



## AVALIAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE PLANTAS DE MANGUE SUBMETIDAS À CONTAMINAÇÃO POR ÓLEO BRUTO E DIESEL

***Novotny, Etelvino Henrique<sup>1\*</sup>; Rodrigues, Aline Furtado<sup>2</sup>; Balieiro, Fabiano de Carvalho<sup>1</sup>; Carmo, Flávia Lima<sup>3</sup>; Rosado, Alexandre<sup>3</sup>; Peixoto, Raquel<sup>3</sup>***

Palavras Chaves: Fitorremediação, FTIR, Quimiometria

### Resumo

Manguezais são ecossistemas frágeis e vulneráveis aos constantes derrames acidentais de petróleo e/ou seus derivados. O conhecimento da susceptibilidade da sua vegetação, assim como potenciais espécies fitorremediadoras é fundamental quando se pensa em estratégias mitigadoras e na avaliação do impacto ambiental desses acidentes. A espectroscopia na região do infravermelho médio é uma ferramenta poderosa e versátil para a análise de materiais ambientais, porém, devido à complexidade desses materiais e intensa sobreposição das bandas vibracionais pode-se lançar mão de técnicas quimiométricas para auxiliar na interpretação dos espectros. No presente caso, a contaminação com óleo bruto e diesel alterou sensivelmente a composição química foliar de três espécies de plantas de mangue, diminuindo o conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta. Essa conclusão só foi possível após isolar-se, matematicamente, o efeito da contaminação das amostras por sedimento ocorrida durante a condução do experimento.

### Introdução

Existe atualmente uma série de técnicas de engenharia que auxiliam na remediação de áreas contaminadas por compostos orgânicos, como o uso de barreiras reativas, extração de vapores, *solvent flushing*, *pump and treat*<sup>1,2,3</sup>. Porém, aquelas que utilizam microrganismos (biorremediação) como intermediadores da descontaminação merecem destaque devido à facilidade de crescimento e manipulação (inclusive genética), o baixo custo de implantação quando comparados com outras tecnologias e sua eficiência, uma vez que atua *in situ*, utilizando rotas metabólicas dos próprios microrganismos e evitando o uso de tratamentos físicos ou químicos mais drásticos. A fitorremediação é uma técnica em que plantas são utilizadas para facilitar a remoção de contaminantes de solos e águas subterrâneas. Espécies de plantas e microrganismos podem ser selecionadas para extrair e assimilar ou extrair e quimicamente decompor os contaminantes<sup>4,5,6</sup>.

Os manguezais da região tropical do planeta têm sofrido redução acentuada da sua cobertura original, principalmente por atividades antrópicas. A contaminação desses ecossistemas por derrames acidentais de óleo e/ou derivados representa uma ameaça à biodiversidade local e às

<sup>1</sup> Embrapa Solos  
\* etelvino@cnpq.embrapa.br

<sup>2</sup> PUC-Rio

<sup>3</sup> IMPPG/UFRJ

Apoio Financeiro: CNPq e FAPERJ



comunidades que dele dependem. Por isso, esforços no sentido de se conhecer a sensibilidade e, ou tolerância de espécies a contaminantes diversos nesse tipo de ambiente, bem como a capacidade de remediar tais impactos devem ser incentivados. A espectroscopia na região do infravermelho é uma excelente ferramenta para a caracterização da matéria orgânica ambiental e suas baixas resolução e especificidade podem ser contornadas com o emprego de técnicas quimiométricas, das quais a Análise por Componentes Principais (PCA) se destaca. Algumas características interessantes dessa técnica para a interpretação de espectros de amostras complexas são: redução da dimensão do conjunto de variáveis originais; detecção da eventual estrutura nesse conjunto de dados; e ortogonalidade da solução, i.e., as novas variáveis geradas são não correlacionadas, de forma que é possível isolar-se fontes de variações, desde que essas sejam aditivas.

Diante do exposto, conduziu-se um experimento em casa de vegetação visando avaliar-se o efeito da contaminação com hidrocarbonetos (óleo bruto e diesel) na composição química foliar de três espécies de plantas de mangue utilizando-se a espectroscopia na região do infravermelho e PCA.

## Material e Métodos

Propágulos de 3 espécies de plantas de mangue (*Laguncularia racemosa*- Lag, *Rhizophora mangle* – Riz e *Avicennia schaueriana* - Avi) foram plantados em sacos plásticos com aproximadamente 350 g de sedimento, e mantidos em casa de vegetação por 3 meses até que fossem transplantadas para vasos com 1,5 L. O volume do vaso foi completado por meio de uma nova coleta de sedimento. Após 8 meses de estabelecidas, os vasos foram contaminados com óleo bruto ou diesel (na proporção de 4%, em volume).

Após 135 dias, plantas contaminadas e não contaminadas das três espécies foram colhidas para avaliação espectroscópica de suas folhas. Amostras desses tecidos foram secas até peso constante em estufa com ventilação forçada a 50°C e moídas utilizando-se N<sub>2</sub> líquido. As amostras assim obtidas foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho médio (4000 – 400 cm<sup>-1</sup>) nos modos de transmitância (pastilhas de KBr) e reflectância difusa (DRIFT), também diluídas em KBr, mas em pó. Os espectros obtidos foram submetidos à PCA.

## Resultados e Discussão

Os espectros originais obtidos por DRIFT e por transmitância diferiram significativamente, especialmente quanto à linha de base e na região de menor energia. Esse efeito se deve, provavelmente, às menores capacidade de penetração e sensibilidade do detector dessa radiação de menor energia, agravadas no DRIFT pela imperfeição da superfície da amostra. Essa diferença é explicitada na PCA dos dados brutos (espectros normalizados pela área e centrados na média), onde 75% da variabilidade é devido à essa diferença (dados não mostrados).

Porém, esses efeitos são minimizados pelo pré-processamento dos espectros, tais como correção do espalhamento e derivadas, visto que após essas correções não houve mais o agrupamento das amostras devido aos modos de aquisição dos espectros.

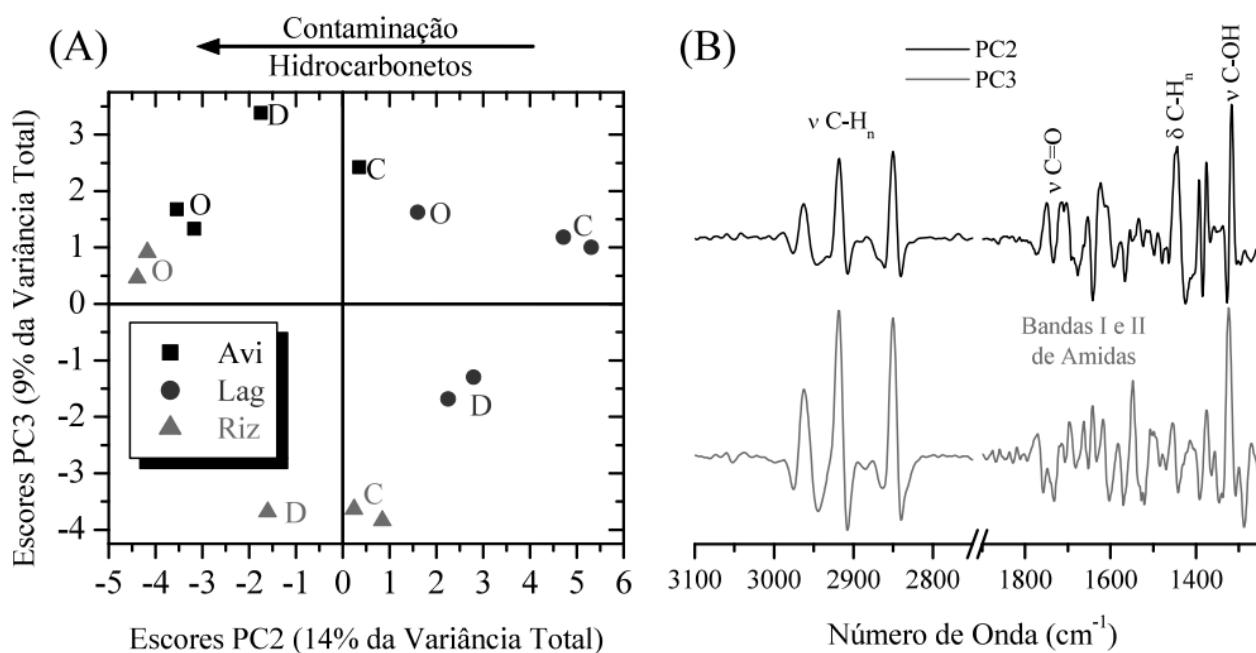
Houve um problema de contaminação por sedimentos durante a coleta das amostras, o que ficou evidenciado na primeira PC (44% da variabilidade total), visto que os carregamentos dessa



apresentaram bandas típicas de argilominerais (caulinita). Os escores dessa PC (contaminação), juntamente com a segunda PC, geraram um agrupamento espúrio das espécies estudadas, evidenciando a importância da análise dos carregamentos, ou seja, avaliar que variáveis mais contribuíram para o agrupamento e se há uma relação de causa-efeito entre essas variáveis e o padrão de agrupamento observado.

Devido à ortogonalidade das componentes principais, essa contaminação é isolada nessa PC e, ao se analisar as demais componentes, outras fontes de variação são consideradas. No presente caso, a PC2 e PC3 agruparam as espécies estudadas, com 14 e 9% da variância capturada, respectivamente.

A PC2 teve uma relação direta com os tratamentos (contaminação com hidrocarbonetos), especialmente para o DRIFT (Figura 1A), visto que no modo de Absorbância o controle da espécie *A. schaueriana* não se diferenciou das contaminadas.



**Figura 1.** (A) Escores da segunda e terceira PC obtidas a partir dos espectros de DRIFT. (B) Carregamentos da segunda e terceira PC obtidas a partir dos espectros de DRIFT. C = Controle; D = Diesel; O = Óleo bruto. Avi = *A. schaueriana*; Lag = *L. racemosa*; Riz = *R. mangle*.

Pela análise dos carregamentos é possível inferir que essa PC é caracterizada por bandas típicas de ácidos graxos (Figura 1B), tais como vibrações de grupos metila e metileno saturados (estiramentos a 2964, 2918 e 2850 cm<sup>-1</sup> e deformação angular a 1376 e 1445 cm<sup>-1</sup>) e de grupos carboxilas (estiramento de C-OH a 1317 e de C=O a ~1730 cm<sup>-1</sup>). Esses ácidos graxos provavelmente são de cadeia curta, devido à ausência da banda a 720 cm<sup>-1</sup> ("rocking" de alcanos de cadeia longa).



O interessante é que as amostras controle apresentaram maiores escores para esses carregamentos, evidenciando que a contaminação ou inibiu a síntese de ácidos graxos ou promoveu a solubilização e lavagem desses. Ao se considerar as diferentes espécies observa-se que a *Laguncularia racemosa* apresentou os menores conteúdos desses ácidos graxos.

As bandas do composto puro (óleo) não coincidiram com os carregamentos da PC2, principalmente as bandas de estiramento simétrico e assimétrico dos grupos metílenos, ligeiramente deslocadas para regiões de maior energia no óleo e a ausência da banda em  $720\text{ cm}^{-1}$  observada apenas nesse. Com isso, a princípio pode-se inferir que não houve absorção e translocação dos contaminantes para as folhas, porém estudos posteriores, utilizando técnicas mais apropriadas, tais como cromatografia e ressonância magnética nuclear, deverão ser executadas para confirmar essa hipótese.

A PC3, por sua vez, que auxiliou no agrupamento das diferentes espécies vegetais, apresentou, além dos já mencionados ácidos graxos, bandas típicas de amidas (proteínas), tais como Banda I (estiramento de grupos carbonilas na região de  $1640\text{ cm}^{-1}$ ) e Banda II (estiramento C-N e deformação CN-H na região de  $1570\text{ cm}^{-1}$ ) de amidas, sendo que a espécie *A. schaueriana* apresentou o maior conteúdo de proteínas.

## Conclusões

A contaminação com hidrocarbonetos (óleo bruto e diesel) alterou a composição química foliar das três espécies estudadas, diminuindo o conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta; aparentemente não houve absorção e translocação dos contaminantes para o tecido foliar; apesar das amostras terem sido contaminadas com sedimentos, o emprego da PCA possibilitou isolar essa fonte de variação e a análise dos efeitos da contaminação independente dessa contaminação; a PCA e quimiometria são apenas ferramentas matemáticas que auxiliam sobremaneira na interpretação dos resultados, entretanto o conhecimento químico das técnicas empregadas e do problema em si jamais poderão ser desprezados.

## Referências

- <sup>1</sup> SCHIPPER L. A., VOJVODIC-VUKOVIC M. Five years of nitrate removal, denitrification and carbon dynamics in a denitrification wall. **Water Research** v.35 p. 3473-347, 2001.
- <sup>2</sup> DING A., ZHANG Z., FU J., CHENG L. Biological control of leachate from municipal landfill. **Chemosphere** v.44 p. 1-8, 2001.
- <sup>3</sup> OLIVEIRA E. Solvent Flushing – Remediação de Fase Residual. **Meio Ambiente Industrial** v.43 p. 41-43, 2003.
- <sup>4</sup> KUIPER I., LAGENDIJK E.L., BLOEMBERG G.V., LUGTENBERG B.J.J. Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions** v.17 p. 6-15, 2004.
- <sup>5</sup> KRÄMER U. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinion in Biotechnology** v.16 p. 133-141, 2005.
- <sup>6</sup> MOREIRA F.M.S., SIQUEIRA J.O. Xenobióticos no solo. In: **Microbiologia e bioquímica do solo**, MOREIRA F.M.S., SIQUEIRA J.O. (Eds). Lavras: Editora UFLA, p: 263-311, 2006.