

## EFICIÊNCIA DE *Trifolium pratense* L. NA REMOÇÃO DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO EM SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL

JOSIANE CARLA ARGENTA<sup>1</sup>; TARAUEL RODRIGUES LOPES<sup>1</sup>; CAROLINE LEIVAS MORAES<sup>2</sup>; FERNANDA REOLON<sup>2</sup>; DARIO MUNT de MORAES<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) - [josiane\\_argenta@yahoo.com.br](mailto:josiane_argenta@yahoo.com.br); [tarauel@gmail.com](mailto:tarauel@gmail.com);

<sup>2</sup>UFPel, FAEM, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, [caroline.moraes@gmail.com](mailto:caroline.moraes@gmail.com);

<sup>3</sup>UFPel, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV) - [fernandareolon@yahoo.com.br](mailto:fernandareolon@yahoo.com.br); [moraesdm@ufpel.edu.br](mailto:moraesdm@ufpel.edu.br)

### 1. INTRODUÇÃO

Hidrocarbonetos de petróleo, presentes em grande quantidade em derivados como o óleo diesel, são considerados uma fonte de poluição por serem elementos altamente tóxicos, impondo com isso uma grande ameaça para o meio ambiente e os seres humanos (AL-BALDAWI et al. 2014).

Nesse sentido, inúmeras técnicas vem sendo desenvolvidas visando a remediação de áreas atingidas por este tipo de contaminante, entre elas, a fitorremediação, que consiste em uma estratégia baseada na utilização de plantas para degradar, estabilizar e/ou remover contaminantes do solo (BELL et al. 2014).

No entanto, o sucesso no uso da fitorremediação depende, em parte, da identificação da concentração de hidrocarbonetos de petróleo e do limite de tolerância das plantas ao óleo diesel. Assim, o presente estudo objetivou avaliar a influência do óleo diesel sobre a formação de massa seca em *Trifolium pratense* L., bem como, sua eficiência na remoção desse contaminante, visando à determinação de sua capacidade fitorremediadora.

### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Foram utilizados 24 vasos plásticos não perfurados de 4 L, para cada tratamento, aos quais foram adicionados substrato comercial e areia na proporção de 1:1 e óleo diesel, nas concentrações de 0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 % (v/v), permanecendo em casa de vegetação durante 120 dias para a realização das análises que serão descritas posteriormente.

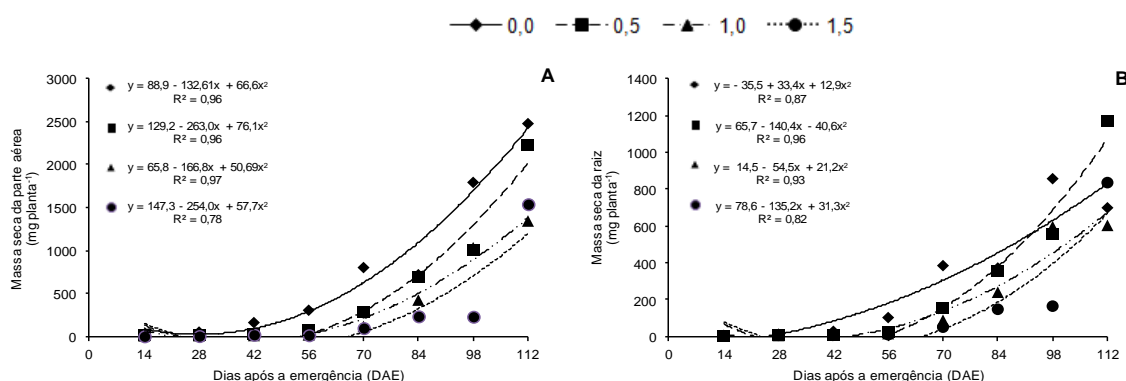
O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições (cada repetição correspondendo a um vaso) para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, à comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância e regressão polinomial, quando significativo, utilizando o software WinStat, versão 2.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2003).

**Massa seca da parte aérea e raízes das plantas:** as análises foram realizadas a cada 14 dias, a partir da emergência, durante 112 dias, totalizando oito avaliações. Os dados foram obtidos pela média de três plantas e determinados gravimetricamente após secagem em estufa a 70±1 °C, até massa constante e expressa em mg planta<sup>-1</sup>. **Quantificação de hidrocarbonetos totais:** foi realizada a varredura completa de hidrocarbonetos, através de cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (Amostrador Headspace), em

amostras de solo residual, coletado após sete dias de contaminação e ao final do experimento (120 DAE).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa seca da parte aérea das plantas de *T. pratense* L. foi influenciada significativamente pela presença do óleo diesel, em todas as concentrações utilizadas, evidenciando tendência quadrática ( $p < 0,0001$ ), ao longo dos 112 DAE. A alocação de biomassa na parte aérea durante esse período manteve-se, porém com valores menores do que os observados nas plantas controle. No entanto, no último período avaliado (112 DAE) na concentração de 1,5%, ocorreu uma redução de 37,7% dessa variável (Figura 1A).



**Figura 1** – Massa seca da parte aérea (A) da raiz (B) de plantas de *Trifolium pratense* L. submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel % (v/v) durante 112 dias.

A mesma tendência foi observada na massa seca ( $p < 0,0001$ ) das raízes aos 112 DAE, onde ocorreu acréscimo de 67,85 % na concentração de 0,5 % (v/v) em relação ao controle, e quando a concentração foi aumentada para 1,5 % (v/v) a redução desse parâmetro foi de 19,57 % (Figura 1B).

Esses resultados demonstram que, embora o óleo diesel tenha desencadeado um efeito de tratamento nas plantas, a concentração de 0,5 % (v/v) influenciou positivamente seu crescimento, chegando a superar o controle, o que está relacionado não somente à tentativa de superar o estresse gerado pelo contaminante, mas também ao aproveitamento dos compostos orgânicos em baixas concentrações, os quais foram revertidos para o desenvolvimento das plantas, que foram capazes de manter-se durante todo o período analisado sem reduzir drasticamente seu crescimento.

Algumas plantas, como as do presente estudo, mesmo reduzindo seu crescimento, são capazes de sobreviver sob tais condições. Contudo, este é o primeiro efeito a ser considerado e, ocorre, principalmente em função da toxicidade dos hidrocarbonetos de baixo peso molecular, presentes em altas concentrações nos derivados de petróleo, cujas propriedades hidrofóbicas reduzem o potencial das plantas em absorver a água e sais minerais do solo (AFZAL et al. 2013).

Somado a isto, a análise e quantificação de hidrocarbonetos mostrou claramente a influência no que diz respeito à remoção destes contaminantes pelas plantas de *T. pratense* L. (Tabela 1). Dos 21 hidrocarbonetos detectados no óleo diesel, a maioria foi identificada no substrato apenas aos sete dias após a

contaminação com 0,5; 1,0; e 1,5 % (v/v) de óleo diesel (controle) e sem a presença de plantas.

Em relação aos hidrocarbonetos de cadeia curta, o dodecano (C12), altamente verificado no óleo diesel e no substrato contaminado, foi reduzido em 99,91 % em substrato CC, quando comparado ao SC na concentração de 1,0 % (v/v) de óleo diesel, já na maior concentração do contaminante, essa redução foi de 99,97 %. O hidrocarboneto octano (C8) em 1 % (v/v) de óleo diesel (CC) foi removido em 99,76 %. Esse mesmo composto, no substrato com a maior contaminação, foi totalmente removido, quando cultivado (CC). O eicosano (C20) detectado em 1,5 % (v/v) SC, foi totalmente removido após cultivo.

Em se tratando de hidrocarbonetos de grande toxidez, o etilbenzeno (C8H10) o p-xileno (C8H10) e o tolueno (C7H8) foram totalmente removidos, o que pode ser verificado pela sua identificação apenas no controle, ou seja, no substrato submetido às diferentes concentrações de óleo diesel e sem cultivo.

**Tabela 1** - Concentração residual em partes por milhão [ppm] de hidrocarbonetos em substrato contaminado com diferentes concentrações de óleo diesel, após 120 dias, com cultivo (CC) e sem cultivo (SC) de trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.).

Componente	Óleo diesel	7 dias				120 dias					
		Controle*				0,5%		1,0%		1,5%	
		0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	CC	SC	CC	SC	CC	SC
Benzeno (C6H6)	4,002	0,007	0,051	0,217	3,360	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,034
Decano (C10)	3,123	1,232	0,412	0,000	0,000	0,009	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000
Dodecano (C12)	2812,004	0,000	91,794	101,903	170,470	0,000	0,000	0,001	1,187	0,007	25,433
Eicosano (C20)	100,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,126	0,000	0,000	0,000	0,884
Etilbenzeno (C8H10)	9,410	0,002	0,118	0,109	0,394	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063
Heptano (C7)	1,220	0,115	0,779	0,353	0,000	0,000	0,245	0,000	0,947	0,000	0,257
Hexacosano (C26)	21,165	0,000	0,000	0,483	0,469	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000
Hexadecano (C16)	2485,094	8,986	22,796	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000
Hexano (C6)	0,120	0,037	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Nonacosano (C29)	21,292	0,000	0,134	2,182	6,881	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Nonadecano (C19)	76,401	0,566	0,341	0,000	0,000	0,000	0,370	0,000	0,861	0,000	0,164
Octano (C8)	245,828	1,257	3,975	3,034	9,933	0,000	2,804	0,003	1,296	0,000	1,644
p-xileno (C8H10)	28,954	0,000	0,037	0,083	0,927	0,000	0,003	0,000	0,011	0,000	0,071
Tolueno (C7H8)	7,074	0,000	0,152	0,878	1,507	0,000	0,000	0,000	0,048	0,000	0,002
Triacotano (C30)	37,915	0,000	0,000	1,805	3,179	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Tricosano (C23)	1,124	0,912	0,701	0,566	0,049	0,000	0,975	0,014	1,609	0,000	0,000
<b>Total [ppm]</b>	<b>5854,727</b>	<b>13,114</b>	<b>121,29</b>	<b>111,61</b>	<b>197,17</b>	<b>0,009</b>	<b>5,534</b>	<b>0,02</b>	<b>5,959</b>	<b>0,011</b>	<b>28,552</b>

\*Substrato contaminado com diferentes concentrações de óleo diesel e mantido sob condições ambientais durante 7 dias para dissipação do excesso de compostos voláteis antes da semeadura.

É importante salientar que, os compostos voláteis, de baixo peso molecular e de fácil degradação ou volatilização desaparecem em áreas contaminadas há muito tempo, e somente os fortemente adsorvidos à matéria orgânica do solo e, portanto, com baixa biodisponibilidade devem estar presentes, permitindo prever toxicidade mais baixa, particularmente nas fases iniciais de desenvolvimento da planta. Neste estudo, a maior disponibilidade desses compostos no substrato de

cultivo, pode ter conferido um nível maior de toxidez as plantas, pressupondo um limite de tolerância maior do que ocorreria em condições naturais.

Alguns desses compostos são particularmente importantes, devido ao seu nível de persistência no meio ambiente. Os BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno), presentes no óleo diesel, merecem especial atenção por representarem uma das frações mais tóxicas do óleo diesel (EI-NAAS et al. 2014). Neste estudo, esses compostos permaneceram no substrato contaminado até o final do experimento, no entanto, o *T. pratense* L. foi capaz de removê-los, o que já o definiria como uma espécie fitorremediadora. Cabe ressaltar que, espécies de um mesmo gênero podem responder diferentemente a esse tipo de contaminação, como é o caso do *Trifolium repens* (trevo branco), que apresentou alta sensibilidade a este contaminante (BARRUTIA, 2011).

#### 4. CONCLUSÕES

Os efeitos gerados pela contaminação por óleo diesel não comprometem significativamente o desenvolvimento das plantas de *T. pratense* L., sendo esta espécie eficiente na remediação de hidrocarbonetos derivados de petróleo.

Os autores agradecem a FAPERGS, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFZAL, M.; KHAN, S.; IQBAL, S.; MIRZA, M.S.; KHAN, Q.M. Inoculation method affects colonization and activity of *Burkholderia phytofirmans* PsJN during phytoremediation of diesel-contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.85, p.331-336, 2013.

AL-BALDAWI, I.A.W.; ABDULLAH, S.R.S.; HASAN, H.A. ; SUJA, F.; ANUAR, N.; MUSHRIFAH, I. Optimized conditions for phytoremediation of diesel by *Scirpus grossus* in horizontal subsurface flow constructed wetlands (HSFCWs) using response surface methodology. **Journal of Environmental Management**, v.140, p.152-159, 2014.

BARRUTIA, O.; GARBISU, C.; EPELDE, L.; SAMPEDRO, M.C.; GOICOLEA, M.A.; BECERRIL, J.M. Plant tolerance to diesel minimizes its impact on soil microbial characteristics during rhizoremediation of diesel-contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v.409, p.4087-4093, 2011.

BELL, T.H.; JOLY, F.E.; YERGEAU, E. Increasing phytoremediation efficiency and reliability using novel omics approaches. **Trends in Biotechnology**, v.32, p.271-280, 2014.

EI-NAAS, M. H.; ACIO, J.A.; EL TELIB, A.E. Aerobic biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.2, p.1104-1122, 2014.

MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. **Sistema para análise estatística para Windows. WinStat**. Versão 2.0. Pelotas: UFPel. 2003.