

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Solos**

##### **3.1.1 Origem e formação dos solos**

O clima é um dos fatores que influencia na origem e na evolução dos solos, além do material de origem (rocha), dos organismos, do relevo e do tempo.

As rochas ígneas, sedimentares e metamórficas, quando expostas à atmosfera, sofrem ação direta do sol, das chuvas, dos ventos e dos organismos, dando início à formação do solo, que compreende dois processos diferentes e que acontecem simultaneamente: a intemperização do material parental e o desenvolvimento do perfil do solo a partir do material intemperizado física, química e biologicamente.

Os fenômenos físicos alteram o formato e tamanho dos minerais e os químicos modificam sua composição. Como resultado do intemperismo, ocorre a formação de resíduos não-consolidados, que constituem o substrato pedogenético ou, do ponto de vista da Engenharia, o solo. Este material poderá permanecer no local em que se desenvolveu (solo residual) ou ser transportado para outro (solo transportado) pela ação da gravidade, das águas ou do vento. Assim, ao longo do tempo e sob a ação de fenômenos físicos, químicos e biológicos, o solo vai se formando e se organizando em camadas sobrepostas, aproximadamente paralelas à superfície, com características

diferentes, denominadas horizontes. O conjunto de horizontes, desde a superfície até o material de origem, é o perfil do solo (FASSBENDER, 1975; PASTORE e FONTES, 1998 e LEPSCH, 2002).

Os horizontes do solo são constituídos de quatro componentes principais: partículas minerais, matéria orgânica, água e ar. As partículas minerais do solo podem ser classificadas de acordo com seu tamanho em: argila (abaixo de 0,002 mm de diâmetro), silte (entre 0,002 e 0,05 mm de diâmetro), areia (entre 0,05 e 2,00 mm) e pedregulho (acima de 2,00mm) ou de acordo com sua origem, em minerais primários e secundários.

Alguns minerais primários, presentes no solo, são mais resistentes ao intemperismo químico, mantêm sua composição original, mas são fragmentados pelo intemperismo físico, como por exemplo, o quartzo. Os minerais secundários são resultantes do intemperismo físico e químico, e apresentam tamanho de partícula menor que 2 $\mu$ m. Devido às propriedades coloidais, essas partículas imprimem ao solo, características muito importantes. A fração coloidal do solo é constituída por filossilicatos (argila, propriamente dita); óxidos e hidróxidos de Fe, Al, Mg, Mn e Ti e húmus. Ao contrário da areia, a fração coloidal é bastante ativa quimicamente, apresentando grande afinidade pela água e pelos elementos químicos nela dissolvidos, devido às cargas elétricas existentes na sua vasta superfície específica (MONIZ, 1972; FASSBENDER, 1975; SANTANA, 1976; RIBEIRO, 1996; SPOSITO, 2001 e LEPSCH, 2002).

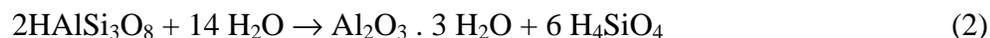
Geralmente, os filossilicatos possuem forma laminar, com estrutura atômica tridimensional; apresentam plasticidade; possuem propriedade de trocar íons adsorvidos na superfície e, em alguns casos, podem se expandir. De acordo com FASSBENDER (1975), os minerais secundários são classificados em:

- Minerais 2:1 – compostos resultantes do processo de Bissialitização, formados por uma lâmina de tetraedros, uma de octaedros e outra de tetraedros, como por exemplo, a illita e vermiculita.
- Minerais 1:1 – compostos resultantes do processo de Monossialitização, formados por uma lâmina de tetraedros e outra de octaedros, como por exemplo, a caulinita.

Nas regiões tropicais úmidas, o intemperismo químico é mais intenso, resultando em grande perda de bases e sílica e em acumulação relativa de óxidos de Fe e Al, processo denominado Laterização. Solos desenvolvidos sobre este material têm a fração coloidal composta basicamente por gibbsita, goethita e hematita.

O intemperismo químico causa transformações no arranjo original dos cristais, provocando o desprendimento de elementos químicos, que estavam retidos anteriormente na estrutura inicial. As reações químicas mais importantes, de acordo com SALOMÃO E ANTUNES (1998) e LEPSCH (2002), são:

- A hidrólise, que ocorre quando os minerais reagem com a água. Esse é o processo de modificação química da rocha mais importante, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical. A reação acontece entre os íons  $H^+$  e  $OH^-$ , dissociados da água, e os íons de elementos minerais. O íon  $H^+$  é capaz de substituir outros cátions, como o  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , sendo esse processo acelerado pela presença do  $CO_2$  dissolvido na água. As reações, a seguir, mostram a hidrólise de um feldspato potássico:



Neste exemplo, ocorreu a hidrólise total do feldspato, caracterizada pela liberação completa dos constituintes minerais (sílica e alumínio), possibilitando a concentração de hidróxido de alumínio.

- A hidratação, que consiste na combinação da água com outros compostos químicos;
- A carbonatação, que é um fenômeno específico de transformação de óxidos em carbonatos e bicarbonatos, por ação do anidrido carbônico, sobretudo quando

dissolvido na água. Depois disso, os bicarbonatos liberam gás carbônico e água e se transformam novamente em calcita;

- A oxidação e a redução, especialmente do ferro e do manganês, pela ação do oxigênio e
- A solubilização, quando ocorre a dissolução completa do mineral pela ação da água contendo gás carbônico e outras substâncias ácidas. Dentre os principais elementos liberados nesse processo estão o sódio, potássio, cálcio e magnésio, que depois de desprendidos do interior dos minerais, são fracamente retidos na superfície dos colóides (orgânicos ou minerais), ficando disponíveis às raízes.

A intensidade de ação do intemperismo químico é diretamente proporcional ao aumento de temperatura. Com o aumento de 10°C na temperatura, a velocidade das reações químicas dobra para a maior parte dos compostos. No caso do carbonato e do sulfato de cálcio, a dissolução diminui com o aumento da temperatura. Assim, quanto mais úmido e quente for o clima, maior é a profundidade do terreno submetido às alterações físicas e químicas, sendo estas as mais intensas. Em regiões onde a água é escassa, as rochas sofrem mais intemperismo físico que químico e a profundidade submetida às modificações é, conseqüentemente, menor (PASTORE e FONTES, 1998 e LEPSCH, 2002).

Outra interferência da temperatura é em relação à quantidade de matéria orgânica presente no solo. Sob o ponto de vista químico, a matéria orgânica é toda substância que apresenta em sua composição o carbono, tendo suas quatro ligações completadas por hidrogênio, nitrogênio, enxofre ou outros elementos. A superfície dos solos é a camada que possui maior quantidade de material orgânico. Ele é proveniente de restos de origem vegetal, folhas, raízes, caules e frutas, animais, microrganismos e excretas. Estes restos orgânicos decompõem-se e se transformam no húmus, que liberam nutrientes a partir do processo de mineralização. Em condições de temperatura elevada e boa aeração, a mineralização ocorre rapidamente, liberando mais depressa os nutrientes para as plantas. Se o clima for mais seco e frio, maior será o acúmulo de húmus no solo. Assim, em regiões de clima quente, as condições são favoráveis para o aumento da atividade microbiana, resultando, geralmente, em um solo pobre em matéria orgânica (SALOMÃO e ANTUNES, 1998 e LEPSCH, 2002).

O húmus é a parte mais ativa da matéria orgânica, que atinge estado coloidal, com alta densidade de cargas elétricas em sua superfície e capacidade de adsorver e ceder nutrientes, que excede em muito à das argilas. Além disso, o húmus melhora a estrutura do solo, funcionando como agente cimentante, e aumenta a capacidade de retenção da água. (PELCZAR, CHAN e NOEL, 1996 e LEPSCH, 2002).

As precipitações pluviométricas influenciam na formação do solo devido à ação da água no processo de alteração química dos minerais e de lixiviação. No Brasil, o clima é caracterizado pela elevada precipitação pluviométrica. Neste caso, a maturação do solo é

mais facilmente atingida, podendo-se observar elevada concentração hidrogeniônica no solo, com conseqüente aumento da alteração química por hidrólise e condições facilitadas de transporte de soluções em seu interior, possibilitando a remoção dos elementos solúveis e acumulação dos insolúveis. Formam-se principalmente óxidos (óxidos, hidróxidos e óxidos hidratados) de silício, alumínio e ferro. Estes últimos são liberados dos silicatos e de outros minerais primários através da intemperização, precipitando-se na forma amorfa e cristalizando-se paulatinamente até gibsita e hematita e goethita, respectivamente (FASSBENDER, 1975).

Em regiões de clima temperado, onde a precipitação pluviométrica é mais escassa, o processo de lixiviação é consideravelmente menor, possibilitando o acúmulo de sais solúveis e neoprecipitados, o que dificulta o aprofundamento das alterações. Formam-se a caulinita e a haloisita e com a diminuição da temperatura, minerais do grupo 2:1. Conseqüentemente, existe maior tendência de formação de solos pouco profundos (FASSBENDER, 1975; SALOMÃO e ANTUNES, 1998 e LEPSCH, 2002).

### **3.1.2 Classificação dos Solos**

Existem diferentes classificações para os solos, que são determinadas de acordo com o objetivo de uso. Aqui, serão apresentadas as classificações geotécnica, geológica e pedológica.

De acordo com NOGAMI e VILLIBOR (1995), dentre os solos tropicais, destacam-se duas grandes classes, comumente utilizadas em geotecnia: os solos lateríticos (maduros) e os saprolíticos (pouco desenvolvidos). Esta classificação considera, simplesmente, se houve ou não processo pedogenético.

Os solos lateríticos constituem a camada superficial e são formados a partir dos mais diversos materiais de origem. A camada superficial, por sua vez, é subdividida em duas camadas, designadas horizontes A e B. O horizonte A é o que pode apresentar acúmulo de matéria orgânica e está presente em praticamente todos os perfis, em espessura variável. O horizonte B dos solos lateríticos pode ser representado, principalmente, pelos latossolos, que são solos desenvolvidos a partir da laterita, material intensamente intemperizado. Os latossolos são, normalmente, muito profundos, podendo variar de um metro até algumas dezenas de metros, e extremamente homogêneos em profundidade. As diferenças mais nítidas ocorrem principalmente nas camadas mais superficiais, devido ao enriquecimento com matéria orgânica e às diferentes granulometrias, decorrentes dos solos transportados (NOGAMI e VILLIBOR, 1995 e SALOMÃO e ANTUNES, 1998).

Os solos lateríticos são abundantes no Brasil e na África (SANTANA, 1976).

Os solos saprolíticos constituem o horizonte C e resultam da decomposição e/ou desagregação da rocha matriz, mantendo sua estrutura, mineralogia e características. Possuem uma grande variabilidade na espessura (desde centímetros até dezenas de

metros) e encontram-se quase sempre subjacentes à rocha matriz (PASTORE E FONTES, 1998).

Além da classificação geotécnica apresentada por NOGAMI e VILLIBOR (1995), existem ainda as classificações geológica e pedológica (PASTORE e FONTES, 1998 e SALOMÃO e ANTUNES, 1998).

A classificação geológica corresponde à interpretação da gênese do solo, com base em análise tátil-visual (textura, cor, estrutura, plasticidade etc) e em observações de campo, quanto à forma (morfologia) e às relações com outras ocorrências (outros tipos de solo ou de rochas), interpretando-se os processos responsáveis pela gênese e, eventualmente, a rocha de origem. O processo geológico formador do solo consiste, basicamente, no intemperismo, que desagrega ou decompõe a rocha subjacente, dando origem aos solos residuais (ou *in situ*), ou, se houver transporte e deposição desse material, aos solos transportados. Os solos transportados são classificados em:

- Aluviões, constituídos por materiais erodidos, retrabalhados e transportados pelos cursos d'água e depositados nos seus leitos e margens;
- Terraços fluviais, que são aluviões antigos, depositados quando o nível do curso d'água situava-se em posição superior à atual, encontrados, conseqüentemente, em cotas mais altas do que os aluviões;

- Coluviões, depósitos de materiais inconsolidados, normalmente encontrados recobrando encostas íngremes, formados pela ação da água e principalmente pela gravidade;
- Tálus, depósitos também formados pela ação da água e principalmente da gravidade, compostos predominantemente por blocos de rocha;
- Sedimentos marinhos, produzidos em ambientes de praia e manguezal, com deposição de areias e argilas, respectivamente e
- Solos eólicos, transportados e depositados pela ação dos ventos.

A classificação pedológica concentra seu interesse na parte mais superficial do perfil do solo, onde é mais evidente a atuação de fatores pedogenéticos, que diferenciam o perfil em horizontes denominados A, B e C, onde os dois primeiros são, em geral, os mais estudados.

As classes de solo estão reunidas em dois grandes grupos: o grupo que não apresenta processo de migração de partículas dentro do perfil (iluviação), representado pelos latossolos, e o dos solos iluviais, representado pelos argissolos, planossolos, alissolos,

luvisolos, nitossolos e espodossolos, além dos cambissolos e neossolos, que são solos pouco desenvolvidos (EMBRAPA, 1999).

### 3.1.3 Química dos Solos

A reação do solo, ou seja, seu caráter ácido, básico ou neutro, é uma de suas características mais importantes, pois está fortemente relacionada com outras características químicas, físico-químicas e biológicas. Ela é indicada pelo valor de pH, que exprime a intensidade de acidez ou alcalinidade do solo. Os valores de pH do solo situam-se entre 3,5 e 9,5, sendo os de clima tropical úmido os maiores exemplos de solos ácidos (RANZANI, 1969; FASSBENDER, 1975 e SPOSITO, 1989). Os métodos colorimétricos e potenciométricos, que medem o pH, indicam somente a acidez ativa do solo, que é devida à concentração de íons hidrogênio, que se encontram dissociados na solução, concentração esta que é normalmente baixa. É importante destacar que a acidez ativa é apenas uma parte muito pequena da acidez potencial ou acidez trocável do solo (RIBEIRO, 1996). A acidez potencial é aquela que envolve, além dos íons hidrogênio livres, os que estão combinados nas moléculas e podem se dissociar. Já a acidez trocável (íons que podem ser trocados por outros de mesma carga) está relacionada, além dos íons  $H^+$ , com os íons  $Al^{3+}$  (MONIZ, 1972).

As fontes de acidez do solo são: superfície gibbsítica dos minerais de argila, quando íons  $H^+$  e  $Al^{3+}$  se dissociam do argilomineral; grupos ácidos da matéria orgânica, onde as moléculas dos grupos carboxílicos e fenólicos apresentam radicais ácidos de superfície,

que após dissociação, liberam  $H^+$ ; ácidos solúveis, decorrentes de atividade microbiológica e o ácido carbônico, resultante da reação do gás carbônico, liberado pela respiração microbiológica, com a água (FASSBENDER, 1975; STUMM, 1992; CARDOSO, 1992 e RIBEIRO, 1996).

Os solos ácidos possuem uma propriedade importante que é a capacidade tampão, ou seja, possuem resistência às mudanças de pH. Esta propriedade é determinada pelas características da superfície de troca catiônica. Os íons hidroxila ligados ao alumínio, ao ferro ou à matéria orgânica conseguem receber ou doar hidrogênio, de acordo com as características do meio. Nas curvas de neutralização de solos ácidos pode-se observar que a adição de grandes quantidades de uma base provoca apenas pequenos acréscimos no pH, indicando capacidade tampão alta (RIBEIRO, 1996).

Em regiões tropicais, com alta precipitação pluvial, a percolação da água através do perfil de solo provoca a lixiviação de uma grande quantidade de cátions básicos. As cargas superficiais negativas dos argilominerais são então compensadas por  $H^+$  e  $Al^{3+}$ , liberados do intemperismo do hidróxido de alumínio. Se o alumínio predominar entre todos os cátions adsorvidos na superfície dos colóides, minerais ou orgânicos, ele predominará também na solução do solo, tornando-a ácida (LEPSCH, 2002).

Em 73% das amostras de solo, coletadas no México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicarágua, Costa Rica e Panamá, o pH situava-se entre 4,5 e 5,5. Isto devido ao processo de intemperização e contínua lixiviação de bases e sua troca para  $H^+$  e  $Al^{3+}$ ,

extração de cátions básicos pelas plantas e utilização de fertilizantes de caráter ácido (FASSBENDER, 1975). Estudos de RODRÍGUEZ e GAMBOA (1997), ULATE (2001), HUERTA e KIENTZ (2005), OLIVARES (2005) e VERGARA, IBRAHIM e KASS (2005) também verificaram pH menor que 7,0 em amostras de solo da Costa Rica, Venezuela e México. ANDRADE et al. (2003) e LOPES et al. (2005) constataram pH de 4,0 a 5,0 em amostras de latossolo vermelho no Brasil.

Um dos problemas causados pela acidez do solo é a toxicidade decorrente do excesso de alumínio, além de afetar as funções biológicas das raízes, que têm seu desenvolvimento atrofiado, supostamente pela inibição da divisão celular, devido à ligação do alumínio com os ácidos nucléicos. Quando encontrado no estado solúvel, forma fosfatos de alumínio, praticamente insolúveis, diminuindo a disponibilidade de fósforo no solo (RIBEIRO, 1996 e MONIZ, 1972).

O carbonato de cálcio é o corretivo padrão utilizado para neutralizar a acidez do solo. Ele melhora suas propriedades físicas, como o aumento da agregação de partículas e melhores condições de aeração e movimentação de água; estimula a atividade microbiana; melhora a fixação simbiótica do nitrogênio pelas leguminosas e aumenta a disponibilidade da maioria dos nutrientes. A quantidade de carbonato de cálcio, necessária para neutralizar o solo, não depende apenas do pH, mas também da sua capacidade tampão e de troca de cátions. Os solos que contêm maior quantidade de minerais amorfos e matéria orgânica necessitam de maior quantidade de carbonato de cálcio (MONIZ, 1972; FASSBENDER, 1975 e RIBEIRO, 1996).

De acordo com STUMM (1992) e HARRIS (1999), o carbonato de cálcio não é muito solúvel em solução neutra ou básica, porém ele dissolve-se rapidamente em solução ácida, como a dos solos tropicais úmidos, devido a duas reações, onde o produto da primeira é o reagente da segunda.

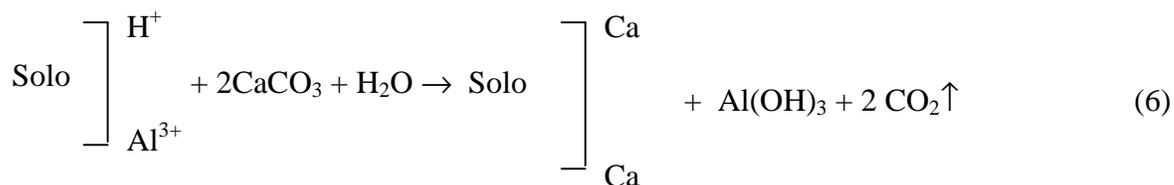


Quanto menor o valor do pH, maior é a taxa de dissolução do carbonato de cálcio (STUMM, 1992).

O bicarbonato, resultante da reação (4), reage com o  $\text{H}^+$ , presente na fase líquida do solo, formando água e, conseqüentemente, neutralizando-a.



Outra reação que pode representar a neutralização de um solo ácido com carbonato de cálcio é a apresentada a seguir, onde os íons  $\text{H}^+$  e  $\text{Al}^{3+}$ , que representam a acidez, são trocados pelo cálcio, o alumínio é precipitado como hidróxido e o gás carbônico é desprendido (RIBEIRO, 1996).



Já as fontes de alcalinidade no solo acontecem quando o  $\text{Al}^{3+}$  e o  $\text{H}^+$ , adsorvidos pelo complexo de troca, são substituídos por elementos alcalinos ou alcalinos terrosos como  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , diminuindo a concentração de  $\text{H}^+$  na solução e aumentando a de  $\text{OH}^-$  e o pH. Quanto maior for a participação dos elementos alcalinos e alcalinos terrosos no complexo de troca, maior será o pH do solo (FASSBENDER, 1975).

Como visto anteriormente, a reação do solo e a capacidade de tamponamento estão condicionadas às características das trocas iônicas, que são decorrentes da presença de cargas elétricas na superfície das partículas coloidais do solo, sejam elas minerais ou orgânicas.

A troca iônica é um processo reversível, no qual as cargas negativas ou positivas são neutralizadas por íons de carga contrária, que podem ser trocados por outros presentes na solução do solo. Estes íons deslocam-se constantemente, ficando no estado trocável ou disponível e a reação de troca se dá entre íons de mesma carga. Os íons trocados podem ligar-se à fase sólida, por covalência ou eletrostaticamente, processo denominado adsorção iônica (MONIZ, 1972; SPOSITO, 1989 e RIBEIRO, 1996).

O fenômeno de troca iônica do solo é função de sua superfície específica, expressa em  $\text{m}^2/\text{g}$ , já que as cargas da fase sólida se manifestam na superfície das partículas, e da densidade de cargas elétricas, expressa em  $\text{mol}_c/\text{m}^2$ , onde o  $\text{mol}_c$  corresponde a  $9,6485 \times 10^4 \text{ C}$  (Coulomb) ou em  $\text{C}/\text{m}^2$ . As montmorilonitas, por exemplo, têm uma capacidade de troca catiônica muito grande: de 60 a 100 meq/100g, enquanto as caulinitas só podem trocar íons na relação de 3 a 15 meq/100g, sendo menos ativas coloidalmente. As ilinitas têm capacidade intermediária entre os dois grupos citados (VARGAS, 1977).

De acordo com STUMM (1992), a superfície das partículas coloidais, existentes tanto no meio aquático quanto no solo e subsolo, pode desenvolver cargas elétricas através dos seguintes processos:

- a) pela ocorrência de reações químicas na superfície, onde existem grupos funcionais ionizáveis, como o  $-\text{OH}$ , que tem sua carga fortemente dependente do pH do meio;
- b) por imperfeições na superfície sólida e por substituições isomórficas, como por exemplo, em um arranjo tetraédrico de  $\text{SiO}_2$ , onde um átomo de Si é substituído por um de Al, resultando numa carga negativa, já que o Al tem um elétron a menos que o Si;
- c) pela adsorção de uma espécie hidrófoba ou de um surfactante iônico.

Isso significa que essas superfícies têm um excesso ou um déficit de elétrons que, em conjunto com os íons presentes na solução, constituem uma dupla camada de cargas. Com a distribuição de cargas, um potencial elétrico máximo se desenvolve na superfície da partícula e diminui com a distância, na solução. Assim, são estabelecidas duas zonas de atração: os íons adsorvidos, que formam a solução interna, e os que formam a solução externa, distantes o suficiente para não sofrerem a atração da carga superficial dos colóides. Entre as cargas, existe equilíbrio e proporcionalidade (FASSBENDER, 1975 e STUMM, 1992).

Se a dupla camada de cargas for resultado de imperfeições isomórficas, a densidade de cargas é constante e o potencial elétrico, variável. Se a dupla camada for criada pela adsorção de íons determinantes de potencial, a densidade de cargas é variável e o potencial elétrico, constante, sendo determinado somente pela concentração ou atividade desses íons em solução.

As cargas permanentes são resultantes das substituições isomórficas nas estruturas minerais e sempre se manifestam em qualquer pH dos solos. Teoricamente, a carga permanente pode ser positiva ou negativa, contudo, a substituição se faz normalmente de um elemento de maior valência por um de menor valência ( $\text{Si}^{4+} \rightarrow \text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+} \rightarrow \text{Mg}^{2+}$ ), o que leva a um déficit de carga positiva na estrutura cristalina e a manifestação de carga negativa na superfície do colóide (GAST, 1977 apud SPOSITO, 2001).

As cargas variáveis são originárias da adsorção de íons na superfície do colóide, sendo a carga líquida determinada pelo íon que é adsorvido em excesso. Íons capazes de interferir na carga ao serem adsorvidos são chamados íons determinantes de potencial. Como os principais íons determinantes de potencial na solução do solo são  $H^+$  e  $OH^-$ , esses colóides são também chamados colóides de carga dependente do pH. Caulinita, goethita, hematita e gibsitita são os principais minerais do solo, que apresentam essa característica (SPOSITO, 2001).

Assim, as partículas coloidais do solo, que apresentam cargas elétricas negativas e positivas, podem adsorver, por diferença de carga, tanto cátions como ânions. Processos químicos e físicos como o intemperismo, a absorção de nutrientes pelas plantas, a expansão e a contração de argilas e a lixiviação também estão relacionados com a troca iônica.

Como as partículas coloidais do solo são, geralmente, eletronegativas, resultantes principalmente de substituições isomórficas e de rompimento de ligações em arestas de minerais de argila e da dissociação de íons hidrogênio da matéria orgânica, as cargas são neutralizadas por cátions, estabelecendo uma ligação entre a superfície das partículas coloidais e os cátions, denominada adsorção catiônica. Uma vez que os cátions adsorvidos são trocáveis, a capacidade do solo de adsorver cátions é denominada capacidade de troca de cátions (CTC). A matéria orgânica, as argilas e os hidróxidos funcionam como trocadores e os principais cátions trocáveis são o  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$  e  $H^+$ . A soma dos cátions trocáveis ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  e  $Na^+$ ) denomina-se

bases trocáveis e sua porcentagem dentro da capacidade total de troca chama-se porcentagem de saturação.  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  e  $\text{H}^+$  trocáveis representam a acidez trocável. A soma da acidez e das bases trocáveis resulta na capacidade de troca catiônica (CTC). A quantidade de cátions trocáveis no solo depende dos minerais, das superfícies específicas, das cargas do complexo coloidal e das características dos íons presentes na solução do solo. A CTC é função da intensidade da carga negativa presente nas partículas do solo e normalmente é expressa em miliequivalentes de cátions adsorvidos em 100g de solo – meq/100g (MONIZ, 1972; FASSBENDER, 1975 e RIBEIRO, 1996).

Sob condições ácidas, acumulam-se prótons aos grupos  $\text{OH}^-$  e  $\text{NH}_2$ , originando-se cargas positivas na matéria orgânica, argilominerais e hidróxidos de ferro e alumínio. Estas cargas eletropositivas são compensadas por ânions presentes na solução do solo, dando origem à troca aniônica. Esse processo é intensificado à medida que o pH do meio diminui (FASSBENDER, 1975; RIBEIRO, 1996 e MONIZ, 1972).

#### **3.1.4 Solos do Estado de São Paulo**

A Figura 1 mostra o mapa pedológico do Estado de São Paulo.

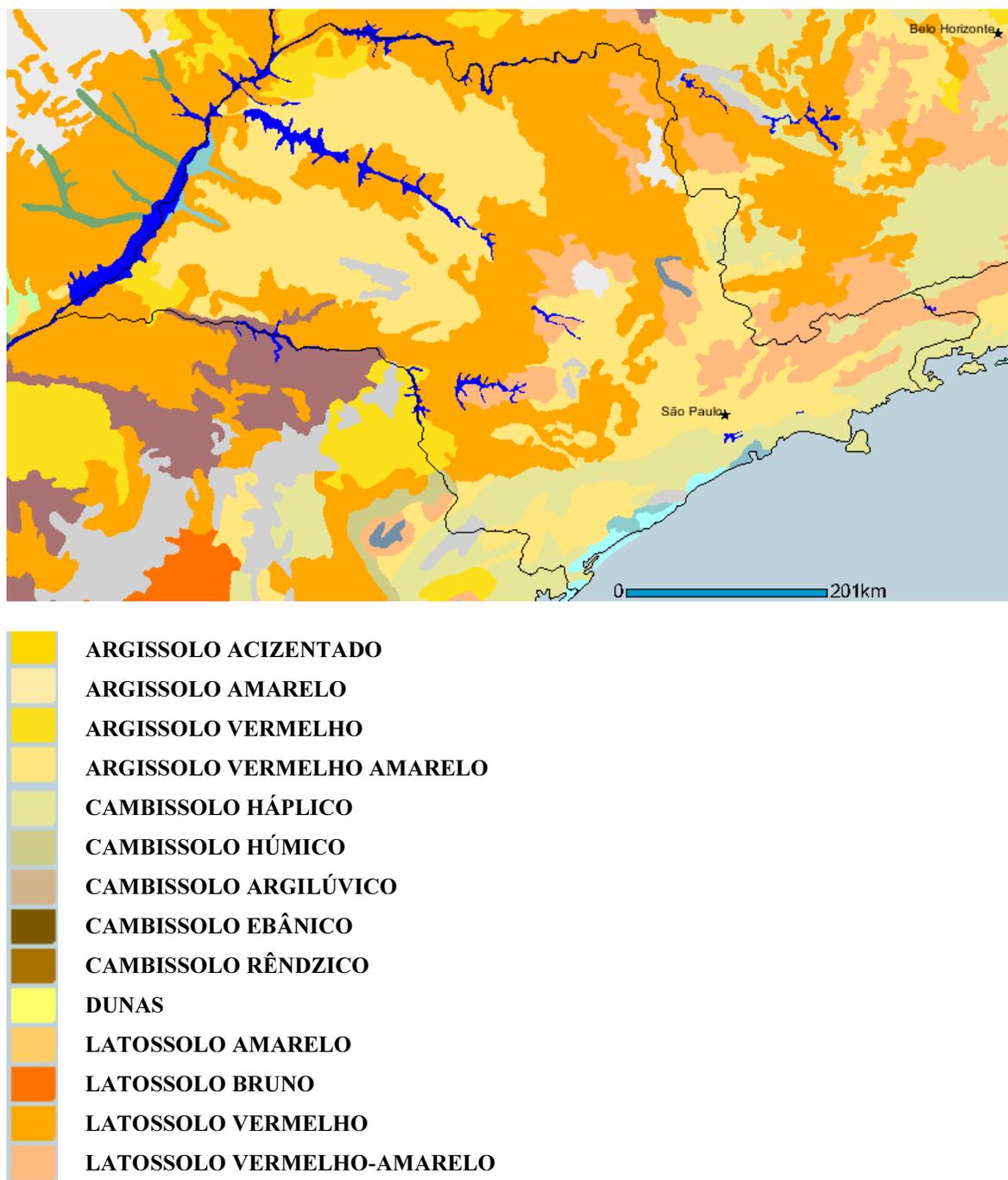


Figura 1: Mapa pedológico do Estado de São Paulo (IBGE, 2005)

De acordo com o mapa, a classe dos latossolos, correspondente aos lateríticos da classificação de NOGAMI e VILLIBOR (1995), constitui o agrupamento de solos mais extenso do Estado e ocupa cerca de 52% de sua área (OLIVEIRA, 1999).

Das 387 unidades de mapeamento, os latossolos ocorrem em 209 (OLIVEIRA, 1999). Foram registradas todas as quatro subordens estabelecidas pelo Sistema Brasileiro de Classificação de Solos – SBCS (EMBRAPA, 1999). São elas: LATOSSOLOS BRUNOS, correspondente à classificação anterior denominada TERRAS BRUNAS ESTRUTURADAS (BRASIL, 1960); LATOSSOLOS AMARELOS; correspondente às classificações anteriormente denominadas LATOSSOLOS AMARELOS, LATOSSOLOS VARIAÇÃO UNA (parte) e LATOSSOLOS VERMELHO-AMARELOS (parte); LATOSSOLOS VERMELHOS, correspondente às classificações anteriormente denominadas LATOSSOLOS ROXOS e LATOSSOLOS VERMELHO-ESCUROS; e LATOSSOLOS VERMELHO-AMARELOS, correspondente às classificações anteriormente denominadas LATOSSOLOS VERMELHO-AMARELOS e LATOSSOLOS VARIAÇÃO UNA (parte).

### **3.1.5 Características dos Solos Tropicais Úmidos**

Como visto anteriormente, os solos de clima tropical úmido encontram-se submetidos a altas temperaturas e excesso de chuva, que resultam em uma acidificação crescente. Além disso, possuem capacidade de tamponamento alta (FASSBENDER, 1975).

Em geral, apresentam as seguintes características:

- pH entre 4,0 e 6,0;
- Capacidade de troca catiônica entre 5 e 40 meq/100g de solo;
- Porcentagem de saturação de bases entre 3 e 70%;
- Acidez trocável entre 3 e 30 meq/100g de solo;
- Deficiência de fósforo, apesar da quantidade de fósforo total ser alta.

Em relação à composição mineralógica, o quartzo é o mineral mais freqüentemente encontrado na fração areia e pedregulho dos solos tropicais, além da magnetita e da ilmenita, que dão uma coloração arroxeada ao solo.

A fração silte é composta por uma mistura de minerais primários finamente particulados, sendo nítida a predominância do quartzo, além da presença da magnetita e da ilmenita (NOGAMI e VILLIBOR, 1995).

A constituição da fração argilosa dos solos tropicais é decisiva no comportamento dos mesmos, quando comparados com os das regiões de clima temperado, de granulometria semelhante. A fração argilosa dos solos tropicais caracteriza-se por conter elevada porcentagem de óxidos e hidróxidos de ferro, como a goethita, limonita, ferrihidrita, hematita e magnetita, e de alumínio, por exemplo, a gibsitita e a bauxita, resultantes das reações de hidrólise e hidratação. Esses constituintes, diferentemente dos argilominerais, podem apresentar cargas líquidas positivas e capacidade de troca iônica desprezível, nas

condições de pH predominantes nos solos (FASSBENDER, 1975; SPOSITO, 1989; SANTANA, 1976 e RIBEIRO, 1996).

O argilomineral geralmente presente na fração argila dos solos tropicais de clima úmido é a caulinita, família menos ativa quimicamente. Sua atividade coloidal é ainda mais reduzida na presença dos óxidos e hidróxidos de ferro, que a envolvem. Porém, na mesma fração coloidal, existe a contribuição de substâncias orgânicas (húmus), que possuem atividade coloidal acentuada (SPOSITO, 1989; SANTANA, 1976 e RIBEIRO, 1996).

As propriedades físicas do solo, como a composição, a textura, a estrutura, a densidade, a porosidade, a consistência, a temperatura e a cor determinam a mobilidade de água através do mesmo, que terá efeito sobre a movimentação e o grau de toxicidade de uma contaminação. Por exemplo, solos arenosos permitem rápida percolação de contaminantes solúveis para a água subterrânea, que, por sua vez, pode contaminar os corpos d'água superficiais. Solos com alto teor de argila e húmus apresentam condições oxidativas que propiciam a adsorção de altas concentrações de compostos orgânicos, enquanto mangues, que apresentam ambiente redutor, compostos ácidos vão complexar mais facilmente com íons metálicos, propiciando o acúmulo de metais pesados (MORITA, 1993).

### 3.2 Microbiologia dos Solos

O solo é um habitat extremamente peculiar, devido à sua natureza dinâmica e complexa heterogeneidade. Ele é formado por uma fase líquida – a água contendo diversas substâncias dissolvidas – uma gasosa e uma sólida. A fase gasosa contém os mesmos gases da atmosfera, porém em proporções diferentes (o gás carbônico, por exemplo, está presente numa concentração de 10 a 100 vezes maior no solo que na atmosfera, enquanto o inverso ocorre com o oxigênio, devido à respiração dos organismos), e outros, como o metano ( $\text{CH}_4$ ), resultante da decomposição anaeróbia da matéria orgânica (CARDOSO, 1992; MOREIRA, 2002 e ECBP, 2005).

As partículas minerais e orgânicas formam arranjos variados, estruturados em agregados, com a presença de poros. Solos com agregados estáveis e com poros de tamanhos variados apresentam boa atividade microbiana, boa retenção de água e presença de raízes, resultando, geralmente, em uma boa qualidade de solo (MOREIRA, 2002 e ECBP, 2005).

Como o solo é um ambiente em constante modificação, para sobreviverem, os microrganismos se adaptam às mais diversas fontes de energia (luz, oxidação de compostos inorgânicos e de um grande número de compostos orgânicos) e às mais diversas condições ambientais. Assim, podem ocorrer microrganismos no solo, que podem mudar seu conjunto de enzimas para utilizar diferentes fontes de carbono e nitrogênio (CARDOSO, 1992).

A quantidade e os tipos de microrganismos presentes no solo variam em função de muitos fatores ambientais, tais como a quantidade e os tipos de nutrientes disponíveis, teor de umidade, oxigênio, temperatura, pH, presença de raízes e extensão do sistema radicular e ocorrência de eventos que podem introduzir grande número de microrganismos no solo, tais como as enchentes (PARISI, 1979; PELCZAR, CHAN e NOEL, 1996; TORTORA FUNKE e CASE, 2000 e ECBP, 2005).

Na rizosfera, a atividade microbiana é intensa devido à presença de secreções radiculares, que representam as maiores fontes de carbono prontamente disponíveis para os microrganismos. Fora da zona de influência das raízes, o solo pode ser considerado oligotrófico (GRAYSTON e JONES, 1996 e ROSADO, 2000 apud ZILLI, 2003).

Segundo BARBOSA e TORRES (1999), a disponibilidade de macro e micronutrientes é imprescindível para a construção de novos componentes celulares. Os macronutrientes – nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, enxofre e magnésio – são necessários em quantidades relativamente grandes, por serem os principais constituintes das células. Estas necessitam de concentrações de  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  M de potássio, magnésio e cálcio. Os micronutrientes são necessários em concentrações de  $10^{-6}$  a  $10^{-8}$  M, muitos como componentes de enzimas vitais. Alguns exemplos de micronutrientes são o ferro, o manganês, o cobre, o zinco, o boro, o silício, o molibdênio, o cloreto, o vanádio e o cobalto. A linha divisória entre macro e micronutrientes não é nítida e nem igual para todos os grupos de organismos (ODUM, 1988 e CARDOSO, 1992).

De acordo com FILIMONOVA (1997), a relação carbono:nitrogênio, para a maior parte das espécies de microrganismos presentes no solo, deve ser de 5:1 (bactérias), 6:1 (actinomicetos) e 10:1 (fungos).

A Tabela 1 apresenta os macronutrientes e os micronutrientes necessários, suas fontes e funções nas células.

Tabela 1: Macronutrientes e micronutrientes, suas fontes e funções nas células (Adaptado de MEDISON, 2005).

<b>Nutriente</b>	<b>% em massa seca (*)</b>	<b>Fonte</b>	<b>Função</b>
Carbono	50	Compostos orgânicos ou CO <sub>2</sub>	Maior constituinte do material celular
Nitrogênio	14	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , compostos orgânicos nitrogenados	Constituinte dos aminoácidos, ácidos nucléicos, nucleotídeos e coenzimas
Fósforo	3	PO <sub>4</sub>	Constituinte dos ácidos nucléicos, nucleotídeos e fosfolipídeos
Enxofre	1	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sub>2</sub> S, S <sup>0</sup> , compostos orgânicos sulfurados	Constituinte da cisteína e muitas coenzimas
Potássio	1	Sais de potássio	Co-fator de algumas enzimas
Magnésio	0,5	Sais de magnésio	Co-fator de algumas reações enzimáticas
Cálcio	0,5	Sais de cálcio	Co-fator de algumas enzimas
Ferro	0,2	Sais de ferro	Co-fator de algumas reações enzimáticas

(\*)refere-se a uma célula típica de *E. coli* na fase de crescimento exponencial.

Os microrganismos do solo podem ser divididos, de acordo com a forma de satisfazer suas necessidades de nutrientes e de capturar, conservar e transferir a energia requerida para a síntese celular, em quatro tipos, já que a classificação em autotróficos (obtenção

de todo o carbono necessário a partir do CO<sub>2</sub>) e heterotróficos (obtenção do carbono a partir de compostos orgânicos), utilizada para caracterizar as formas de nutrição dos seres vivos, é muito simplificada (Tabela 2).

Tabela 2: Classificação dos organismos de acordo com os tipos de metabolismo (Adaptada de CARDOSO, 1992).

<b>Tipo</b>	<b>Fonte de energia</b>	<b>Fonte de carbono</b>	<b>Doador de elétron</b>	<b>Exemplos</b>
<b>Fotolitotrofia</b>	Luz	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	Algas, cianobactérias
			H <sub>2</sub> S, S <sup>0</sup> , H <sub>2</sub>	Bactérias <i>Chlorobiaceae</i> , <i>Chromatiaceae</i>
<b>Fotorganotrofia</b>	Luz	Compostos orgânicos	Compostos orgânicos	Algumas algas, bactérias <i>rhodospirillaceae</i>
<b>Quimiolitotrofia</b>	Substâncias inorgânicas	CO <sub>2</sub>	Substâncias inorgânicas	Bactérias Nitrificadoras, <i>Thiobacillus sp</i>
<b>Quimiorganotrofia</b>	Compostos orgânicos	Compostos orgânicos	Compostos orgânicos	Protozoários, fungos e a maioria das bactérias

Um grande grupo de microrganismos autotróficos obtém energia metabolicamente útil a partir da luz solar e são classificados como fotolitotróficos. O processo fotossintético requer a produção de pigmentos (as clorofilas são os principais), capazes de absorver a energia luminosa incidente. A fotossíntese ocorre em duas etapas: na primeira, a energia luminosa é utilizada para converter ADP a ATP (fotofosforilação) e na segunda, os elétrons liberados na primeira etapa são utilizados, juntamente com a energia do ATP,

para reduzir o  $\text{CO}_2$  em açúcar (CARDOSO, 1992 e TORTORA, FUNKE e CASE, 2000).

A adenosina trifosfato (ATP) é a principal molécula transportadora de energia de todas as células e é indispensável para a vida celular. Muito da energia liberada durante as reações de óxido-redução é armazenada dentro da célula, pela formação de ATP (adenosina trifosfato). Especificamente, um grupo fosfato é adicionado ao ADP (adenosina difosfato) como insumo de energia para formar ATP. A adição de um grupo fosfato a um composto químico é chamada fosforilação. Os microrganismos utilizam três mecanismos de fosforilação para gerar ATP a partir do ADP (TORTORA, FUNKE e CASE, 2000):

- Fosforilação em nível de substrato: o ATP é gerado quando um grupo fosfato de alta energia é transferido diretamente do composto fosforilado (substrato) ao ADP;
- Fosforilação oxidativa: a transferência de elétrons dos compostos orgânicos para os aceptores de elétrons libera energia, que é utilizada parcialmente para gerar ATP de ADP. Neste caso, uma cadeia transportadora de elétrons está envolvida;
- Fotofosforilação: inicia o processo de fotossíntese, que converte energia luminosa em energia química de ATP, que é utilizada para sintetizar moléculas orgânicas. Assim como na fosforilação oxidativa, uma cadeia transportadora de elétrons está envolvida.

Há microrganismos heterotróficos que também são capazes de captar energia luminosa, transformando-a em energia metabolicamente útil, mas não são capazes de assimilar o  $\text{CO}_2$ . Estes são chamados fotorganotróficos.

A energia necessária também pode ser obtida pela oxidação de compostos inorgânicos, como o enxofre elementar, o íon amônio e o ferro reduzido. Se o  $\text{CO}_2$  for a fonte de carbono, os microrganismos são chamados quimiolitotróficos. Se os microrganismos utilizarem compostos orgânicos como fonte de carbono, são chamados quimiorganotróficos.

Para os quimiolitotróficos, a redução do  $\text{CO}_2$  para a produção dos compostos celulares é semelhante ao dos fotolitotróficos, porém, a energia para a produção de ATP é obtida através da fosforilação oxidativa e os redutores para a fixação do  $\text{CO}_2$  são inorgânicos.

Muitas vezes, a predominância de um tipo de nutrição depende da disponibilidade de oxigênio. As bactérias *Rhodospirillaceae*, por exemplo, são fotorganotróficas em condições anaeróbias e quimiorganotróficas em aeróbias.

A energia acumulada nos compostos orgânicos utilizados pelos microrganismos é convertida em outras formas de energia, permitindo o desenvolvimento e a multiplicação das células. A liberação da energia acumulada nos compostos orgânicos é processada através de reações de óxido-redução. O potencial de oxi-redução mede a tendência de uma substância para doar ou receber elétrons e é uma medida quantitativa da energia

livre envolvida nessa transferência. Além do  $O_2$ , que é o aceptor de elétrons mais comum,  $NO_3^-$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$  e  $SO_4^{2-}$  também podem ter essa função. Baixo potencial de oxidação-redução – potencial redox – significa alta tendência para doação de elétrons. À medida que o potencial diminui, ocorre transição da predominância de microrganismos aeróbios para facultativos e em seguida para anaeróbios. Solos bem aerados possuem valores de potencial redox entre 800 e 400 mV, favorecendo a oxidação. Solos inundados têm metabolismo redutivo com potencial redox entre -100 e -300 mV (CARDOSO, 1992 e MOREIRA, 2002).

Como os microrganismos diferem quanto à natureza do aceptor final de elétrons, utilizado nas reações de oxidação-redução, os processos metabólicos para a oxidação de matéria orgânica e liberação de energia podem ser divididos em três grupos principais: a fermentação, onde a oxidação ocorre sem a utilização de aceptores externos de elétrons; a respiração anaeróbia, onde são utilizados receptores de elétrons inorgânicos, diferentes do oxigênio, como o  $NO_3^-$  e o  $SO_4^{2-}$  e a respiração aeróbia, onde o oxigênio é o aceptor final dos elétrons e todo o carbono da molécula do substrato é oxidado até  $CO_2$ , com concomitante produção de 37 a 38 ATP/mol de glicose (CARDOSO, 1992).

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importante na atividade e na sobrevivência dos microrganismos. Baixas temperaturas, próximas de  $4^\circ C$ , reduzem a fluidez e a permeabilidade através da membrana celular, o que pode dificultar a utilização de nutrientes (CORSEUIL e ALVAREZ, 1996). De acordo com MOREIRA (2002), a atividade microbiana é máxima em torno de  $28^\circ C$  e sofre decréscimo em

temperaturas menores que 25 e maiores que 35° C. Dependendo da faixa ótima de temperatura para o crescimento e atividade, os microrganismos podem ser divididos em: criófilos ou psicrófilos (menor que 20°C); mesófilos (entre 20 e 40°C) e termófilos (maior que 40°C). Existem ainda os microrganismos termófilos facultativos, que se desenvolvem bem numa ampla faixa de temperatura, variando de 28°C a 56°C. A maioria das bactérias, actinomicetos e fungos existentes no solo são mesófilos, enquanto os termófilos não são muito abundantes, dependendo do teor de matéria orgânica presente. Muitas espécies mesófilas sobrevivem em altas temperaturas devido à existência de estruturas resistentes, como os esporos, capazes de tolerar temperaturas de 100° C por longos períodos de tempo (CARDOSO, 1992 e MOREIRA, 2002).

O efeito da radiação solar é limitado a poucos milímetros da superfície do solo, afetando a sua temperatura, devido à radiação infra-vermelha. Assim, nesta pequena profundidade, os microrganismos fotossintéticos (algas e cianobactérias) ocorrem em densidades mais elevadas. Os fatores que afetam a radiação solar são: grau de sombreamento, declividade, cobertura vegetal e exposição do declive (MOREIRA, 2002).

A umidade presente no solo influencia o crescimento celular, pela água ser componente indispensável do protoplasma e responsável pela dissolução e transporte de diferentes nutrientes, além de influenciar as trocas gasosas no solo. O teor de umidade considerada ótima para os seres vivos do solo varia de 20 a 25%, dependendo do tipo de solo, podendo chegar a 40% na época chuvosa (RAÍ e SRIVASTAVA, 1981 apud

MOREIRA, 2002) ou, de acordo com GORING et al. (1974) apud ZYTNER (2002), de 50 a 75% da capacidade de campo. Umidade acima de 60% dificulta a difusão do oxigênio, resultando em anaerobiose. Quando os teores de oxigênio são inferiores a 8%, dependendo do tipo de solo, também há indução de processos anaeróbios (CARDOSO, 1992).

ALEXANDER (1977) apud MOREIRA (2002) verificou a população de fungos para vários teores de umidade (Tabela 3).

Tabela 3: População de fungos em vários teores de umidade do solo (Adaptada de ALEXANDER, 1977 apud MOREIRA, 2002).

<b>% de umidade do solo</b>	<b>Fungos por grama de solo x 10<sup>3</sup></b>
8,9	99
11,2	89
18,5	142
24,2	149
27,1	173

Segundo CARDOSO (1992) e MOREIRA (2002), os microrganismos podem ser classificados em relação à resistência ao pH em:

- a) insensitivos ou indiferentes: crescem numa ampla faixa de pH, que varia de 6 a 9 para bactérias e de 2 a 8 para fungos;

- b) neutrófilos: preferem o meio próximo à neutralidade até ligeiramente alcalino, como acontece com os microrganismos envolvidos nas transformações do nitrogênio e na oxidação do enxofre e do manganês;
- c) acidófilos: preferem ambientes fracamente ácidos, porém o *Thiobacillus thiooxidans* tolera valores de pH de até 1,5 e
- d) basófilos: não suportam valores de pH inferiores a 8.

As bactérias representam a maior parte da população microbiana do solo, tanto em quantidade (de  $10^9$  a  $10^{10}$  indivíduos por grama de solo) como em variedade. Espécies de *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Rhizobium sp.*, *Azotobacter sp.* e *Nitrobacter sp.* são geralmente encontradas. Os actinomicetos, considerados separadamente apesar de serem bactérias, estão presentes em solos secos e quentes, em milhões por grama, incluindo espécies de *Nocardia sp.*, *Streptomyces sp.* e *Micromonospora sp.*. Centenas de espécies de fungos também estão presentes no solo. Algumas espécies mais comuns são: *Penicillium sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Fusarium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.*. Uma rica população de algas, constituída principalmente por cianofíceas, clorofíceas, euglenofíceas, bacilariofíceas e xantofíceas, também pode ser encontrada nos solos, numa quantidade superior a duzentos mil indivíduos por grama de solo. Espécies de vírus também podem estar presentes (PARISI, 1979; PELCZAR, CHAN e NOEL, 1996 e TORTORA, FUNKE e CASE, 2000). A superfície dos solos contém maiores quantidades de matéria orgânica e de macronutrientes do que o subsolo. Desse modo, à medida que se aumenta a profundidade, o número de microrganismos e a biodiversidade diminuem. O número de

fungos, por exemplo, decresce com a profundidade e as bactérias passam a ser dominantes. Isso ocorre pelo fato das mesmas possuírem habilidade para utilizar aceptores de elétrons diferentes do oxigênio (BOOPATHY, 2000 apud CARRARA, 2003). A Tabela 4 apresenta a distribuição dos microrganismos no solo em diferentes profundidades.

Tabela 4: Microrganismos presentes no solo em diferentes profundidades (Adaptado de ALEXANDER, 1991 apud TORTORA, FUNKE e CASE, 2000 e ALEXANDER, 1977 apud CARRARA, 2003).

Profundidade (cm)	Microrganismos por grama de solo				
	Bactérias aeróbias	Bactérias anaeróbias	Actinomicetos	Fungos	Algas
3-8	$7,8 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	$1,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^4$
20-25	$1,8 \times 10^6$	$3,8 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$	$5,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$
35-40	$4,7 \times 10^5$	$9,8 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$	500
65-75	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$	100
135-145	$1,0 \times 10^3$	400	-	$3,0 \times 10^3$	-
3500-4500	-	100	-	-	-

É importante ressaltar que as populações de bactérias do solo são geralmente estimadas, utilizando-se contagem em placas em meio nutriente e os números obtidos são provavelmente subestimados por este método. Nenhum meio nutriente ou condição de crescimento pode atender às exigências necessárias para todos os microrganismos existentes no solo (TORTORA, FUNKE e CASE, 2000).

O crescimento microbiano é definido pelo aumento dos constituintes celulares, resultando num aumento do tamanho do microrganismo, na população ou em ambos. O crescimento de microrganismos pode ser verificado em sistemas fechados, onde não há entrada nem saída de substâncias durante o período de incubação, ou em sistemas abertos. Uma curva de crescimento dos microrganismos pode ser dividida em quatro fases (PRESCOTT, HARLEY e KLEIN, 1999 e TORTORA FUNKE e CASE, 2000):

- a) Fase lag: período no qual ocorre a adaptação dos microrganismos ao meio, podendo durar de uma hora até vários dias;
- b) Fase exponencial: reprodução celular extremamente ativa, onde a taxa de produção atinge valor constante;
- c) Fase estacionária: a velocidade de crescimento diminui e o número de células mortas é equivalente ao número de células novas e
- d) Fase de declínio: o número de células mortas excede o de células novas.

A Figura 2 mostra uma curva típica de crescimento bacteriano.

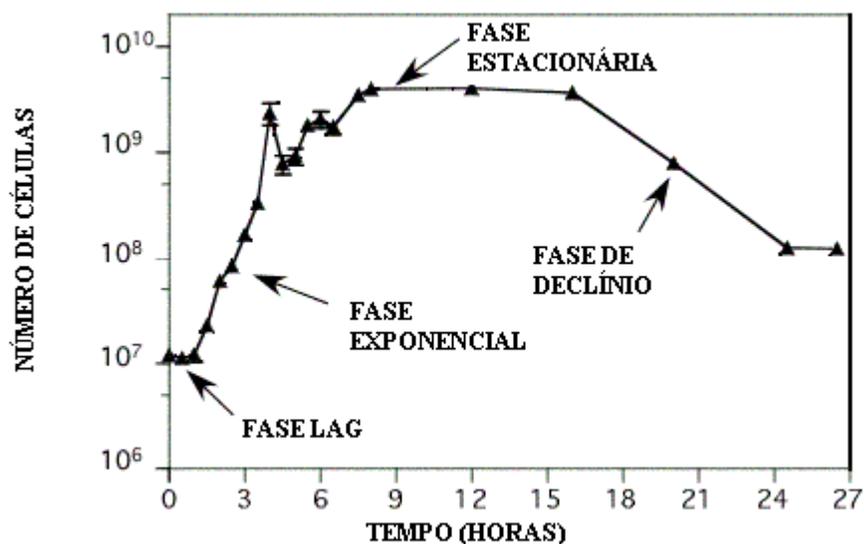


Figura 2: Curva de crescimento bacteriano de uma linhagem de bactérias *E. coli*. (Adaptada de PRESCOTT, HARLEY e KLEIN, 1999)

Algumas espécies bacterianas realizam este ciclo das quatro fases em poucos dias e outras podem permanecer com poucas células viáveis indefinidamente (TORTORA FUNKE e CASE, 2000). Em condições ideais, algumas células bacterianas duplicam em 20 minutos (PRESCOTT, HARLEY e KLEIN, 1999).

É importante destacar que a diversidade microbiana é somente parcialmente conhecida. Um grama de solo pode conter 10 bilhões de microrganismos, representando milhares de espécies. Estima-se que o número total de espécies microbianas seja de 2 milhões. O número de espécies microbianas identificadas cresce a cada ano, tendo sido descritos na literatura mais de 47.000 fungos, 30.000 protozoários, 26.000 algas, 5.000 bactérias e

1.000 vírus (WILSON, 1998 e ROSSELLÓ-MORA e AMMAN, 2001 apud ZILLI et al. 2003).

Como visto anteriormente, as partículas minerais e orgânicas do solo apresentam-se em diferentes tamanhos e, conseqüentemente, com diferentes áreas superficiais específicas. Essas superfícies possuem propriedades como a troca iônica e a carga predominante, que interagem com as superfícies dos microrganismos, determinando o tipo de ligação entre elas. A interação entre as superfícies afeta aspectos importantes como a sobrevivência e a atividade microbiana (MOREIRA, 2002). A Tabela 5 apresenta algumas propriedades das partículas coloidais, minerais e orgânicas, que influenciam a atividade microbiana.

Tabela 5: Propriedades das partículas coloidais, minerais e orgânicas, que influenciam a atividade microbiana no solo (BURNS, 1979 apud MOREIRA, 2002).

Argilominerais	Colóides orgânicos
Possuem grande superfície específica Concentram e trocam nutrientes orgânicos e inorgânicos Retêm água Catalisam hidrólise não biológica Envolvidos na formação do agregado Atuam como tampão (absorvem H <sup>+</sup> )	
Adsorvem metabólitos tóxicos e antibióticos	Fontes de nutrientes orgânicos
Imobilizam cátions orgânicos	Adsorvem substratos lipofílicos
Catalisam síntese não biológica	Auxiliam a adsorção de íons
Protegem os microrganismos fisicamente	Têm propriedades bacteriostáticas
Imobilizam bacteriófagos	Incorporam substratos
	Estimulam quimiotaxia
	Estabilizam exoenzimas

A predominância de cargas positivas nas células microbianas aumenta a estabilidade do complexo argila-bactéria, uma vez que a maioria das argilas possui carga negativa (MOREIRA, 2002). A taxa de adesão dos microrganismos do solo às partículas minerais pode atingir até 90% da população, dependendo da natureza dos microrganismos, sendo as bactérias gram-positivas mais facilmente adsorvidas, e do tamanho da partícula mineral, sendo maior a adesão quanto menor for o diâmetro (CARDOSO, 1992).

Num solo contaminado, além da importância das propriedades físicas e químicas, que podem interferir na dispersão e na sorção dos poluentes, a presença de microrganismos pode possibilitar a degradação ou a transformação de compostos orgânicos perigosos em compostos menos tóxicos ou não tóxicos. Isto ocorre porque os microrganismos degradam os compostos orgânicos, isto é, quebram as moléculas, para obter energia para as suas atividades vitais (PHILIPPI, 2001).

De acordo com VAN BEELEN e DOELMAN (1997) apud CARRARA (2003), investigações biológicas do solo como a respiração, a atividade enzimática e a contagem de microrganismos podem fornecer informações sobre a presença de microrganismos capazes de desenvolver-se e degradar o contaminante, bem como a intensidade, o tipo e a duração dos efeitos dos poluentes na atividade metabólica do solo.

Bactérias, fungos e clorófitas podem degradar compostos xenobióticos como hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (LEPO e CRIPE, 1999; NOVOTNÝ et al, 2000; YAGHMAEI, 2001 e LOIBNER et al, 2003), hidrocarbonetos halogenados,

derivados do nitrotolueno, diversos tipos de defensivos agrícolas, principalmente os carbamatos, triazinas e organohalogenados (CARDOSO, 1992 e MOREIRA, 2002), di-2-etilhexil ftalato (CARRARA, 2003) e bifenilas policloradas (HINCHEE, BROCKMAN e VOGEL, 1995). Representantes principais de gêneros das Eubactéria são:

- Bactérias gram-negativas: *Azospirillum* e *Hafnia*;
- Bastonetes Gram-negativos: *Pseudomonas* e *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*;
- Bastonetes e Coccus Gram-positivos esporulantes: *Micrococcus*, *Bacillus* e *Clostridium*;
- Bastonetes Gram-positivos não esporulantes: *Arthobacter*, *Nocardia*, *Actinomyces*, *Streptomyces* e *Rhodococcus*.

Representantes de gêneros de Eucariotos são: *Mucor*, *Rhizopus*, *Neurospora*, *Fusarium*, *Glomerella*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Rhizoctonia*, *Trametes* e *Phanerochaete*.

Nas clorófitas, espécies do gênero *Chlorella* são degradadoras de compostos xenobióticos.

Apesar das bactérias serem mais eficientes na degradação de contaminantes orgânicos, os fungos são mais resistentes às mudanças de pH, de salinidade e de outras condições ambientais. Os fungos brancos, por exemplo, podem degradar uma ampla variedade de contaminantes orgânicos (OOI, 2003).

A solubilidade, a reatividade química e a capacidade de adsorção são as principais propriedades físico-químicas que determinam a disponibilidade do contaminante orgânico aos microrganismos. De acordo com a estrutura química das moléculas orgânicas, as formas saturadas, ramificadas e cíclicas são menos susceptíveis à biodegradação que as insaturadas, lineares e abertas. Assim, para que as moléculas mais complexas sejam absorvidas, necessitam ser digeridas extracelularmente, por enzimas excretadas pelas células, denominadas exoenzimas (CARDOSO, 1992 e MOREIRA, 2002).

Muitos fatores podem afetar a atividade enzimática dos microrganismos. Qualquer mudança física ou química pode diminuir ou parar completamente a atividade enzimática, que só é realizada em condições ótimas de pH e temperatura, assim como uma proporção apropriada de enzima e substrato. Calor e acidez excessivos podem desnaturar (ou alterar) as enzimas, quebrando as ligações responsáveis por sua estrutura tridimensional, resultando na perda da atividade enzimática (BURTON e ENGELKIRK,

1998). A biodegradação de compostos organofosforados e carbamatos, por exemplo, é afetada pela acidez do solo, ao contrário dos compostos organoclorados (MOREIRA, 2002).

Altos teores de um composto tóxico podem ser responsáveis pela inibição da atividade microbiana. LOIBNER et al.(2003) verificaram que 4000 ppm de pireno inibiram a atividade dos microrganismos nativos em solo arenoso e 2500 ppm de perileno, em solo siltoso. Por outro lado, se estes compostos estiverem presentes em quantidades relativamente baixas, a afinidade das enzimas microbianas e os sistemas de transporte necessários podem não ser suficientes para que ocorra a biodegradação. Deve-se ressaltar que mesmo em níveis baixos, um composto ainda poderá ser tóxico e/ou aumentado por bioacumulação.

A biodegradação pode não ser eficiente se estiverem presentes substratos facilmente degradáveis no solo contaminado, pois estes serão utilizados preferencialmente, impedindo a indução das enzimas capazes de degradar o poluente mais complexo (CORSEUIL e ALVAREZ, 1996). Porém, em proporções adequadas, um substrato de fácil degradação pode servir de fonte de energia principal para os microrganismos e o de difícil degradação ser co-metabolizado (PHILIPPI, 2001).

Entretanto, o potencial biodegradador de uma comunidade microbiana no solo será selecionado, em parte, pelas variáveis abióticas como pH; porosidade do solo, que influencia os processos de sorção, mobilidade e biodisponibilidade do xenobiótico;

temperatura, que influencia os processos de sorção, solubilidade e viscosidade; umidade, aeração e disponibilidade de nutrientes, que controlam a biomassa e a atividade e tipo de metabolismo microbiano e variáveis bióticas, como a competição entre os microrganismos (PHILIPPI, 2001).

De acordo com MOREIRA (2002), os processos de degradação no solo são otimizados em temperaturas entre 24 e 35°C e pH entre 5,6 e 8,0.

A biodegradação ocorre mais rapidamente em ambientes aeróbios pela maior eficiência do metabolismo nesta condição e importância das enzimas oxigenases. Entretanto, muitos microrganismos anaeróbios são metabolicamente versáteis e podem biodegradar determinados compostos xenobióticos com eficiência (PHILIPPI, 2001). Solos inundados, por exemplo, aceleram a degradação de hidrocarbonetos aromáticos clorados (MOREIRA, 2002).

É importante ressaltar que o processo de biodegradação é muitas vezes executado por um consórcio microbiano e não por uma colônia ou população única. Uma comunidade microbiana pode ser adaptada para biodegradar um xenobiótico específico, pela aplicação repetida do mesmo no solo, ocorrendo um processo natural de adaptação metabólica da comunidade. O fato do xenobiótico ser utilizado como substrato para certos microrganismos pode exercer um efeito seletivo e estimulante destes e, além disso, o aumento da atividade enzimática específica, sugere alguma indução ou alteração genética da comunidade indígena do solo (MOREIRA, 2002).

Se os microrganismos nativos do solo não forem suficientes para degradar o xenobiótico, microrganismos não nativos podem ser introduzidos. Porém, estes devem ser específicos para promover a biodegradação total do contaminante até gás carbônico e água, sem acúmulo de subprodutos e metabólitos. Além disso, os microrganismos aplicados devem atuar em sinergismo com as espécies nativas, sem interferir nos processos biogeoquímicos naturais (CASARINI e SPILBORGHS, 1995).

Uma vez comprovada a capacidade de biodegradação de um composto xenobiótico por uma cepa ou uma combinação de várias cepas, devem ser realizados estudos em microcosmo, para verificar o potencial de adaptação e competição em relação à microbiota nativa. Nestes estudos, podem ser utilizadas fontes complementares de nutrientes e oxigênio. Enzimas, bioemulsificantes e surfactantes também podem ser empregados para facilitar o desenvolvimento e a biodegradação de um determinado contaminante no solo, seja por microrganismos nativos ou não (FERNANDES e ALCÂNTARA, 1998).

### **3.3 Hidrocarbonetos Aromáticos Polinucleares**

#### **3.3.1 Fontes de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares**

Os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são derivados do anel benzênico e se apresentam em diversas formas estruturais. Estão presentes naturalmente no meio ambiente como resultado da decomposição de material orgânico, pela combustão de biomassa, atividades vulcânicas e pela presença de petróleo nos depósitos geológicos ou emanções naturais do fundo do oceano (PHILIPPI, 2001 e LAW & BISCAYA, 1994 apud MARTINS, 2001). Entretanto, as atividades do Homem, como as queimadas; os processos industriais, incluindo a preservação de madeira; o transporte e principalmente os derramamentos e vazamentos de petróleo e de seus derivados, têm aumentado significativamente sua concentração no ar, na água e no solo, causando contaminação (CASARINI e SPILBORGHES, 1995 e VENKATARAMA et al, 1994 apud VASCONCELLOS, 1996).

Os principais componentes do petróleo são os hidrocarbonetos, entre os quais encontram-se os aromáticos, que variam desde o benzeno (mononuclear) até o indeno(1,2,3-cd)pireno (polinuclear).

Gasolina, diesel e óleos combustíveis são os contaminantes petrolíferos mais comuns em solos e águas subterrâneas. Eles são uma mistura complexa de compostos químicos, entre os quais os hidrocarbonetos aromáticos, que variam de acordo com a origem do

petróleo refinado. A gasolina, por exemplo, contém mais de 200 tipos de hidrocarbonetos (DOURADO, 1998).

Além dos derramamentos e vazamentos de petróleo e de seus derivados, os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares também são lançados no meio ambiente por incineradores, indústrias farmacêuticas, químicas, de agrotóxicos, de polímeros, de produção de coque e de alumínio, de explosivos, entre outras (DOURADO, 1998; MORITA, 1993; PHILIPPI, 2001 e VASCONCELLOS, 1996). Eles são formados nos processos de combustão, a altas temperaturas, envolvendo combustíveis fósseis ou são resultantes da queima de compostos que contêm carbono e hidrogênio (MIGUEL, 1989). A Tabela A1, no Anexo A, apresenta as variações das concentrações de vários tipos de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em efluentes líquidos de diferentes segmentos industriais.

Já foram encontrados 106 tipos diferentes de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares provenientes da queima do alcatrão de hulha, 280 na fumaça de cigarro, 146 na exaustão de veículos automotores, 108 em exaustão de óleo combustível e 150 em amostras de óleo mineral (VASCONCELLOS, 1996). LIU E KORENAGA (2003) investigaram a contaminação do arroz por hidrocarbonetos aromáticos polinucleares. Nas amostras de arroz não refinado, foram encontrados teores de 46 a 77  $\mu\text{g HAP/Kg}$ , em massa seca. O fenantreno foi o composto encontrado em maiores teores na maioria dos casos. Também

foram detectados o acenaftileno, o fluoreno, o antraceno, o pireno, o benzo(a)antraceno, o criseno e o benzo(a)pireno.

Nas áreas urbanas, os veículos têm sido considerados as maiores fontes de emissão dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares para a atmosfera. Nas regiões de clima tropical, a queima de biomassa também tem contribuição importante nessa emissão (FERNÍCOLA e AZEVEDO, 1981 e VASCONCELLOS, 1996). Na década de 70, as concentrações de hidrocarbonetos aromáticos variavam de 0,1 a 60 $\mu$ g/1000 m<sup>3</sup> em áreas urbanas e de 0,01 a 2 60 $\mu$ g/1000 m<sup>3</sup> em áreas rurais (FLAMM e MEHLMAN, 1978 apud FERNÍCOLA e AZEVEDO, 1981).

### **3.3.2 Características físico-químicas e biológicas dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares**

Os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são uma classe de compostos orgânicos semi-voláteis, formados por anéis benzênicos ligados de forma linear, angular ou agrupados, contendo somente carbono e hidrogênio (ESTADOS UNIDOS, 1999; COSTA 2001 e LUNDSTEDT, 2003). Dezesesseis hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, indicados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos como sendo poluentes prioritários (ESTADOS UNIDOS, 2005), têm sido cuidadosamente estudados, devido à sua toxicidade, persistência e predominância no meio ambiente. As

fórmulas estruturais destes hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são mostradas na Figura 3.

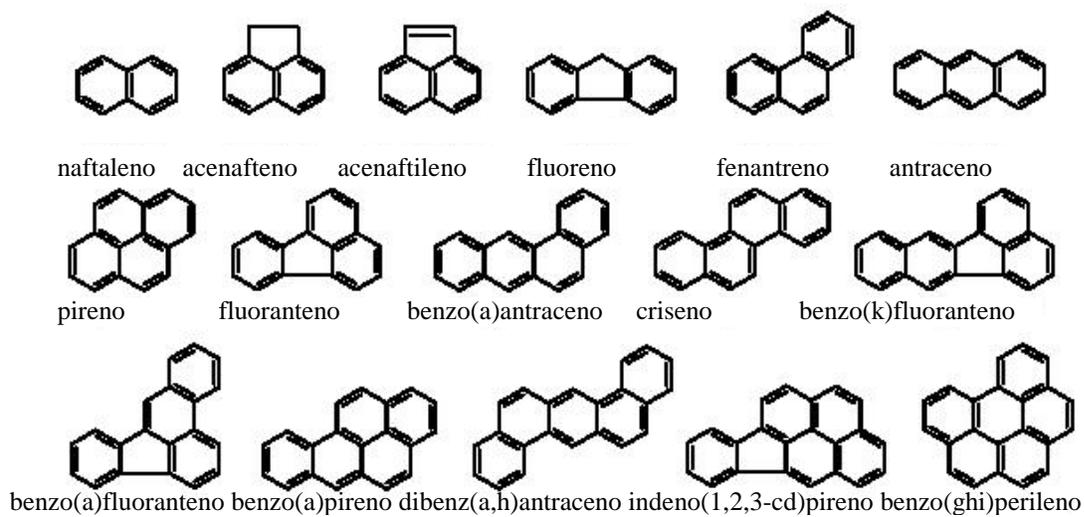


Figura 3: Fórmulas estruturais dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares prioritários (Adaptado de LUNDSTEDT, 2003).

O comportamento, o transporte e o destino desses compostos no meio ambiente dependem de suas características físico-químicas e bioquímicas. As mais importantes são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6: Propriedades físico-químicas e bioquímicas de alguns hidrocarbonetos aromáticos polinucleares. (Adaptado de PEREIRA NETTO, 2000; COSTA, 2001 e LUNDSTEDT, 2003).

HAP	Número de anéis	Peso molecular (g/mol)	Pressão de vapor a 25° C (Pa)	Solubilidade em água (mg/L)	Coefficiente de partição octanol/água Log K <sub>octanol/água</sub>	Meia vida no solo (a = ano e d = dias)	Constante de Henry a 25° C (kPa)
Naftaleno	2	128	$1,0 \times 10^2$	31	3,37	<125d	$4,89 \times 10^{-2}$
Acenaftileno	3	152	$9,0 \times 10^{-1}$	16	4,00	43 – 60d	$1,14 \times 10^{-3}$
Acenafteno	3	154	$3,0 \times 10^{-1}$	3,8	3,92	-	$1,48 \times 10^{-2}$
Fluoreno	3	166	$9,0 \times 10^{-2}$	1,9	4,18	32 d	$1,01 \times 10^{-2}$
Fenantreno	3	178	$2,0 \times 10^{-2}$	1,1	4,57	2 d	$3,98 \times 10^{-3}$
Antraceno	3	178	$1,0 \times 10^{-3}$	0,045	4,54	50 d – 1,3 a	$7,3 \times 10^{-2}$
Pireno	4	202	$6,0 \times 10^{-4}$	0,13	5,18	210 d – 5,2 a	$1,1 \times 10^{-3}$
Fluoranteno	4	202	$1,2 \times 10^{-3}$	0,26	5,22	-	$6,5 \times 10^{-4}$
Benzo(a)antraceno	4	228	$2,8 \times 10^{-5}$	0,011	5,91	-	-
Benzo(a)pireno	5	252	$7,0 \times 10^{-7}$	0,0038	5,91	269 d – 8,2 a	$3,4 \times 10^{-5}$ (20° C)
Indeno(1,2,3-cd)perileno	6	276	-	0,00019	6,5	-	-

Nota: a unidade da Constante de Henry apresentada está de acordo com COSTA, 2001.

Os dados da Tabela 6 mostram que os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são persistentes no meio ambiente e possuem baixa solubilidade em água, com exceção do naftaleno, que é relativamente solúvel (32 mg/L). Na maioria dos casos, essa solubilidade diminui com o aumento do número de anéis e do peso molecular do composto. Esta é uma das propriedades mais importantes no transporte desses compostos no meio ambiente. Os compostos mais solúveis em água são mais facilmente transportados, pois tendem a ter uma baixa adsorção nas partículas de solo. Além disso, são mais susceptíveis à biodegradação, devido à sua estrutura mais simples.

Normalmente, quanto menor o peso molecular do composto, maior é a probabilidade do mesmo ser volatilizado. O naftaleno, por exemplo, tem pressão de vapor cem vezes

maior que o acenaftileno. A Lei de Henry descreve o equilíbrio entre a fase gasosa e a líquida em equilíbrio com a primeira. É função da pressão de vapor, da solubilidade e do peso molecular do composto (ATKINS, 2001). Os valores das constantes de Henry dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, mostrados na Tabela 7, indicam baixa (de  $3 \times 10^{-5}$  a  $1 \times 10^{-3}$  kPa.m<sup>3</sup>/mol) a moderada ( $1 \times 10^{-3}$  a  $1 \times 10^{-1}$  kPa.m<sup>3</sup>/mol) volatilidade (MÉXICO, 2005).

O coeficiente de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ) é uma medida indicativa da hidrofobicidade do composto orgânico. É definido como a relação entre a solubilidade de um composto em n-octanol e a solubilidade em água, num sistema bifásico. Compostos com baixos valores de  $K_{ow}$  tendem a ser hidrófilos, ou seja, apresentar alta solubilidade em água, enquanto os compostos com altos valores de  $K_{ow}$  tendem a ser hidrófobos. Segundo van de Waterbeemd (1995) apud RIBEIRO (2001), compostos que apresentam coeficiente maior que 1 ( $\log K_{ow}$ ) são hidrófobos e os demais, hidrófilos. Para o Instituto Nacional de Ecologia do México (MÉXICO, 2005), este valor é de 3,6 e para BAERT (2002), 5. A afinidade às partículas do solo aumenta com o número de anéis do composto (LUNDSTEDT, 2003).

As meias vidas dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares de maior peso molecular no solo são relativamente elevadas, indicando a sua difícil degradação no meio (PEREIRA NETTO, 2000).

Como conseqüência dessas propriedades, os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares podem ser encontrados na atmosfera, podendo estar na fase gasosa ou adsorvidos no

material particulado; no solo, adsorvidos nas partículas das camadas superiores, principalmente nos argilominerais, na matéria orgânica e ocasionalmente em óxidos e hidróxidos de metais; no meio aquático, adsorvidos nas partículas em suspensão ou nos sedimentos; e nos organismos vivos (O'NEILL et al. apud CARRARA, 2003; ESTADOS UNIDOS, 1999; PEREIRA NETTO, 2000 e LUNDSTEDT, 2003).

Estudos estimaram que dois terços dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares encontrados no meio aquático estavam adsorvidos nas partículas em suspensão ou nos sedimentos de rios e um terço estava dissolvido (EISLER, 1987 apud ESTADOS UNIDOS, 1999). Estes compostos também podem acumular-se em alguns organismos aquáticos (ESTADOS UNIDOS, 1999).

Outra característica dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares é a energia de ressonância. De acordo com MORRISON e BOYD (1983), a ressonância existe quando uma molécula é representada por duas ou mais estruturas diferentes, pelo arranjo de elétrons. A molécula é um híbrido de todas essas estruturas e não pode ser representada satisfatoriamente por apenas uma delas. Quanto mais próximas umas das outras forem as estabilidades dessas estruturas, ou seja, se elas apresentarem aproximadamente o mesmo conteúdo energético, maior é a energia de ressonância. No caso dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, quanto maior o número de anéis que formam o composto, menor é a energia de ressonância em cada um deles e maior é a reatividade do mesmo. Assim, os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares com maior número de anéis são mais reativos no meio ambiente. O antraceno e o fenantreno são os menos reativos e,

apesar de apresentarem o mesmo número de anéis, possuem energia de ressonância de 84 e 91 Kcal/mol, respectivamente (WADE, 1995).

### **3.3.3 Efeitos dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares no Homem**

Geralmente, os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares estão presentes no meio ambiente (ar, água e solo) numa mistura complexa e dificilmente são encontrados separadamente. Eles podem causar efeitos toxicológicos no crescimento, no metabolismo e na reprodução de toda a biota (microrganismos, plantas terrestres, biota aquática, anfíbios, répteis, aves e mamíferos), provocando a formação de tumores; causando toxicidade aguda; apresentando características cumulativas e causando danos à pele de diversas espécies de animais, inclusive a humana. Os principais objetos de pesquisa têm sido as suas propriedades carcinogênicas, mutagênicas e genotóxicas (PEREIRA NETTO, 2000; LUNDSTEDT, 2003; COSTA, 2001 e ESTADOS UNIDOS, 2003).

A Tabela 7 apresenta dados relativos aos efeitos carcinogênicos, genotóxicos e mutagênicos de alguns hidrocarbonetos aromáticos polinucleares.

Tabela 7: Dados sobre a carcinogenicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (Adaptado de PEREIRA NETTO, 2000 e COSTA, 2001).

<b>HAP</b>	<b>Carcinogenicidade</b>	<b>Genotoxicidade</b>	<b>Mutagenicidade</b>
<b>Fluoreno</b>	I	L	-
<b>Fenantreno</b>	I	L	+
<b>Antraceno</b>	N	N	-
<b>Fluoranteno</b>	N	L	+
<b>Pireno</b>	N	L	+
<b>Benzofluorenos</b>	I	I	?
<b>Benzofluorantenos</b>	S	I	+
<b>Ciclopenta(cd)pireno</b>	L	S	+
<b>Benzo(a)antraceno</b>	S	S	+
<b>Criseno</b>	L	L	+
<b>Trifenileno</b>	I	I	+
<b>Benzo(e)pireno</b>	I	L	+
<b>Benzo(a)pireno</b>	S	S	+

Legenda: (1) Dados disponíveis para a comprovação do efeito: S = suficientes, I = insuficientes, N = não carcinogênico, L = limitados.

(2) Genotoxicidade avaliada através de testes de deterioração do DNA; aberração cromossômica, mutagenicidade.

(3) Mutagenicidade pelo teste de Ames: + (positivo), - (negativo), ? (não conclusivo).

Tabela 7: Dados sobre a carcinogenicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (Adaptado de PEREIRA NETTO, 2000 e COSTA, 2001). Continuação.

HAP	Carcinogenicidade	Genotoxicidade	Mutagenicidade
<b>Perileno</b>	I	I	+
<b>Indeno(1,2,3- cd)pireno</b>	S	I	+
<b>Dibenzo(ac)antraceno</b>	L	S	+
<b>Dibenzo(a)antraceno</b>	S	S	+
<b>Dibenzo(aj)antraceno</b>	L	I	+
<b>Benzo(ghi)perileno</b>	I	I	+
<b>Antantreno</b>	L	I	+
<b>Coroneno</b>	I	I	+
<b>Dibenzo(ae)fluoranteno</b>	L	N	
<b>Dibenzopirenos</b>	S	I	+

Legenda: (1) Dados disponíveis para a comprovação do efeito: S = suficientes, I = insuficientes, N = não carcinogênico, L = limitados.

(2) Genotoxicidade avaliada através de testes de deterioração do DNA; aberração cromossômica, mutagenicidade.

(3) Mutagenicidade pelo teste de Ames: + (positivo), - (negativo), ? (não conclusivo).

De acordo com DIELS, SPRINGAEL e BASTIAENS (2003), os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares apresentam a seguinte ordem de carcinogenicidade:

benzo(a)pireno > dibenzo(a)antraceno > benzo(b)fluoranteno e indeno(1,2,3-cd)pireno > benzo(k)fluoranteno.

Os efeitos carcinogênicos dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são muito conhecidos, principalmente na pele e nos pulmões, e têm sido observados em indivíduos expostos a inúmeras fontes emissoras, como motores à diesel ou gasolina, queima de carvão, fotocopiadoras, fumaça de cigarro, incineração de rejeitos, fuligem de chaminé de vários processos industriais, queimadas no campo e nas florestas (WADE, 1995; PEREIRA NETO, 2000; ULLMAN, 1989 apud RIBEIRO 2001, COSTA 2001 e MALILAY, 1999 apud ARBEX, 2004).

Segundo FERNÍCOLA E AZEVEDO (1981), a propriedade carcinogênica está relacionada à forma química dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares. As moléculas desses compostos apresentam forma e tamanho semelhantes aos componentes estruturais do DNA. Assim, o contaminante consegue encaixar-se entre as moléculas do cromossomo. Outra possibilidade é o composto original não causar danos ao DNA, mas durante a sua conversão para formas mais solúveis em água, o que facilita sua expulsão do organismo, formam-se intermediários mais reativos que irão danificar o DNA (LUNDSTEDT, 2003). Este mecanismo tem sido muito estudado para o benzo(a)pireno. Primeiramente, ele é convertido num óxido de areno, um epóxido em que a aromaticidade de um dos anéis foi destruída. Depois disso, em presença de água, ocorre a hidrólise (catalisada enzimaticamente) do anel do epóxido, com a formação de um diol-1,2, o benzo(a)pireno-dihidro-7,8-diol-7,8. Alguns desses dióis sofrem novamente

epoxidação com formação de dihidroxi-epóxidos, considerados os verdadeiros compostos com ação carcinogênica. Em testes in-vitro, ao se misturar o dihidroxi-epóxido com o DNA, o grupo  $-NH_2$  da base de guanina do nucleotídeo ataca o C-10 do epóxido e abre o anel com inversão química, formando outro composto muito volumoso, e sua ligação com a guanina impede-a de encaixar na dupla hélice do DNA e formar ligações de hidrogênio com uma citosina na extremidade oposta da hélice. Esta deterioração provoca mutações e uma maior probabilidade de carcinogênese (MORRISSON e BOYD, 1993 apud RIBEIRO, 2001).

Experimentos realizados pelo INRS (1997) mostraram a toxicidade do benzo(a)pireno em ratos e camundongos e no Homem. O benzo(a)pireno é um dos mais conhecidos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, podendo ser absorvido pelas vias oral, cutânea e pulmonar e distribuído rapidamente pelo organismo. Como os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são compostos lipófilos, atravessam as membranas epiteliais, sendo rapidamente absorvidos pelo aparelho gastro-intestinal e pelos pulmões (ESTADOS UNIDOS, 1999 e RIBEIRO, 2001).

Em ratos e camundongos, a toxicidade do benzo(a)pireno pode ser aguda e semi-aguda, causando atraso no crescimento, através da via oral, e destruição das glândulas sebáceas cutâneas, se aplicado sobre a pele. O benzo(a)pireno também pode causar toxicidade sub-crônica e crônica, se administrado na alimentação de camundongos de diferentes gerações, por um período de seis meses, induzindo em alguns deles a uma perda de peso e a morte em quatro semanas. Este composto orgânico pode causar ainda genotoxicidade,

umentando a taxa de aparição de papilomas e carcinomas nas crias após aplicação cutânea em camundongos em gestação, durante quatro gerações, e causando efeitos sobre a reprodução, como a morte dos embriões e fetos de ratos e camundongos e a redução da fertilidade de ambos os sexos de cobaias (INRS, 1997).

Ainda de acordo com os estudos realizados pelo INRS (1997), a toxicidade dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares no Homem está relacionada com a classe de compostos, já que existem poucas informações sobre a exposição a um deles isoladamente. Essa toxicidade pode ser aguda, causando alterações cutâneas, ou crônica, induzindo a um aumento da frequência de aparecimento de câncer de pele, pulmão, bexiga e rins. Essa ocorrência é particularmente mais perceptível em determinados processos industriais, onde os trabalhadores, em contato com óleos minerais, de xisto e fuligem, ficam mais expostos a diferentes tipos de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, como em usinas de carvão, na produção de alumínio, nos processos de gaseificação de carvão, na produção de coque e na produção de eletrodos de carbono (INRS, 1997 e PEREIRA NETTO, 2000).

Além da exposição humana aos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, presentes no ar, no solo e na água, outra importante fonte de exposição são os alimentos, tanto devido à formação desses compostos durante os processos de cozimento quanto à deposição atmosférica sobre grãos, vegetais e frutas.

Em estudos utilizando o benzo(a)pireno como parâmetro de medida de absorção de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, PEREIRA NETTO (2000) e ULLMAN (1989) apud RIBEIRO (2001) relataram que a quantidade deste composto ingerido por via oral era maior do que através da inalação. Porém, os efeitos da contaminação por inalação eram maiores, devido à formação de carcinomas bronquiais. Os compostos aderidos às partículas eram parcialmente dissolvidos e metabolizados nos pulmões. Os metabólitos podiam atuar sobre as células, ou entrar na corrente sanguínea e chegar ao fígado, ou ser excretados pela bÍlis, sem passar por qualquer modificação. Apenas uma pequena parte dos compostos era eliminada com a urina nas formas metabolizada ou original.

O naftaleno e o fenantreno, que ainda não têm efeito carcinogênico comprovado, se ingeridos, são facilmente absorvidos no intestino e extensivamente transformados em fenóis, di-hidrodióis e ácidos mercaptúricos (FERNÍCOLA E AZEVEDO, 1981; FAUST et al., 1993; PEREIRA NETTO, 2000 e COSTA, 2001).

De acordo com SUTHERLAND et al. (1990 e 1992) apud MOODY et al. (2001), o antraceno e o fenantreno não oferecem risco ao homem como os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares de maior peso molecular, porém podem ser tóxicos aos peixes e algas. São considerados hidrocarbonetos aromáticos polinucleares típicos e indicadores da presença de outros mais perigosos, como o benzo(a)pireno. Por isso, são largamente utilizados para a verificação dos fatores que afetam a biodisponibilidade, a biodegradabilidade potencial e a taxa de biodegradação no meio ambiente (KANALY e

HARAYAMA, 2000 e SUTHERLAND *et al*, 1995, BOUCHEZ, BLANCHET e VANDECASTELLE, 1995 e CERNIGLIA, 1992 apud MOODY, 2001).

### **3.3.4 Destino dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares no meio ambiente**

Os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares de baixo peso molecular, presentes no solo ou nas águas superficiais, podem volatilizar e também podem ser degradados pela ação da luz ou dos microrganismos. Já os de maior peso molecular são mais resistentes à volatilização, à ação da luz e à biodegradação (ESTADOS UNIDOS, 1999).

No solo, o principal processo responsável pela remoção dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares é a biodegradação. Microrganismos, como bactérias e fungos, podem transformar os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em outros compostos orgânicos ou em produtos finais inorgânicos, como gás carbônico e água. Porém, a capacidade de utilização de hidrocarbonetos pelos microrganismos depende de diversos fatores, como a estrutura do composto, a presença de enzimas específicas, a toxicidade dos compostos ou dos subprodutos da biodegradação.

Os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares presentes no solo também podem ser degradados por processos abióticos. As reações de oxidação são as mais importantes, embora as reações fotoquímicas também contribuam significativamente para a degradação dos compostos nas camadas mais superficiais do solo. Alguns oxidantes que comumente iniciam as reações de oxidação dos hidrocarbonetos aromáticos

polinucleares são o oxigênio, o peróxido de hidrogênio e o ozônio. Este último, por exemplo, pode atacar as duplas ligações do composto, mas também pode formar radicais hidroxila por causa da hidrólise. As reações que se seguem são muito complexas e vários produtos intermediários são formados. Os produtos finais das reações de oxidação, considerando todos os oxidantes, incluem quetonas, quinonas, aldeídos, fenóis e ácido carboxílico (LUNDSTEDT, 2003). A foto-oxidação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares também é possível, como acontece com o antraceno e o pireno na presença de óxido de alumínio e de ozônio (DIELS, SPRINGAEL e BASTIAENS, 2003).

Na água, os processos possíveis de degradação dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são a foto-oxidação, a oxidação química e a biodegradação pelos microrganismos aquáticos. No meio aquático, os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares podem estar presentes nos sedimentos, onde poderão ser submetidos aos processos de degradação ou ingeridos pelos organismos aquáticos, onde ficarão acumulados (ESTADOS UNIDOS, 1999 e DIELS, SPRINGAEL e BASTIAENS, 2003). O benzo(a)pireno é o composto mais resistente à foto-oxidação, enquanto o benzo(a)antraceno, o mais sensível. A biodegradação no meio aquático é rápida em condições aeróbias, mas extremamente lenta em condições anóxicas (NEFF, 1979 apud ESTADOS UNIDOS, 1999).

Os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares lançados na atmosfera encontram-se mais na forma de cristais aderidos ao material particulado que na forma gasosa. Ficam expostos às reações com outros poluentes atmosféricos, como óxidos de nitrogênio e de

enxofre no inverno e ozônio e peroxi-acetil-nitrato no verão, podendo formar compostos mutagênicos, entre os quais, nitro-compostos (FINLAYSON-PITTS e PITTS, 1986 apud VASCONCELLOS, 1996). Também podem ser transportados pelas chuvas ou pela lenta sedimentação do material particulado, sendo depositados na superfície das águas, nas plantas ou no solo.

### **3.3.5 Biodegradação dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em solos**

A biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares é altamente dependente do número de anéis aromáticos. As *Pseudomonas sp.* conseguem degradar o naftaleno e o acenafteno, as *Sphingomonas sp.* degradam o fluoreno, o fenantreno e o fluoranteno, as *Mycobacterium sp.*, o fenantreno, o antraceno, o fluoranteno e o pireno e as *Nocardia sp.*, o fenantreno (DIELS, SPRINGAEL e BASTIAENS, 2003 e LOIBNER et al., 2003).

Segundo VAN DER MEER et al. (1992) apud KANALY e HARAYAMA (2000), a rota metabólica da biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares têm como primeira fase a oxidação do composto, resultando em intermediários dihidroxilados, que, posteriormente, são processados por orto ou meta clivagens, formando outros intermediários, como os catecóis, que são convertidos em ácidos tricarbóxicos.

De acordo com KIYOHARA et al. (1994) apud OUYANG (2004), o fenantreno pode ser degradado por bactérias presentes no solo através de duas rotas metabólicas. Numa delas, o ácido 1-hidroxi-2-naftóico é oxidado a 1,2-dihidroxinaftaleno, que é

degradado via rota metabólica do naftaleno até salicilato. Na outra rota, o anel do ácido 1-hidroxi-2-naftóico é clivado e metabolizado via rota metabólica do ftalato. Isso demonstra que o naftaleno e o fenantreno têm rotas metabólicas em comum durante sua biodegradação.

LEPO e CRIPE (1999) investigaram a biodegradação do óleo cru em areia de praia, simulando o movimento das ondas com água do mar, por um período de trinta dias, a 20° C. Os ensaios foram realizados em triplicata, em câmaras contendo 250 gramas de areia, isenta de matéria orgânica, onde foi adicionado 0,1 mg de óleo usado. Foram testadas duas situações diferentes. Na primeira, foram adicionadas bactérias marinhas degradadoras de hidrocarbonetos aromáticos (*Pseudomonas saccharophila*) e alcanos (*Nocardia globerula* e *Rhodococcus fascians*) numa solução de nutrientes. Na segunda, foi adicionada apenas a solução de nutrientes. Os resultados mostraram que a adição de nutrientes não aumentou significativamente a redução do teor dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em relação ao controle, submetido apenas à simulação do movimento das ondas pela água do mar. A adição de nutrientes mais microrganismos diminuiu, em média, 10% do residual encontrado nas amostras de areia após 28 dias, em comparação com a adição de nutrientes somente. O residual encontrado nas amostras de areia após 28 dias foi de 14,3% de naftaleno, 22,7% de fluoreno e 28,2% de fenantreno. Os pesquisadores concluíram, ainda, que a redução dos compostos ocorreu preferencialmente por biodegradação que por lavagem do solo, pois não foi detectada a presença de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares no efluente líquido coletado dos

sistemas (óleo + água). Porém, pode ter ocorrido perda por volatilização, principalmente do naftaleno.

NOVOTNÝ et al. (2000) investigaram a degradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares pelos fungos *Irpex lacteus*, pertencentes ao grupo de espécies de fungos brancos, que removeram eficientemente hidrocarbonetos aromáticos polinucleares de três e quatro anéis, presentes em meio líquido e no solo. Em três meses, os fungos *Irpex lacteus* degradaram 37% de fenantreno, 49% de antraceno, 25% de fluoranteno e 52% de pireno, presentes numa concentração de 400µg de HAP em 6g solo, contendo 0,8% de carbono orgânico e 0,08% de nitrogênio total.

HWANG e CUTRIGHT (2001) avaliaram a biodegradação do pireno e do fenantreno em três diferentes tipos de solo (1, 2 e 3), com diferentes teores de argila e matéria orgânica, simulando o tratamento em fase líquida. A contaminação das amostras de solo foi feita a partir de uma solução de pireno ou de fenantreno em hexano, para obter o teor de 100 mg/Kg. No reator, foram introduzidos 2g de solo contaminado, 20 mL de nutrientes e 1 mL de uma solução contendo as bactérias adaptadas aos contaminantes. Foram mantidas condições aeróbias. No solo 1, que continha maior porcentagem de argila (18%) e menor de matéria orgânica (3,54%), a biodegradação do pireno foi mais difícil, apesar de ter se mantido desorvido numa concentração de 200 µg/L. No solo 2, a desorção foi menor, provavelmente, devido ao aumento do teor de matéria orgânica (8,4%), porém, este aumento possibilitou significativo crescimento bacteriano, maior

que o observado no teste em branco, diferentemente do que ocorreu no solo 1, onde diminuiu lentamente. No solo 3, com menores teores de matéria orgânica (1,84%) e de argila (9,6%), houve biodegradação moderada do pireno e crescimento bacteriano semelhante ao do teste em branco. Nas três amostras de solo, a biodegradação do fenantreno foi consideravelmente mais rápida e mais fácil que a do pireno. Isso se deve, principalmente, à sua maior solubilidade e às características do solo. Em outro estudo, HWANG e CUTRIGHT (2003) relacionaram a interferência da presença de argila expandida na biodegradação do pireno e do fenantreno. A taxa de biodegradação do fenantreno no solo contendo maiores teores de argila expandida foi de 626  $\mu\text{g/L/dia}$ , enquanto que no solo contendo menores teores, foi de 3.203  $\mu\text{g/L/dia}$ . Do mesmo modo, a biodegradação do pireno foi de 65% e 82%, respectivamente. Também foi observado o efeito do co-metabolismo, pois houve um aumento de 2 para 7% na biodegradação do pireno na presença de fenantreno, sendo este último o mais susceptível à biodegradação.

Numa área contaminada por uma refinaria de alcatrão no Irã, perto da cidade de Isfahan, amostras de solo, coletadas em seis locais diferentes, foram submetidas à ação de microrganismos capazes de degradar hidrocarbonetos aromáticos polinucleares. Em diversas delas, os fungos degradaram naftaleno, antraceno e fenantreno e em condições específicas, com fornecimento de nutrientes e controle de temperatura (25-30°C), esses hidrocarbonetos aromáticos polinucleares foram reduzidos até concentrações não detectáveis na água (YAGHMAEI, 2001).

A rota metabólica da biodegradação do fenantreno por bactérias *mycobacterium sp.*, isoladas de sedimento estuarino contaminado por óleo, foi identificada por MOODY (2001). Após 14 dias, houve biodegradação de 90% do fenantreno, inicialmente presente numa concentração de 0,2 µg/mL. De acordo com a Figura 4, foram identificados os seguintes metabólitos: cis-3,4-dihidroxi-3,4-dihidroxifenantreno ou fenantreno cis-3,4-dihidrodiol e cis-9,10-dihidroxi-9,10-dihidrofenantreno ou fenantreno cis-9,10-dihidrodiol, que tiveram seu teor aumentado entre 4 e 8 horas de incubação e que entre 8 e 32 horas foram degradados totalmente. Após 8 horas de incubação, o ácido 2,2-difenílico começou a se acumular e permaneceu após 96 horas. Mais dois produtos da fissão dos anéis aromáticos foram identificados: os ácidos 1-hidroxinaftol e ftálico.

Outra espécie de fungo branco estudada foi a *Bjerkandera sp.*, que consegue degradar o benzo(a)pireno a CO<sub>2</sub> e metabólitos solúveis em água e que não têm atividade mutagênica (KOTTERMAN, 2003). O estudo propôs ainda uma estratégia interessante de biodegradação sequencial de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares – fungos/ bactérias. O fungo branco inicia a oxidação dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares com peroxidases extracelulares, formando produtos oxidados, que podem ser utilizados mais facilmente pelas bactérias e que são degradados mais lentamente pelos fungos. Resultados desse estudo mostraram que o antraceno, numa concentração de aproximadamente 45 mg/L, foi degradado pelo fungo da espécie *Bjerkandera sp.* em antraquinona, num período de 4 horas. Neste momento, bactérias *Mycobacterium sp.*

eram adicionadas ao sistema e completavam a degradação da antraquinona a CO<sub>2</sub> e água em vinte horas.

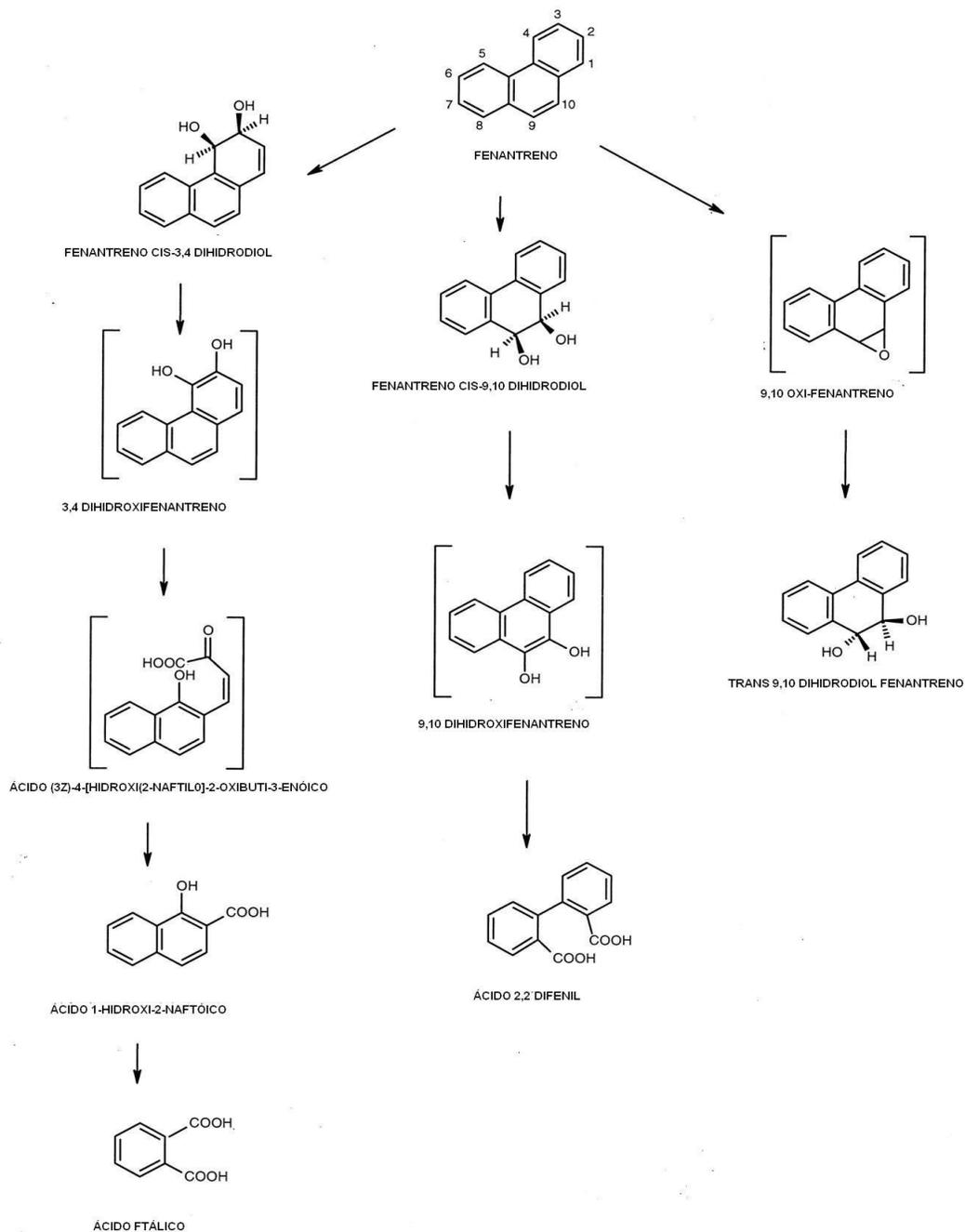


Figura 4: Rota metabólica da biodegradação do fenantreno por bactérias *mycobacterium* sp., isoladas de sedimento estuarino contaminado por óleo (MOODY, 2001).

LOIBNER et al. (2003) investigaram a taxa de biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em dois tipos de solo, com e sem adição de microrganismos, durante vinte e três semanas. As amostras de solo foram contaminadas com uma mistura de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares contendo naftaleno, fenantreno, fluoreno, pireno e perileno. Num solo siltoso, rico em matéria orgânica e com alta atividade biológica, a degradação de certos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares pelos microrganismos nativos foi possível e pôde ser acelerada com a adição de lodo ativado. Já num solo arenoso ácido, com diferentes tamanhos de partículas de areia e quase sem matéria orgânica, não houve degradação pelos microrganismos nativos no período de 23 semanas. Nos dois casos, a adição de 2% de lodo ativado possibilitou a quase total biodegradação do fenantreno, do fluoreno e do pireno (hidrocarbonetos aromáticos polinucleares com até quatro anéis) e decaimento do perileno (cinco anéis). A redução do naftaleno ocorreu por volatilização do contaminante, pois os resultados para as amostras de solo com microrganismos nativos e exógenos foram iguais aos obtidos para as amostras com solo esterilizado. A Tabela 8 mostra os teores iniciais e finais aproximados de cada hidrocarboneto aromático polinuclear, para as diferentes situações investigadas, ao longo das 23 semanas.

Tabela 8: Teores iniciais e finais, para diferentes situações de biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, ao longo de 23 semanas (Adaptado de LOIBNER et al., 2003).

Tipo de solo	Microrganismos	Contaminante									
		Naftaleno		Fenantreno		Pireno		Fluoreno		Perileno	
		I	F	I	F	I	F	I	F	I	F
Siltoso	Nativos	3000	0	3000	0	3000	500	2500	500	500	500
Siltoso	Exógenos	3000	0	3000	0	3000	0	2500	0	500	500
Siltoso	Ausentes	3000	0	3000	4500	3000	4500	2000	2500	500	600
Arenoso	Nativos	5000	0	4500	3500	4500	3000	3000	3000	300	100
Arenoso	Exógenos	4500	0	5000	0	5000	200	3500	100	1000	250
Arenoso	Ausentes	5000	0	4000	4000	5000	4000	3000	3000	500	200

Legenda: I = teor inicial em ppm e F = teor final, após 23 semanas, em ppm.

KNIGHTES e PETERS (2003) tentaram relacionar as taxas de biodegradação com as propriedades físico-químicas e a estrutura molecular dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, isolando o processo de biodegradação de outros. Uma série de reatores independentes e em condições aeróbias foi utilizada. Cada um continha uma solução de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em concentrações abaixo, mas próximas, da solubilidade em água e uma suspensão de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, tendo sido identificadas as seguintes espécies: *Sphingomonas yanoikuyas*, *Sphingomonas sp.* e *Pseudomonas sp.* A redução da concentração foi significativa para todos os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, com exceção do acenafeno. O naftaleno teve a taxa de degradação mais rápida, seguido

pelo pireno. O fluoreno apresentou a taxa de degradação mais baixa. Os resultados não apresentaram uma tendência de redução da taxa de biodegradação em função do aumento do peso molecular. A Tabela 9 mostra os parâmetros obtidos no experimento, onde  $q_{\text{máx}}$  é a máxima taxa de utilização do substrato por unidade de biomassa, medida em miligramas de proteína por litro,  $K_s$  é a constante de meia saturação e  $Y$  o coeficiente de síntese celular.

Tabela 9: Parâmetros obtidos em experimento de biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (Adaptado de KNIGHTES e PETERS, 2003).

Composto	$q_{\text{máx}}$ (mg HAP/mg proteína/hora)	$K_s$ (mg HAP/ L)	$Y$ (mg proteína /mg HAP)	$q_{\text{máx}} / K_s$ (L / mg proteína/hora)
Naftaleno	0,636 (2%)	0,572 (0,4%)	$0,413 \pm 0,082$	1,11
1-metilnaftaleno	0,614 (3%)	0,533 (1,9%)	$0,582 \pm 0,19$	0,115
2-metilnaftaleno	Não determinado	Não determinado	$0,381 \pm 0,089$	0,193
Acenafteno	Não houve biodegradação			
Fluoreno	Não determinado	Não determinado	Não determinado	0,0255
2-etilnaftaleno	Não determinado	Não determinado	$0,520 \pm 0,392$	0,208
Fenantreno	Não determinado	Não determinado	Não determinado	0,268
Antraceno	Não determinado	Não determinado	Não determinado	0,236
Fluoranteno	Não determinado	Não determinado	Não determinado	0,317
Pireno	Não determinado	Não determinado	Não determinado	0,750

Na biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, a adição de um indutor pode ser uma alternativa interessante para acelerar o processo. CHO et al. (2003) empregaram o salicilato como indutor na biodegradação do fenantreno, utilizando quatro diferentes microrganismos. O salicilato é, na verdade, um produto intermediário do metabolismo do fenantreno. As cepas utilizadas foram de *Bukholderia cepacia*, isolada

de solo contaminado com hidrocarbonetos aromáticos polinucleares e de *Pseudonocardia hydrocarbonoxydans*, *Sphingomonas aromaticivorans* e *Pseudomonas putida*, adquiridas de uma coleção coreana. Nos testes de biodegradação foram utilizadas três diferentes configurações. Nestas, foram adicionados 50 mg/L de fenantreno. Em uma delas, foram acrescentados ainda 200 mg/L de salicilato e em outra 200 mg/L de um meio de cultura. As amostras foram incubadas por dois dias, a 25° C. As *Pseudomonas putida* foram as mais eficientes, tanto na degradação do salicilato quanto na do fenantreno, alcançando aproximadamente 25% em ambas. Os outros microrganismos degradaram aproximadamente 20% do salicilato e aproximadamente 9% do fenantreno. O crescimento celular e a degradação do salicilato foram similares para todos os microrganismos. Já a maior degradação do fenantreno pelas *Pseudomonas putida* indica que a capacidade de biodegradação deste composto foi induzida pelo salicilato e era dependente do tipo de microrganismo utilizado.

ERIKSSON et al. (2003) avaliaram a possibilidade de biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em quatro solos de regiões árticas e do hemisfério norte (1, 2, 3 e 4). Todos os solos estudados eram arenosos, de texturas similares, com baixo conteúdo de matéria orgânica, umidade de 10 a 15% e pH entre 7 e 8. As amostras de solo foram contaminadas com uma mistura de 11 hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, de dois a cinco anéis, enriquecidas com culturas microbianas contendo as seguintes espécies: *Acidovorax sp.*, *Bordetella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Sphingomonas sp.* and *Variovorax sp.* e submetidas a condições aeróbias e anaeróbias. Os resultados obtidos nesse estudo estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, em condições aeróbias e anaeróbias, após 90 dias de incubação (Adaptado de ERIKSSON et al., 2003).

HAP	% de Remoção															
	Condições aeróbias								Condições anaeróbias							
	20° C				7° C				20° C				7° C			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Naftaleno</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>2-metilnaftaleno</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>1,4-Dimetilnaftaleno</b>	100	100	100	100	0	0	96	0	12	3	5	6	14	9	12	6
<b>Fluoreno</b>	92	98	97	97	3	29	97	96	96	13	21	25	93	33	17	15
<b>Fenantreno</b>	80	93	92	91	0	10	94	95	92	0	7	9	87	11	13	1
<b>Fluoranteno</b>	48	82	74	66	0	0	34	6	0	0	0	0	8	0	0	0
<b>Pireno</b>	25	87	71	0	0	0	17	3	0	0	0	0	2	0	0	0
<b>9,10-Dimetilantraceno</b>	15	84	58	0	0	0	0	9	0	0	0	0	7	0	0	0
<b>Dibenzoantraceno</b>	51	85	75	25	19	18	26	25	7	4	17	10	19	17	1	0
<b>Criseno</b>	36	69	60	11	12	11	18	19	2	0	8	4	13	16	0	0
<b>Benzo(a)pireno</b>	68	76	60	27	33	31	34	37	10	10	26	23	26	22	6	3
<b>Total HAP</b>	63	88	79	52	11	22	53	40	32	13	21	20	39	24	16	13

Os resultados obtidos no estudo mostraram que a 7° C as taxas de remoção dos compostos foram menores, porém as condições anaeróbias foram as que limitaram o processo de biodegradação mais drasticamente, particularmente para hidrocarbonetos aromáticos polinucleares com três anéis ou mais. Em condições aeróbias, a remoção da maioria dos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares foi similar para as duas temperaturas estudadas.

BOYD e MONTGOMERY (2003) investigaram os fatores interferentes na biodegradação do naftaleno, do fenantreno e do fluoranteno, por microrganismos

indígenas, em sedimentos de mangue contaminado. Até concentrações de 200 µg/g de uma mistura desses hidrocarbonetos aromáticos polinucleares e 40 µg/g de fenantreno, não houve inibição. A maior biodegradação observada foi a do fluoranteno e aconteceu no verão, mostrando a influência da temperatura na atividade microbológica. Foram avaliados três pontos de amostragem, que apresentaram taxas de biodegradação do fluoranteno de, aproximadamente, 0,09µg/g.h, 0,5µg/g.h e 0,2µg/g.h, nessa época do ano. As taxas de biodegradação do naftaleno e do fenantreno nos mesmos pontos foram menores de 0,01µg/g.h. Nos pontos de amostragem onde também havia contaminação por chumbo e zinco, a taxa de biodegradação foi menor. Concentrações de zinco maiores de 3µg/g inibiram a biodegradação do fenantreno.

OUYANG e FITZGERALD (2003) verificaram o metabolismo do fenantreno por fungos. O *Phanerochaete chrysosporium* metabolizou o fenantreno em trans-3,4 e 9,10-dihidrodióis e o *Cunninghamella elegans*, em trans-1,2 e 3,4-dihidrodióis, resultantes da ação sucessiva das monoxigenases e epóxi-hidrolases. Os trans-dihidrodióis sofreram desidratação e formaram os fenantróis. Os produtos finais resultantes da detoxificação do fenantreno por *Phanerochaete chrysosporium* e *Cunninghamella elegans* foram 9-fenantril-beta-D-glucopiranoside e 1-fenantril-beta-D-glucopiranoside, respectivamente.

### 3.4 Respirometria

#### 3.4.1 Fundamentos da respirometria

Como mencionado anteriormente, a respiração microbiana é definida como a produção metabólica de adenosina trifosfato (ATP), a partir de compostos orgânicos ou inorgânicos, doadores de elétrons, a compostos inorgânicos, como o  $O_2$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$  e  $SO_4^{2-}$ , aceptores finais de elétrons. Na respiração aeróbia, a ATP é produzida a partir dos elétrons removidos do substrato, que são transferidos por uma cadeia de transporte de elétrons, até chegar ao oxigênio – acceptor final (SPANJERS, 1998).

A respiração ocorre em três etapas fundamentais (Figura 5). A primeira é a glicólise, na qual a glicose, através de uma série de reações, é transformada em duas moléculas de ácido pirúvico. A glicólise é independente da presença de oxigênio, podendo ocorrer também em condições anaeróbias. Nesta etapa, são formadas duas moléculas de ATP. Na segunda etapa, o ácido pirúvico é oxidado a ácido acético e o radical acetil combina-se com a coenzima A, formando a acetil CoA. Depois, o radical acetil é transferido da coenzima A para o ácido oxalacético, formando o ácido cítrico. Este ácido sofre uma série de reações no ciclo de Krebs, onde ocorrem duas descarboxilações, liberando dióxido de carbono e hidrogênio, e são consumidas três moléculas de água para, ao final, ser regenerado o ácido oxalacético. Em uma seqüência de transformações, tem-se: ácido cítrico, ácido isocítrico, ácido  $\alpha$ -cetoglutárico, ácido succínico, ácido fumárico,

ácido málico e ácido oxalacético. Na terceira fase da respiração, os elétrons são transportados por uma cadeia, através de várias substâncias, que vão liberando gradativamente a energia, que será utilizada na fosforilação oxidativa, ou seja, na síntese da ATP. Na respiração aeróbia, o último elemento desta cadeia transportadora é o oxigênio e os produtos finais são o gás carbônico e a água (BRAILE e CAVALCANTI, 1993 e TORTORA, FUNKE e CASE, 2000).

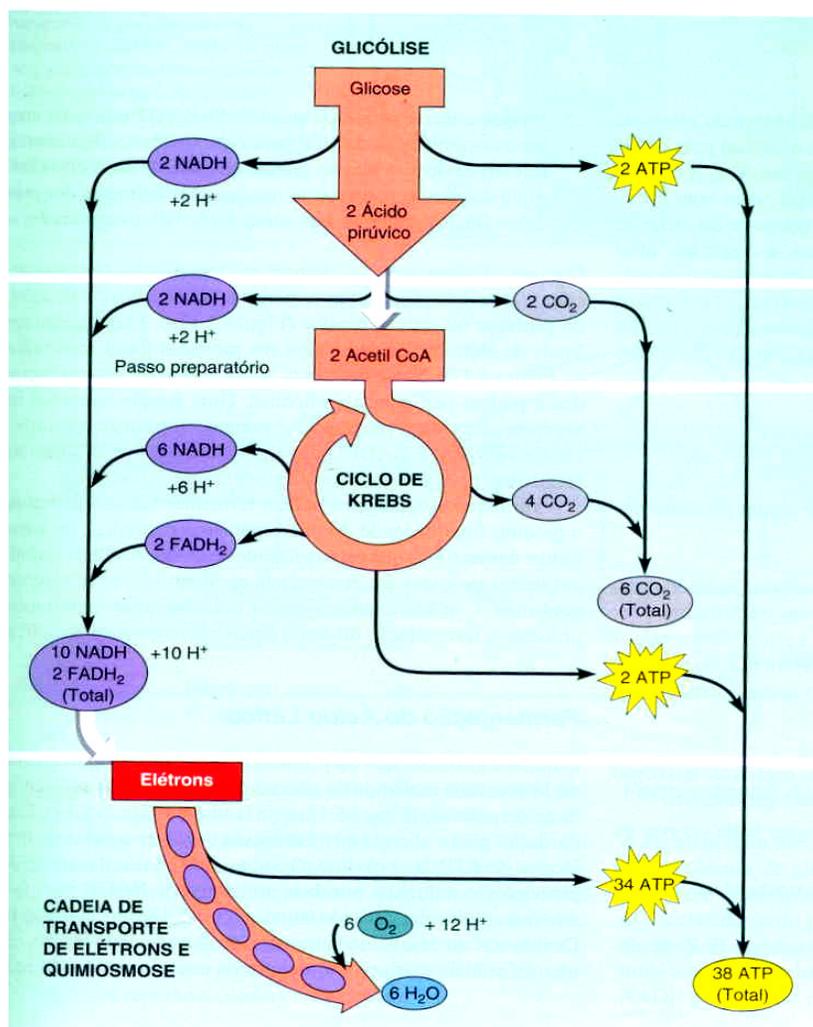


Figura 5: Representação simplificada da respiração aeróbia (TORTORA, FUNKE e CASE, 2000).

A reação que resume a respiração aeróbia pode ser representada da seguinte maneira (TORTORA, FUNKE e CASE, 2000):



Durante a decomposição da matéria orgânica do solo, poderão predominar processos aeróbios ou anaeróbios, dependendo da pressão parcial de  $\text{O}_2$ . Em condições aeróbias, a atividade respiratória pode ser facilmente avaliada através da determinação do gás carbônico gerado pela atividade microbiana, em condições controladas (pH, temperatura, umidade, nutrientes e oxigênio), ou em campo, ao longo de um tempo determinado (MARTOS e MAIA, 1997). Porém, existem alguns compostos orgânicos, como o 2,4 dinitrofenol, por exemplo, que desacoplam a fosforilação oxidativa, ou seja, o transporte de elétrons ocorre normalmente até o oxigênio, mas não há geração de ATP. Nestes casos, ocorre uma alta concentração de ADP e não há como monitorar a biodegradação pela respirometria (SCHNEIDER, 1987).

De acordo com ANDERSON e DOMSCH (1978) e WARDLE (1994) apud LOPES (2001), em uma amostra de solo, pode-se avaliar a respiração basal (degradação da matéria orgânica pré-existente) ou a induzida pelo substrato, pela adição de matéria orgânica, que pode ser de fácil biodegradação, como por exemplo, a glicose (ANDREO, 1999 e MINHONI, EIRA e CARDOSO, 1990) ou persistente (CARRARA, 2003 e CAPPI, 2004), como o fenantreno.

Além de avaliar a respiração basal e a induzida pelo substrato, o teste respirométrico permite ainda estimar o tempo para a estabilização de contaminantes orgânicos e detectar uma possível toxicidade dos mesmos aos microrganismos (NUVOLARI, 1996; FERNANDES et al., 2001 e SAPIA e MORITA, 2003).

De acordo com MOREIRA (2002), a respiração é um dos mais antigos parâmetros para quantificar a atividade microbiana e pode ser avaliada não só pela geração do gás carbônico, mas também pelo consumo de oxigênio.

A taxa de respiração é geralmente monitorada em respirômetros, que podem ser desde simples frascos operados manualmente e que contém uma solução alcalina para dissolver o gás carbônico gerado ou são acoplados a equipamentos para a medição do oxigênio dissolvido no sistema, até os mais complexos, de operação totalmente automática. Os respirômetros podem operar em fluxo contínuo ou em batelada (SPANJERS, 1998).

A determinação do oxigênio consumido na respiração microbiana pode ser feita pelo monitoramento da concentração de oxigênio dissolvido no sistema, através de respirômetros manométricos ou volumétricos (ROS, 1993). Pode-se, também, monitorar a concentração de gás carbônico através da titulação, como no teste respirométrico de Bartha (NUVOLARI, 1996; ALBUQUERQUE, 2000 e CARRARA, 2003) ou pelo sistema FIA (Flow Injection Analysis)/condutométrico (ANDREO, 1999 e ALMEIDA, 1998).

O respirômetro Warburg (Figura 6) é um exemplo de respirômetro manométrico utilizado para monitorar o oxigênio consumido pelos microrganismos contidos numa amostra. O consumo de oxigênio é indicado pela redução da pressão no sistema, mantido sob volume constante. O gás carbônico, liberado pela respiração, é dissolvido numa solução de KOH, contida dentro do respirômetro, para não interferir na pressão do sistema e, conseqüentemente, no resultado do experimento (ROS, 1993).

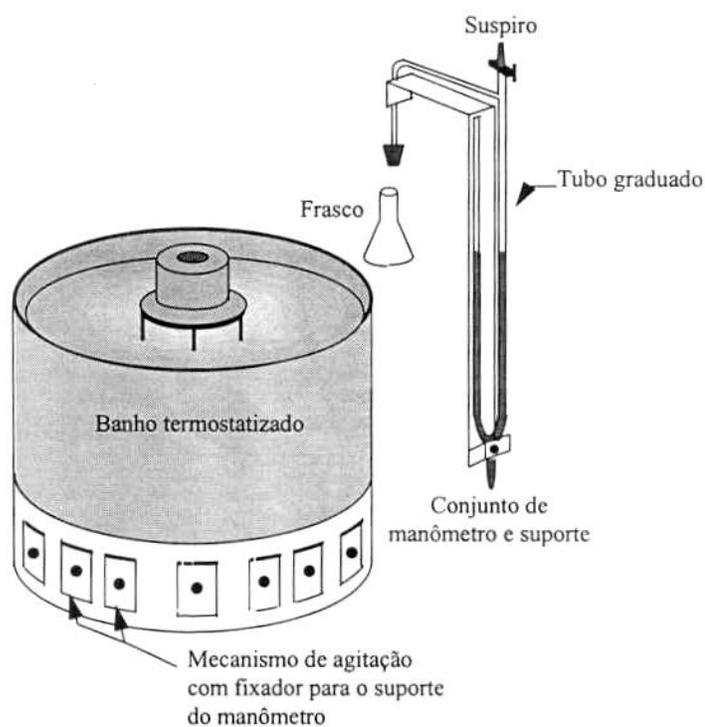


Figura 6: Esquema do respirômetro de Warburg (CARL et al., 1981 apud LEITE, 1997).

O respirômetro SaproMat (Figura 7) é utilizado para a medição volumétrica do oxigênio consumido, sendo conectado a uma célula eletrolítica, que fornece oxigênio puro ao sistema, quando há decréscimo de pressão. A quantidade de oxigênio consumida é

automaticamente registrada e o gás carbônico gerado é dissolvido numa solução alcalina, localizada num compartimento independente, dentro do respirômetro.

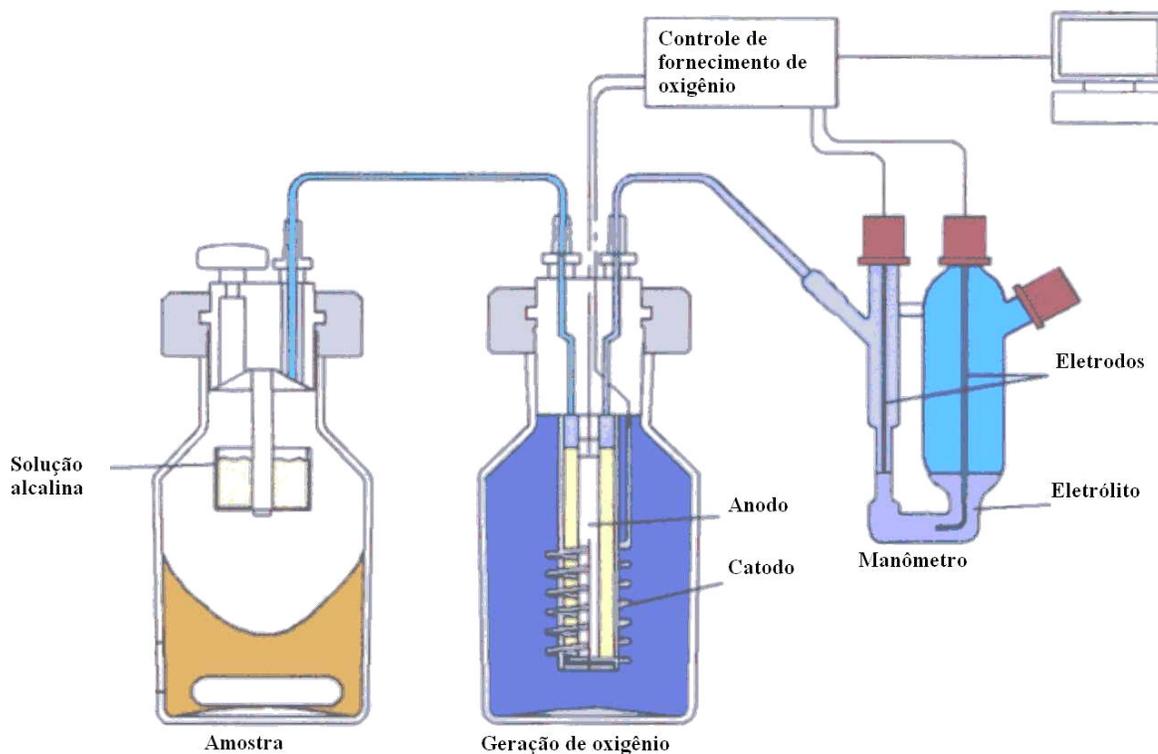


Figura 7: Esquema simplificado do respirômetro Sapromat (Adaptado de MÜLLER e SCHÄFER, 2002).

O método FIA/conducométrico é utilizado para determinar o gás carbônico gerado durante a atividade microbiana num respirômetro. É baseado na difusão do gás carbônico, que foi capturado e dissolvido numa amostra alcalina, através de uma membrana de Teflon, que é hidrófoba, permitindo somente a passagem de gases para um fluxo de água desionizada. Ao entrar em contato com este fluxo, o gás carbônico reage e dissocia-se, formando íons  $H^+$  e  $HCO_3^-$ , que geram um gradiente de condutividade,

registrando um pico de altura proporcional à concentração do gás carbônico da amostra (ALMEIDA, 1998).

NOWAKOWSKI e ZITRIDES (1992) apud NUVOLARI (1996) apresentaram diversos tipos de respirômetros eletrolíticos de fluxo contínuo para determinar a geração de gás carbônico em amostras de efluentes líquidos e solos. Os sistemas de fluxo contínuo são constituídos por câmaras de incubação, que recebem, continuamente, um fluxo de ar que, ao passar pela câmara, arrasta o gás carbônico gerado pelos microrganismos. Na saída da câmara, o ar é borbulhado em uma solução alcalina para remoção do gás carbônico, que é quantificado, em sistema contínuo, por método químico. Esses respirômetros são, geralmente, acoplados a microcomputadores e apresentam a vantagem de uma resposta mais rápida e precisa.

O gás carbônico também pode ser quantificado através da titulação de uma solução de KOH ou NaOH contendo o gás dissolvido, como acontece no teste respirométrico de Bartha, padronizado pela norma brasileira NBR 14283 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1999). O respirômetro de Bartha é um sistema fechado, constituído de duas câmaras interligadas, onde ocorrem, na primeira, a biodegradação dos compostos orgânicos por microrganismos nativos ou introduzidos no solo e a produção do gás carbônico, que é transferido para a segunda câmara, onde se dissolve numa solução de hidróxido de potássio (Figura 8). A quantificação do gás carbônico é feita regularmente pela retirada e titulação da solução de hidróxido de potássio com solução de ácido clorídrico. Este teste tem sido utilizado pela sua simplicidade e baixo

custo (NUVOLARI, 1996 e ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1999). Cabe ressaltar que a temperatura de incubação recomendada pela NBR 14283 é de 28°C, temperatura esta que foi adaptada para o clima tropical, pois a norma anterior que padronizava o teste, a Norma L6. 350, da CETESB (1990), recomendava 20°C.

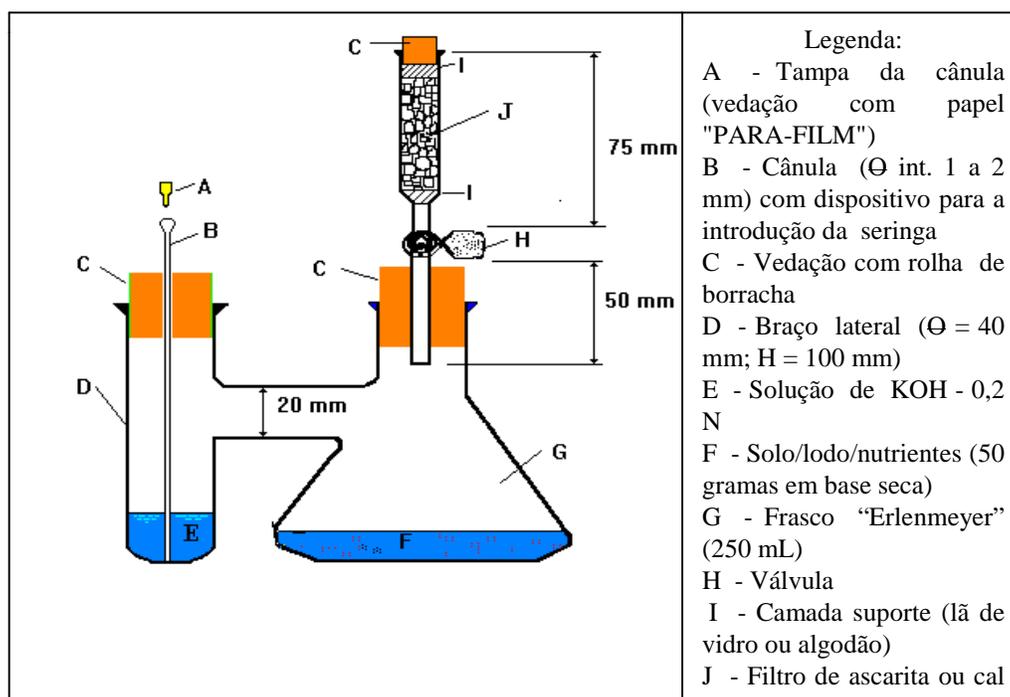


Figura 8: Esquema do respirômetro de Bartha (CARRARA, 2003)

### 3.4.2 Estudos de caso

MINHONI, EIRA e CARDOSO (1990) adotaram o teste respirométrico proposto por EIRA e PACCOLA (1980) para avaliar o efeito da adição de nitrogênio e fósforo na biodegradação de palha de soja, palha de milho, bagaço de cana, vinhaça e glicose em latossolo vermelho-amarelo, com pH de 5,1. O solo contendo a matéria orgânica e os

nutrientes (fósforo e nitrogênio) foram incubados em percoladores de PVC, a 28° C, e o gás carbônico gerado devido à biodegradação foi capturado num sistema composto por dois tubos vedados, contendo NaOH. A geração de gás carbônico foi determinada por titulometria com uma solução de HCl. Os pesquisadores verificaram que a adição de matéria orgânica aumentou a atividade microbiana em até 10 vezes, dependendo do tipo de matéria orgânica e nutrientes adicionados, principalmente nos primeiros dias de incubação. As maiores velocidades de decomposição foram observadas para a glicose e a vinhaça e a adição simultânea de fósforo e nitrogênio aumentou significativamente a produção de CO<sub>2</sub>.

GRAVES, LANG e LEAVITT (1991) utilizaram um sistema computadorizado para monitorar o consumo de oxigênio na biodegradação de 18 hidrocarbonetos aromáticos em solo e água subterrânea, por microrganismos adaptados. Os hidrocarbonetos aromáticos monitorados e suas respectivas concentrações iniciais, em amostras contendo uma proporção de água subterrânea:solo de 10:1, foram: o benzeno (2.891 ng/500mL), o etilbenzeno (1.357 ng/500mL), o tolueno (2.389 ng/500mL), o acenafteno (2.725.000 ng/500mL), o acenaftileno (5.316.500 ng/500mL), o antraceno (8.267.000 ng/500mL), o benzo(a)antraceno (10.332.000 ng/500mL), o benzo(e)fluoranteno (7.086.000 ng/500mL), o benzo(k)fluoranteno (10.038.500 ng/500mL), o benzo(a)pireno (8.857.000 ng/500mL), o benzo(g,h,i)perileno (1.952.000 ng/500mL), o criseno (8.561.000 ng/500mL), o fluoranteno (29.233.500 ng/500mL), o fluoreno (7.981.500 ng/500mL), o indeno(1,2,3-cd)pireno (5.015.000 ng/500mL), o naftaleno (17.719.500 ng/500mL), o fenantreno (35.436.000 ng/500mL) e o pireno (2.292.500 ng/500mL). O sistema era

composto por respirômetros independentes, contendo solo e água subterrânea, em diferentes proporções, simulando “slurry phase”. Foram adicionados nutrientes e o pH foi mantido entre 6,0 e 8,0. Os respirômetros foram incubados à temperatura de 25° C. O gás carbônico gerado era removido do sistema pela dissolução em uma solução de NaOH. No respirômetro contendo apenas água subterrânea contaminada, o consumo de oxigênio acumulado foi de aproximadamente 40 mg, no período de 500 horas, e não foi estimulado pela adição de nutrientes. Nos respirômetros contendo proporções de água subterrânea e de solo de 50:1 e 10:1, os consumos de oxigênio acumulados foram de aproximadamente 80 e 110 mg, respectivamente, sendo estimulados pela adição de nutrientes, efetuada duas vezes ao longo dos 500 dias de monitoramento. Os testes respirométricos também mostraram a interferência da contaminação por mercúrio (100 mg/L) na biodegradação dos compostos orgânicos. No respirômetro contendo apenas água subterrânea, não houve consumo de oxigênio, porém a biodegradação não foi afetada no respirômetro contendo solo e água subterrânea na proporção de 10:1. O consumo de oxigênio foi novamente estimulado pela adição de nutrientes. Os resultados dos testes respirométricos indicaram que 40 a 60% do carbono orgânico dissolvido podiam ser removidos por microrganismos aeróbios em amostras diluídas. Assim, foi construído um biorreator em escala piloto e foi verificada a remoção de 60% do carbono orgânico dissolvido, confirmando os resultados obtidos nos testes respirométricos.

BARRETO (1995) realizou um estudo comparativo de três sistemas de respirometria, que quantificavam o gás carbônico gerado pela atividade microbiana: dinâmico, fechado e semi-aberto. No sistema dinâmico, um fluxo de ar, isento de gás carbônico,

atravessava os frascos contendo a amostra de solo com resíduo e, na saída, era encaminhado a dois frascos contendo soluções de NaOH, que retinham o gás carbônico. No sistema fechado, um recipiente contendo a solução de NaOH era introduzido no frasco contendo a amostra de solo e resíduo. Periodicamente, os frascos eram abertos para a troca da solução e aeração do sistema. O sistema semi-aberto era idêntico ao fechado, porém foi feito um orifício de 5mm de diâmetro para permitir as trocas gasosas continuamente. Um chumaço de lã de vidro foi colocado no orifício. As trocas e as titulações das soluções de NaOH com HCl foram feitas, em intervalos iguais, para os três sistemas, que ficavam armazenados à temperatura ambiente. Os resultados mostraram que o sistema semi-aberto era inadequado, devido à perda de gás carbônico e provável entrada insuficiente de oxigênio. Os resultados dos sistemas dinâmico e fechado foram equivalentes e o pesquisador adotou este último para verificar a biodegradação de composto de resíduo sólido domiciliar e de três tipos de lodo: resultante do processamento de cana de açúcar, do tratamento de esgoto doméstico e petroquímico, em dois diferentes tipos de solo: Latossolo Vermelho-Escuro e Areia Quartzosa distrófica. Para todas as amostras, as perdas de carbono variaram de 52 a 66%, no período de 20 dias de incubação.

NUVOLARI (1996) utilizou o teste respirométrico de Bartha para determinar a melhor taxa de aplicação de lodo de esgoto doméstico, proveniente do tratamento por valo de oxidação, num solo argilo-arenoso, com pH de 6,8. A melhor taxa de aplicação foi de 5 toneladas por hectare, sendo o tempo necessário para biodegradação total da matéria orgânica do lodo em torno de 20 dias.

REIS (1998) investigou a interferência da temperatura no teste respirométrico de Bartha, para amostras de Cambissolo, com aplicação dos seguintes materiais: vinhaça, feijão de porco (tipo de leguminosa), esterco bovino, lodo de esgoto doméstico e turfa. Em todos os testes respirométricos, realizados a 30° C, houve aumento da velocidade de biodegradação e da quantidade de CO<sub>2</sub> produzido em relação à temperatura de incubação de 20° C. Os resultados mais significativos foram obtidos nos testes com feijão de porco e vinhaça, que apresentaram aumento de 45% e 32% na velocidade de degradação e de 24% e 9%, na quantidade de gás carbônico gerado, respectivamente.

OU (2000) avaliou a influência da adição de surfactantes na biodegradação do fenantreno e do pireno, pela *Mycobacterium sp.*, através do respirômetro SAPROMAT. O alquil benzeno sulfonato linear (LAS) sozinho, em concentrações de 5 até 450 mg/L, inibiu a atividade microbiana. As taxas de respiração nos respirômetros com o surfactante foram menores que no controle, indicando que as bactérias não conseguiram utilizar esta fonte de energia. Entretanto, a adição do LAS, nas concentrações de 5 e 10 mg/L, em amostras contendo fenantreno, ocasionou um aumento da atividade respiratória em 16 e 12%, respectivamente, em comparação com as amostras contendo somente fenantreno. A adição de um surfactante catiônico (TDTMA – bromato de tetradeciltimetramônio) inibiu a respiração de amostras contendo ou não fenantreno e a presença de um surfactante não iônico (Tween-80), numa concentração de 80 mg/L, aumentou o consumo de oxigênio pelas *Mycobacterium sp.* em 20%, na presença de fenantreno, e em 120%, na sua ausência.

FORTES NETO (2000) e LOPES (2001) adotaram o sistema respirométrico fechado para avaliar a atividade microbiana em amostras de Latossolo Vermelho-Amarelo, contendo lodo das Estações de Tratamento de Esgotos de Barueri e de Franca, operadas pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP). A temperatura de incubação foi de 28° C. FORTES NETO (2000) verificou que a produção de gás carbônico variava significativamente com as taxas de aplicação do lodo e com o tempo de amostragem: de 90 mg por grama de solo para a taxa de aplicação de 40 toneladas de lodo por hectare, no décimo quinto dia, até 4.500 mg/g para 60 toneladas por hectare, no trigésimo dia. O período necessário para a decomposição do lodo foi de 240 dias, para taxas de aplicação de 10 e 20 toneladas de lodo por hectare. LOPES (2001) aplicou taxas de lodo de 6 até 48 toneladas por hectare, em solo argiloso, e verificou que após 16 semanas de monitoramento, a produção do gás carbônico nos respirômetros teste ainda superava a do controle.

ALBUQUERQUE (2002) utilizou o teste respirométrico de Bartha para verificar a biodegradação de compostos fenólicos, presentes na areia de moldagem de machos de uma indústria de freios, num solo argilo-arenoso, apresentando pH = 6,4, por microrganismos indígenas e adaptados. Os respirômetros foram incubados a 28° C, durante 90 dias. O teor inicial de compostos fenólicos nas amostras era de 164 mg/kg. Nestes experimentos, o pH do solo não foi corrigido para 7,0. Após 30 dias de incubação, o respirômetro controle, contendo apenas os microrganismos indígenas, apresentou redução de 85,8% do fenol, enquanto o respirômetro contendo os microrganismos adaptados, 91,8%.

CARRARA (2003) utilizou o método respirométrico de Bartha para verificar a biodegradação do ftalato de di-2-etilhexila (DEHP), tipo de plastificante utilizado como matéria-prima na fabricação do PVC, por microrganismos indígenas e adaptados, estes últimos provenientes do sistema de tratamento biológico de águas residuárias de uma indústria de plastificantes. O solo utilizado nos experimentos apresentava pH de 4,9, mas foi ajustado para 7,5 com a adição de 20 mg de  $\text{CaCO}_3$ /10 g de solo seco. Os resultados dos testes respirométricos mostraram que não houve biodegradação do DEHP por microrganismos indígenas, porém foram verificadas reduções superiores a 99 e 96% do poluente, para 10 mg de DEHP por quilo de solo em 71 dias de incubação e 100 mg/Kg em 40 dias, respectivamente, com a aplicação dos microrganismos adaptados. Após os testes respirométricos, foi realizada uma simulação de um tipo de tratamento biológico – “slurry phase” – para verificar a reprodutibilidade da biodegradação do DEHP em escala piloto por microrganismos adaptados. Foram utilizados 500 kg de solo, contaminados com 57,5 mgDEHP/kg, 70% da capacidade de campo e adição de nutrientes. Após 49 dias, foi verificada a redução de 99,5% do poluente.

CAPPI (2004) adotou o sistema respirométrico fechado para avaliar possíveis danos à microbiota de um Latossolo Vermelho eutroférico, decorrentes da disposição de grânulos de pneu. Nos testes respirométricos, com diferentes taxas de aplicação, de 360 até 1.440 mg/kg, não foram verificados efeitos negativos à microbiota e constatou-se degradação parcial de alguma fração do carbono proveniente do pneu. Os respirômetros foram incubados por 80 dias a 26° C.

ANDRADE (2004) quantificou o gás carbônico gerado pela atividade microbiana em amostras de latossolo contendo cinco tipos de lodo de esgoto, resultantes de tratamento anaeróbio e de lagoas de estabilização e submetidos a diferentes tipos de condicionamento, desaguamento ou compostagem. A determinação do gás carbônico gerado, que foi dissolvido numa solução de hidróxido de sódio, foi realizada através da medida da condutividade elétrica. Os respirômetros foram incubados a 28° C. O valor médio da taxa de degradação dos cinco tipos de lodo de esgoto foi de 21,63%, no período de 70 dias, sendo que a aplicação inicial foi de 40 toneladas de lodo por hectare. A maior taxa de degradação ocorreu, em média, nos primeiros oito dias de incubação. As menores taxas de degradação foram verificadas para o lodo resultante de lagoas de estabilização com tempo de detenção de cerca de um ano (7,16%) e para o mesmo tipo de lodo submetido à compostagem (5,38%). Isto ocorreu, provavelmente, pela maior estabilidade biológica destes materiais.