



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
OCEANOGRAFIA FÍSICA, QUÍMICA E GEOLÓGICA



ACUMULAÇÃO DE HPAs PELA *Spartina alterniflora* CULTIVADA EM SOLO DE *LANDFARMING* DE INDÚSTRIA PETROQUÍMICA

DISSERTAÇÃO APRESENTADA COMO PRÉ-REQUISITO PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM OCEANOGRAFIA
FÍSICA, QUÍMICA E GEOLÓGICA

Francine Vicentini Viana

Orientador: Prof. Dr. Paulo Baisch
Co- Orientador: Prof. Dr. César Costa

Rio Grande, agosto de 2008.



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus familiares e ao meu amor, Junior, pelo apoio absoluto, compreensão e paciência em todos os momentos em que precisei para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Paulo Baisch, por mais uma oportunidade de aprendizado e crescimento intelectual e profissional.

Ao professor César Costa pela contribuição e por toda orientação durante o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço à professora Isabel Machado pelo apoio e incentivo, além de paciência e conhecimento compartilhado durante o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço aos membros da banca de avaliação professora Maria Teresa Raya Rodriguez e professor Mauro Machado Júnior por ter aceitado participar dessa banca.

A Copesul e à sua equipe pela disponibilização do material para a realização do experimento.

Ao professor Gilberto Griep, representando o PRH-27 da Agência Nacional do Petróleo, pela concessão da bolsa e de todo o apoio necessário.

A todo o pessoal do LOG: Manoel, Milico, Clabisnei, Lutiane, Regina, Neusa, Glória; ao pessoal do ECOVECO: Gabriela e Afrânio; ao pessoal do CONECO: Bianca, Patrícia e Gabriela.

Um agradecimento especial aos colegas: Thayná, Everton, Maicon, Nicolas, Priscilla, Luiz Alberto Malvadão e Christian, pelo apoio durante as análises, coletas, caronas, desabafos e risadas; obrigado pelo companheirismo e amizade!

Agradeço à Família Vicentini e à Família Cardozo por todos os momentos de dedicação e apoio, carinho, paciência e descontração imprescindíveis para que mais essa etapa fosse concluída!

Agradeço a Deus pela proteção durante esses anos de estrada e pela inspiração ao longo dessa jornada.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

RESUMO

Foram determinadas as concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em plantas de marismas *Spartina alterniflora*, cultivadas em solo contaminado (*landfarming*) e em solo não contaminado. As concentrações de HPAs nas plantas foram quantificadas nas raízes, hastes, folhas e folhas mortas a fim de investigar a absorção e translocamento de HPAs através da planta. Para avaliar a remoção de HPAs pela *S. alterniflora* as concentrações foram medidas também no solo. As plantas apresentaram desenvolvimento semelhante até os 60 dias de experimento, quando as plantas cultivadas no solo não contaminado apresentaram um desenvolvimento significativamente maior. As variações nos teores de nutrientes no solo contaminado sugerem que neste tratamento ocorreu um desenvolvimento maior de microorganismos. Tanto no tratamento com solo contaminado como no cultivo em solo não contaminado, o fator de concentração nas raízes (RCF) mostrou que as raízes apresentaram as maiores concentrações de HPAs. Os fatores de concentração nas hastes, folhas e folhas mortas (SCF, FCF e FMFC, respectivamente) indicaram que os compostos de 2-4 anéis também foram assimilados pela *S. alterniflora*, como fenatreno, antraceno, pireno e criseno. No solo, as concentrações deste grupo de compostos reduziram tanto no tratamento com solo contaminado quanto no solo não contaminado. Os HPAs mais recalcitrantes (5-6 anéis) como benzo(b)fluoranteno e benzo(e)pireno ficaram limitados às raízes, não havendo redução nas concentrações do solo. A utilização de *Spartina alterniflora* após o tratamento biológico *landfarming* mostrou que a presença da planta é capaz de auxiliar na remoção de alguns HPAs do solo, seja pela remoção destes através da absorção direta pela planta, seja pela estimulação da microbiota associada às raízes, que realizam biodegradação.

Palavras-chave: HPAs, fitorremediação, *Spartina alterniflora*

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) concentrations were measured in salt marshes plants *Spartina alterniflora*, grown in contaminated soil with *landfarming* waste and in uncontaminated control soil. Plant PAHs concentrations were quantified in roots, stems, leaves and fallen leaves in order to investigate HPAs uptake and translocation through the plant. To assess HPAs removal by *S. alterniflora* concentrations were measured also in the soil. The plants had similar development until the 60 days of trial, when the plants grown in uncontaminated soil had a significantly greater development. The variations in nutrients levels in contaminated soil suggest that this treatment was further development of microorganisms. Both in dealing with contaminated soil and in cultivation in uncontaminated soil, the roots concentration factor (RCF) showed that the roots had the largest concentrations of PAHs. The concentration factors on stems, leaves and fallen leaves (SCF, FCF and FMFC, respectively) indicated that the compounds of 2-4 rings have also been assimilated by the *S. alterniflora*, as phenanthrene, anthracene, pyrene and chrysene. Soil concentrations of this group of compounds reduced in both treatments with contaminated soil, as in uncontaminated soil. More recalcitrant PAHs (5-6 rings) such benzo(b)fluoranthene and benzo(e)pyrene were limited to roots, with no reduction in soil concentrations. *Spartina alterniflora* used after a *landfarming* biological treatment showed that plant presence is capable of assisting some PAHs removal from soil, either by removing these through direct absorption by the plant, either by stimulating associated roots microorganisms by biodegradation.

Key-words: PAHs, Phytoremediation, *Spartina alterniflora*

LISTA DE SIGLAS

ANP - Agência Nacional do Petróleo

HPAs – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

COT: carbono orgânico total

F2: fração da extração dos HPAs

GC-MS: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

ND: não detectável

p: nível de significância

pH: potencial hidrogeniônico

USEPA: United States Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

Σ HPAs: somatório de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Np: Naftaleno

2 metil Np: 2-metil-naftaleno

1 metil Np: 1-metil-naftaleno

2,6 dimetil NP: 2,6-dimetil-naftaleno

1,7 dimetil NP: 1,7-dimetil-naftaleno

Ace: Acenafteno

F: Fluoreno

DBThi: Dibenzotiofeno

Ph: Fenantreno

An: Antraceno

Fl: fluoranteno

Py: Pireno

B(a)An: Benzo(a)antraceno

Ch: Criseno

B(b)Fl: Benzo(b)fluoranteno

B(k)Fl: Benzo(k)fluoranteno

B(e)Py: Benzo(e)pireno

B(a)Py: Benzo(a)pireno

Pe: Perileno

In(1,2,3-cd)Py: Indeno(1,2,3-cd)pireno

dB(a,h)An: Dibenzo(a,h)antraceno

B(g,h,i)Pe: Benzo(g,h,i)perileno

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação

LISTA DE UNIDADES

‰: porcentagem

µg/g: micrograma por grama

µg/Kg: micrograma por quilograma

µg: micrograma

µL: microlitro

µm: micrômetro

cm: centímetro

g: grama

Kg: quilograma

L: litro

m: metro

m³: metro cúbico

mg: miligrama

min: minutos

mL: mililitro

mm: milímetro

ng/g: nanogramas por grama

mg/Kg: miligramas por quilograma

nm: nanômetros

°C: grau Celcius

s: segundos

ÍNDICE

	RESUMO.....	iii
	ABSTRACT.....	iv
	LISTA DE SIGLAS.....	v
	LISTA DE UNIDADES.....	vii
	LISTA DE FIGURAS.....	x
	LISTA DE TABELAS.....	xii
1	INTRODUÇÃO.....	1
	1.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs).....	4
	1.2 Remediação de ambientes impactados.....	8
	1.3 Fitorremediação.....	12
	1.4 <i>Spartina alterniflora</i>	16
	1.5 JUSTIFICATIVA.....	17
	1.6 Objetivos.....	20
2	MEDOTOLOGIA.....	21
	2.1 Substratos utilizados no experimento.....	21
	2.1.1 Solo contaminado.....	21
	2.1.2 Solo não contaminado.....	22
	2.1.3 Coleta de plantas.....	23
	2.2 Montagem do Experimento.....	25
	2.3 Metodologia analítica.....	29
	2.3.1 Limpeza dos materiais.....	29
	2.3.2 Carbono Orgânico Total.....	29
	2.3.3 Análise de Nutrientes.....	30
	2.3.3.1 Fósforo Total.....	30
	2.3.3.2 Nitrogênio Total.....	30
	2.4 Determinação do pH.....	31
	2.5 Umidade.....	31
	2.6 Teor de Óleo.....	32

2.7	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs).....	32
2.8	Cromatografia de adsorção em coluna de vidro (<i>Clean-up</i>)	34
2.9	Cromatografia Gasosa GC/MS – CONECO	35
2.10	Tratamento estatístico	37
2.11	Fator de Concentração de HPAs em <i>Spartina alterniflora</i>	38
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
3.1	Caracterização dos solos utilizados.....	39
3.2	Condições de Temperatura e pH durante o experimento	41
3.3	Carbono Orgânico Total, Nitrogênio Total e Fósforo Total	43
3.4	Desenvolvimento de <i>Spartina alterniflora</i>	47
3.5	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nos solos.....	55
3.6	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em <i>Spartina alterniflora</i> ...	59
3.7	Análise de Componentes Principais	67
3.8	Fator de Concentração de HPAs em <i>Spartina alterniflora</i>	79
4	CONCLUSÕES	86
5	RECOMENDAÇÕES.....	88
6	BIBLIOGRAFIA.....	89
7	ANEXOS	103

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Estruturas químicas e efeitos tóxicos dos 16 HPAs considerados poluentes prioritários pela USEPA (SIMS et al., 1988).</i>	<i>7</i>
<i>Figura 2. Vias possíveis dos poluentes durante a fitorremediação. O poluente pode ser estabilizado ou degradado na rizosfera, seqüestrado ou degradado nos tecidos ou volatilizado. Fonte: PILON-SMITS, 2005.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 3. a - Sistema de Landfarming do SICECORS. b - recipientes contendo o solo de landfarming para transporte.</i>	<i>22</i>
<i>Figura 4. a - Imagem de satélite (Google Earth) da Ilha do Terrapleno (32°02'37"S, 52°04'15"W). b – fotografia aérea da Ilha. Local de coleta dos espécimes de <i>Spartina alterniflora</i>.</i>	<i>24</i>
<i>Figura 5. a - coleta das plantas do ambiente. b – casa de vegetação do Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de Carvalho Rios”. c – bandejas contendo as plantas durante o período de aclimatação.</i>	<i>25</i>
<i>Figura 6. Desenho experimental. a – solo não contaminado, b – solo contaminado com cultivo, c – solo contaminado sem cultivo.</i>	<i>27</i>
<i>Figura 7. Fluxograma do método de análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. F2: fração que contém os HPAs.</i>	<i>33</i>
<i>Figura 8. a – variação das temperaturas média, máxima e mínima na casa de vegetação. b – variação do pH durante o período de experimento.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 9. Variação das médias (\pm desvio padrão) de nutrientes ao longo dos 90 dias de experimento. a – Fósforo, b – Nitrogênio, c – Carbono.</i>	<i>45</i>
<i>Figura 10. Biomassas médias de raízes, hastes, folhas vivas, folhas mortas e brotos nos tratamentos não contaminado e contaminado durante os 90 dias de experimento.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 11 Médias e desvio padrão do número de folhas (a), altura das hastes (b), índice foliar (c), densidade de raiz (d), número de brotos (e) e índice foliar dos brotos (f) de <i>Spartina alterniflora</i> cultivada no solo não contaminado. n = 15.</i>	<i>51</i>

<i>Figura 12. Médias e desvio padrão do número de folhas (a), altura das hastes (b), índice foliar (c), densidade de raiz (d), número de brotos (e) e índice foliar dos brotos (f) de Spartina alterniflora cultivada no solo contaminado. n = 15.</i>	52
<i>Figura 13. Concentração (mg/kg peso seco) HPAs totais (à esquerda) e 2-3 e 4-6 anéis (à direita) no solo, nos três tratamentos, ao longo do tempo.</i>	58
<i>Figura 14. Concentração dos HPAs (log mg.Kg-1) no solo, nas raízes, hastes e folhas da Spartina alterniflora cultivada em solo não contaminado (acima) e contaminado (abaixo) no início do experimento.</i>	62
<i>Figura 15. Concentrações HPAs normalizadas pela biomassa, das raízes, hastes, folhas e folhas mortas de Spartina alterniflora cultivada no solo não contaminado em cada coleta.</i>	64
<i>Figura 16. Concentrações de HPAs normalizada pela biomassa das raízes, hastes, folhas e folhas mortas de Spartina alterniflora cultivada no solo contaminado em cada coleta.</i>	66
<i>Figura 17. Projeção plana das variáveis nos fatores 1 e 2, obtidas na análise e componentes principais para o cultivo em solo não contaminado.</i>	70
<i>Figura 18. Projeção tridimensional das variáveis nos fatores 1, 2 e 3 extraídas da análise de componentes principais. Rotação varimax dos eixos de referência. Cultivo em solo não contaminado.</i>	71
<i>Figura 19. Projeção dos casos (amostras) nos fatores 1 e 2 extraídos da análise de componentes principais, para o cultivo em solo não contaminado.</i>	73
<i>Figura 20. Projeção plana das variáveis nos fatores 1 e 2, obtidas na análise e componentes principais para o tratamento em solo contaminado.</i>	75
<i>Figura 22. Projeção dos casos (amostras) nos fatores 1 e 2 extraídos da análise de componentes principais, para o cultivo em solo contaminado.</i>	78

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Propriedades físico-químicas dos 16 HPAs principais USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos EUA).....</i>	<i>5</i>
<i>Tabela 2. Solução nutriente utilizada.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabela 3. Caracterização inicial dos solos utilizados. Percentual de nitrogênio (N), fósforo (P), carbono orgânico total (COT), matéria inorgânica (MI) e matéria orgânica (MO).</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 4. Temperaturas (°C) médias, máximas e mínimas na casa de vegetação durante o período de experimento.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabela 5. Teores médios (\pm desvio padrão) de nutrientes, nitrogênio (N), fósforo (P) e carbono orgânico total (C), nos três tratamentos em cada coleta realizada.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabela 6 Variáveis associadas a cada componente principal e a contribuição na variância total. Cultivo em solo não contaminado.</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 7. Variáveis associadas a cada componente principal e a contribuição na variância total. Cultivo em solo contaminado.</i>	<i>74</i>
<i>Tabela 8. Fatores de concentração obtidos no solo não contaminado nas diferentes partes da planta Fator de concentração nas raízes (RCF), fator de concentração nas hastes (SCF), fator de concentração nas folhas (FCF) e o fator de concentração nas folhas mortas(FMCF), ao final de 90 dias de experimento..</i>	<i>79</i>
<i>Tabela 9. Fatores de concentração obtidos no solo contaminado nas diferentes partes da planta. Fator de concentração nas raízes (RCF), fator de concentração nas hastes (SCF), fator de concentração nas folhas (FCF) e o fator de concentração nas folhas mortas(FMCF), ao final de 90 dias de experimento..</i>	<i>81</i>
<i>Tabela 10. Valores do fator de concentração encontrados por Watts et al. (2006) e neste trabalho nas raízes (RCF), hastes (SCF), folhas (FCF) e folhas mortas (FMCF), no cultivo em solo contaminado. Valores com o símbolo ‘ * ‘ indicam os fatores encontrados no presente estudo.</i>	<i>83</i>

1 INTRODUÇÃO

Os contaminantes orgânicos são poluentes muito comuns e podem ter origem natural ou antropogênica. O consumo global de óleo mineral e de produtos químicos orgânicos sintéticos vem aumentando há décadas, conseqüentemente, a contaminação da água, do solo e do ar por compostos orgânicos está entre as maiores preocupações das agências de proteção ambiental em diversos países.

Muitos desses compostos apresentam risco à saúde humana e ao meio ambiente, como os solventes (TCE), explosivos (TNT), pesticidas (organoclorados e fosforados), preservativos de madeira e hidrocarbonetos de petróleo (gasolina, benzeno, tolueno, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos). Além disso, são substâncias persistentes no ambiente e possuem freqüentemente a capacidade de bioacumulação e biomagnificação nos organismos (SCHWARZENBACH *et al.*, 1993; STUMPF, 2004).

Os diversos segmentos da indústria do petróleo produzem impactos ao meio ambiente desde a exploração e produção de óleo e gás, refino, transporte e distribuição e revenda de combustíveis. O petróleo é uma mistura complexa de compostos orgânicos gasosos, líquidos e sólidos onde os hidrocarbonetos de 4 a 26 átomos de carbono constituem 75% do peso do óleo, dividindo-se em alcanos, alcenos, alcinos, ciclo alcanos e aromáticos (NEFF, 1979).

Entre os constituintes do petróleo, os hidrocarbonetos aromáticos apresentam importância ambiental, pois possuem ampla distribuição e são encontrados em misturas complexas em quase todos os compartimentos

ambientais. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são substâncias lipofílicas que apresentam uma grande persistência no ambiente, distribuindo-se em diferentes proporções, de acordo com as propriedades estruturais e químicas do composto e das condições ambientais. Além disso, alguns apresentam propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas, constituindo os hidrocarbonetos mais tóxicos (SISINNO, 2003; MANAHAM, 1994).

Os HPAs são encontrados naturalmente no ambiente, em depósitos de carvão e petróleo e na biossíntese por micróbios e plantas, mas a grande quantidade em excesso encontrada é proveniente das atividades humanas, como a queima incompleta de combustíveis fósseis, efluentes industriais, esgotos e atividades da indústria do petróleo (KENNISH, 2004). A fotoxidação, a oxidação química e a biotransformação por organismos aquáticos são os principais processos degradativos dos hidrocarbonetos no ambiente estuarino e marinho (NEFF, 1979; CLARK, 2003).

A busca por alternativas tecnológicas para a recuperação de áreas contaminadas por petróleo e seus derivados vem crescendo significativamente, e entre os métodos utilizados para a remediação tem se priorizado o uso de tecnologias *in situ*, pois além de apresentarem custo reduzido, minimizam os riscos de uma possível contaminação secundária. A remediação pode ser definida como a aplicação de técnica ou conjunto de técnicas em uma área contaminada, visando à remoção ou a contenção dos contaminantes de modo a possibilitar sua reutilização, com limites aceitáveis de riscos ao meio ambiente e à saúde humana (SILVA, 2007). As técnicas biológicas de remediação têm-se destacado na

descontaminação de solos e água, incluindo a fitorremediação, que consiste no uso de vegetação para a descontaminação de ambientes impactados por poluentes orgânicos ou inorgânicos (PIRES *et al.*, 2005). Diferentes espécies vegetais vêm sendo utilizadas como bioindicadoras e bioacumuladoras de vários poluentes, como hidrocarbonetos de petróleo, pesticidas, solventes clorados e explosivos, por exemplo, diminuindo assim suas concentrações no meio ambiente (COSTA, 2004). A fitorremediação consiste em uma técnica promissora e que já vem sendo utilizada no tratamento de diversos efluentes e resíduos industriais e urbanos.

A fitorremediação vem sendo estudada como alternativa para recuperação de áreas contaminadas por óleo. Foram utilizadas raízes de gramíneas para remediação de solos contaminados por óleo em um estudo realizado por MERKL *et al.* (2005). Estudos realizados na costa da Louisiana (EUA) destacam diversos trabalhos desenvolvendo a fitorremediação como tecnologia promissora na recuperação de áreas degradadas. Além disso, ressaltam a eficiência da grama de marisma *Spartina alterniflora* na fitorremediação de contaminação por óleo. Em parte, a habilidade fitorremediadora destas plantas tem sido associada à presença de grande quantidade de tecido parenquimático esponjoso em seus colmos, folhas e raízes que promovem a oxidação do sedimento saturado de água e o crescimento de microorganismos, facilitando a degradação aeróbica do óleo (MENDELSSOHN & OIANXIN, 2003; DAVIS, 2002).

As marismas possuem grande importância ambiental e comercial nas regiões estuarinas. São ambientes altamente produtivos, pois consistem em

habitats vitais para recursos pesqueiros que fornecem proteção e alimento para diversos organismos estuarinos e marinhos, em diferentes fases do seu ciclo de vida. Além disso, atuam como importante agente geomorfológico, promovendo a deposição de sedimentos finos em suspensão na coluna d'água e as densas raízes da vegetação reduzem a erosão do sedimento depositado (COPERTINO *et al.*, 1997; COSTA *et al.*, 1998; NOGUEIRA, 2003). Devido a essa habilidade, a *S. alterniflora* é utilizada no controle de erosão ao longo das linhas de costa e também na estabilização do solo no interior de planos de lama, locais de aterros de dragagem e outras regiões que sofrem a desestabilização dos substratos consolidados, assim como na recuperação de marismas (USDA, 2000).

1.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)

Os HPAs têm origem natural como em depósitos de carvão e petróleo, vulcões, além disso, uma ampla variedade de compostos contendo sistemas de anéis poliaromáticos fusionados é sintetizada por organismos, particularmente bactérias, fungos, plantas superiores e alguns insetos. Porém, as fontes mais importantes para o ambiente têm origem nas diversas atividades antrópicas como efluentes industriais e urbanos, derramamentos acidentais de petróleo, atividades de agricultura, incineração de resíduos, mas principalmente a combustão incompleta de combustíveis fósseis, derivados do petróleo (gasolina e óleo diesel) ou de carvão e madeira (NEFF, 1979; SISINNO, 2003; KENNISH, 2004; BAYONA & ALBAGÉS, 2005).

Os HPAs são hidrocarbonetos cujos átomos estão arranjados em forma de

anéis benzênicos fusionados, podendo estar ligados em arranjos lineares, angulares ou agrupados, com grupos de substituintes possivelmente ligados a dois ou mais anéis. Estes compostos e seus derivados oxigenados e nitrogenados têm ampla distribuição nos sedimentos, água, ar e na biota de estuários. São moléculas relativamente neutras e estáveis, com baixa solubilidade em água e baixa volatilidade. Somente os HPAs de baixo peso molecular com apenas dois anéis benzênicos, como o naftaleno, são considerados voláteis e solúveis (NEFF, 1979; BUKVIC, 2001; KENNISH, 2004). Os HPAs apresentam uma forte afinidade por material particulado, somente um terço destes compostos ocorre dissolvido na coluna d'água e a fotoxidação provavelmente os degrada rapidamente (BUKVIC, 2001). A tabela 1 apresenta os principais HPAs e algumas de suas propriedades físico-químicas.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas dos 16 HPAs principais USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos EUA).

Composto	Peso Molecular (g/mol)	Ponto de fusão (°C)	Ponto de ebulição (°C)	Solubilidade (mg/L)	Log Kow	Log Koc
Naftaleno	128,17	80	218	30	3,40	3,11
Acenaftileno	152,20	92	265	3,93	4,07	1,40
Acenafteno	154,21	96	279	3,47	3,92	3,66
Fluoreno	166,22	116	293	1,98	4,18	3,86
Antraceno	178,12	216	340	7x10 ⁻²	4,60	4,15
Fenantreno	178,23	101	340	1,29	4,50	4,15
Pireno	202,26	149	360	1,4x10 ⁻¹	5,18	4,58
Fluoranteno	202,26	111	-	2,6x10 ⁻¹	5,22	4,58
Benzo(a)antraceno	228,29	158	400	1,4x10 ⁻²	5,61	5,30
Criseno	228,29	255	-	2x10 ⁻³	5,91	5,30
Benzo(a)pireno	252,31	179	496	3,8x10 ⁻³	6,50	6,74
Benzo(b)fluoranteno	252,32	167	-	1,2x10 ⁻³	6,12	5,74
Benzo(k)fluoranteno	252,32	217	480	5,5x10 ⁻⁴	6,84	5,74
Benzo(g,h,i)perileno	276,23	222	-	2,6x10 ⁻⁴	7,10	6,20
Indeno(1,2,3-cd)pireno	276,23	163	-	6,2x10 ⁻²	6,58	6,20
Dibenzo(a,h)antraceno	278,35	262	-	5,0x10 ⁻³	6,50	6,52

Nota: log Kow = coeficiente de partição octanol-água; log Koc = coeficiente de partição octanol carbono. Fonte: Petrobrás, 2001.

Os HPAs apresentam elevado ponto de fusão nas condições normais de temperatura e pressão. Quanto maior o peso molecular menor sua solubilidade e pressão de vapor, correspondendo a um elevado coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}). Este parâmetro é definido como a relação da concentração em equilíbrio de um contaminante orgânico na fase octanol em relação à concentração do contaminante na fase aquosa, sendo importante para avaliar a mobilidade dos compostos orgânicos, pois define a hidrofobicidade do composto. O valor de K_{ow} pode ser usado para estimar o comportamento de compostos orgânicos hidrofóbicos que não interagem eletricamente com a superfície do solo, sendo bastante utilizado na área ambiental (D'AGOSTINHO & FLUES, 2006).

Outro parâmetro comumente utilizado é o coeficiente de partição octanol-carbono (K_{oc}) que corresponde à razão entre as concentrações das substâncias que se encontram dissolvidas na parte gordurosa e na parte aquosa da matéria orgânica. É utilizado para avaliar a tendência à solubilidade dos compostos orgânicos em gorduras e conseqüentemente sofrer sedimentação. Quanto maior este parâmetro, maior será a preferência de acumulação dos poluentes nos sedimentos (VEIGA, 2003). Alguns HPAs, especialmente aqueles com alto peso molecular e mais de 3 anéis, são carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos, como o benzo(a)pireno que é a espécie de HPAs muito mais tóxica.

A ingestão de HPAs por seres humanos ocorre por diversas vias como a inalação de ar, a ingestão de águas, solos, poeiras, contato através da pele, mas também ocorre através do consumo e preparo de alimentos. Diversas espécies de

HPAs são encontradas em carnes defumadas, grelhadas ou fritas, enlatados e conservas e uma série de outros alimentos (MANAHAM, 1994; BUKVIC, 2001; SISINNO, 2003).

A United States Environmental Protection Agency (USEPA) estabeleceu uma lista de 16 HPAs considerados prioritários para monitoramento ambiental, em função de sua carcinogenicidade e ocorrência. A figura 1 apresenta os 16 HPAs listados pela USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos EUA).

















Nomenclatura (IUPAC)	Estrutura	Efeito	Nomenclatura (IUPAC)	Estrutura	Efeito
Naftaleno		tóxico	Acenaftileno		mutagênico
Acenafteno		mutagênico	Fluoreno		mutagênico
Antraceno		mutagênico	Fenantreno		tóxico e mutagênico
Fluoranteno		carcinogênico e mutagênico	Pirceno		carcinogênico e mutagênico
Criseno		carcinogênico e mutagênico	Benzo (a) antraceno		carcinogênico e mutagênico
Benzo (b) fluoranteno		carcinogênico e mutagênico	Denzo (k) fluoranteno		carcinogênico e mutagênico
Benzo (a) pireno		carcinogênico e mutagênico	Dibenzo (a,h) antraceno		carcinogênico e mutagênico
Benzo (g,h,i) perileno		carcinogênico	Indeno (1,2,3 cd) pireno		carcinogênico

Figura 1. Estruturas químicas e efeitos tóxicos dos 16 HPAs considerados poluentes prioritários pela USEPA (SIMS *et al.*, 1988).

O destino dos HPAs e outros contaminantes orgânicos no ambiente está associado com processos bióticos e abióticos, incluindo volatilização, fotoxidação,

oxidação química, bioacumulação e transformação por microorganismos. A atividade microbiana tem sido julgada como a principal causa de remoção de HPAs (DAANE *et al.*, 2001). Os HPAs depositam-se nos sedimentos de fundo, sofrendo bioacumulação, biotransformação e biodegradação pelos organismos bentônicos. Em sedimentos anóxicos, no entanto, HPAs são degradados muito lentamente e podem persistir indefinidamente (KENNISH, 2004).

A persistência no ambiente aumenta com o número de anéis fusionados e com o grau de condensação. A meia-vida no solo pode variar de 3 semanas, para o naftaleno, à 300 semanas, para o benzo[a]pireno. Os compostos de baixo peso molecular podem ser mais facilmente degradados, enquanto que as espécies alifáticas e aromáticas de alto peso molecular são mais resistentes a biodegradação microbiológica e podem persistir por muitos anos no ambiente (KENNISH, 2004).

A susceptibilidade à degradação dos HPAs possibilita o acompanhamento evolutivo de derrames e eventos de poluição podendo ser utilizados como biomarcadores da contaminação por petróleo. A partir destas características é possível determinar se o derrame é recente ou não, e até mesmo as fontes dessa contaminação, através das estruturas encontradas na matriz amostral (YUNKER & MACDONALD, 2003; GARCIA, 2004).

1.2 Remediação de ambientes impactados

O Brasil possui legislação e normas específicas para tratar a questão dos resíduos industriais. Pode-se citar a Constituição Brasileira em seu Artigo 225, que

dispõe sobre a proteção ao meio ambiente; a Lei 6.938/81 estabelece a Política Nacional de Meio Ambiente; a Lei 6.803/80 dispõe sobre as diretrizes básicas para o zoneamento industrial em áreas críticas de poluição e as resoluções do CONAMA 257/263 e 258 dispõem, respectivamente, sobre pilhas, baterias e pneumáticos. A busca pelo desenvolvimento sustentável representa, certamente, uma das maiores preocupações dos setores produtivos atualmente, independente do ramo de atividades (SALVADOR & MIRANDA, 2003). A implantação de Sistema de Gestão Ambiental em uma empresa garante a redução da carga poluidora gerada, envolvendo a revisão do processo produtivo para melhorar o desempenho ambiental da organização, reduzindo o consumo de matéria-prima e insumos e as emissões de poluentes e resíduos. A certificação desses sistemas é um mecanismo que permite que se formalize a internalização do sistema e dos instrumentos previstos na política ambiental da organização (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE).

Um dos campos mais promissores da biotecnologia é a aplicação de técnicas de remediação *in situ* destes meios contaminados através do tratamento biológico, a biorremediação. A biorremediação explora a capacidade dos microorganismos, especialmente de bactérias e fungos, de degradar muitos tipos de resíduos, tornando-os substâncias mais simples e menos tóxicas. É particularmente usada para a remediação de depósitos de lixo e solos contaminados com compostos orgânicos semivoláteis, como os HPAs. Para que uma técnica de biorremediação funcione efetivamente, os resíduos devem ser susceptíveis à degradação biológica e estar presentes sob uma forma física

acessível para os microorganismos e estes, devem estar disponíveis. Além disso, as condições ambientais devem ser adequadas, como pH, temperatura e nível de oxigênio (BAIRD, 2002). Na biorremediação, são usadas várias estratégias baseadas na propriedade dos microorganismos de evoluir rapidamente - devido a seu curto ciclo reprodutivo – desenvolvendo, assim, características que permitem o uso da fonte de alimento mais próxima, mesmo que sejam resíduos químicos.

A escolha da estratégia de biorremediação mais apropriada para tratar um local é determinada por vários fatores, tais como as características do poluente presente (natureza, concentração e biodisponibilidade) e a composição em termos de nutrientes e população microbiana presente no local.

Os hidrocarbonetos são fontes satisfatórias de carbono e energia para o crescimento de algumas células microbianas. A complexidade do substrato determina a facilidade e velocidade de consumo ou degradação. As moléculas mais complexas requerem maior atividade microbiana, por causa dos muitos possíveis subprodutos que sua degradação pode originar.

O tratamento do solo conhecido como *landfarming* de acordo com a NBR 13894 (1997), corresponde ao método de tratamento onde um substrato orgânico de um resíduo é biodegradado na camada superior do solo (CASTRO *et al.*, 2004). Os solos contaminados são misturados a corretores de solo, como nutrientes, e são então lavrados periodicamente para a aeração do sistema. Os poluentes são degradados, transformados ou imobilizados por processos biológicos e por oxidação. São muito utilizados para o tratamento de hidrocarbonetos de petróleo e outros compostos menos voláteis e biodegradáveis.

A biodegradação de petróleo por microrganismos no *landfarming* só ocorre na interface água-óleo, para isso, o petróleo deve ser misturado primeiro com um substrato úmido. Pode levar até três anos para que a maior parte seja degradada, porém, o processo pode ser acelerado pela aeração e aplicação de fertilizantes.

Para a utilização de *landfarming*, é necessária uma grande área, situada bem longe do abastecimento de água potável e o solo não pode ser permeável. Depois que o óleo for degradado, o solo pode ser utilizado para o cultivo de uma grande variedade de árvores e plantas herbáceas, incluindo gramíneas.

No processo de *landfarming*, a atividade microbiológica converte compostos orgânicos em constituintes minerais e húmus, enquanto os metais pesados são precipitados. A ação dos microrganismos decompõe os hidrocarbonetos até a forma de CO₂ e água. O uso do *landfarming* para borras oleosas geralmente produz resultados satisfatórios e se as condições de manejo forem adequadas, nenhuma poluição de lençol freático ou outro risco ambiental são documentados (TEURES, 2005). O local deve ter um sistema de drenagem e deve passar pelo tratamento de efluentes, de acordo com a natureza do efluente. Devem ser monitorados e controlados os seguintes parâmetros: a incorporação do resíduo (arado), deve ser realizada a coleta de materiais lixiviados, o solo deve ser impermeabilizado e (argila ou membrana), controle de umidade (irrigação), os níveis de oxigenação, pH, nutrientes, e temperatura. A oxigenação e os nutrientes são controlados pela aragem ou ventilação forçada, adição de macronutrientes (TOCCHETTO, 2007).

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas através do uso de vegetação após o

processo de *landfarming* para otimizar a dissipação dos compostos tóxicos no solo reduzindo a carga de contaminante total e proporcionando a reutilização do solo após o tratamento biológico (TEURES, 2005). A utilização de múltiplas técnicas de biorremediação intensifica o processo de remediação e consiste em uma ótima solução para a remoção de contaminantes orgânicos persistentes do ambiente (HUANG *et al.*, 2005).

1.3 Fitorremediação

A fitorremediação é o uso de certas plantas para recuperar o solo, sedimentos, o ar e a água contaminados com compostos orgânicos e inorgânicos (PIRES *et al.*, 2005). O nome é uma expansão de um antigo processo que ocorre naturalmente nos ecossistemas através dos ciclos dos constituintes orgânicos e inorgânicos das plantas (ZYND, 2005).

A técnica pode ser utilizada para a remoção de vários tipos de compostos como metais (chumbo, zinco, cobre, cádmio, níquel, mercúrio); compostos inorgânicos (nitrato, amônio, fosfato), elementos radioativos (urânio, célio, estrôncio); hidrocarbonetos derivados de petróleo, pesticidas e herbicidas, explosivos (TNT, DNT); solventes clorados e resíduos orgânicos industriais, entre outros (ITRC, 2001; BAIRD, 2002; DINARDI *et al.*, 2003, PILON-SMITS, 2005).

Os vegetais podem atuar diretamente, absorvendo, acumulando ou metabolizando os compostos nos tecidos, ou indiretamente, alterando as condições físico-químicas do sedimento, propiciando a imobilização ou alteração química de compostos tóxicos. Os mecanismos diretos são a fitoextração,

fitodegradação e fitovolatilização e os indiretos são a fitoestabilização e fitoestimulação/rizodegradação (DINARDI *et al.*, 2003; ZYNDA, 2005; ITRC, 2001). A figura 2 ilustra os principais mecanismos que os poluentes podem sofrer durante a fitorremediação, segundo PILON-SMITS (2005).

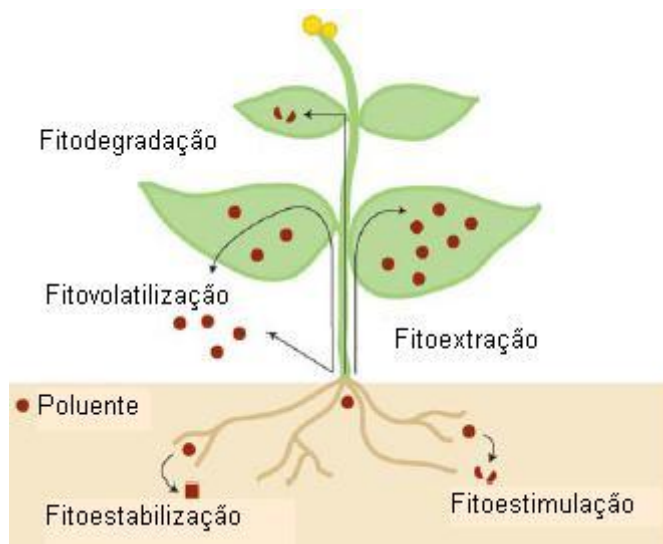


Figura 2. Vias possíveis dos poluentes durante a fitorremediação. O poluente pode ser estabilizado ou degradado na rizosfera, seqüestrado ou degradado nos tecidos ou volatilizado. Fonte: PILON-SMITS, 2005.

Para poluentes orgânicos biodegradáveis os mecanismos de fitorremediação compreendem a rizodegradação ou fitoestimulação, a fitodegradação ou fitovolatilização. A primeira explora o efeito estimulante que as raízes proporcionam aos processos microbiais e as alterações físico-químicas na rizosfera. Essa atividade é proveniente de proteínas e enzimas produzidas e exudadas pelas plantas ou organismos do solo (bactérias, fungos e leveduras). Os contaminantes podem ser metabolizados diretamente por essas enzimas, degradando, metabolizando ou mineralizando os compostos e os transformando

em formas inofensivas ou como fonte de energia para as plantas ou microorganismos presentes no solo (ITRC, 2001). Na fitodegradação a planta metaboliza os poluentes orgânicos em compostos menos tóxicos e os incorpora nas células vegetais por enzimas específicas. A fitovolatilização onde o contaminante é assimilado pela planta e liberado para a atmosfera através da transpiração da planta (JONER & LEYVAL, 2003; BAIRD, 2002).

Tendo em vista que a maior parte das espécies de HPAs tem grande estabilidade química e possuem tempo de residência muito superior ao período empregado no experimento, considerou-se para o presente estudo, que esses compostos apresentaram um comportamento conservativo. Essa abordagem pode apresentar algumas limitações, uma vez que não se considera a possível transformação das espécies de HPAs pelo metabolismo da planta.

Como discutido anteriormente, a hidrofobicidade dos compostos orgânicos, que é indicada pelo coeficiente de partição octanol-água (k_{ow}), define a sua afinidade por tecidos lipídicos, determinando assim, a sua tendência em acumular nos tecidos biológicos e tecidos vivos. Assim, irá afetar a absorção dos compostos pelas raízes e a translocação para o interior da planta. Em geral, compostos orgânicos moderadamente hidrofóbicos ($\log k_{ow}$ entre 0,5 e 3,0) são mais rapidamente absorvidos e translocados dentro das plantas. Os compostos lipofílicos (hidrofóbicos) também podem ser confinados nas superfícies das raízes não podendo ser posteriormente translocados para dentro da planta (ITRC, 2001).

As plantas exercem um papel importante na degradação dos HPAs por influenciar na sua biodisponibilidade. Conforme as raízes se desenvolvem, elas

penetram através do solo, expondo contaminantes que estavam trapeados no solo e que estavam inacessíveis, aumentando assim, a sua disponibilidade para a degradação. Além disso, compostos são exudados através das raízes e de microorganismos associados que aumentam a dessorção dos contaminantes do solo, além de agirem como surfactantes, aumentando a concentração disponível do contaminante no solo (PARRISH *et al.*, 2005). As plantas também transferem oxigênio pelas raízes para o sedimento adjacente, o que facilita as transformações aeróbicas. As substâncias que as plantas liberam no solo incluem ligantes quelatos e enzimas, os primeiros podem diminuir a toxicidade de um metal, por exemplo, mediante sua complexação, e as últimas podem biodegradar poluentes orgânicos (BAIRD, 2002; DINARDI *et al.*, 2003).

Os mecanismos de translocação não são bem conhecidos, mas os estudos apontam que a absorção pelas plantas é função de vários fatores como a lipofilicidade da planta, o conteúdo orgânico do solo e o coeficiente octanol-água (k_{ow}) dos compostos. (TRAPP *et al.* 1990; WATTS *et al.*, 2006;). A solubilidade indica a mobilidade dos compostos no solo e o k_{ow} indica a propensão de ser absorvido na fase orgânica. O transporte via xilema na planta é baseado em água, assim os compostos menos solúveis em água, terão mais dificuldade de entrar nos tecidos vegetais (KIPOPOULOU *et al.*, 1999; GAO & ZHU, 2004; WATTS, *et al.*, 2006).

Diversos autores destacam a fitorremediação como técnica para a recuperação de ambientes contaminados por hidrocarbonetos poliaromáticos (KIPOPOULOU *et al.*, 1999; BAKKER *et al.*, 2000; BUKVIC, 2001; DAANE *et al.*,

2001; TRAPP & KARLSON, 2001; TISCHER & HÜBNER, 2002; HUANG *et al.*, 2005; PARRISH *et al.*, 2005; TEURES, 2005, WATTS *et al.*, 2006; DENYS *et al.*, 2006). As plantas de banhados e marismas possuem populações diversificadas de bactérias associadas à rizosfera, que são capazes de degradar HPAs, apresentando um grande potencial para a remediação de solos contaminados. Exemplos como a *Spartina alterniflora*, *Juncus gerardi*, *Phragmites australis* entre outras, vem sendo estudadas na fitorremediação de ambientes contaminados por contaminantes orgânicos (DAANE *et al.*, 2001, DOWTY *et al.*, 2001).

1.4 *Spartina alterniflora*

Ocupa as zonas mais baixas de estuários em diversas regiões costeiras ao longo do continente americano (COSTA & DAVY, 1992). Como vegetação típica de marismas da região sul do Brasil, a *Spartina alterniflora* apresenta-se como espécie dominante das porções meso-euhalinas freqüentemente alagadas.

Regiões entremarés de marismas do estuário da Lagoa dos Patos são recobertas por plantas halófitas anuais e perenes, alagadas por águas salobras.

A *Spartina alterniflora* é uma planta herbácea que apresenta variação sazonal da sua biomassa e produtividade, e sua decomposição tem importante papel na ciclagem de metais e para a macrofauna bêntica existente (COPERTINO, *et al.*, 1997). É tolerante a flutuações de salinidade e profundidades da coluna d'água. Reproduz-se rapidamente por propagação vegetativa, produzindo novas hastes num grande sistema de rizomas subterrâneos. Também é adaptada para uma ampla variedade de solos, desde areia grossa a argilas. O desenvolvimento e

a produtividade parecem ser maiores em solos com maiores conteúdos de finos (como argilas e silte). Solos com teores muito altos de matéria orgânica apresentam problemas estruturais e tem demonstrado ser problemáticos para o desenvolvimento da espécie (USDA, 2000). Apresenta uma grande abundância de tecidos aerênquimatosos, interconectando folhas, talos, rizomas e raízes. Esses tecidos transportam gases, CO₂ e O₂, permitindo a entrada de ar rico em oxigênio aos sedimentos anóxicos alagados, e o dióxido de carbono da respiração das raízes é levado para a atmosfera.

A espécie já foi avaliada em estudos envolvendo derrames de óleo, avaliando a sua capacidade de recolonização após o derrame (LINDAU, *et al.*, 1999; PEZESHKI, 2000; LIN, *et al.*, 2002) os efeitos da acumulação de metais em seus tecidos (LACERDA, 1997; MARINS *et al.*, 1997; MONTAGNOLLI, 1999) assim como o seu uso em projetos de fitorremediação e as diversas respostas da espécie aos contaminantes (PEZESHKI, 2000; MENDELSSOHN & LIN, 2003). Além disso, também já foram realizados estudos sobre a acumulação de HPAs em *Spartina alterniflora* (WATTS *et al.*, 2006) e a fitorremediação de água produzida e assimilação de nitrogênio amoniacal (GOMES NETO, 2008).

1.5 JUSTIFICATIVA

O Pólo Petroquímico de Triunfo (RS) é composto por uma série de indústrias implantadas desde o início da década de 1980. A produção do Pólo envolve o processamento da nafta como matéria prima básica, e dela derivam diversos produtos como eteno, propeno, butadieno, MTBE (Éter metil-t-butílico) e

solventes. Estes são produzidos e fornecidos pela COPESUL (Companhia Petroquímica do Sul), que é a central de matérias-primas do Pólo Petroquímico.

As indústrias que formam o complexo apresentam programas próprios de monitoramento e recuperação do meio ambiente, a fim de assegurar o menor impacto ambiental decorrente de suas atividades. A COPESUL segue os princípios de desenvolvimento sustentável, contribuindo para a preservação dos recursos naturais e desenvolvendo uma série de projetos que visam reduzir ao máximo a geração de rejeitos, valorizando os resíduos e adotando tecnologias de produção mais limpa. Entretanto, apesar das diversas técnicas empregadas pela empresa para a eliminação dos resíduos, existem ainda, resíduos perigosos que não são reaproveitados e que podem apresentar características de inflamabilidade, corrosividade, toxicidade ou patogenicidade. Estas substâncias são classificadas como os resíduos de linha vermelha pelo Sicecors (Sistema Centralizado de Controle de Resíduos Sólidos). O Sicecors foi implantado pela COPESUL e é operado pela Corsan (Companhia Rio Grandense de Saneamento). Centraliza a coleta, o tratamento e a disposição dos resíduos sólidos gerados pelo Pólo Petroquímico do Sul (COPESUL – Meio Ambiente, 2007).

Os resíduos de linha vermelha são depositados em *landfarming* para tratamento até a decomposição em CO₂ e H₂O pela ação de microorganismos. Porém, no *landfarming* a decomposição é lenta e é necessária uma grande área para o tratamento. Os componentes voláteis tendem a evaporar durante a biodegradação do resíduo e, além disso, este tratamento não é eficiente para quantidades significativas de metais pesados que podem inibir o crescimento

microbiano. Dessa forma, é de interesse para o setor industrial a busca por tecnologias que eliminem definitivamente esses contaminantes.

O uso de solos ricos em resíduos e contaminantes petroquímicos como os HPAs teve por intenção verificar o comportamento, quanto à absorção de espécies de HPAs pela *Spartina alterniflora*, deste material que representa uma das partes mais persistentes e tóxicas do petróleo (poliaromáticos). Em um derrame na parte interna do estuário essa fração tenderia a se acumular nos sedimentos marginais lagunares seriam um dos primeiros segmentos a serem atingidos, justamente onde a *Spartina alterniflora* é dominante. Considera-se importante a capacidade de resposta desse vegetal a um derrame de petróleo e assim para estudo e gerenciamento ambiental do sistema estuarino.

A Universidade Federal do Rio Grande (FURG) em convênio com a Agência Nacional do Petróleo (ANP), através do Programa de Recursos Humanos PRH-27, têm realizado diversos estudos acerca do comportamento de hidrocarbonetos de petróleo no ambiente estuarino da Lagoa dos Patos (BAISCH *et al.*, 2000; CORDEIRO, 2003; GARCIA, 2004; PORTZ, 2005; BARBOSA, 2005; SILVA *et al.*, 2005; PEDERZOLLI, 2006, FRONZA, 2006), sua acumulação nos organismos (BARBOSA, 2005; GANDRA, 2005), assim como técnicas para a remediação de ambientes contaminados por óleo como a biorremediação, (BENTO, 2005; OLIVEIRA, 2006; SILVA, 2007), e a fitorremediação (GOMES NETO, 2008).

A cidade de Rio Grande apresenta importante atividade portuária para a região dentro do MERCOSUL, com o maior porto do estado do Rio Grande do Sul. A indústria do petróleo atua nas atividades de refino, armazenamento, transporte e

distribuição de combustíveis. Estão presentes além da Refinaria Ipiranga, terminais marítimos de transporte e estocagem de petróleo e derivados, postos de abastecimento, além disso, recentemente foram estabelecidas na região, instalações para a construção de plataformas de petróleo da Petrobrás. Assim, a região torna-se vulnerável à ocorrência de acidentes e a poluição crônica por petróleo, tornando-se importante o desenvolvimento de técnicas que possibilitem a recuperação do ambiente em locais já contaminados, ou que venham a sofrer contaminação.

1.6 Objetivos

- ❖ Avaliar sob condições controladas de cultivo a bioacumulação de HPAs pela grama de marisma *Spartina alterniflora*.
 - ❖ Avaliar a acumulação das espécies de HPAs na diferentes partes da planta.
 - ❖ Avaliar o potencial de fitorremediação de HPAs pela espécie
 - ❖ Testar a possibilidade do uso do solo de *landfarming* para a fitorremediação pela *S. alterniflora*.

2 METODOLOGIA

A mobilidade das diferentes formas de HPAs foi avaliada em três condições experimentais: 1) cultivo em solo proveniente do *landfarming* do sistema de tratamento de resíduos do Pólo Petroquímico do Sul (Triunfo, RS); 2) cultivo em solo não contaminado coletado da região sul do estado do Rio Grande do Sul; 3) solo proveniente do *landfarming*, porém sem a presença de *Spartina alterniflora*. O experimento foi realizado em estufa não climatizada no Laboratório da Vegetação Costeira do Campus Carreiros da FURG e teve duração de 90 dias, de agosto a novembro de 2007.

2.1 Substratos utilizados no experimento

2.1.1 Solo contaminado

O experimento realizado em solo contaminado consistiu na utilização direta do solo de *landfarming* utilizado pelo sistema de tratamento de resíduos (SICECORS) do Pólo Petroquímico Sul (Triunfo, RS) que foi fornecido pela empresa COPESUL (Companhia Petroquímica do sul). Este solo de *landfarming* contendo vários tipos de poluentes, incluindo além de compostos orgânicos, metais e resíduos oleosos. Desta forma foi utilizado a fim de representar uma condição de alta concentração de HPAs. A COPESUL realizou a coleta e armazenamento do resíduo, que foi transferido para recipientes de 80 litros e então transportado para as instalações da FURG (figura 3).



(a)

(b)

Figura 3. a - Sistema de *Landfarming* do SICECORS. b - recipientes contendo o solo de *landfarming* para transporte.

Antes de ser utilizado, o solo contido em todos os recipientes foi homogeneizado e quarteadado. Foram retiradas alíquotas para as análises das condições físico-químicas iniciais do solo e conteúdo inicial de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (tabela 3).

2.1.2 Solo não contaminado

O solo sem contaminação foi coletado na região do Rio Piratini, (0344261E e 6468446S – UTM), na entrada de uma fazenda, próximo à BR-166, Km 557, no município de Pedro Osório (RS). Como o local encontra-se na região rural, era esperado que o solo apresentasse apenas quantidades de HPAs dentro da faixa considerada de origem natural desses compostos. O solo foi coletado após a remoção da camada superior, a uma profundidade de aproximadamente 20 cm desta e foi levado às instalações do Laboratório de Oceanografia Geológica. Também foram retiradas amostras para a caracterização inicial das condições do solo antes da montagem do experimento (tabela 3).

2.1.3 Coleta de plantas

Plantas de *S. alterniflora* foram coletadas de uma marisma na região estuarina da cidade de Rio Grande, localizada na Ilha do Terraplino (figura 4). A coleta foi realizada retirando-se blocos de sedimento contendo várias hastes de *S. alterniflora* (figura 5). As plantas foram levadas à casa de vegetação da Unidade de Produção de Halófitas, do Instituto de Oceanografia da FURG, localizada no Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de Carvalho Rios”. Neste local, as plantas foram individualizadas e transplantadas para bandejas contendo uma mistura de areia de praia e composto orgânico comercial (1:1). As plantas foram mantidas durante 4 semanas em aclimação e regadas periodicamente com água da torneira.



(a)



(b)

Figura 4. a - Imagem de satélite (Google Earth) da Ilha do Terraplino ($32^{\circ}02'37''S$, $52^{\circ}04'15''W$). b – fotografia aérea da Ilha. Local – coleta dos espécimes de *Spartina alterniflora*.

a)



(b)



(c)

Figura 5. a - coleta das plantas do ambiente. b – casa de vegetação do Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de Carvalho Rios”. c – bandejas contendo as plantas durante o período de aclimação.

2.2 Montagem do Experimento

Após o período de aclimação, as plantas foram levadas à casa de vegetação da Unidade de Produção de Halófitas da FURG, localizada no Campus Carreiros da FURG, onde foram novamente individualizadas e transplantadas para recipientes contendo o substrato contaminado e não contaminado (figura 6). Foram utilizadas 240 plantas, medindo entre 9,6 – 62,7 cm ($27,7 \pm 0,71$; média \pm erro padrão). Antes do transplante, as plantas foram lavadas e as folhas mortas

foram retiradas. Foram utilizadas apenas as hastes saudáveis para a montagem do experimento.

Foram utilizados 9 recipientes de vidro, utilizando 32 L de sua capacidade total. O experimento foi realizado em trélicas, dividido da seguinte forma: 1) cultivo de *S. alterniflora* em solo não contaminado, 2) cultivo da espécie em solo contaminado com solo de *landfarming*, 3) solo de *landfarming* sem o cultivo da espécie. Este foi realizado para o acompanhamento da degradação natural dos compostos (figura 6).

Nos tratamentos com a presença de *S. alterniflora*, foram utilizadas 40 hastes em cada recipiente. As plantas eram regadas periodicamente com água destilada e, semanalmente eram adicionados 10mL, em cada haste de *S. alterniflora*, de solução nutriente padrão *Hoagland* (tabela 2) (BARAC, 2004, CORDAZZO, 2007, REED, 2007). Foram adicionados 10 g NaCl L⁻¹ à solução *Hoagland* para garantir uma condição de salinidade, na qual a espécie apresenta um crescimento ótimo, entre 5 e 10 g NaCl L⁻¹ (CUNHA *et al.*, 2005; USDA, 2000).

Foram feitas coletas de amostras de solo e das plantas ao longo do tempo (0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias). Foram retiradas cerca de 100 g de solo de cada tanque dos três tratamentos. O solo foi retirado da região da rizosfera de cada planta coletada, com o cuidado de remover todos os grãos aderidos às raízes. Era então homogeneizado, quarteado e separado em alíquotas para análises de umidade. O restante foi seco à temperatura ambiente (máx. 30° C), desagregado em graal de porcelana e armazenado em recipientes de vidro. Nas amostras de

solo foram estimados os teores de nutrientes (fósforo e nitrogênio totais) bem como o pH em cada coleta. As concentrações de HPAs foram quantificadas apenas no início do experimento, aos 30 dias, e ao final do experimento (90 dias).

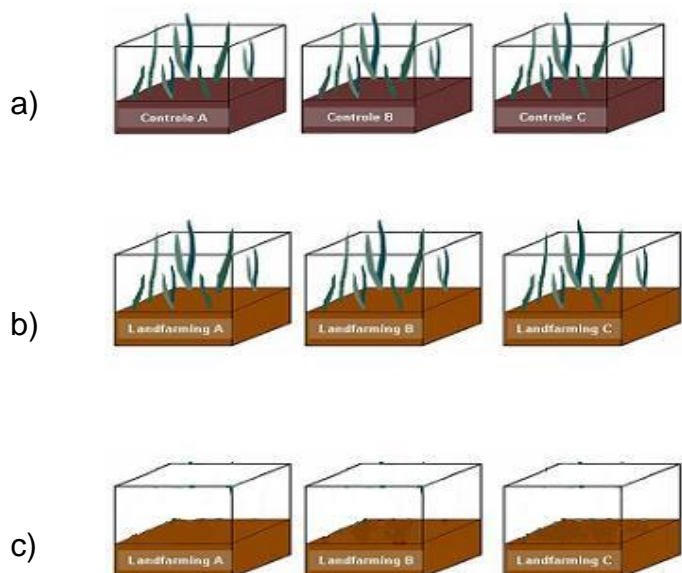


Figura 6. Desenho experimental. a – solo não contaminado, b – solo contaminado com cultivo, c – solo contaminado sem cultivo.

Tabela 2. Solução nutriente utilizada.

Elementos Maiores	Solução Estoque (g/250mL)	Solução trabalho 1 L (ml /L)
$K_2H_2PO_4$	5,44	8
EDTA FeNa	1,25	4
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	27,42	8
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	14,76	8
K_2SO_4	5,44	8
Elementos traços	Solução Estoque (g/1000mL)	Solução trabalho 1 L
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0,01	4
H_3BO_3	0,715	4
$MnCl_2$	0,448	4
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,05	4
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,0312	4

Em cada data de coleta de solo eram também retiradas, aleatoriamente, 5 hastes de cada recipiente. Era feita a biometria da planta, medindo o comprimento total (da base até a extremidade da maior folha), número de folhas vivas e mortas, densidade de raiz e comprimento de cada folha. Assim foi obtido o índice foliar através da soma do comprimento de todas as folhas de cada haste, incluindo de brotos, quando presentes. Eram então separadas em raiz, haste e folhas, limpas com água da torneira, enxaguadas com água destilada e armazenadas para as análises em laboratório. A biometria das plantas foi realizada no início do experimento e em cada uma das coletas, sendo que as plantas eram numeradas para que fosse possível a comparação das medidas ao longo do tempo, avaliando o crescimento da planta. As biomassas de raízes, folhas vivas, folhas mortas e brotos foram secas das plantas à temperatura até 30°C. Este material vegetal foi utilizado para a extração de HPAs.

Para as análises de HPAs na matéria vegetal 5 plantas retiradas de cada recipiente em cada data de coleta foram agregadas em uma única amostra com 15 hastes (somatório das 5 plantas retiradas de cada recipiente). Esse procedimento foi adotado pela pouca quantidade de material vegetal que as plantas apresentavam depois de secas. As amostras de plantas eram refrigeradas até o seu uso nas análises de HPAs, quando então eram moídas em moinho de facas, tipo *Willey*, com facas e câmaras de aço inoxidável e peneiras de 1mm de diâmetro (40 mesh), visando à homogeneização da amostra.

As temperaturas dentro da estufa foram monitoradas através de termômetro de mercúrio de máximas e mínimas.

2.3 Metodologia analítica

2.3.1 Limpeza dos materiais

A vidraria utilizada foi limpa primeiramente com detergente normal. Após essa primeira lavagem, todo o material foi imerso em detergente especial Extran® alcalino da Merck® a 5 %, durante 24 horas. O material foi então abundantemente enxaguado com água corrente e depois com água destilada. O material foi seco em estufa a 105°C, e em seguida limpo com acetona e novamente seco. O material utilizado para as análises de hidrocarbonetos foi ambientado com solvente de uso. Foram realizados brancos de amostras para verificar a pureza dos solventes orgânicos (diclorometano e n-hexano) e reagentes inorgânicos (Na₂SO₄, cobre ativado e sílica), bem como a limpeza da vidraria.

2.3.2 Carbono Orgânico Total

Para a determinação do carbono orgânico total seguiu-se o método descrito por STRICKLAND & PARSONS (1972) e modificado por GAUDETTE *et.al.* (1974). A análise foi realizada nas amostras de solo retiradas em todas as coletas.

A amostra foi pesada e transferida para um erlenmayer onde foi adicionado ácido fosfórico para a eliminação de carbonatos e levado ao aquecimento durante 30 minutos (100 -110°C). Depois foi adicionada uma solução oxidante (H₂SO₄/K₂Cr₂O₇) e novamente levou-se ao aquecimento durante 60 minutos. Após o resfriamento, a amostra foi diluída e titulada com sulfato ferroso amoniacal (0,1N) e indicador ferroína.

2.3.3 Análise de Nutrientes

O acompanhamento de nutrientes ao longo do experimento foi realizado apenas nas amostras de solo, em virtude de haver material vegetal insuficiente para todas as análises. Foram avaliados durante o período de experimento os teores nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) nas amostras de solo retiradas em cada dia de coleta e sempre com o cuidado de não realizar a coleta no dia de aplicação do nutriente. As análises químicas dos nutrientes foram feitas em triplicatas.

2.3.3.1 Fósforo Total

Seguindo o procedimento descrito por RUTTENBERG (1992), as amostras foram pesadas e calcinadas em mufla durante 1 hora, a fim de eliminar a matéria orgânica, presentes no solo. Após a mineralização, o solo foi digerido com solução de ácido clorídrico. Após 16 horas de agitação, a solução foi filtrada para retirar o material em suspensão. Em seguida adicionou-se ácido ascórbico e molibdato de amônio para a formação de um complexo de fosfo-molibdato de cor azulada, possibilitando a determinação da concentração por colorimetria em espectrofotômetro no comprimento de onda de 885 nm.

2.3.3.2 Nitrogênio Total

Para a determinação do nitrogênio total foi usado o método Micro-Kjeldhal, segundo os procedimentos descritos em TEDESCO (1995). Inicialmente, a amostra foi digerida com ácido sulfúrico à 350°C para que todo o nitrogênio

orgânico fosse convertido à forma amoniacal. Então a mistura foi alcalinizada com hidróxido de sódio e toda a amônia pode destilada com vapor d'água. O destilado alcalino foi recebido por uma solução de ácido bórico, a qual foi titulada com ácido sulfúrico diluído.

2.4 Determinação do pH

A medição do pH dos solos foi feita em extrato aquoso pela utilização de um pH-metro da marca Oakton®(modelo pH6/00702-75, Acorn Series), calibrado com padrões de pH 4 e 7, utilizando eletrodo combinado de vidro, de acordo com a metodologia descrita em CAMARGO (1986). As medições foram realizadas em cada dia de coleta. Cada amostra de solo foi agitada em água destilada durante 15 minutos em frascos de plástico e deixou-se descansar durante 30 minutos para proceder à leitura no sobrenadante.

2.5 Umidade

Para a análise de umidade foram pesados dois gramas de amostra seca de solo a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) em uma cápsula de vidro, previamente seca e tarada. Esta cápsula foi levada a uma estufa com temperatura de 105°C por três horas. A amostra foi retirada da estufa e colocada em dessecador até entrar em equilíbrio com a temperatura ambiente, sendo novamente pesada. Este procedimento foi realizado até peso constante.

2.6 Teor de Óleo

O teor de óleo presente no solo foi determinado segundo o método gravimétrico descrito por RIZZO & RAIMUNDO (2003), utilizando a técnica de ultrassom para a extração dos hidrocarbonetos. O extrato obtido foi transferido para um balão de fundo chato, previamente tarado, e levado a um evaporador rotativo, para a total evaporação do solvente através do uso de fluxo de nitrogênio. O balão foi então novamente pesado e através da diferença entre o peso inicial e final dos balões, determinou-se a concentração das amostras.

2.7 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)

A extração dos HPAs dos solos e dos tecidos da *Spartina alterniflora* e a cromatografia de adsorção em coluna foram realizadas no Laboratório de Geoquímica do Laboratório de Oceanografia Geológica - FURG.

Tanto as amostras de solo quanto as de plantas (raiz, hastes, folhas e folhas mortas) foram analisadas de acordo com a metodologia descrita em “*Reference methods for marine pollution studies, n° 20: determinations of petroleum hydrocarbons in sediment*” (UNEP, 1991), seguindo o método 8270C - EPA. A figura 7 apresenta um fluxograma, resumindo as etapas básicas da metodologia de determinação de HPAs.

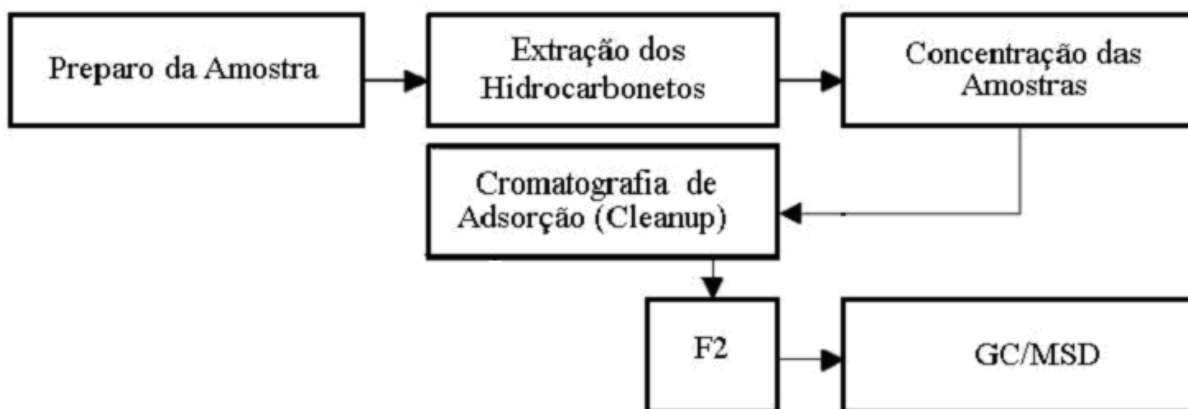


Figura 7. Fluxograma do método de análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. F2: fração que contém os HPAs.

Para a extração de hidrocarbonetos as amostras secas foram pesadas e foram adicionados padrões surrogados (p-terfenil d-14) para a verificação da eficiência de extração da metodologia. As amostras ficaram em repouso durante 8 horas para que os padrões adicionados pudessem interagir com a amostra e fosse possível avaliar a recuperação da metodologia.

As amostras foram levadas à aparelhagem Soxhlet juntamente com uma mistura de solvente (50% Diclorometano e 50% n-Hexano), ambos com pureza de grau pesticida. A extração ocorreu durante 12 horas, e foram adicionadas pequenas lâminas de cobre, limpas com solução de ácido clorídrico, álcool etílico e n-hexano, para a eliminação de possíveis compostos de enxofre, contaminantes nas análises cromatográficas.

2.8 Cromatografia de adsorção em coluna de vidro (*Clean-up*)

Os extratos obtidos na extração foram concentrados em evaporador rotativo até aproximadamente 3mL, e uma pequena quantidade de sulfato de sódio foi adicionada para garantir a ausência de água na amostra. A seguir, partiu-se para a cromatografia de adsorção em coluna de vidro (*clean-up*) para a separação da fração de hidrocarbonetos fração aromática (F2).

A coluna para o *clean-up* foi empacotada com sulfato de sódio (Na_2SO_4), sílica (SiO_2) e alumina (AlO_3) previamente calcinados a 200°C durante 4 horas, sendo a lã de vidro utilizada extraída durante 4h com hexano/diclorometano, com a finalidade de eliminar os resíduos orgânicos que pudessem interferir nas análises. Para separar a fração de hidrocarbonetos alifáticos, primeiramente foi utilizado n-hexano e para a obtenção da fração F2, contendo os aromáticos, utilizou-se primeiramente diclorometano em n-hexano (20%) e em seguida diclorometano em n-hexano (50%).

As frações finais foram concentradas em um evaporador rotativo, até o volume aproximado de 1mL. Foram adicionados os padrões cromatográficos deuterados (naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12, e perileno-d12). Foram então aferidas a 1mL em balão volumétrico e transferidas para “vials” previamente limpos e rotulados.

2.9 Cromatografia Gasosa GC/MS – CONECO

A determinação dos Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos foi realizada pelo Laboratório de Contaminantes Orgânicos e Ecotoxologia Aquática – CONECO - FURG.

Os HPAs foram determinados utilizando um cromatógrafo de fase gasosa equipado com espectrômetro de massas (Perkin Elmer Clarus 500 – *Gas Chromatograph Mass Spectrometer*) e amostrador automático. Foi utilizada uma coluna cromatográfica capilar (Elite-5MS - 5% Diphenil – 95% Dimetilsiloxano) de 30 metros, 0,25mm DI e 0,25 μ m de espessura de filme. A programação de temperatura iniciou em 40°C com aumento à taxa de 10°C.min⁻¹ até 60°C, aumento da temperatura na razão 5°C.min⁻¹ até 290°C, sendo mantida por 5 min e aumento da temperatura na razão 10°C.min⁻¹ até 300°C, sendo mantida por 10 minutos. A temperatura do injetor foi mantida a 280°C no modo splitless (fluxo do splitt 50:1 após 1 min). A linha de transferência foi mantida a 280°C e a fonte do detector a 200°C com energia de 70ev. Foi utilizado He como gás carreador em um fluxo de 1,5 mL.min⁻¹ e o volume injetado de amostra foram de 1 μ L, através do monitoramento seletivo de íons como modo de aquisição e quantificação por padronização interna utilizando os padrões deuterados: Naftaleno-d8, Acenafteno-d10, Fenantreno-d10, Criseno-d12 e Perileno-d12. A identificação dos compostos foi baseada no espectro de massas individuais e nos tempos de retenção comparados com padrões autênticos e bibliotecas. A recuperação da metodologia foi avaliada através da adição do p-terfenil-d14 como padrão surrogado. A curva de calibração dos HPAs foi construída através de regressão linear por

padronização interna, excluindo-se a origem, utilizando-se os níveis de concentração de 5 a 1000 ng.mL⁻¹. As curvas foram divididas em dois níveis: nível baixo (5, 10, 20, 50 e 100 ng. mL⁻¹) e nível alto (50, 100, 250, 500 e 1000 ng.mL⁻¹) para obter uma melhor linearidade.

A identificação dos hidrocarbonetos foi feita por comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massas dos compostos padrões associado com a biblioteca interna do equipamento. A quantificação foi realizada por curvas padrão de cada analito.

O limite de detecção (LD) dos HPAs foi calculado diluindo-se a concentração mais baixa da curva de calibração e analisada por cromatografia de fase gasosa de modo a obter-se uma relação sinal/ruído entre 2,5 a 5. Escolhida a concentração esta é analisada 7 vezes e o desvio padrão determinado, calculando-se o limite de detecção por: $LD = t_{\text{student}} * S$. Onde t_{student} ($n=7, \alpha = 0,99$) = 3,143; s = desvio padrão das réplicas (IGNÁCIO, 2007). A tabela com os valores obtidos pelo Laboratório de Contaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática – CONECO – FURG estão apresentadas em anexo no item 7.3.

O limite de quantificação foi estipulado como o padrão de calibração de menor concentração da curva analítica. Para o solo sem contaminação o LQ foi 0,25 µg.Kg⁻¹, considerando a extração em 20g de solo, e para o solo contaminado com e sem cultivo foi 1,66 µg.Kg⁻¹, considerando a extração de HPAs em 3g de solo.

2.10 Tratamento estatístico

As diferenças entre os tratamentos e ao longo do tempo nos teores de nutrientes (COT, N e P) foram verificadas por análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas e teste a posteriori de *Tukey*, com um grau de significância de 5%. Para avaliar o desenvolvimento das plantas, foi aplicado o mesmo tipo de teste, verificando as diferenças existentes nos dados de biometria colhidos durante o experimento. As normalidades e homogeneidade das variâncias foram verificadas pelos testes de *Kolmogorov-Smirnov* e *Levene*, respectivamente (ZAR, 1984), considerando, para ambas, um nível de significância de 0,05.

Para os hidrocarbonetos foi aplicado tratamento estatístico multivariado. Foi aplicada a técnica de Análise Fatorial e de Componentes Principais (HAIR, 1995). Foi utilizada a análise multivariada para comparar o comportamento dos HPAs encontrados nos diferentes compartimentos da planta e comparar com o comportamento dos mesmos no meio utilizado.

A análise de componentes principais é uma técnica utilizada para a identificação de padrões, que podem ser vistas por um método de projeção onde a intenção é preservar quanto for possível a variância do conjunto original de dados. A variância total é considerada e os primeiros fatores representam a estrutura fatorial total. Determina-se o número mínimo de fatores necessários para explicar o máximo de variação do conjunto original de dados. A análise fatorial busca a redução dos dados e a sumarização. Através das relações internas de um conjunto de variáveis ocorre a substituição por um conjunto menor de fatores, justificando a maior parte da variância comum do conjunto original dos dados, com

a menor perda das informações.

Tanto a análise de componentes principais quanto a análise fatorial foram realizadas com os dados de concentração em mg.kg^{-1} das amostras de solo, e com os valores normalizados pela biomassa vegetal para as amostras de plantas. Também foram introduzidos nessa análise os teores de nutrientes encontrados no solo.

2.11 Fator de Concentração de HPAs em *Spartina alterniflora*

As concentrações dos contaminantes nas plantas são freqüentemente expressas em termos do chamado fator de concentração. Para organismos vivos é utilizado o fator de bioconcentração (BCF) que indica o grau de afinidade de um poluente pelo organismos (PARAÍBA & SAITO, 2005; IGNÁCIO, 2007). Para as plantas é comum utilizar o fator de concentração em diferentes partes das plantas, como o fator de concentração nas raízes (RCF – *root concentration factor*) e o fator de concentração nas hastes (SCF – *stem concentration factor*), que se trata da taxa entre a concentração (mg.kg^{-1} peso seco) nos tecidos das plantas e a concentração (mg.Kg^{-1} peso seco) presente no solo (KIPOPOULOU *et al.*, 1999; BURKEN, 2003; GAO & ZHU, 2004; WATTS *et al*, 2006).

Com base no procedimento acima exposto, com o objetivo de avaliar a acumulação dos HPAs pela *Spartina alterniflora*, foram calculados os fatores de concentração nas diferentes partes da planta analisadas neste trabalho ao término do experimento. Foram utilizados os valores de HPAs normalizados pela biomassa vegetal e as concentrações em mg.kg^{-1} para o solo. Os parâmetros calculados

foram fator de concentração nas raízes (RCF), fator de concentração nas hastes (SCF), fator de concentração nas folhas (FCF) e o fator de concentração nas folhas mortas (FMCF). Como no experimento os HPAs foram quantificados no início do experimento, em 30 e 90 dias, foram calculados os fatores somente nesses períodos, assim, não foi possível calcular os fatores para todos os compostos, visto que, muitos compostos não foram detectados no solo e nas plantas em todas as datas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos solos utilizados

No presente estudo, foram utilizados dois tipos de solo no experimento. O solo escolhido para ser utilizado no experimento com solo não contaminado apresentou características diversas do solo contaminado utilizado, visto que têm origem de distintos locais e de processos específicos de formação. Este fato teve por objetivo colocar em evidência as diferentes condições do desenvolvimento da espécie.

A tabela 3 apresenta uma caracterização geral dos solos utilizados nesse trabalho.

Tabela 3. Caracterização inicial dos solos utilizados. Percentual de nitrogênio (N), fósforo (P), carbono orgânico total (COT), matéria inorgânica (MI) e matéria orgânica (MO).

Parâmetro		Experimento Solo Não Contaminado	Experimento Solo Contaminado
N (%)		0,045 ± 0,01	0,12 ± 0,01
P (%)		0,003 ± 0,005	0,17 ± 0,1
COT (%)		0,094 ± 0,08	1,25 ± 0,9
MI (%)		93,5	88,6
MO (%)		6,5	11,4
Teor de óleo (%)		2,97	5,06
pH		5,02	7,2
Granulometria	Areia (%)	86	65,4
	Silte (%)	7,7	13,7
	Argila (%)	6,3	20,9

Foi realizada a análise granulométrica dos solos segundo a metodologia descrita em SUGUIO (1973) de peneiração da fração grosseira e pipetagem de finos. O solo não contaminado era mais arenoso do que o solo contaminado, que continha maiores teores de argila e silte. Os solos argilosos são difíceis de aerar e resultam numa baixa concentração de oxigênio quando inundados, dificultando a distribuição e homogeneização dos nutrientes (MESQUITA, 2004). Além disso, esse tipo de solo inibe o crescimento de bactérias aeróbias que oxidam espécies químicas reduzidas, e a conseqüente degradação dos hidrocarbonetos. Ademais, o solo mais argiloso tende a preservar o material betuminoso, por trapeamento ou adsorção nos minerais e na superfície da matéria orgânica. O solo contaminado também apresentou maiores teores de nutrientes que o solo não contaminado (tabela 3.1), provavelmente explicado pelo tratamento de resíduos por *landfarming*, que utiliza a adição de nutrientes para facilitar a biodegradação.

Ambos os solos utilizados apresentaram condições de pH dentro da faixa ótima para a ação dos microorganismos (entre 5 e 7,8). Segundo LEAHY & COLWELL (1990), muitas bactérias heterotróficas e fungos agem em pH perto da neutralidade, mas a faixa ótima para a mineralização de resíduos oleosos no solo varia entre 5 e 7,8. Como os solos são naturalmente ácidos, o solo sem contaminação mostrou-se mais ácido que o solo contaminado, isso se deve ao fato que em projetos de biorremediação, como no *landfarming*, ocorre adição de compostos para elevar a acidez e favorecer o desenvolvimento microbiano. Esse fato determinou que o solo contaminado apresentasse um valor de pH mais elevado do que poderia ser considerado como neutro.

3.2 Condições de Temperatura e pH durante o experimento

A tabela 4 apresenta as temperaturas alcançadas no interior da casa de vegetação no decorrer do experimento.

Tabela 4. Temperaturas (°C) médias, máximas e mínimas na casa de vegetação durante o período de experimento.

Mês	Mínima	Máxima	Média
agosto	11	31	19,8
setembro	5	39	23,6
outubro	12	34	22,6
novembro	13	40	26,3

No início do experimento as temperaturas foram mais baixas, variando entre 11 e 31° C. A primavera apresenta grandes oscilações de temperaturas, sendo mais baixas durante a noite e aumentando durante do dia. A maior

oscilação de temperatura ocorreu nos primeiros 30 dias de experimento, no mês de setembro, chegando a 5°C a mínima durante a noite e 39°C durante o dia. Durante todo o período de experimento, a média das temperaturas mínimas foi de 17,9°C, enquanto a média das máximas foi 29,3°C. As temperaturas mais altas ocorreram ao final do experimento. A figura 8a apresenta a variação das temperaturas média, máximas e mínimas ao longo do experimento.

A temperatura influencia a biodegradação pela alteração na população microbiana. Tipicamente o metabolismo dos hidrocarbonetos pelos microorganismos é máximo à temperatura na faixa de 30 à 40°C. A taxa de degradação dos hidrocarbonetos é acelerada em temperaturas mais altas (ATLAS, 1981). Em relação à *Spartina alterniflora*, o seu metabolismo é fortemente influenciado pela temperatura, e a produção primária da espécie apresenta um crescimento linear até temperaturas de 35° (CUNHA, *et al*, 2005).

Os valores de pH permaneceram praticamente constantes ao longo do tempo (figura 8b). No solo não contaminado o pH manteve-se na faixa entre 5,0 e 5,7 apresentando uma elevação a partir do 15º dia e alcançando o valor máximo em 60 dias de experimento. Nos solos contaminados, com e sem a presença de *Spartina alterniflora*, a variação foi menor, entre 7,1 e 7,4.

O pH afeta principalmente a microbiota. Valores fora da faixa entre 5 – 7,8 podem inativar certas enzimas essenciais à sobrevivência das bactérias. O pH do solo além de influenciar a solubilidade ou a disponibilidade de macro e micro nutrientes, afeta a solubilidade, mobilidade e formas ionizadas dos contaminantes, alterando assim, a mobilidade de compostos potencialmente tóxicos e a

reatividade de minerais (NHIA, 2007).

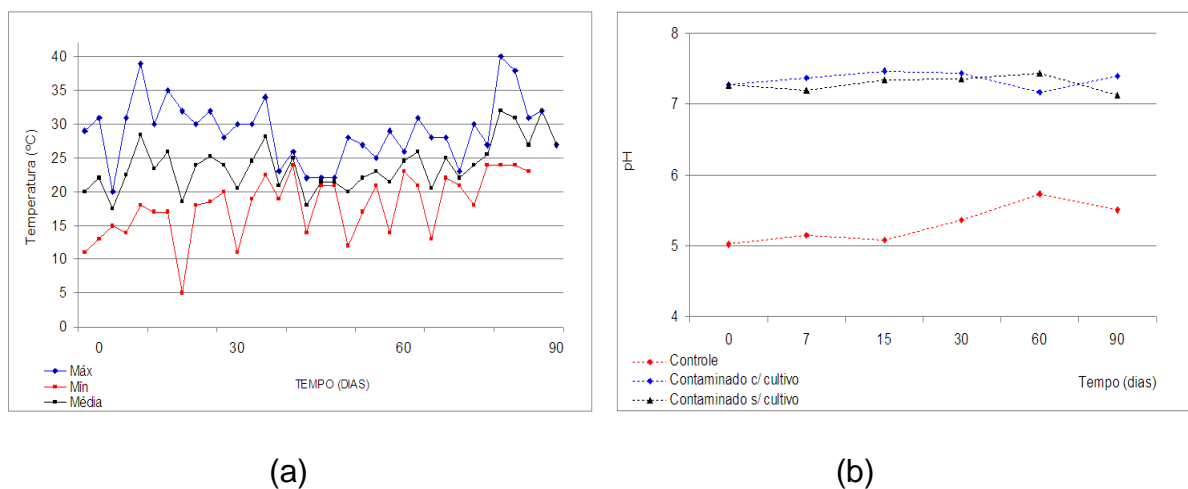


Figura 8. a – variação das temperaturas média, máxima e mínima na casa de vegetação. b – variação do pH durante o período de experimento.

3.3 Carbono Orgânico Total, Nitrogênio Total e Fósforo Total

Segundo a análise de variância para medidas repetidas, as médias dos teores de nutrientes foram significativamente menores no solo não contaminado ($p= 0,0001$) do que solo contaminado durante todo o período de experimento. Já entre os tratamentos contendo o solo contaminado, não houve diferenças significativas. Aparentemente, a presença da *Spartina alterniflora* no solo contaminado em nada alterou as concentrações totais de fósforo, carbono e nitrogênio. A tabela 5 apresenta as médias (\pm desvio padrão) dos teores de nutrientes nos três tratamentos durante o experimento.

Tabela 5. Teores médios (\pm desvio padrão) de nutrientes, nitrogênio (N), fósforo (P) e carbono orgânico total (C), nos três tratamentos em cada coleta realizada.

Caixa/Solo	Tempo do experimento (dias)	% N	% P	% C
Não Contaminado	0	0,045 (\pm 0,01)	0,003 (\pm 0,005)	0,094 (\pm 0,08)
	7	0,019 (\pm 0,02)	0,033 (\pm 0,03)	0,203 (\pm 0,02)
	15	0,039 (\pm 0,01)	0,036 (\pm 0,01)	0,224 (\pm 0,01)
	30	0,022 (\pm 0,02)	0,044 (\pm 0,002)	0,361 (\pm 0,07)
	60	0,047 (\pm 0,006)	0,043 (\pm 0,004)	0,235 (\pm 0,01)
	90	0,008 (\pm 0,004)	0,039 (\pm 0,001)	0,484 (\pm 0,08)
Contaminado com cultivo	0	0,121 (\pm 0,01)	0,174 (\pm 0,10)	1,252 (\pm 0,09)
	7	0,116 (\pm 0,004)	0,117 (\pm 0,002)	1,505 (\pm 0,08)
	15	0,038 (\pm 0,003)	0,118 (\pm 0,02)	2,546 (\pm 0,1)
	30	0,111 (\pm 0,002)	0,211 (\pm 0,03)	2,914 (\pm 0,1)
	60	0,127 (\pm 0,008)	0,202 (\pm 0,07)	1,548 (\pm 0,1)
	90	0,013 (\pm 0,02)	0,149 (\pm 0,006)	2,366 (\pm 1,5)
Contaminado sem cultivo	0	0,121 (\pm 0,01)	0,174 (\pm 0,105)	1,252 (\pm 0,09)
	7	0,100 (\pm 0,03)	0,126 (\pm 0,01)	1,679 (\pm 0,08)
	15	0,023 (\pm 0,02)	0,119 (\pm 0,004)	2,191 (\pm 0,1)
	30	0,136 (\pm 0,005)	0,155 (\pm 0,01)	3,096 (\pm 0,1)
	60	0,114 (\pm 0,001)	0,137 (\pm 0,005)	1,037 (\pm 0,9)
	90	0,045 (\pm 0,03)	0,159 (\pm 0,01)	2,427 (\pm 0,04)

Segundo a análise de variância não houve diferença significativa nos teores de nutrientes ao longo do tempo para o solo não contaminado. Nos primeiros 7 dias de experimento houve um aumento no teor de fósforo, embora não significativo, que se manteve estável até o final. O mesmo comportamento observa-se para o carbono. Já as oscilações nos teores de nitrogênio foram maiores, aumentando e diminuindo a cada coleta, mas, ainda assim, não apresentando diferenças significativas neste tratamento, ao longo do tempo. A figura 9 apresenta a variação dos teores de nutrientes ao longo do tempo.

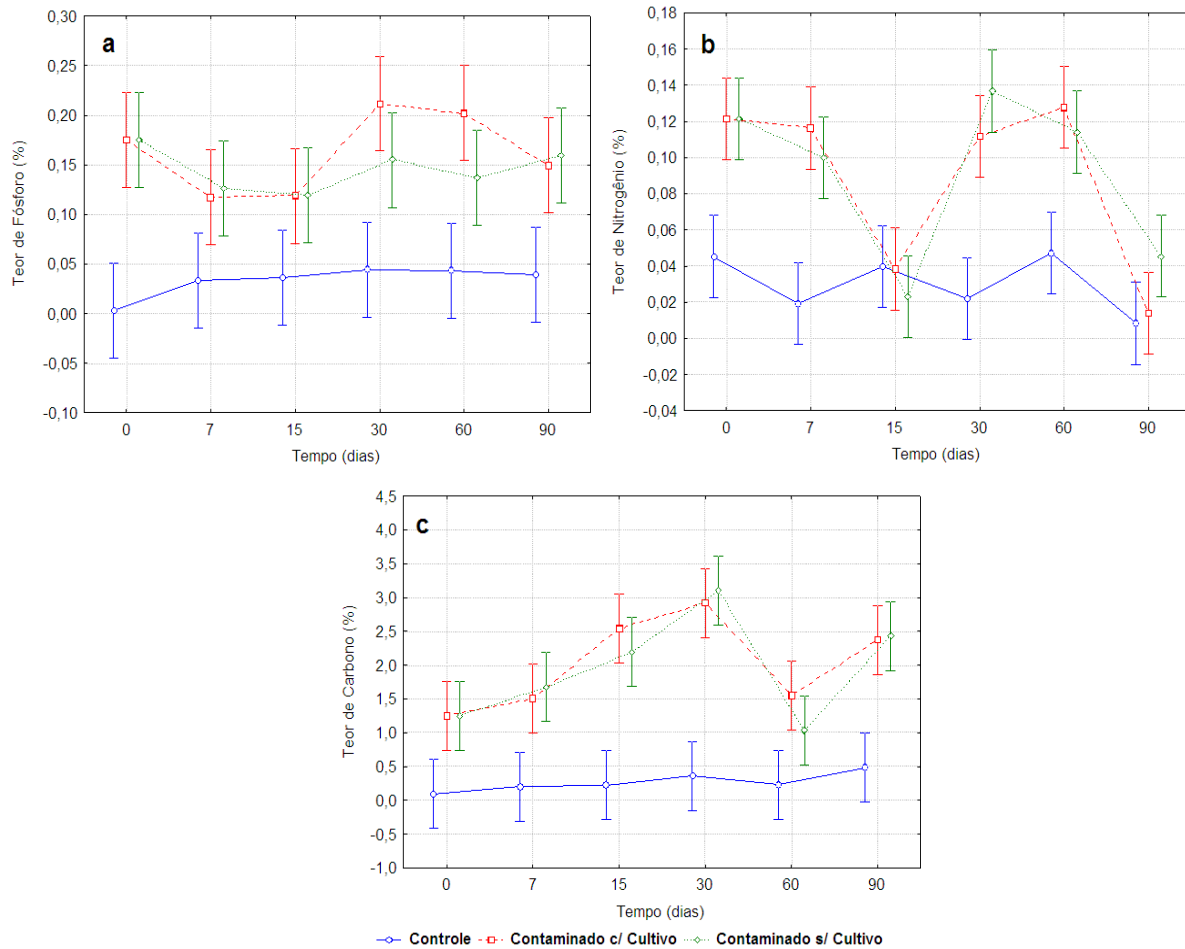


Figura 9. Variação das médias (\pm desvio padrão) de nutrientes ao longo dos 90 dias de experimento. a – Fósforo, b – Nitrogênio, c – Carbono.

Entre os tratamentos com os solos contaminados com e sem cultivo de *S. alterniflora* não ocorreram diferenças significativas segundo a análise de variância, porém, foram verificadas ao longo do tempo.

Os teores de fósforo no solo contaminado com *S. alterniflora* apresentaram uma redução nos primeiros 15 dias. No período de tempo seguinte, ocorreu uma elevação que quase atingiu o dobro do verificado em 30 dias, voltando a reduzir-se até o final. O tratamento sem vegetação acompanhou essas oscilações, porém

em menor escala.

Os teores de nitrogênio nos solos contaminados apresentaram um comportamento temporal similar, porém com oscilações mais acentuada. Foi observada uma redução significativa em 15 dias de experimento com um $p=0,001$ (teste de *Tukey*) e aumentando cerca de 3 vezes o valor anterior, aos 30 dias de *Tukey* experimento e, novamente uma redução significativa ao final do experimento ($p=0,0001$).

O carbono nos solos contaminados apresentou um aumento significativo até o final do primeiro mês de experimento, aonde chegou à cerca de 2 vezes o valor inicial aos 30 dias de experimento ($p=0,004$). SILVA (2007) realizando ensaios de biorremediação através de bioestimulação observou um crescimento expressivo da população bacteriana nos primeiros 15 dias de experimento e a estabilização da população a partir do 30º dia, devido ao decréscimo de nutrientes. O mesmo pode ser observado neste trabalho nos tratamentos de solo contaminado, onde se observa um aumento dos teores de carbono até o primeiro mês de cultivo, assim como a redução dos teores de N e P, nos primeiros 15 dias.

O provável desenvolvimento da população microbiana no solo contaminado possivelmente ocorreu devido à maior disponibilidade desses três nutrientes essenciais N, P e C (encontrado na matéria orgânica) que era maior neste solo (Sarkar *et al*, 2005). Além disso, o solo contaminado apresentou também maior conteúdo em óleo, que também serve de substrato para o desenvolvimento de microorganismos, fornecendo carbono e energia para a microbiota acompanhante.

Apesar dos nutrientes adicionados periodicamente as curvas de

concentração de N total apresentam as mesmas oscilações nos solos contaminados sem vegetação e com vegetação. Desta forma, as oscilações dos teores de nitrogênio podem ser relacionadas ao desenvolvimento de microorganismos presentes no solo.

O nitrogênio é nutriente limitante ao desenvolvimento da *Spartina alterniflora*. Segundo GOMES NETO (2008) a *S.alterniflora* é capaz de estocar e translocar nitrogênio nos tecidos para utilizar em condições de crescimento mais favoráveis. Como nos primeiros dias a planta estava sob o efeito do transplante, ela pode ter assimilado o nitrogênio que estava disponível no solo. Porém, como foi determinado o nitrogênio total presente no solo e a forma de nitrogênio preferencialmente assimilada pela *Spartina alterniflora* é a forma amoniacal (GOMES NETO, 2008) não é possível atribuir as alterações nos teores de nitrogênio somente à absorção pela planta.

3.4 Desenvolvimento de *Spartina alterniflora*

Comparando as curvas de biomassa média (peso em gramas por planta) de *Spartina alterniflora* obtidas nos tratamentos contaminado e não contaminado (figura 10), observa-se um comportamento semelhante para ambos os tratamentos. A biomassa subterrânea (raízes) cai até 15 dias de experimento, provavelmente devido ao choque induzido na planta causado pelo transplante. Depois dessa fase, verifica-se um aumento até o final do experimento. No tratamento contaminado esse incremento de biomassa começa aos 30 dias, no tratamento sem contaminação ocorreu 15 dias após. Esse fato sugere que as

plantas apresentaram uma dificuldade maior de se restabelecer após o *stress* do transplante na montagem do experimento do solo contaminado.

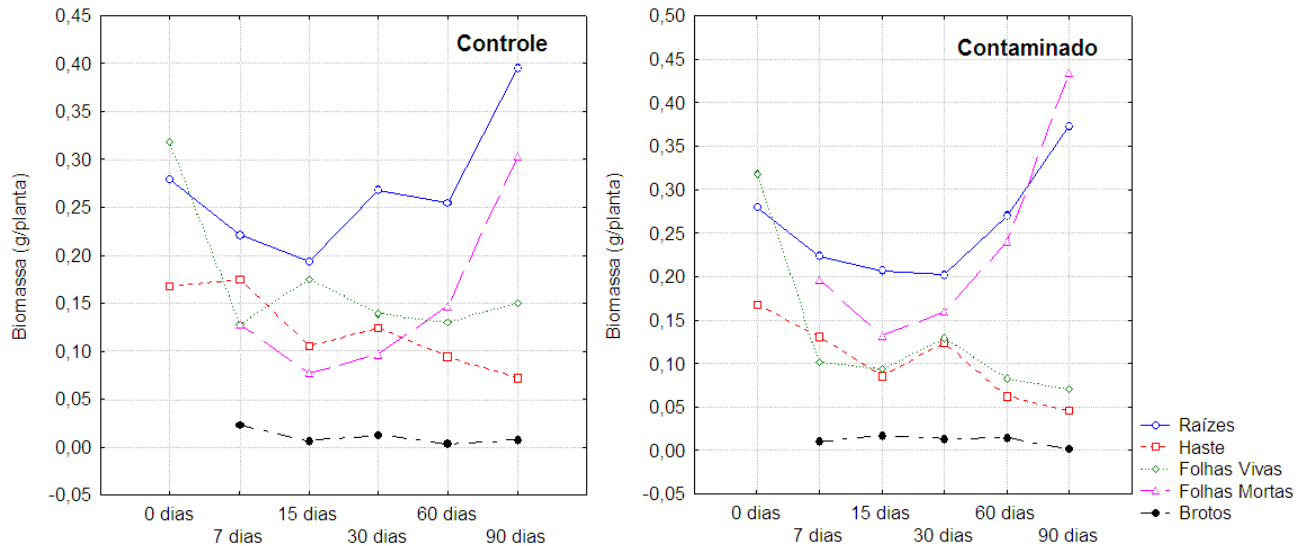


Figura 10. Biomassas médias de raízes, hastes, folhas vivas, folhas mortas e brotos nos tratamentos não contaminado e contaminado durante os 90 dias de experimento.

Os valores médios de biomassa de *Spartina alterniflora* foram, em geral, maiores para o tratamento sem contaminação do que o contaminado, exceto a biomassa de folhas mortas. A biomassa de folhas vivas caiu mais de 50% durante os dois tratamentos, inclusive já na primeira semana. Esta mortalidade foliar resultou em aumento da biomassa de folhas mortas no decorrer do experimento. Diferenças significativas na biomassa de folhas mortas em relação ao início do experimento foram observadas a partir de 30 dias. O aumento da biomassa de folhas reflete que as folhas maiores ou mais antigas foram sendo descartadas. A taxa de renovação de folhas foi alta, ou seja, a planta produziu folhas novas, mas

estas foram eliminadas logo em seguida. Na primeira semana, 29,4% do total de folhas no tratamento sem contaminação estavam mortas, enquanto que no tratamento com solo contaminado 35,3% das folhas morreram durante o mesmo período.

As figuras 11 e 12 apresentam as médias e os desvios padrão encontrados para os parâmetros biológicos que foram monitorados durante o experimento. Esse estudo teve por objetivo verificar se existiram diferenças de crescimento entre os tratamentos, incluindo-se o número de folhas, índice foliar, altura das folhas, densidade de raiz, número de brotos e o índice foliar de brotos.

Segundo a análise de variância para medidas repetidas, entre os tratamentos ocorreram diferenças significativas somente aos 60 dias ($F = 4,64$; $p = 0,048$), para a altura das plantas, índice foliar, número de brotos e altura dos brotos, sendo que para o tratamento com solo não contaminado as médias foram maiores para estes parâmetros ($F = 8,53$; $p = 0,011$ entre tratamentos). A partir de 80 dias de experimento as plantas começaram a apresentar dificuldade de se manterem vivas no experimento contaminado, o que foi verificado pelo número de folhas observada nesse tratamento ($F = 4,64$; $p = 0,045$).

Em baixas concentrações os hidrocarbonetos podem até mesmo estimular o crescimento das plantas. GOMES NETO (2008) sugere que uma vez diluídos os poluentes presentes na água produzida (10 a 30%), os nutrientes presentes nesse efluente podem sustentar um crescimento vigoroso da espécie. Porém, a contaminação por hidrocarbonetos de petróleo afeta as plantas por retardar a germinação e reduzir a altura média das plantas, densidade de hastes, taxa

fotossintética e biomassa (LIN *et al.*, 2002). LINDAU *et al.* (1999) e LIN *et al.* (2002) encontraram diferenças significativas na biomassa, densidade das hastes, altura das folhas e fixação de carbono após dois ou três meses de cultivo de *Spartina alterniflora* em solo contaminado com óleo cru. O tipo de óleo e a composição química, assim como o grau de intemperismo irão afetar de forma diferente o desenvolvimento das plantas. Apesar das diferenças entre os experimentos os resultados obtidos nesse trabalho corroboram com os resultados obtidos pelos citados autores.

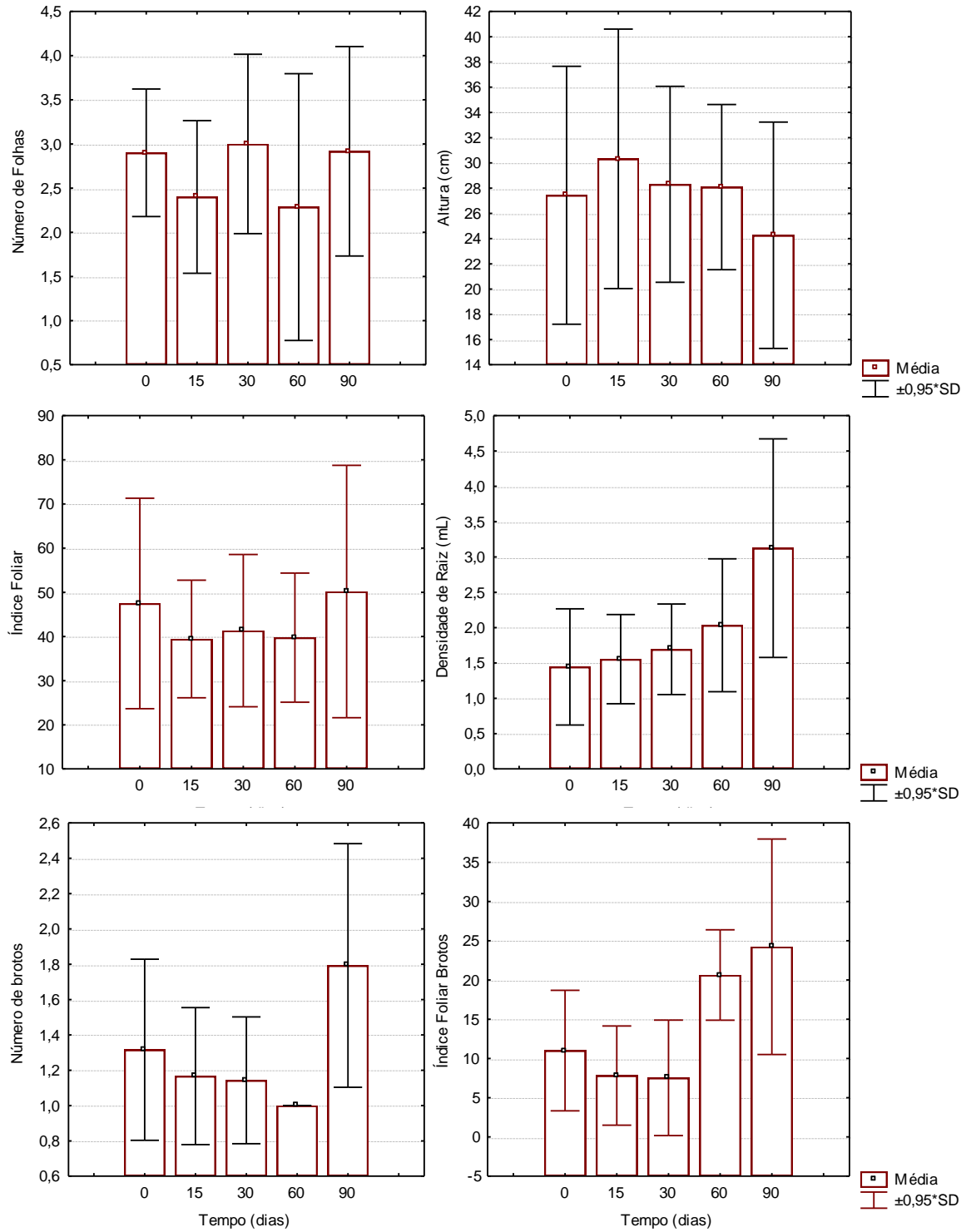


Figura 11 Médias e desvio padrão do número de folhas (a), altura das hastes (b), índice foliar (c), densidade de raiz (d), número de brotos (e) e índice foliar dos brotos (f) de *Spartina alterniflora* cultivada no solo não contaminado. n = 15.

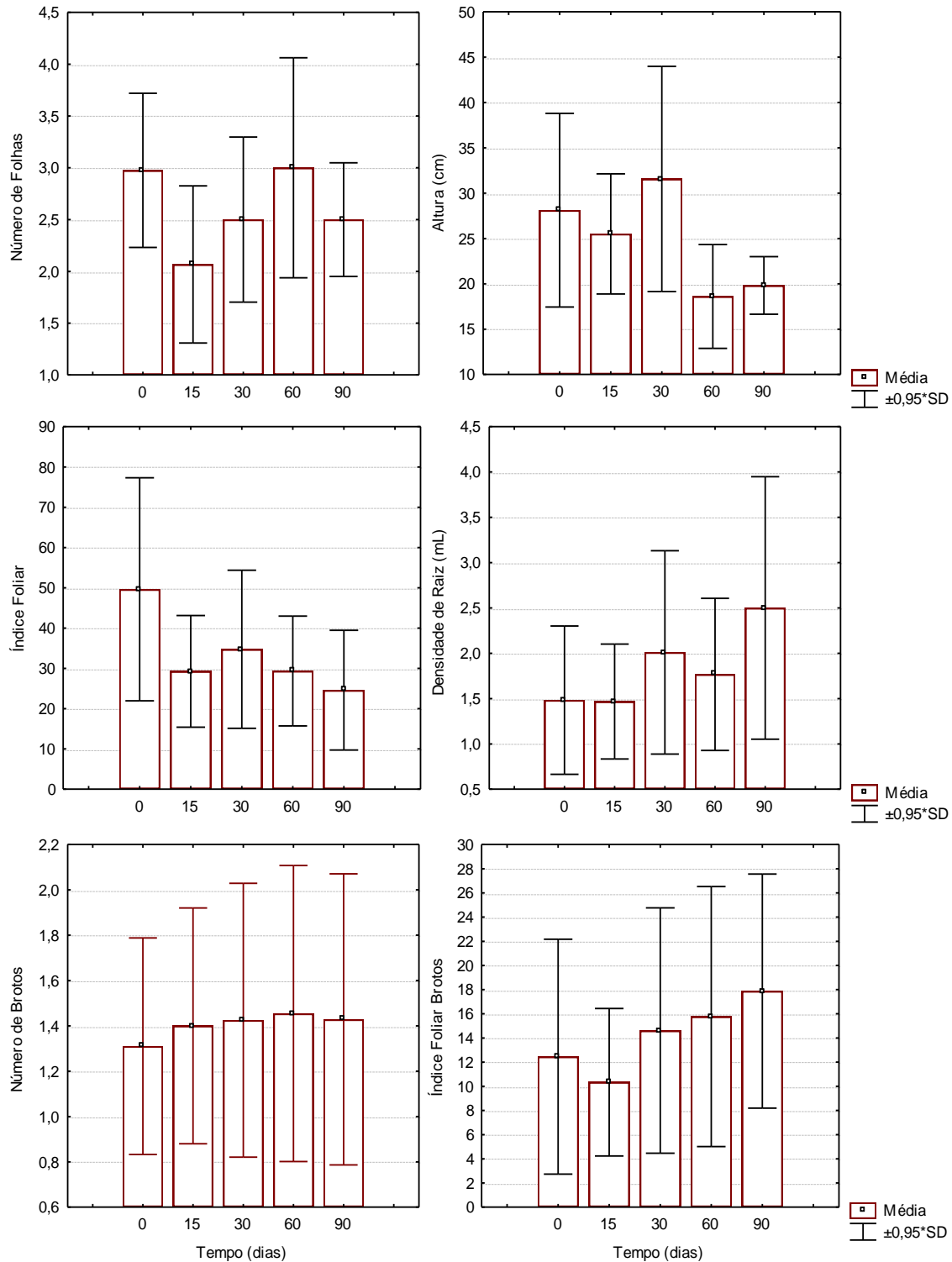


Figura 12. Médias e desvio padrão do número de folhas (a), altura das hastes (b), índice foliar (c), densidade de raiz (d), número de brotos (e) e índice foliar dos brotos (f) de *Spartina alterniflora* cultivada no solo contaminado. n = 15.

O experimento todo ocorreu durante a primavera, estação de crescimento ativo da *Spartina alterniflora*. Segundo PEZESHKI (2000) a *S. alterniflora* é mais sensível aos efeitos adversos do óleo durante a primavera, período de crescimento, do que nos períodos dormência, no outono. A maior sensibilidade da espécie deve-se à interrupção de funções fisiológicas e danos aos tecidos que levam a sintomas como redução da fotossíntese e diminuição da biomassa aérea. Desta forma, além da alta concentração de contaminantes presentes no tratamento com solo contaminado, a estação do ano em que o experimento foi realizado pode ter inibido o desenvolvimento das plantas, para ambos os tratamentos.

O número de folhas apresentou uma redução significativa ($p=0,033$) no solo contaminado após 15 dias do experimento. No solo não contaminado verificou-se também essa redução, porém não tão expressiva quanto no solo contaminado. Após 60 dias de experimento as plantas cultivadas no solo contaminado começam a demonstrar problemas no crescimento, o que foi verificado também pela redução do índice foliar e do tamanho das hastes. O índice foliar apresentou uma redução de 50% ($p= 0,036$) em relação ao início do experimento, no solo contaminado. O tamanho das plantas não apresentou diferenças ao longo do tempo, porém após dois meses as plantas do tratamento sem contaminação mostravam-se significativamente maiores ($p= 0,0013$) do que as plantas cultivadas em solo contaminado.

As médias e densidade de raiz aumentaram ao longo do experimento, apresentando diferenças significativas ao final do experimento. Apesar de não

haverem diferenças significativas entre os tratamentos, os valores foram maiores para o tratamento sem contaminação. O crescimento da raiz normalmente é favorecido em solos levemente ácidos com pH 5,5 e 6,5 (OLIVEIRA, 2004). Como o solo sem contaminação apresentou valores de pH dentro dessa faixa durante todo o experimento pode ter proporcionado melhores condições para o crescimento das plantas neste tratamento. Além disso, a contaminação por hidrocarbonetos danifica as membranas das raízes, prejudicando o balanço iônico das plantas (PEZESHKI, 2000), interferindo também no desenvolvimento da *Spartina alterniflora* no tratamento com solo contaminado por HPAs

Verificou-se uma diferença no desenvolvimento entre a parte aérea e a subterrânea. A parte aérea (tamanho das hastes, índice foliar) apresentou uma redução, no solo contaminado, enquanto que a parte subterrânea (raízes) apresentou um aumento de biomassa tanto no solo não contaminado, quanto no solo contaminado. Este fato traz indícios de que o crescimento da planta ficou mais concentrado nas raízes. As raízes evitam áreas de solo contaminado e tendem a procurar áreas sem contaminação, onde a disponibilidade de água e nutrientes é maior (SILVA, 2006). Desta forma as plantas formaram raízes adventícias, buscando melhores condições de desenvolvimento.

Não houve desenvolvimento significativo de brotos novos no decorrer do experimento, porém os que já estavam presentes conseguiram se desenvolver melhor no tratamento não contaminado. A penetração de compostos aromáticos nos tecidos reprodutivos das plantas pode inibir o desenvolvimento embrionário e até mesmo causar a redução da produção de sementes (DOWTY, 2001). Além

disso, o solo de *landfarming* era extremamente argiloso, essa característica favoreceu a formação de grumos no solo que se tornaram uma barreira física ao crescimento das raízes e de novos brotos, reduzindo a absorção de água e oxigênio.

Deve-se lembrar que o solo de *landfarming* é composto por uma mistura muitos de contaminantes sólidos, mas também possui uma série de outros compostos dissolvidos, assim torna-se difícil avaliar se o comportamento diferenciado da espécie deve-se somente às concentrações de HPAs ou a outros poluentes ou mesmo pelos seus efeitos sinérgicos. Muitas pesquisas em fitorremediação estão direcionando para classes individuais de contaminantes e não misturas de diferentes tipos de contaminantes. Embora haja evidências que as plantas podem tolerar contaminações de compostos orgânicos misturados a contaminantes metálicos, geralmente não é investigado se um tipo de vegetação pode remediar satisfatoriamente diferentes classes de contaminantes ao mesmo tempo. A estratégia do uso de diferentes tipos de vegetação, cada uma para remediar diferentes contaminantes, pode ser utilizada ao mesmo tempo ou seqüencialmente em empreendimentos de fitorremediação (EPA/600/R-99/1, 2000, ITRC, 2001).

3.5 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nos solos

No presente trabalho, foram quantificados os 16 HPAs que são considerados como prioritários seguindo os procedimentos descritos na metodologia 8270C da EPA (UNEP, 1991) nas amostras de solo referentes às

coletas dos dias 0, 30 e 90 dias. A figura 13 apresenta a variação ao longo do tempo dos teores de HPAs encontrados nos solos contaminados e não contaminado. O item 7 em anexo apresenta a tabela completa com as concentrações em $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ (peso seco) encontradas no solo para os três tratamentos. Os valores de HPAs apresentados foram normalizados pela recuperação da metodologia, que foi obtida através da adição do p-terfenil-d14 como padrão surrogado. O limite de quantificação foi estipulado como o padrão de calibração de menor concentração da curva analítica. Para o solo sem contaminação o LQ foi $0,25 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, considerando a extração em 20g de solo, e para o solo contaminado com e sem cultivo foi $1,66 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, considerando a extração de HPAs em 3g de solo.

No solo sem contaminação, apesar das baixas concentrações encontradas, tomando-se como base os valores do Σ HPAs totais iniciais, observa-se que houve uma redução de até 70% no somatório de HPAs, ao final de 90 dias (de $24,83$ para $7,42 \mu\text{g.Kg}^{-1}$). Constata-se que principalmente os compostos mais leves, de 2-3 anéis, apresentaram maior diminuição nas concentrações de $12,78$ para $1,99 \mu\text{g.Kg}^{-1}$. No início do experimento o percentual dos compostos mais leves em relação ao Σ HPA era de 58,9 %, ao final, representavam 34,7% do total. Os compostos mais complexos (4-6 anéis) também tiveram suas concentrações reduzidas (de $10,01$ para $4,84 \mu\text{g.Kg}^{-1}$), porém, de 41% do Σ HPAs passaram a representar 65,3% , o que indica que a taxa de degradação dos compostos mais leves foi maior, como por exemplo o fenantreno (de $3,87$ para $0,50 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) e o acenaftileno (de $2,23$ para $0,32 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) (figura 13).

No início do experimento os valores máximos e mínimos foram para o fenantreno ($3,87 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) e benzo[a]antraceno ($0,28 \mu\text{g.Kg}^{-1}$), respectivamente. Já ao final do experimento encontrou-se o valor máximo para o benzo(b)fluoranteno ($0,82 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) e mínimo para o naftaleno ($0,25 \mu\text{g.Kg}^{-1}$). No tratamento com solo contaminado não houve alterações nas concentrações do Σ HPAs no solo de *landfarming*. Tendo em vista que as concentrações iniciais de HPAs no solo contaminado no início do experimento foram cerca de 3 ordens de magnitude maiores do que no solo não contaminado, era de se esperar que para se ter uma redução significativa nos níveis de contaminantes em concentrações extremamente elevadas fosse necessário, no mínimo um tempo maior de experimento.

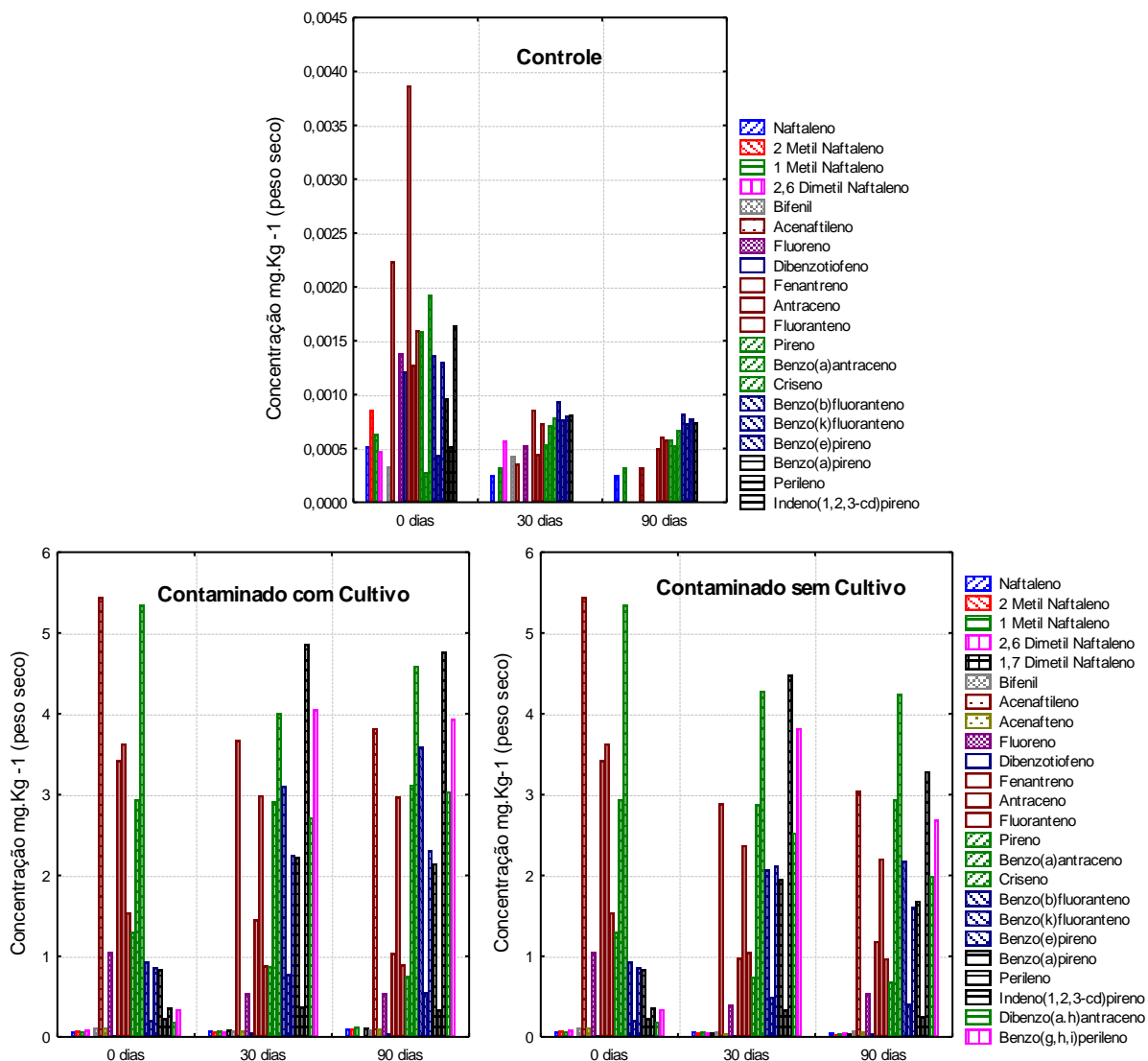


Figura 13. Concentração (mg/kg peso seco) HPAs totais (à esquerda) e 2-3 e 4-6 anéis (à direita) no solo, nos três tratamentos, ao longo do tempo.

Apesar da concentração do Σ HPA não ter apresentado grandes variações, as concentrações dos compostos mais leves (2-3 anéis) apresentaram uma redução de 14095,99 para 9025,87 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, constituíam no início do experimento, 53,6% do total de HPAs, caindo para 25,4% aos 90 dias. Compostos como o acenaftileno e o fenantreno reduziram de 5442,47 – 3821,44 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ e 3422,89 –

1034,13 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$, respectivamente. Com exceção do pireno e fluoranteno, os compostos mais complexos aumentaram de 13541,49 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para 29129,31 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, elevando sua contribuição no somatório de HPAs de 46,4% para 74,6% do total, como o benzo(b)fluoranteno e o dibenzo(a,h)antraceno apresentando um acréscimo de 930,58 – 3588,57 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ e 188,00 – 3036,82 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$, respectivamente.

No tratamento com solo contaminado sem o cultivo de *Spartina alterniflora*, as concentrações dos HPAs variaram de forma semelhante às concentrações no tratamento com cultivo de *S. alterniflora*. As espécies de 3 e 4 anéis diminuíram nas mesmas proporções. Entretanto, o naftaleno e suas espécies metiladas reduziram de forma mais significativa no tratamento sem cultivo e os HPAs de maior complexidade (5 e 6 anéis) como o benzo(a)pireno e o benzo(e)pireno, de maneira inversa, aumentaram suas concentrações, porém em menor escala que no tratamento com cultivo. O fato destas espécies de HPAs terem suas concentrações incrementadas no solo pode ser atribuído à presença das raízes, onde os microorganismos associados à rizosfera liberam compostos que promovem a dessorção de contaminantes que estavam trapeados no solo tornando-os biodisponíveis (PARRISH *et al.*, 2005; PILON-SMITS, 2005).

3.6 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em *Spartina alterniflora*

Os hidrocarbonetos foram quantificados nas raízes, nas hastes, nas folhas e nas folhas mortas. As concentrações em $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ de HPAs foram normalizadas

pela biomassa vegetal encontrada em cada compartimento. Este procedimento teve por objetivo ajustar as concentrações em relação à quantidade de material vegetal em que foram extraídos os HPAs dos solos. As concentrações foram relacionadas com a biomassa vegetal (gramas/planta), de acordo com o número de plantas retiradas em cada amostragem. Assim como para o solo, no item 7 e os seguintes, em anexo, encontram-se as tabelas com os teores de HPAs normalizados pela biomassa em encontrados nas raízes, hastes, folhas e folhas mortas em *Spartina alterniflora*.

Os valores de HPAs apresentados foram normalizados pela recuperação da metodologia, que foi obtida através da adição do p-terfenil-d14 como padrão surrogado. O limite de quantificação foi estipulado como o padrão de calibração de menor concentração da curva analítica. Considerando a extração de HPAs em 1g de solo, o LQ para o material vegetal foi $5 \mu\text{g.Kg}^{-1}$.

As análises realizadas no início do experimento mostraram que as plantas que foram utilizadas neste experimento já apresentavam teores de HPAs. A Ilha do Terrapleno é localizada em frente ao terminal portuário e está sujeita às diversas atividades náuticas e de movimentação Portuária e também aos aportes atmosféricos do centro industrial da cidade de Rio Grande. Diversos estudos na região apontam a contaminação por HPAs tanto nos sedimentos de áreas rasas como em sedimentos profundos no entorno da Lagoa dos Patos (CORDEIRO, 2003; GARCIA, 2004; PEDERZOLLI, 2006). Além disso, a região apresenta intensa hidrodinâmica e as atividades de dragagem provocam a ressuspensão de sedimentos de fundo e contaminantes para a coluna d'água (FRONZA, 2006).

Os teores de HPAs no início do experimento, foram cerca de 1 ou 2 ordens de magnitude maiores nas plantas do que no solo não contaminado, tanto nas raízes, como nas hastes e nas folhas. Já o solo contaminado chega a apresentar teores de até 3 ordens de magnitude a mais do que nas plantas, para alguns dos 16 HPAs prioritários, como o acenaftileno e criseno. A figura 14 apresenta os teores de HPAs em logaritmo da concentração no início do experimento no solo sem contaminação, no solo contaminado e na planta.

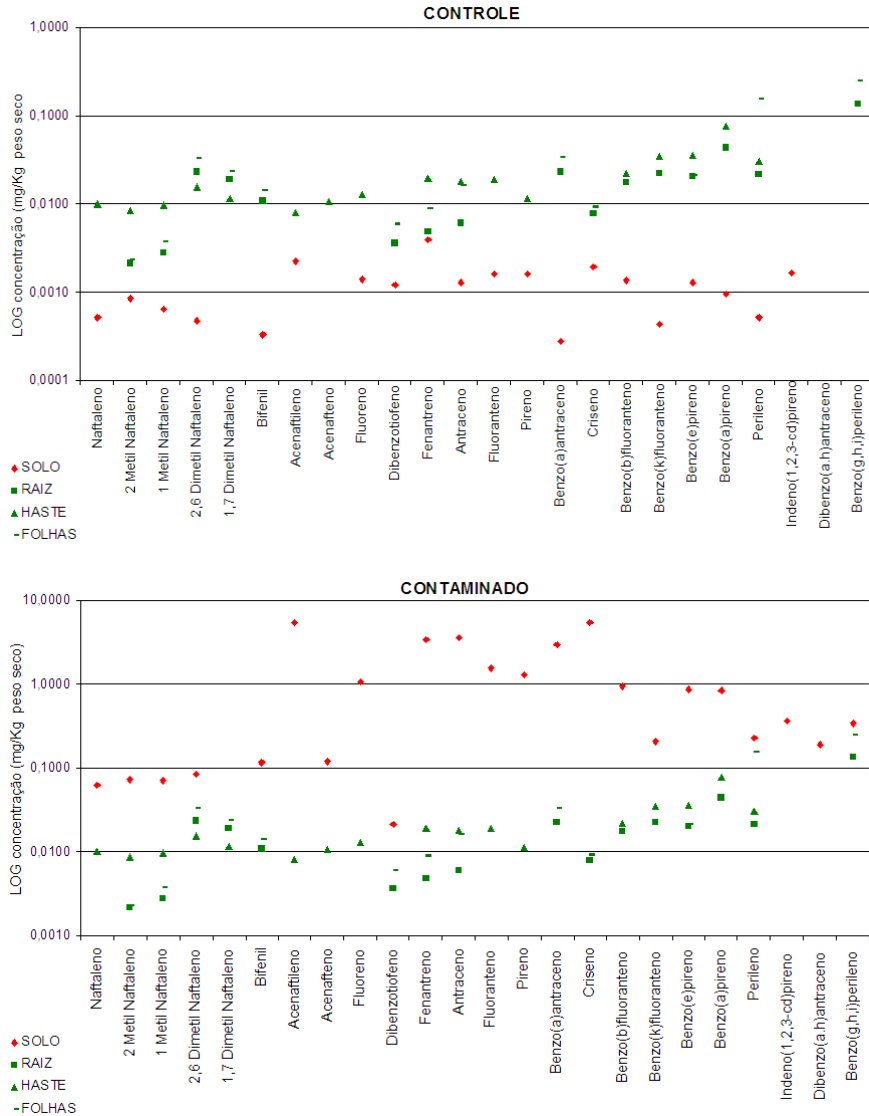


Figura 14. Concentração dos HPAs (log mg.Kg⁻¹) no solo, nas raízes, hastes e folhas da *Spartina alterniflora* cultivada em solo não contaminado (acima) e contaminado (abaixo) no início do experimento.

As figuras 15 e 16 apresentam as concentrações dos HPAs normalizadas pela biomassa de raízes, hastes, folhas e folhas mortas, encontradas em *S. alterniflora* nos cultivos em solo não contaminado e em solo contaminado. Pode-se constatar que nas raízes e nas folhas mortas as concentrações de HPAs totais

reduziram-se quando comparadas ao estado inicial, no tratamento sem contaminação. As plantas apresentaram em geral uma alta concentração de Benzo(g,h,i)perileno, nas raízes, folhas e até mesmo nas folhas mortas, desaparecendo após a segunda semana de experimento. Porém, se observarmos as concentrações nas raízes, vemos que ocorre um aumento em 60 dias para alguns HPAs como naftaleno, 2 metil-naftaleno, fluoreno, fenantreno, antraceno, benzo(k)fluoranteno e perileno. Esses valores fazem com que o ΣHPAs aumente novamente nesse período.

Nas hastes de plantas cultivadas em solo não contaminado as concentrações reduziram em escala menor do que nas raízes, mas ocorreu também, uma elevação nos teores de alguns HPAs ao final do experimento. Observa-se que compostos de 2-3 anéis apresentaram uma redução no período até os 30 dias, onde voltam a aumentar de concentração nas hastes, enquanto os compostos de 5 anéis mostram uma redução até 15 dias, incrementando os seus teores em 90 dias.

Nas folhas vivas de plantas cultivadas em solo não contaminado as concentrações reduzem-se até os 30 dias, e em 60 dias de experimento ocorre uma elevação das concentrações na maioria dos compostos, tanto os mais leves como naftaleno e bifenil, como fenatreno e antraceno (3 anéis), benzo(a)antraceno e benzo(k)fluoranteno (4 e 5 anéis, respectivamente). Este comportamento parece ser indicativo de que a planta é capaz de realizar a ciclagem de pelo menos alguns desses compostos em suas estruturas, pois estes foram assimilados pela planta, inclusive aqueles considerados menos susceptíveis à absorção pelos

tecidos.

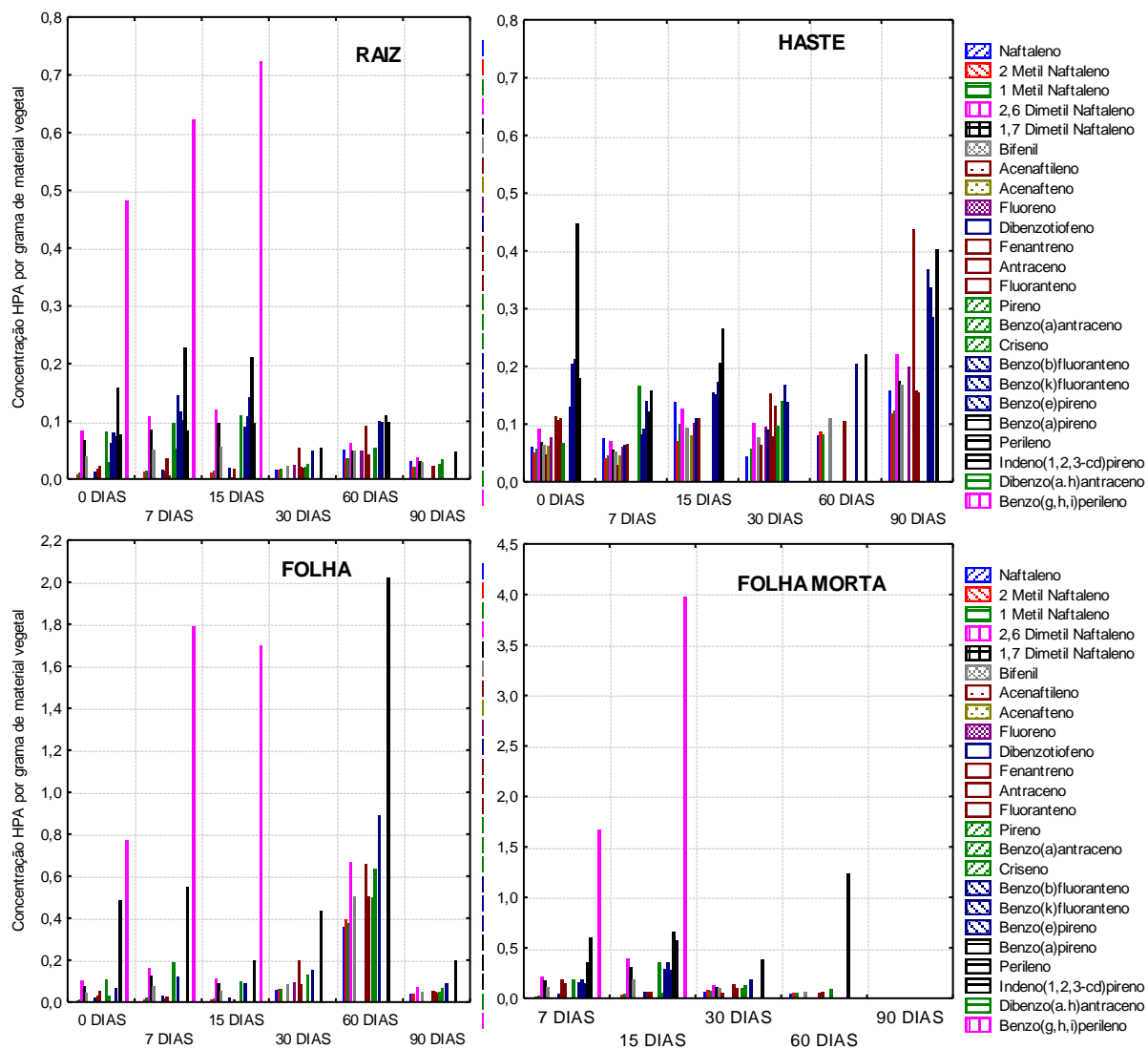


Figura 15. Concentrações HPAs normalizadas pela biomassa, das raízes, hastes, folhas e folhas mortas de *Spartina alterniflora* cultivada no solo não contaminado em cada coleta.

Apesar das concentrações dos HPAs no solo serem relativamente baixas, observa-se que a presença da planta promoveu a redução dos teores de várias espécies de hidrocarbonetos no solo, provavelmente devido à degradação pelos microorganismos associados à rizosfera, capazes de degradar os HPAs. Alguns

autores relatam que as plantas contribuem para a biodegradação de compostos orgânicos pelo aumento do número de microorganismos (GAO & ZHU, 2004, JONER & LEVYAL, 2003), por estimulação da atividade microbiana já existente (BINET, *et al.*, 2000, JONER *et al.*, 2002), e pela modificação das comunidades de bactérias associadas à rizosfera (JONER *et al.* 2002, JONER & LEVYAL, 2003).

No tratamento com solo contaminado fica evidente o aumento das concentrações dos compostos poliaromáticos nas raízes, até os 60 dias, apresentando uma queda ao final do experimento. Porém, alguns compostos apresentam picos aos 30 dias, como o antraceno, fluoranteno, pireno e benzo(a)antraceno, e ao final do experimento voltam a cair. Aparentemente, a absorção ocorre nos dois primeiros meses, entretanto, depois dos 60 dias de experimento, as plantas começaram a morrer neste tratamento devido à capacidade tóxica dos contaminantes do solo. Este fato explicaria a redução da maioria das espécies de HPAs no período final do experimento.

Nas hastes houve acréscimo na concentração das espécies de HPAs naftaleno, acenaftileno, antraceno até o final do experimento, enquanto o benzo(a)antraceno e criseno aumentam as concentrações até 60 dias.

Nas folhas vivas verificou-se o aumento das concentrações de acenaftileno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno, benzo(a)antraceno e criseno a partir de 60 dias. Nas folhas mortas esses mesmos compostos tiveram aumento nas suas concentrações, exceto aqueles benzo(a)antraceno e criseno, o que pode significar que estes compostos foram translocados para as folhas senescentes e posteriormente eliminados, através das folhas mortas, numa tentativa de retirar os

contaminantes da planta.

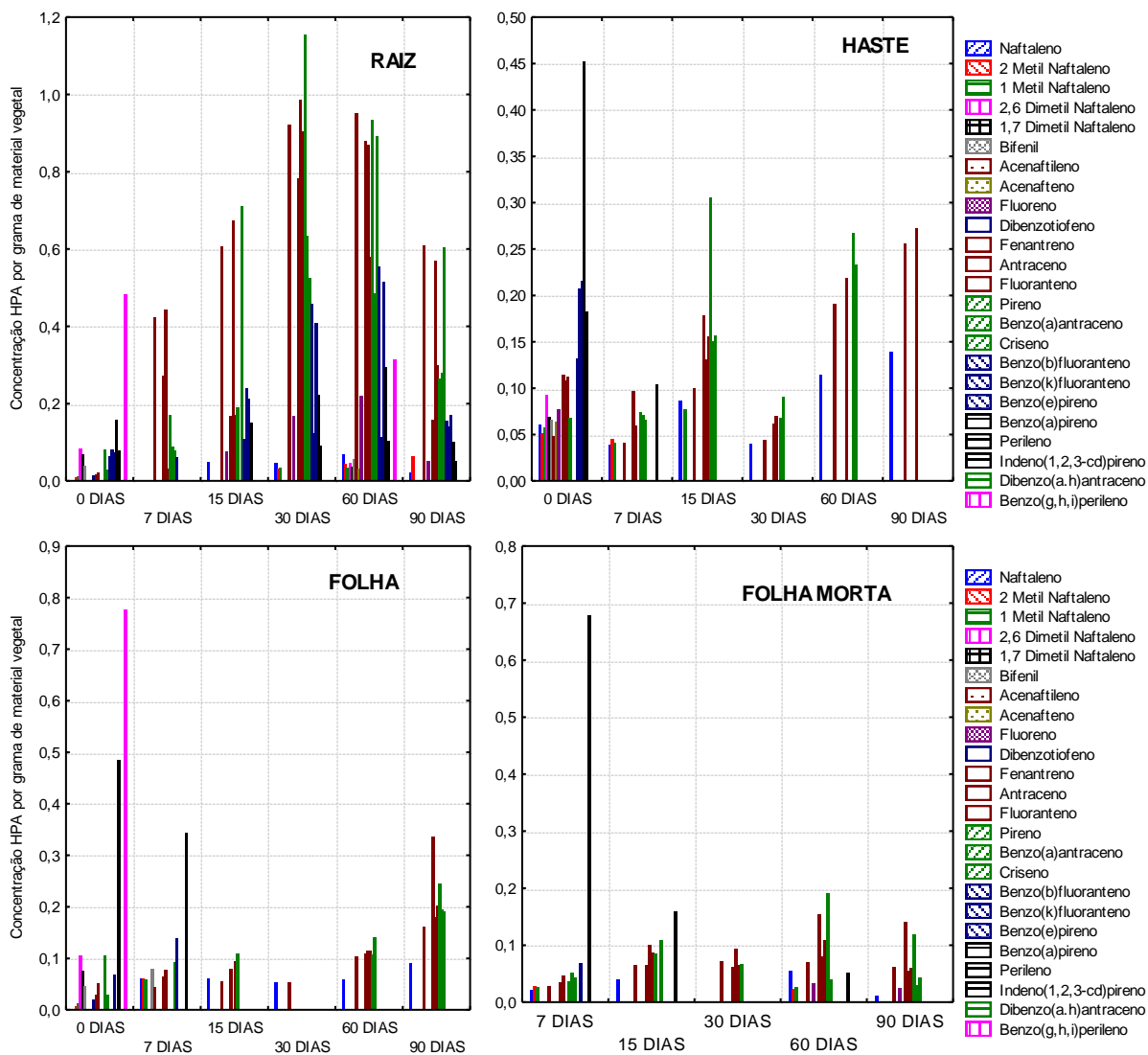


Figura 16. Concentrações de HPA normalizada pela biomassa das raízes, hastes, folhas e folhas mortas de *Spartina alterniflora* cultivada no solo contaminado em cada coleta.

O acenaftileno foi o único composto que as concentrações aumentaram até o final do experimento em todas as partes da planta no solo contaminado. O restante parece acompanhar um ciclo, onde a maioria atinge o valor máximo entre 30 e 60 dias. O naftaleno também aumentou as concentrações nas folhas e nas

hastes, porém nas raízes e nas folhas mortas, o valor máximo ocorreu em 60 dias. Observou-se também nas folhas vivas observa-se que a partir dos 60 dias, ocorreu um aumento das concentrações daquele mesmo grupo de compostos que se elevaram em 15 dias nas hastes, do fenantreno ao criseno. Por outro lado, nas folhas mortas ocorreram alguns picos em 60 dias de fluoranteno e pireno.

Para conseguir desenvolverem-se em ambientes contaminados as plantas desenvolvem mecanismos de detoxificação e a habilidade das diferentes espécies em tolerar compostos tóxicos depende da variabilidade genética das plantas. (SILVA, 2006). Neste estudo, a *S. alterniflora* parece concentrar os HPAs nas raízes com um pequeno transporte para a parte aérea da planta. Os compostos considerados recalcitrantes (5 e 6 anéis) foram somente detectados nas raízes e nas hastes no início do experimento, com exceção do perileno. Porém, esse grupo de HPAs encontrado nas diferentes partes da planta, incluindo as folhas mortas, faz parte dos compostos que apresentaram redução das suas concentrações no solo (bifenil, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno). Estes compostos podem tanto ter sido absorvidos e fixados nos tecidos das raízes, quanto podem ter ficado adsorvidos na superfície das mesmas.

3.7 Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais (PCA) do solo não contaminado, resumindo dados de HPAs no solo e tecidos de *Spartina alterniflora*, baseando-se na inter-relação do conjunto original de dados, foram extraídos os fatores que agrupam um novo conjunto de variáveis sintéticas. As variáveis Indeno(1,2,3-

cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno não foram incluídas na análise devido à disponibilidade limitada de dados.

Nessa análise estatística foram selecionados apenas os fatores que contribuíram com peso acima de 5%, considerados significativos para a explicação da variância total. Esse procedimento determinou o emprego de 5 componentes principais que explicam juntos 84,1% da variância total. A tabela 6 apresenta composição de cada componente variável e a respectiva contribuição na variância total.

Tabela 6 Variáveis associadas a cada componente principal e a contribuição na variância total. Cultivo em solo não contaminado.

Componente Principal	Parâmetro	Variância (%)
CP1	Np, 2 metil Np, 1 metil Np, 2,6 dimetil-Np, Bifenil, F, Ph, An, Py, B(b)Fl, Pe	40,85
CP2	Acenaftileno, dBThi, Fl, B(k)Fl, B(e)Py, B(a)Py	16,98
CP3	1,7 dimetil- Np, B(g, h, i)Pe , % N, % C	10,29
CP4	% P	9,19
CP5	Ace, B(a)An, Ch	6,81
Variância Total		84,1

A primeira componente principal é constituída pelo naftaleno e suas espécies metiladas (exceto o 1,7 dimetil-naftaleno), o bifenil e o grupo de espécies de HPAs de 3 e 4 anéis, que foram encontrados nas plantas como o fenantreno, antraceno, pireno, e ainda, o benzo(b)fluoranteno e o perileno, que são compostos mais pesados. A segunda componente é composta basicamente dos HPAs de maior peso molecular com exceção do acenaftileno.

A terceira componente formada pelo 1,7 dimetil-naftaleno, benzo(g,h,i)perileno, N e C; o quarto fator é composto apenas pelo teor de fósforo

e a última componente apresenta o acenafteno, benzo(a)antraceno e o criseno. As três últimas componentes são formadas pelos compostos que apresentaram pouca variação nas concentrações ao longo do experimento. O 1,7 dimetil naftaleno, o acenafteno e o benzo(g,h,i)perileno, por exemplo, não foram encontrados no solo e foram encontrados nas plantas somente no início do experimento. O criseno e o benzo(a)antraceno diminuíram suas concentrações no solo. O criseno foi encontrado somente no solo e no início do experimento nas plantas, já o benzo(a)antraceno teve um aumento nas concentrações nas plantas. Os teores de nutrientes, como discutido anteriormente, não apresentaram grandes alterações para o experimento não contaminado.

As duas últimas componentes principais têm pouca capacidade de explicação da variância, pois representam menos que 10% da variância total. Assim, a análise pela projeção plana das variáveis nos fatores 1 e 2 (figura 17), torna possível agrupar as variáveis em 3 grupos que se destacam por apresentar comportamentos semelhantes e onde estão inseridas as componentes 4 e 5.

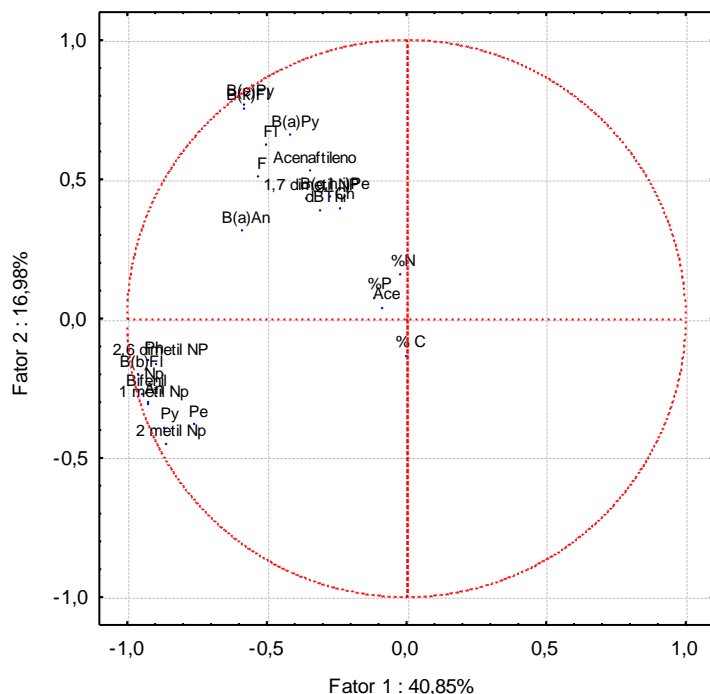


Figura 17. Projeção plana das variáveis nos fatores 1 e 2, obtidas na análise e componentes principais para o cultivo em solo não contaminado.

O grupo localizado o extremo do pólo negativo do fator 1 é representado pela primeira componente principal que é composta pelos compostos de 2 a 4 anéis. Estes compostos, como mencionado anteriormente, foram as espécies assimiladas pelas plantas no solo não contaminado. O outro grande grupo é constituído pelos compostos mais pesados. Algumas espécies de 4 e 5 anéis, também foram encontrados nas plantas, como o benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e perileno. Entretanto, o comportamento diferenciado na análise de componentes principais é devido à suas propriedades físico-químicas, consistindo nos HPAs de maior peso molecular.

Observa-se que as variáveis da terceira componente, 1,7 dimetil-naftaleno e

benzo(g,h,i)perileno, e da quinta componente, benzo(a)antraceno e criseno, agruparam-se no grupo representado pelos compostos mais pesados. Enquanto os nutrientes e o acenaftileno formaram um grupo separado, localizado no centro da projeção.

Com o objetivo de facilitar a interpretação dos grupos de variáveis que fazem parte dos fatores estudados, foi realizada a rotação dos eixos de referência dos fatores (figura 18).

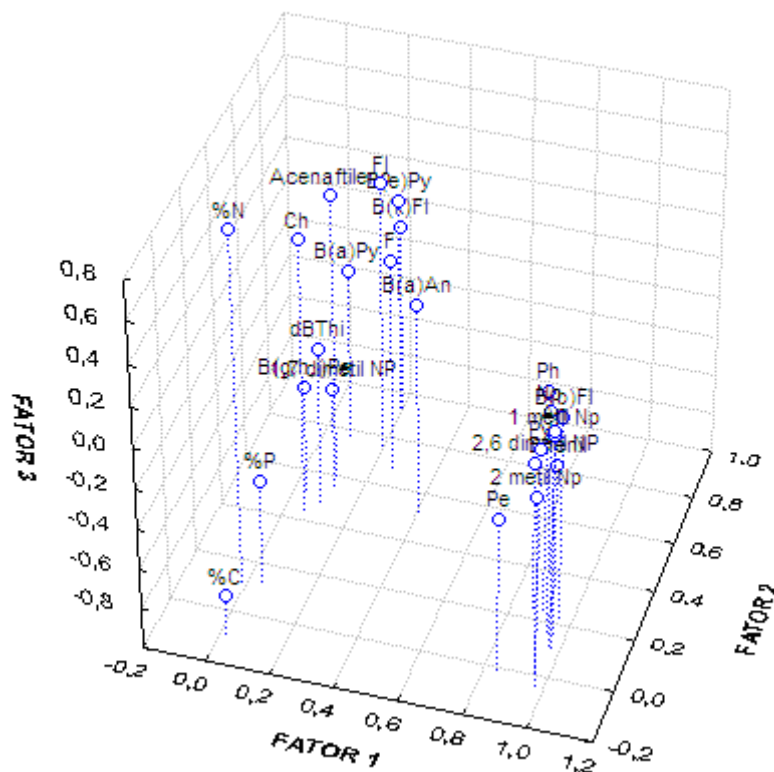


Figura 18. Projeção tridimensional das variáveis nos fatores 1, 2 e 3 extraídas da análise de componentes principais. Rotação varimax dos eixos de referência. Cultivo em solo não contaminado.

Verifica-se que mesmo estando agrupadas as variáveis se comportam de maneira diferente. Dentro do mesmo grupo, observa-se que o nitrogênio tem peso maior no fator 3 em relação ao fósforo e carbono. Este comportamento é devido às variações que o nitrogênio apresentou no solo durante o experimento. Apesar de não apresentar variações significativas, os teores apresentaram maiores oscilações quando comparado ao carbono e fósforo.

As variáveis que compõe a primeira componente apresentam-se fortemente agrupadas, já o grupo dos compostos mais pesados, se divide dentro do fator 2 em dois grupos. O grupo localizado mais acima, juntamente ao acenafileno, criseno, fluoreno, benzo(e)pireno, foram detectados na vegetação tanto na parte aérea como na subterrânea, embora sendo compostos mais pesados. O benzo(g,h,i)perileno e o dibenzotiofeno foram encontrados somente no início do experimento, não apresentando acumulação ao final do experimento.

Através da projeção das amostras nos fatores que compõem as duas primeiras componentes (figura 19) verifica-se que o solo apresenta comportamento diferenciado ao da planta e ainda, que as raízes estão mais inclinadas ao padrão apresentado pelo solo, mesmo que distante, parece se distanciar do padrão apresentado pelas hastes, folhas e folhas mortas.

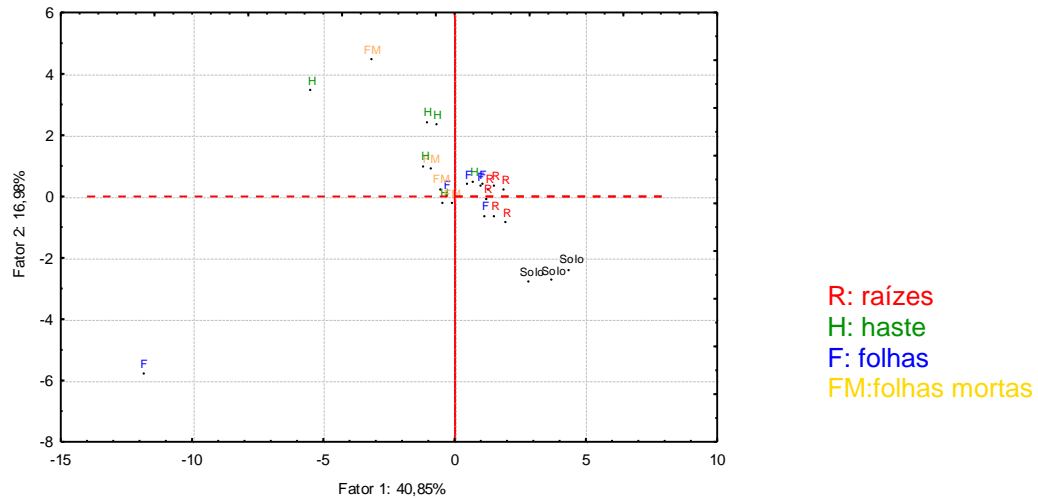


Figura 19. Projeção dos casos (amostras) nos fatores 1 e 2 extraídos da análise de componentes principais, para o cultivo em solo não contaminado.

Para o solo contaminado, na análise de componentes principais, foram selecionados apenas os fatores considerados significativos para a explicação da variância, isto é, os fatores com peso acima de 5% da variância total. Esse procedimento determinou o emprego de 4 componentes principais que explicam juntos 82,5% da variância total (tabela 7). A primeira componente engloba a maior parte das espécies de HPAs, desde os compostos mais leves aos mais pesados, explicando até 47,09% da variância total. A componente principal 2 constituída por pireno, benzo(g,h,i)perileno e os nutrientes nitrogênio e carbono, explicando 18,47%, a terceira componente, com 2,6 dimetil-naftaleno, acenafteno e fósforo explicando 10,95%, e a última componente composta somente pelo perileno explicando somente 6% da variância total.

Tabela 7. Variáveis associadas a cada componente principal e a contribuição na variância total. Cultivo em solo contaminado.

Componente Principal	Parâmetro	Variância (%)
CP1	2 metil Np, 1 metil Np, 1,7 dimetil-Np, Bifenil, Acenaftileno, F dBThi, An, Fl, B(a)n, Ch, B(b)Fl, B(k)Fl, B(e)Py, B(a)Py,	47,09
CP2	Py, B(g, h, i)Pe, %N, % C	18,47
CP3	2,6 dimetil-Np, Ace, % P	10,95
CP4	Pe	6,00
Variância Total		82,5

Observando a projeção plana das variáveis nos fatores 1 e 2 (figura 20) pode ser observado, assim como foi no experimento não contaminado, aquele grupo de variáveis que vem se destacando, que fazem parte da primeira componente principal: acenaftileno, bifenil, fluoreno, fenantreno, antraceno fluoranteno, pireno e benzo(a)antraceno.

Neste tratamento, o comportamento dessas variáveis fica mais claro. Apesar de não estarem tão fortemente agrupadas na projeção, foram as variáveis que apresentaram as maiores correlações entre si. Esse comportamento provavelmente deve-se ao fato de terem sido acumuladas nas plantas, como foi observado pelo fator de concentração das folhas e das folhas mortas (item 3.8). Observa-se também, que as espécies metiladas do naftaleno também se afastam desse grupo.

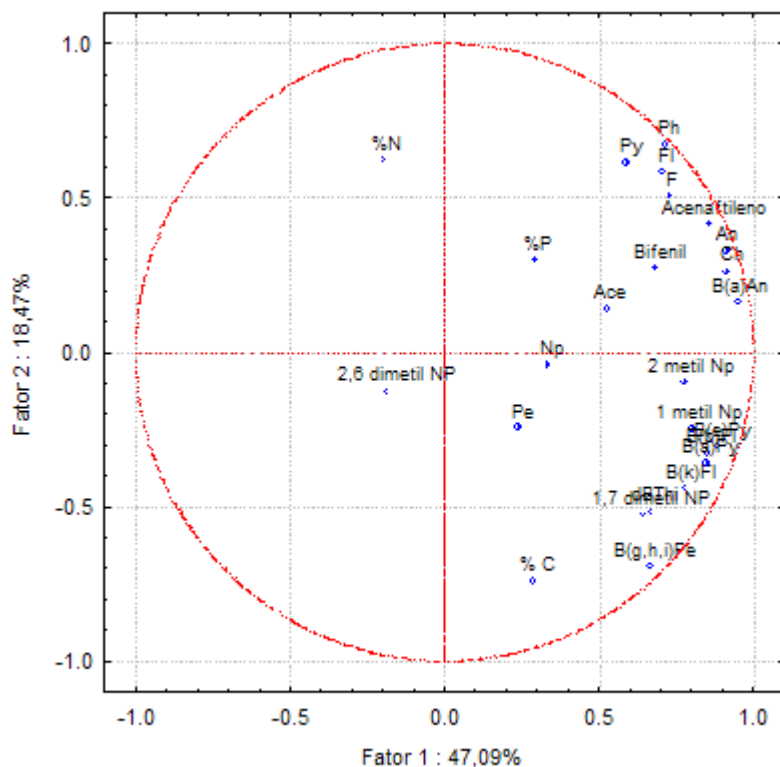


Figura 20. Projecção plana das variáveis nos fatores 1 e 2, obtidas na análise de componentes principais para o tratamento em solo contaminado.

KIPOPOULOU *et al.* (1999) aplicaram a técnica de componentes principais para comparar a composição dos HPAs nos tecidos das plantas com as possíveis fontes do meio, como material particulado presente na atmosfera, vapor d'água e solo, e encontraram duas componentes, que englobaram os compostos de 5 e 6 anéis benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(e)pireno e benzo(a)pireno, benzo(g,h,i)perileno, indeno(1,2,3-cd)pireno, criseno e pireno, e num outro extremo a segunda componente englobando apenas o fenantreno e o antraceno. Neste trabalho os compostos mais pesados como o benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(e)pireno e benzo(a)pireno, também estão agrupados.

Esse comportamento deve-se às concentrações que foram somente encontradas nas raízes e no solo, indicando que estes compostos ficaram limitados à região da rizosfera. Além disso, apresentaram aumento das concentrações no solo, e as quantidades foram maiores.

Realizando a rotação dos eixos de referência dos fatores (figura 21), verifica-se que a componente principal 1 pode ser dividida em 3 grupos, de acordo com as características das moléculas dos HPAs, o naftaleno e as espécies metiladas, os de compostos de peso intermediário e os HPAs mais pesados. Observa-se que o nitrogênio está agrupado juntamente com o grupo de HPAs que foi assimilado pelas plantas, enquanto o carbono agrupou-se com os mais pesados e que foram somente encontrados nas raízes e no solo. Já o fósforo teve maior peso no fator 3, destacando-se do comportamento das demais variáveis.

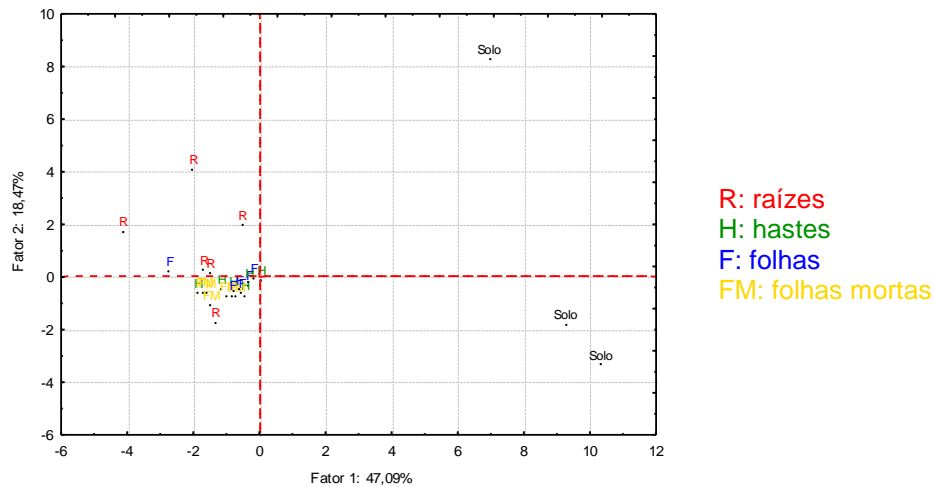


Figura 22. Projecção dos casos (amostras) nos fatores 1 e 2 extraídos da análise de componentes principais, para o cultivo em solo contaminado.

Embora a absorção de HPAs pelas plantas durante a fitorremediação não seja grande, é possível verificar algumas tendências no comportamento dos HPAs, mesmo em diferentes solos.

Neste trabalho, observando a projecção dos casos nos dois primeiros fatores (figura 22) verifica-se que, assim como no tratamento sem contaminação, o solo contaminado apresenta um padrão diferenciado da planta, e que as raízes, apresentam uma tendência a se afastar das outras partes das plantas, o que pode ser explicado pela maior acumulação ou adsorção dos HPAs neste compartimento da planta. Resultados semelhantes foram encontrados por KIPOPOULOU *et al.* (1999), avaliando o comportamento dos HPAs em plantas, verificou que o padrão apresentado pelas partes aéreas das plantas está associado à mistura vapor e particulados do ar, enquanto as raízes estão associadas ao padrão apresentado pelo solo.

3.8 Fator de Concentração de HPAs em *Spartina alterniflora*

As tabelas 8 e 9 apresentam os fatores de concentração para as diferentes componentes da biomassa vegetal, obtidos para algumas das espécies de HPAs analisadas, ao final de 90 dias de experimento. Em anexo, os itens 7.12 e 7.13 apresentam todos os dados dos fatores de concentração utilizados.

Tabela 8. Fatores de concentração obtidos no solo não contaminado nas diferentes partes da planta Fator de concentração nas raízes (RCF), fator de concentração nas hastes (SCF), fator de concentração nas folhas (FCF) e o fator de concentração nas folhas mortas(FMCF), ao final de 90 dias de experimento.

HPAs / Fator	RCF	SCF	FCF	FMCF
Naftaleno	117,73	440,14	108,64	258,86
1 Metil Naftaleno	66,28	271,45		231,35
2,6 Dimetil Naftaleno				227,61
Bifenil				226,06
Acenaftileno				145,28
Fenantreno	43,24	616,63	77,24	161,54
Antraceno		182,20	58,43	218,79
Fluoranteno		185,23	55,17	
Pireno	42,65		60,45	182,64
Benzo(a)antraceno	63,14	3230,80	91,45	174,25
Benzo(b)fluoranteno		315,95	81,59	194,57
Benzo(k)fluoranteno		321,80		
Benzo(e)pireno		257,12		

No solo não contaminado o fator de concentração foi bastante alto em todos os compartimentos da planta, visto que os teores foram maiores nas plantas no início do experimento. A *S. alterniflora* utilizada nesse experimento foi proveniente de uma região que sofre aporte de HPAs tanto pelo sedimento quanto pela água. Porém, avaliando os fatores calculados ao longo do tempo (ver tabela em anexo),

observa-se que o RCF nas raízes em 90 dias aumentou em relação ao início do experimento. Nas hastes houve um aumento no SCF para naftaleno, 1 metil-naftaleno fenantreno, benzo(a)antraceno, benzo(a)fluoranteno e benzo(e)pireno. O FCF de alguns desses mesmos compostos também foi encontrado nas folhas e inclusive nas folhas mortas. O fator calculado para as folhas mortas refere-se aos teores de HPAs encontrados no primeiro mês de experimento (30 dias). Foram encontrados fatores para espécies de HPAs de 2 até 5 anéis e os valores foram maiores que os encontrados nas raízes e nas folhas.

Pela tabela dos fatores encontrados no tratamento em solo contaminado (tabela 9), ao final de 90 dias de experimento, verifica-se que os maiores valores de RCF foram para o 2 metil-naftaleno, seguido de pireno, fluoranteno e benzo(k)fluoranteno. Nas hastes o naftaleno, nas folhas o naftaleno seguido de pireno, fenantreno e fluoranteno e nas folhas mortas pireno, fenantreno e naftaleno. A tabela 3.5 apresenta os fatores encontrados no solo contaminado.

Tabela 9. Fatores de concentração obtidos no solo contaminado nas diferentes partes da planta. Fator de concentração nas raízes (RCF), fator de concentração nas hastes (SCF), fator de concentração nas folhas (FCF) e o fator de concentração nas folhas mortas (FMCF), ao final de 90 dias de experimento.

HPAs / Fator	RCF	SCF	FCF	FMCF
Naftaleno	0,189	1,243	0,621	0,119
2 Metil Naftaleno	0,564			
Acenaftileno	0,147	0,060	0,030	0,017
Fluoreno	0,088			0,051
Fenantreno	0,141		0,226	0,146
Antraceno	0,177	0,083	0,042	0,020
Fluoranteno	0,311		0,158	0,073
Pireno	0,322		0,226	0,169
Benzo(a)antraceno	0,083		0,044	0,010
Criseno	0,121		0,029	0,010
Benzo(b)fluoranteno	0,040			
Benzo(k)fluoranteno	0,234			
Benzo(e)pireno	0,068			
Benzo(a)pireno	0,042			
Perileno	0,134			

Observa-se que os compostos de maior peso molecular somente foram encontrados nas raízes, do fluoranteno ao perileno e nas hastes no início do experimento. Ao final do experimento as hastes somente acumularam naftaleno, acenaftileno e antraceno.

As folhas vivas e as folhas mortas apresentaram fatores de concentração para as mesmas espécies de HPAs, porém as folhas vivas apresentaram valores maiores que nas folhas mortas. O naftaleno apresentou os maiores fatores nas hastes e nas folhas e foi o único composto que apresentou fator maior que 1.

Percebe-se novamente que os compostos do acenaftileno ao criseno (3-4 anéis) parecem ser acumulados pelas folhas e a presença dos mesmos nas folhas mortas pode ser um indício de que foram translocados numa tentativa de eliminar esses compostos da planta.

GAO & ZHU (2004) encontraram valores de RCF entre 0,12 e 0,08 para fenantreno e RCF entre 0,71 e 0,28 para pireno, em diferentes espécies de vegetais comestíveis como espinafre, brócolis, berinjela espinafre, rabanete entre outros, cultivados em solos com diferentes concentrações de pireno e fenantreno durante 45 dias. Para a concentração nas folhas os valores variaram entre FCF entre 1,19 e 0,21 para o fenantreno e FCF entre 1,16 e 0,04 para o pireno. Os valores obtidos para a *Spartina alterniflora* nesse trabalho foram maiores do que os obtidos por GAO & ZHU (2004). Porém, esses autores encontraram uma correlação positiva entre os valores de RCF e a composição das raízes em diferentes espécies, incluindo o conteúdo de água e lipídeos. Assim, os lipídeos mesmo em pequenas quantidades, são os maiores reservatórios de compostos insolúveis em água nas raízes.

A tabela 10 apresenta os fatores de concentração encontrados por WATTS, *et al.* (2006) em *Spartina alterniflora* cultivada em solo contaminado por HPAs e no ambiente natural com sedimentos contaminados por HPAs, e os valores encontrados no presente estudo em *S. alterniflora* no experimento com solo contaminado.

Tabela 10. Valores do fator de concentração encontrados por Watts et al. (2006) e neste trabalho nas raízes (RCF), hastes (SCF), folhas (FCF) e folhas mortas (FMCF), no cultivo em solo contaminado. Valores com o símbolo ‘ * ‘ indicam os fatores encontrados no presente estudo.

HPAs / Fator	RCF <i>Watts et al,</i> <i>2006</i>	RCF*	SCF <i>Watts et al,</i> <i>2006</i>	SCF*	FCF*	FMCF*
Naftaleno	0,10 - 0,009	0,189	0,03 - 0,006	1,243	0,621	0,119
2 Metil naftaleno		0,564				
Acenaftileno	0,1 - 0,004	0,147	0,001 - 0,0002	0,060	0,030	0,017
Acenafteno	0,21 - 0,09		0,03 - 0,0005			
Fluoreno	0,13 - 0,03	0,088	0,0006 - ND			0,051
Fenantreno	0,14 - 0,02	0,141	0,04 - 0,0001		0,226	0,146
Antraceno	0,12 - 0,02	0,177	0,02 - 0,0001	0,083	0,042	0,020
Fluoranteno	0,14 - 0,059	0,311	0,03 - 0,002		0,158	0,073
Pireno	0,15 - 0,054	0,322	0,04 - 0,0002		0,226	0,169
Benzo(a)Antraceno	0,11 - 0,042	0,083	0,02 - 0,00004		0,044	0,010
Criseno	0,10 - 0,038	0,121	0,03 - 0,0001		0,029	0,010
Benzo(b)Fluoranteno	0,09 - 0,023	0,040	0,02 - 0,00007			
Benzo(k)Fluoranteno	0,11 - 0,029	0,234	0,03 - 0,0001			
Benzo(a)Pireno	0,0 - 0,028	0,042	0,01 - 0,00004			
Benz(e)pireno		0,068				
Perileno		0,134				
Indeno(1,23-cd)antraceno	0,08 - 0,033		0,02-0,0002			
Dibenzo(a,h)antraceno			0,01-ND			
Benzo(g,h,i)perileno	0,08 - 0,033		0,02 -0,0001			

Os maiores valores para WATTS *et al.* (2006) foram encontrados nas raízes, para as espécies acenaftileno seguido de pireno, fenantreno e fluoranteno; e nas folhas para fenantreno e pireno. Os valores encontrados no presente estudo foram um pouco mais altos, mas é possível observar que foram encontrados os mesmos compostos com os maiores fatores para o caso do pireno, fenantreno e fluoranteno, tanto nas raízes como nas folhas. Apesar do acenaftileno não ter apresentado o maior fator, este composto foi o único que apresentou aumento nas concentrações na planta durante todo o experimento em todas as partes da planta no cultivo em solo contaminado.

Alguns autores sugerem que os HPAs estão fortemente associados à fração orgânica do solo, não ocorrendo a absorção pelas plantas (SIMONICH & HITES, 1995, WATTS *et al.*, 2006), e que a maior fonte de acumulação desses contaminantes nas folhas ocorre pela atmosfera em contato com a superfície foliar das plantas (KIPOPOULOU *et. al*, 1999).

No cultivo de *Spartina alterniflora* em solo contaminado a maior parte dos contaminantes ficou limitada à região da raiz, sendo que algumas espécies de HPAs foram encontradas nas partes aéreas da planta e parecem ter sido translocadas a partir das raízes. É difícil distinguir entre HPAs que foram adsorvidos na superfície das plantas e os que foram absorvidos para o interior. As propriedades físico-químicas dos compostos é que determinam o potencial da planta em absorver o contaminante, como o coeficiente de partição octanol-água e a solubilidade aquosa. Os HPAs de 2 ou 3 anéis são mais suscetíveis de serem absorvidos do que os de 4 ou mais anéis. Isso torna possível comparar as impressões digitais dos HPAs para distinguir entre as fontes de HPAs, se estão sendo absorvidas, translocadas ou depositadas pelo ar (KULAKOW, 2001).

Nesse trabalho, os compostos encontrados nos tecidos foram entre de 2 a 4 anéis, que chegam a apresentar log kow entre 3 e 5. Assim, é possível que tenha ocorrido tanto a adsorção dos HPAs na superfície das raízes, quanto à translocação de alguns compostos para o interior da planta. Os compostos orgânicos entram na planta através do mecanismo de transpiração que apresentam um padrão geral; a absorção é maior para compostos com log kow entre 1-4 com o máximo ocorrendo log kow entre 1,8 e 3,1. Compostos com log

low acima de 4 ficam limitados às membranas celulares (TRAPP *et al.*,1990; BURKEN, 2003).

Os altos valores de RCF e FCF obtidos para o fenantreno e pireno sugerem que a translocação desses compostos das raízes para a parte aérea das folhas foi positiva e consistiu na maior forma de acumulação nas folhas, para esses dois compostos. GAO & ZHU (2004) avaliaram a absorção de fenantreno e pireno em diversas espécies vegetais e concluíram que embora os valores de log kow para o fenantreno (4,57) e pireno (5,18).

Maiores concentrações de HPAs presentes na *Spartina alterniflora* no início do experimento pode estar relacionado ao contato direto com o solo ou quando nas marés altas entram em contato direto com água e sedimento que fica aderido à superfície foliar, pois as plantas foram coletadas em de grande incidência de chuvas, elevando o nível da lagoa e expondo a vegetação das marismas da região ao sedimento ressuspendido pela água. WATTS *et al.* (2006), avaliaram a absorção de HPAs em *S. alterniflora* em seu ambiente natural, porém contaminados por HPAs, encontraram altos teores nas raízes e nas folhas. Segundo os autores, as concentrações de HPAs encontrados nas raízes, devem-se ao sedimento que fica na superfície externa das raízes ao invés de serem transferidos para o interior dos tecidos.

4 CONCLUSÕES

- ❖ Neste trabalho conclui-se que a *Spartina alterniflora* é capaz de fixar direta ou indiretamente as espécies de HPAs investigadas quando cultivadas em solos contaminados.
- ❖ A *S. alterniflora* fixou os HPAs principalmente nas raízes, mas também nas partes aéreas da planta. Este fato foi particularmente evidenciado pelos fatores de concentração encontrados para as outras partes das plantas. O RCF encontrado para o cultivo em solo contaminado variou entre 0,040 a 0,564; HCF variou de 0,060 a 1,243; o FCF encontrado variou de 0,029 a 0,621 e o FMFC variou de 0,010 a 0,169. Sendo que o maior valor encontrado foi para o naftaleno (HCF= 1,243) nas hastes de *S. alterniflora*.
- ❖ As raízes acumularam espécies de HPAs de 2 até 5 anéis, como naftaleno, antraceno e benzo(a)pireno. As principais espécies de HPAs encontradas nas outras partes das plantas foram as espécies de 2-4 anéis, como acenaftileno, fenantreno, antraceno, benzo(a)antraceno e criseno.
- ❖ As concentrações da maioria das espécies de HPAs no solo não contaminado diminuíram, sugerindo que a presença da planta é capaz de auxiliar na remoção destes compostos do solo, seja pela remoção destes através da absorção pela planta, seja pela estimulação da microbiota associada às raízes. Já no solo

contaminado, somente os HPAs entre 3 e 4 anéis apresentaram redução nas concentrações ao longo do experimento.

- ❖ O desenvolvimento da *Spartina alterniflora* foi comprometido devido à alta concentração de HPAs encontradas no solo. Porém a espécie mostra-se tolerante a contaminação sendo indicado o seu uso em projetos de fitorremediação de solos contaminados por HPAs.

- ❖ Neste trabalho, verificou-se que a *Spartina alterniflora* não pode ser utilizada diretamente por resíduos industriais para a fitorremediação. Para esse objetivo, seria necessária a diluição do resíduo para minimizar os efeitos tóxicos dos contaminantes nas plantas.

5 RECOMENDAÇÕES

Para futuros trabalhos de pesquisa na área de domínio dessa dissertação destacamos os itens descritos abaixo:

- ❖ Para aplicar a fitorremediação após o tratamento biológico *landfarming* recomenda-se realizar estudos com diferentes espécies para verificar qual se enquadra melhor as condições adversas que esse resíduo proporciona às plantas.
- ❖ Com o objetivo de otimizar o processo de fitorremediação, recomenda-se a diluição do resíduo com outro tipo de solo para torná-lo com as condições físicas e químicas mais favoráveis ao desenvolvimento da vegetação.
- ❖ Realizar a análise de outros contaminantes como os hidrocarbonetos alifáticos e metais pesados também presentes no solo de *landfarming*, tanto no solo e quanto na planta que for utilizada no sentido de investigar os efeitos mais complexos e sinérgicos.
- ❖ Recomenda-se o estudo da fisiologia vegetal cultivada em solo poluído, no sentido de entender os processos que os contaminantes podem exercer sobre nos tecidos vegetais.
- ❖ Tendo em vista que a *Spartina alterniflora* mostrou-se capaz de absorver diferentes espécies de HPAs, sugerimos o estudo da decomposição natural desses vegetais para examinar possíveis processos de liberação dos contaminantes ao meio ambiente e suas formas químicas.

6 BIBLIOGRAFIA

- ATLAS, R. M., 1981. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environment Perspective. *Microbial Reviews*, V. 45, nº 1, p. 180-209.
- BAYONA, J. M. & ALBAIGÉS, J. 2005. Sources and Fate of Organic Contaminants in the Marine Environment. IIQAB-CSIC, Jordi Girona, 18, 08034 Barcelona, Spain. *Hdb Env Chem Vol. 2*. p 48.
- BAIRD, C., 2002. *Química Ambiental*. 2 ed., Porto Alegre: Bookman. 622p.
- BAISCH, P., ZAMBONI, A., CORDEIRO, L. H. & ROCHA, A . C. 2000. Níveis de Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos nos Sedimentos do Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS. XIII Semana Nacional de Oceanografia. Itajaí, SC. *Anais*, pp 302-304.
- BAKKER, M.I., CASADO, B., KOERSELMAN, J. W., TOLLS, J., KOLLÖFFEL, C., 2000. Polycyclic Aromatics Hydrocarbons in Soil and Plant Samples from the Vicinity of an Oil Refinery. *The Science of the Total Environment*, Vol. 263, p 91-100.
- BARAC, T., TAGHAVI, S., BORREMANS, B., PROVOOST, A., OWYEN, L., COLPAERT, J V., VANGROSVELSD V., van der LELIE, D., 2004. Engineered Endophytic Bacteria Improve Phytoremediation of Water-Soluble, Volatile Organic Pollutants. *Nature Biotechnology*. Vol. 22, nº 5, 583-588.
- BARBOSA, C. D. R., 2005. Avaliação dos Aportes de Hidrocarbonetos à Lagoa dos Patos (RS-Brasil). Dissertação de Mestrado. Fundação Universidade do Rio Grande. Rio Grande, RS. p. 118.

- BARBOSA, L. H. C., 2005. O Uso da Espécie *Callinectes sapidus* na Avaliação da Contaminação da Fração Biodisponível de Hidrocarbonetos Poliaromáticos (HPAs). Dissertação de Mestrado. Fundação Universidade de Rio Grande. Rio Grande, RS. p.73.
- BENTO, D. M., 2005. Análise Química da Degradação dos Hidrocarbonetos de Óleo Diesel no Estuário da Lagoa dos Patos – Rio Grande/RS. Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS. p 112.
- BINET, P., PORTAL J. M., LEYVAL C., 2000. Dissipation of 3-6-ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass. *Soil Biology & Biochemistry*. Vol 32, p 2011-2017.
- BUKVIC, A., 2001. Phytoremediation of Metals and PHAs Occurring as Mixtures. Department of Biological Sciences of the College of Arts and Sciences B.S., University of Zagreb, Croatia.
- BURKEN, J. G. 2003. Uptake and Metabolism of Organic Compounds: Green-Liver Model. In: *Phytoremediation Transformation and Control of Contaminants*, edited by MacCutcheon S. C. & Schnoor J. L. Environmental Science and Technology: A Wiley-Interscience Series of Texts and Monographs. p 59-84.
- CAMARGO, O. A., 1986. Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos. Instituto Agronômico de Campinas, 94 pg. Boletim técnico nº106.
- CASTRO, R. A., CARVALHO, F. J. P. C., KRENCZYNSKI, M. C., GONÇALVES, C. M. , OLIVEIRA, S.C.T., LIMA, V., CREPLIVE, M. JOANELLO JR, L. A ., 2004. Otimização do Sistema de *Landfarming* da RPBC - Refinaria Presidente Bernardes. Anais do 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás.

CLARK, R. B., 2003. Marine Pollution. Oxford, New York. 237 p.

COPELUL – Meio Ambiente. Disponível em:
<<http://www.copelul.com.br/site/ambiente/meio/index.htm>> acesso em 30
de maio de 2007.

COPERTINO, M., COSTA, C. S. B. & SEELIGER, U., 1997. Dinâmica Populacional de *Spartina alterniflora* em Pântanos Salgados do Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS. In: Santos J.E. (Ed.). Anais do VIII Seminário Regional de Ecologia. Vol. 1, 12 a 15 de março de 1996. São Carlos, SP. 295-312.

CORDEIRO, L. H. C., 2003. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nos Sedimentos do Estuário da Lagoa dos Patos, RS. Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS. p. 131.

COSTA, C. S. B. 1998. Plantas de Marismas e Terras Alagáveis. In: Os *Ecosistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil*, editado por Seeliger, U., C. Odebrecht, and J.P. Castello, 25-29. Rio Grande (RS): Editora Ecoscientia.

COSTA, C. S. B. & DAVY, A. J., 1992. Coastal Saltmarsh Communities of Latin America. In: SEELIGER, U (ed.). Coastal Plant Communities of Latin America. Academic Press, Nova Iorque: 157-177.

COSTA, C. S. B., SEELIGER U. & OLIVEIRA, C. P.L. 1997. Distribuição, funções e valores das marismas e pradarias submersas no estuário da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). Revista Atlântica, Vol. 19, p 51-66.

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.

- CUNHA, S. R., ASMUS, M. & COSTA, C. S. B., 2005. Production Dynamics of *Spartina alterniflora* Salt Marshes in The Estuary of Patos Lagoon (RS, Brazil): a Simulation Model Approach. Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology, 2005, 9(2):75-85.
- DAANE, L. L., HARJONO, I., ZYLSTRA, G. J., HÄGGBLÖM, M. M., 2001. Isolation and Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacteria Associated With the Rhizosphere of Salt Marsh Plants. Applied and Environmental Microbiology. Vol 67, nº6. p 2683-2691.
- D'AGOSTINHO, A. & FLUES, M., 2006 Determinação do Coeficiente de Distribuição (Kd) de Benzo(a)pireno em Solo por Isotermas de Sorção – Química Nova, 29 (4), 657-661.
- DA SILVA, M. Y. B., 2006. Influência do Solo Contaminado com Óleo Diesel na Germinação, Crescimento e Morfoanatomia de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Sm.& Downs (EUPHORBIACEAE). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. P. 97.
- DAVIS D. W., 2002. Louisiana's oil spill research and development program: 110 research awards in support of 72 projects and still counting. Louisiana State University, Baton Rouge, LA 70803.
- DENYS, S., ROLLIN, C., GUILLOT, F., BAROUDI, H., 2006. *In-Situ* Phytoremediation of PAHS Contaminated Soils Following a Bioremediation Treatment. Water, Air and Soil Pollution, Vol. 6, p. 299-315.
- DINARDI A. L., FORMAGI V. M., CONEGLIAN C. M. R., DE BRITO N.N., SOBRINHO, G. D., TONSO, S. e PELEGRINI R., 2003. Fitorremediação. III Fórum de Estudos Contábeis. Faculdades Integradas Claretianas – Rio Claro, SP.

DOWTY, R. A., SHAFFER, G. P., HESTER, M. W., CHILDERS, G. W., CAMPO, F. M., GREENE M. C., 2001. Phytoremediation of Small-Scale Oil Spills in Fresh Marsh Environments: a Mesocosm Simulation. Marine Environmental Research. Vol 52. p. 195-211.

EPA (Environmental Protection Agency), Disponível em: <<http://www.itopf.com>> acesso em 27/10/2006.

EPA/600/R-99/1, 2000. Introduction to Phytoremediation. National Risk Management Research Laboratory. Office of Research and Development. U. S. Environmental Protection Agency. P. 104.

FRONZA, L., 2006. Capacidade de Liberação de Hidrocarbonetos dos Sedimentos de Áreas Contaminadas do Estuário da Lagoa dos Patos – RS. Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS. p.126.

GANDRA, M. S., 2005. Efeitos do Petróleo Sobre a Associação de Macroinvertebrados Bentônicos de Praias Arenosas do Extremo Sul do Brasil. Dissertação de Mestrado em Oceanografia Biológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS. p. 86.

GAO Y. & ZHU, L., 2004. Plant Uptake, Accumulation and Translocation of Phenanthrene and Pyrene in Soils. Chemosphere, Vol.55, p. 1169-1178.

GARCIA, M. R. D., 2004. Contribuição do Efluentes Urbano-Industriais na Contaminação por (HPAs) dos Sedimentos Estuarinos da Lagoa do Patos (Rio Grande, RS). Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS. p. 135.

- GAUDETTE, H., MULLER, G. & STOFFERS, P. 1974. An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. *Journal of Sedimentary Petrology*, V. 44(1), p. 249-253.
- GOMES NETO, A., 2008. Avaliação da Toxidez e Potencial de Fitorremediação da Água de Produção de Petróleo Salina pela Halófito *Spartina alterniflora* LOISEL. (POACEAE). Dissertação de Mestrado em Oceanografia Biológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS, p. 89.
- HAIR, J. F. (1995). *Multivariate Data Analysis: with readings*. 4 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 730 p.
- HACKBART, V. C. S. & CORDAZZO, C. V., 2007. Germinação e Crescimento de Plântulas de *hydrocotyle bonariensis* LAM. (APIACEAE) em diferentes Concentrações de NaCl. *Revista Atlântica*. Rio Grande (29)(2), 85-92.
- HUANG, X., EL-ALAWI, Y., GURSKA, J., GLICK, B. R. GREENBERG, B.M., 2005. A Multi-Process Phytoremediation System for Decontamination of Persistent Total Petroleum Hydrocarbons (TPHs) from Soils. *Microchemical Journal*, Vol. 81. p. 139-147.
- IGNÁCIO, G. M. 2007. Avaliação da Contaminação por Hidrocarbonetos em Água, Sedimento e Ostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (Paraná - Brasil). Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS, 91p.
- ITRC—PHYTOTECHNOLOGY Technical and Regulatory Guidance Document, 2001. Technical/Regulatory Guidelines. Prepared by Interstate Technology and Regulatory. [<http://www.itrcweb.org/Documents>]. p. 123.

- JONER E. J. & LEYVAL C., 2003. Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rhizosphere interactions. *Agronomie* 23, 495–502.
- JONER, E. J., CORGIÉ, S. C., AMELLAL, N., LEVYAL C., 2002. Nutritional constraints to degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in a simulated rhizosphere. *Soil biology & Biochemistry*. Vol. 34.p 859-864.
- KENNISH, J. M., 2004. Ecology of estuaries: anthropogenic effects. Boca Raton, CRC Press, 494p.
- KIPOPOULOU, A . M. & SAMARA, E. M., 1999. Bioconcentration of Polycyclic Aromatics Hydrocarbons in an Industrial Area. *Environmental Pollution*, Vol 106. p. 369-380.
- KULAKOW, P., 2001. Plant Hydrocarbon Uptake Analysis Protocol. RTDF TPH Subgroup Cooperative. Phytoremediation Field Trials. Department of Agronomy, Kansas State University.
- LACERDA, L.D., FREIXO J. L., COELHO, S. M., 1997. The Effect of *Spartina alterniflora* Loisel on Trace Metals Accumulation in Inter-Tidal Sediments. *Mangroves and Salt Marshes*. Vol. 1. p. 201-209.
- LEAHY, J. G. & COLWELL R. R., 1990. Biodegradation of Hydrocarbons in the Environment. *Microbiological Reviews*, p. 305 – 315, Vol 54, n° 3.
- LIN, Q., MENDELSSOHN I. A ., SUIDAM, M. T., LEE, K., VENOSA, A . D., 2002. The Dose-response Relationship Between N° 2 Fuel Oil and the Growth of the Salt Marsh Grass, *Spartina alterniflora*. *Marine Pollution Bulletin*. Vol 44, p 897-902.

- LINDAU, C. W., DELAUNE, R. D., JUGSUJINDA A., SAJO, E., 1999. Response of *Spartina alterniflora* Vegetation to Oiling and Burning of Applied Oil. Marine Pollution Bulletin. Vol. 38, nº 12 pp. 1216-1220.
- MENDELSSOHN, I. A. & LIN, Q., 2003. Development of Bioremediation for Oil Spill Cleanup in Coastal Wetlands. U.S. Department of Interior, Minerals Management Office, Gulf of Mexico OCS Region, OCS Study, MMS 2002-048.
- MARINS, R. V., LACERDA, L. D., GONÇALVES, G. O ., DE PAIVA E. C., 1997. Effect of Root Metabolism on The Post-Depositional Mobilization of Mercury in Salt Marsh Soils. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 58, p 733-738.
- MANAHAM, S. E., 1994. Environmental Chemistry. Boca Raton, Florida. CRC Press. 810p.
- 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. 84 pp.
- MERKL, N., SCHULTZE-KRAFT R., INFANTE C., 2005. Phytoremediation in the tropics e influence of heavy crude oil on root morphological characteristics of graminoids. Environmental Pollution 138, 86 e 91.
- MESQUITA, A. C., 2004. Uso das Técnicas de Oxidação Química e Biodegradação na Remoção de Alguns Compostos Orgânicos Recalcitrantes. Tese de Doutorado em Ciências e Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

- MONTAGNOLLI, W., 1999. Teor de Metais Pesados (Cu, Pb, Ni, Zn, Fe, Cr e Mn) em *Spartina alterniflora* do Estuário da Lagoa dos Patos – Rio Grande, RS. Monografia de Graduação. Fundação Universidade do Rio Grande. Rio Grande, RS.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Segurança Química – Resíduos – Certificação e Gestão Ambiental. Disponível em: <www.mma.gov.br>. Acesso em: 26/07/2007.
- NEFF, J.M., 1979. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Sources, fates and biological effects. Applied Science, London. 262p.
- NGHIA, N. K., 2007. Degradation of aged creosote and diesel contaminated soils by phytoremediation or biostimulation (nutrients). Department of Soil Sciences and the Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU).
- NOGUEIRA, R. X. X., 2003. Aplicação e análise da vulnerabilidade das marismas da Lagoa dos Patos a derrames de óleo. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.
- OLIVEIRA, L. S., 2004. Influência do Solo Contaminado por Petróleo na Morfologia e Fisiologia de *Schinus terebinthifolius* RADDI (ANACARDIACEAE). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. p. 74.
- OLIVEIRA, D. S., 2005. Degradação do Petróleo em Ambiente Estuarino da Lagoa dos Patos Através de Um Derrame Induzido. Monografia de Graduação. Fundação Universidade do Rio Grande. Rio Grande, RS. p. 48.
- PARRISH, Z. D., BANKS, M. K., SCHWAB A. P., 2005. Assessment of Contaminant Liability During Phytoremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Impacted Soil.

- PEZESHKI, S. R., HESTER, M. W., LIN Q., NYMAN, J. A., 2000. The Effects of Oil Spill and Clean-up on Dominant US Gulf Coast Marsh Macrophytes: a review. *Environmental Pollution*. Vol. 108. p 129-139.
- PILON-SMITS, E., 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 56, p. 15-39.
- PORTZ, L. C., 2005. Avaliação da Contaminação por Hidrocarbonetos em Amostras Ambientais do Estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Monografia de Graduação em Oceanologia. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS p. 95.
- PEDERZOLLI, E. M., 2006. Comparação de Áreas Submetidas a Impacto pelo Refino de Petróleo (RS). Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS. p. 79.
- PIRES, F. R.; DE SOUZA, C. M.; CECON, P. R.; DOS SANTOS, J. B.; TÓTOLA, M. R.; PROCÓPIO, S. O; DA SILVA A. A.; SILVA C. S. W., 2005. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para a fitorremediação do herbicida tebuthiuron. *R. Bras. Ci. Solo*, 29:627-634.
- REED, D. Wm, 2007. Build a Hydroponic Culture System. *Horticulture and the Science of Plants Horticulture*. Youth Adventure Program Department of Horticultural Sciences Texas A&M University. Disponível em: <<http://hort201.tamu.edu/YouthAdventureProgram/index.html>> acesso em: 13 de fevereiro de 2007.
- RIZZO, A C. L. & RAIMUNDO, R., 2003. Determinação de Óleos e Graxas em Solo, por Gravimetria Empregando Método de Extração com Ultrassom. IT2003-001-00 – Instrução de Trabalho Elaborada para o CETEM.

- RUTTENBERG, K. C., 1992. Development of a Sequential Extraction Method for Different Forms of Phosphorus in Marine Sediments. *Limnology & Oceanography*, V. 37, p 1460-1482.
- SARKAR, D., FERGUSON, M., DATTA, R., BIRNBAUM S., 2005. Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Contaminated Soils: Comparison of Biosolids Addition, Carbon Supplementation, and Monitored Natural Attenuation. *Environmental Pollution*. Vol.136, p 187-195.
- SALVADOR, A. R. F. & MIRANDA, J. S., 2003. Recuperação de Áreas Degradadas. Meio ambiente – Tecnologias em: <<http://www.ietec.com.br/ietec/>> Acesso em: 04/06/2007.
- SCHWARZENBACH R. P.; GSCHWEND P. M. AND IMBODEM D. M., 1993. *Environmental Organic Chemistry*. Copyright, John Wiley & Sons, Inc.. New York.
- SELLIGER, U.; ODEBRECHT, U.; CASTELLO, J. P., 1997. Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscientia, 341p.
- SILVA, M. G., 2007. Biorremediação de Solo Contaminado por Petróleo por Diferentes Técnica de Bioestimulação. Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Rio Grande, RS. p. 113.
- SILVA, M. G.; SANTOS, P.; PEDERZOLLI E. M.; FRONZA L.; SANCHES, P J.; MACHADO, M.I. & BAISCH, P. 2005. Estudo da contaminação por HPAs no sedimento em região próxima a uma refinaria de petróleo. Congresso Bras. de Oceanografia. p 235-238.

- SIMS, R. C.; SIMS, J. L.; SORENSEN, D. L.; HASTINGS, L. L. 1988. Waste/soil treatability studies for four complex industrial wastes: methodologies and results. USEPA, Robert S. Kerr Environmental Research Laboratory, V. 1, p. 154.
- SIMONICH, S. L. AND HITES, R. A., 1994. Vegetation-Atmosphere Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Environmental Science and Technology. Vol. 28, 939-943.
- SISINNO, O. C.; PEREIRA NETTO, A. D.; DO REGO, E. C. P. E LIMA, G. S. V., 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.
- STRICKLAND, J. H. D., PARSONS, T., 1972. A Practical handbook of seawater analysis. 2nd edition. J. Fis. Ed. Canada, Ottawa Bull (167). 310 p.
- STUMPF, L., 2004. Fitorremediação de áreas impactadas por resíduos oleosos produzidos por refinaria de petróleo. Relatório técnico de estagio curricular obrigatório. Curso de Agronomia, UFPel, Pelotas, RS.
- SUGUIO, K. 1973 Introdução à Sedimentologia. Ed. Edgard Blücher. São Paulo. 1a edição. p. 317.
- TEDESCO, M. J., GIANELLO, C., BISSANI, C. A., BOHNEN, H., VOLKWEISS, S. J., 1995 Análises de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- TEURES, R. A., 2005. Desenvolvimento de Plantas em Resíduo de *Landfarming*, Proveniente de Refinaria de Petróleo. Monografia de Graduação. Universidade Estadual Paulista. P. 78.

- TOCCHETTO, M. 2007. Gerenciamento de Resíduos Sólidos Industriais – Tratamento Biológico. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – Seção RS.
- TISCHER, S. & HÜBNER T., 2002. Model Trials for Phytoremediation of Hydrocarbon-Contaminated Sites by The Use of Different Plant Species. International Journal of Phytoremediation. Vol 4, nº 3. p 187-203.
- TRAPP S., MATTTTHIES, M., SCHEUNERTI., TOPP E. M., 1990. Modeling the Bioconcentration of Organic Chemicals in Plants. Environmental Science and Technology. Vol. 24, nº 8. p 1246-1252.
- TRAPP, S. & KARLSON, U., 2001. Aspects of Phytoremediation of Organic Pollutants. Reviews Articles. Journal of Soil & Sediments, Vol. 1. p 1-7.
- UNEP (UNITED NATIONS ENVIRONMET PROGRAMME), 1991. Determinations of Petroleum Hydrocarbons in Sediments. Reference Methods for Marine Pollution Studies, no 20, p 97.
- USDA (United States Department of Agriculture), NRCS (National Resources Conservation Service). 2000. *Smooth Cordgrass Spartina alterniflora Loisel.*. The Plants Database. Version: 000504. <<http://plants.usda.gov>>. National Plant Data Center, Baton Rouge, Louisiana. 5p.
- VEIGA, I.G., 2003. Avaliação da origem dos hidrocarbonetos em sedimentos superficiais de manguezais da região norte da Baía de Todos os Santos / Bahia. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense, RJ. 225p.
- WATTS A. W.; BALLESTERO, T. P; GARDNER, K. H., 2006. Uptake of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Salt Marsh Plants *Spartina Alterniflora* Grown in Contaminated Sediments. Chemosphere Vol. 62, p 1253-1260.

YUNKER, M. B. & MacDONALD, R. W., 2003. Petroleum Biomarker Sources in Suspended Particulate Matter and Sediments from the Fraser River basin an Strait of Georgia, Canada. *Organic Geochemistry*. Vol 34, p 1525-1541.

ZAR, J. H., 1984. *Bioestatistical Analysis*. Nova York, Prentice Hall. 717 p.

ZYNDA, T., 2005. *Phytorremediation – A community fact sheet*. Michigan State University TAB program. Great Lakes Mid-Atlantic. Center for Hazardous Substance Research.

7 ANEXOS

7.1 Médias \pm desvio padrão dos parâmetros de crescimento nas plantas.

SOLO NÃO CONTAMINADO	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Altura	29,4 \pm 11,9	30,3 \pm 10,8	28,3 \pm 8,2	28,1 \pm 6,9	24,3 \pm 9,4
Índice Foliar	46,6 \pm 19,4	39,4 \pm 14,0	41,3 \pm 18,1	39,7 \pm 15,4	50,2 \pm 30,1
Nº Folhas	2,9 \pm 0,6	2,4 \pm 0,9	3,0 \pm 1,1	2,3 \pm 1,6	2,9 \pm 1,2
Densidade de Raiz	1,4 \pm 0,5	1,6 \pm 0,7	1,7 \pm 0,7	2,0 \pm 1,0	3,1 \pm 1,6
Número de Brotos	1,0 \pm 0,0	1,2 \pm 0,4	1,1 \pm 0,4	1,0 \pm 0,0	1,8 \pm 0,7
Índice Foliar de Brotos*	7,8 \pm 5,4	7,8 \pm 6,7	7,5 \pm 7,7	20,6 \pm 6,1	30,2 \pm 13,9
SOLO CONTAMINADO	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Altura	29,3 \pm 10,2	25,5 \pm 7,0	31,6 \pm 13,1	18,6 \pm 6,0	19,8 \pm 3,3
Índice Foliar	44,2 \pm 15,3	29,3 \pm 14,6	34,7 \pm 20,7	29,3 \pm 14,4	24,6 \pm 15,6
Nº Folhas	3,0 \pm 0,7	2,1 \pm 0,8	2,2 \pm 0,6	3,0 \pm 1,1	2,5 \pm 0,6
Densidade de Raiz	1,2 \pm 0,5	1,5 \pm 0,7	1,6 \pm 0,5	1,8 \pm 0,9	2,5 \pm 1,5
Número de Brotos	1,2 \pm 0,4	1,4 \pm 0,5	1,4 \pm 0,5	1,5 \pm 0,7	1,4 \pm 0,7
Índice Foliar de Brotos*	9,7 \pm 3,9	10,3 \pm 6,4	4,5 \pm 2,0	15,8 \pm 11,3	17,9 \pm 10,2

O símbolo * indica diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. $n = 15$.

7.2 Biomassa de Raízes, folhas vivas, folhas mortas e brotos.

BIOMASSA (g/planta)/TEMPO		0 dias	7 dias	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Não Contaminado	Raízes	0,28	0,22	0,19	0,27	0,25	0,40
	Haste	0,17	0,18	0,11	0,12	0,09	0,07
	Folhas Vivas	0,32	0,13	0,17	0,14	0,13	0,15
	Folhas Mortas		0,13	0,08	0,10	0,15	0,30
	Brotos		0,02	0,01	0,01	0,00	0,01
Contaminado	Raízes	0,28	0,22	0,21	0,20	0,27	0,37
	Haste	0,16	0,13	0,08	0,12	0,06	0,045
	Folhas Vivas	0,32	0,10	0,09	0,12	0,08	0,07
	Folhas Mortas		0,19	0,13	0,16	0,24	0,43
	Brotos		0,01	0,02	0,01	0,01	0,002

7.3 Limite de detecção obtidos para HPAs na CG/MS pelo Laboratório de Contaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática – CONECO – FURG.

Composto (HPA)	LD (ng.mL⁻¹)
Naftaleno	0,26
2-Metilnaftaleno	0,33
1-Metilnaftaleno	0,30
2,6 Dimetilnaftaleno	0,37
Bifenil	0,31
Acenaftileno	0,54
Acenafteno	0,66
Fluoreno	0,48
Dibenzotiofeno	0,57
Fenantreno	0,14
Antraceno	0,20
p-Terfenil-d14	0,72
Fluoranteno	0,50
Pireno	0,24
Benzo(a)antraceno	0,24
Criseno	0,50
Benzo(b)fluoranteno	0,24
Benzo(k)fluoranteno	0,35
Benzo(a)pireno	0,82
Benzo(e)pireno	0,59
Perileno	0,40
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0,49
Dibenzo(a,h)antraceno	0,35
Benzo(g,h,i)perileno	0,89

7.4 Concentração de HPAs ($\mu\text{g.Kg}^{-1}$ peso seco) encontradas no solo não contaminado, contaminado com cultivo e contaminado sem cultivo. LQ = Limite de Quantificação.

COMPOSTO ($\mu\text{g/Kg}$)	EXPERIMENTO SEM CONTAMINAÇÃO (LQ = 0,25)			EXPERIMENTO CONTAMINADO COM CULTIVO (LQ = 1,66)			EXPERIMENTO CONTAMINADO SEM CULTIVO (LQ = 1,66)			
	COLETAS	0 DIAS	30 DIAS	90 DIAS	0 DIAS	30 DIAS	90 DIAS	0 DIAS	30 DIAS	90 DIAS
Naftaleno		0,52	0,25	0,25	62,60	73,47	101,92	62,60	67,26	52,59
2 Metil Naftaleno		0,85	<0,25	<0,25	71,87	65,63	101,46	71,87	51,26	33,10
1 Metil Naftaleno		0,63	0,32	0,32	70,56	74,97	125,90	70,56	61,98	46,92
2,6 Dimetil Naftaleno		0,47	0,57	<0,25	83,77	63,97	<1,66	83,77	50,11	51,14
1,7 Dimetil Naftaleno		0,00	<0,25	<0,25	<1,66	86,66	108,93	<1,66	54,13	40,32
Bifenil		0,33	0,43	<0,25	115,48	75,35	86,21	115,48	61,04	78,48
Acenaftileno		2,23	0,36	0,32	5442,47	3668,87	3821,44	5442,47	2887,58	3039,18
Acenafteno		0,00	<0,25	<0,25	118,56	78,48	94,70	118,56	40,70	60,96
Fluoreno		1,38	0,53	<0,25	1056,52	546,57	535,75	1056,52	391,58	539,04
Dibenzotiofeno		1,21	<0,25	<0,25	21,04	50,99	44,00	21,04	19,37	45,63
Fenantreno		3,87	0,86	0,50	3422,89	1452,42	1034,13	3422,89	978,43	1184,67
Antraceno		1,27	0,44	0,61	3630,22	2990,44	2971,43	3630,22	2373,96	2208,18
Fluoranteno		1,60	0,73	0,58	1540,49	883,45	891,74	1540,49	1047,57	972,88
Pireno		1,59	0,54	0,58	1299,72	872,95	756,41	1299,72	742,74	680,29
Benzo(a)antraceno		0,28	0,72	0,53	2940,08	2910,55	3121,80	2940,08	2876,16	2938,15
Criseno		1,93	0,78	0,67	5348,95	4002,30	4593,69	5348,95	4284,48	4239,69
Benzo(b)fluoranteno		1,36	0,94	0,82	930,58	3108,24	3588,57	930,58	2066,35	2176,79
Benzo(k)fluoranteno		0,44	0,77	0,73	205,93	773,48	548,67	205,93	494,24	407,58
Benzo(e)pireno		1,30	0,80	0,77	860,07	2249,97	2303,74	860,07	2113,38	1604,20
Benzo(a)pireno		0,96	0,81	0,74	838,45	2225,29	2146,84	838,45	1948,05	1685,97
Perileno		0,52	<0,25	<0,25	226,40	368,86	340,24	226,40	333,91	255,48
Indeno(1,2,3-cd)pireno		1,64	<0,25	<0,25	359,68	4861,94	4762,50	359,68	4480,93	3288,48
Dibenzo(a,h)antraceno		<0,25	<0,25	<0,25	188,00	2716,01	3036,82	188,00	2527,28	1992,48
Benzo(g,h,i)perileno		<0,25	<0,25	<0,25	343,62	4050,44	3930,02	343,62	3819,47	2682,33
Σ HPA Totais		24,38	9,84	7,42	29177,97	38251,29	39046,92	29177,97	33771,96	30304,55
Σ HPA 2-3 anéis		12,78	3,75	1,99	14095,99	9227,82	9025,87	14095,99	7037,40	7380,22
Σ HPA 4-6 anéis		10,01	5,36	4,84	13541,49	28140,03	29129,31	13541,49	25686,99	21951,45
% HPA 2-3 anéis		52,41	38,12	26,84	48,31	24,12	23,12	48,31	20,84	24,35
% HPA 4-6 anéis		41,03	54,42	65,31	46,41	73,57	74,60	46,41	76,06	72,44
% RECUPERAÇÃO		48,91	66,15	69,53	93,23	61,86	62,21	93,23	60,41	70,84

7.5 Concentração de HPAs ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) normalizada pela biomassa vegetal encontrada nas raízes e hastes encontrada nas plantas cultivadas no solo não contaminado. LQ = 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

NÃO CONTAMINADO [] Normalizada pela biomassa	RAIZ						HASTE					
	0 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS	0 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Naftaleno	<LQ	<LQ	<LQ	16,28	49,83	29,54	59,33	74,80	137,59	43,86	80,45	157,74
2 Metil Naftaleno	7,63	12,00	10,28	16,01	35,95	19,66	50,26	40,20	69,70	<LQ	86,94	117,33
1 Metil Naftaleno	9,98	13,22	13,85	16,64	35,97	21,06	56,96	45,36	100,38	56,70	81,51	123,21
2,6 Dimetil Naftaleno	82,52	107,89	118,96	<LQ	62,41	37,04	90,95	70,41	125,27	101,44	<LQ	220,39
1,7 Dimetil Naftaleno	67,10	85,22	96,07	<LQ	49,29	29,56	68,23	54,41	<LQ	<LQ	<LQ	174,33
Bifenil	38,83	50,97	55,32	21,90	48,06	28,57	64,28	52,25	93,19	76,76	110,04	167,29
Acenaftileno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	47,34	29,46	<LQ	63,25	<LQ	<LQ
Acenafteno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	62,15	44,99	79,27	<LQ	<LQ	<LQ
Fluoreno	<LQ	<LQ	<LQ	24,33	48,25	<LQ	76,40	59,49	100,62	94,00	<LQ	199,26
Dibenzotiofeno	12,71	16,26	18,64	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	63,47	109,43	90,67	<LQ	<LQ
Fenantreno	17,12	14,51	1,93	53,30	92,26	21,48	113,18	64,55	110,20	153,25	<LQ	437,45
Antraceno	21,39	35,25	18,03	20,99	41,84	<LQ	106,75	<LQ	<LQ	78,86	105,33	158,04
Fluoranteno	<LQ	5,13	<LQ	19,08	<LQ	<LQ	110,50	<LQ	<LQ	130,67	<LQ	153,99
Pireno	<LQ	<LQ	<LQ	19,78	<LQ	24,88	66,65	<LQ	<LQ	95,55	<LQ	<LQ
Benzo(a)antraceno	81,28	96,79	109,00	24,72	53,44	33,33	<LQ	75,50	<LQ	127,65	141,26	2436,39
Criseno	28,18	51,20	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	165,41	<LQ	139,05	<LQ	<LQ
Benzo(b)fluoranteno	61,98	143,63	90,54	48,00	100,01	<LQ	130,19	82,05	153,54	167,26	203,76	368,15
Benzo(k)fluoranteno	79,61	116,55	107,87	<LQ	98,98	<LQ	204,73	90,77	151,21	137,14	<LQ	335,78
Benzo(e)pireno	72,54	100,96	141,07	<LQ	<LQ	<LQ	212,43	139,73	171,86	<LQ	<LQ	284,24
Benzo(a)pireno	157,29	227,66	210,04	<LQ	110,49	<LQ	447,03	121,53	206,25	<LQ	<LQ	<LQ
Perileno	77,02	83,73	96,47	53,55	98,91	47,50	179,82	157,26	265,22	<LQ	219,90	402,22
Indeno(1,2,3-cd)pireno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzo(a,h)antraceno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(g,h,i)perileno	481,90	622,89	722,56	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Σ HPA totais	1297,07	1783,87	1810,63	334,57	925,67	292,61	2147,18	1431,64	1873,72	1556,11	1029,20	5735,83
Σ HPA 2-3 anéis	257,28	335,33	333,09	169,44	463,85	186,90	795,83	599,39	925,64	758,79	464,28	1755,05
Σ HPA 4-6 anéis	1039,79	1448,54	1477,55	165,13	461,82	105,71	1351,35	832,25	948,08	797,32	564,92	3980,78
% HPA 2-3 anéis	19,84	18,80	18,40	50,65	50,11	63,87	37,06	41,87	49,40	48,76	45,11	30,60
% HPA 4-6 anéis	80,16	81,20	81,60	49,35	49,89	36,13	62,94	58,13	50,60	51,24	54,89	69,40
%RECUPERAÇÃO	71,03	66,21	62,58	0,00	47,38	42,56	43,17	59,57	53,78	66,15	61,81	51,12

7.6 Concentração de HPAs ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) normalizada pela biomassa vegetal em folhas e folhas mortas encontradas nas plantas cultivadas no solo não contaminado. LQ = 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

NÃO CONTAMINADO [] Normalizada pela biomassa	FOLHA						FOLHA MORTA				
	0 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Naftaleno	<LQ	<LQ	<LQ	57,39	357,83	36,34	<LQ	<LQ	63,73	45,28	<LQ
2 Metil Naftaleno	7,10	12,67	9,47	59,93	393,63	38,06	16,91	28,67	78,87	52,77	<LQ
1 Metil Naftaleno	11,43	18,32	14,11	61,66	374,88	<LQ	25,32	46,41	73,64	46,68	<LQ
2,6 Dimetil Naftaleno	103,90	159,97	112,31	<LQ	665,75	70,45	212,95	394,34	129,63	<LQ	<LQ
1,7 Dimetil Naftaleno	74,57	126,14	89,98	<LQ	<LQ	<LQ	170,95	306,91	105,09	<LQ	<LQ
Bifenil	44,73	75,88	53,21	81,68	503,83	48,46	104,09	179,09	97,42	62,85	<LQ
Acenaftileno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	51,60	<LQ	<LQ
Acenafteno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fluoreno	<LQ	<LQ	<LQ	90,85	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzotiofeno	18,27	29,30	18,83	<LQ	<LQ	<LQ	40,98	64,37	<LQ	<LQ	<LQ
Fenantreno	27,76	15,64	0,00	195,38	655,80	51,15	187,43	58,12	138,99	49,82	<LQ
Antraceno	50,44	22,65	10,89	84,16	501,15	47,30	141,15	62,44	96,86	62,65	<LQ
Fluoranteno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	42,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Pireno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	498,48	47,01	<LQ	<LQ	97,97	<LQ	<LQ
Benzo(a)antraceno	104,61	186,77	95,17	130,52	633,35	64,37	187,72	351,76	124,88	87,36	<LQ
Criseno	28,94	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	47,27	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(b)fluoranteno	<LQ	120,73	86,04	151,36	886,13	88,73	152,45	288,47	182,71	<LQ	<LQ
Benzo(k)fluoranteno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	186,06	355,97	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(e)pireno	66,85	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	141,51	273,96	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(a)pireno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	350,37	657,63	<LQ	<LQ	<LQ
Perileno	481,87	546,92	197,96	433,31	2019,31	194,96	596,65	575,02	378,62	1237,00	<LQ
Indeno(1,2,3-cd)pireno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzo(a,h)antraceno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(g,h,i)perileno	771,04	1788,14	1698,67	<LQ	<LQ	<LQ	1671,60	3974,54	<LQ	<LQ	<LQ
SOMA HPA totais	1791,53	3103,14	2386,64	1346,25	7490,14	729,65	4186,13	7664,96	1620,01	1644,41	<LQ
SOMA HPA 2-3 anéis	338,21	460,57	308,79	631,05	3452,87	291,76	899,78	1140,35	835,82	320,05	<LQ
SOMA HPA 4-6 anéis	1453,32	2642,57	2077,84	715,20	4037,27	437,89	3286,35	6524,60	784,19	1324,36	<LQ
% HPA 2-3 anéis	18,88	14,84	12,94	46,87	46,10	39,99	21,49	14,88	51,59	19,46	<LQ
% HPA 4-6 anéis	81,12	85,16	87,06	53,13	53,90	60,01	78,51	85,12	48,41	80,54	<LQ
% RECUPERAÇÃO	54,50	54,34	56,14	48,82	62,12	62,05	45,85	41,44	60,51	58,28	80,99

7.7 Concentração de HPAs ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) normalizada pela biomassa vegetal nas raízes e hastes encontrada nas plantas cultivadas no solo contaminado. LQ = 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

CONTAMINADO [] Normalizada pela biomassa	RAIZ						HASTE					
	0 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS	0 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Naftaleno	<LQ	<LQ	48,47	44,90	69,12	20,89	60,04	38,43	85,95	39,20	114,09	138,53
2 Metil Naftaleno	7,63	<LQ	<LQ	30,68	43,84	61,91	50,86	44,47	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
1 Metil Naftaleno	9,98	<LQ	<LQ	33,07	33,08	<LQ	57,64	40,31	77,03	<LQ	<LQ	<LQ
2,6 Dimetil Naftaleno	82,52	<LQ	<LQ	<LQ	45,75	<LQ	92,03	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
1,7 Dimetil Naftaleno	67,10	<LQ	<LQ	<LQ	36,37	<LQ	69,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Bifenil	38,83	<LQ	<LQ	<LQ	54,65	<LQ	65,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Acenaftileno	<LQ	422,95	604,64	920,63	951,68	608,02	47,91	40,67	99,85	43,83	190,44	255,81
Acenafteno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	30,041	0	62,89	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fluoreno	<LQ	<LQ	76,06	166,18	218,39	51,19	77,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzotiofeno	12,71	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fenantreno	17,12	270,48	168,05	782,90	879,01	157,79	114,53	95,94	177,94	61,09	<LQ	<LQ
Antraceno	21,39	441,33	671,68	985,30	869,79	567,82	108,02	59,11	130,58	70,04	218,23	272,41
Fluoranteno	<LQ	30,04	168,70	902,48	577,53	299,59	111,81	<LQ	154,99	<LQ	<LQ	<LQ
Pireno	<LQ	168,60	189,64	1153,67	934,20	263,22	67,45	73,23	305,71	67,82	<LQ	<LQ
Benzo(a)antraceno	81,28	88,07	<LQ	633,90	485,52	279,07	<LQ	70,74	149,81	90,69	267,38	<LQ
Criseno	28,18	78,23	711,15	524,23	890,57	603,09	<LQ	65,89	156,14	<LQ	232,56	<LQ
Benzo(b)fluoranteno	61,98	60,58	108,07	457,30	553,15	154,13	131,74	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(k)fluoranteno	79,61	<LQ	238,70	122,77	112,36	138,78	207,17	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(e)pireno	72,54	<LQ	211,75	407,17	513,98	169,95	214,96	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(a)pireno	157,29	<LQ	150,81	220,27	293,92	99,12	452,35	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Perileno	77,02	<LQ	<LQ	91,29	103,20	49,26	181,96	103,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Indeno(1,2,3-cd)pireno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzo(a,h)antraceno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(g,h,i)perileno	481,90	<LQ	<LQ	<LQ	312,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Σ HPA totais	1297,07	1560,29	3347,73	7476,74	8008,34	3523,84	2172,75	632,16	1337,99	372,67	1022,69	666,76
Σ HPA 2-3 anéis	257,28	1134,76	1568,91	2963,67	3231,73	1467,62	805,30	318,93	571,34	214,16	522,76	666,76
Σ HPA 4-6 anéis	1039,79	425,52	1778,82	4513,07	4776,61	2056,22	1367,44	313,24	766,65	158,52	499,93	0,00
% HPA 2-3 anéis	19,84	72,73	46,86	39,64	40,35	41,65	37,06	50,45	42,70	57,47	51,12	100,00
% HPA 4-6 anéis	80,16	27,27	53,14	60,36	59,65	58,35	62,94	49,55	57,30	42,53	48,88	0,00
% RECUPERAÇÃO	71,03	73,92	50,97	65,95	65,07	55,84	43,17	66,74	70,86	66,46	65,86	52,52

7.8 Concentração HPAs ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) normalizada pela biomassa vegetal encontrada em folhas e folhas mortas nas plantas cultivadas no solo contaminado. LQ = 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

CONTAMINADO [] Normalizada pela biomassa	FOLHA						FOLHA MORTA				
	0 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS	7 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Naftaleno	<LQ	60,24	60,88	52,63	59,03	90,49	21,25	39,50	<LQ	54,94	11,19
2 Metil Naftaleno	7,14	60,62	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	27,62	<LQ	<LQ	22,70	<LQ
1 Metil Naftaleno	11,50	58,41	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	25,56	<LQ	<LQ	26,38	<LQ
2,6 Dimetil Naftaleno	104,56	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
1,7 Dimetil Naftaleno	75,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Bifenil	45,01	79,53	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Acenaftileno	<LQ	42,92	54,70	52,32	103,89	160,27	28,17	64,31	71,93	68,76	60,22
Acenafteno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fluoreno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	31,97	25,027
Dibenzotiofeno	18,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fenantreno	27,93	64,39	78,25	<LQ	107,86	334,56	34,05	64,70	61,30	152,86	139,36
Antraceno	50,76	77,20	<LQ	<LQ	115,01	178,45	46,02	99,35	93,55	80,12	54,29
Fluoranteno	<LQ	<LQ	92,99	<LQ	114,88	201,43	<LQ	86,15	65,04	108,89	60,15
Pireno	<LQ	<LQ	108,56	<LQ	105,97	244,69	35,20	85,44	65,75	190,21	117,81
Benzo(a)antraceno	105,27	<LQ	<LQ	<LQ	140,97	194,23	51,76	<LQ	<LQ	38,75	28,96
Criseno	29,12	91,53	<LQ	<LQ	<LQ	190,04	42,90	108,50	<LQ	<LQ	42,01
Benzo(b)fluoranteno	<LQ	138,34	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(k)fluoranteno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	68,71	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(e)pireno	67,27	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(a)pireno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Perileno	484,90	343,47	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	678,03	158,28	<LQ	51,45	<LQ
Indeno(1,2,3-cd)pireno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzo(a,h)antraceno	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzo(g,h,i)perileno	775,89	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
SOMA HPA totais	1802,79	1016,65	395,37	104,95	747,61	1594,16	1059,27	706,24	357,57	827,04	539,01
SOMA HPA 2-3 anéis	340,34	443,31	193,82	104,95	385,79	763,77	182,66	267,87	226,78	437,74	290,08
SOMA HPA 4-6 anéis	1462,46	573,34	201,55	0,00	361,82	830,39	876,61	438,37	130,79	389,30	248,92
% HPA 2-3 anéis	18,88	43,61	49,02	100,00	51,60	47,91	17,24	37,93	63,42	52,93	53,82
% HPA 4-6 anéis	81,12	56,39	50,98	0,00	48,40	52,09	82,76	62,07	36,58	47,07	46,18
% RECUPERAÇÃO	54,50	0,00	60,29	46,10	64,23	61,21	62,66	62,24	60,58	62,01	60,15

7.9 Fator de concentração normalizado pela biomassa nas raízes, hastes, folhas e folhas mortas no solo não contaminado.

NÃO CONTAMINADO fator/biomassa	RAIZ			HASTE			FOLHA			FOLHAS MORTAS		
	0 dias	30 dias	90 dias	0 dias	30 dias	90 dias	0 dias	30 dias	90 dias	0 dias	30 dias	90 dias
Naftaleno		59,50657	117,735	97,88548	213,7502	440,148		326,3088	108,6484		258,8659	
2 Metil Naftaleno	8,947579			50,08472			8,877111					
1 Metil Naftaleno	15,7647	47,0368	66,284	76,46546	213,7502	271,459	19,25943	271,19			231,3547	
2,6 Dimetil Naftaleno	173,9328			162,9358	213,7502		233,6054				227,6187	
1,7 Dimetil Naftaleno												
Bifenil	116,7013	45,74715		164,2173	213,7502		143,4003	265,3698			226,0683	
Acenaftileno				18,00777	213,7502						145,2855	
Acenafteno												
Fluoreno		41,49553		47,04211	213,7502			241,0135				
Dibenzotiofeno	10,48605						16,08121					
Fenantreno	4,425144	55,7536	43,246	24,86031	213,75	616,630	7,651967	317,9226	77,24566		161,5441	
Antraceno	16,78511	42,66243		71,1931	213,75	182,204	42,2168	266,1503	58,43405		218,7925	
Fluoranteno		23,40666		58,78254	213,75	185,237			55,17779			
Pireno		33,18291	42,656	35,74458	213,75	0,000			60,45237		182,6405	
Benzo(a)antraceno	291,66	31,04816	63,142		213,75	3230,803	400,3921	254,9821	91,45908		174,2544	
Criseno	14,63				213,75	0,000	16,02931					
Benzo(b)fluoranteno	45,51	46,00254		81,26017	213,75	315,958		225,6698	81,59184		194,5796	
Benzo(k)fluoranteno	182,80			399,6024	213,75	321,801						
Benzo(e)pireno	55,86			139,0647		257,121	54,9175					
Benzo(a)pireno	164,12			396,4706								
Perileno	148,33			294,3829			989,9349					
Indeno(1,2,3-cd)pireno												
Dibenzo(a,h)antraceno												
Benzo(g,h,i)perileno												

7.10 Fator de concentração normalizado pela biomassa nas raízes, hastes, folhas e folhas mortas no solo contaminado.

CONTAMINADO Fator de concentração	RAIZ			HASTE			FOLHA			FOLHA MORTA		
	0 dias	30 dias	90 dias	0 dias	30 dias	90 dias	0 dias	30 dias	90 dias	0 dias	30 dias	90 dias
Naftaleno		0,61725	0,189567	0,805651	0,662	1,243		0,917	0,621			0,119
2 Metil Naftaleno	0,099	0,472	0,564	0,594			0,105					
1 Metil Naftaleno	0,132	0,446		0,686			0,173					
2,6 Dimetil Naftaleno	0,919			0,923			1,323					
1,7 Dimetil Naftaleno												
Bifenil	0,314			0,473			0,413					
Acenaftileno		0,253	0,147	0,007	0,015	0,060		0,018	0,030		0,016	0,017
Acenafteno				0,446								
Fluoreno		0,307	0,088	0,061								0,051
Dibenzotiofeno	0,564						0,926					
Fenantreno	0,005	0,544	0,141	0,028	0,052		0,009		0,226		0,034	0,146
Antraceno	0,006	0,333	0,177	0,025	0,029	0,083	0,015		0,042		0,025	0,020
Fluoranteno		1,032	0,311	0,061					0,158		0,059	0,073
Pireno		1,335	0,322	0,044	0,096				0,226		0,060	0,169
Benzo(a)antraceno	0,026	0,220	0,083		0,039		0,038		0,044			0,010
Criseno	0,005	0,132	0,121				0,006		0,029			0,010
Benzo(b)fluoranteno	0,062	0,149	0,040	0,119								
Benzo(k)fluoranteno	0,361	0,160	0,234	0,845								
Benzo(e)pireno	0,079	0,183	0,068	0,210			0,083					
Benzo(a)pireno	0,175	0,100	0,042	0,453								
Perileno	0,318	0,250	0,134	0,675			2,270					
Indeno(1,2,3-cd)pireno												
Dibenzo(a,h)antraceno												
Benzo(g,h,i)perileno	1,309						2,393					