

Fitorremediação de solo contaminado com petróleo utilizando *Typha latifolia*

Mestrando: Alex Gibellato Pavanelli

Orientadora: Dra. Carmen Luisa Barbosa Guedes

Co-orientador: Dr. Osmar Rodrigues Brito

LONDRINA-PR

Abril - 2007

ALEX GIBELLATO PAVANELLI

Fitorremediação de solo contaminado com petróleo
utilizando *Typha latifolia*

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Química dos Recursos
Naturais, da Universidade Estadual de
Londrina, como requisito parcial à obtenção
do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Carmen Luisa Barbosa Guedes
Co-orientador: Dr. Osmar Rodrigues Brito

Londrina - PR
2007

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

P337f Pavanelli, Alex Gibellato.

Fitorremediação de solo contaminado com petróleo utilizando *Typha latifolia* /
Alex Gibellato Pavanelli. – Londrina, 2007.
76f. : il.

Orientador: Carmen Luisa Barbosa Guedes.

Co-orientador: Osmar Rodrigues Brito.

Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) – Universidade Estadual de Londrina,
Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química dos Recursos Naturais, 2007.

Bibliografia: f. 71–75.

1. Solos – Remediação – Teses. 2. Solos – Petróleo – *Typha* sp –
Teses. 3. Solos – Fertilidade – Teses. I. Guedes, Carmen Luisa
Barbosa . II. Brito, Osmar Rodrigues. III. Universidade Estadual de
Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós – Graduação em
Química dos Recursos Naturais. IV. Título.

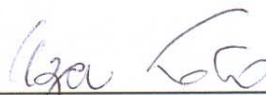
COMISSÃO EXAMINADORA



Profa. Dra. Carmen Luisa Barbosa Guedes
(UEL)



Prof. Dr. Carlos Vellozo Roderjan
(UFPR)



Profa. Dra. Ilza Lobo
(UEL)

Londrina, 04 de abril de 2007.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar, me dar força para lutar e sabedoria para enfrentar as adversidades da vida.

À minha mãe Silvia, que apesar da distância sempre deu provas de seu amor, carinho e incentivo, suportando a minha ausência por saber que contribuiria para o meu crescimento.

Ao meu pai João por estar sempre presente dando apoio, amor e compreensão.

Aos meus orientadores Carmen e Osmar, pelos conhecimentos transmitidos, pela paciência e pela orientação não só para este trabalho, mas para a vida.

Aos amigos do Laflurpe Daniele, Vanessa, Luciana, Renato, Leandro, Thiago e em especial à Milena, por ter me ensinado o verdadeiro sentido de amizade e companheirismo.

Em especial à Bruna, pela amizade e pela excepcional ajuda durante todo o desenvolvimento deste trabalho, que certamente não seria realizado com sucesso sem seu apoio.

Ao Manoel Paiva e Ana Odete do herbário da UEL e Osmar Ribas do Museu Botânico de Curitiba, pela colaboração na identificação de material vegetal e ao Jurandir, pela colaboração e realização de análises cromatográficas.

Aos amigos do Laboratório de Solos, Márcio, João, Alfredo, Gilberto, Sinval e Nagib, pela grande ajuda durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu amor, Lízia, que simplesmente é a minha vida e o chão sólido que preciso para caminhar. Que me ensinou a amar e ser amado. Para quem entrego todo o meu amor e dedicarei todos os meus dias.

“I have a dream that one day this nation will rise up and live out the true meaning of its creed: we hold these truths to be self-evident that all men are created equal”

Martin Luther King Jr.

PAVANELLI, A. G. **Fitorremediação de solo contaminado com petróleo utilizando *Typha latifolia***. 2007. 76 p. Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR.

RESUMO

O petróleo e seus derivados ocupam lugar de destaque dentre os compostos orgânicos contaminantes do solo. Os HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), presentes no petróleo, têm sido considerados como compostos de alto risco à saúde devido à sua alta toxicidade e estabilidade química. Muitos processos físicos, químicos e biológicos estão sendo usados para remediar solos contaminados. A fitorremediação tem por base o uso de plantas e seus microrganismos associados para remover contaminantes do solo e água e pode ser considerada uma técnica de baixo custo aplicável a grandes áreas. Este trabalho teve como objetivos, avaliar o potencial de fitorremediação da Taboa (*Typha latifolia*) em solo impactado por petróleo bruto com relação à degradação da fração aromática (HPAs) e de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH), e a interferência do contaminante na absorção de nutrientes pelas plantas. Além disso, neste trabalho foi investigada a variação na trocabilidade de íons do solo em função de diferentes níveis de contaminação por petróleo. Foram realizadas análises do petróleo no solo por espectroscopia de fluorescência *synchronous*, análises por cromatografia em fase gasosa (CG-DIC) para quantificação de HPAs e estimativa do TPH, medidas de pH do solo e análises químicas do tecido foliar (macro e micronutrientes). Para o estudo da variação da trocabilidade de íons em solo contaminado foram realizadas análises quantitativas para macro e micronutrientes do solo, alumínio trocável e pH. Os resultados de fluorescência e cromatografia em fase gasosa indicaram que a Taboa contribuiu para remediação do solo contaminado com petróleo. A degradação da fração aromática pela planta diminuiu 33% da fluorescência do óleo após 120 dias de cultivo, não havendo diferença para o solo onde se adicionou solução fertilizante. O cultivo da Taboa diminuiu em 49% a concentração relativa do benzo(a)antraceno e 21% do benzo(b)fluoranteno. No caso do fluoranteno, 64% foi removido do solo cultivado contra 19% em solo não cultivado e o fluoreno deixou de ser detectado após 120 dias em solo cultivado. A degradação do TPH foi de 74% em solo cultivado contra 35% em solo não cultivado. Os resultados de análise foliar mostraram que o contaminante não teve interferência na absorção de nutrientes pelas plantas. Os ensaios referentes à avaliação da interferência do petróleo na trocabilidade de íons do solo indicaram que maiores concentrações do contaminante no solo diminuí as disponibilidades dos elementos Ca, K e Cu, mas também diminuí a disponibilidade de Al (tóxico). Apesar da constatação da fitorremediação do solo contaminado com petróleo devido ao cultivo da Taboa, não foi possível definir se houve captura do poluente pela planta ou se houve degradação na região rizosférica.

Palavras-chave: fitorremediação; petróleo; HPAs; TPH; *Typha* sp.; análise foliar; fertilidade do solo.

PAVANELLI, A. G. **Phytoremediation of petroleum contaminated soil using *Typha latifolia***. 2007. 76 p. Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR.

ABSTRACT

Petroleum and its derivatives take important place among soil organic contaminants. PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons), present in crude-oil, have been considered health dangerous compounds because of its high toxicity and chemical stability. Many physical, chemical and biological processes are being employed in order to remediate contaminate soil. Phytoremediation is based on using plants and the associated microorganisms to remove pollutants from water and soil and it may be considered a low cost technique set for large areas. The aims of this work were to evaluate the phytoremediation potential of common cattail (*Typha latifolia*) in crude-oil contaminated soil, regarding the degradation of both aromatic fraction (PAHs) and total petroleum hydrocarbons (TPH), and the oil interference on plant nutrient absorption. Besides, in this work was accomplished an investigation on soil ion exchange capacity as function of different oil contamination levels. It were carried out synchronous fluorescence spectroscopy analysis in soil extracts, gas chromatography (GC-FID) for PAH quantifying and TPH estimation, soil pH measurements and plant leaf chemical analysis (macro and micronutrients). For the contaminated soil ion exchange investigation it was carried out soil macro and micronutrient and aluminum quantitative analysis, and pH measurements. Fluorescence and gas chromatography results showed that cattail contributed for soil remediation. The aromatic fraction degradation by plant decreased 33% of oil fluorescence after 120 days, with no difference for the fertilizaed soil. Cattail cultivation decreased 49% the relative concentration of benzo(a)anthracene and 21% of benzo(b)fluoranthene. For fluoranthene, 64% was removed in vegetated soil against 19% in non vegetated soil. Fluorene wasn't detected anymore after 120 days in cultivated soil. TPH degradation was 74% in vegetated soil against 35% in non vegetated soil. Nutrient plant tissue data indicated that was no interference of soil contamination on plant nutrient absorption. The experiments concerning the oil interference on soil ion exchange showed that increasing contaminant diminishes the readiness for Ca, K and Cu, but it also causes decreasing on Al (toxic) readiness. Despite the constataion of petroleum contaminated soil phytoremediation by cattail, it was not possible to define if these compounds were degraded in rhizosphere or uptaken by plant.

Keywords: phytoremediation; petroleum; PAHs; TPH; *Typha* sp.; leaf tissue analysis; soil fertility.

Lista de Figuras

Figura 1 – Estrutura proposta para ácidos húmicos. Fonte: SCHULTEN e SCHNITZER, 1993.	22
Figura 2 – Mecanismos envolvidos no processo de fitorremediação. Fonte: CUNNINGHAM et al., 1995.	27
Figura 3 – (a) <i>Typha latifolia</i> , (b) <i>Typha angustifolia</i> e (c) <i>Typha domingensis</i> . Fonte: Australian Water Gardener, 2006.	31
Figura 4 – Mapa da vegetação e do uso do solo da área de influência do vazamento de óleo - situação original (julho/2000). Fonte: SIQUEIRA et al., 2001.	32
Figura 5 – Vista da área de banhado próxima ao rio Barigüi em agosto de 2000 (esquerda) e abril de 2005 (direita).	33
Figura 6 – (a) Condição de 100% de umidade do solo; (b) início do cultivo; (c) após 30 dias; (d) após 60 dias; (e) após 90 dias; (f) após 120 dias de cultivo.	43
Figura 7 – Ganho de massa fresca da Taboa cultivada durante 120 dias, em função dos diferentes tratamentos.	44
Figura 8 – Massa seca da parte aérea da Taboa após 120 dias de tratamento.	45
Figura 9 – Espectros de fluorescência <i>synchronous</i> dos extratos de solo contaminado com petróleo.	49
Figura 10 – Área integrada de fluorescência dos extratos de solo contaminado e do solo cultivado com Taboa.	51
Figura 11 – Cromatogramas dos extratos de: (a) solo contaminado; (b) solo contaminado, após 120 dias; (c) solo contaminado cultivado com Taboa, após 120 dias; (d) solo não contaminado.	52
Figura 12 – Cromatogramas dos extratos de solo analisados, de forma sobreposta.	54
Figura 13 – Concentração de hidrocarbonetos poliaromáticos no solo.	56
Figura 14 – Área integrada dos cromatogramas do extrato de solo contaminado (a), solo contaminado, após 120 dias (b) e solo contaminado e cultivado com Taboa, após 120 dias.	58
Figura 15 – Teor foliar de micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) na Taboa.	60

Figura 16 – Teor foliar de macronutrientes (Ca, Mg, K, P e N) na Taboa.	60
Figura 17 – Variação do pH do solo em função do tempo e dos tratamentos impostos no experimento.....	62
Figura 18 – Variação no teor de Ca (a), Mg (b), K (c) e P (d), em função da concentração de petróleo no solo.	64
Figura 19 – Variação nos teores de Cu (a), Fe (b), Mn (c) e Zn (d) trocáveis, em função da concentração de petróleo no solo.	65
Figura 20 – Teor de Al trocável (a) e valores de pH do solo (b), em função da concentração de petróleo.....	66

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) classificados como principais poluentes pela “U.S. Environmental Protection Agency” (EPA) (KUMKE et al., 1995)...	16
Tabela 2 – Níveis de HPAs comumente encontrados nos compartimentos da natureza (NETTO et al., 2000).	18
Tabela 3 – Valores orientadores de intervenção para a qualidade do solo.....	18
Tabela 4 – Descrição dos tratamentos e ilustração do experimento.	36
Tabela 5 – Padrão certificado para análise de HPAs por CG-DIC.	40
Tabela 6 – Massa seca e fresca da parte aérea, massa fresca das raízes e massa fresca total produzida após 120 dias de cultivo da Taboa.....	46
Tabela 7 – Percentual médio de umidade do solo previamente seco contaminado e da umidade remanescente no solo contaminado após o umedecimento e procedimento de secagem em sistema de vácuo.	47
Tabela 8 – Parâmetros da curva de calibração dos 16 HPAs.	55
Tabela 9 – Taxa de remoção de HPAs do solo contaminado.	57
Tabela 10 – Parâmetros calculados para TPH no solo.	59

Sumário

1 Introdução	13
1.1 Estudo de caso.....	14
1.2 Composição de petróleo.....	14
1.2.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).....	15
1.2.2 Hidrocarbonetos totais de petróleo.....	19
1.3 A matriz solo.....	20
1.3.1 Dinâmica de nutrientes no solo	23
1.4 Métodos de remediação de solos.....	24
1.4.1 Fitorremediação.....	25
1.5 O gênero Typha	29
1.5.1 Vegetação na área atingida por petróleo.....	31
 2 Objetivos	 34
2.1 Geral.....	34
2.2 Específicos	34
 3 Parte Experimental.....	 35
3.1 Validação do método de secagem do solo a vácuo	38
3.2 Análise por espectroscopia de fluorescência	39
3.3 Análises por CG-DIC	39
3.4 Análise foliar de macro e micronutrientes.....	40
3.5 Medidas de pH	41
3.6 Influência da concentração de petróleo sobre a fertilidade do solo.....	41
3.7 Análise estatística	42

4 Resultados e Discussão	43
4.1 Secagem do solo a vácuo	46
4.2 Análises por Espectroscopia de Fluorescência	48
4.3 Análises cromatográficas	52
4.3.1 Análise de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs)	55
4.3.2 Hidrocarbonetos totais de petróleo	58
4.4 Teores foliares para macro e micronutrientes	59
4.5 Medidas de pH do solo	62
4.6 Teores de nutrientes disponíveis em função do petróleo no solo	63
4.7 Resíduos gerados durante os experimentos	67
5 Conclusões	69
Referências Bibliográficas	71

1 Introdução

Desde o século passado, as atividades humanas têm contribuído para extensivas contaminações dos solos (CUNNINGHAM et al., 1995). O petróleo e seus derivados ocupam lugar de destaque dentre os compostos orgânicos contaminantes do solo, principalmente devido ao grande volume produzido e seus usos diversos na vida moderna (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

Os processos de produção e refino de petróleo podem levar à contaminação do solo e água. As principais causas de contaminação são vazamentos em tanques de estocagem e tubulações, despejo de resíduos de petróleo no solo e derramamentos acidentais (WHITE Jr. et al., 2006).

O óleo derramado começa a sofrer a ação do ambiente, com ocorrência de efeitos físicos, químicos e biológicos. O processo natural de degradação é chamado de intemperismo (GUEDES et al., 2003). Produtos de petróleo podem ser retidos pelos sólidos do solo, tanto por infiltração e retenção nos poros como por adsorção à superfície das partículas. As propriedades químicas e físicas da parte sólida do solo, incluindo o estado de hidratação, textura e matéria orgânica, controlam o grau de penetração e adsorção dos hidrocarbonetos. Como os derivados de petróleo são constituídos por componentes que apresentam diferentes pressões de vapor, as taxas de volatilização para cada componente irão diferir de modo que os mais voláteis irão se difundir pelos poros do solo. Os componentes não volatilizados permanecerão no solo, havendo contaminação (FINE et al., 1997).

1.1 Estudo de caso

No acidente ocorrido em 16 de julho de 2000 na Refinaria Presidente Getúlio Vargas em Araucária - PR houve um grande derramamento de petróleo envolvendo aproximadamente quatro milhões de litros de óleo devido à ruptura da junta de expansão da tubulação, atingindo o rio Barigüi e o rio Iguaçu (Ambiente Brasil, 2006).

A área total atingida desde o ponto do vazamento, até o rio Barigüi foi de 129.450 m². Cerca de 20% do óleo derramado volatilizaram nos primeiros dias após o vazamento. Nos meses seguintes aproximadamente 1,3 milhão de litros foi retirado dos rios Barigüi e Iguaçu e suas margens com mantas absorventes e barreiras flutuantes. Do óleo retido nas áreas de banhado, a maior parte foi recuperada de imediato por bombas e manualmente. Cerca de 96 mil litros de óleo restantes ficaram agregados no solo local, necessitando o emprego de técnicas de remediação (Revista Química e Derivados, 2002).

1.2 Composição de petróleo

Petróleo ou óleo bruto é basicamente uma mistura complexa de hidrocarbonetos. Sua composição elementar, além de carbono e hidrogênio, apresenta também quantidades variáveis de oxigênio e enxofre e traços de nitrogênio, metais e outros elementos (NADIM et al., 2000).

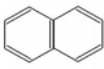
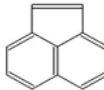
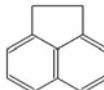
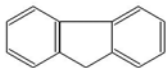
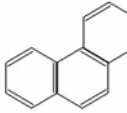
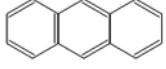
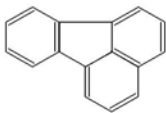
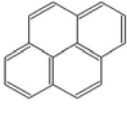
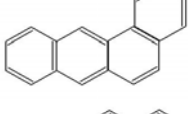
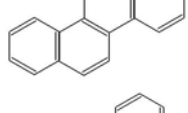
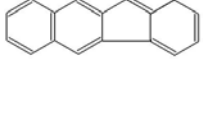
O petróleo é comumente dividido em fração alifática (cerca de 60%), fração aromática (20 a 45%), fração polar e asfaltenos (0 a 40%). A fração alifática

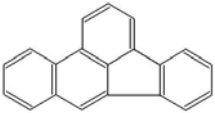
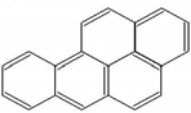
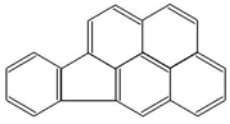
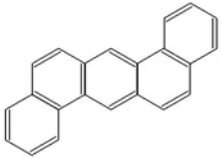
contém uma série predominante de hidrocarbonetos saturados lineares, mas também contém hidrocarbonetos ramificados e vários hidrocarbonetos cíclicos e policíclicos (naftenos). Hidrocarbonetos saturados são geralmente os mais importantes dos grupos citados por serem a maior parte da composição do óleo. Os compostos aromáticos fazem parte do segundo grupo constituinte mais importante. A fração aromática contém hidrocarbonetos aromáticos alquilados desde um ou dois anéis conjugados até os poliaromáticos (HPA). A fração polar é complexa, contendo muitos aromáticos heterocíclicos que pode incluir derivados de porfirina e compostos alifáticos contendo nitrogênio e enxofre. Contudo, a composição do petróleo pode variar grandemente de acordo com o local e tipo de óleo, e pode mudar com o tempo. A indústria petrolífera caracteriza o petróleo principalmente por suas características físicas e composição química geral (NICODEM et al., 2001; TISSOT, 1984).

1.2.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)

Os HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) têm sido considerados como compostos de alto risco à saúde devido à sua conhecida estabilidade química, alta toxicidade e por serem potencialmente carcinogênicos (Tabela 1) (ANDREONI et al., 2004; COLE, 1994). A exposição humana a estes compostos se dá principalmente através da contaminação ambiental (NETTO et al., 2000).

Tabela 1 – Hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) classificados como principais poluentes pela “U.S. Environmental Protection Agency” (EPA) (KUMKE et al., 1995).

Estrutura	Nome	Peso molecular	λ máximo de absorção (nm)	λ máximo de emissão (nm)
	Naftaleno	128	319 302	322
	Acenaftileno	152	456 324	541
	Acenafteno	154	320 300	347
	Fluoreno	166	300	310
	Fenantreno	178	346 330	364
	Antraceno	178	374 356	399
	Fluoranteno	202	359	462
	Pireno	202	372 336	383
	Benz[a] Antraceno	228	385 300	385
	Criseno	228	362 321	381
	Benzo[k] Fluoranteno	252	402 308	402

Estrutura	Nome	Peso molecular	λ máximo de absorção (nm)	λ máximo de emissão (nm)
	Benzo[b] Fluoranteno	252	369 302	446
	Benzo[a] Pireno	252	404 385	403
	Benzo[g,h,i] Perileno	276	406 300	419
	Indeno[1,2,3- cd] pireno	276	460 302	503
	Dibenz[a,h] Antraceno	278	394 322	394

Muitos pesquisadores vêm desenvolvendo trabalhos com objetivo de encontrar alternativas apropriadas para remover contaminantes orgânicos do solo e água, principalmente aromáticos, sendo que técnicas emergentes como a biorremediação e fitorremediação têm sido alternativas atraentes para a recuperação de locais contaminados por petróleo e derivados (ANDREONI et al., 2004).

Os HPAs estão altamente espalhados por toda a natureza devido a muitas atividades antropogênicas poluentes, porém, eles podem existir naturalmente nos compartimentos ambientais em níveis mais baixos (Tabela 2).

Tabela 2 – Níveis de HPAs comumente encontrados nos compartimentos da natureza (NETTO et al., 2000).

Tipo de amostra	Concentração
Ar	1,3 a 500 ng/m ³
Solo	0,8 ng/kg – 100 µg/kg
Água	2,5 a 500 ng/L
Plantas	< 150 µg/kg
Alimentos	0,1 a 20 µg/kg

Existem órgãos reguladores que podem estabelecer níveis máximos permitidos ou valores de referência para intervenção para alguns desses compostos. Porém para vários HPAs não existem critérios totalmente estabelecidos que definem as quantidades permitidas no solo ou em águas. Na Tabela 3 são apresentados valores orientadores de qualidade de solo para algumas dessas substâncias perigosas.

Tabela 3 – Valores orientadores de intervenção para a qualidade do solo.

Substância	Quantidade no solo (mg/kg)		
	Agrícola	Residencial	Industrial
Benzeno	0,06 ⁽¹⁾	0,08 ⁽¹⁾	0,15 ⁽¹⁾
Tolueno	30 ⁽¹⁾	30 ⁽¹⁾	75 ⁽¹⁾
Etilbenzeno	0,1 ⁽²⁾	1,2 ⁽²⁾	20 ⁽²⁾
Xilenos	25 ⁽¹⁾	30 ⁽¹⁾	70 ⁽¹⁾
Estireno	15 ⁽¹⁾	35 ⁽¹⁾	80 ⁽¹⁾
Acenaftileno	-	-	-
Acenafteno	-	-	-
Antraceno	-	-	-
Benzo(a)pireno	0,1 ⁽²⁾	0,7 ⁽²⁾	0,7 ⁽²⁾
Benzo(g,h,i)perileno	-	-	-
Benzo(a)antraceno	0,1 ⁽²⁾	1 ⁽²⁾	10 ⁽²⁾
Benzo(k)fluoranteno	0,1 ⁽²⁾	1 ⁽²⁾	10 ⁽²⁾
Criseno	-	-	-

Substância	Quantidade no solo (mg/kg)		
	Agrícola	Residencial	Industrial
Benzo(b)fluoranteno	-	-	-
Dibenzo(a,h)antraceno	0,1 ⁽²⁾	1 ⁽²⁾	10 ⁽²⁾
Fluoranteno	-	-	-
Fluoreno	-	-	-
Fenantreno	0,1 ⁽²⁾	5 ⁽²⁾	50 ⁽²⁾
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0,1 ⁽²⁾	1 ⁽²⁾	10 ⁽²⁾
Naftaleno	30 ⁽¹⁾	60 ⁽¹⁾	90 ⁽¹⁾
Pireno	0,1 ⁽²⁾	10 ⁽²⁾	100 ⁽²⁾

(1) Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo. CETESB, 2005.

(2) Canadian Council of Ministers of Environment: Canadian Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health – Summary Tables, Update 6.0.2, 2006.

(-) Valores não estabelecidos.

1.2.2 Hidrocarbonetos totais de petróleo

Um dos parâmetros frequentemente usado para avaliação de uma contaminação proveniente de um vazamento de petróleo é o “*Total Petroleum Hydrocarbon*”, ou Hidrocarbonetos totais de petróleo, denominado TPH. Este parâmetro fornece informações sobre a concentração dos hidrocarbonetos totais presentes em determinada amostra.

A definição proposta para TPH segundo a *US Environmental Protection Agency* (USEPA) emprega dois conceitos: um deles é o fracionamento para separar os constituintes da mistura do petróleo; dessa forma, tudo que for detectado pode ser somado, tendo-se o dado TPH. O outro, sugere que TPH são todos os hidrocarbonetos extraídos de uma amostra e detectados por uma técnica particular. O *TPH Criteria Working Group* considera a medida de TPH como sendo uma ferramenta de baixo custo

que pode ser usada para três finalidades: (i) identificação de uma contaminação; (ii) avaliação do grau de contaminação; (iii) avaliação do progresso de uma remediação (NASCIMENTO et al., 2003).

Há uma variedade de métodos para determinação de TPH. As técnicas frequentemente usadas incluem a espectroscopia de infravermelho (IV), cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização em chama (CG-DIC), cromatografia em camada delgada (CCD), ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , imunoensaio e gravimetria (XIE et al., 1999).

O método mais utilizado é o CG-DIC. Nesta metodologia de análise, TPH é definido como tudo o que é extraído por um solvente e removido por um fluxo de gás de arraste adequado, separado por uma fase estacionária e posteriormente detectado (NASCIMENTO et al., 2003).

O método cromatográfico para análise de TPH pode também ser usado como impressão digital para identificar a fonte da contaminação por hidrocarbonetos semivoláteis, e compostos considerados de alto risco à saúde, como os HPAs, e até mesmo a idade e intemperismo do óleo se combinado com outras informações, como análise da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, grau de oxigenação, etc (XIE et al., 1999).

1.3 A matriz solo

O solo é uma matriz complexa que envolve diversos materiais, minerais e orgânicos, resultantes das interações de fatores de formação através do tempo (clima, organismos vivos, rochas de origem e relevo) (BECK et al., 2000).

A matriz solo consiste em quatro componentes principais: substâncias minerais, matéria orgânica, água e ar, que encontram-se geralmente em estado adiantado de subdivisão e tão intimamente misturados que se torna sobremodo difícil uma separação satisfatória. Esta combinação íntima dos componentes principais dos solos normais favorece tanto as reações simples quanto as mais complexas, e possibilita um ambiente ideal para o crescimento vegetal (MEURER, 2000).

Os solos podem ser classificados de acordo com a distribuição e quantidades das frações granulométricas, conforme o diâmetro das partículas: areia (2 a 0,05 mm), silte (0,05 a 0,002 mm) e argila (<0,002 mm). Os solos são também classificados como minerais ou orgânicos. Solos minerais (inorgânicos) são aqueles que, nas camadas superficiais, o teor de matéria orgânica é comparativamente reduzido, variando geralmente de 1 a 10 por cento. Solos orgânicos ou turfosos podem apresentar quantidades acima de 80% de matéria orgânica e são encontrados apenas em regiões particulares onde houve favorecimento para sua formação. Os solos minerais assumem maior importância do que os orgânicos por ocuparem elevada proporção de área total da terra (MEURER, 2000). Um solo mineral típico abriga uma variada população de organismos vivos. Em campo, o escalonamento completo em tamanhos, desde minhocas e insetos às bactérias e microorganismos diversificados, ocorre comumente nos solos normais (BRADY, 1979).

Apesar de compor menos de 5% na maioria dos solos, a matéria orgânica do solo (MOS) apresenta uma alta capacidade de interagir com outros componentes, alterando assim propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, as quais afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas. Dentre a matéria orgânica do solo encontram-se as substâncias húmicas que apresentam grande reatividade em

comparação com os outros componentes do solo. As substâncias húmicas são consideradas polieletrólitos de ácido fraco e possuem capacidade de interagir com os íons ou moléculas presentes na solução do solo dentro de uma ampla faixa de pH. Elas atuam como ácidos de Lewis devido à ocorrência, na sua estrutura, de grupos com insuficiência de elétrons (Figura 1) (MEURER, 2000).

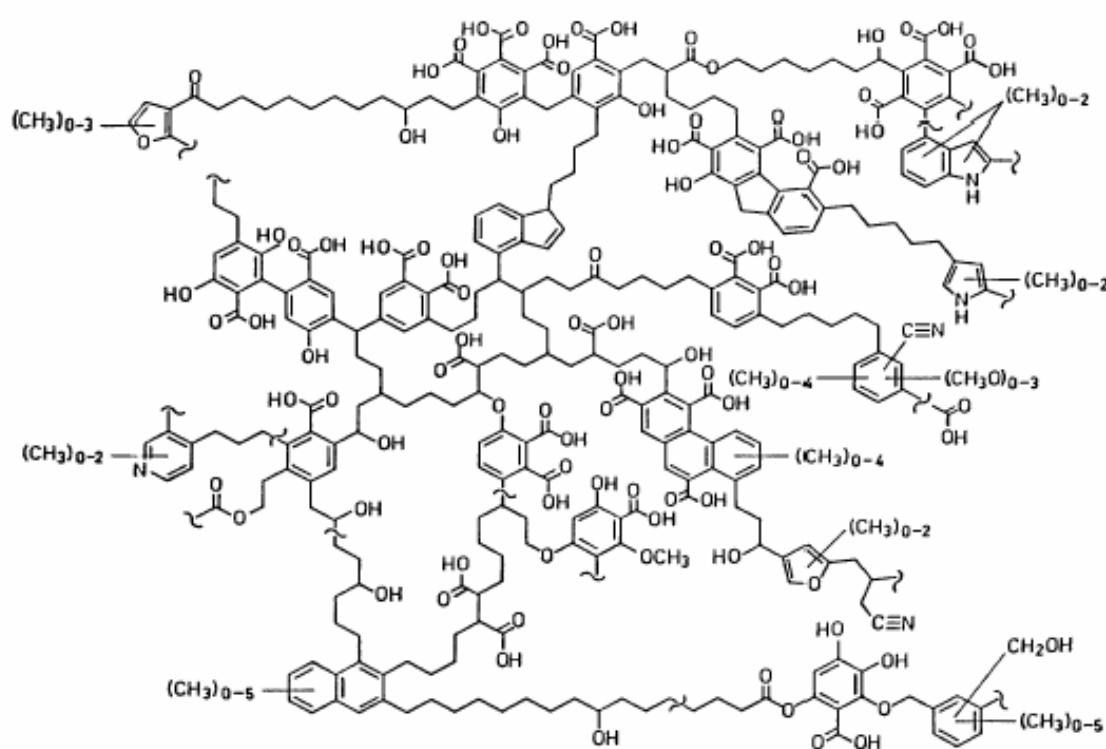


Figura 1 – Estrutura proposta para ácidos húmicos. Fonte: SCHULTEN e SCHNITZER, 1993.

A maior reatividade da MOS, em comparação com os minerais, também se deve à grande área superficial específica (ASE – área disponível para que ocorram reações químicas), a qual pode chegar a $900 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, e uma alta carga de superfície. Ao contrário dos argilominerais, que podem apresentar cargas negativas permanentes ou dependentes de pH, a MOS apresenta somente cargas dependentes do pH e

predominantemente negativas na faixa de pH dos solos (4,0 a 6,0). A reatividade que a MOS apresenta individualmente, em função de suas características, contribui para o comportamento do solo como um todo. Algumas das principais reações em que a MOS tem papel fundamental são: troca de cátions, complexação de metais, poder de tamponamento da acidez, interação com argilominerais e reações com outras moléculas orgânicas adicionadas ao solo pela ação do homem como herbicidas, inseticidas, rejeitos industriais e urbanos, resíduos petroquímicos, etc. A dinâmica no solo e os mecanismos dessas interações dependem das propriedades físicas e químicas das moléculas envolvidas, do pH, da temperatura, do potencial redox, da umidade, entre outras. As interações do solo com o poluente são importantes porque controlam sua persistência, velocidade de degradação, toxicidade, mobilidade e sua disponibilidade para organismos vivos (MEURER, 2000).

1.3.1 Dinâmica de nutrientes no solo

São apenas 16 os elementos químicos considerados essenciais para as plantas: C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, Cl e B. A classificação em macronutrientes e micronutrientes está relacionada à quantidade que a planta absorve do meio ambiente e não quanto à sua importância para o metabolismo vegetal. Todos são igualmente importantes. Nem toda a quantidade de certo elemento químico presente no solo está disponível às plantas. A quantidade disponível significa a parte da quantidade total do nutriente que está na solução do solo ou em condições de passar rapidamente para a solução. Para se proceder a análise química de um solo são

utilizados reagentes químicos (geralmente soluções diluídas) que tentam simular a ação das raízes das plantas, ou seja, extraem do solo apenas as formas químicas dos nutrientes que as raízes extrairiam. Estas soluções extratoras são calibradas e padronizadas para análises de solo na maioria dos estados brasileiros. Os extratores mais utilizados são o Mehlich-1 (solução diluída de ácido sulfúrico e ácido clorídrico) para determinação de K trocável, P disponível e de micronutrientes como Cu, Fe, Mn e Zn, e a solução de KCl 1M para determinação de formas trocáveis de Ca, Mg e Al (THOMÉ Jr., 1997).

1.4 Métodos de remediação de solos

Muitos processos físicos, químicos e biológicos estão sendo usados para remediar solos contaminados. Tais processos atuam removendo ou estabilizando o contaminante. A estabilização não reduz a quantidade do poluente, mas pode alterar suas propriedades químicas facilitando seu seqüestro ou adsorção, reduzindo os riscos ao ambiente (CUNNINGHAM et al., 1995).

Existem as técnicas de remediação denominadas *in situ*, que atuam no próprio local onde houve a contaminação, e as não-*in situ* ou *ex situ*, na qual o material contaminado é removido, ou escavado no caso de solos, para tratamento em outro local com técnicas apropriadas. Temos como exemplos de técnicas *in situ* a biodegradação, lavagem (geralmente utilizando surfactantes), vitrificação (solidificação do contaminante através de corrente elétrica), isolamento ou contenção pela instalação de barreiras subterrâneas, e a fitorremediação. Como exemplo de técnicas *ex situ* temos os

tratamentos térmicos, incorporação a outros materiais como o asfalto, solidificação/estabilização, extração química e os *landfarmings*, onde o material é retirado, transportado e depositado em área preparada para realizar algum outro tipo de tratamento (SPARKS, 2003).

1.4.1 Fitorremediação

A fitorremediação tem por base o uso de plantas e seus microrganismos associados, técnicas agrônômicas e de manejo do solo para remover ou tornar menos tóxicos os contaminantes do solo (WHITE Jr. et al., 2006).

Uma vez que a biomassa vegetal representa 99% da massa viva do planeta, é natural que as plantas estejam envolvidas em numerosos processos que têm relação íntima com o destino de resíduos químicos despejados no ambiente (MORENO e CORSEUIL, 2001).

Embora a fitorremediação possa ser empregada para remediar ambientes contaminados com diversos tipos de compostos como metais, radionuclídeos, orgânicos, etc., existe maior número de trabalhos relacionados à busca de hiperacumuladores de metais do que para os outros tópicos citados. Isto pode ser explicado pela maior facilidade de detecção de metais em vários tipos de matrizes. A fitorremediação de contaminantes orgânicos tem sido focada para as classes de compostos clorados, explosivos e hidrocarbonetos de petróleo e, mais recentemente, hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) e Bifenilas policloradas (PCBs) (ALKORTA e GARBISU, 2001; SALT et al., 1998).

Ainda que a correlação entre o desempenho agrônômico e o potencial de remediação deva ser particularmente determinada, um melhor desenvolvimento da planta certamente deve melhorar o processo de fitorremediação (WILTSE et al., 1998).

Segundo os mecanismos que envolvem o processo de fitorremediação, a ação sobre os compostos poluentes pode ser direta da planta com remoção ou captura dos contaminantes seguido de degradação (fitoextração *in planta*), ou *ex planta*, onde as raízes da planta podem liberar compostos que estimulem a atividade microbiana na rizosfera (CARMAN et al., 1998; SALT et al., 1998). As raízes promovem fonte de carbono adicional à microflora do solo e, além disso, também promovem aumento na disponibilidade de oxigênio através de seus canais (SCHWAB, 2006).

De acordo com diferentes trabalhos (CUNNINGHAM et al., 1995; SALT et al., 1998; CARMAN et al., 1998; ALKORTA e GARBISU, 2001; DAVIS et al., 2002; SCHWAB, 2006), os efeitos da planta sobre os contaminantes no solo podem ser resumidos em Fitoextração: quando as plantas acumulam o contaminante, podendo haver tratamento posterior dos compostos retidos no tecido. Os poluentes orgânicos do solo podem ser translocados para os tecidos da planta e subsequente volatilizados. As plantas podem oferecer vários caminhos de intermediação da transferência dos contaminantes, que fluem através do tecido e são convertidos em formas mais voláteis. Estes também podem ser seqüestrados nos vacúolos ou fixados nas estruturas celulares insolúveis como a lignina; Fitodegradação: quando a planta, a partir de enzimas e outras substâncias excretadas pelas raízes (nitroredutases, desalogenases, lacases, ácidos carboxílicos, etc.) ou através da microflora associada, convertem o poluente em outras substâncias menos tóxicas. A estimulação da atividade microbiológica na zona rizosférica das plantas pode ser de forma direta, devido à

transpiração da raiz afetando sua vizinhança imediata, ou indireta, devido à aeração causada pelo crescimento das raízes da planta e seu consumo da água do solo; Fitoestabilização: quando o poluente fica retido ou inativo no tecido vegetal ou na matriz do solo.

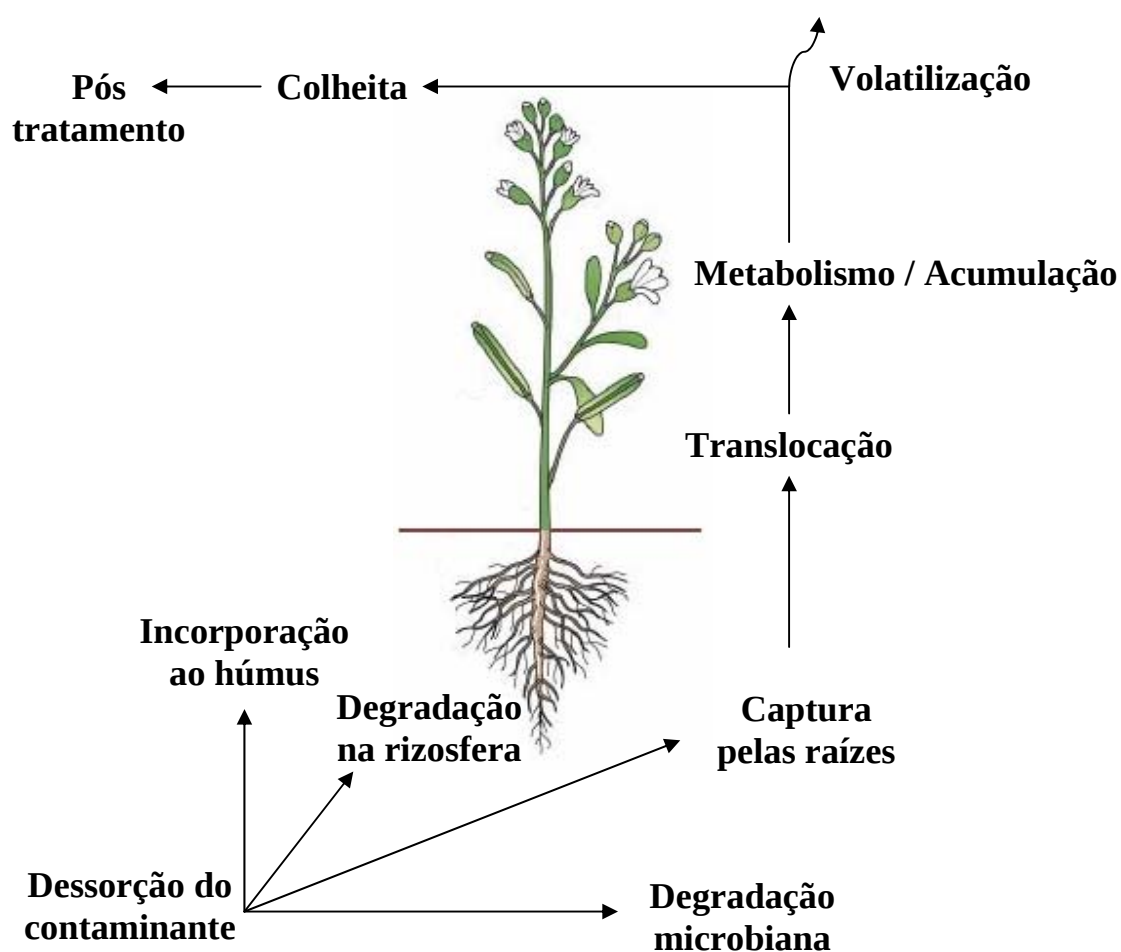


Figura 2 – Mecanismos envolvidos no processo de fitorremediação. Fonte: CUNNINGHAM et al., 1995.

A fitorremediação, como qualquer técnica, tem suas limitações. As plantas são organismos vivos e precisam de oxigênio, água e nutrientes. A textura do solo, o pH, a salinidade e a concentração do poluente devem estar dentro dos limites de

tolerância da planta. Para remediação de grandes áreas com baixos níveis de contaminação, processos biológicos são geralmente mais econômicos. Já para grandes concentrações de contaminante em pequenas áreas, outros meios podem ter maior eficiência (CUNNINGHAM et al., 1995).

Embora as plantas tenham a capacidade de degradar ou seqüestrar muitos compostos tóxicos, elas são sensíveis a muitos outros. Os herbicidas, por exemplo, são, por definição, tóxicos às plantas, geralmente mesmo em baixas concentrações. Muitos contaminantes apresentam toxicidade específica, inibindo a ação de enzimas metabólicas (DAVIS et al., 2002).

Muitos estudos relacionados a fitorremediação de solo estão direcionados à identificação de espécies de plantas e de microorganismos degradadores. Também estão direcionados ao monitoramento de algumas moléculas específicas. Aprill e Sims (1990) mostraram que o desaparecimento de vários hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) foi significativamente mais rápido em solos plantados com uma variedade de espécies de gramas de pradaria do que em solo sem vegetação.

Olson et al. (2001) verificaram concentrações de naftaleno, fenantreno e pireno cerca de duas a dez mil vezes menores na área superficial rizosférica do que em solo mais profundo.

Loehr e Webster (1996) utilizaram sistema de *landfarming* para tratamento de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo pelo período de 18 meses, utilizando sistema de biorremediação, seguido de plantio de gramíneas de clima tropical. Foi então verificada uma redução adicional de 81% dos HPAs presentes.

Analisando-se os teores de óleos e graxas totais em solo contaminado por petróleo, Merkl et al. (2005) encontraram valores significativamente menores de óleo

em solos cultivados com as espécies gramíneas *Brachiaria brizantha* e *Cyperus aggregatus*, em comparação ao solo não cultivado e mostraram uma correlação positiva entre a produção de biomassa das raízes e a degradação do óleo.

Schwab et al. (2006) estudaram a degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) por várias espécies vegetais e, além de identificar espécies de plantas relacionadas com a diminuição de TPH, estudaram as capacidades reprodutivas e o cruzamento entre espécies com potencial de remediação.

1.5 O gênero *Typha*

As espécies do gênero *Typha*, da família Typhaceae, são provavelmente as plantas de ambiente aquático mais comuns em todo o mundo (GALLARDO-WILLIAMS et al., 2002). No Brasil as plantas desse gênero são conhecidas como “Taboa”, mas possuem diversos sinônimos como erva-de-esteira, pau-de-lagoa, paineira-do-brejo, paina-de-flecha, etc. Em língua inglesa são conhecidas como *cattails*, ou rabo-de-gato, devido à sua flor de espiga característica (UFRS, 2006).

A sua folha, durável e resistente, pode fornecer fibra como matéria-prima na fabricação de papel (LORENZI, 2000). Além disso, pode-se fabricar pastas, cestas, bolsas e outros itens de artesanato (Wikipedia, 2006). Comunidades tradicionais do litoral norte do Rio Grande do Sul utilizam as fibras da *Typha domingensis* como uma importante fonte de renda para os artesãos (UFRS, 2006).

Segundo McManus et al. (2002), as espécies do gênero *Typha* são muitas vezes encontradas em lagoas ou banhados contaminados por diversos tipos de

resíduos industriais. As espécies mais importantes do gênero *Typha* são *T. latifolia*, *T. angustifolia* e *T. domingensis*. A espécie *T. latifolia* é a mais comum delas, sendo conhecida pelo nome em inglês *common cattail*, e as outras duas por *Narrowleaf cattail* e *Southern cattail*, respectivamente. Estas plantas são oriundas da América do norte, mas hoje se encontram espalhadas por todo o planeta (University of Florida, 2007). Estas plantas chamadas macrófitas (ou hidrófitas) estão sendo utilizadas na construção de leitos cultivados de tratamento, conhecidos pelo termo em inglês *wetlands*, devido às suas conhecidas propriedades de filtrar, ou seja, retirar nutrientes a partir de águas de esgoto ou rejeitos industriais, tornando-se importante o estudo destas espécies e o aprimoramento de sua utilização (MELO Jr., 2003).

As espécies de *Typha* são taxonomicamente muito similares, mas podem ser segregadas de acordo com alguns parâmetros como a profundidade da água onde se encontram (GRACE e WETZEL, 1998). Além disso, existem outras características que permitem a identificação das espécies. A *T. latifolia* possui flores unissexuais dispostas em espádice compacto com aspecto puro, a feminina na parte inferior, mais larga e de cor mais escura e a masculina na parte superior, mais estreita e amarelada. Ambas as partes da inflorescência aparecem normalmente contínuas, sem espaço entre elas. Nas espécies *T. angustifolia* e *T. domingensis* a parte feminina da inflorescência é marrom escura ou clara e normalmente está claramente separada da masculina. A *T. angustifolia* possui folhas com aurículas bem desenvolvidas e a bractéola da flor feminina é marrom escura e opaca. A *T. domingensis* possui folhas com aurículas pouco desenvolvidas e a bractéola da flor feminina é marrom clara e translúcida. Assim mesmo, as espécies do gênero *Typha* são geralmente confundidas,

sendo difícil o estudo de sua distribuição (Herbário de la Universidad Pública de Navarra, 2007).

As fotos abaixo ilustram as principais espécies desse gênero (Figura 5).



Figura 3 – (a) *Typha latifolia*, (b) *Typha angustifolia* e (c) *Typha domingensis*. Fonte: Australian Water Gardener, 2006.

1.5.1 Vegetação na área atingida por petróleo

Na área atingida pelo derramamento de petróleo, são destacados dois tipos principais de vegetação natural remanescente: as formações secundárias de Floresta Ombrófila Mista (floresta com Araucária), em vários estágios sucessionais, e os núcleos de Estepe Gramíneo-Lenhosa (campos limpos naturais), em diferentes graus de transformação, embora alguns setores bastante descaracterizados.

Complementando este quadro, nas planícies junto ao arroio Saldanha e ao rio Barigüi, observa-se um complexo vegetacional diferenciado, adaptado às condições

de saturação hídrica (várzeas hidromórficas), denominado de Formações Pioneiras com Influência Flúvio-lacustre que, conforme seu desenvolvimento pode ter fisionomia exclusivamente herbácea ou com elementos arbóreos. Em condições pedológicas específicas ocorre a Floresta Ombrófila Mista Aluvial (floresta ciliar ou de galeria), onde o substrato é melhor drenado, comparado ao das várzeas (Figura 3). A tipologia vegetal mais atingida pelo óleo em superfície, foi a de Formações Pioneiras com Influência Flúvio-lacustre, totalizando 57% do total atingido. No geral, foram diagnosticadas 343 espécies para extratos arbóreo, herbáceo e subarbusitivo e epífítico (SIQUEIRA et al., 2001).

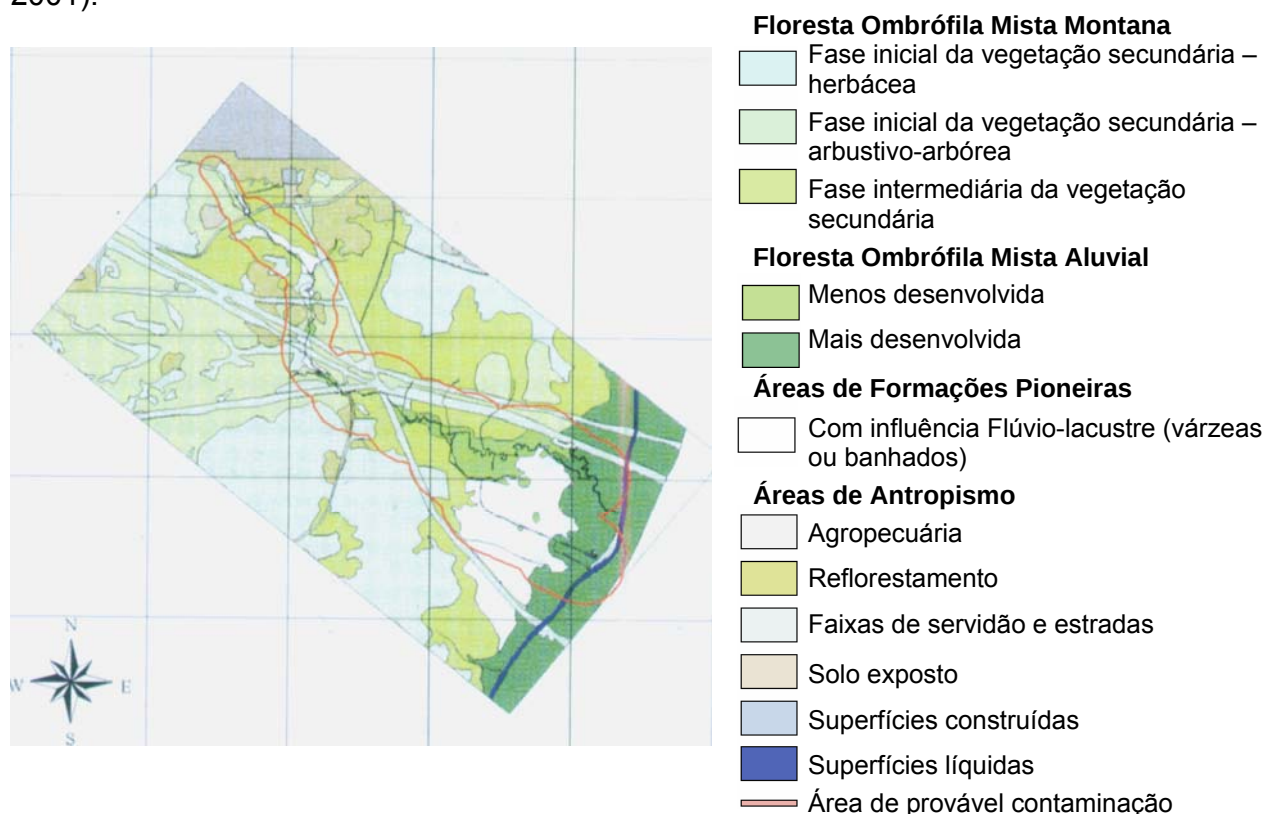


Figura 4 – Mapa da vegetação e do uso do solo da área de influência do vazamento de óleo - situação original (julho/2000). Fonte: SIQUEIRA et al., 2001.

Terras úmidas são tipicamente dominadas por comunidades de macrófitas aquáticas emergentes, flutuantes ou submersas. Estas plantas são frequentemente misturadas e co-dominantes com plantas flutuantes tais como *Lemna* sp., *Pistia* sp. e *Salvinia* sp., ou misturas complexas que incluem *Typha* sp. e *Scirpus* sp. (MARQUES, 2001).

Cinco anos após o derramamento de petróleo, quando se iniciou o trabalho aqui proposto, foi verificada a predominância das espécies *Typha* spp. (principalmente *Typha domingensis*) na área atingida pelo vazamento, principalmente nas áreas de banhado, próximas ao leito do rio Barigüi.

A Figura 4 mostra uma área de banhado próxima ao rio Barigüi em agosto de 2000 (foto à esquerda) e a mesma área em abril de 2005 (foto à direita). As espécies de macrófitas, nos cinco anos subseqüentes ao vazamento de óleo, se desenvolveram e passaram a ser predominantes no ambiente atingido pelo petróleo.



Figura 5 – Vista da área de banhado próxima ao rio Barigüi em agosto de 2000 (esquerda) e abril de 2005 (direita).

2 Objetivos

2.1 Geral

Avaliar o potencial de fitorremediação da Taboa (*Typha latifolia*) em solo contaminado com petróleo.

2.2 Específicos

a) Avaliar a degradação da fração aromática do petróleo por espectroscopia de fluorescência, a degradação dos 16 HPAs controlados pela *USEPA* e de hidrocarbonetos totais de petróleo por cromatografia em fase gasosa, no solo cultivado com Taboa.

b) Verificar o efeito de adubação química sobre o crescimento da Taboa no solo contaminado;

c) Avaliar o processo de nutrição da Taboa e a possível interferência do contaminante neste processo.

3 Parte Experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina. O substrato utilizado foi um solo tipo argiloso com 12% areia, 39% silte e 49% argila, coletado próximo ao local do acidente ocorrido em 2000 na Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR), Araucária - PR, numa área não atingida pelo derramamento de petróleo. O material vegetal superficial foi retirado e o solo foi coletado em profundidade máxima de 20 cm (horizonte A). Este substrato foi então seco ao ar por 15 dias, destorroado e peneirado em malha de 3 mm.

O solo retirado do local original passa a ser tratado apenas como um “substrato”. O termo “solo” deve ser utilizado somente quando se trata de seu perfil original. Todavia, a palavra “solo” será adotada neste trabalho para facilidade de compreensão.

O petróleo utilizado na contaminação do solo foi um óleo bruto com características semelhantes ao petróleo que atingiu a bacia de drenagem do Rio Barigüi (GUEDES et al., 2006). Este óleo, fornecido pela REPAR, foi misturado mecanicamente (em betoneira) ao solo, permitindo sua distribuição homogênea na concentração de 1% em massa ($10g_{\text{óleo}}/kg_{\text{solo}}$).

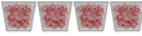
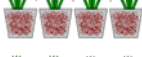
Uma solução fertilizante foi também misturada em parte do substrato. Este fertilizante continha macro e micro nutrientes nas seguintes concentrações por kg de solo: N 100 mg, P 300 mg, K 150 mg, S 40 mg, B 0,81 mg, Cu 1,33 mg, Fe 1,55 mg,

Mn 3,66 mg, Mo 0,15 mg e Zn 4,00 mg, de acordo com metodologia descrita por Oliveira et al. (1991).

Foram coletadas mudas de Taboa na Fazenda-Escola da Universidade Estadual de Londrina para o transplântio. As plantas foram identificadas pelo Herbário do Centro de Ciências Biológicas da UEL e pelo Museu Botânico de Curitiba como *Typha latifolia* Linn. Aproximadamente 20 mudas foram transferidas para vasos adequados e deixadas por 30 dias para adaptação às condições experimentais que seriam posteriormente submetidas. Após o período de adaptação, as mudas foram selecionadas, pesadas e transferidas para vasos plásticos de 21 cm de altura, 25 cm de diâmetro superior e 18 cm de diâmetro inferior, contendo 5 kg do substrato.

Os tratamentos dados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Descrição dos tratamentos e ilustração do experimento.

Identificação do tratamento	Descrição do solo	Ilustração
1	Natural	
2	Fertilizado	
3	Contaminado	
4	Fertilizado e contaminado	
5	Natural cultivado	
6	Fertilizado cultivado	
7	Contaminado e cultivado	
8	Fertilizado, contaminado e cultivado	

O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 4 repetições, totalizando 32 vasos. O experimento foi conduzido por 120 dias e os vasos foram irrigados com água de poço artesianos. O solo foi mantido sempre alagado ao longo do experimento, com lâmina d'água sobre a superfície de aproximadamente 1 cm.

Coletas de solo foram realizadas após 30, 60, 90 e 120 dias transcorridos da instalação do experimento. O solo de cada vaso foi coletado verticalmente na profundidade de 3 a 15 cm e raio de 2,5 cm, utilizando-se espátula de aço inox. O orifício no solo resultante da coleta foi preenchido com solo do próprio vaso e o local foi sinalizado para evitar coletas no mesmo ponto. Cerca de 80 g de terra foram retirados de cada vaso a cada coleta. Os vasos eram trocados de posição aleatoriamente a cada 15 dias para evitar efeitos permanentes das condições ambientais do local, por exemplo luz, sombra, correntes de ar e outras que pudessem induzir variações não controladas.

Parte de cada amostra de solo coletada foi armazenada a 4 °C para ser analisada por cromatografia em fase gasosa. A outra porção foi seca em funil de Büchner através de sistema a vácuo. Após esta etapa as amostras foram peneiradas em malha de 2 mm (9 mesh) e armazenadas a 4 °C, para análise por espectroscopia de fluorescência e medidas de pH. A validação e eficiência do procedimento de secagem a vácuo está descrita no item 3.1.

Após 120 dias de cultivo as plantas foram coletadas, separando-se a parte aérea das raízes. Ambas foram lavadas e depois pesadas. Todo o solo e a água resultante da lavagem das raízes foram devidamente armazenados para posterior caracterização, tratamento e disposição do resíduo. A parte aérea e as raízes foram secas a 40 °C em estufa com circulação forçada de ar por 72 h e depois novamente

pesadas. As folhas foram trituradas em Micro Moinho Tipo Willye Tecnal - TE648 e armazenadas para análise.

3.1 Validação do método de secagem do solo a vácuo

Foi preparada amostra de solo contaminado com petróleo na proporção de 10 g de petróleo para 1 kg de solo (4 repetições), homogeneizada e dividida em duas partes: a primeira foi reservada; a outra parte foi umedecida a 100% da capacidade máxima de retenção de água. Em seguida foram secas em funil de Büchner em sistema de vácuo, com pressão mantida entre 300 e 500 mmHg. Posteriormente foram feitas análises por espectroscopia de fluorescência de ambas as partes, seguindo os métodos de extração, parâmetros de análise e de cálculo de área integrada descritos em **3.2**.

Os teores de umidade do solo, tanto para a amostra reservada quanto para a amostra que foi umedecida e seca em sistema de vácuo, foram determinados gravimetricamente (EMBRAPA, 1997).

As relações de área integrada de fluorescência e de teor de umidade serão utilizadas para avaliar a eficiência deste procedimento de secagem do solo contaminado e sua validação para as condições adotadas neste trabalho.

3.2 Análise por espectroscopia de fluorescência

Extrato das amostras de solo foi preparado com 20 g do solo seco e 100 mL de diclorometano P.A. Nuclear sob agitação mecânica durante 1 h a 200 rpm em mesa Tecnal TE-140. O extrato foi filtrado e analisado por espectroscopia de fluorescência em Espectrofluorímetro SHIMADZU – RF5301PC na modalidade *synchronous* com $\Delta\lambda = 20$ nm e varredura de 250 a 800 nm. Foram calculadas as áreas integradas dos espectros utilizando o *software Personal Fluorescence* RF5301-PC versão 1.40, tomando-se o intervalo de 300 a 700 nm.

3.3 Análises por CG-DIC

Amostras compostas, obtidas a partir da mistura de solo coletado nos vasos (4 repetições), foram tratadas de acordo com metodologia EPA 3550B (US-EPA, 2006) e analisadas por cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização em chama (CG-DIC) em equipamento SHIMADZU GC-17A.

As condições cromatográficas foram as seguintes: volume de injeção 2 μ L (modo *splitless*); coluna DB-1 100% siloxano (J&W Scientific) 30m x 0,25mm x 0,25 μ m; temperatura do injetor = 200 °C; rampa de temperatura $T_i = 100$ $T_f = 300$ °C, 5 °C/min, 10 minutos a 300 °C; temperatura do detector 300 °C; composição da chama ar sintético/hidrogênio (30:1) e gás de arraste nitrogênio com vazão de 1mL/min.

Na determinação de HPAs foi utilizado como padrão certificado a mistura de 16 HPAs Supelco EPA610 (Tabela 5).

Tabela 5 – Padrão certificado para análise de HPAs por CG-DIC.

Pico	HPA	Concentração (µg/mL)
1	Naftaleno	1000
2	Acenaftileno	2000
3	Acenafteno	100
4	Fluoreno	100
5	Fenantreno	200
6	Antraceno	100
7	Fluoranteno	200
8	Pireno	100
9	Benzo(a)antraceno	100
10	Criseno	200
11	Benzo(a)fluoranteno	200
12	Benzo(k)fluoranteno	200
13	Benzo(a)pireno	100
14	Indeno(1,2,3-cd)pireno	1000
15	Benzo(g,h,i)perileno	100
16	Dibenzo(a,h)antraceno	100

A determinação dos hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) foi realizada tomando-se a soma da área de todos os picos cromatográficos identificados, ou seja, aqueles que a coluna cromatográfica foi capaz de resolver. Foi então estabelecida uma correlação comparativa dos valores de área total integrada do cromatograma resultante da análise do solo.

3.4 Análise foliar de macro e micronutrientes

Na análise de tecido vegetal para determinar macro (K, Ca, Mg e P) e micro nutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) foi realizada digestão nitro-perclórica das amostras. As análises de potássio foram feitas por fotometria de chama em fotômetro Micronal B262 e as análises de fósforo foram feitas por espectroscopia de absorção no

ultravioleta e visível em espectrofotômetro Femto 600 Plus. A determinação de Ca, Mg e micronutrientes foi feita por espectroscopia de absorção atômica por chama em equipamento GBC 932 AA. Para análise de nitrogênio foi realizada digestão sulfúrica da amostra, destilação em equipamento destilador de nitrogênio Tecnal TE - 036/1 e determinação por volumetria (MALAVOLTA et al., 1997).

3.5 Medidas de pH

Foram executadas medidas de pH do solo em água na proporção de 1:2,5 v/v (solo:água destilada) (PAVAN et al, 1992). Foi utilizado pHmetro Oakton Acorn Series.

3.6 Influência da concentração de petróleo sobre a fertilidade do solo

Foram preparadas amostras de solo contaminado com petróleo nas concentrações de 0, 5, 10, 20, 30 e 40 g_{óleo}/kg_{solo}, todas em triplicata. Foi utilizado o mesmo solo argiloso do experimento de fitorremediação. As amostras foram homogeneizadas agitando-se vigorosamente a mistura por no mínimo 5 minutos. Nestas amostras foram realizadas determinações das concentrações de macronutrientes (Ca, Mg, K e P), micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) e Al (tóxico para as plantas), além de medidas de pH em água. Foram seguidas as metodologias de extração e análise descrita em Pavan et al. (1992) e utilizados os equipamentos descritos em 3.4.

3.7 Análise estatística

Todos os resultados obtidos neste trabalho foram submetidos a avaliação estatística por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 5% de significância, através dos *softwares The SAS System for Windows v. 8.02* e *Sisvar para Windows v. 4.6 (Build 65)*.

O método de análise de variância indica a aceitação ou rejeição da hipótese de igualdade entre médias. Existem alguns testes para solução desta questão, por exemplo, o teste de Tukey. Estes testes indicam quais médias devem ser consideradas diferentes entre si ao nível de significância adotado (FONSECA e MARTINS, 1994). O resultado desta análise é representado por letras maiúsculas. Por exemplo, valores seguidos da mesma letra não diferem entre si. As letras também indicam a relação de grandeza dos resultados, por exemplo, a letra A indica o maior valor numérico e as letras B, C, D e assim por diante, indicam subsequentemente os menores valores. As barras de erro mostradas nos gráficos representam o desvio padrão da média dos resultados.

4 Resultados e Discussão

A Figura 6 ilustra a condição de umidade do solo ao longo do cultivo (a) e o crescimento da Taboa durante o período de monitoramento (b, c d, e, f). Aos 90 dias de cultivo, as folhas que se encontravam secas foram removidas e sua respectiva massa foi incorporada à massa seca e ao ganho de massa fresca, sendo que neste caso os valores foram corrigidos de acordo com o teor de umidade das folhas da planta em cada vaso.

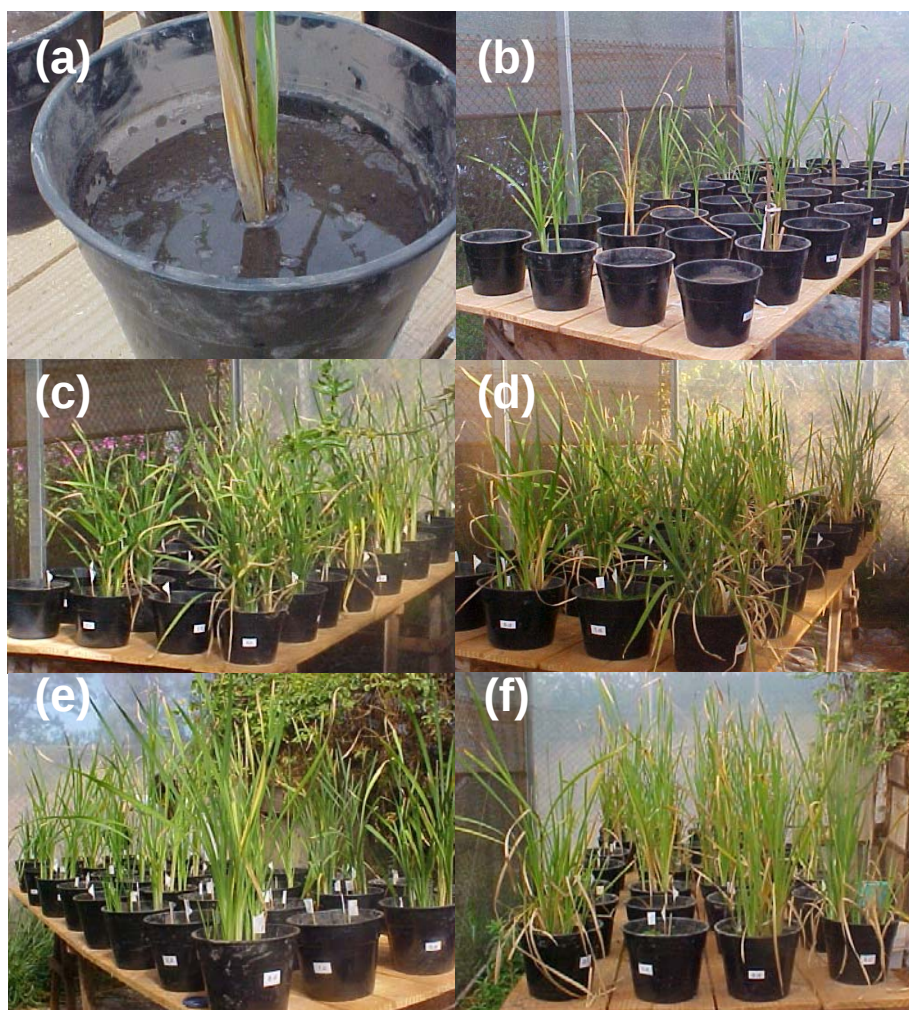


Figura 6 – (a) Condição de 100% de umidade do solo; (b) início do cultivo; (c) após 30 dias; (d) após 60 dias; (e) após 90 dias; (f) após 120 dias de cultivo.

Na Figura 7 são apresentados os ganhos de massa fresca das plantas de acordo com o tipo de tratamento aplicado, comparando-se os valores de massa das mudas introduzidas no vaso (massa inicial) e massa fresca total (raízes e parte aérea) após 120 dias de cultivo.

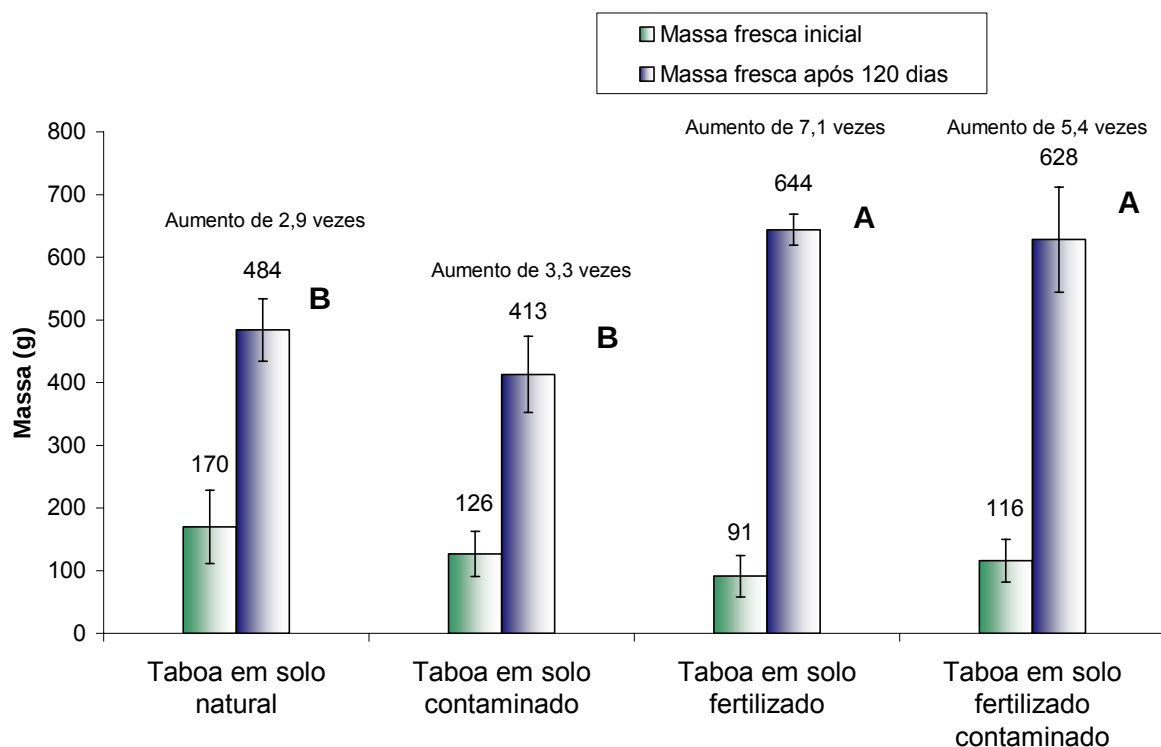


Figura 7 – Ganho de massa fresca da Taboa cultivada durante 120 dias, em função dos diferentes tratamentos.

Nos solos tratados com fertilizante (contaminado ou não) houve maior ganho de massa da Taboa. Comparando-se a massa das plantas cultivadas em solo contaminado com aquelas cultivadas em solo não contaminado, notou-se que não houve diferença significativa no ganho de massa, indicando que não houve inibição do crescimento da Taboa devido à presença do contaminante.

A produção de massa das raízes foi estatisticamente igual para todos os tratamentos (Tabela 6), indicando que em 120 dias de cultivo as raízes da *Taboa* atingiram uma igualdade entre os tratamentos, mesmo com aplicação do fertilizante. Isto pode ter sido devido ao tamanho do vaso utilizado, que impossibilitou a expansão das raízes, mesmo com abundância de nutrientes disponíveis no solo.

Um dado importante a ser analisado é a produção de matéria seca da parte aérea, pois deste valor é subtraída a massa das raízes e uma possível interferência devido à maior ou menor quantidade de água nas folhas. A massa seca da parte aérea da *Taboa* cultivada por 120 dias pode ser observada na Figura 8.

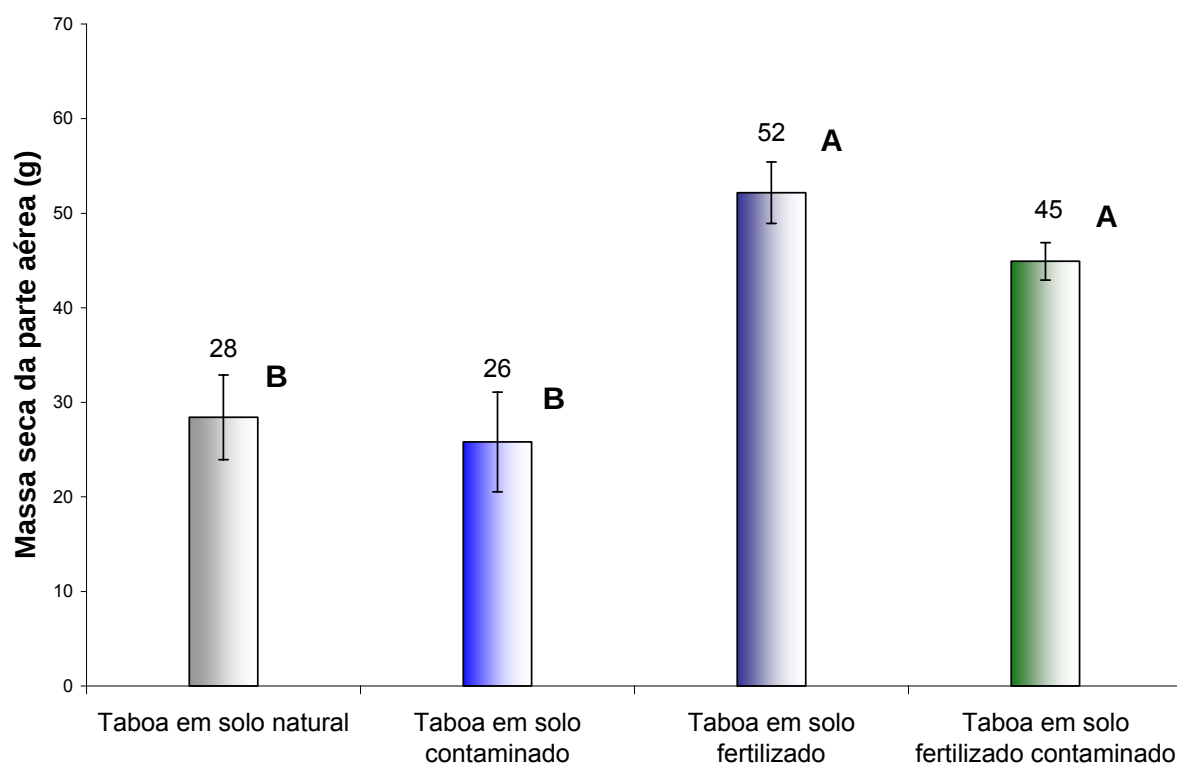


Figura 8 – Massa seca da parte aérea da *Taboa* após 120 dias de tratamento.

A produção de matéria seca da parte aérea foi maior em solo fertilizado, porém não houve diferença significativa em solo contaminado e não contaminado com petróleo.

Na Tabela 6 estão apresentados os valores de massa seca e fresca da parte aérea, massa fresca das raízes e massa fresca total, após 120 dias de cultivo.

Tabela 6 – Massa seca e fresca da parte aérea, massa fresca das raízes e massa fresca total produzida após 120 dias de cultivo da Taboa.

Descrição do solo cultivado com Taboa	Massa seca da parte aérea	Massa fresca da parte aérea	Massa fresca das raízes	Massa fresca total
Natural	28,42 B	170,51 B	313,45 A	483,96 B
Fertilizado	52,16 A	323,85 A	320,11 A	643,96 A
Contaminado	25,81 B	170,55 B	242,59 A	413,14 B
Contaminado fertilizado	44,92 A	312,04 A	315,98 A	628,02 A

Este conjunto de dados permite então afirmar que o petróleo no solo (10 g/kg) não prejudicou o desenvolvimento da Taboa, tanto no crescimento da parte aérea como das raízes.

4.1 Secagem do solo a vácuo

Com o objetivo de remover a umidade do solo para que esta não interfira na extração do petróleo, devido ao uso de solvente orgânico, foi desenvolvida uma metodologia de secagem a vácuo que pudesse preservar os contaminantes aromáticos do óleo para posterior análise por espectroscopia de fluorescência do extrato orgânico.

Na Tabela 7 estão apresentados os teores de umidade do solo previamente seco ao ar e contaminado e umidade remanescente no solo contaminado após ser umedecido e submetido ao procedimento de secagem a vácuo.

Tabela 7 – Percentual médio de umidade do solo previamente seco contaminado e da umidade remanescente no solo contaminado após o umedecimento e procedimento de secagem em sistema de vácuo.

Amostra	% umidade
Solo previamente seco e contaminado	1,29($\pm$ 0,5)
Solo contaminado, umedecido e seco a vácuo	1,33($\pm$ 0,5)

Tomando-se os valores das áreas integradas dos espectros de fluorescência obtidos, calculados no intervalo de 300 a 700 nm, foi verificada uma atenuação média de 4,9($\pm$ 1,2)% (obtido da média entre 4 as repetições) na área de fluorescência quando as amostras foram umedecidas a 100% e submetidas ao processo de secagem em sistema de vácuo.

A partir dos valores de umidade pode-se verificar que no processo de secagem houve umidade remanescente praticamente igual à do solo originalmente seco. Logo, esta diminuição da área do espectro de fluorescência deve ter sido devida principalmente a pequenas perdas de compostos fluorescentes mais voláteis durante a secagem.

Apesar das pequenas variações que podem estar associadas a esta etapa do trabalho de monitoramento da fitorremediação, deve-se relatar, de maneira positiva, que a eficiência de retirada da umidade do solo sob este processo foi de cerca de 99%

e a atenuação da fluorescência de apenas 4,9%, o que torna totalmente viável a utilização deste sistema para as condições de análise adotadas neste trabalho.

É importante ressaltar que este procedimento foi realizado para todas as amostras coletadas durante o experimento de fitorremediação. Sendo assim este pequeno erro devido à umidade remanescente no solo, está embutido em todos os valores, o que se torna um erro sistemático que é eliminado quando estes são comparados entre si. Além disso, a utilização de quadruplicatas vem a minimizar ainda mais este erro, pois quanto maior o número de repetições, menor o erro padrão associado e maior a probabilidade do valor médio estar mais próximo do valor real (VOGEL, 1992).

4.2 Análises por Espectroscopia de Fluorescência

A análise dos extratos de solo por espectroscopia de fluorescência indica a porcentagem relativa dos compostos aromáticos do petróleo (fração mais tóxica). Devido à presença de frações aromáticas em sua composição, todo petróleo é fluorescente. Estas frações são ricas em elétrons π que, quando excitados a um estado mais energético, sofrem processos de relaxação e retornam ao estado inicial emitindo energia que pode ser na forma de luz, caracterizando a emissão de fluorescência, que é largamente utilizada na análise de petróleo (LITERATHY et al., 1989). Devido ao largo número de cromóforos, transferência de energia e processos de supressão dentro da matriz do petróleo, a fluorescência depende do comprimento de onda de excitação e também da concentração dos componentes fluorescentes (WANG et al., 1994). Para reduzir a complexidade de análise, a fluorescência sincronizada de excitação/emissão é

frequentemente utilizada (THEOBALD, 1989). Esta modalidade de análise consiste na varredura da amostra mantendo constante a diferença entre os monocromadores, $\Delta\lambda$, obtendo-se assim espectros nos quais faixas de comprimentos de onda podem ser relacionadas às frações fluorescentes do óleo bruto (aromática, polar e asfáltica), de acordo com o número de anéis aromáticos presentes na estrutura química do constituinte.

Na Figura 9 estão espectros de fluorescência *synchronous* obtidos a partir da análise dos extratos de solo. O perfil de fluorescência do extrato de solo contaminado é característico da emissão de constituintes do petróleo (NICODEM et al., 1998).

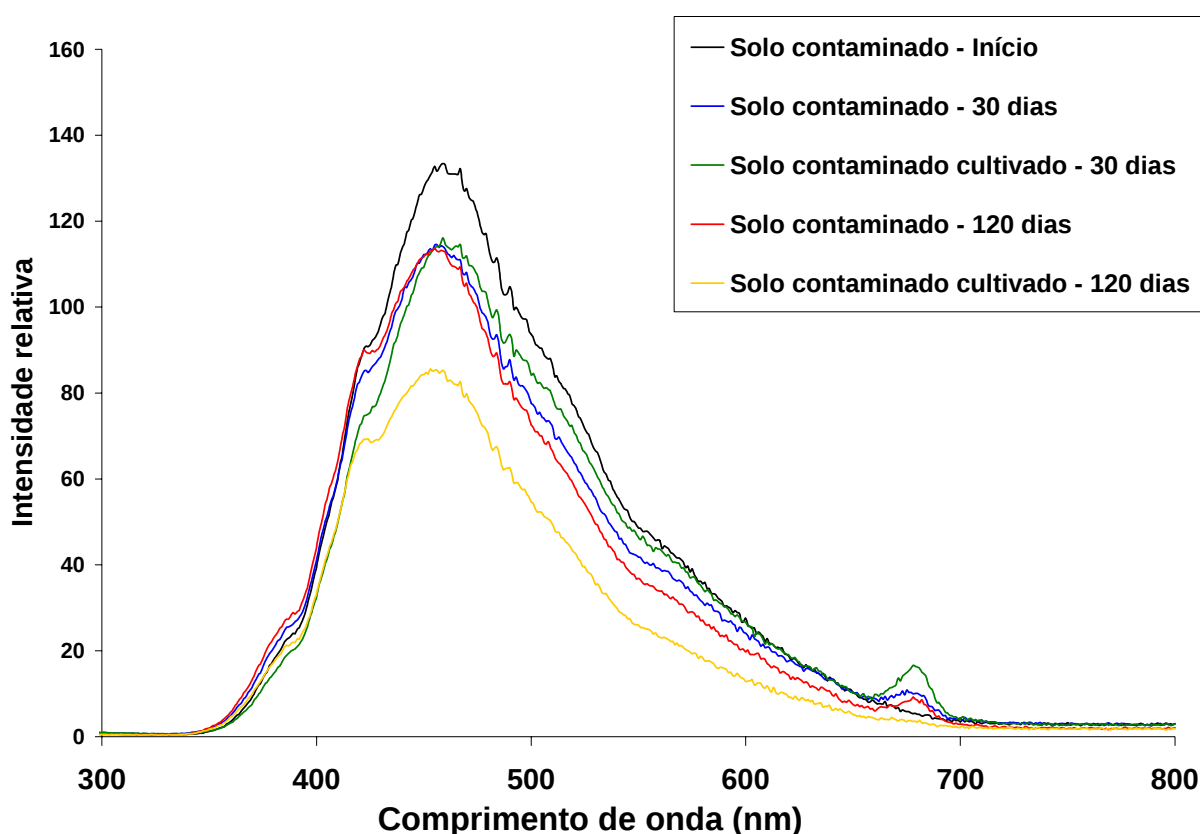


Figura 9 – Espectros de fluorescência *synchronous* dos extratos de solo contaminado com petróleo.

Após 30 dias do início do experimento, as análises dos extratos de solo revelaram intemperismo do óleo bruto, com intensidade relativa de fluorescência praticamente idêntica para o solo não cultivado e para o solo cultivado com Taboa. Porém, após transcorridos 120 dias, os extratos de solo indicaram intensidade de fluorescência menor em 33 % na relação entre o solo cultivado com Taboa e o não cultivado. Isto pode indicar que houve absorção ou degradação dos componentes aromáticos do petróleo pela planta, ou pela microflora associada, estimulada pela presença da Taboa.

Na Figura 10 estão representadas as áreas integradas de fluorescência dos espectros registrados durante o experimento, considerando os tratamentos contaminados com petróleo. Sob o aspecto geral, os solos cultivados, fertilizados ou não, apresentaram diminuição na quantidade relativa de aromáticos do óleo durante o período de monitoramento. A Taboa e sua microbiota associada atuaram na remoção ou degradação do petróleo no solo, e isto tornou-se evidente através da fluorescência do petróleo aos 60 dias de cultivo, efeito este que tornou-se mais intenso no decorrer de 120 dias de monitoramento do experimento.

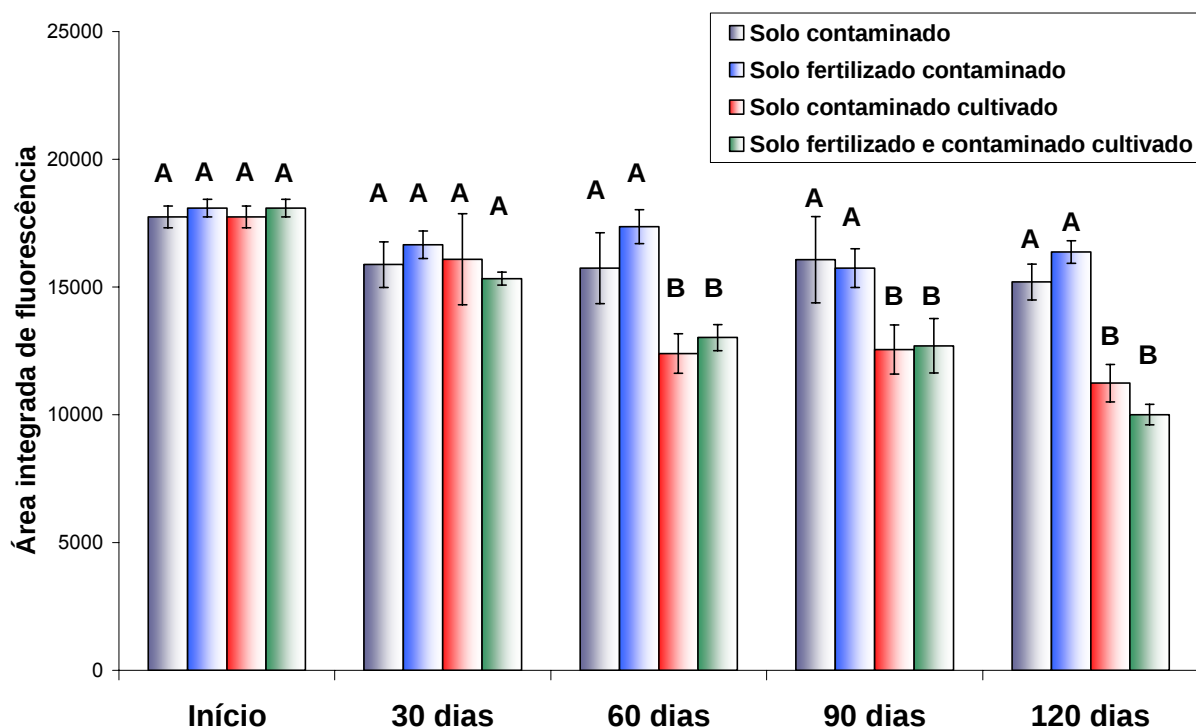


Figura 10 – Área integrada de fluorescência dos extratos de solo contaminado e do solo cultivado com Taboa.

Embora a área média dos espectros de fluorescência (4 repetições) dos extratos de solo contaminado cultivado e fertilizado seja 10 % menor do que a área média correspondente ao mesmo solo sem adição de fertilizante, a avaliação estatística dos dados indica que o uso deste fertilizante não influenciou na remoção do petróleo do solo. Assim, a eficiência de fitorremediação, neste caso, não deve depender da maior disponibilidade de nutrientes no solo. Uma vez que foi comprovada uma correlação positiva entre a aplicação do fertilizante e o ganho de massa da Taboa, é possível afirmar que o cultivo da planta em solo fertilizado não está relacionado com o potencial de fitorremediação, levando-se em consideração o intervalo de tempo monitorado.

4.3 Análises cromatográficas

A seguir são apresentados os cromatogramas (Figura 11) obtidos a partir dos extratos de solo submetido ou não ao cultivo da Taboa durante 120 dias de avaliação do experimento de fitorremediação. Os cromatogramas foram obtidos a partir de amostras compostas (4 repetições) referentes aos tratamentos impostos para monitoramento.

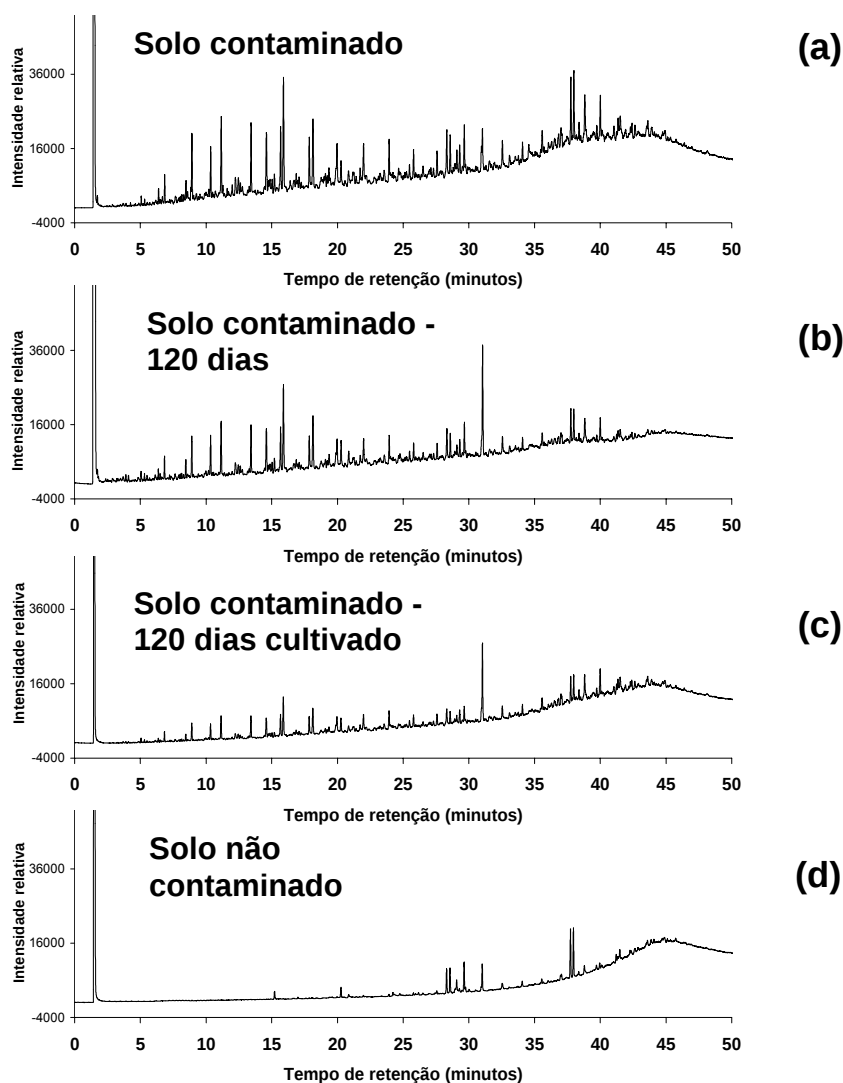


Figura 11 – Cromatogramas dos extratos de: (a) solo contaminado; (b) solo contaminado, após 120 dias; (c) solo contaminado cultivado com Taboa, após 120 dias; (d) solo não contaminado.

Comparando o perfil cromatográfico do extrato de solo contaminado com a amostra sob intemperismo durante 120 dias, observou-se diminuição na intensidade relativa dos constituintes do petróleo, principalmente aqueles que eluem com tempo de retenção superior a 30 minutos. O efeito é intensificado no solo cultivado, onde a planta reduziu também a complexidade da mistura contida no petróleo, atuando sobre todas as classes dos compostos presentes no óleo.

O cromatograma do extrato de solo sem contaminação apresenta picos correspondentes a componentes naturais do solo, provavelmente da matéria orgânica, como por exemplo, substâncias húmicas.

Os cromatogramas estão apresentados sobrepostos na Figura 12 para comparação da *UCM* (*unsolved complex mixture*), cujo parâmetro é bastante utilizado na avaliação do grau de intemperismo do petróleo, em caso de derramamento em solo ou águas naturais (GUEDES, 1998).

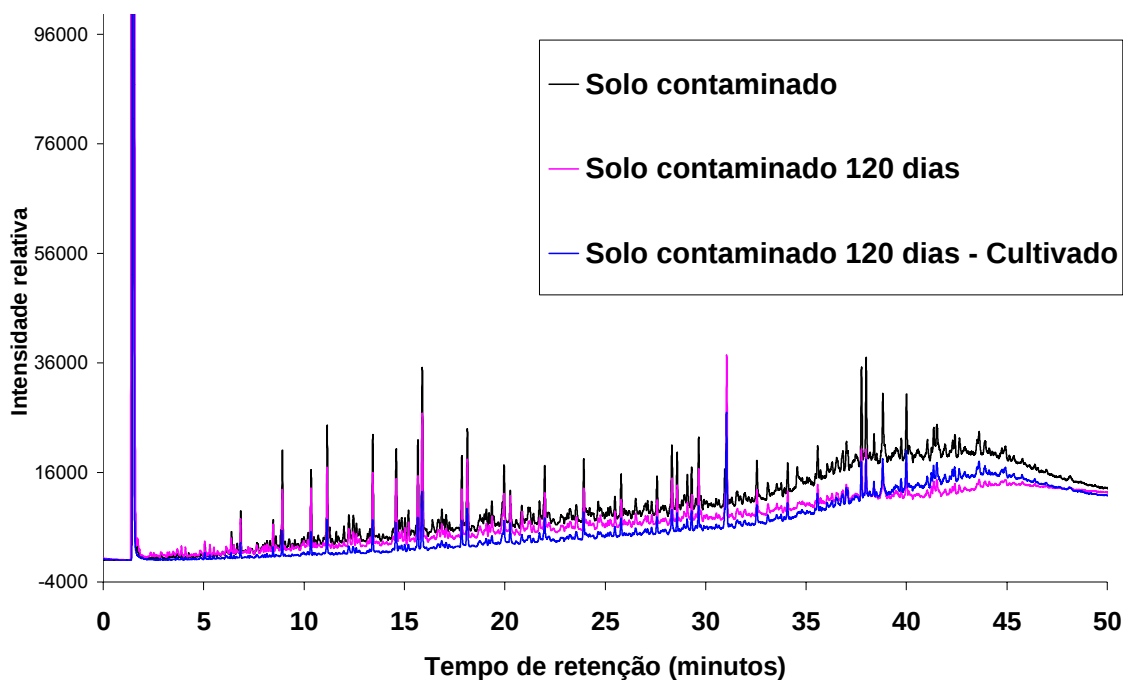


Figura 12 – Cromatogramas dos extratos de solo analisados, de forma sobreposta.

Quanto maior o número de componentes que a coluna cromatográfica não consegue separar, maior a elevação da linha de base do cromatograma. Esta mistura complexa não resolvida, chamada *UCM*, representa uma grande variedade de compostos, principalmente hidrocarbonetos alifáticos. Observando-se as curvas dos cromatogramas correspondentes à *UCM*, o perfil correspondente ao solo contaminado e cultivado com Taboa é semelhante àquele obtido para o solo não cultivado, para compostos com tempo de retenção acima de 35 minutos, porém nota-se que os componentes de petróleo que eluem em até 35 minutos de análise, para o extrato de solo cultivado, apresentam-se numa mistura menos complexa, pois a linha de base do cromatograma encontra-se abaixo daquela registrada para o extrato de solo não

cultivado, indicando a remoção ou degradação de constituintes do óleo devido ao cultivo da Taboa.

4.3.1 Análise de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs)

A análise por CG-DIC de 16 HPAs prioritariamente controlados pela *US Environmental Protection Agency* (USEPA) foi realizada com o objetivo de identificar estes componentes refratários nas amostras de solo contaminado com petróleo e avaliar a capacidade de remoção ou degradação destes aromáticos pela Taboa ou microflora associada.

Na Tabela 8 estão dispostos os parâmetros relacionados à curva de calibração para quantificação dos 16 hidrocarbonetos poliaromáticos no solo contaminado.

Tabela 8 – Parâmetros da curva de calibração dos 16 HPAs.

Pico	HPA	Tempo de retenção (minutos)	Equação da reta (curva de calibração)	Coefficiente de correlação
1	Naftaleno	4.619	$y = -225,21227 + 7452,56832x$	0.99799
2	Acenaftileno	9.381	$y = -3,10945 + 7556,87671x$	0.99823
3	Acenafteno	10.120	$y = 77,71642 + 7628,73309x$	0.99803
4	Fluoreno	12.243	$y = -41,1791 + 7385,66581x$	0.99103
5	Fenantreno	16.399	$y = -30,3267 + 9622,18899x$	0.99186
6	Antraceno	16.629	$y = -30,51575 + 7831,80367x$	0.99971
7	Fluoranteno	22.098	$y = 33,86899 + 8914,16334x$	0.99868
8	Pireno	23.020	$y = 10,56716 + 9446,2811x$	0.99790
9	Benzo(a)antraceno	29.035	$y = 9,08624 + 9218,15224x$	0.99767
10	Criseno	29.174	$y = -19,15423 + 9490,10707$	0.99784
11	Benzo(b)fluoranteno	34.063	$y = -20,37977 + 9907,84541$	0.99791
12	Benzo(k)fluoranteno	34.155	$y = -8,83582 + 10098,63367x$	0.99278
13	Benzo(a)pireno	35.251	$y = -18,59701 + 8454,92426x$	0.99736
14	Indeno(1,2,2-cd)pireno	39.660	$y = -56,93864 + 9604,37485x$	0.99815
15	Benzo(g,h,i)perileno	39.831	$y = -113,26368 + 9531,68838$	0.99905
16	Dibenzo(a,h)antraceno	40.548	$y = -190,24212 + 10321,52898x$	0.99715

Dentre os hidrocarbonetos poliaromáticos investigados no solo contaminado com petróleo foram detectados: fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e indeno(1,2,2-cd)pireno. O fenantreno e o antraceno não foram mais detectados nos extratos de solo contaminado, cultivado ou não, após 120 dias de monitoramento. Já o fluoreno só foi detectado, após 120 dias, no solo não cultivado. O benzo(a)antraceno e o benzo(b)fluoranteno foram detectados no solo sem contaminação. Isto pode ter ocorrido devido ao solo utilizado no experimento ter sido coletado em local próximo à área onde houve derramamento de petróleo, e estes compostos podem ter sido levados pela chuva, vento, freático superior e outros. Outros compostos também podem ter sido carregados, contudo estes foram mais persistentes. Os HPAs identificados foram quantificados em mg por kg de solo (Figura 13).

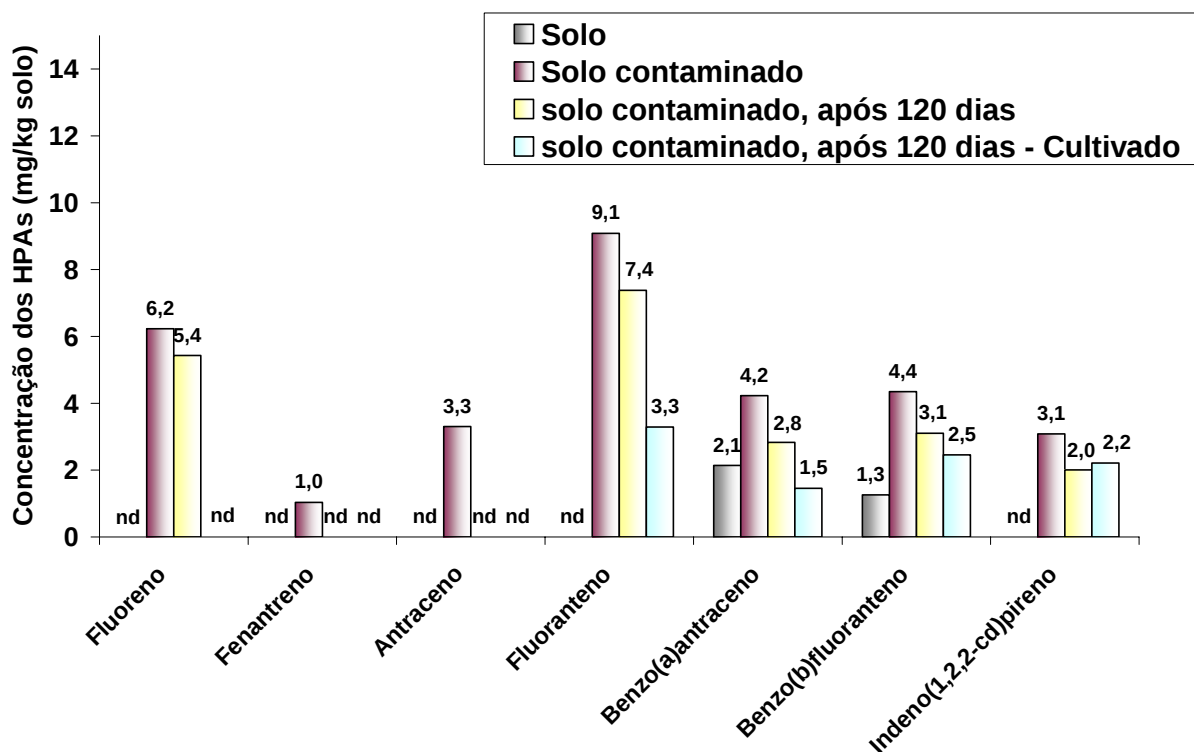


Figura 13 – Concentração de hidrocarbonetos poliaromáticos no solo.

Na Tabela 9 foram listadas as porcentagens de remoção dos HPAs no solo sob intemperismo e no solo cultivado.

Tabela 9 – Taxa de remoção de HPAs do solo contaminado.

HPA	Não cultivado	Cultivado com Taboa
Fluoreno	13%	100%
Fenantreno	100%	100%
Antraceno	100%	100%
Fluoranteno	19%	64%
Benzo(a)antraceno	33%	66%
Benzo(b)fluoranteno	29%	44%
Indeno(1,2,2-cd)pireno	35%	28%

Todos os hidrocarbonetos poliaromáticos detectados no solo contaminado sofreram degradação após 120 dias. O fenantreno e o antraceno não foram mais detectados tanto no solo sob intemperismo como no solo cultivado.

Cerca de 13% do fluoreno degradou em solo não cultivado e 100% de degradação em solo cultivado após 120 dias. Isto pode ser devido ao seu menor peso molecular, podendo ter havido maior facilidade na captura deste HPA pelas raízes da Taboa ou ação de microrganismos.

O cultivo da Taboa removeu 55% de fluoranteno, 49% de benzo(a)antraceno e 21% de benzo(b)fluoranteno na relação entre solo cultivado com Taboa e não cultivado após 120 dias. A degradação do indeno(1,2,2-cd)pireno não foi devido ao cultivo, mas somente ao intemperismo deste composto no solo. No caso do fluoranteno, ocorreu cerca de 64% de degradação em solo cultivado contra apenas 19% em solo não cultivado. As quantidades de benzo(a)antraceno e (1,2,2-cd)pireno, quanto aos valores orientadores de qualidade de solo, se estabeleceram ainda acima

do máximo permitido para solos agrícola e residencial, mas estão abaixo dos níveis para solo de área industrial. Os demais aromáticos não possuem valores orientadores estabelecidos (Tabela 3).

4.3.2 Hidrocarbonetos totais de petróleo

Para o cálculo de TPH foram somadas as áreas integradas de todos os picos cromatográficos registrados para cada amostra.

A área integrada obtida do extrato de solo sem contaminação foi subtraída da área total dos extratos de solo contaminado, cultivados ou não, a fim de eliminar a interferência de componentes naturais do solo.

As áreas totais dos cromatogramas dos extratos de solo estão apresentadas na Figura 14.

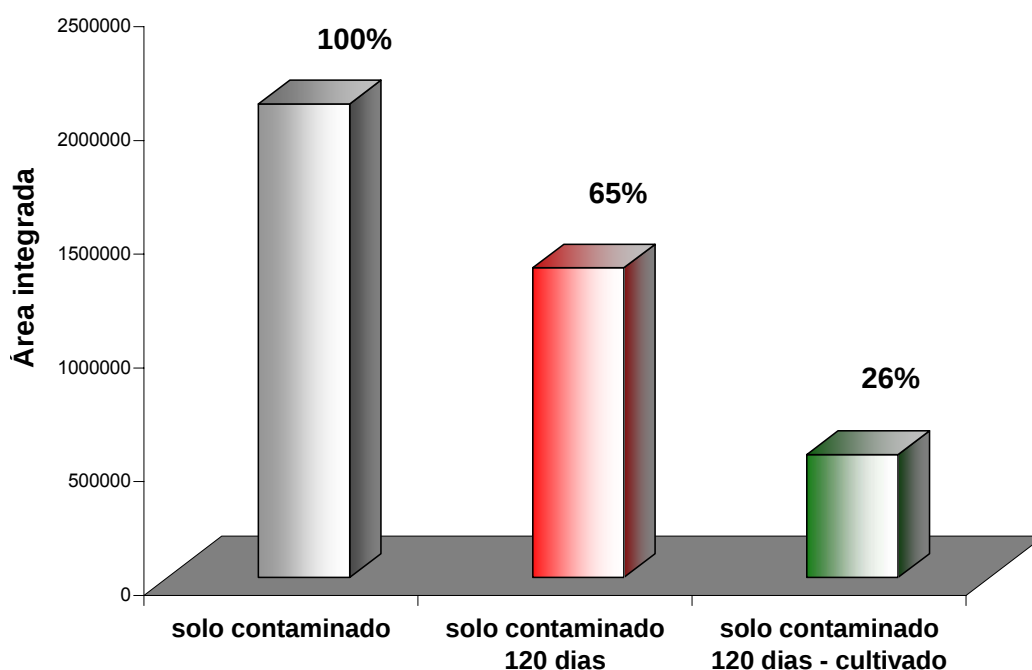


Figura 14 – Área integrada dos cromatogramas do extrato de solo contaminado (a), solo contaminado, após 120 dias (b) e solo contaminado e cultivado com Taboa, após 120 dias.

A diminuição ou degradação do petróleo no solo não cultivado foi de cerca de 35%, enquanto que o intemperismo associado à ação da Taboa foi correspondente a 74% (Tabela 10).

Tabela 10 – Parâmetros calculados para TPH no solo.

Parâmetro	Solo contaminado	Solo contaminado 120 dias	Solo contaminado 120 dias - cultivado
Área do cromatograma	2.083.105	1.361.431	541.192
TPH (g/kg)	10	6,53	2,60
Remoção do TPH (%)	–	34,64	74,02

O cultivo da Taboa reduziu a contaminação original de 10 g/kg para aproximadamente 2,6 g/kg na relação massa de TPH e massa de solo, enquanto 6,53 g/kg permaneceram no solo não cultivado. Estes resultados deixam evidente que houve ação diferenciada devido à presença da Taboa, sobre todas as classes de compostos do petróleo.

4.4 Teores foliares para macro e micronutrientes

Uma vez visto que a contaminação do solo por petróleo (10 g/kg) não afetou significativamente o crescimento da Taboa, e que o uso do fertilizante químico teve relação positiva com este crescimento (item 4.1), torna-se necessário avaliar o aproveitamento de nutrientes do solo pela Taboa.

Os gráficos a seguir mostram os teores foliares de micronutrientes (Figura 15) e macronutrientes (Figura 16).

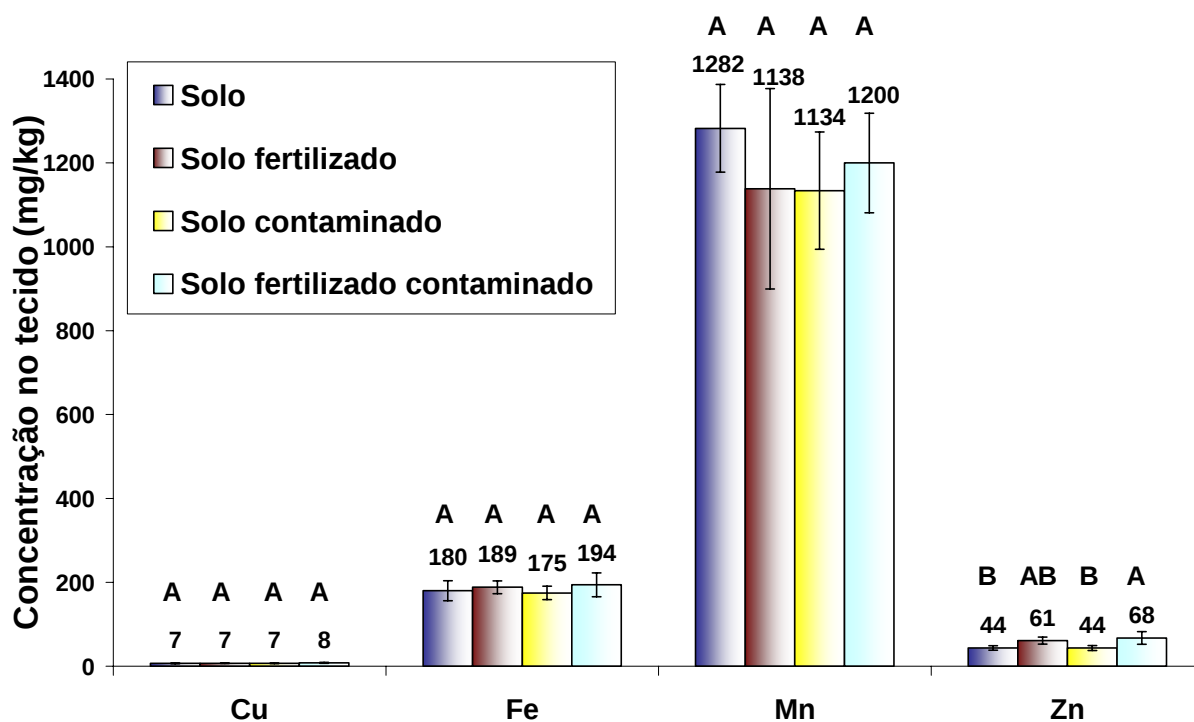


Figura 15 – Teor foliar de micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) na Taboa.

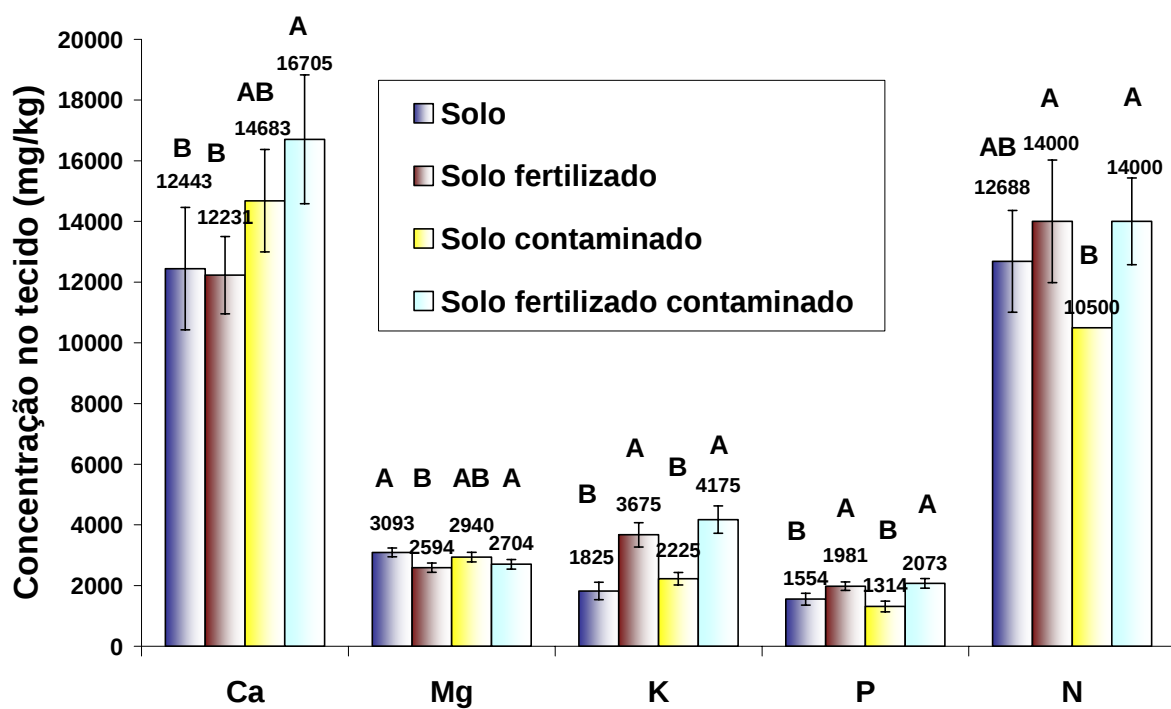


Figura 16 – Teor foliar de macronutrientes (Ca, Mg, K, P e N) na Taboa.

Podemos observar para os micronutrientes no tecido foliar, que os teores de Cu, Fe e Mn não diferiram entre os tratamentos. Somente para o Zn houve maiores teores foliares nos tratamentos fertilizados. Isto indica que o petróleo não teve influência na absorção de micronutrientes pela planta e que a aplicação de fertilizante influenciou somente na absorção de zinco.

Entre os macronutrientes, os teores de fósforo, potássio e de forma similar para o nitrogênio, foram diferentes entre si. Estes foram maiores nos tratamentos de solo fertilizado. Porém, também neste caso não houve influência do petróleo no solo na absorção destes nutrientes pela planta.

Os teores foliares de cálcio diferiram entre os tratamentos. Contudo, os valores para este elemento seguiram uma tendência inversa ao esperado, ou seja, as maiores quantidades de cálcio foram encontradas nas plantas que cresceram em solo contaminado. Para o Mg também houve diferença entre os tratamentos, porém, não houve interferência negativa devido à presença de óleo no solo. O fertilizante utilizado não continha os elementos Ca e Mg em sua formulação. Por isso não eram esperados maiores teores foliares destes elementos para os tratamentos fertilizados.

Em resumo, não houve interferência do contaminante nos teores foliares para todos os elementos analisados (excluído o Ca que teve comportamento anômalo). Diferenças foram observadas quanto à aplicação de fertilizante para a maioria dos elementos (exceto para Cu, Fe Mn e novamente o Ca). Porém, o fertilizante teve ação positiva sobre os teores foliares de N, P, K e Zn.

A partir destes dados pode-se dizer que, mesmo não tendo correlação positiva para cinco dos nove elementos analisados, as maiores quantidades de

nutrientes importantes, principalmente N, P e K, estão associadas à aplicação do fertilizante. Estes valores de nutrição foliar podem estar então correlacionados aos resultados de produção de massa das plantas, onde houve maiores ganhos de massa nos tratamentos fertilizados. Porém, estes dados cruzados não tiveram relação direta com a diminuição de compostos aromáticos do petróleo no solo, verificado através das análises de fluorescência.

4.5 Medidas de pH do solo

A seguir são apresentados na Figura 17 os valores de pH do solo no decorrer do experimento.

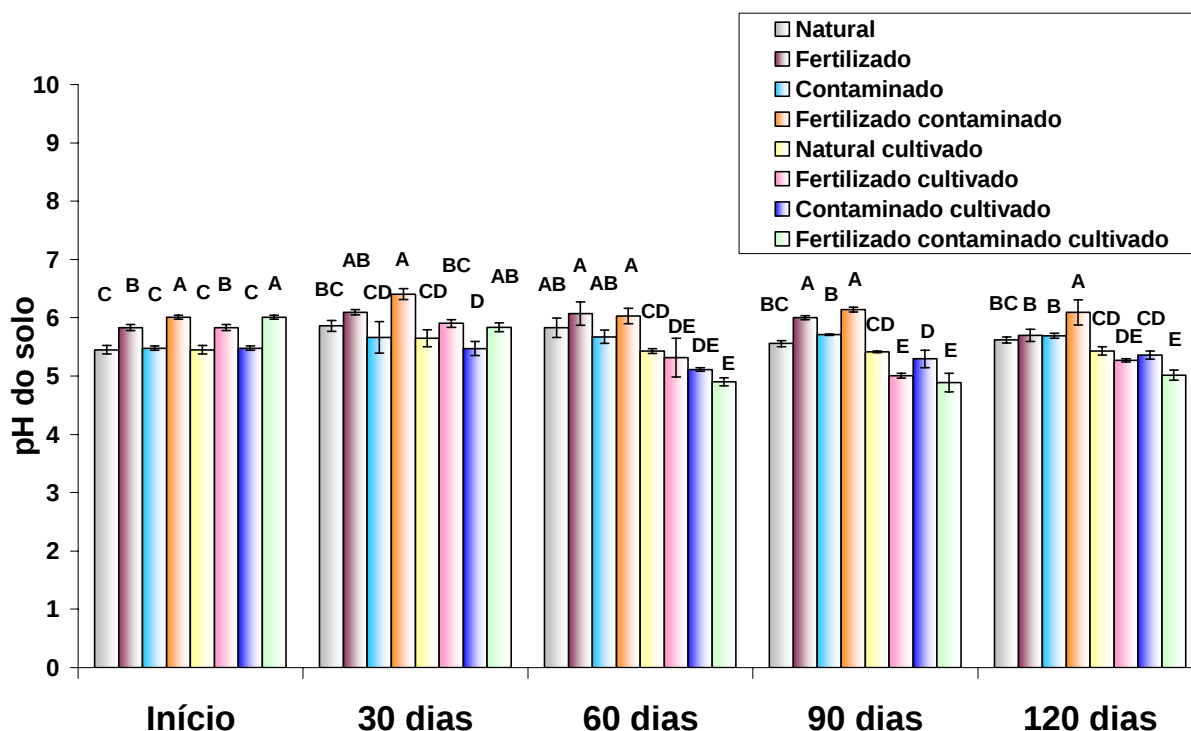


Figura 17 – Variação do pH do solo em função do tempo e dos tratamentos impostos no experimento.

Analisando-se os valores de pH relacionados na Figura 17, pode-se verificar que a partir de 60 dias de experimento, começou a haver diminuição no pH do solo nos tratamentos em que se cultivou a Taboa, tanto no solo contaminado quanto no sem contaminação. Esta acidez no solo cultivado pode ser devido à absorção pela planta de cátions básicos do solo e nitrogênio amoniacal. Mas também, não podemos descartar a hipótese da excreção de substâncias ácidas pelas raízes da planta.

Nos tratamentos contaminados cultivados, esse aumento na acidez do solo pode ter ocorrido devido ao aparecimento de subprodutos da degradação do petróleo, principalmente funções orgânicas oxigenadas, como ácidos carboxílicos.

4.6 Teores de nutrientes disponíveis em função do petróleo no solo

Paralelamente ao experimento de fitorremediação, foram determinados os teores trocáveis de íons importantes para a fertilidade do solo e pH, em função de diferentes níveis de concentração de petróleo presente no meio.

Na Figura 18 estão relacionados os teores trocáveis de macronutrientes (Ca, Mg, K e P) em função da concentração de petróleo no solo.

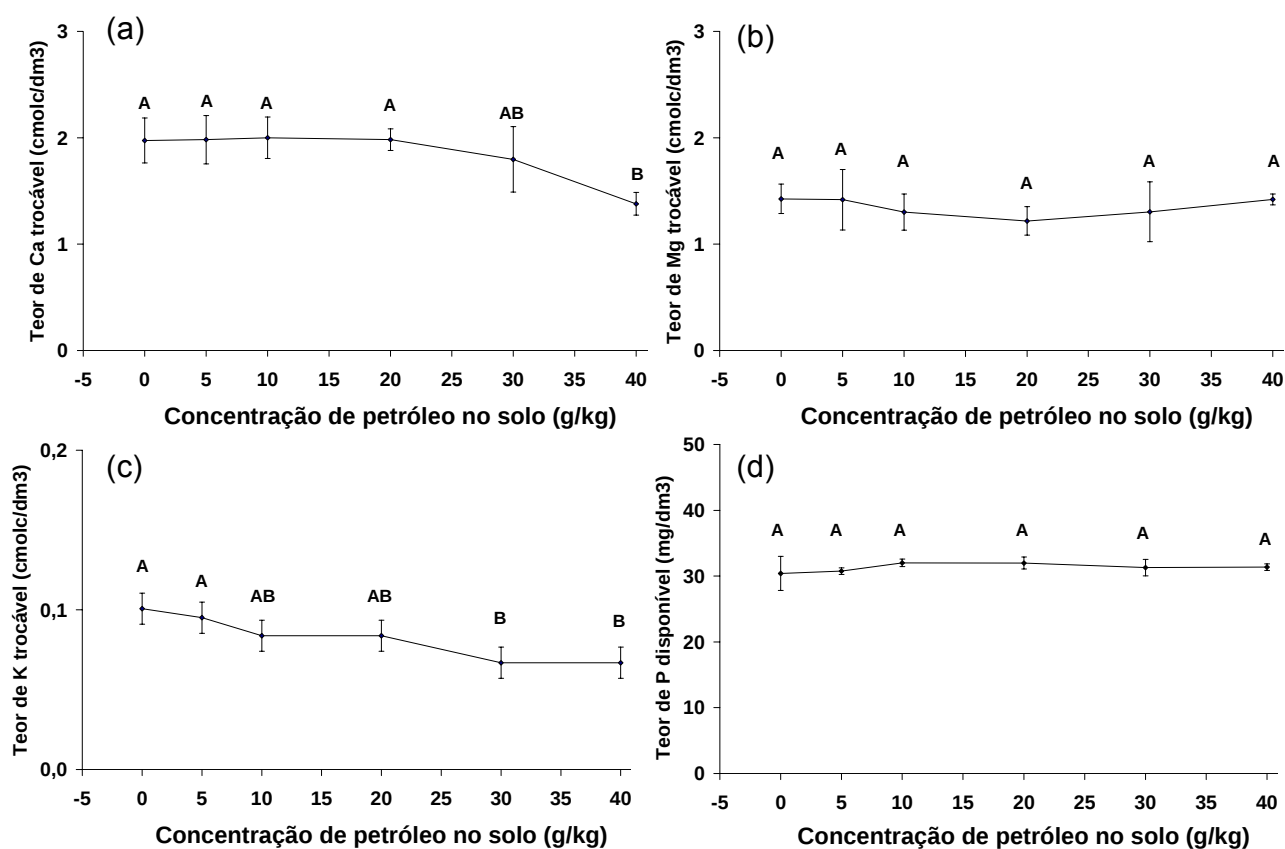


Figura 18 – Variação no teor de Ca (a), Mg (b), K (c) e P (d), em função da concentração de petróleo no solo.

O teor disponível de fósforo e magnésio não variou significativamente com a adição de petróleo no solo. Já o teor de cálcio, a partir de 30 g/kg de petróleo no solo começa a diminuir. Quanto ao potássio, a partir de 10 g/kg de petróleo no solo já ocorreu diminuição significativa na disponibilidade deste elemento.

O teor de Ca trocável a 40 g/kg de petróleo no solo sofreu redução de cerca de 30% em relação ao solo natural; no entanto neste caso, este valor já era inicialmente baixo ($<2 \text{ cmol}_c/\text{dm}^3$). O teor de potássio trocável ao nível mais alto de contaminação, sofreu redução de cerca de 50% em relação ao solo natural. Este

passou de $0,11 \text{ cmol}_e/\text{dm}^3$, limite inferior classificado como médio ($0,11$ a $0,30 \text{ cmol}_e/\text{dm}^3$) para baixo, $0,06 \text{ cmol}_e/\text{dm}^3$ (THOMÉ Jr., 1997).

Na Figura 19, encontram-se os gráficos com os teores trocáveis dos micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) em função da concentração de petróleo no solo.

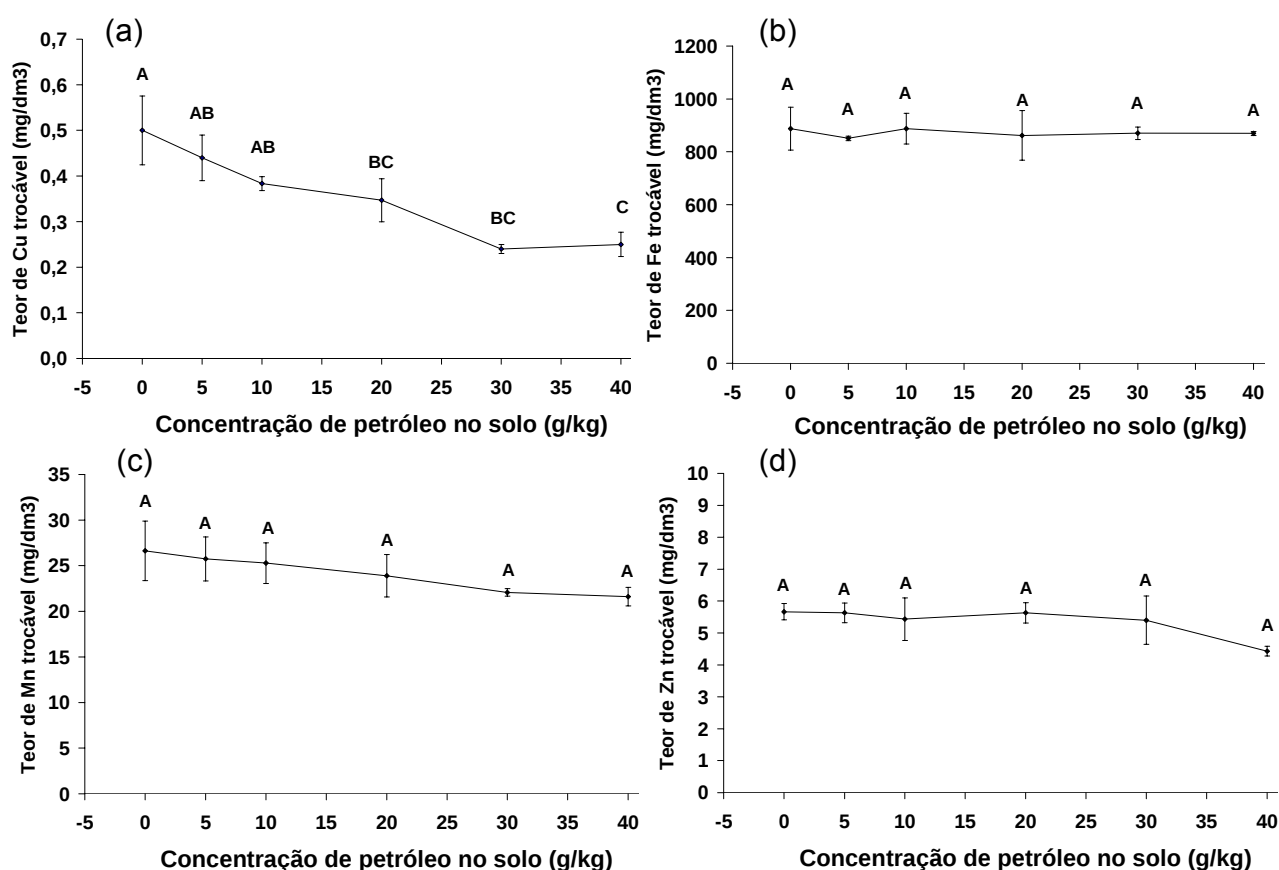


Figura 19 – Variação nos teores de Cu (a), Fe (b), Mn (c) e Zn (d) trocáveis, em função da concentração de petróleo no solo.

Considerando os teores de Fe, Mn e Zn, apesar de ter uma ligeira tendência de diminuição com a concentração de óleo no solo, estes valores não diferiram segundo análise estatística. O teor de Cu trocável diminuiu cerca de 50% em solo contaminado por petróleo a 40 g/kg em comparação ao solo não contaminado.

Estes resultados, tanto para macro como para micronutrientes do solo, mostraram que somente Ca, K e Cu sofreram variação em função da concentração de petróleo no solo.

Na Figura 20 são apresentados os teores trocáveis de alumínio e os valores de pH do solo, em função da concentração de petróleo.

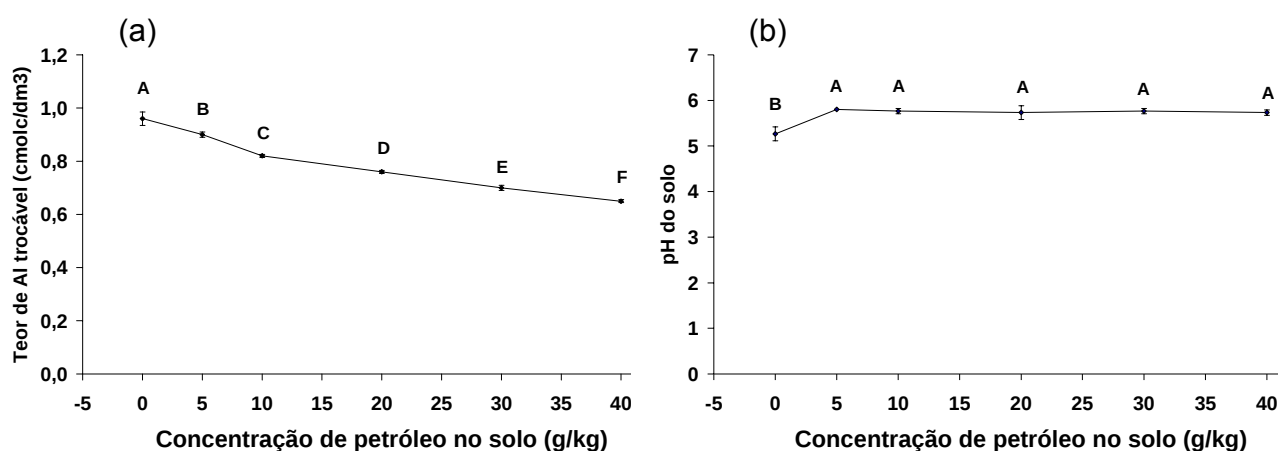


Figura 20 – Teor de Al trocável (a) e valores de pH do solo (b), em função da concentração de petróleo.

Da mesma maneira que alguns nutrientes importantes para as plantas sofreram diminuição na disponibilidade devido à presença de óleo no solo, isto também ocorreu para o alumínio, que é tóxico para as plantas. Uma diminuição significativa na trocabilidade do Al foi verificada para qualquer nível de petróleo no solo. Esta tendência pode favorecer a fertilidade do solo.

Quanto à acidez ativa do solo, houve um pequeno aumento no pH quando o petróleo foi introduzido ao meio, porém não houve alteração significativa neste valor quando aumenta a concentração de óleo no solo (5 até 40 g/kg). Assim, a diminuição

da disponibilidade de Al não deve estar associada a variações do pH do solo, mas sim deve ter sido devido à presença do petróleo.

Uma das hipóteses levantadas a respeito da diminuição na disponibilidade de um elemento, seria a de que o petróleo poderia estar influenciando na ação da solução extratora, causando um desvio negativo, pois o óleo possui propriedades hidrofóbicas e acaba floculando o solo, diminuindo o contato com o extrator. Isto também deve ocorrer de fato no solo, uma vez que os extratores utilizados (Mehlich-1 e KCl 1M) simulam a ação das raízes das plantas, ou seja, extraem do solo apenas as formas químicas dos nutrientes que as raízes extrairiam (THOMÉ Jr., 1997).

A diminuição na disponibilidade de alguns elementos pode ter ocorrido devido à presença de alguns constituintes do petróleo que podem estar atuando como agente quelante, ou seja, seqüestrando alguns elementos do solo de forma seletiva, fazendo com que haja diminuição de suas formas trocáveis.

4.7 Resíduos gerados durante os experimentos

A água residual resultante da lavagem das raízes das plantas cultivadas, que havia sido armazenada, foi analisada por espectroscopia de fluorescência, a fim de verificar traços de componentes aromáticos do petróleo (fração mais tóxica).

Os resultados destas análises mostraram que não houve nenhum sinal de fluorescência em 10 amostras de água residual analisadas, tomando-se água destilada como padrão de comparação. Assim, a concentração de compostos aromáticos na água residual estaria em níveis muito baixos, uma vez que o limite de detecção do equipamento situa-se em níveis de ppb. No entanto, o pH dessa água encontrava-se

baixo, em torno de 2,5. O pH então foi ajustado em torno da neutralidade utilizando hidróxido de sódio e a água residual foi descartada.

O resíduo sólido encontra-se devidamente armazenado e identificado para futura avaliação e a possível utilização em outros projetos de pesquisa por equipes do LAFLURPE.

O diclorometano residual gerado foi recuperado por destilação, executada por equipe do LAFLURPE – UEL, dentro do programa de gerenciamento e recuperação de resíduos químicos.

5 Conclusões

Os resultados obtidos a partir das análises por espectroscopia de fluorescência e cromatografia em fase gasosa, indicaram que o cultivo da Taboa (*Typha latifolia* L.), contribuiu para a remediação do solo contaminado com petróleo.

A degradação ou remoção da fração aromática do petróleo devido ao cultivo da Taboa causou diminuição de 38% da fluorescência do óleo, após 120 dias de monitoramento, enquanto que o intemperismo natural do óleo reduziu a fluorescência em cerca de 10%.

A aplicação de fertilizante resultou em maior ganho de biomassa pela Taboa, porém este fato não contribuiu de maneira diferenciada para a remediação da fração aromática do óleo, uma vez que não foi verificada diferença na área integrada de fluorescência entre os tratamentos cultivados fertilizados e não fertilizados, ao final de 120 dias de experimento.

A análise cromatográfica do petróleo mostrou relativa diminuição de complexidade da mistura contida no óleo em solo cultivado.

Os hidrocarbonetos poliaromáticos detectados no solo contaminado foram degradados ou removidos devido ao cultivo da Taboa durante 120 dias. O fluoreno deixou de ser detectado após 120 dias em solo cultivado. O cultivo da Taboa diminuiu em 49% a concentração relativa do benzo(a)antraceno e 21% do benzo(b)fluoranteno. No caso do fluoranteno cerca de 64% foi removido do solo cultivado contra apenas 19% em solo não cultivado.

Os hidrocarbonetos totais de petróleo diminuíram em 74% no solo cultivado, reduzindo a contaminação original de 10 g/kg para 2,6 g/kg, enquanto

somente 35% de TPH sofreram intemperismo no solo não cultivado, restando ainda 6,53 g/kg.

Apesar da constatação da fitorremediação do solo contaminado com petróleo devido ao cultivo da Taboa, não foi possível afirmar se houve captura do poluente pela planta ou se houve degradação na região rizosférica.

Os resultados de análise foliar mostraram que o contaminante não teve interferência na absorção de nutrientes pela Taboa.

A avaliação da fertilidade do solo em função do teor de petróleo indicou uma diminuição na disponibilidade de cálcio, potássio e cobre. No entanto, o alumínio tornou-se menos disponível no solo. Houve um pequeno aumento no pH do solo quando petróleo foi adicionado, porém não houve variação quando a quantidade de óleo foi aumentada. Contudo, seria importante expandir este estudo para maiores doses de petróleo no solo, bem como para outros elementos igualmente importantes para a fertilidade do mesmo.

Referências Bibliográficas

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação Química e Biorremediação do Solo. *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*. Lavras: UFLA, p. 299-352, 2000.

ALKORTA, I.; GARBISU, C. Phytoremediation of organic contaminants in soil. *Bioresource Technology*, v. 79, p. 273-276, 2001.

AMBIENTE BRASIL S/S LTDA. Curitiba, 2006. Disponível em: <<http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=./agua/salgada/index.html&conteudo=./agua/salgada/vazamentos.html>>. Acesso em: 07 dez. 2006.

ANDREONI, V.; CAVALCA, L.; RAO, M. A.; NOCERINO, G.; BERNASCONI, S.; DELL'AMICO, E.; COLOMBO, M.; GIANFREDA, L. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*, v. 57, p. 401-412, 2004.

AUSTRALIAN WATER GARDENER – *On-line water gardening resource centre*. _____, 2006. Disponível em: <<http://www.australianwategardener.com/content.asp?Category=360>>. Acesso em: 06 mar. 2007.

BECK, F. L.; BOHNEN, H.; CABEDA, M. S. V.; CAMARGO, F. A. O.; KÄMPF, N.; MEURER, E. J. *Projeto pedagógico - ensino de graduação*. Porto Alegre: Departamento de solos da UFRGS, 2000. Boletim técnico n. 6. In: MEURER, E. J.; Fundamentos de química do solo. Porto Alegre: Genesis, 2000. 174 p.

BRADY, N. C. *Natureza e propriedades dos solos*. 5 ed. Rio de Janeiro: Livraria Freitas Bastos S. A., 1979. 647 p.

CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF ENVIRONMENT - *Canadian Soil quality Guidelines for the Protection of environmental and Human Health*. Winnipeg, 2006. Disponível em: <http://www.ccme.ca/assets/pdf/ceqg_soil_summary_table_v6_e.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2007.

CARMAN, E.P.; CROSSMAN, T.L.; GATLIFF, E.G. Phytoremediation of No.2 fuel oil-contaminated soil. *Journal of Soil Contamination*, v. 7, n. 4, p. 455–466, 1998.

CETESB – *Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo*. São Paulo, 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2007.

COLE, G.M. *Assessment and remediation of petroleum contaminated sites*. Boca Raton: CRC Press-Lewis Publishers, 1994. 384 p.

CUNNINGHAM, S. D.; BERTI, W. R.; HUANG, J. W. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, v. 13, p. 393-397, set. 1995.

DAVIS, L. C.; CASTRO-DIAZ, S.; ZHANG, Q.; ERICKSON, L. E. Benefits of vegetation for soils with organic contaminants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 21, n. 5, p. 457-491, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Manual de métodos de análise de solo*. 2 ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 213 p.

FINE, P.; GRABER, E. R.; YARON, B. Soil interactions with petroleum hidrocarbons: abiotic processes. *Soil Technology*, v. 10, p. 133-153, 1997.

FONSECA, J. S.; MARTINS, G. A. *Curso de Estatística*. 5 ed. São Paulo: Editora Atlas, 1994. 317p.

GALLARDO-WILLIAMS, M. T.; GEIGER, C. L.; PIDALA, J. A.; MARTIN, D. F. Essential fatty acids from extracts and leachates of southern cattail (*Typha domingensis* P.). *Phytochemistry*, v. 59, p. 305–308, 2002.

GRACE, J. B.; WETZEL, R. G. Long-term dynamics of *Typha* populations. *Aquatic Botany*, v. 61, p. 137–146, 1998.

GUEDES, C. L. B. *Intemperismo fotoquímico de petróleo sobre água do mar: Estudo do Processo Natural e Efeito da Adição de Tetrafenilporfina*. 1998. 150 p. Tese (Doutorado em Química), IQ-UFRJ, Rio de Janeiro-RJ.

GUEDES, C. L. B.; DI MAURO, E.; ANTUNES, V.; MANGRICH, A. S. Photochemical weathering study of brazilian petroleum by EPR spectroscopy. *Marine Chemistry*, v. 84, p. 105–112, 2003.

HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA. Pamplona, 2007. Disponível em: <http://www.unavarra.es/servicio/herbario/htm/Typh_lati.htm>. Acesso em: 25 fev. 2007.

KUMKE, M. U.; LÖHMANNSRÖBEN, H. G.; ROCH, T. Fluorescence spectroscopy of polynuclear aromatic compounds in environmental monitoring. *Journal of Fluorescence*, v. 5, p. 139–153, 1995.

LITERATHY, P.; HAIDER, S.; SAMBAN, O.; MOREL, G. Experimental studies on biological and chemical oxidation of dispersed oil in seawater. *Water Science Technology*, v. 24, p. 845-856, 1989.

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

LORENZI, H. *Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas*. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 640 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. *Avaliação do estado nutricional das plantas – princípios e aplicações*. 2 ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARQUES, D. M. Projeto de recuperação do banhado 4 através da técnica de “wetlands”. *2º Seminário do Rio Iguaçu*, Araucária: UN Repar – Refinaria Presidente Getúlio Vargas - Petrobras, p. 114–147, julho de 2001.

MCMANUS, H. A.; SEAGO Jr., J. L.; MARSH, L. C. Epifluorescent and histochemical aspects of shoot anatomy of *Typha latifolia* L., *Typha angustifolia* L. and *Typha glauca* Godr. *Annals of Botany*, v. 90, p. 489–493, 2002.

MELO Jr., A. S. *Dinâmica da remoção de nutrientes em alagados construídos com Typha sp.* 2003. 312 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas: Faculdade de Engenharia Agrícola. Campinas, SP.

MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 165, p. 195–209, 2005.

- MEURER, E. J.; *Fundamentos de química do solo*. Porto Alegre: Genesis, 2000. 174 p.
- MORENO, F. N.; CORSEUIL, H. X. Fitorremediação de aquíferos contaminados por gasolina. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 6, n. 1 e 2, p. _____, 2001.
- NADIM, F. N.; HOAG, G. E.; LIU, S.; CARLEY, R. J.; ZACK, P. Detection and remediation of soil and aquifer systems contaminated with petroleum products: an overview. *Journal of Petroleum Science & Engineering*, v. 26, p.169-178, 2000.
- NASCIMENTO, A. R.; ARARUNA Jr., J.; ZIOLLI, R. L. Otimização e avaliação do desempenho de um método de determinação de TPH (*Total Petroleum Hydrocarbons*) em areia por detecção no infravermelho. *Metrologia - Sociedade Brasileira de Metrologia*, v. 01-05, p. _____, 2003.
- NETTO, A. D. P.; MOREIRA, J. C.; DIAS, A. E. X. O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. *Química Nova*, v. 23, n. 6, p. 765-773, 2000.
- NICODEM, D. E.; GUEDES, C. L. B.; FERNANDES, M. C. Z.; SEVERINO, D.; CORREA, R. J.; COUTINHO, M. C.; SILVA, J. Photochemistry of petroleum. *Progress in Reaction Kinetics and Mechanism*, v. 26, p. 219-238, 2001.
- NICODEM, D. E.; GUEDES, C. L. B.; CORREA, R. J. Photochemistry of petroleum I. Systematic study of a brazilian intermediate crude oil. *Marine Chemistry*, v. 63, p. 93-104, 1998.
- OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAUJO, J. D.; LOURENÇO, S. *Métodos de pesquisa em fertilidade do solo*. Brasília: EMBRAPA-SEA, 1991. 390 p.
- OLSON, P.E.; PHILP, P.R.; FLETCHER, J.S. Natural attenuation/ phytoremediation in the vadose zone of a former industrial sludge basin. *Environmental Science and Pollution Research*, v.8, n. 1, p. 195-204, 2001.

PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F.; ZEMPULSKI, H. C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D. C. *Manual de análise química de solo e controle de qualidade*. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 1992. 39 p.

REVISTA QUÍMICA E DERIVADOS, São Paulo, 2002. Disponível em: <<http://www.quimica.com.br/revista/qd404/ambiente1.htm>>. Acesso em 25 jan. 2007.

SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 49, p. 643–668, 1998.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of art structural concept for humic substances. *Naturwissnschaften*, v. 80, n. 1, p. 29–30, 1993.

SCHWAB, P.; BANKS, M. K.; KYLE, W. A. Heritability of phytoremediation potential for the alfalfa cultivar *Ryley* in petroleum contaminated soil. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 177, p. 239–249, 2006.

SIQUEIRA, J. D. P.; RODERJAN, C. V.; KIRCHNER, F. F.; SOUZA, L. C. P. Diagnóstico e monitoramento da cobertura vegetal da área de influência direta e indireta do vazamento de óleo da Refinaria Presidente Getúlio Vargas – Repar, Araucária / PR – Fase I – Diagnóstico (Resumo). *2º Seminário do Rio Iguaçu*, Araucária: UN Repar – Refinaria Presidente Getúlio Vargas - Petrobras, p. 70–75, julho de 2001.

SPARKS, D. L. *Environmental soil chemistry*. 2 ed. Singapura: Academic Press, 2003. 352 p.

THEOBALD, N. Investigation of ‘petroleum hydrocarbons’ in seawater using high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Marine Pollution Bulletin*, v. 20, n. 3, p. 134–140, 1989.

THOMÉ Jr., J. B. *Manual para interpretação de análise de solo*. Guaíba: Agropecuária, 1997. 247 p.

TISSOT, B. P.; WELTE, D. H. *Petroleum formation and occurrence*. 2 ed. Berlin: Springer-Verlag, 1984. 702 p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – DESMA – *Núcleo de estudos em desenvolvimento rural sustentável e mata atlântica: sub-projeto Macrófitas Aquáticas*. Porto Alegre, 2006. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/desma/macrophytas.html>>. Acesso em: 11 dez. 2006.

UNIVERSITY OF FLORIDA – *Center of aquatic and invasive plants – Institute of food and agricultural sciences*. Gainesville, Disponível em: <<http://aquat1.ifas.ufl.edu/typhpic.html>>. Acesso em: 25 jan. 2007.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – *Method 3550B: Ultrasonic Extraction*. Washington DC, 2006. Disponível em: <<http://www.epa.gov/sw-846/pdfs/3550b.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2007.

VOGEL, A. I.; JEFFERY, G. H.; MENDHAM, J. DENNEY, R. C. *Análise Química Quantitativa*. 5 ed. Cap. 4. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 712 p.

WANG, X.; MULLINS, O. C. Fluorescence lifetime studies of crude oils. *Applied Spectroscopy*, v. 48, n. 8, p. 977-984, 1994.

WHITE Jr., P. M.; WOLF, D. C.; THOMA, G. J.; REYNOLDS, C. M. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil contaminated soil. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 169, p. 207–220, 2006.

WIKIPÉDIA. _____, 2006. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Taboa#column-one>>. Acesso em: 08 dez. 2006.

WILTSE, C. C.; ROONEY, W. L.; CHEN, Z.; SCHWAB, A. P.; BANKS. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among Alfafa genotypes. *Environmental Quality*, v. 27, p. 169-173, 1998.

XIE, G.; BARCELONA, M. J.; FANG, J. Quantification and interpretation of Total Petroleum Hydrocarbons in sediment samples by a GC/MS method and comparison with EPA 418.1 and a rapid field method. *Analytical Chemistry*, v. 71, n. 9, p. 1899–1904, 1999.