contaminated Soils from Brazil: a Comparison Study, ***Chemosphere*** v.58, p.515-522, 2004.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA/600/R-99/107). “**Introduction to Phytoremediation**”. EPA, Cincinnati – Ohio, 2000.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2007, SW 846-Método 6010C – **Determinaçào de Elementos Traços em Solução por Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma (ICP-AES).**

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2007, SW 846-Método 8270C – **Determinação de Compostos Orgânicos Semivoláteis por Cromatografia gasosa/espectrometria de Massa (CG/MS).**

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2007, SW 846-Método 6410B - **Cromatografia gasosa/espectrometria de Massa de extração líquido-líquido (CG/MS).**

VALERO M. & S. CO. Material safety data sheet - Light Cycle Oil. Disponível na INTERNET via www.valero.com. Arquivo consultado em 2006.

VANCE, D.B. Phytoremediation: enhancing natural attunation processes. **National Environmental Journal**. 6(Jan/Feb): 30-31. 1996.

VIANA F. *et al*. A utilização da fitorremediação em áreas contaminadas por petróleo e seus resíduos. 4o PDPETRO, Campinas, SP Out. 2007.

VOGEL, T.M., McCARTY P.L. **Environ. Sci**. **Technol**. 21(12):p. 1208, 1987.

VOLPON, A.G.T., VITAL, R.L., CASELLA, R.C., 1998. Método NMP em microescala para contagem de microrganismos consumidores de hidrocarbonetos. Comunicação Técnica SEBIO N.06/98.

VOSE, J. M. *et al*. Leaf water relations and sapflow in Eastern cottonwood (Populus detoides Bartr.) trees planted for phytoremediation of a groundwater pollutant. **Intern. J. Phytoremediaton**., v. 2, p. 53-73, 2000.

WALKER, D. A., *et al*. Effects of crude and diesel oil spills on plant communities at Prudhoe Bay, Alaska, and the derivation of oil spill sensitivity maps. **Arctic.** 31(3): 242-259. 61.1978.

WALTON, B.T., Guthrie, W.A., Hoylman, A.M. Toxicant degradation in the rhizosphere. In: Anderson, T.A.and Coats, J.R. BIOREMEDIATION THROUGH RHIZOSPHERE TECHNOLOGY. American Chemical Society: 1994. Washington, DC. 11-26.

WATWOOD, M. E.; WHITE, C. S.; DAHN, C. N., 1991. Methodological modifications for accurate and efficient determination of contaminant biodegradation in insaturated calcareous soils. **App. Envorn. Microb**., v. 57, p. 717-720.

WEAVER, J. "**Hydrologic considerations in phytoprocesses**". In U.S. EPA technical support project semi-annual meeting technical session's minutes. EPA, Washington, DC, April 2000.

WEISMAN, W. Petroleum hydrocarbon analysis of soil and water in the environment. TPH Working Group Series. Diponível na INTERNET via www.aehs.com/publicações/catalog/contents/tph.htm. Arquivo consultado em 2007.

WESTGATE S., BELL G., HALLING P.J. 1995. **Biotechnol Letters** 17:1013

WILSON, S.C.; JONES, K.C. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH)s: a review. **Environ Pollt.** 81, p.229-249. 1993.

XIANG, X.Z. *et al.* Microbial PAH-Degradation in Soil: Degradation Pathways and Contributing Factors**. Pedosphere**. v. 16(5): 555-565. 2006.

XIN L. et al. Evaluation of Plant–Microorganism Synergy for the Remediation of Diesel Fuel Contaminated Soil. **Bull Environ Contam Toxicol**. 81:19–24p. 2008.

YATEEN, A.; AL-SHARRAH, T.; BIN-HAJI, A. Investigation of microbes in the rhizosphere of selected grasses for rhizoremediation of hydrocarbon-contaminated soils. **Soil&Sediments Contamination**, 16:269-280. 2007.

ZAYED, A., *et al.* (2000). Remediation of selenium-polluted soils and waters by phytovolatilization. In: Terry, N.and Bañuelos, G. (eds), Phytoremediation of contaminated soil and water, Lewis Publishers, Boca Raton, EUA, pp 61-83.

ZEITOUNI, C.F. **Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel, e zinco de um latossolo vermelho amarelo distrófico**. Orientador: Dr. Ronaldo Severiano Berton. Campinas- SP. USP. 2003. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical).

A N E X O S

1 – Certificado de Acreditação do Laboratório BIOAGRIAMBIENTAL LTDA.

2 – Certificado de Credenciamento do Laboratório BIOAGIAMBIENTAL pela FEEMA.

3 – Relatório sobre a aplicação de metodologia analítica para a determinação dos 16 HPAs prioritários em 2 plantas utilizando GC/MS

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - Inmetro

Coordenação Geral de Acreditação

Signatário dos Acordos de Reconhecimento Mútuo da International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC), da Interamerican Accreditation Cooperation (IAAC) e do Acordo Bilateral de Reconhecimento Mútuo com a European Co-operation for Accreditation (EA)

Certificado de Acreditação

Acreditação nº CRL 0172

Acreditação inicial: 20-4-2004

BIOAGRI AMBIENTAL LTDA
RUA AUJOVIL MARTINI, 201 – DOIS CÓRREGOS
PIRACICABA – SP

A Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro – Cgcre/Inmetro – concede acreditação ao Laboratório acima identificado, segundo os requisitos estabelecidos na ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005. Esta acreditação constitui a expressão formal do reconhecimento da sua competência para realizar os ensaios constantes no Escopo de Acreditação.

Marcos Aurélio Lima de Oliveira
Coordenador Geral de Acreditação

Emissão: 28-3-2008

Validade: 20-4-2010

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 1/22

RAZAO SOCIAL/DESIGNAÇAO DO LABORATORIO

BIOAGRI AMBIENTAL LTDA

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA	**ENSAIOS QUÍMICOS** Determinação de metais totais por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) Alumínio, Arsênio, Bário, Berílio, Bismuto, Boro, Cobalto, Cromo, Estanho, Estrôncio, Ferro, Lítio, Manganês, Molibdênio, Tálio, Titânio, Níquel, Vanádio, Zinco Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/L Antimônio, Cobre Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5 µg/L Potássio, Sódio Limite de Quantificação (LQ) ≥ 500 µg/L Cádmio Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 µg/L Cálcio Limite de Quantificação (LQ) ≥ 500 µg/L Chumbo Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/L Prata Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/L Selênio Limite de Quantificação (LQ) ≥ 8 µg/L	POP PA 035 Rev.00

"Este Escopo cancela e substitui a revisão emitida anteriormente"

Aprovado pelo Coordenador Geral da CGCRE / INMETRO

Em, 13-5-2008

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 2/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Urânio	POP PA 035 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 50 µg/L	
	Magnésio	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 500 µg/L	
	Mercúrio Total e de Mercúrio solúvel (dissolvido) por espectrometria de fluorescência atômica	POP PA 037 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,2 µg/L	
	Determinação por cromatografia de íons	POP PA 032 Rev.00
	Bromato - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5 µg/L	
	Cloretos - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,5 mg/L	
	Clorito - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 100 µg/L	
	Fluoretos - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L	
	Fosfato Total - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 20 µg/L	
	Nitrogênio Nitrato – Lim. de Quant. (LQ) ≥ 0,1 mg/L	
	Nitrogênio Nitrito - – Lim. de Quant. (LQ) ≥ 0,02 mg/L	
	Sulfatos - - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,5 mg/L	
	Determinação por titulometria	POP PA 026 Rev.00
	Alcalinidade Total	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5 mg/L	
	Dureza Total	POP PA 027 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5 mg/L	
	Sulfitos - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 mg/L	POP PA 021 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 3/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Determinação por diluição/incubação DBO (5,20) por incubação Limite de Quantificação (LQ) ≥ 2 mg/L	POP PA 001 Rev.00
	Determinação por nefelometria Turbidez Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 NTU	POP PA 013 Rev.00
	Determinação por decantação Resíduos Sedimentáveis pelo Cone Imhoff Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,5 mL/L	POP PA 004 Rev.00
	Determinação por espectrometria molecular Agentes tensoativos (Surfactantes) Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L	POP PA 023 Rev.00
	Cloro Total - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L	POP PA 010 Rev.00
	Índice de Fenóis Leitura Direta Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,02 mg/L	POP PA 025 Rev.01
	Índice de Fenóis por Extração de Clorofórmio Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,005 mg/L	POP PA 024 Rev.00
	Monocloroamina Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L	POP PA 010 Rev.00
	Cloro Residual Livre Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L	POP PA 010 Rev.00
	Cor Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 Pt/Co	POP PA 012 Rev.01

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 4/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Cromo Hexavalente Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 mg/L	POP PA 016 Rev.00
	DQO Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5 mg/L	POP PA 002 Rev.00
	Fósforo Total (método azul) Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/L	POP PA 030 Rev.00.
	Fósforo Total (método amarelo) Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 mg/L	POP PA 029 Rev.00
	Sulfetos Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 mg/L	POP PA 020 Rev.00
	Determinação por gravimetria Óleos e Graxas Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 mg/L	POP PA 017 Rev.00
	Sólidos Dissolvidos Totais Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5 mg/L	POP PA 009 Rev.01
	Determinação por potenciometria Cianetos por eletrodo de íon seletivo Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,005 mg/L	POP PA 008 Rev.00
	Nitrogênio Amoniacal por eletrodo de íon seletivo Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L	POP PA 005 Rev.00
	Oxigênio dissolvido pelo método eletrométrico Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L	POP PA 018 Rev.00
	pH pelo método eletrométrico Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1	POP PA 011 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 5/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	**ENSAIOS QUÍMICOS** Condutividade pelo método eletrométrico Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 µS/cm	POP PA 014 Rev.00
	Determinação de compostos orgânicos voláteis por cromatografia gasosa – espectrometria de massa/Head Space 1,1-Dicloroeteno, 1,2-Dicloroetano, Clorobenzeno, Diclorometano, Estireno, Tetracloreto de Carbono, Tetracloroeteno, Triclorobenzenos, Tricloroeteno, Cloreto de Vinila, Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 µg/L	POP PA 074 Rev.01 POP PA 075 Rev.01
	Benzeno, Tolueno, Xilenos Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 µg/L	POP PA 074 Rev.01 POP PA 075 Rev.01
	Trihalometanos – Limite de Quantificação (LQ) ≥ 4 µg/L	
	Determinação de compostos orgânicos voláteis por cromatografia gasosa – espectrometria de massa/Purge and Trap 1,2-Dicloropropano, cis,1,3-Dicloropropeno, 1,2-Dibromo-3-Cloropropano, trans-1,3-Dicloropropeno Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 µg/L	POP PA 073 Rev.01
	Determinação de compostos orgânicos voláteis por cromatografia gasosa – espectrometria de massa/Headspace 4-Metil-2-Pentanona, 1,2,3-Tricloropropano Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5,0 µg/L	POP PA 074 Rev.01 POP PA 075 Rev.01
	m,p-Xilenos - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 2,0 µg/L	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 6/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	1,2-Dibromoetano	POP PA 074 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 µg/L	POP PA 075 Rev.01
	Metil Etil Cetona, Piridina	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5000 µg/L	
	Bromometano, Cloroetano, Clorometano, Diclorodifluormetano, Triclorofluormetano, Dibromometano, 1,2-Diclorobenzeno, 1,3-Diclorobenzeno, 1,4-Diclorobenzeno, 1,1-Dicloroetano, cis-1,2-Dicloroeteno, trans-1,2-Dicloroeteno, 1,3-Dicloropropano, 1,1-Dicloropropeno, Naftaleno, MTBE, n-Propilbenzeno, 1,2,3-Triclorobenzeno, 1,2,4-Triclorobenzeno, 1,1,1-Tricloroetano, Bromobenzeno, Bromoclorometano, Bromodiclorometano, Bromofórmio, n-Butilbenzeno, sec-Butilbenzeno, terc-Butilbenzeno, Clorobenzeno, Clorofórmio, 2-Clorotolueno, 4-Clorotolueno, Dibromoclorometano, Dibromometano, Dissulfeto de Carbono, Etilbenzeno, Hexaclorobutadieno, Isopropilbenzeno, p-Isopropiltolueno, 1,1,1,2-Tetracloroetano, 1,1,2,2-Tetracloroetano, 1,1,2-Tricloroetano, Tricloroeteno, 1,2,4-Trimetilbenzeno, 1,3,5-Trimetilbenzeno, 2,2-Dicloropropeno	POP PA 074 Rev.01 POP PA 075 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1µg/L	
	Determinação de compostos orgânicos semi-voláteis por cromatografia gasosa – espectrometria de massa	POP PA 076 Rev.01
	Alaclor, Aldrin, Atrazina, Benzo-a-pireno, Clordano, DDT, Dieldrin, Endossulfan, Endrin, Heptacloro, Heptacloro Epóxido, Hexaclorobenzeno, Lindano (Gama BHC), Metolacloro, Metoxicloro, Simazina,	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,03 µg/L	
	Bentazona, Molinato, Pendimentalina, Pentaclorofenol, Permetrina, Propanil, Trifluralina, 2,4,5 T, 2,4,6 Triclorofenol, 2,4 D	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 µg/L	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 7/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Extração de Compostos Orgânicos Semivoláteis em matriz liquida utilizando extração em fase sólida (SPE)	POP PA 082 Rev.01
	Extração Compostos Orgânicos Semivoláteis em matriz Líquida - Líquido-LíquidoPCB's (Bifenilas Policloradas) - PCB 8, PCB 28, PCB 37, PCB 44, PCB 49, PCB 52, PCB 60, PCB 66, PCB 70, PCB 74, PCB 77, PCB 82, PCB 87, PCB 99, PCB 101, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 126, PCB 128, PCB 138, PCB 153, PCB 156, PCB 158, PCB 166, PCB 169, PCB 170, PCB 179, PCB 180, PCB 183 Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,010 µg/L	POP PA 096 Rev.00 POP PA 076 Rev.01
	Endotal - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,10 µg/L	POP PA 076 Rev.01
	Alaclor, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE, Endossulfan I, Endossulfan II, o,p'-DDT, o,p'-DDD, o,p'-DDE, 2,4,5-TP (Fenoprop), □--HCH, □--HCH, □--HCH, Di-(2-etil-hexil)-ftalato, Cianazina, Di-(2-etil-hexil)-adipato, Hexaclorobutadieno, Dodecacloropentaciclodecano (Mirex), Trans-Nonacloro, 2,4-DB, DDT e metabólitos, Dicloroprop, Dimetoato, MCPA, Mecoprop, Piriproxifeno, Dalapon, Dinoseb, Picloram Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,050 µg/L	
	Determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por cromatografia gasosa – espectrometria de massa Benzo(a)pireno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Criseno, Acenaftileno, Fluoreno, Antraceno, Benzo(g,h,i)pirileno, Fenantreno, Dibenzo(a,h)antraceno, Indeno(1,2,3-cd)pireno, Pireno, Acenafteno, Fluoranteno, Naftaleno, Benzo(a)antraceno Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 µg/L	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 8/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	o-Cresol, m-Cresol, p-Cresol, 2,4-Dinitrotolueno, Hexaclorobutadieno, Hexacloroetano, Nitrobenzeno, 2,4,5-Triclorofenol, 3,4-Diclorofenol, 1,2,3,4-Tetraclorobenzeno, 1,2,3,5-Tetraclorobenzeno, 2,3,4,5-Tetraclorofenol, 2,3,4,6-Tetraclorofenol, Alcool benzilico, 2-Naftilamina, Pentaclorobenzeno, Bromofenoxibenzeno, Propizamida, Carbazole, Dibutilftalato, Butilbenzilftalato, Bis(2-etilexil)ftalato, Di-n-octilftalato, 3-Metilcolantreno, Dibenzo(a,h)acridina, 1,2-Diclorobenzeno, 1,3-Diclorobenzeno, 1,4-Diclorobenzeno, 1-Nitrosopiperidina, Bis(2-cloroetoxi)metano, 2,4-Diclorofenol, 1,2,4-Triclorobenzeno, 4-Cloro-3-metilfenol, 2-Metilnaftaleno, 1,2,4,5-Tetraclorobenzeno, 1-Cloronaftaleno, o-Nitroanilina, Dimetilftalato, 2,4-Dimetilfenol, Dibenzofuran, 2,3,4,6-Tetraclorofenol, Dietilftalato, 1-Cloro-4-fenoxibenzeno, 2-Metil-4,6-dinitrofenol, 2,6-Diclorofenol, Hexaclorociclopentadieno, m-nitroanilina, p-Nitroanilina, Difenilamina, Fenacetin, Pentacloronitrobenzeno, Acetofenona, Anilina, 2-Clorofenol, 4-Nitrofenol, 2-Nitrofenol Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1,0 µg/L	POP PA 076 Rev.01
	Determinação de hidrocarbonetos totais de petróleo por cromatografia gasosa – detector de ionização por chama TPH-Finger Print Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 mg/L (Cada Faixa)	
	Determinação de metais totais e solúveis (dissolvidos) por espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) Alumínio, Arsênio, Antimônio, Bário, Berílio, Bismuto, Boro, Cádmio, Cálcio, Chumbo, Cobalto, Cobre, Cromo, Estanho, Estrôncio, Ferro, Lítio, Magnésio, Prata, Selênio, Manganês, Molibdênio, Níquel, Potássio, Sílica, Sódio, Tálio, Titânio, Vanádio, Zinco Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 µg/L	POP PA 038 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 9/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Mercúrio Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 µg/L	POP PA 038 Rev.00
	Tratamento de Amostras para determinação de Metais por Espectrometria de Absorção Atômica ou Espectrometria de Emissão de Plasma	POP PA 036 Rev.00
	Determinação de Mercúrio Total e Dissolvido (Solúvel) por espectrometria de fluorescência atômica Tratamento das amostras para Determinação de Mercúrio	POP PA 066 Rev.00
	Mercúrio Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 µg/L	POP PA 037 Rev.00
	Determinação por cromatografia de íons Clorato - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,01 mg/L Brometo – Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,001 mg/L	POP PA 032 Rev.00
	Ácido Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA) Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L Ácido Nitrilotriacético (NTA) – (LQ) ≥ 0,1 mg/L	POP PA 048 Rev.00
	Glifosato Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 mg/L	POP PA 033 Rev.00
	Sulfetos por titulação iodométrica Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 mg/L	POP PA 019 Rev.00
	Determinação de compostos por cromatografia líquida – com detector ultra violeta Extração Isoproturon, Clorotoluron, Terbutilazina	POP PA 90 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 10/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Isoproturon, Clorotoluron, Terbutilazina Limite de Quantificação (LQ) ≥ 25 µg/L	POP PA 95 Rev.00
	Extração Acrilamida	POP PA 88 Rev.00
	Acrilamida - Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/L	POP PA 94 Rev.00
	Determinação de compostos por cromatografia gasosa – com detector de captura eletrônica (CG/ECD) Extração de Ácidos Haloacéticos e Dalapon	POP PA 85 Rev.01
	Ácido Monocloroacético (MCAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 3,7 µg/L	POP PA 86 Rev.01
	Ácido Monobromoacético (MBAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 2,5 µg/L	
	Dalapon -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 2,5 µg/L	
	Ácido Dicloroacético (DCAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 3,8 µg/L	
	Ácido Tricloroacético (TCAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1,2 µg/L	
	Ácido Bromocloroacético (BCAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 2,5 µg/L	POP PA 86 Rev.01
	Ácido Bromodicloroacético (BDCAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 2,5 µg/L	POP PA 86 Rev.01
	Ácido Dibromoacético (DBAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1,2 µg/L	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013		Folha: 11/22
ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0172	PERMANENTE	

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Ácido Clorodibromoacético (CDBAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 6,3 µg/L	POP PA 86 Rev.01
	Ácido Tribromoacético (TBAA) -Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1,2 µg/L	
	Extração de Subprodutos Clorados de Desinfecção	POP PA 84 Rev.01
	Hidrato de Cloral, Dicloroacetonitrila, Dibromoacetonitrila Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,2 µg/L	POP PA 87 Rev.01
ÁGUA SALINA E ÁGUA SALOBRA	Determinação de metais totais por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) Alumínio, Arsênio, Antimônio, Bário, Berílio, Bismuto, Boro, Cádmio, Cálcio, Chumbo, Cobalto, Cobre, Cromo, Estanho, Estrôncio, Ferro, Lítio, Magnésio, Prata, Selênio, Manganês, Molibdênio, Níquel, Potássio, Sódio, Tálio, Titânio, Urânio, Vanádio, Zinco Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/L	POP PA 035 Rev.00
	Mercúrio por espectrometria de fluorescência atômica Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,5 µg/L	POP PA 037 Rev.00
	Tratamento de Amostras provenientes de matrizes de águas salina ou salobras para determinação de Metais por ICP AES	POP PA 036 Rev.00
SOLOS, SEDIMENTOS E RESÍDUOS	Determinação de compostos orgânicos voláteis por cromatografia gasosa – espectrometria de massa/Head Space 1,1 – Dicloroeteno, 1,2 – Dicloroetano, Diclorometano, Tetracloreto de Carbono, Tetracloroeteno Triclorobenzeno, Tricloroeteno Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/L	POP PA 073 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 12/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
SOLOS, SEDIMENTOS E RESÍDUOS (Continuação)	Benzeno, Tolueno, Xilenos, Etilbenzeno	POP PA 073 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,005 mg/kg	
	Determinação de hidrocarbonetos totais de petróleo por cromatografia gasosa – detector de ionização por chama	POP PA 072 Rev.00
	TPH-Finger Print	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 mg/kg (Cada faixa)	
	Extração de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH) solo e resíduo	POP PA 081 Rev.01
	Determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por cromatografia gasosa – espectrometria de massa	POP PA 076 Rev.01
	Benzo(a)pireno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Criseno, Acenaftileno, Fluoreno, Antraceno, Benzo(g,h,i)pirileno, Fenantreno, Dibenzo(a,h)antraceno, Indeno(1,2,3-cd)pireno, Acenafteno, Fluoranteno	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,01 mg/kg	
	Extração de Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (PAH) solo e resíduo	POP PA 077 Rev.00
	Tratamento das amostras para Determinação de Mercúrio	POP PA 066 Rev.00
	Lixiviação de Resíduos - Resíduos	NBR 10005:2004 POP PA 062 Rev.00
	Digestão de solos, lodos, etc. para análise de metais por ICP ou AAS	POP PA 063 Rev.00
	Solubilização de Resíduos Sólidos	NBR 10006:2004 POP PA 053 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 13/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
SOLOS, SEDIMENTOS E RESÍDUOS (Continuação)	Determinação de metais totais por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES)	POP PA 035 Rev.00
	Alumínio, Arsênio, Antimônio, Bário, Berílio, Bismuto, Boro, Cádmio, Chumbo, Cobalto, Cobre, Cromo, Estanho, Estrôncio, Ferro, Lítio, Prata, Selênio, Manganês, Molibdênio, Níquel, Tálio, Titânio, Urânio, Vanádio, Zinco	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,5 mg/kg	
	Cálcio, Magnésio, Potássio, Silício, Sódio	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 25 mg/kg	
	Tratamento das amostras para Determinação de Mercúrio	PA 066 Rev.00
	Mercúrio Total por espectrometria de fluorescência atômica	POP PA 037 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,025 mg/kg	
	Ponto de Fulgor	POP PA 052 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 60°C	
	pH (Suspensão 1:1)	POP PA 056 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1	
	Porcentagem de Sólidos	POP PA 058 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 %	
	Cianeto	POP PA 060 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/kg	
	Alaclor, Atrazina, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE, Endossulfan I, Endossulfan II, Endossulfan Sulfato, Hexaclorobenzeno, Metalacloro, Simazina, α-HCH, β-HCH, δ-HCH	POP PA 076 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,0025 mg/Kg	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 14/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE SOLOS, SEDIMENTOS E RESÍDUOS (Continuação)	**ENSAIOS QUÍMICOS** Determinação de compostos orgânicos semi-voláteis por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas PCB's (Bifenilas Policloradas) - PCB 8, PCB 28, PCB 37, PCB 44, PCB 49, PCB 52, PCB 60, PCB 66, PCB 70, PCB 74, PCB 77, PCB 82, PCB 87, PCB 99, PCB 101, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 126, PCB 128, PCB 138, PCB 153, PCB 156, PCB 158, PCB 166, PCB 169, PCB 170, PCB 179, PCB 180, PCB 183 Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,0025 mg/Kg	POP PA 076 Rev.01
	3,4-Diclorofenol, 1,2,3,4-Tetraclorobenzeno, 1,2,3,5-Tetraclorobenzeno, 2,3,4,5-Tetraclorofenol, 2,3,4,6-Tetraclorofenol, Alcool benzílico, 2-Naftilamina, Pentaclorobenzeno, Bromofenoxibenzeno, Propizamida, Carbazole, Dibutilftalato, Butilbenzilftalato, Bis(2-etilexil)ftalato, Di-n-octilftalato, 3-Metilcolantreno, Dibenzo(a,h)acridina, Fenol, 1,2-Diclorobenzeno, 1,3-Diclorobenzeno, 1,4-Diclorobenzeno, 1-Nitrosopiperidina, Bis(2-cloroetoxi)metano, 2,4-Diclorofenol, 1,2,4-Triclorobenzeno, 4-Cloro-3-metilfenol, 2-Metilnaftaleno, 1,2,4,5-Tetraclorobenzeno, 1-Cloronaftaleno, o-Nitroanilina, Dimetilftalato, Dibenzofuran, 2,3,4,6-Tetraclorofenol, Dietilftalato, Fluoreno, 1-Cloro-4-fenoxibenzeno, 2-Metil-4,6-dinitrofenol, 2,6-Diclorofenol, Hexaclorociclopentadieno, m-nitroanilina, p-Nitroanilina, Difenilamina, Fenacetin, Pentacloronitrobenzeno, Acetofenona, Anilina, 2,4-Dimetilfenol, 2-Clorofenol, 4-Nitrofenol, 2-Nitrofenol Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 mg/Kg	POP PA 076 Rev.01
	Aldrin, Dieldrin, Bentazona, a-Clordano, g-Clordano, 2,4-D, o,p'-DDT, o,p'-DDD, Endrin, Heptacloro, Heptacloro Epóxido, o,p'-DDE, Lindano (g-HCH), Metoxicloro, Molinato, Pendimetalina, Pentaclorofenol, Permetrina, Propanil, Trifluralina, 2,4,5-T, Dodecacloropentaciclodecano, 2,4,5-TP, Trans-Nonacloro, Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,0025 mg/Kg	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 15/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
SOLOS, SEDIMENTOS E RESÍDUOS (Continuação)	2,4,6-Triclorofenol, o-Cresol, m-Cresol, p-Cresol, 2,4-Dinitrotolueno, Hexaclorobutadieno, Hexacloroetano, Nitrobenzeno, 2,4,5-Triclorofenol Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,025 mg/Kg	PA 076 Rev.01
	Determinação de compostos orgânicos voláteis por cromatografia gasosa – espectrometria de massa/Head Space Metil Etil Cetona, Piridina Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5000 µg/kg	POP PA 074 Rev.01 POP PA 075 Rev.01
	Bromometano, Cloroetano, Clorometano, Diclorodifluormetano, Triclorofluormetano, Dibromometano, 1,2-Diclorobenzeno, 1,3-Diclorobenzeno, 1,4-Diclorobenzeno, 1,1-Dicloroetano, cis-1,2-Dicloroeteno, trans-1,2-Dicloroeteno, 1,2-Dicloropropano, 1,3-Dicloropropano, 1,1-Dicloropropeno, cis,1,3-Dicloropropeno, Naftaleno, MTBE, n-Propilbenzeno, 1,2,3-Triclorobenzeno, 1,2,4-Triclorobenzeno, 1,1,1-Tricloroetano, Bromobenzeno, Bromoclorometano, Bromodiclorometano, Bromofórmio, n-Butilbenzeno, sec-Butilbenzeno, terc-Butilbenzeno, Clorobenzeno, Clorofórmio, 2-Clorotolueno, 4-Clorotolueno, Dibromoclorometano, 1,2-Dibromo-3-Cloropropano, 1,2-Dibromoetano, Dibromometano, trans-1,3-Dicloropropeno, Dissulfeto de Carbono, Hexaclorobutadieno, Isopropilbenzeno, p-Isopropiltolueno, Estireno, 1,1,1,2-Tetracloroetano, 1,1,2,2-Tetracloroetano, 1,1,2-Tricloroetano, 1,2,3-Tricloropropano, 1,2,4-Trimetilbenzeno, 1,3,5-Trimetilbenzeno, 2,2-Dicloropropeno Limite de Quantificação (LQ) ≥ 5 µg/kg	
	4-Metil-2-Pentanona Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg/kg	POP PA 074 Rev.01 POP PA 075 Rev.01
	Cloreto de Vinila Limite de Quantificação (LQ) ≥ 2 µg/kg	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 16/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
SOLOS, SEDIMENTOS E RESÍDUOS (Continuação)	Extração de compostos orgânicos semi-voláteis em matriz solo	POP PA 077 Rev.00
FERTILIZANTES	Determinação por espectrometria de emissão de plasma (Óptico) – ICP-AES Tratamento das amostras para Determinação de Metais em Fertilizantes	POP PA 067 Rev.00
	Arsênio, Cádmio, Cromo, Cobalto, Chumbo Molibdênio, Níquel, Selênio e Zinco Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,5 mg/kg	POP PA 035 Rev.00
	Tratamento das amostras para Determinação de Mercúrio	POP PA 066 Rev.00
	Mercúrio Total por espectrometria de fluorescência atômica Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,025 mg/kg	POP PA 037 Rev.00
SOLOS E RESÍDUOS SÓLIDOS	Determinação de 1,1 – Dicloroeteno por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas Faixa: 10 – 200 µg/L	POP PA 073 Rev.00
	Determinação de 1,2 – Dicloroetano por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas Faixa: 10 – 200 µg/L	
	Determinação de Diclorometano por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas Faixa: 10 – 200 µg/L	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 17/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE SOLOS E RESÍDUOS SÓLIDOS (Continuação)	**ENSAIOS QUÍMICOS** Determinação de Tetracloreto de Carbono por por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas Faixa: 10 – 200 µg/L	POP PA 073 Rev.00
	Determinação de Tetracloroeteno por por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas Faixa: 10 – 200 µg/L	
	Determinação de Triclorobenzeno por por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas Faixa: 10 – 200 µg/L	
	Determinação de Tricloroeteno por por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas Faixa: 10 – 200 µg/L	
	Determinação de compostos orgânicos voláteis por cromatografia gasosa – espectrometria de massa/Head Space Benzeno – Faixa: 0,005 – 0,20 mg/kg Tolueno – Faixa: 0,005 – 0,20 mg/kg Xilenos – Faixa: 0,005 – 0,20 mg/kg por isômero Etilbenzeno – Faixa: 0,005 – 0,20 mg/kg	
	Determinação de hidrocarbonetos totais de petróleo por cromatografia gasosa – detector de ionização por chama TPH-Finger Print – Faixa: 10 – 400 mg/kg (Cada faixa)	POP PA 072 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 18/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
SOLOS E RESÍDUOS SÓLIDOS (Continuação)	Determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por cromatografia gasosa – espectrometria de massa	EPA-SW 846 (Método 8270 C), 3ª Revisão, 1996
	Benzo(a)pireno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Benzo(b)fluoranteno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Benzo(k)fluoranteno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Criseno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Acenaftileno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Fluoreno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Benzo(a)pireno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Benzo(b)fluoranteno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Antraceno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por cromatografia gasosa – espectrometria de massa	EPA-SW 846 (Método 8270 C), 3ª Revisão, 1996
	Benzo(g,h,i)pirileno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Fenantreno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Dibenzo(a,h)antraceno – Faixa:0,01– 0,50mg/kg	
	Indeno(1,2,3-cd)pireno – Faixa:0,01– 0,50 mg/kg	
	Pireno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Acenafteno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
	Fluoranteno – Faixa: 0,01 – 0,50 mg/kg	
EFLUENTES GASOSOS	Determinação de fluoretos pelo método do eletrodo de íon específico em dutos e chaminés de fontes estacionárias	POP PA 032 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg F/ L	
	Determinação de amônia e seus compostos em dutos e chaminés de fontes estacionárias	POP PA 005 Rev.00
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 mg/L amônia	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 19/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
EFLUENTES GASOSOS (Continuação)	Determinação de VOC (Compostos Orgânicos Voláteis)	POP PA 074 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg	
	Determinação de SVOC´s (Compostos Orgânicos Semi-Voláteis)	POP PA 076 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 µg	
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS BIOLÓGICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA (Continuação)	Determinação por filtração/incubação/contagem	POP PA 041 Rev.01
	Contagem padrão de bactérias por membrana filtrantre	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 UFC/mL	
	Determinação por incubação	POP PA 040 Rev.00
	Presença/Ausência/Contagem de Coliformes Totais e E.Coli por substrato enzimático	
	DBO (5,20) por incubação	POP PA 001 Rev.00
	Faixa: > 2 mg/L	
	Determinação por espectrometria molecular	POP PA 045 Rev.00
	Determinação de pigmento fotossintetizante Clorofila-a e Feoftina-a	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 1 µg/L	
	Microcistinas	POP PA 043 Rev.01
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 µg/L	
	Determinação por contagem microscópio invertido	POP PA 046 Rev.00
	Contagem de Cianobactérias	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 3 cel/mL	
x-x-x-x-x	x-x-x-x-x	x-x-x-x-x

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013		Folha: 20/22
ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0172	FORA DAS INSTALAÇÕES PERMANENTE	

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
EFLUENTES GASOSOS	Amostragem de material particulado em efluentes gasosos em dutos e chaminés de fontes estacionárias	NBR 12019/1990 (MB 3355) EPA - Method 5/2000
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,6 mg/normal metro cúbico (volume mínimo coletado 0,850 Nm^3)	
	Determinação de pontos de amostragem em dutos e chaminés de fontes estacionárias	NBR 10701/1989 (NB 1202) EPA-Method 1/2000
	Determinação do teor de umidade dos efluentes gasosos de dutos e chaminés de fontes estacionárias	NBR 11967/1989 (MB 3081) EPA-Method 4/2000
	Determinação da massa molecular base seca dos efluentes gasosos de dutos e chaminés de fontes estacionárias	NBR 10702/1989 (MB 2994) EPA-Method 3/2000
	Amostragem para determinação de dióxido de enxofre, trióxido de enxofre e névoas de ácido sulfúrico em efluentes gasosos de dutos e chaminés de fontes estacionárias	NBR-12.021 (MB 3357) EPA Method 8
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ mínimo 3 miligramas dióxido de enxofre/normal metro cúbico e mínimo 3 miligramas de trióxido de enxofre/normal metro cúbico (coletado 0,850 Nm^3)	
	Determinação da velocidade e da vazão dos efluentes gasosos de dutos e chaminés de fontes estacionárias	NBR 11966/1989 (MB 3080) EPA Method 2/2000
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 3 m/s	
	Amostragem para determinação de fluoretos em efluentes gasosos de dutos e chaminés fontes estacionárias	EPA Method 13B CETESB L-9.213
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,05 miligramas/normal metro cúbico	

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 21/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	FORA DAS INSTALAÇÕES PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
EFLUENTES GASOSOS	Amostragem para determinação de óxidos de nitrogênio em efluentes gasosos de dutos e chaminés de fontes estacionárias	EPA Method 7 CETESB L-9.229
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 27 miligramas de óxidos de nitrogênio/normal metro cúbico	
	Amostragem para determinação de amônia nos efluentes gasosos de dutos e chaminés de fontes estacionárias	CETESB L-9.230/1993
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ mínimo 0,06 miligramas amônia/normal metro cúbico (coletado 1,6 normal metro cúbico)	
	Amostragem para determinação de VOC (Compostos Orgânicos Voláteis) - utilizando VOST	EPA 0030 - VOST
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,6 mg/Nm^3	
	Amostragem para determinação de SVOC´s (Compostos Orgânicos Semi-Voláteis)	EPA SW 846 – 0010
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 4 µg/Nm^3 (coletado 2,7 normal metro cúbico)	
	Amostragem de Compostos Orgânicos Gasosos (Monóxido de Carbono (CO), Hidrocarbonetos expressos como Metano e Hidrocarbonetos expressos como Não-Metanos) - (Sistema do Saco Tedlar Evacuado).	EPA Method 18
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 10 ppmv (Monóxido de Carbono - CO)	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,5 ppmv (Hidrocarbonetos expressos como Metano)	
	Limite de Quantificação (LQ) ≥ 0,1 ppmv (Hidrocarbonetos expressos como Propano)	
SOLOS E RESÍDUOS	Coleta de Solos e Resíduos	POP LB 011 Rev.00

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025
ENSAIO

Norma de Origem: NIT-DICLA-013	Folha: 22/22

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO
CRL 0172	FORA DAS INSTALAÇÕES PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E / OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	**ENSAIOS QUÍMICOS**	
ÁGUA BRUTA SEM TRATAMENTO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA RESIDUÁRIA	Coleta de Águas	POP LB 010 Rev.00
x-x-x-x-x	x-x-x-x-x	x-x-x-x-x

FOR-CGCRE-003 – Rev. 07 – Apr. DEZ/06 – Pg. 02/02

GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
COMISSÃO ESTADUAL DE CONTROLE AMBIENTAL

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE ENGENHARIA DO MEIO AMBIENTE
CASA DA MOEDA DO BRASIL

CERTIFICADO DE CREDENCIAMENTO DE LABORATÓRIO

CCL Nº FE012492

A Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente - FEEMA, no uso das atribuições que lhe são conferidas pelo Decreto-Lei nº 134, de 16 de junho de 1975, e pelo Decreto nº 1633, de 21 de dezembro de 1977, e com base nas Deliberações nº 707, de 12 de setembro de 1985; 2.333, de 28 de maio de 1991 e 3726 de 23 de julho de 1998 todas da Comissão Estadual de Controle Ambiental - CECA, expede o presente Certificado que credencia

BIOAGRI AMBIENTAL LTDA

CNPJ/CPF:04.830.624/0001-97 **Código FEEMA:** UN006289/55.11.10

Endereço: TRAVESSA CAMINHO DA SERVIDÃO, 201 - DOIS CÓRREGOS - PIRACICABA - SP

Técnico Responsável: JOSÉ CARLOS MORETTI
Registro no Conselho Regional: 04107238 - CRQ 4ª REGIÃO - BACHAREL EM QUÍMICA

a realizar as análises dos seguintes parâmetros:

Alcalinidade, Alumínio, Antimonio, Arsênio, Bacterias Heterotróficas, Bário, Benzeno,Tolueno,Xileno, Biodegradabilidade, Boro, Cádmio, Calcio, Chumbo, Cianetos, Cloreto, Cloro Residual, Cobalto, Cobre, Coliformes Totais, Condutividade, Cromo Hexa, Cromo Total, Cromo Tri, DBO, Dióxido de enxôfre, Dissulfeto de carbono, DQO, Dureza Total, Escherichia coli, Estanho, Fenois, Ferro, Fluoretos, Fosforo Total, Herbicidas fenofiácidos, Hidrocarbonetos alifáticos, Hidrocarbonetos aromaticos polinucleares, Hidrocarbonetos halogenados voláteis, Hidrocarbonetos totais do petróleo, Lixiviação, Manganês, Mercúrio, Microcistinas, Níquel, Nitrato, Nitrito, Nitrogenio Amoniacal, Nitrogenio Kjeldahl, Oleos e Graxas, Oleos Minerais, Orto-fosfato dissolvido, PCB, Pentaclorofenol, Pesticidas o-aril, Pesticidas organoclorados, Pesticidas organofosforados, pH, Potássio, Prata, Saxitoxinas, Selênio, Sódio, Solidos DissolvidosTotais, Solidos Sedimentáveis, Solidos Suspensos Totais, Solidos Totais, Solubilização, Sulfatos, Sulfetos, Sulfitos,

Este certificado é válido até 20 de abril de 2009, e se restringe exclusivamente aos parâmetros nele especificados, respeitadas as condições nele estabelecidas, e é concedido com base nos documentos e informações constantes do Processo FEEMA nº E-07/204023/2003 e seus anexos.

Rio de Janeiro, 20 de abril de 2007

AXEL SCHMIDT GRAEL
PRESIDENTE FEEMA

APLICAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DOS 16 HPAs PRIORITÁRIOS EM PLANTAS -2 UTILIZANDO GC/MS

Coordenador Resp.: Leonardo A.Valentin
Técnica Resp.: Simone P. do Nascimento

Laboratório de Desenvolvimento Bioagri Ambiental

Abril/2007

1. INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma família de compostos caracterizada por possuírem 2 ou mais anéis aromáticos condensados. Estas substâncias, bem como seus derivados nitrados e oxigenados, têm ampla distribuição.

e são encontrados como constituintes de misturas complexas em todos os compartimentos ambientais. De maneira geral, tanto os HPAs quanto seus derivados estão associados ao aumento da incidência de diversos tipos de cânceres no homem.

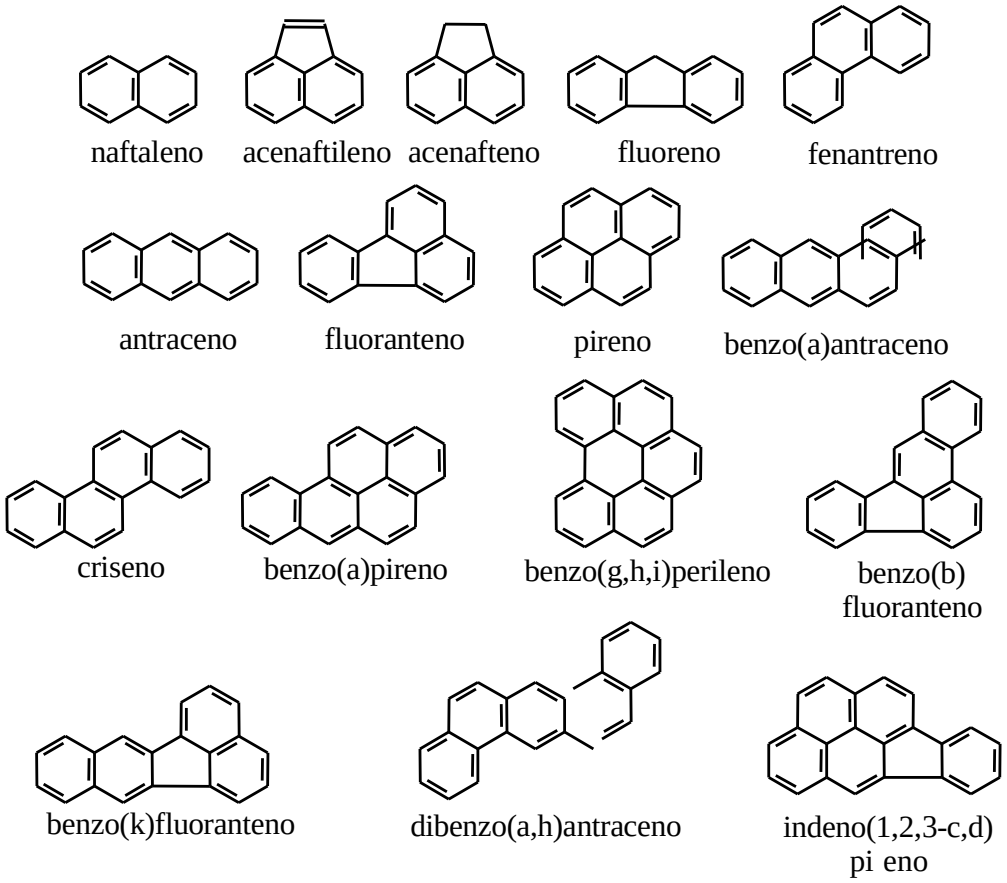
A elevada taxa de mortalidade (cerca de 6,5 milhões de pessoas morrem de câncer anualmente) e o fato de que os tratamentos para estas doenças são dispendiosos, demorados e normalmente trazem muito sofrimento aos doentes, expõem claramente os benefícios potenciais que o entendimento, a avaliação e o controle da exposição humana a substâncias que possuam atividade carcinogênica/mutagênica podem trazer, particularmente quando se sabe que a grande maioria dos cânceres resulta de interações genéticas e ambientais, sendo as causas externas (ambientais), em conjunção com fatores de suscetibilidade adquirida, as mais importantes. No caso dos HPAs e seus derivados,

isto é feito geralmente através do monitoramento dos níveis ambientais desta substâncias, do conhecimento das suas vias de penetração no organismo, de seu metabolismo, bem como da avaliação precoce de seus efeitos biológicos. Vários componentes deste grupo são capazes de reagir diretamente, ou após sofrerem transformações metabólicas, com o DNA, tornado-se potenciais carcinógenos e eficientes mutágenos. Dentre suas inúmeras fontes, podem ser citados os processos de combustão de material orgânico (particularmente a exaustão de motores a diesel ou a gasolina), a queima de carvão, as fotocopiadoras, a exaustão de plantas de incineração de

rejeitos, a fumaça de cigarro além de vários processos industriais como, por exemplo, a produção de alumínio e a gaseificação do coque, etc. A composição e a complexidade das misturas de HPAs dependem das fontes emissoras. Em geral essas misturas são bastante complexas, contêm uma grande variedade de HPAs em diferentes níveis de concentração. Os HPAs, por suas ubiqüidades, constituem uma ameaça potencial para a saúde de toda a população. No entanto, alguns grupos populacionais, como por exemplo aqueles constituídos por pessoas que residem ou trabalham em ambientes diretamente influenciados por estas fontes, estão submetidos a um risco maior. A seriedade dos efeitos que a exposição aos HPAs pode ter sobre o organismo humano fez com que especial atenção fosse dedicada ao desenvolvimento de metodologias analíticas hábeis para identificação e determinação de bioindicadores

da concentração absorvida (dose interna), da concentração presente nos sítios de ação biológica críticos (dose biológica efetiva) assim como de quaisquer efeitos precoces. Em todos os casos, a variabilidade da composição das misturas, a complexidade das amostras e as baixas concentrações que, em geral, são observadas, exigem a utilização de métodos analíticos altamente seletivos e de elevada sensibilidade.

Figura 1. Estrutura dos HPAs



2.OBJETIVO

Este trabalho tem como principal objetivo a aplicação da metodologia analítica para determinação dos 16 HPAs prioritários da EPA utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) em amostras de plantas utilizando extração com ultrasom e clenaup.

3.EXPERIMENTAL

3.1-Solução-padrão de referência dos 16 HPAs

As soluções-padrão dos compostos HPAs, foram preparadas por meio de diluições partindo do padrão certificado marca accustandard. A identificação dos compostos orgânicos estudados foi realizada em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa da marca Thermo Finningan.



Figura 2. Cromatógrafo utilizado nas determinações

3.1.2 Preparação/Extração

Plantas Acácia e Sabiá sem nenhuma manipulação do Laboratório:

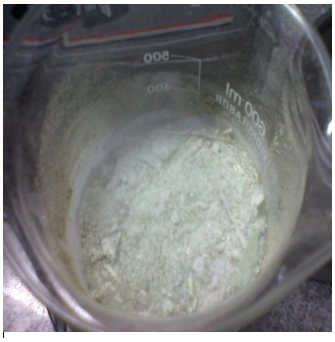
***Foto-1***

Terra sendo retirada das raízes das plantas (Foto2a e b),para que as mesmas sejam picadas (foto3) e em seguida irão para a moagem (Foto5).

***Foto-2a*** ***Foto-2b***

***Foto-3***(Planta picada pronta para a moagem)


Foto-4(moinho utilizado)


Foto-5 (Planta após o processo de moagem com gelo seco)

Pesou-se 5g de cada amostra em vials de 40mL(Foto-6)


Foto-6

Adicionou-se padrão de PAH's para verificar a extração e adicionou-se surrogate para se ter um controle de qualidade (Branco) de cada matriz.

Depois, foi adicionado o solvente extrator (Diclometano :Acetato de Etila (1:1)) e logo em seguida as amostras foram extraídas por 20 min no Ultra-Som (Foto-7)



Foto-7

Posteriormente as amostras foram filtradas em papel de filtro e Na_2SO_4(Foto-8).


Foto-8

Repetiu-se o processo de extração.

Após o término da segunda extração, concentrou-se o extrato sem cleanup (Foto-9,10 e 11).

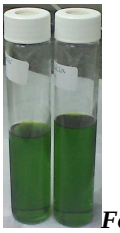
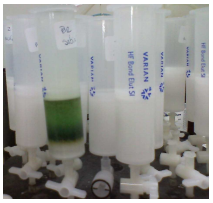

Foto-9 
Foto-10 (Extrato em processo de concentração para cleanup)


Foto-11(Extrato concentrado para cleanup)

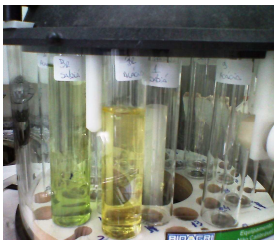


Foto-12 (Manifod de SPE e os cartuchos de 10g de SiOH para o cleanup ,com os cartuchos já condicionados.)

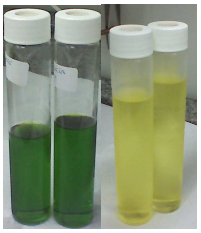
Cleanup em processo.

 ***Foto-13 a***  ***Foto-13 b***  ***Foto-13 c***

Processo de eluição do cleanup e os eluídos prontos para concentração final.

 ***Foto-14a***  ***Foto-14b***

Comparação dos extratos sem e com cleanup:

 ***Foto-15***

Após o cleanup os extratos foram concentrados para 1mL(Foto-16) e injetados em CG-MS.

 ***Foto-16***

3.1.3- Condições cromatográficas otimizadas para determinação dos HPAs

As condições cromatográficas utilizadas para determinação dos HPAs foram as seguintes:

Programação de temperatura: Temperatura inicial- 45 ^{0}C por 1 min, 30 ^{0}C/min até 130 ^{0}C , em seguida , 20 ^{0}C/min até 300 ^{0}C permanecendo por 10 min;

Injetor: Split/Splitless trabalhando em Split com temperatura de 260 ^{0}C, split flow 12 mL/min, volume de injeção 1 µL e o gás utilizado como gás de arraste foi o Hélio;

Coluna: Varian CPSIL-8CB 35 metros 0.25 mm 0.25µm;

Fluxo: 1 mL/min;

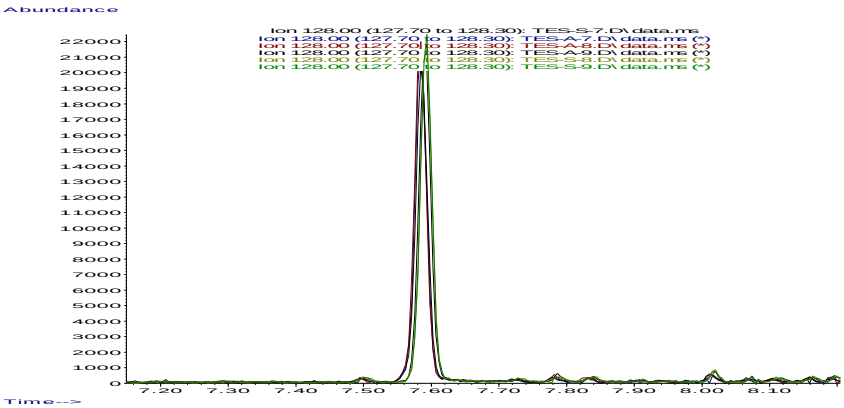
Espectrômetro de massa: Transfer Line 280 ^{0}C, faixa de massa de 100 a 300, MS Quad 150 ^{0}C, e MS Source 230 ^{0}C.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

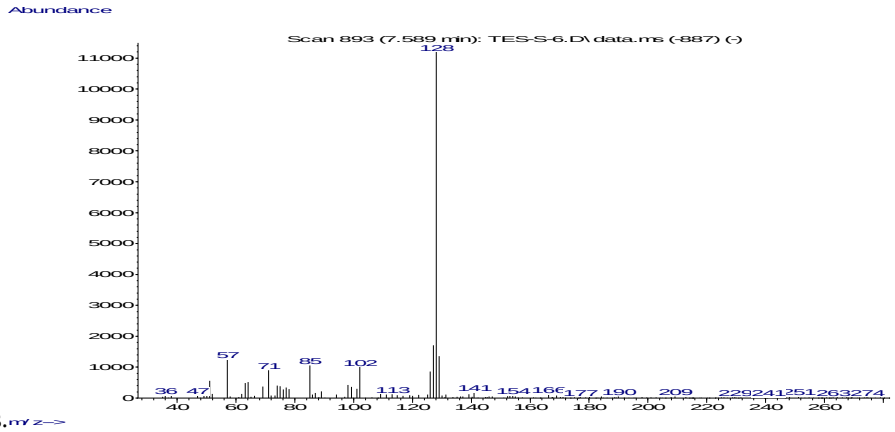
4.1. Cromatogramas e espectros de massa obtidos dos compostos

A seguir são apresentados os cromatogramas obtidos nas injeções para os compostos HPAs.

Cromatogramas do Naftaleno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.

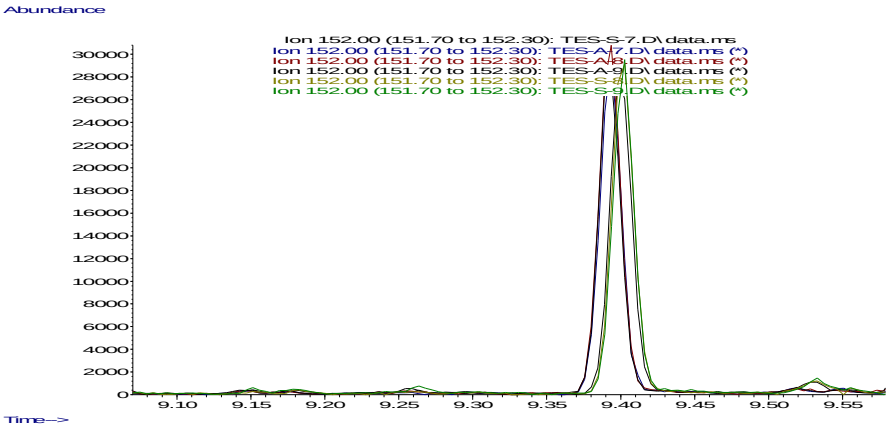


Espectro do Naftaleno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com

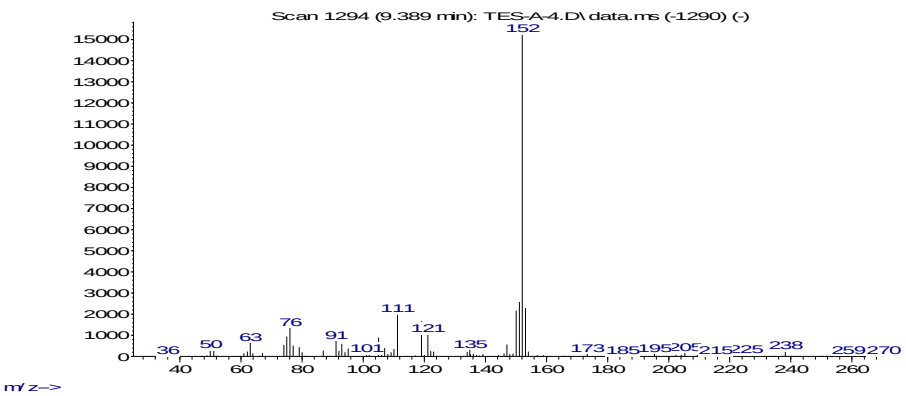


HPA's.

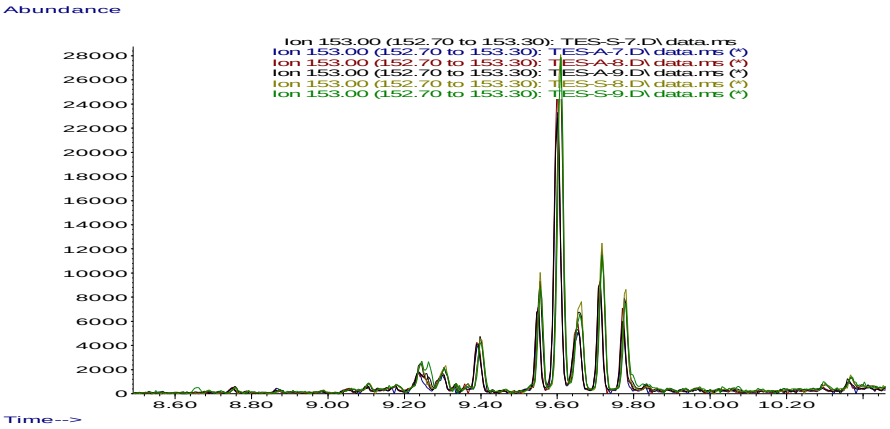
Cromatogramas do Acenaftileno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.



Espectro do Naftaleno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.

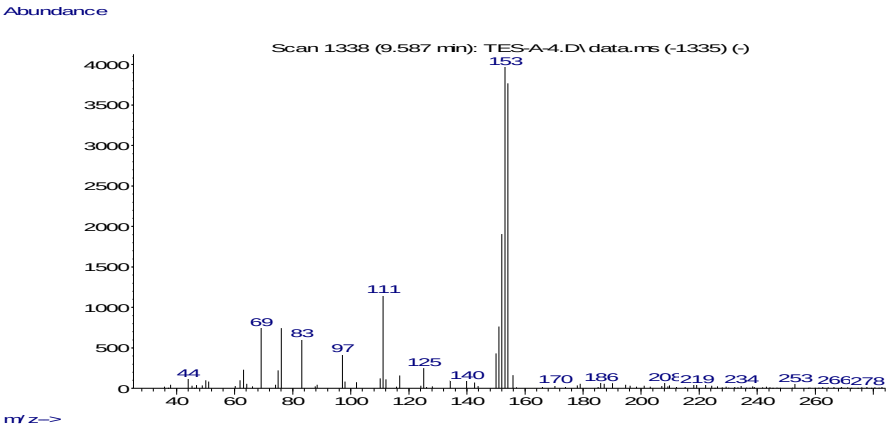


Cromatogramas do Acenafteno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.

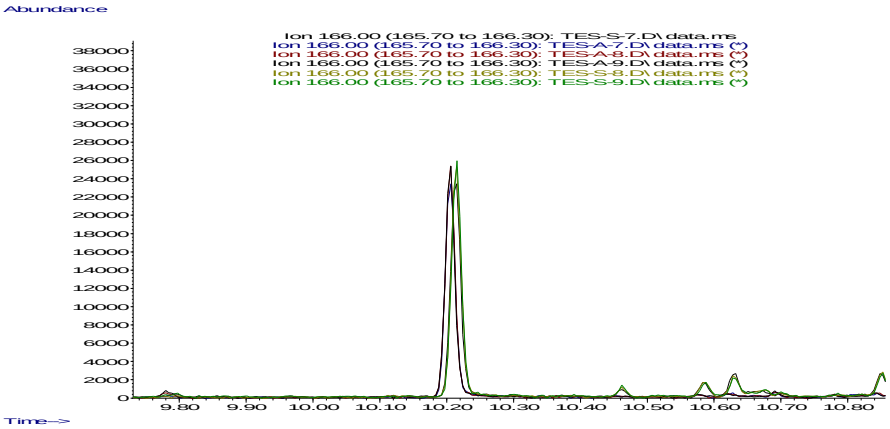


O pico referente ao Acenafteno é o maior pico(com 9,60min) no cromatograma,observa-se um grande número de interferentes para a determinação desse composto.

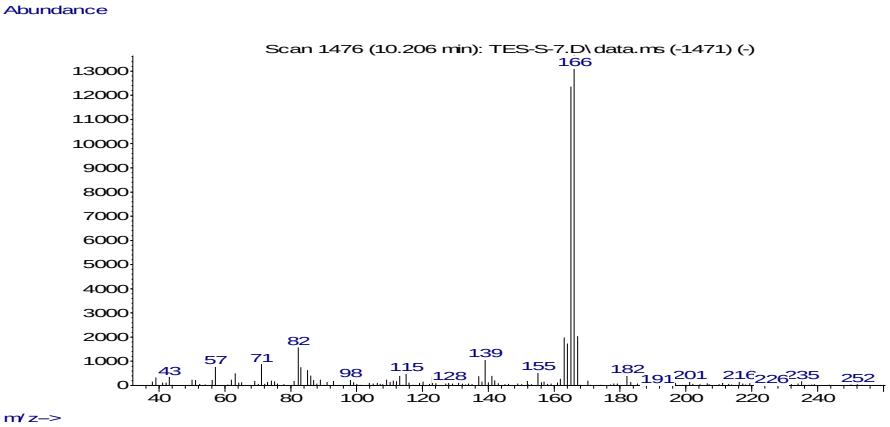
Espectro do Acenafteno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.



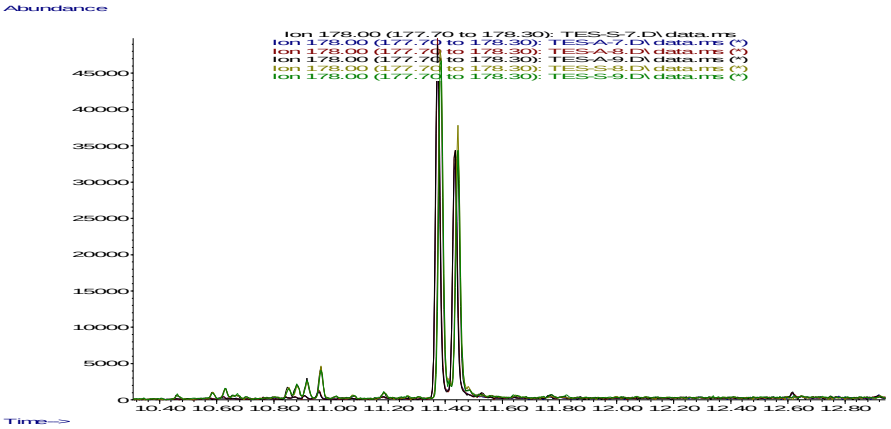
Cromatogramas do Fluoreno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.



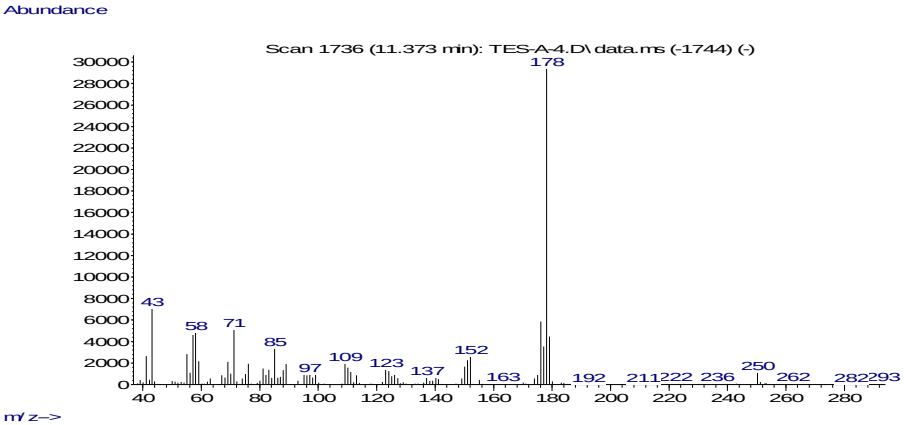
Espectro do Fluoranteno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's

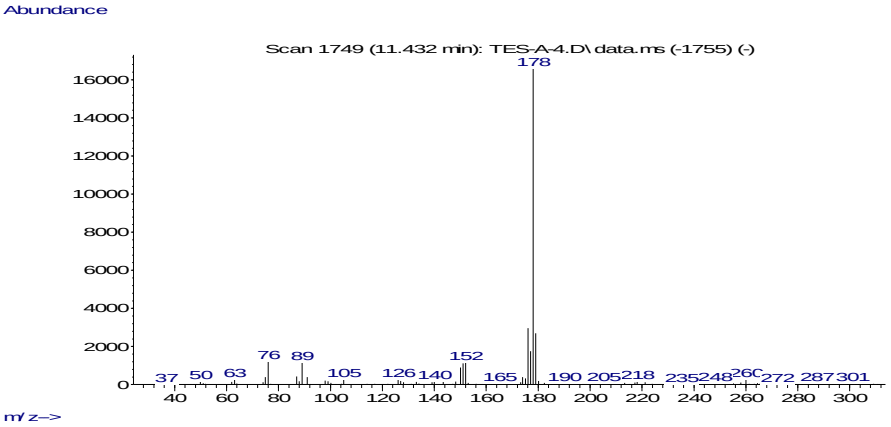


Cromatogramas do Fenantreno e Antraceno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.

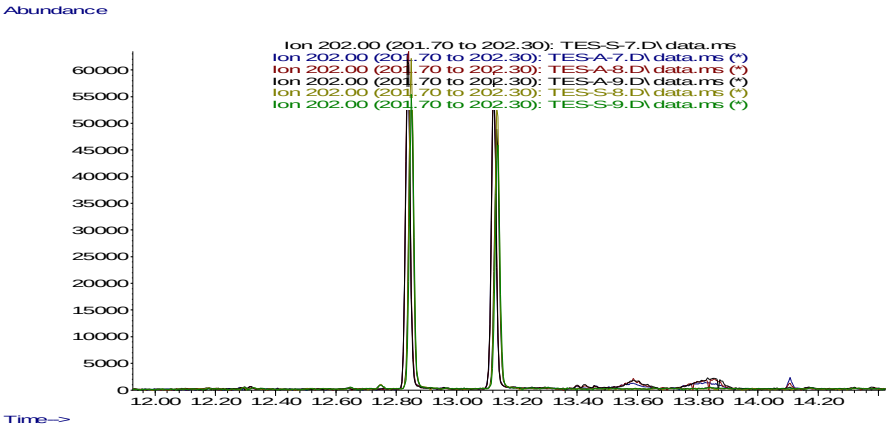


Espectro do Fenantreno e Antraceno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.

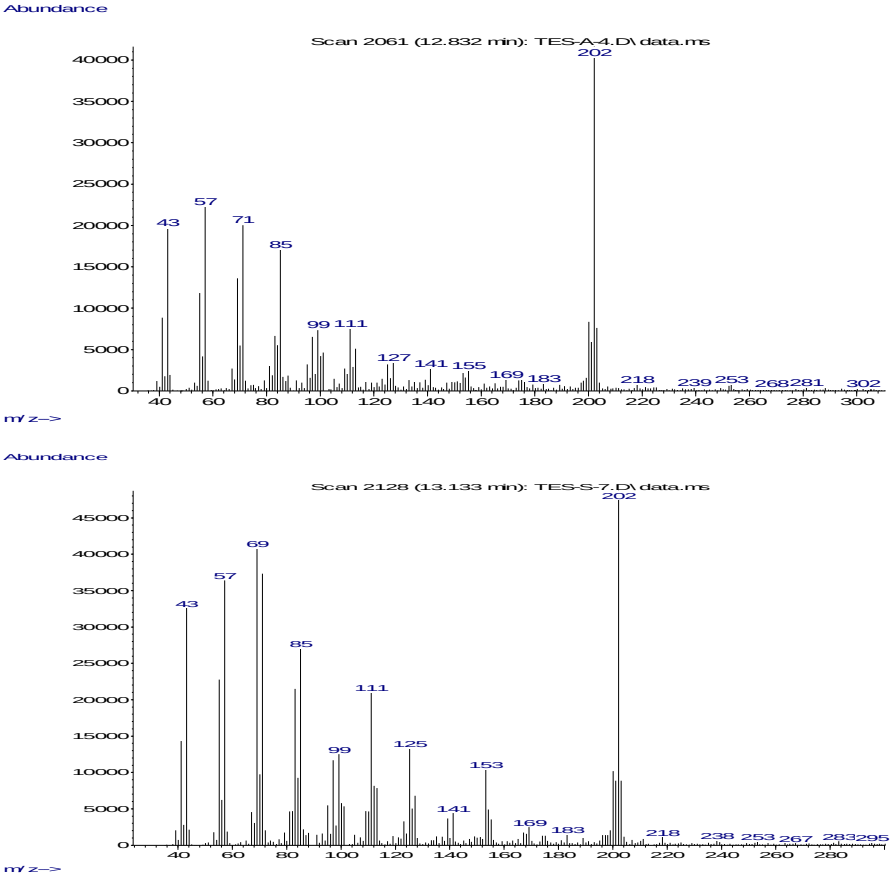




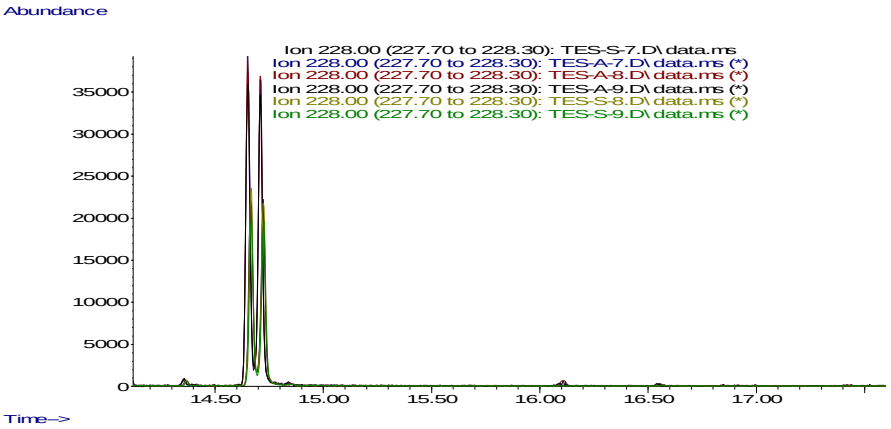
Cromatogramas do Fluorenteno e Pireno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.



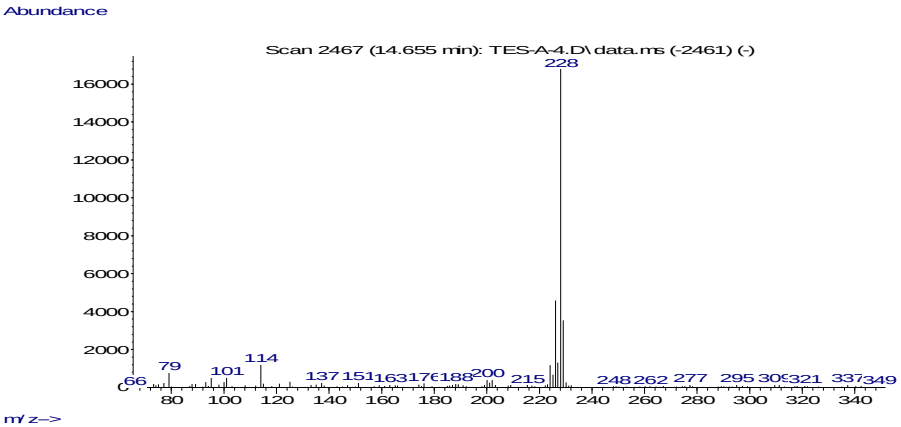
Espectro do Fluoranteno e Pireno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.

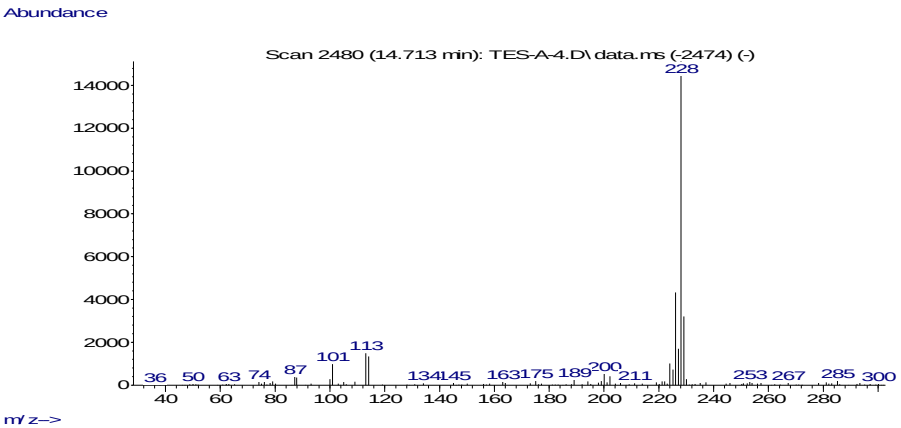


Cromatogramas do Criseno e do Benzo(a)antraceno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.

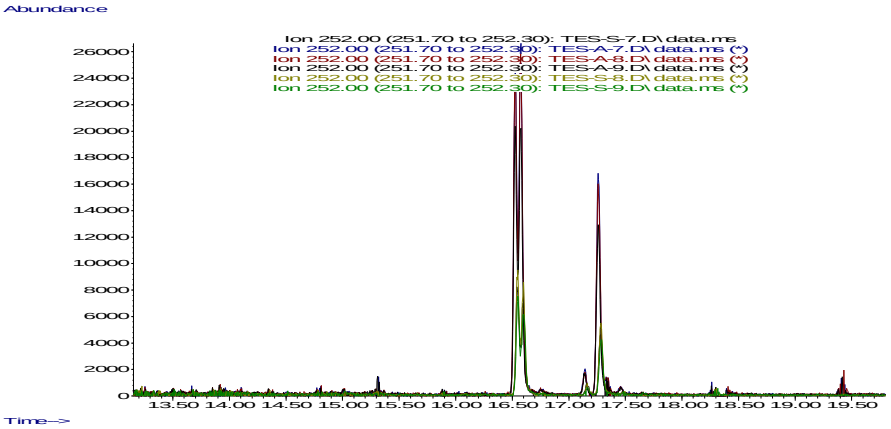


Espectro do Criseno e do Benzo(a)antraceno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.

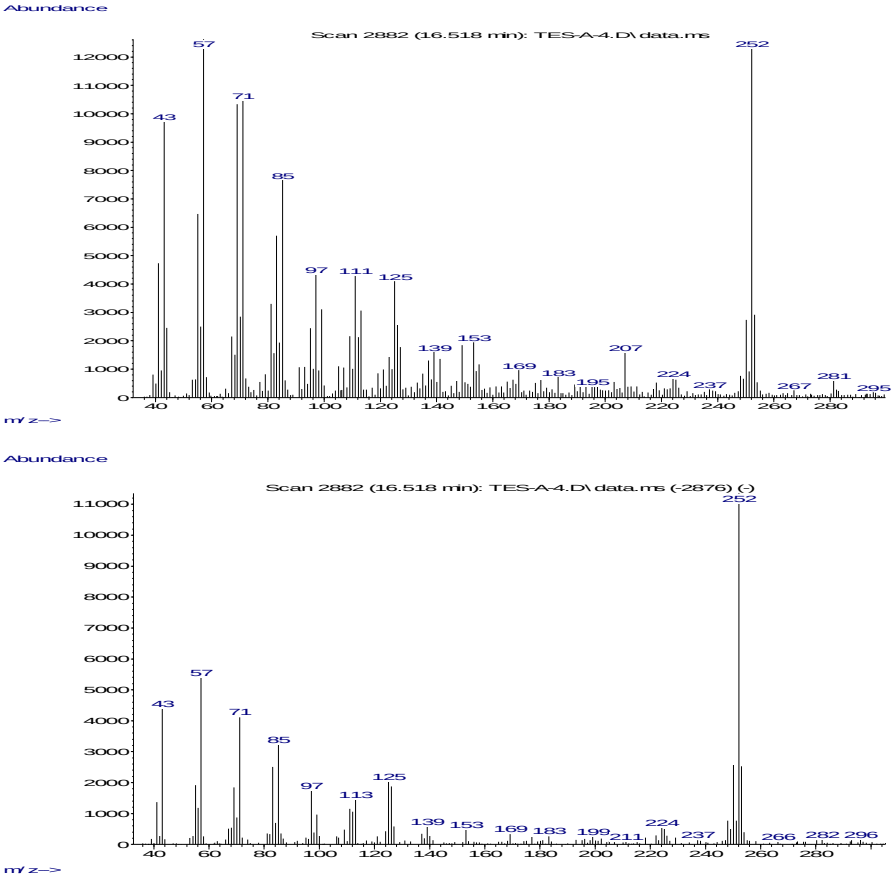


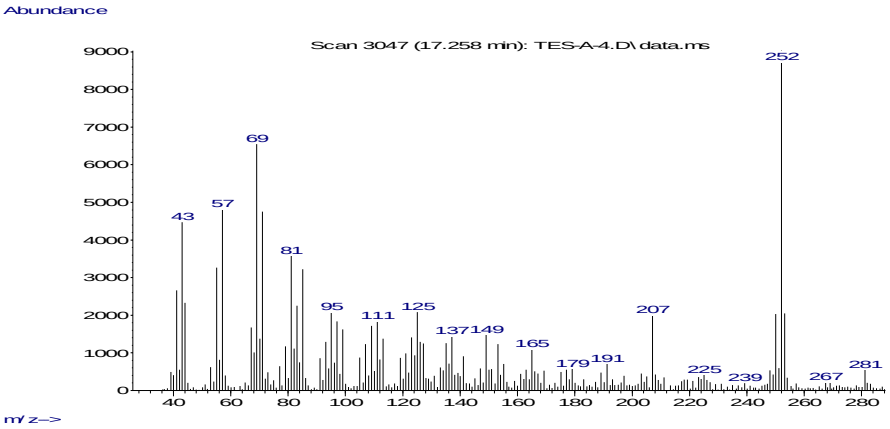


Cromatogramas do Benzo(b)antraceno, do Benzo(k)fluoranteno e do Benzo(a)pireno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.

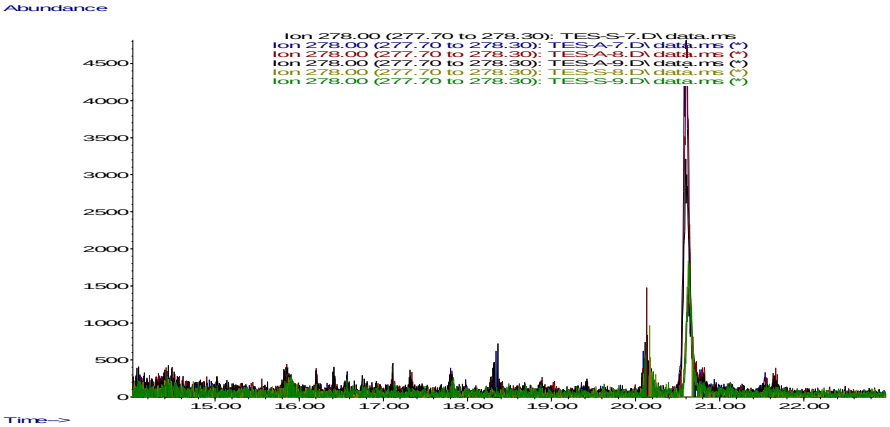


Espectro Benzo(b)antraceno, do Benzo(k)fluoranteno e do Benzo(a)pireno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.

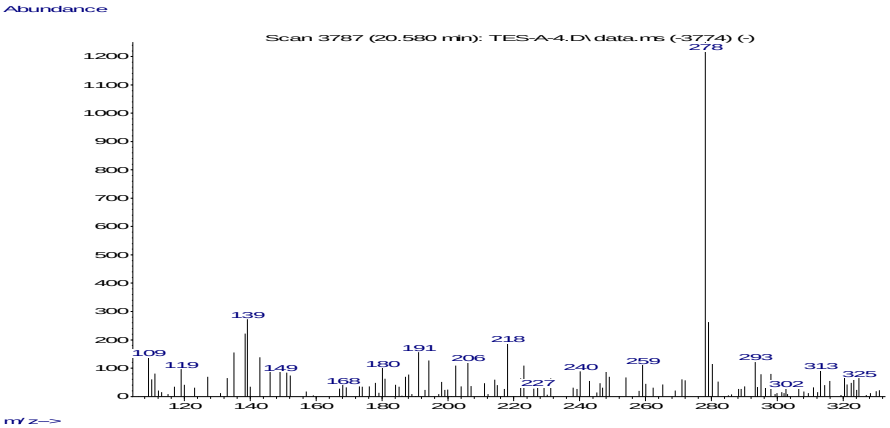




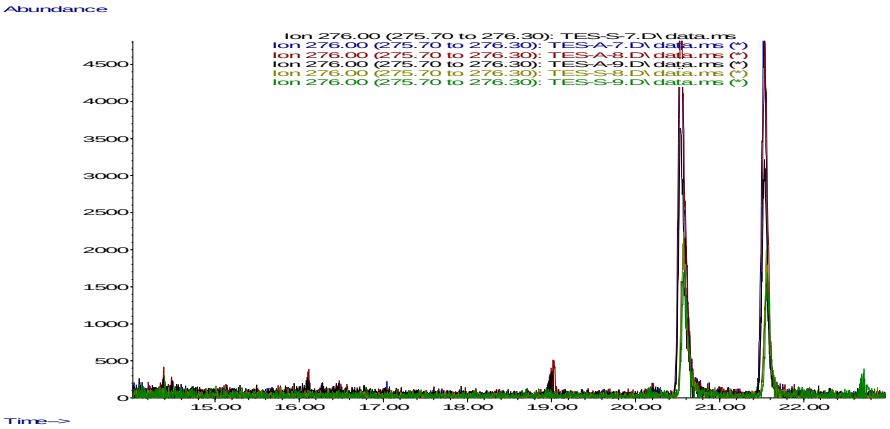
Cromatogramas do Dibenzo(a,h) antraceno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.



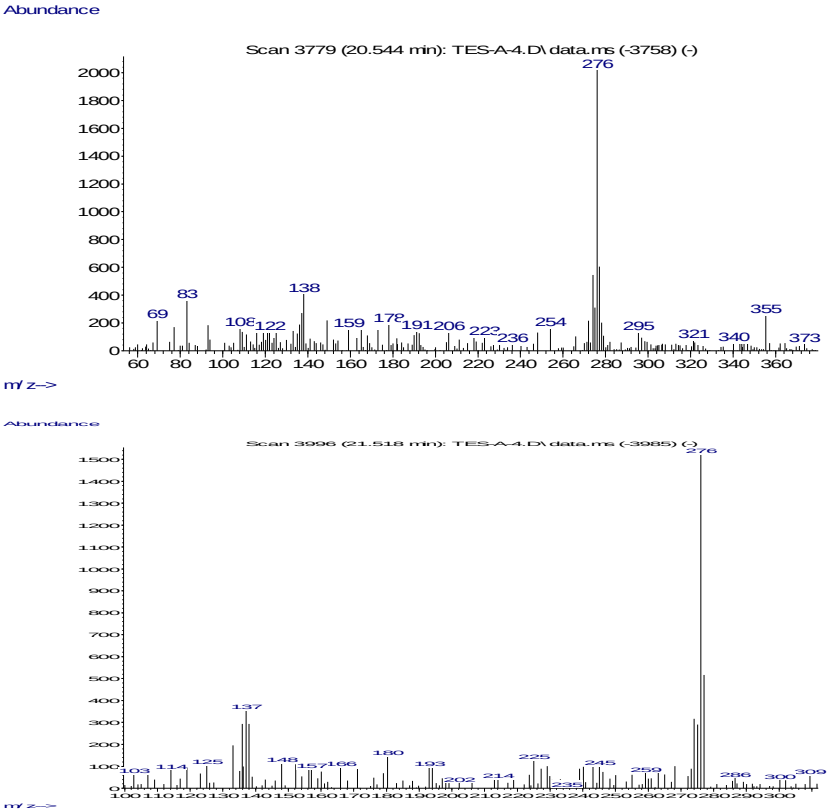
Espectro do Dibenzo(a,h) antraceno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.



Cromatogramas do Indeno (1,2,3-cd) pireno e do Benzo(g,h,i)pireleno nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com os HPAs.



Espectro do Indeno (1,2,3-cd) pireno e do Benzo(g,h,i)pireleno obtido nas amostras (Acácia e Sabiá) dopadas com HPA's.



4.2. Eficiência do método analítico para determinação dos HPAs em plantas

O valor da concentração esperada para todas as amostras no extrato final foi de 0,5ppm.Visto que temos um valor esperado, calculamos o valor encontrado nas amostras e representamos isso na tabela abaixo em porcentagem.

TABELA 1		% de Rec.					
Matriz: **Planta Acácia**	Amostra	Am-A-	Am-A-	Am-A-	Média de	Desvio	% do

	Branco-*Acácia*	7/500	8/500	9/500	Rec com Sub. do Bco	Padrão	D.P.R.
Método: Ultrassom							
Naftaleno	12	96	93	94	***84***	1,8	3,4
Acenaphthyleno	0	96	93	94	***109***	1,6	3,1
Acenafteno	35	106	104	93	***66***	7,2	7,1
Fluoreno	0	69	70	75	***71***	3,3	4,6
Phenanthreno	42	123	120	113	***77***	5,2	4,4
Anthraceno	0	67	65	60	***64***	3,9	6,1
Fluorantheno	43	148	134	130	***95***	9,3	6,8
Pyreno	28	128	115	102	***87***	13,1	11,4
Benzo[a]Anthraceno	7	96	91	83	***83***	6,6	7,3
Chryseno	23	119	111	98	***86***	10,3	9,4
Benzo[b]Fluorantheno	13	127	115	110	***105***	9,2	7,9
Benzo[k]Fluorantheno	10	143	120	113	***115***	15,8	12,6
Benzo[a]Pyreno	15	125	108	103	***97***	11,3	10,1
1,2:5,6-Dibenzanthraceno	14	142	118	102	***106***	20,0	16,5
Indeno[1,2,3-cd]Pyreno	0	65	72	68	***68***	3,4	5,1
Benzo[ghi]Peryleno	0	133	128	113	***125***	10,7	8,6

TABELA 2 % de Rec.

Matriz: **Planta Sabiá**	Amostra Branco/ *Sabiá*	Am-S-7/500	Am-S-8/500	Am-S-9/500	Média de Rec com Sub. do Bco	Desvio Padrão	% do D.P.R.
Método: Ultrassom							
Naftaleno	6	102	105	98	***96***	3,2	3,4
Acenaphthyleno	0	107	113	107	***109***	3,4	3,1
Acenaphtheno	40	149	158	150	***113***	4,7	4,2
Fluoreno	8	123	128	124	***117***	2,9	2,4
Phenanthreno	50	184	187	181	***134***	3,0	2,3
Anthraceno	7	130	131	127	***122***	2,3	1,8
Fluorantheno	75	199	202	198	***125***	2,1	1,7
Pyreno	55	172	175	170	***117***	2,3	2,0
Benzo[a]Anthraceno	19	157	163	152	***138***	5,5	4,0
Chryseno	38	167	177	164	***131***	6,6	5,0
Benzo[b]Fluorantheno	79	237	227	177	***135***	32,3	23,9
Benzo[k]Fluorantheno	66	209	207	176	***131***	18,7	14,3
Benzo[a]Pyreno	72	210	222	172	***130***	26,3	20,2
1,2:5,6-Dibenzanthraceno	0	92	113	99	***101***	11,0	10,8
Indeno[1,2,3-cd]Pyreno	4	118	128	113	***116***	7,9	6,8
Benzo[ghi]Peryleno	33	142	175	147	***121***	17,9	14,8

Legenda:

Rec <60%
Rec >60 e <140%;D.P.R. <15,0%(Padrão indicado)
Rec >140%;D.P.R. >15,0%

5. OBSERVAÇÃO:

A suposta contaminação indicada em porcentagem referente ao branco, nem sempre se refere a uma contaminação propriamente dita, esta porcentagem pode estar se referindo a interferentes que podem estar comprometendo a determinação dos HPAs nas

amostras. Isso ocorre devido a matriz de planta conter muitos interferentes,dificultando o resultado analítico.Uma boa parte dos interferentes são eliminados no processo de cleanup porém, há alguns que não conseguimos eliminar nessa etapa. Essa separação de analito-interferente só é possível por espectro de massa. Os HPAs que realmente estão presente nas plantas (Branco Acácia e Sabiá) estão citados no boletim analítico emitido pela Bioagri Ambiental Ltda e pode ser acessado pelo cliente via web.

6. CONCLUSÃO

A partir dos dados apresentados na validação do ponto médio das plantas Acácia e Sabiá podem concluir que o método aplicado é eficiente para a determinação dos 16 HPAs prioritários da EPA. De acordo com as tabelas 1 e 2, observamos que a porcentagem de desvio padrão relativo está abaixo de 15% (na maioria), e a porcentagem de recuperações ficaram entre 60-140%, faixa aceita pelo controle de qualidade da Bioagri para esses compostos. Deixando claro a eficiência da determinação dos HPAs em matrizes de plantas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NETTO, A. D. P., Moreira J. C., Arbilla, G., Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica, Química nova, 23(6) (2000).

DUGAY A. , C. Herrenknecht , M. Czok , F. Guyon , N. Pages, N ew procedure for selective extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in plants for gas chromatographic–mass spectrometric analysis, Journal of Chromatography A
958 (2002) 1–7.

SMITH K.E.C., Grant L. Northcott , Kevin C. Jones, Influence of the extraction methodology on the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pasture vegetation Journal of Chromatography A, 1116 (2006) 20–30.

MEUDEC A. , J. Dussauze , E. Deslandes , N. Poupart, Evidence for bioaccumulation of PAHs within internal shoot tissues by a halophytic plant arti.cially exposed to petroleum-polluted sediments, Chemosphere 65 (2006) 474–481.

PARRISH Z. D., Jason C. White, Mehmet Isleyen , Martin P.N. Gent , William Iannucci-Berger , Brian D. Eitzer , Jason W. Kelsey , Maryjane Incorvia Mattina, Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species, Chemosphere 64 (2006) 609–618.

RATOLA N. , S´ýlvia Lacorte, Arminda Alves , Dami` Barcelo, Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles by gas chromatography–mass spectrometry Comparison of different extraction and clean-up procedures, Journal of Chromatography A, 1114 (2006) 198–204.

MEUDEC A., J. Dussauze , M. Jourdin , E. Deslandes , N. Poupart, Gas chromatographic–mass spectrometric method for polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in plant biota, Journal of Chromatography A, 1108 (2006) 240–247.