

**unesp**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO**



---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

---

**ESTUDO DO LODO GERADO EM REATOR BIOLÓGICO, PELO  
TRATAMENTO DA ÁGUA DE PRODUÇÃO DO PETRÓLEO, NO  
TERMINAL MARÍTIMO ALMIRANTE BARROSO, MUNICÍPIO  
DE SÃO SEBASTIÃO, SP. VISANDO SUA DISPOSIÇÃO FINAL**

**Ricardo Consiglierio Guerra**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada)

**RIO CLARO  
2009**

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

---

**ESTUDO DO LODO GERADO EM REATOR BIOLÓGICO, PELO  
TRATAMENTO DA ÁGUA DE PRODUÇÃO DO PETRÓLEO, NO  
TERMINAL MARÍTIMO ALMIRANTE BARROSO, MUNICÍPIO  
DE SÃO SEBASTIÃO, SP. VISANDO SUA DISPOSIÇÃO FINAL**

**Ricardo Consigliero Guerra**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dejanira de Franceschi de Angelis**

Tese apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia do Campus de Rio Claro,  
Universidade Estadual Paulista Júlio  
de Mesquita Filho, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Ciências Biológicas  
(Microbiologia Aplicada)

**RIO CLARO  
2009**

604.6 Guerra, Ricardo Consigliero  
G934e      Estudo do lodo gerado em reator biológico, pelo  
tratamento da água de produção do petróleo, no terminal  
marítimo Almirante Barroso, município de São Sebastião,  
SP. visando sua disposição final / Ricardo Consigliero  
Guerra. – Rio Claro : [s.n.], 2009  
125 f. : il., gráfs., tabs., figs.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Biociências de Rio Claro  
Orientador: Dejanira de Franceschi de Angelis

1. Resíduos. 2. Classificação de resíduos. 3. Toxicidade.  
4. Genotoxicidade. 5. Biodegradação. 6. Salinidade. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI – Biblioteca da UNESP  
Campus de Rio Claro/SP

**Pequena Alice,  
Que seu mundo seja repleto de MARAVILHAS.**

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família, pelo apoio incondicional e amor irrestrito.

À Miriam, amante e companheira. Meu norte em momentos de tempestade.

À Profa. Dra. Dejanira F. de Angelis, que tem forjado minha postura como profissional, guiando-me através do conhecimento, em direção a uma maior compreensão da ciência.

Aos poucos e bons Amigos que tenho cultivado durante minha vida.

Aos Professores, alunos e funcionários do Departamento de Bioquímica e Microbiologia.

Ao programa de formação de recursos humanos (PRH-05) da agência nacional do petróleo, gás natural e biocombustíveis, pela bolsa de estudos, por todo apoio financeiro e pelos cursos oferecidos.

Ao Prof. Dr. Dimas Dias Brito, pela bolsa de estudos e confiança em meu trabalho.

Ao José Maria Cazonatto, secretário do PRH-05, pelo auxílio e e-mails urgentes.

Aos colegas bolsistas do PRH-05, bons companheiros de cursos e congressos.

À Divisão de Biotecnologia e Tratamento Ambientais (BTA) do CEMPES e ao pessoal de SMS e Tratamento de Resíduos do TEBAR.

**MEU MUITO OBRIGADO!**

## A Idéia

De onde ela vem?! De que matéria bruta  
Vem essa luz que, sobre as nebulosas,  
Cai de incógnitas criptas misteriosas  
Como as estalactites duma gruta?!

Vem da psicogenética e alta luta  
Do feixe de moléculas nervosas,  
Que, em desintegrações maravilhosas,  
Delibera, e, depois, quer e executa!

Vem do encéfalo absconso que a constringe,  
Chega em seguida às cordas da laringe,  
Tísica, tênue, mínima, raquítica...

Quebra a força centrípeta que a amarra,  
Mas, de repente, e quase morta, esbarra  
No molambo da língua paralítica!

**Augusto do Anjos**

## RESUMO

A atividade de recuperação do petróleo tem como característica a extração de uma parcela de água misturada ao óleo. Esta água deve ser separada do petróleo antes do processamento pelas refinarias, assim, originando um resíduo conhecido como Água de Produção. Os sistemas projetados para o tratamento deste efluente empregam diferentes métodos, visando atingir maior eficiência na separação dos contaminantes da água. Entretanto, os processos de tratamento geram subprodutos que necessitam de posterior manuseio e descarte. O presente estudo tem como objetivo avaliar o lodo produzido pela etapa de tratamento biológico da água de produção em uma estação piloto de tratamento de efluentes, instalada no Terminal Marítimo Almirante Barroso, localizado no município de São Sebastião, SP, visando a disposição final deste resíduo. Os seguintes procedimentos foram realizados para tal: classificação do resíduo de acordo com os critérios da norma técnica NBR 10.004 “Resíduos Sólidos: classificação”; avaliação da toxicidade do extrato solubilizado do lodo frente à germinação, crescimento da raiz e hipocótilo das espécies *Barbarea verna* Mill., *Brassica oleracea* L., *Cucumis sativus* L. e *Eruca sativa* Mill.; avaliação da toxicidade e genotoxicidade frente ao sistema teste de *Allium cepa* L.; determinação da biodegradação de proporções crescentes do lodo adicionado ao solo inoculado com *chorume*, gerado em aterro sanitário. Os resultados indicam a classificação do lodo, de acordo com os ensaios de Lixiviação e Solubilização, como resíduo não inerte; efeito tóxico sobre a germinação de sementes nas menores concentrações de aplicação do extrato solubilizado; concentração de inibição  $CI_{50}$  para o crescimento da raiz e hipocótilo variando entre 10,49 e 25,06% do extrato solubilizado; indução de efeitos tóxicos às células meristemáticas de *Allium cepa*, evidenciado pela diminuição do índice mitótico e; maior número de células em processo de morte celular e lenta biodegradação do lodo, após período inicial de adaptação dos microrganismos às condições de salinidade, nas maiores taxas de aplicação avaliadas. Desta forma, a destinação final deste resíduo sólido deve ser realizada em aterro específico para a disposição final de resíduos industriais, dotado de medidas para a prevenção da contaminação do solo ou águas superficiais e subterrâneas pela solubilização de elementos nocivos ao ambiente e potencial indução de efeitos tóxicos sobre os organismos expostos.

*Palavras-chave:* classificação de resíduos; petróleo; toxicidade; genotoxicidade; biodegradação; salinidade.

## ABSTRACT

Among the oil extracted from petroleum production fields a great water volume is co-produced. This water must be eliminated prior to oil processing, the resulting wastewater is known as Produced water. Looking for greater treatment efficiency, different methods are coupled for this waste stream treatment. However, all treatment methods have its own byproducts to deal for. The present work objective is to evaluate the ultimate sludge disposal conditions from a pilot oil produced water biological treatment at Terminal Marítimo Almirante Barroso, located at São Sebastião, São Paulo State, Brazil. The following procedures were developed in achieving this intent: NBR 10.004 waste classification procedures; germination and root/hypocotyl elongation sludge solubilization extract toxicity to *Barbarea verna* Mill., *Brassica. oleracea* L., *Cucumis. sativus* L. and *Eruca. sativa* Mill. plant species; *Allium cepa* L. test system toxicity and genotoxicity; sludge biodegradation at different soil application rates. Results indicate sludge waste classification as not inert; sludge solubilization extract toxic effect to seed germination at the lowest tested concentrations; root and hypocotyl elongation IC<sub>50</sub> between 10,49 and 20,06% of sludge solubilization extract concentration; toxicity to *Allium cepa* meristematic cells by mitotic index reduction and cell death induction and; continuous but slow sludge biodegradation rate after microorganisms to salinity adaptation at the highest evaluated sludge application rates. These results lead to ultimate disposal need of a specific industrial landfill, with adequate environmental protection measures to harmful solubilization byproducts from this solid waste and potential toxic effects to exposed organisms.

*Key-words:* waste classification; toxicity; genotoxicity; petroleum; biodegradation; salinity.



# LISTA DE FIGURAS

## PÁGINA

Figura 1. Representação esquemática do processo de recuperação secundária do petróleo. _____	16
Figura 2. Vista aérea do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	46
Figura 3. Píer de atracação do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	46
Figura 4. Tanque nº 3213, armazenamento da água de produção na entrada da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	49
Figura 5. Esquema representando as fases do tratamento da água de produção na Estação de Tratamento de Efluentes, no Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	50
Figura 6. Esquema representando as fases do tratamento da água de produção na nova Estação de Tratamento de Efluentes, que será instalada no do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	51
Figura 7. Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	52
Figura 8. Reservatório de água de produção, na entrada do reator biológico, e amostras do efluente após o tratamento biológico (becker) e lodo biológico (proveta). _____	53
Figura 9. Reator biológico e detalhe do retorno do lodo na região superior do reator, Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	53
Figura 10. Coleta do lodo gerado pelo tratamento biológico da água de produção no Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	55
Figura 11. Plântula de <i>Cucumis sativus</i> representando as estruturas mensuradas. _____	60
Figura 12. Experimento de toxicidade empregando bulbos de <i>Allium cepa</i> . _____	61
Figura 13. Determinação da medida dos feixes radiculares de <i>Allium cepa</i> , após 120 horas de contato com a solução testada. _____	62
Figura 14. Esquema representativo do Respirômetro de Bartha e Pramer _____	64
Figura 15. Respirômetros de Bartha e Pramer durante a realização do ensaio de biodegradação. _____	66
Figura 16. Velocidade média de germinação para as espécies testadas, submetidas à concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	81

Figura 17. Regressão linear da porcentagem média de inibição do crescimento da raiz, em relação ao tratamento controle, das espécies testadas sob concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	83
Figura 18. Regressão linear da porcentagem média de inibição do crescimento do hipocótilo, em relação ao tratamento controle, das espécies testadas sob concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	84
Figura 19 Exemplo do aspecto de plântulas após 120hs de desenvolvimento em contato com as concentrações do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	84
Figura 20. Regressão linear da porcentagem média de inibição do crescimento das raízes do bulbos de <i>Allium cepa</i> , em relação ao tratamento controle, sob concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	91
Figura 21. Aspecto dos bulbos de <i>Allium cepa</i> , após 120hs de contato com as concentrações do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	91
Figura 22. Fases normais da divisão mitótica em células do meristema radicular de bulbos de <i>Allium cepa</i> , submetidos ao contato com diluições do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	96
Figura 23. Alterações cromossômicas e nucleares encontradas no tratamento controle positivo. _____	97
Figura 24. Produção diária de CO <sub>2</sub> devido à biodegradação do lodo biológico. _____	101
Figura 25. Produção acumulada de CO <sub>2</sub> devido à biodegradação do lodo biológico. _____	103
Figura 26. Eficiência da biodegradação obtida pelos tratamentos avaliados no ensaio de biodegradação do lodo biológico. _____	104
Figura 27. Quantificação inicial e final de bactérias heterotróficas nos tratamentos avaliados pelo ensaio de biodegradação do lodo biológico. _____	106

## LISTA DE TABELAS

	PÁGINA
Tabela 1. Caracterização da água de produção da Bacia de Campos, estado do Rio de Janeiro. _____	20
Tabela 2. Capacidade operacional e número de instalações do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	45
Tabela 3. Valores médios da composição da água de produção na entrada da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE). _____	48
Tabela 4. Valores de condutividade elétrica e potencial osmótico das diluições do extrato solubilizado, empregadas nos testes de toxicidade. _____	57
Tabela 5. Tratamentos testados no ensaio de biodegradação do lodo desidratado. _____	65
Tabela 6. Resultado das análises do lodo biológico da ETEpiloto do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP., em estado bruto. _____	68
Tabela 7. Resultados das análises químicas dos ensaios de Solubilização e Lixiviação (mg.L-1), realizado com o lodo biológico da ETEpiloto do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. _____	71
Tabela 8. Porcentagem média de germinação para as espécies testadas, submetidas à concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	77
Tabela 9. Índice mitótico (IM), aberrações cromossômicas (AC), micronúcleo (MN) e morte celular (MC) nas repetições 1 e 2 do teste de genotoxicidade em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> após tratamento com concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. _____	94
Tabela 10. Composição granulométrica do solo proveniente do Aterro Sanitário do município de Rio Claro, SP., utilizado no ensaio de biodegradação do lodo biológico. _____	100
Tabela 11. Análise química dos tratamentos testados no ensaio de biodegradação do lodo biológico (L). _____	100
Tabela 12. Valores inicial e final de condutividade elétrica e pH dos tratamentos testados no ensaio de biodegradação do lodo biológico (L). _____	101

# SUMÁRIO

## PÁGINA

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	12
1.1. Objetivos	13
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	14
2.1. Água de Produção	14
2.2. Características da água de produção	18
2.3. Avaliação da toxicidade e genotoxicidade	22
2.3.1. Ensaio de toxicidade	23
2.3.2. Ensaio de genotoxicidade	27
2.4. Impacto ambiental do descarte da água de produção	29
2.4.1. Toxicidade da água de produção	31
2.4.2. Genotoxicidade da água de produção	32
2.5. Aspectos legais do descarte de resíduos	32
2.6. Processos de tratamento da água de produção	34
2.7. Disposição de resíduos sólidos	40
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	44
3.1. Material	44
3.1.1. Descrição da área de estudo	44
3.1.2. Estação de tratamento de efluentes	47
3.1.3. Estação piloto de tratamento de efluentes	50
3.1.4. Coleta do lodo biológico	52
3.2. Métodos	54
3.2.1. Determinação de parâmetros do lodo em estado bruto	55
3.2.2. Desidratação do lodo	55
3.2.3. Classificação de resíduos sólidos	56
3.2.3.1. Lixiviação do lodo	56
3.2.3.2. Solubilização do lodo	56
3.2.4. Soluções testadas nos ensaios de toxicidade e genotoxicidade	57
3.2.5. Ensaio de toxicidade	58
3.2.5.1. Toxicidade à germinação de sementes	58
3.2.5.2. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo	59
3.2.5.3. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de <i>Allium cepa</i>	61
3.2.6. Genotoxicidade em tecido meristemático radicular de <i>Allium cepa</i>	63
3.2.7. Ensaio de biodegradação do lodo em solo	64
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	68
4.1. Determinação de parâmetros do lodo em estado bruto	68
4.2. Classificação de resíduos sólidos	71
4.3. Toxicidade a germinação de sementes	77
4.4. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo	83
4.5. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de <i>Allium cepa</i>	90
4.6. Genotoxicidade em tecido meristemático radicular de <i>Allium cepa</i>	93
4.7. Ensaio de biodegradação do lodo em solo	100
<b>5. CONCLUSÃO</b>	108
<b>6. REFERÊNCIAS</b>	109

# 1. INTRODUÇÃO

Os ramos da indústria que envolvem a prospecção de matérias primas, o seu transporte, armazenamento e transformação em derivados ou produtos industrialmente processados, em geral, têm como consequência a geração de resíduos sólidos, efluentes líquidos e emissões atmosféricas.

Atualmente, devido a maior sensibilidade da sociedade para com o ambiente, tem-se exigido maior rigor e bom senso dos órgãos de controle ambiental, durante a elaboração de leis e normatizações quanto aos padrões para descarte de resíduos no ambiente. Desta forma, métodos de tratamento de resíduos com maior eficiência e melhores índices de descontaminação vêm sendo pesquisadas e desenvolvidas, para aplicação durante os processos industriais de maior impacto.

A indústria do petróleo é pródiga na produção de resíduos com alta carga tóxica, devido às características intrínsecas de sua matéria prima. Entre esses resíduos, destaca-se, principalmente devido ao grande volume envolvido, a água de produção.

A água de produção pode ser definida como a parcela de água que se separa do óleo durante o armazenamento, composta pela água de formação (água naturalmente presente na formação geológica onde se realiza a prospecção do petróleo) e água de injeção, quando são empregados processos de recuperação secundária do petróleo. Diversos fatores podem influenciar a quantidade de água produzida, entre eles, o estágio de amadurecimento dos campos de petróleo ou sua localização (*onshore* ou *offshore*). No caso particular da exploração e produção de petróleo no Brasil, a prevalência dos campos produtores em áreas *offshore* agrava ainda mais este problema.

O Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), localizado no município de São Sebastião - SP é responsável pelo escoamento de grande parte da produção nacional de petróleo. O óleo cru recebido pelo terminal é armazenado em tanques onde ocorre a separação

óleo/água. O petróleo é enviado para processamento nas refinarias localizadas no Estado de São Paulo, e a água de produção permanece no TEBAR. Antes de seu descarte, esse efluente necessita ser submetido a um processo de tratamento. Em sua composição, além de frações do petróleo imiscíveis em água, traz consigo muitos sais, metais, ácidos orgânicos e alguns hidrocarbonetos dissolvidos. A Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) atualmente em operação no TEBAR, não tem sido capaz de enquadrar seu efluente aos padrões legais de descarte. Dessa forma, uma nova ETE está sendo desenvolvida pelo Centro de Pesquisas da Petrobrás (CENPES). O novo projeto contará com uma etapa de tratamento biológico da água de produção. O tratamento em biorreatores aeróbios tem se mostrado uma tecnologia interessante, devido aos custos e eficiência do processo. Entretanto, esse método é responsável pela geração de um lodo biológico de composição complexa que ainda necessita de uma disposição final ambientalmente adequada.

Apesar das vantagens do tratamento biológico, essa metodologia ainda não é amplamente empregada no tratamento da água de produção. Dessa forma, um número limitado de trabalhos científicos abordam o tema, sendo, os estudos que tratam do lodo produzido pelo sistema biológico de tratamento, inexistentes na literatura científica, até o momento atual.

## **1.1. Objetivos**

Dado o desconhecimento sobre as características do lodo gerado pelo tratamento biológico da água de produção, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma série de estudos para avaliar o nível de periculosidade, indução de efeitos tóxicos e genotóxicos e a biodegradabilidade desse resíduo, a fim de contribuir com a tomada de decisões referentes à disposição final desse resíduo.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Água de produção

A exploração do petróleo representa uma das atividades industriais mais importantes na sociedade moderna, sendo seus derivados amplamente empregados nos diversos ramos da economia mundial. Desta forma, a fim de suprir esta demanda, a exploração de petróleo em plataformas *offshore* tem aumentado nas últimas décadas, devido à exaustão dos campos de petróleo situados em terra (OLIVEIRA *et al.* 2005).

O petróleo é o mineral marinho atualmente mais explorado no Brasil. Segundo dados da Agência Nacional de Petróleo (ANP, 2006), a produção de petróleo em campos submarinos representou quase 83% da produção nacional no ano de 2000. A maior parte das reservas de petróleo de origem marinha encontra-se na Bacia de Campos, situada na margem continental dos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo, perfazendo 95% da produção marinha brasileira (GOMES *et al.* 2000).

As atividades de mineração no ambiente marinho resultam na liberação de substâncias tóxicas que podem ser incorporadas à biota (bioacumulação), ou ser transmitidas para as redes tróficas, acumulando-se nos organismos localizados no ápice desta rede (biomagnificação). Essas substâncias tóxicas, uma vez incorporadas pela biota, podem promover alterações fisiológicas, bioquímicas, genéticas e comportamentais, que por sua vez podem alterar o crescimento, a taxa de reprodução e a sobrevivência das espécies (GOMES *et al.* 2000).

Durante as atividades da indústria do petróleo, desde o estudo da viabilidade de áreas de produção, prospecção, transporte, refino e distribuição dos derivados, diversos resíduos são gerados. Esses podem ser originários das impurezas presentes na composição natural do petróleo ou provenientes de seu processamento (REBHUN; GALIL, 1994).

Assim, os resíduos produzidos ou associados com a produção marítima de petróleo e gás incluem: a água de produção, compostos químicos dos fluídos de perfuração, lamas de perfuração a base de óleo ou água, calha de perfuração e diversos tipos de óleo, incluindo o óleo cru (petróleo), proveniente dos processos de exploração e, óleo combustível ou diesel, de navios e equipamentos empregados na produção de petróleo (HOLDWAY, 2002).

Desta forma, os vários segmentos desta indústria podem agredir ao meio ambiente. No segmento representado pelas atividades de prospecção do petróleo, o poluente mais relevante, particularmente pelo volume envolvido, é a Água de Produção. Esse termo define a água co-produzida com o óleo dos reservatórios e recuperada por meios físicos antes do descarte realizado por plataformas marítimas e terminais de armazenamento (ODEIGAH, *et al.*, 1997; SILVA, 2000).

A água de produção origina-se principalmente da formação geológica responsável por acumular o petróleo, onde ela permanece parcialmente misturada ao óleo. Nos estágios iniciais de desenvolvimento do campo produtor, o conteúdo de água co-produzida é pequeno, mas devido à subsequente entrada de água de fora do reservatório, ou água injetada para ampliar a taxa de recuperação do petróleo, com o passar do tempo a água de produção constitui uma fração crescente da produção, até que se torne inviável a exploração econômica do campo produtor (STROMGREN *et al.*, 1995).

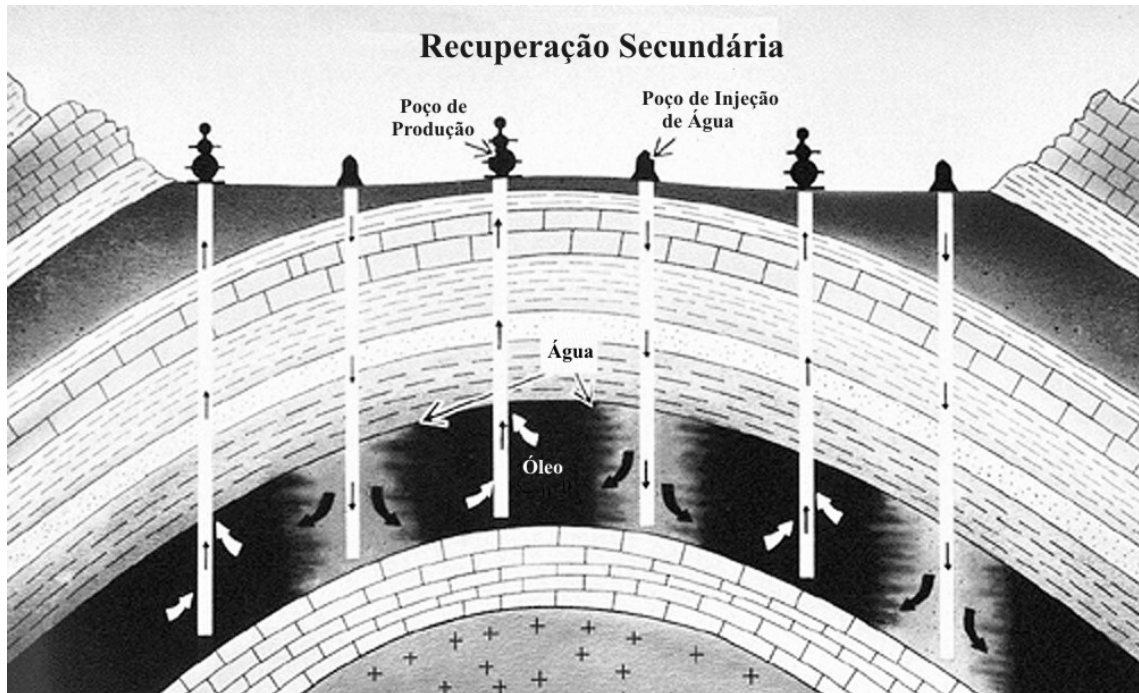
A água de produção normalmente descartada de uma plataforma ou dos terminais de armazenamento de petróleo, após separação do óleo, é composta primariamente pela água de formação, ou seja, água naturalmente associada ao petróleo, dado que muitos reservatórios encontram-se próximos ou associados a aquíferos subterrâneos (WASHBURN *et al.*, 1999).

Durante o período de exploração de um campo de petróleo a água é bombeada em poços de injeção, e comprimida no horizonte produtor com o objetivo de aumentar ou manter a produção de uma determinada zona. Esse objetivo é atingido por meio da manutenção da pressão ou por deslocamento do petróleo na direção dos poços produtores, processo conhecido como recuperação secundária do petróleo.

Em função dos processos de recuperação secundária, o volume de água produzida, potencialmente inclui a água injetada no reservatório. Dessa maneira, a água de produção representa um efluente originado pelo processo de separação da água contida no petróleo, independente de sua origem (HOLDWAY, 2002).



Segundo Oliveira e Oliveira (2000), na produção de petróleo em sistemas que operam com recuperação secundária é comum a co-produção de parte da água empregada no processo de injeção. A consequência desse fato é a geração de grande volume de água, demandando tratamento antes de seu descarte ou reinjeção.



Fonte: University of Wisconsin < <http://www.uwsp.edu/geo/faculty/ozsvath/images/injection%20wells.jpg> >

Figura 1. Representação esquemática do processo de recuperação secundária do petróleo.

A água de produção representa mais de 80% do volume de resíduos gerados pelas atividades de produção e processamento do petróleo em campos terrestres ou plataformas marítimas, assim, torna-se importante que este efluente seja manipulado e disposto de maneira segura para a saúde humana e ambiental (HAYES; ARTHUR, 2004). Nos estágios iniciais de produção, o conteúdo de água produzida, em geral, é pequeno. Entretanto, com o amadurecimento do campo produtor este volume pode atingir uma proporção de 7 a 10 vezes o volume de óleo extraído (STEPHENSON, 1992; MCCORMACK *et al.*, 2001).

Apesar dos avanços tecnológicos nos processos de recuperação avançada do petróleo, muitos poços de produção estão próximos de seu limite econômico. Estes estão sendo selados e abandonados devido aos custos de manutenção da produção, tratamento e disposição dos efluentes se tornarem superiores ao preço de mercado (TELLEZ *et al.* 2005).

A exploração e produção de petróleo, na região que envolve os estados de Sergipe e Alagoas, gera diariamente  $8.500\text{m}^3$  de óleo cru e  $5.000\text{m}^3$  de gás natural, sendo co-produzidos  $33.000\text{m}^3$  de água (DÓREA *et al.*, 2007). No Brasil, em 1998, um volume estimado de 9,3 milhões de  $\text{m}^3$  de água de produção foi descartado no mar pelas sete plataformas fixas da Bacia de Campos (VEGUERIA *et al.*, 2002).

Segundo Jinren *et al.* (2005), atualmente muitos campos produtores na República Democrática da China estão atingindo estágios avançados de maturação, e um grande volume de água é injetado nos reservatórios. Em algumas áreas, a proporção de água produzida chega a atingir 90% da produção. No ano de 1998 a China gerou 410 milhões de  $\text{m}^3$  de água de produção em seus campos de petróleo.

Segundo Lee *et al.* (2002), no estado do Novo México, anualmente são gerados 72 milhões de  $\text{m}^3$  de água de produção. Considerando toda a produção Norte Americana, 2,2 a 2,9 bilhões de  $\text{m}^3$  de água de produção são gerados pelas atividades da indústria de petróleo e gás (API, 2000).

Em 1993 os EUA produziram aproximadamente 2.5 bilhões de barris de óleo cru e 25 bilhões de barris de água. Do efluente total gerado, 65% é re-injetado na mesma formação geológica de onde foi extraído, com o objetivo de manter a pressão do poço produtor. Em torno de 30% é bombeado em poços de injeção profundos, onde naturalmente encontram-se águas salinas. Os 5% restantes (190 bilhões de litros por ano) são descartados em águas superficiais como rios, lagos naturais e artificiais ou para o oceano (USGS, 2002).

O Campo *Salt Creek* localizado no estado de Wyoming nos EUA é um dos mais antigos campos de petróleo da região, sua operação conta com 1.000 poços de produção e 950 poços de injeção. São produzidos em média  $1.590\text{m}^3$  de petróleo e  $119.250\text{m}^3$  de água por dia, do total de água produzida 95% é reinjetada, e o restante é descartada na superfície (SUBLETTE *et al.*, 1998).

As descargas de água de produção devido à produção de petróleo e gás na Noruega, segundo estimativas, aumentou de 26 milhões de  $\text{m}^3$  em 1993 para 120 milhões de  $\text{m}^3$  no ano 2000 (INGA; UTVIK, 1999).

Desta forma, torna-se evidente que o volume de água produzida frequentemente representa um entrave para a produção do petróleo em campos maduros. Assim, o custo do tratamento dessa água tem forte influência sobre a continuidade operacional do campo e sobre a quantidade final de óleo recuperado (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

## 2.2. Características da água de produção

Acredita-se que no interior dos reservatórios as fases de petróleo e água mantenham-se essencialmente separadas e que somente por intervenções nos reservatórios ou durante os processos de produção e movimentação, é que ocorra a formação das emulsões. A presença de sais dissolvidos na água de formação é a origem de vários problemas que se estendem desde as regiões de produção até as refinarias (OLIVEIRA, 2000).

A presença de emulsões tipo água em óleo acarreta, dentre outros problemas, a elevação dos custos de movimentação do petróleo, devido ao aumento de sua viscosidade aparente. No caso das refinarias, as emulsões de petróleo causam outros problemas ainda mais sérios, tais como: corrosão dos equipamentos e diminuição do valor comercial das frações mais pesadas, devido à elevação do teor de cinzas (OLIVEIRA, 2000).

Os componentes da água produzida geralmente incluem minerais dissolvidos oriundos da formação produtora, frações solúveis e insolúveis do petróleo, encontradas em diferentes concentrações, consistindo de uma mistura complexa de compostos orgânicos similares aos encontrados no óleo cru e gás natural. Além de produtos químicos empregados durante o processo de produção, sólidos e gases dissolvidos. Os constituintes individuais cobrem uma ampla faixa de pontos de ebulição, número de carbonos, famílias químicas e isômeros estruturais (SENN; JOHNSON, 1986).

Em geral, o pH da água de produção varia entre valores de 6 a 8, apresentando capacidade de tamponamento devido a presença de bicarbonato (HAYES; ARTHUR, 2004). Muitos hidrocarbonetos presentes na água de produção tornaram-se solubilizados durante sua coexistência em sub-superfície com o petróleo ou gás natural. A água de produção retém compostos orgânicos similares aos existentes no petróleo, consistindo principalmente de n-alcanos. A concentração típica de n-alcanos totais (TNA) varia de 1 a 200mg.L<sup>-1</sup> (TELLEZ *et al.*, 1995).

Os principais grupos de hidrocarbonetos presentes na água produzida ainda incluem: alcenos, alcinos; hidrocarbonetos aromáticos voláteis: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX); hidrocarbonetos poliaromáticos (PAHs), principalmente: naftaleno, fenantreno e dibenzotiofeno; hidrocarbonetos complexos, contendo oxigênio, nitrogênio e enxofre. A maior concentração (aproximadamente 90%) detectada nas águas de produção são alcanos de cadeia linear variando entre 10 e 30 carbonos. Apenas 25% dos alcanos encontrados nas águas de produção apresentam um peso molecular mais alto, com cadeias carbônicas entre C<sub>21</sub> e C<sub>34</sub> (CHAPELLE, 1993; INGA; UTVIK, 1999). Os compostos alifáticos de maior interesse são aqueles mais leves (< C<sub>5</sub>), pois são os mais solúveis em água e contribuem para o total de carbono orgânico volátil (VOC) (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

Compostos aromáticos, tais como: benzeno, tolueno, xileno e naftaleno, são relativamente solúveis na água. Os compostos aromáticos juntamente com os alifáticos, constituem os chamados hidrocarbonetos da água produzida. Os compostos polares, como os fenóis, também são relativamente solúveis na água. Todavia, como estes compostos estão presentes em pequenas quantidades no petróleo, sua concentração na água produzida é menor do que a dos compostos aromáticos (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

Devido à presença de hidrocarbonetos aromáticos nas águas produzidas, a concentração destes compostos é dependente do grau de transformação física da fase aquosa para a gasosa, assim, qualquer processo natural ou mecânico de aeração pode alterar sua concentração. Em média a concentração de benzeno varia de 1,3 a 8,7 mg.L<sup>-1</sup> (TELLEZ *et al.*, 2002).

Entre os principais problemas para o descarte desse efluente, encontra-se a alta concentração de sólidos dissolvidos totais (TDS), variando de 100 mg.L<sup>-1</sup> até valores de 300.000 mg.L<sup>-1</sup> (MENZIE, 1982). Em média, são encontradas concentrações em torno de 50.000 mg.L<sup>-1</sup>, aproximadamente 1,5 vezes maior que a água do mar (TELLEZ *et al.*, 1995; ODEIGAH *et al.*, 1997).

A concentração salina destas águas é proveniente da água originalmente depositada junto aos sedimentos nos oceanos e lagos. A composição original é modificada pela mistura com águas de diferentes origens; dissolução e precipitação de minerais que compõem as rochas, sob as altas pressões e temperaturas encontradas nos reservatórios de óleo e gás; dissolução de minerais salinos, como a halita (NaCl); e outras reações químicas que ocorrem

entre a água e as rochas no subsolo. Na maioria dos campos de petróleo e gás, a salinidade da água de formação é diretamente proporcional à profundidade onde os hidrocarbonetos são produzidos (USGS, 2002).

Tabela 1. Caracterização da água de produção da Bacia de Campos, estado do Rio de Janeiro.

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor médio</b>	<b>Faixa de variação</b>
pH	6,8	6,3 - 7,2
Cl <sup>-</sup> (mg/L)	45.380,0	40.000 - 55.000
Sólidos Totais (mg/L)	80.640,0	78.000 - 82.000
Sólidos suspensos totais (mg/L)	167,0	120 - 220
Sólidos dissolvidos totais (mg/L)	80.470,0	77.800 - 81.700
COT (mg/L)	368,0	330 - 550
DQO (mg/L)	1.622,0	1.300 - 2.900
DQO filtrado (mg/L) <sup>a</sup>	1.300,0	900 - 2.200
Óleos e graxas (mg/L)	220,0	200 - 240
DBO <sub>5</sub>	695,0	---
Hidrocarbonetos totais (mg/L)	49,0	40 - 60
Fenóis totais (mg/L)	4,3	4,1 - 4,5
Cálcio (mg/L)	769,0	---
Cádmio (mg/L)	0,6	---
Cromo (mg/L)	< 0,2	---
Cobre (mg/L)	0,2	---
Chumbo (mg/L)	1,5	---
Mercúrio (mg/L)	0,003	---
Níquel (mg/L)	1,3	---
Zinco (mg/L)	0,4	---

<sup>a</sup> membrana Millipore – 0,45µm

Fonte: Campos *et al.*, 2002.

A composição e a concentração dos sais dissolvidos nas águas de formação variam de campo para campo. Os sais normalmente encontrados são: de sódio, magnésio e cálcio, principalmente sob a forma de cloretos e, em menor intensidade, como sulfatos (OLIVEIRA, 2000).

A solubilização dos sais resulta na presença de ânions e cátions, entre os cátions monovalentes são encontrados sódio e potássio, entre os multivalentes: ferro, cálcio e magnésio. Os principais ânions incluem cloreto, sulfato, carbonato e bicarbonato. Espécies inorgânicas solúveis também estão presentes, incluindo silicato (H<sub>4</sub>SiO<sub>2</sub>) e borato (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) (HAYES; ARTHUR, 2004).

Elementos de alta atividade como o Rádío 226 e 228 presentes em materiais radioativos de ocorrência normal (NORM), são frequentemente descartados pelas indústrias de óleo e gás, particularmente na água de produção. Urânio e tório apresentam-se associados aos minerais argilosos e areias quartzíticas que compõem as rochas matriz, mas são insolúveis nos fluidos do reservatório. Entretanto, o rádio pode solubilizar-se na água, apresentando propriedades semelhantes às do bário e estrôncio (família 2A). Conseqüentemente, durante o processo de extração do petróleo, rádio é co-precipitado com bário e estrôncio na forma de sulfatos. Parte do rádio é depositado na forma de incrustações nos encanamentos por onde o óleo é transportado, e o restante permanece na água de produção (ODEIGAH *et al.*, 1997; VEGUERIA *et al.*, 2002).

Além dos compostos solubilizados das rochas reservatório, naturalmente presentes nas águas produzidas, uma grande variedade de produtos químicos é adicionada durante o processamento do petróleo, participando da composição da água de produção. Os produtos químicos são geralmente chamados de aditivos e são empregados para resolver ou prevenir problemas operacionais (BURNS *et al.*, 1999; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000). Os principais aditivos adicionados durante o processo de produção do petróleo são: inibidores de incrustação, inibidores de corrosão, biocidas, desemulsificantes, aditivos para o tratamento da água (coagulantes), inibidores de deposição de parafinas/asfaltenos e anti-espumantes (TIBBETTS *et al.*, 1992; ROE; JOHNSEN, 1996; HENDERSON *et al.*, 1999; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000). Parte destes compostos pode atingir o ambiente marinho quando são descartados junto à água de produção. Estes compostos frequentemente são constituídos por uma mistura complexa de componentes, cada qual apresentando seu próprio potencial de impacto ao ambiente, assim, contribuindo para a toxicidade geral da água de produção (KARMAN; REERINK, 1998; HENDERSON *et al.*, 1999; HOLDWAY, 2002)

Henderson *et al.* (1999), estudaram o impacto que o emprego dos aditivos podem representar sobre a toxicidade aguda da água de produção descartada de plataformas marítimas. Foram avaliados 11 diferentes aditivos químicos de grande utilização nas atividades de extração do petróleo frente ao teste de Microtox®. Os aditivos foram testados na faixa de concentração normalmente empregada pelas atividades operacionais das plataformas, os resultados indicaram que os compostos testados apresentaram pouca contribuição para a toxicidade aguda da água de produção.

### 2.3. Avaliação da toxicidade e genotoxicidade

A crescente degradação do ambiente aquático por contaminantes produzidos pela atividade humana, tem motivado os esforços em avaliar os efeitos dos poluentes em diversos sistemas biológicos (HERKOVITS *et al.*, 1997). Assim, a determinação da concentração crítica dos compostos tóxicos dissolvido na água, ou seja, em corpos d'água ou águas residuárias, torna-se inevitável (VAN DER MERWE *et al.*, 1993).

Os seres vivos estão expostos à ação de numerosos agentes potencialmente tóxicos, esses agentes podem ser de natureza física, química ou biológica. A ação desses agentes pode provocar nos organismos, efeitos fisiológicos, bioquímicos, patológicos e, em alguns casos, genéticos (ARNAIZ, 1995). De acordo com a *Organization for Economic Cooperation and Development* – OECD (1994), as substâncias tóxicas persistem e se acumulam no meio, comprometendo a fauna e a flora. A espécie humana pode ser afetada por meio da transferência dos contaminantes pela cadeia trófica ou pela água de abastecimento,.

Os efluentes industriais normalmente contêm misturas complexas de compostos químicos, que podem tornar-se perigosos para a saúde humana pela indução de alterações genéticas (DEWHURST *et al.*, 2002). Os metais pesados são os compostos tóxicos mais comumente encontrados nos lodos gerados pelo tratamento dos efluentes industriais (RANK; NIELSEN, 1998).

Atualmente, sabe-se que diversas descargas industriais contêm muitas substâncias que podem não apresentar efeito agudo, mas que são capazes de reduzir, em longo prazo, a sobrevivência de um organismo, por promover danos ao material genético de suas células somáticas e germinativas. Tais danos têm sido relacionados a desordens genéticas hereditárias e ao câncer (MORAES; JORDÃO, 2002).

Os resíduos ou lodos produzidos pelas atividades industriais, contendo misturas complexas de compostos químicos desconhecidos, quando dispostos em aterros inadequados podem causar riscos à saúde, sendo essencial o tratamento dos resíduos antes de sua disposição. O emprego de bioensaios com plantas representa uma ferramenta importante para avaliar a toxicidade e genotoxicidade do material solubilizado desses resíduos (SAURABH CHANDRA *et al.*, 2005).

A interação entre diferentes métodos de avaliação de potências tóxico e genotóxico fornecem um visão mais global e abrangente sobre o efeito de um agente químico. Os testes toxicológicos e genéticos fornecem dados compreensíveis sobre os efeitos prejudiciais em organismos teste, além de permitir a avaliação dos efeitos combinados de substâncias tóxicas e mutagênicas sobre os organismos (FISKEJÖ, 1988). Segundo SMAKA-KINCL *et al.* (1997), esses testes são indispensáveis para avaliar as reações dos organismos vivos à poluição ambiental e indicar os possíveis efeitos sinérgicos dos diversos poluentes presentes em uma mistura complexa, enquanto as análises físicas e químicas geram informações isoladas da presença e concentração de diferentes poluentes, não sendo suficientes para avaliar os efeitos biológicos, dada a impossibilidade de se analisar todos os compostos e efeitos sinérgicos contribuindo para a toxicidade (PLAZA *et al.*, 2005).

### **2.3.1. Ensaios de toxicidade**

Os testes de toxicidade são empregados na avaliação dos efeitos adversos causados pelos compostos químicos em organismos vivos, sob condições padronizadas e reprodutíveis, permitindo a comparação com outros compostos testados. Os testes estabelecem limites de concentração ou quantidade de substâncias químicas aceitáveis no ambiente, por meio de estudos sobre os efeitos tóxicos dessas substâncias nos organismos e nos ecossistemas. Nenhum composto químico é completamente seguro ou completamente prejudicial. O fator determinante para um composto químico ser potencialmente seguro ou prejudicial é a relação entre a concentração a qual o organismo está exposto e o tempo de exposição (RAND; PETROCELLI, 1985).

A adoção de estudos ecotoxicológicos constitui-se em ferramenta para compreensão da extensão dos impactos ao ambiente. Os organismos vivos utilizados nos testes de toxicidade funcionam como verdadeiros “biosensores”, que respondem à presença de contaminantes (ESPÍNDOLA *et al.*, 2003). Em virtude de responderem aos componentes biologicamente ativos contidos em resíduos complexos, os bioensaios fornecem uma medida direta da toxicidade do que análises químicas isoladas (KEDDY *et al.*, 1995).



Os organismos vivos incorporam tanto os efeitos positivos quanto negativos dos impactos químicos e condições ambientais vivenciadas durante seu desenvolvimento (KEDDY *et al.*, 1995). Desta forma, testes de toxicidade representam uma ferramenta para avaliações dos efeitos de agentes tóxicos sobre organismos vivos, fundamentando-se no princípio da resposta dos organismos ser proporcional a dose do tóxico a que foram submetidos (JARDIM, 2004).

O potencial nocivo de uma substância tóxica pode ser combatido pelo sistema biológico por meio de diferentes estratégias, tais como: reações metabólicas de detoxificação e excreção dos compostos tóxicos. Desta forma, a toxicidade aparente avaliada por um ensaio biológico é o resultado da interação entre as substâncias e o sistema biológico testado. Deve-se considerar que o efeito tóxico sobre os sistemas biológicos é exercido pela ação combinada de todas as substâncias nocivas presentes no meio, incluindo aquelas que não são tóxicas por si, mas que afetam as propriedades físico-químicas do sistema e consequentemente as condições de vida dos organismos (RONCO *et al.*, 2004).

Bioensaios utilizando organismos vegetais fornecem parâmetros significativos para a avaliação da toxicidade de misturas complexas, como os resíduos industriais, mesmo que sua composição química seja desconhecida (SAURABH CHANDRA *et al.*, 2005). Inúmeros testes toxicológicos são utilizados para avaliar as concentrações e o tempo de exposição necessário para que os agentes tóxicos possam produzir efeitos sobre os organismos. Assim, um teste toxicológico é desenvolvido para mensurar o grau da resposta produzida por um nível específico de estímulo-concentração do composto em estudo (RAND; PETROCELLI, 1985).

Água é um requerimento básico para a germinação de sementes. É essencial para a ativação enzimática, quebra, translocação e uso do material de reserva estocado. Em seu estado de descanso, as sementes apresentam como característica baixa umidade e uma relativa inatividade metabólica, um estado conhecido como quiescência. Sementes nessa condição são capazes de manter um nível mínimo de atividade metabólica, que garante sua sobrevivência a longo prazo, no solo ou durante sua estocagem (COPELAND; MILLER, 1995).

Pode-se considerar a germinação das sementes de plantas superiores, como àqueles eventos que levam uma semente em estado de quiescência, em resposta à absorção de água, a demonstrar um aumento em sua atividade metabólica geral e iniciar a formação de uma plântula a partir de um embrião. O estágio exato em que a germinação termina e o crescimento começa é extremamente difícil de definir. Isto é particularmente difícil porque identifica-se a germinação pela protrusão de alguma parte do embrião através do envoltório da semente, o que já representa um resultado do crescimento (MAYER; POLJAKOFF, 1989).

O primeiro processo que ocorre durante a germinação é a absorção de água pela semente. Essa absorção é devida à embebição. O grau em que a embebição ocorre é determinado por três fatores: a composição da semente, a permeabilidade do tegumento à água e a disponibilidade de água no ambiente. A embebição é um processo físico relacionado às propriedades dos colóides, não está relacionado à viabilidade das sementes, ocorrendo igualmente em sementes vivas ou mortas. A absorção de água gera uma pressão de embebição que pode atingir centenas de atmosferas, sendo de grande importância durante o processo de germinação, dado que pode levar a quebra do tegumento da semente, possibilitando a emergência do embrião (MAYER; POLJAKOFF, 1989).

Desta forma, determinar o início e final da germinação das sementes apresenta certa dificuldade, uma vez que os processos ocorrem no interior das sementes, envolvidas por um tegumento protetor. As medidas de respiração de sementes em germinação sempre assinalam um rápido aumento do consumo de oxigênio por unidade de peso seco da semente, logo após o início da embebição. Daí a opção de muitos autores em localizar o início da germinação no instante em que a embebição começa. O evento crítico que fornece um bom ponto de referência para o final desse processo é a emergência. Esse critério que considera germinadas as sementes em que uma das partes do embrião emergiu de dentro dos envoltórios é denominado Critério Botânico, e de forma geral é o mais aplicado. Esse representa um critério não arbitrário, pois a emergência de uma das partes do embrião cria, de fato, uma situação fisiológica nova que elimina parcialmente as barreiras de difusão da água e dos gases respiratórios, sendo observado aumento da velocidade de consumo de O<sub>2</sub>, a partir da emergência (LABOURIAU, 1983).

Durante a fase de absorção de água, as sementes são sensíveis ao estresse ambiental, o qual pode influenciar os estágios iniciais do desenvolvimento. Assim, os testes de toxicidade medem os efeitos dos agentes tóxicos sobre as espécies, em uma série de concentrações de uma solução, sendo as respostas dos organismos observadas. Dessa forma, *endpoints* como sobrevivência, germinação e estágios iniciais de desenvolvimento podem ser facilmente monitorados (BARBERO *et al.*, 2001).

O metabolismo, transporte de nutrientes e divisão celular das sementes durante os estágios iniciais do desenvolvimento são grandemente influenciados pelas condições do meio. Os testes de fitotoxicidade baseados na germinação de sementes e crescimento radicular têm sido propostos por diversas agências governamentais, como parte da avaliação do potencial de contaminação de resíduos e efluentes dispostos no ambiente (OECD, 1984; USEPA, 1996).

O êxito ou aptidão de uma plântula para se estabelecer em um determinado ambiente é relevante para garantir a sobrevivência da espécie. A avaliação do desenvolvimento da raiz e do hipocótilo constitui indicadores representativos para determinar a capacidade de estabelecimento e desenvolvimento da espécie vegetal. Diferentemente do teste tradicional de germinação de sementes, a avaliação do efeito inibitório sobre o crescimento da raiz e hipocótilo das plântulas, permite testar o efeito tóxico de compostos solúveis presentes em níveis de concentração abaixo do necessário para apresentar efeitos inibitórios sobre a germinação, mas que são capazes de retardar ou inibir completamente os processos de crescimento da raiz e do hipocótilo. Dessa forma, esses parâmetros constituem indicadores sub-letais muito sensíveis para a avaliação de efeitos biológicos em vegetais, complementando as informações proporcionadas pelo estudo do efeito sobre a germinação. Ao observar e medir o comprimento de raízes jovens e comparar estas medidas com um controle, pode-se determinar a presença de composto tóxicos no ambiente. O teste pode ser aplicado na avaliação da toxicidade de águas superficiais, residuárias, solubilizados de solo, sedimentos e outras amostras (MORALES, 2004).

Desta forma, a análise das condições fisiológicas durante o processo de germinação das sementes pode ser realizada mediante a avaliação da cinética da germinação, ou seja, encarando a germinação como um processo que se realiza com certa velocidade. Após o término da germinação, torna-se necessário uma análise do processo de crescimento do embrião, tendo em vista que o efeito de qualquer tratamento dado às sementes é sempre julgado, em última análise, por sua repercussão direta ou indireta sobre esse crescimento (LABOURIAU, 1983).

### **2.3.2. Ensaios de genotoxicidade**

A genética toxicológica tem por finalidade identificar e analisar a ação de agentes tóxicos que são capazes de interagir com o material genético dos seres vivos. A detecção da ação e o entendimento das propriedades físico-químicas dos compostos genotóxicos permitem estimar os efeitos hereditários, deletérios ou mesmo letais para os organismos (ARNAIZ, 1995). Entende-se por genotoxicidade a alteração da estrutura dos cromossomos, resultando em ganho, perda ou rearranjo de fragmentos cromossômicos (clastogenicidade); da seqüência de pares de bases dentro do gene (mutagenicidade); ganho ou perda de cromossomos intactos (aneuploidia) decorrente de ação aneugênica, causadas pela exposição do organismo a agentes tóxicos (HOUK, 1992; AL-SABTI; METCALFE, 1995).

Uma das mais antigas e utilizadas ferramentas para se realizar estudos de avaliação da genotoxicidade é o teste de aberrações cromossômicas. Esse teste baseado na citogenética clássica é um dos poucos métodos diretos usados para mensurar mutações em sistemas expostos à substâncias potencialmente mutagênicas ou carcinogênicas (RANK *et al.*, 2002). A maioria dos testes para detectar o potencial genotóxico de substâncias químicas baseia-se na investigação de possíveis induções de danos cromossômicos, como: alterações estruturais, formação de micronúcleos, trocas entre cromátides-irmãs, avaliação de genes mutantes ou de danos ao DNA, utilizando diferentes organismos teste, tais como bactérias, plantas e animais. (PEÑA, 1996).

Segundo Houk (1992), resultados provenientes de bioensaios genéticos são relevantes à saúde humana. O alvo toxicológico é o DNA, existente em todas as formas celulares vivas. Desta forma, pode-se inferir que os compostos que se mostram reativos com o DNA de uma espécie, têm o potencial para produzir efeitos semelhantes em outras espécies. Em geral, perturbações no material genético são deletérias para o organismo e podem conduzir a severas e irreversíveis conseqüências à saúde.

Vegetais superiores são sistemas genéticos freqüentemente utilizados para o monitoramento de poluentes ambientais. A Atividade genotóxica de compostos químicos pode ser analisada em diferentes sistemas teste vegetais, como em *Allium cepa*, *Arabidopsis thaliana* e *Hordeum vulgare* (TIMBREL, 1999). A espécie *Allium cepa* tem sido utilizada em diferentes estudos para a detecção de aberrações cromossômicas induzidas por compostos químicos. O teste de *A. cepa* foi introduzido por Levan em 1938, e posteriormente proposto como um método padrão para o teste de compostos químicos, monitoramento ambiental e avaliação da toxicidade de águas residuárias e corpos hídricos (FISKESJÖ, 1985a; 1985b; 1988).

O teste de *A. cepa* é um bioensaio confiável, que apresenta uma alta sensibilidade para o biomonitoramento da citotoxicidade e genotoxicidade de contaminantes ambientais (GRANT, 1982). Ma *et al.* (1995), utilizando testes *in situ* com células meristemáticas de *A. cepa* e *Vicia faba*, concluíram que esses materiais constituem uma eficiente ferramenta para o monitoramento ambiental.

Segundo Fiskesjö (1993), o teste de *A. cepa* geralmente fornece uma estimativa do efeito tóxico total resultante da exposição do meristema radicular a uma mistura complexa de resíduos. Dessa forma, os testes que utilizam bulbos de *A. cepa* oferecem parâmetros macroscópicos: turgescência, mudança de cor, formato, textura, espessura e comprimento da raiz, parâmetros microscópicos: alterações na atividade mitótica (índice mitótico), apoptose celular e anormalidades no ciclo celular, que induzem o aparecimento de aberrações cromossômicas como: anáfases prematuras, aderências, pontes, fragmentação e perdas cromossômicas, C-mitoses e micronúcleos. Essas anormalidades podem se caracterizar como evidências ou indicadores de eventuais mutações no conteúdo genético celular (VIDAKOVIÉ-CIFREK *et al.*, 2002; FERNANDES, 2005). O índice mitótico reflete a freqüência de divisões celulares e representa um importante parâmetro para a determinação do crescimento radicular (LIU *et al.*, 1992).

A apoptose é a principal via de morte celular e é necessária para a manutenção da cinética do equilíbrio de tecidos saudáveis. Esse processo pode ser induzido no curso normal de crescimento e desenvolvimento de tecidos e, além disso, por uma variedade de compostos e condições. Evidências indicam que a apoptose pode representar um mecanismo para a deleção seletiva de células cuja sobrevivência prejudicaria o organismo como um todo (STEINERT, 1996). Células em processo de apoptose primeiramente sofrem diminuição em seu tamanho e, em seguida, seus núcleos se condensam e as células finalmente desintegram-se em corpos apoptóticos (VENTURA, 2004).

## 2.4. Impacto ambiental do descarte da água de produção

A água de produção apresenta-se inadequada para aplicações domésticas ou agrícolas, devido à sua alta salinidade ou presença de compostos tóxicos e radioativos (USGS, 2002). A composição química da água de produção é dependente das características do campo produtor. Dessa forma, é necessária a caracterização química da água produzida em cada campo, tendo como objetivo avaliar os possíveis efeitos e conseqüências da disposição deste efluente no ambiente (DÓREA *et al.*, 2007).

O impacto ambiental provocado pelo descarte da água produzida, geralmente, é avaliado pela toxicidade dos constituintes e pela quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos presentes. Estes contaminantes podem causar diferentes efeitos sobre o ambiente. Acredita-se que os efeitos mais nocivos ao ambiente são aqueles relacionados aos compostos que permanecem em solução, após o descarte da água produzida (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

A toxicidade da água de produção pode ser relacionada a três grupos principais de componentes: os compostos orgânicos, os metais pesados e os compostos iônicos responsáveis pela salinidade e propriedades osmóticas do efluente. Os compostos orgânicos da água de produção podem ser biodegradados ou volatilizados, enquanto a concentração dos inorgânicos é constante, apesar da precipitação poder diminuir seu conteúdo na fase líquida. Os produtos da biodegradação da fração orgânica podem apresentar diferente toxicidade, quando comparados aos compostos originais, ou alterar a formação de complexos e a especiação química dos diversos elementos inorgânicos presentes, assim como, sua disponibilidade para os organismos (STROMGREN *et al.*, 1995).

Os hidrocarbonetos presentes na água de produção incluem compostos voláteis residuais, assim como hidrocarbonetos não voláteis, não removidos pelos processos de separação empregados nas plataformas ou terminais marítimos. Há uma variedade de destinos que o efluente descartado pode ter no ambiente marinho, além da simples diluição com a água do mar, dentre eles: volatilização para a atmosfera, adsorção em superfícies de materiais biológicos e não biológicos e partículas de ocorrência natural, decantação sobre os sedimentos do assoalho marinho, dispersão pelas correntes e absorção e metabolização por bactérias e organismos marinhos pelágicos e bentônicos (BRAKSTAD *et al.*, 1996; HOLDWAY, 2002). Compostos químicos, individualmente, podem ser possíveis substratos para o metabolismo dos microrganismos (carboidratos e álcoois de baixo peso molecular, amônia) ou podem ser tóxicos para uma ou mais espécies de organismos (hidrocarbonetos voláteis e metais pesados). O impacto do descarte da água de produção no ecossistema receptor depende da taxa e balanço destes vários processos de dispersão, remoção e degradação (BURNS *et al.*, 1999).

Uma vez descartada no mar, a água produzida será rapidamente diluída e dispersada, a volatilização e biodegradação posteriormente irão diminuir os níveis de contaminação marinha (FLYNN *et al.*, 1996). Em função do expressivo efeito de diluição proporcionado pela mistura do efluente com a água do mar, o descarte da água de produção pelas plataformas marítimas pode representar uma grande diminuição em seu potencial de contaminação do ambiente marinho, em geral, são observados efeitos tóxicos reduzidos sobre os organismos nas áreas de descarte. Entretanto, a disposição destes efluentes em terra, durante as operações *onshore* e nos terminais marítimos, pode apresentar risco aos organismos expostos. A alta salinidade afeta o crescimento vegetal, tanto osmoticamente quanto por fitotoxicidade direta, ou pela alteração do balanço nutricional destes organismos (ODEIGAH *et al.*, 1997).

### 2.4.1. Toxicidade da água de produção

Componentes dissolvidos e particulados presentes na água de produção são encontrados na coluna d'água e sedimentos, estando disponíveis para o ecossistema. A via de acesso desses compostos aos organismos vivos, está relacionada à absorção dos compostos solúveis em água através do epitélio superficial, ou seja, superfície corporal e brânquias, ingestão oral e digestão do material particulado (STROMGREN *et al.*, 1995).

Burns *et al.* (1999), ao estudar os efeitos tóxicos do descarte de água de produção por plataformas marítimas na costa Australiana, concluiu que a degradação e dispersão do efluente, em torno do ponto de descarte, foi rápida o suficiente para não ser detectado aumento de contaminantes no sedimento marinho. Os níveis de contaminação nos sedimentos foram diretamente proporcionais à taxa diária de descarte do efluente pela plataforma. A área de potencial impacto, baseado na absorção por ostras e inibição da taxa de crescimento de bactérias e fitoplâncton, foi estimada em 900 metros ao redor do ponto de descarte.

Dados de toxicidade aguda, provenientes de diversas áreas de produção, indicam toxicidade relativamente baixa para vários organismos marinhos, com dose letal (DL<sub>50</sub>) variando entre 5 a 50% de concentração da água de produção. Dessa maneira, os efeitos agudos só seriam observados na zona de mistura imediata à pluma de contaminação, em torno do ponto de lançamento de plataformas marítimas ou emissários marinhos (HOLDWAY, 2002).

Segundo Negri e Heyward (2000), em concentração de 20% a água de produção inibiu a fertilização do coral *Acropora millepora* em 25%. Esta concentração é equivalente a 0,0721mg.L<sup>-1</sup> de hidrocarbonetos totais (TPH). Entretanto a metamorfose larval foi mais sensível a esse efluente, com 98% de inibição da metamorfose sob a mesma concentração.

Campos *et al.* (2002), avaliando a toxicidade aguda da água de produção proveniente da Bacia de Campos, encontrou DL<sub>50</sub> para o organismo *Artemia salina* sob concentrações de 1.2% de água de produção diluída em água marinha artificial.



## 2.4.2. Genotoxicidade da água de produção

Odeigah *et al.* (1997) estudaram a toxicidade (crescimento radicular) e genotoxicidade (indução de aberrações cromossômicas) da água de produção gerada pela produção de petróleo na Nigéria, empregando o sistema teste de *Allium cepa*. Os resultados indicaram inibição dose dependente do crescimento radicular. A concentração de inibição (CI<sub>50</sub>) para o crescimento radicular foi de 28,5% de concentração da água de produção. O efluente testado apresentou um efeito inibitório sobre a atividade mitótica e aumentou significativamente a frequência de aberrações cromossômicas das células meristemáticas da raiz.

## 2.5. Aspectos legais do descarte de resíduos

Considerando o grande número de fontes geradoras de poluentes e contaminantes, e com o objetivo de manter ou melhorar a qualidade dos recursos hídricos, os lançamentos de águas residuárias são regulados por normas estabelecidas e definidas por entidades governamentais, dependendo da problemática gerada pela presença de um contaminante ou de um poluente e do volume de efluente gerado. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) é a entidade reguladora nacional, que define o nível de tolerância para lançamentos diretos ou indiretos de efluentes de qualquer fonte poluidora nos corpos d'água, por meio da listagem dos componentes controlados e respectivas concentrações limite. Esses parâmetros encontram-se listados no Capítulo IV da Resolução 357 (CONAMA, 2005). No Brasil, o teor de óleo e graxas totais (TOG) máximo, para o descarte de água produção no mar, é de 20 mg.L<sup>-1</sup> (CONAMA, 2005).

Nos EUA, anteriormente a instituição de regulamentação federal nos anos 1970, a água de produção era normalmente descartada em cursos d'água e lagoas de evaporação desprovidas de impermeabilização, causando poluição do solo e contaminação da água superficial e reservatórios subterrâneos (KHARAKA; DORSEY, 2005).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA) promove a regulamentação de unidades de tratamento de água de produção, localizadas na linha costeira. Essas são consideradas como fonte pontual de poluição, submetidas ao Sistema Nacional de Eliminação do Descarte de Poluentes (NPDES), que determina concentração diária máxima

de 42 mg.L<sup>-1</sup> e uma média mensal de 29 mg.L<sup>-1</sup> de TOG (teor de óleos e graxas totais) nos descartes de água de produção (USEPA, 1995).

A Convenção para a Proteção do Ambiente Marinho do Atlântico Norte (OSPAR) foi firmada no Encontro Ministerial dos Signatários das Comissões de Oslo e Paris (PARCOM) em 1992. A PARCOM, desde 1974, regula o tratamento de resíduos e descarte de efluentes de instalações marítimas de petróleo e gás, sendo ratificada pela Alemanha, Bélgica, Dinamarca, Espanha, Finlândia, França, Islândia, Irlanda, Luxemburgo, Holanda, Noruega, Portugal, Suécia, Suíça e o Reino Unido, e posteriormente aprovada pela União Européia (OSPAR, 2005).

A PARCOM, em 1986 determinou como limite de TOG 40 mg.L<sup>-1</sup> para o Mar do Norte. Todavia, desde 1992 requisita-se diminuição deste valor para 30 mg.L<sup>-1</sup> (RESTREPO, 2005). As tecnologias atuais de tratamento da água de produção apresentam eficiência para cumprir com a meta de 30 mg.L<sup>-1</sup> de TOG, entretanto esta medida não significaria diminuição na concentração das frações dissolvidas, em especial dos compostos aromáticos e ácidos orgânicos. A diminuição do TOG pode ser obtida pela adição de compostos químicos para quebrar emulsões e dispersão do óleo, aumentando a concentração dos compostos dissolvidos, assim como os impactos ambientais decorrentes do descarte desse efluente (RESTREPO, 2005).

Quanto à disposição do lodo produzido pelo tratamento biológico da água de produção, a legislação ambiental do Estado de São Paulo, segundo a Lei Estadual nº 12.300 (SÃO PAULO, 2006), que institui a Política Estadual de Resíduos Sólidos, determina que o gerenciamento dos resíduos industriais desde a geração até a destinação final, será realizado de forma a atender os requisitos de proteção ambiental e de saúde pública. O artigo 31 determina que compete aos geradores de resíduos industriais a responsabilidade pelo seu gerenciamento, desde a sua geração até a sua disposição final, devendo ser realizada a separação e coleta dos resíduos, de acordo com suas classes e características.

O Decreto Estadual nº. 8468 dispõe sobre a Prevenção e o Controle da Poluição do Meio Ambiente (SÃO PAULO, 1976), ficando proibida a disposição em galerias de águas pluviais ou em corpos de água os lodos provenientes de sistemas de tratamento das fontes de poluição industrial, podendo ser recebido pelo sistema público de esgotos mediante autorização expressa da entidade responsável pela operação do sistema. No Artigo 51 do

referido Decreto, fica estabelecida a proibição de depositar, dispor, descarregar, enterrar, infiltrar ou acumular no solo resíduos poluentes, em qualquer estado da matéria. Segundo o Artigo 52, o solo somente poderá ser utilizado para destino final de resíduos, desde que sua disposição seja feita de forma adequada, estabelecida em projetos específicos de transporte e destino final, ficando vedada a simples descarga ou depósito, seja em propriedade pública ou particular. O artigo 56 estabelece que o tratamento, o transporte e a disposição de resíduos de qualquer natureza, originados em estabelecimentos industriais, quando não forem de responsabilidade do Município, deverão ser feitos pela própria fonte poluidora. O disposto neste artigo aplica-se também aos lodos, digeridos ou não, de sistemas de tratamento de resíduos e de outros materiais. Em parágrafo único, fica estabelecido que quando a disposição final exigir a execução de aterros sanitários deverão ser tomadas medidas adequadas para proteção das águas superficiais e subterrâneas, obedecendo-se as normas expedidas pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). Somente será tolerado o acúmulo temporário de resíduos de qualquer natureza, na fonte de poluição ou em outros locais, desde que não ofereçam risco de poluição ambiental.

Dessa forma, a legislação estadual determina a impossibilidade do descarte no ambiente do lodo gerado pelo tratamento biológico da água de produção do petróleo, tornando-se necessário o estudo de características relevantes deste resíduo, a fim de fornecer subsídios para a determinação de possibilidades adequadas para sua disposição final, de acordo com os critérios legais.

## **2.6. Processos de tratamento da água de produção**

A coleta, manejo, tratamento e disposição da água de produção são tarefas primordiais, se realizadas inadequadamente, podem representar impactos ambientais duradouros. Entretanto, quando manejado e disposto adequadamente, esse efluente não representa ameaça ao ambiente (USGS, 2002).

O fluido produzido na extração do petróleo, ao deixar a “cabeça-do-poço”, é transferido para algum sistema de separação. Os separadores bifásicos são empregados na separação do gás natural dos líquidos (mistura óleo/água), ao passo que os separadores trifásicos separam o gás natural, os hidrocarbonetos líquidos e a água produzida (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

Segundo Arthur e Langh (2005), as atividades de gerenciamento da água de produção, nas diversas fases do processo de exploração e produção de petróleo, devem levar em conta as seguintes abordagens.

- **Evitar a produção de água em superfície** – Separadores que retiram a água dos fluxos de óleo e gás e reinjetam a água em formações geológicas adequadas.
- **Injeção da água de produção** – Injetar a água produzida na mesma formação geológica ou outra adequada. Envolve o tratamento da água para evitar incrustações e contaminação por bactérias.
- **Descarte da água de produção** – Tratar a água de produção para enquadramento nos parâmetros ambientais para descarte de efluentes.
- **Reutilização nas operações de petróleo e gás** – Tratar a água de produção para emprego nas atividades de perfuração ou reutilização nas próprias instalações.
- **Consumo** – Em alguns casos, principalmente em áreas com recursos hídricos escassos, a água de produção pode ser empregada na irrigação ou dessedentação de animais. Nessa hipótese, parâmetros como concentração de amônia e bário devem ser controlados devido a possíveis efeitos tóxicos em plantas e animais.

Em virtude das características da água de produção diferir de um local para outro, ou mesmo variar no decorrer do período de exploração de um campo de petróleo, a aplicabilidade de cada sistema de tratamento, ou combinação de sistemas, somente pode ser avaliada caso a caso. Independentemente do método considerado, o sucesso do tratamento depende, entre outros fatores, das condições do reservatório e condições locais de operacionalidade (OSPAR, 2002). Devem ser considerados os principais fatores que contribuem para o impacto ambiental do efluente: teor de óleo disperso, compostos aromáticos voláteis, compostos aromáticos de alto peso molecular, compostos fenólicos, teor de sais e aditivos químicos empregados (GRINI *et al.*, 2002).

A avaliação da eficiência dos processos de tratamento da água de produção, pode ser realizada por meio da análise de amostras coletadas, diariamente, ao longo da planta de tratamento. Porém, esse procedimento tende a causar grandes alterações nas medidas do teor de óleos e graxas e outros parâmetros que caracterizam a qualidade da água de produção (PEREIRA; TRAVALLONI, 2000).

Segundo Hayes e Arthur (2004) e Arthur e Langh (2005), os objetivos prioritários dos processos empregados no tratamento da água de produção, visam a adequação do efluente às restrições legais para o descarte. Dessa forma, esses processos buscam principalmente:

- Remoção de óleos e graxas;
- Remoção de compostos orgânicos solúveis;
- Remoção de gases dissolvidos (hidrocarbonetos e sulfeto);
- Diminuição do teor de sólidos totais dissolvidos;
- Diminuição do teor de sólidos em suspensão;
- Diminuição da concentração de benzeno;
- Diminuição da demanda biológica de oxigênio;
- Abrandamento, remoção do excesso de dureza da água.

Processos Convencionais se enquadram em uma categoria que abrange processos unitários, empregados para o tratamento da água de produção há muitos anos pela indústria de óleo e gás. Esses processos são bem compreendidos, apresentando comprovado valor e eficiência em sua aplicação.

Dentre os Processos Convencionais de tratamento, citam-se: os tanques de separação óleo/água, os sistemas de filtração em meio granular para a remoção de sólidos em suspensão e retenção de óleo, a flotação por gás induzido ou dissolvido, a centrifugação e o emprego de hidrociclones e a adição de carvão ativado para a adsorção de contaminantes orgânicos (OSPAR, 2002). Essas técnicas apresentam-se adequadas para a reutilização *in-situ* da água. Entretanto processos de tratamento mais eficientes são necessários quando este efluente é descartado no ambiente (CAMPOS *et al.*, 2002).

Tecnologias Emergentes representam uma categoria que compreende processos unitários que já se encontram em aplicação ou em estágio experimental de desenvolvimento. Esses são processos que podem já ter ampla aplicação em outras indústrias ou processos de tratamento de água, mas ainda não operam em escala completa ou em número suficiente para serem classificadas como um processo comercial. Os processos nessa categoria incluem os tratamentos biológicos adaptados à alta salinidade, a osmose reversa, a eletrodialise e a ultrafiltração, para a remoção de frações solúveis de contaminantes (OSPAR, 2002).

Na prática, os métodos de tratamento são utilizados de forma combinada, visando atingir maior eficiência na separação dos compostos dispersos nas águas produzidas. Todos os processos considerados como de potencial aplicação para o tratamento da água de produção geram subprodutos que necessitam de posterior manuseio ou descarte (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

Após o processo de separação gravitacional, a água de produção ainda possui um elevado teor de hidrocarbonetos, que devem ser removidos antes do seu descarte no mar. Para tal, aplicam-se métodos diferenciados para a remoção de compostos dispersos e compostos dissolvidos (VASQUEZ; MEYER, 2005). Os compostos orgânicos insolúveis podem ser separados por processos gravitacionais ou por tecnologias específicas para a extração de óleo disperso em água. Entretanto, a fração solúvel necessita de processos de maior complexidade para sua remoção. Os compostos solubilizados são, certamente, os compostos de maior toxicidade no meio aquático, onde as águas produzidas são descartadas. Algumas tecnologias podem ser aplicadas para a remoção de compostos dissolvidos na água de produção, como por exemplo, o tratamento biológico.

Um processo baseado na transformação química por microrganismos vivos pode ser especialmente difícil tecnicamente, dado a limitada faixa de condições ambientais que irá manter a viabilidade da cultura microbiana utilizada no processo (SUBLETTE *et al.* 1998). Dessa forma, o tratamento biológico de efluentes com alta salinidade deve promover a adaptação dos microrganismos, ou mesmo, estimular o desenvolvimento dos microrganismos de ocorrência natural (BRASILEIRO *et al.* 2005). Isso se aplica aos efluentes da indústria de petróleo, onde a exploração em águas profundas (lâmina d'água em torno de 1.500 metros) resulta na geração de águas residuárias de alta salinidade. Segundo Tellez *et al.* (2005), sem a devida aclimação dos microrganismos, a eficiência da biodegradação de hidrocarbonetos do petróleo pode ser reduzida em 60 a 70%.

Gallagher (2001), utilizou tratamento biológico anaeróbico para a remoção de ácidos orgânicos da água de produção com o objetivo de observar a biodegradação do ácido naftênico sob tais condições. O experimento empregou um reator em fluxo contínuo com biomassa fixa. Como inóculo foi utilizado sedimento de uma lagoa de retenção de água de produção. Entretanto, os resultados mostraram que o ácido naftênico provavelmente é estável sob condições anaeróbicas, não sendo observada diminuição significativa em sua concentração durante os 100 dias de operação do sistema.

Ji *et al.* (2002), avaliaram o tratamento da água de produção com alta concentração de compostos orgânicos recalcitrantes dissolvidos, em *wetlands* construídos. A concentração de poluentes e alterações nas plantas do sistema de tratamento foram periodicamente monitoradas. Os resultados indicaram alta eficiência de remoção dos contaminantes, com média de 81% para a demanda química de oxigênio (DQO), 89% para a demanda biológica de

oxigênio (DBO<sub>5</sub>), 89% para a remoção de óleo mineral e 81% para a remoção de nitrogênio total. As plantas presentes no sistema apresentaram diminuição significativa em altura e biomassa com o aumento da carga hidráulica do efluente tratado no *wetland*.

Tellez *et al.* (2002), avaliaram a eficiência de um sistema de lodos ativados para a remoção de hidrocarbonetos do petróleo da água de produção, proveniente de um campo de exploração de petróleo no estado do Novo México. O processo de tratamento era composto por um tanque de separação óleo/água. Em seguida, a água era conduzida ao sistema de tratamento biológico, composto por um reator operando em fluxo contínuo. Esse sistema era operado com uma concentração de oxigênio dissolvido em torno de 3 a 4 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>. O sistema avaliado obteve taxa de diminuição de 99% dos hidrocarbonetos totais do petróleo, em um tempo de retenção de sólidos de aproximadamente 20 dias. O efluente final descartado apresentou concentração de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de óleos e graxas.

Campos *et al.* (2002), avaliaram a eficiência do tratamento da água de produção gerada em plataformas marítimas localizadas na Bacia de Campos, por meio da combinação entre filtração por membrana e tratamento biológico, a fim de produzir um efluente final com qualidade compatível com os padrões de descarte. A etapa de microfiltração tem como objetivo a remoção de compostos insolúveis de grande massa molecular. A etapa de tratamento biológico envolveu o emprego de um reator tipo *airlift*, empregado para a remoção dos poluentes orgânicos remanescentes sob diferentes tempos de retenção hidráulica e acúmulo de biomassa. A eficiência do reator foi determinada pelo acompanhamento dos seguintes parâmetros: demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico total (COT), concentração de fenol e amônia. Os valores de DQO e COT presentes no efluente final foram de 230 e 55 mg.L<sup>-1</sup>, representando eficiência de remoção de 70 e 82% respectivamente. O fenol e nitrogênio amoniacal apresentaram consideráveis taxas de remoção, entretanto, as concentrações finais de 1 e 30 mg.L<sup>-1</sup> respectivamente, não alcançaram os limites determinados para o descarte de efluentes.

Jinren *et al.* (2005), avaliaram o sistema de tratamento de água de produção localizado no Campo de Petróleo de Shengli, no leste da China. Esse sistema de tratamento é composto por quatro processos unitários de tratamento. Inicialmente é realizada a separação gravitacional do óleo em um tanque de separação óleo/água. Em seguida, a água em tratamento é submetida ao processo de flotação, biodegradação e sedimentação. Ao final do processo de tratamento foi obtida taxa de remoção de óleo e graxas de 95,1%, correspondendo

à concentração de  $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$  no efluente descartado. O tanque de separação óleo/água e o tratamento biológico foram os mais eficientes na remoção de óleos e graxas. A taxa de diminuição da DQO e de sólidos em suspensão foi 61,8% e 62,3%, respectivamente. Os processos menos eficientes no sistema de tratamento avaliado, foram a flotação e o tanque de sedimentação.

Li *et al.* (2005), avaliaram a capacidade de diminuição da DQO da água de produção em um sistema de tratamento biológico operando em batelada contínua, utilizando células imobilizadas de *Bacillus* sp. (M-12), isoladas de um campo de petróleo na China. Nesse estudo a biomassa pôde ser reutilizada por mais de sete ciclos de operação. A eficiência do processo apresentou melhores resultados mediante a adição de uma fonte de nitrogênio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , na concentração de 0,1%. A DQO da água de produção foi diminuída de  $2.600 \text{ mg.L}^{-1}$  para valores em torno de  $240 \text{ mg.L}^{-1}$  após um período de quatro dias.

Tellez *et al.* (2005) avaliaram a eficiência de um sistema de tratamento biológico na remoção de hidrocarbonetos do petróleo, presentes na água de produção. O sistema era composto por uma unidade de remoção de óleos e graxa e aeração, com capacidade de 453 L, seguida de uma unidade de tratamento biológico por lodo ativado, com capacidade de 945 L. O fluxo diário da água de produção no sistema de tratamento era de 1.890 L/dia. O efluente do tratamento seguia para uma unidade de clarificação com retorno da biomassa decantada, a fim de manter a concentração de sólidos suspensos. Como inóculo foram empregados os microrganismos naturalmente presentes na água de produção, aclimatados por um período de 10 dias. A água de produção foi utilizada como única fonte de carbono, os macronutrientes foram fornecidos na concentração de 28 g/dia de nitrogênio, 8 g/dia de fósforo e 4 g/dia de potássio. Os resultados indicaram eficiência de 99% de remoção dos hidrocarbonetos totais do petróleo. A concentração de BTEX atingiu níveis não detectáveis e, a remoção de *n*-alcanos 95% de eficiência.



## **2.7. Disposição de resíduos sólidos**

A geração e disposição final de resíduos produzidos pela atividade antrópica tornou-se uma preocupação constante em vista dos efeitos negativos proporcionados ao meio ambiente, quando estes são dispostos de maneira imprópria. O manejo inadequado dos resíduos sólidos contribui de forma marcante para o agravamento dos problemas ambientais. O destino final destes resíduos sólidos, quando efetuado de maneira inapropriada constitui uma atividade potencialmente poluidora do ar, solo e das águas superficiais e do subsolo.

A crescente demanda da sociedade pela manutenção e melhoria das condições ambientais tem exigido das autoridades, empresas públicas e privadas, atividades capazes de compatibilizar o desenvolvimento às limitações da exploração dos recursos naturais. Esta preocupação com a qualidade ambiental tem suscitado o desenvolvimento de políticas e medidas legislativas que funcionam como diretrizes para o estabelecimento de critérios e padrões sobre contaminação (BETTIOL; CAMARGO, 2001). O destino final dos resíduos industriais é, portanto, uma atividade de grande importância e complexidade, pois freqüentemente extrapola os limites das estações de tratamento e exige a integração com outros setores da sociedade. Segundo a legislação de diversos países, e mesmo a brasileira, a responsabilidade pelos problemas que podem ser causados pela disposição inadequada é sempre dos produtores do resíduo (princípio legal do poluidor-pagador), que podem ser enquadrados na lei de crimes ambientais (BRASIL, 1998). Neste sentido, alguns órgãos ambientais estão exigindo o detalhamento da alternativa de disposição final no processo de licenciamento das estações de tratamento de efluentes (ANDREOLI; PINTO, 2001).

Resíduos sólidos, segundo definição da NBR 10.004 (ABNT, 2004a), são os resíduos nos estados sólido e semi-sólido que resultam de atividades da comunidade de origem: industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição. São incluídos nesta definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como determinados líquidos cujas particularidades tornem inviável seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos d'água, ou exijam para isso soluções técnicas e economicamente inviáveis diante da melhor tecnologia disponível.

A NBR 10.004 (ABNT, 2004a) classifica os resíduos sólidos em três classes:

- Resíduos Classe I – perigosos;
- Resíduos Classe IIA – não-inertes;
- Resíduos Classe IIB – inertes.

Um resíduo é enquadrado na classe I se apresentar periculosidade ou uma das seguintes características: inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade. Dentre os critérios citados na norma para caracterizar um resíduo como tóxico, é comumente utilizada a comparação dos resultados obtidos no ensaio de lixiviação de resíduos – NBR 10.005 (ABNT, 2004b) com o Anexo F da NBR 10.004, onde constam os limites máximos de concentração para alguns poluentes. Se o extrato contiver qualquer um dos poluentes em concentrações superiores aos valores deste anexo, o resíduo será classificado como tóxico.

Os resíduos classe IIA – não-inertes são aqueles que não se enquadram nas classificações de resíduos classe I – perigosos ou de resíduos classe IIB – inertes, nos termos da NBR 10.004 (ABNT, 2004a). Os resíduos classe IIA – não-inertes podem ter propriedades como combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água.

São enquadrados na classe IIB – inertes quaisquer resíduos que, amostrados de forma representativa, segundo a NBR 10.007 – Amostragem de resíduos (ABNT, 2004d), e submetidos ao contato estático com água deionizada à temperatura ambiente, conforme teste de solubilização, segundo a NBR 10.006 – Solubilização de resíduos (ABNT, 2004c), não apresentem nenhum de seus constituintes solubilizados em concentrações superiores aos limites estabelecidos pelo Anexo G da NBR 10.004 (ABNT, 2004a), excetuando-se os padrões de aspecto, cor, turbidez e sabor.

As decisões técnicas e econômicas tomadas com relação ao tratamento e destino final dos resíduos sólidos devem ser fundamentadas a partir da classificação dos mesmos, proporcionando o conhecimento da presença de compostos tóxicos ou elementos que se encontram em concentrações tais, que se tornam prejudiciais. Esse conhecimento propicia a definição de medidas especiais, visando à proteção de pessoas que no desempenho de suas atividades apresentem algum contato com este resíduo, assim como do meio ambiente, quando efetuada sua destinação final.

Atualmente são conhecidas várias técnicas para o tratamento de lodos e de resíduos sólidos. Essas devem ser utilizadas sempre que houver risco ao homem ou ao meio ambiente. As principais técnicas de tratamento de resíduos sólidos industriais são os aterros industriais, *landfarming*, encapsulamento e incineração.

Muitos aterros sanitários municipais atualmente operam como aterros de codisposição, recebendo, intencionalmente ou não, quantidades variadas de materiais perigosos e não perigosos. A sobreposição de efeitos físicos, químicos e bioquímicos faz dos aterros de codisposição mais do que um local de conversão e estabilização. Portanto, é necessário conhecer a natureza dos resíduos codispostos e as substâncias tóxicas presentes para identificar e avaliar as interações decorrentes (POHLAND; GOULD, 1986). Dependendo do nível de periculosidade, a degradação dos resíduos pode produzir componentes que, quando absorvidos causam algum tipo de dano, ou quando não degradados, geram transformações irreversíveis ao meio receptor, desencadeando alterações nocivas (ALOISI, 1995).

Para se estimar a quantidade de resíduos industriais que pode ser disposta, sem interferir nos processos naturais de degradação biológica da matéria orgânica, é necessária a execução de testes com o resíduo, para determinar as condições de disposição que causem o menor dano ao meio. O primeiro passo é a classificação dos resíduos. No caso dos resíduos industriais, se forem classificados como não perigosos, ou seja, constituído predominantemente por substâncias biodegradáveis e por materiais inertes, poderá ser disposto em qualquer tipo de aterro, sendo dada preferência para os aterros sanitários convencionais, em face dos custos envolvidos (DE DEUS, 1996). Entretanto, se o resíduo for classificado como não inerte ou perigoso, deverá ser disposto em aterros industriais, onde uma série de medidas de controle da contaminação ambiental são necessárias, a fim de evitar a contaminação do ar, solo e águas superficiais e subterrâneas.

Os aterros são ambientes ecologicamente heterogêneos, portanto, a presença de um resíduo industrial no meio, poderá promover a inibição de linhagens sensíveis ou o crescimento de microrganismos capazes de utilizar seus compostos (Tibbles; Baecker, 1989 apud SOUZA, 2000).

A matéria orgânica biodegradável sofre alterações durante a atuação dos microrganismos, podendo-se identificar uma fração rapidamente biodegradável, consistindo de moléculas simples, na forma solúvel, que podem ser utilizadas diretamente por bactérias heterotróficas; e uma fração lentamente biodegradável, representada por moléculas relativamente complexas, não utilizadas diretamente pelas bactérias. Para sua degradação é necessária a conversão em matéria solúvel por meio da hidrólise enzimática, resultando em consumo mais lento da matéria orgânica (BERNARDES; SOARES, 2005).

A avaliação da biodegradabilidade de resíduos sólidos pode ser empregada para determinar a capacidade dos microrganismos em degradar uma mistura complexa de compostos de origem exógena. Entretanto, os processos biológicos são sensíveis à presença de elementos tóxicos, podendo significar perturbações consideráveis ao sistema em avaliação. Nessa situação, a análise respirométrica pode ser ferramenta eficaz na detecção de toxicidade, permitindo melhores estratégias de controle. Sabe-se que a geração de CO<sub>2</sub> aumenta com o incremento da taxa de aplicação do resíduo. Desse modo, o ensaio de respirometria pode ser utilizado para verificar a melhor relação entre a taxa de aplicação e seu tempo de degradação. Para resíduos que apresentam certa concentração de metais ou outros contaminantes, a incubação em taxas crescentes pode interferir, inibindo a atividade dos microrganismos, diminuindo a geração de CO<sub>2</sub>. Nesse caso, o ensaio de respirometria pode determinar a eventual toxicidade do resíduo aos microrganismos do solo (BERNARDES; SOARES, 2005).

As técnicas de avaliação da respirômetria, utilizadas em pesquisas relacionadas à degradação de lodos de esgotos no solo, apresentam resultados satisfatórios quanto à previsão de estabilização destes resíduos (NUVOLARI, 1996; SNYMAN *et al.*, 1998). Entre as técnicas respirométricas existentes, o método respirométrico de Bartha e Pramer permite determinar a taxa de biodegradação da matéria orgânica contida em resíduos misturados ao solo, determinar a taxa de aplicação adequada bem como verificar a possível inibição da população microbiana por agentes tóxicos (CETESB, 1990). Guerra e Angelis (2005) utilizaram o método respirométrico de Bartha e Pramer para avaliar a biodegradação do lodo de Estações de Tratamento de Água, essa mesma metodologia foi utilizada por Siviero (1999), Kataoka (2001), Mariano (2006) e Hencklein (2008).

Portanto, dentro deste contexto, percebe-se a necessidade do conhecimento prévio das características do resíduo que se deseja dispor e do desenvolvimento de estudos no sentido de determinar a possível influência deste no meio.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Material**

#### **3.1.1. Descrição da área de estudo**

O Terminal Marítimo Almirante Barroso (TEBAR), sob controle da empresa Petrobrás Transportes S.A. (TRANSPETRO), localizado no município de São Sebastião - SP é considerado o maior terminal de granéis líquidos da América Latina. Especializado na carga e descarga de petróleo e derivados, é responsável pelo escoamento de 50 a 60% do consumo nacional de petróleo.

No ano 1961 foram iniciadas as obras de instalação dos oleodutos, que perduraram até 1969, ligando o município de São Sebastião à Santos, Cubatão, Paulínia e Capuava. Em 1968, o petroleiro norueguês *Bjorgfjell* realizou a primeira operação de atracação no “pier”, inaugurando o terminal com o bombeamento de petróleo cru trazido do Iraque.

Com movimentação em torno de 400 petroleiros por ano, o TEBAR recebe, armazena e transfere petróleo bruto para processamento nas refinarias paulistas – Replan (Paulínia), Rpbcc (Presidente Bernardes), Recap (Capuava) e Revap (Henrique Lage) – além do recebimento, por dutos, de derivados do petróleo e álcool destinados à exportação ou cabotagem.

O terminal ocupa uma área de 1.800.000 m<sup>2</sup>, dotado de plataformas de atracação, rede de oleodutos com estações intermediárias de bombeamento e um setor de armazenamento com capacidade para 10,7 milhões de barris de petróleo e 2,4 milhões de barris de derivados. O cais de atracação permite a operação simultânea de quatro navios com capacidades variando de 65.000 a 300.000 toneladas de porte bruto (peso do navio mais carga).

O petróleo que chega ao TEBAR, proveniente em sua maioria dos campos produtores na Bacia de Campos, é transportado para as refinarias do Estado de São Paulo por uma complexa malha dutoviária. A seguir serão apresentados os principais oleodutos com origem no TEBAR.

**OSBAT - Oleoduto São Sebastião/Cubatão:** Duas linhas de petróleo de 24', em operação desde 1968, sendo uma linha entre os municípios de São Sebastião e Guaratuba com 70,5 Km de extensão e outra entre Guaratuba e a Refinaria Presidente Bernardes (RPBC), em Cubatão, com 50,5 Km de extensão.

**OSPLAN I - Oleoduto do Planalto:** Duas linhas de 24', todas em operação desde 1973, transportando derivados claros entre o terminal do município de São Sebastião e a base intermediária de Rio Pardo, com 32,5 Km e 49,7 Km de extensão respectivamente.

**OSPLAN II - Oleoduto São Sebastião/Refinaria do Planalto (REPLAN):** De 18', transporta derivados claros, em operação desde 1991, com 153,5 Km de extensão.

**OSVAT - Oleoduto São Sebastião/Vale do Paraíba:** Quatro linhas, todas de petróleo, sendo uma de 30' entre o município de Guararema e a REPLAN com 152,7 Km de extensão, em operação desde 1978; uma segunda de 34' entre Guararema e Refinaria do Vale do Paraíba (REVAP), com 35,1 Km de extensão, uma terceira de 38', entre Rio Pardo e Guararema com 48,6 Km e a quarta de 42', entre São Sebastião e Rio Pardo, com 34,4 Km de extensão.

A capacidade operacional do TEBAR é apresentada na Tabela 2, e as imagens aéreas do terminal são vistas nas Figuras 2 e 3.

Tabela 2. Capacidade operacional e número de instalações do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.

<b>Produto</b>	<b>Capacidade Operacional</b>
Derivados Claros	326.801 m <sup>3</sup>
Derivados Escuros	65.833 m <sup>3</sup>
PETRÓLEO	1.416.675 m <sup>3</sup>
<b>Instalações</b>	<b>Número</b>
Tanques de Petróleo	22
Tanques de Derivados	13
Pier (atracação e operação simultânea)	4

Fonte: Ministério dos Transportes <[http://www.transportes.gov.br/bit/Terminais\\_mar/Saosebastiao/saosebastiao.htm](http://www.transportes.gov.br/bit/Terminais_mar/Saosebastiao/saosebastiao.htm)>



Fonte: [www.google.com/maps](http://www.google.com/maps)

Figura 2. Vista aérea do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.



Fonte: [www.conradmilla.com.br/tebar.jpg](http://www.conradmilla.com.br/tebar.jpg)

Figura 3. Píer de atracação do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.

### **3.1.2. Estação de tratamento de efluentes.**

O Terminal Marítimo de São Sebastião recebe misturado ao petróleo, água proveniente dos poços de extração submarinos. Essa mistura é armazenada em tanques onde ocorre a separação óleo/água. O petróleo é enviado para processamento e a água de produção segue para o tanque nº 3213. Esse tanque conta com capacidade de armazenamento de 40.000 m<sup>3</sup> de água de produção. Opera como um tanque pulmão, equalizando o fluxo da água que se dirige à estação de tratamento de efluentes.

A geração mensal de água de produção no terminal, devido ao armazenamento e movimentação do petróleo é em torno de 15.000 m<sup>3</sup>. Entretanto, outros terminais marítimos operados pela TRANSPETRO enviam esse efluente para tratamento no TEBAR, em virtude de este ser o único terminal com um sistema de tratamento da água de produção com licença de operação e descarte do efluente no mar. A Tabela 3 apresenta alguns parâmetros da água de produção na entrada da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE).



Tabela 3. Valores médios da composição da água de produção na entrada da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE).

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>	<b>Unidade</b>
Arsênio Total	<0,01	mg/L
Bário Total	60,0	mg/L
Boro Total	40,0	mg/L
Cádmio Total	0,07	mg/L
Chumbo Total	0,68	mg/L
Cianeto Total	< 0,05	mg/L
Clorofórmio	< 0,008	mg/L
Cobre Total	0,06	mg/L
Cromo Hexavalente	< 0,05	mg/L
Cromo Trivalente	0,20	mg/L
Dicloroeteno	< 0,008	mg/L
Estanho Total	8,70	mg/L
Fenol	1,2	mg/L
Ferro Dissolvido	0,92	mg/L
Fluoreto Total	1,11	mg/L
Manganês Dissolvido	0,92	mg/L
Mercúrio Total	< 0,001	mg/L
Níquel Total	0,55	mg/L
Nitrogênio Amoniacal	80,0	mg/L
Teor de Óleos e Graxas	150,0	mg/L
Organoclorados Totais	< 0,2	µg/L
Organofosforados Totais	< 1,0	µg/L
Prata Total	0,08	mg/L
Selênio Total	< 0,01	mg/L
Tetracloroeto de Carbono	< 0,008	mg/L
Tricloroeteno	< 0,008	mg/L
Zinco Total	0,15	mg/L
Sólidos Solúveis Totais	4,0	g/L
Sólidos Solúveis Voláteis	2,0	g/L

Fonte: Fundespa



Figura 4. Tanque nº 3213, armazenamento da água de produção na entrada da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.

O efluente acumulado no tanque nº 3213 é transferido continuamente para a ETE por uma bomba de carga, passando inicialmente por um sistema de flotação, que retira o óleo livre e emulsionado da carga. Para auxiliar a remoção do óleo emulsionado, uma solução de polieletrólito é adicionada junto ao misturador estático, situado na entrada do sistema de flotação. Neste ponto, juntamente ao polieletrólito, é realizada a adição de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) para eliminar parte do gás sulfídrico.

Após a remoção do óleo, inicia-se o tratamento químico para a oxidação do sulfeto e fenol. A oxidação do sulfeto ocorre nos tanques nº 401-A/B (60 m<sup>3</sup> cada), que operam em paralelo, mediante a dosagem de peróxido de hidrogênio na tubulação de entrada dos tanques. A dosagem do peróxido de hidrogênio é realizada de acordo com a concentração de sulfeto, trabalhando-se com um excesso de 20% de peróxido. Após esse processo, no tanque nº 402 (20 m<sup>3</sup>) ocorre a acidificação pela adição de ácido sulfúrico concentrado. Este processo tem como objetivo diminuir o pH do efluente para valores em torno de 3, de forma a permitir a oxidação do fenol nos tanques nº 403 – A/B.

A oxidação do fenol é realizada por um processo conhecido como reação de Fenton, baseado na decomposição catalítica de peróxido de hidrogênio em meio ácido (NOGUEIRA, 2002). A última etapa do processo, que ocorre no tanque nº 404 (20 m<sup>3</sup>), é a correção do pH para valores entre 5 e 8, por meio da adição de hidróxido de sódio a 50%.

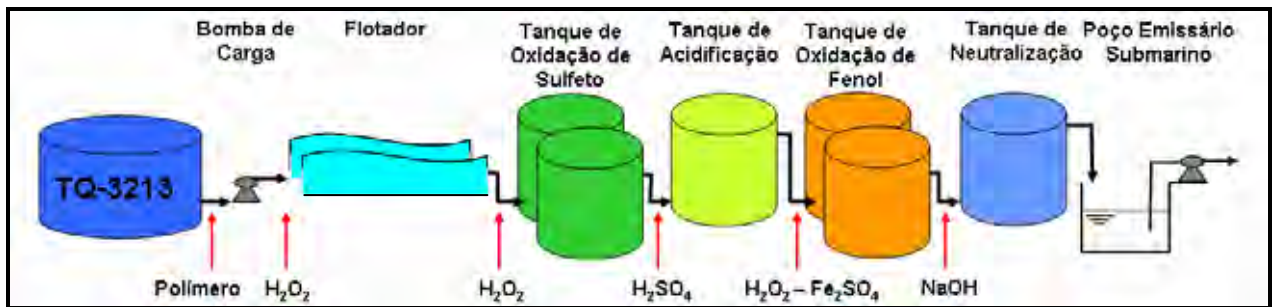


Figura 5. Esquema representando as fases do tratamento da água de produção na Estação de Tratamento de Efluentes, no Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.

Após estes procedimentos o efluente da ETE é descartado no mar, por meio de um emissário submarino a 3.000 metros da costa, no canal de São Sebastião. Entretanto, foi constatado pela CETESB, concentrações de amônia, bário e boro no efluente da ETE, em desacordo com os padrões de lançamento de efluentes determinados na resolução CONAMA 357/2005. Sendo então firmado um Termo de Ajusta de Conduta (TAC) junto à CETESB, que prevê a desativação da atual ETE e a construção de um novo sistema de tratamento de água de produção, capaz de enquadrar o efluente às restrições legais.

### 3.1.3. Estação piloto de tratamento de efluentes

A nova ETE para o tratamento da água de produção no TEBAR foi desenvolvida pelo Centro de Biotecnologia e Tratamentos Ambientais (BTA) do CENPES - Centro de Pesquisas e Desenvolvimento da Petrobras, localizado na Ilha do Fundão, Rio de Janeiro. Para a avaliação da viabilidade do projeto e ajustes de seus parâmetros operacionais, uma estação piloto foi instalada no TEBAR, permanecendo em operação pelo período de 9 meses. Essa nova ETE prevê o tratamento biológico em reatores para a diminuição dos teores de amônia, precipitação química de bário e adsorção de boro em resina (FIGURA 6.). Desta forma, as etapas do tratamento passam a compreender os parâmetros definidos pelo órgão ambiental como limitantes para o descarte do efluente.

O efluente armazenado no tanque de equalização passa por uma bomba de carga com vazão de 300 m<sup>3</sup>/h, entrando em um sistema de flotação para a diminuição dos teores de óleos e graxas. Em seguida, o efluente é conduzido para um tanque de oxidação de sulfetos (10 mil m<sup>3</sup>), e daí para os três reatores biológicos (4 mil m<sup>3</sup> cada), operando em um sistema de batelada seqüencial.

O efluente do tratamento biológico passará por uma unidade de precipitação química de bário, em seguida, por uma unidade de filtração para remoção de sólidos suspensos. Após estes processos, o efluente é encaminhado para uma unidade de resina para adsorção do boro, seguindo para descarte pelo emissário submarino.

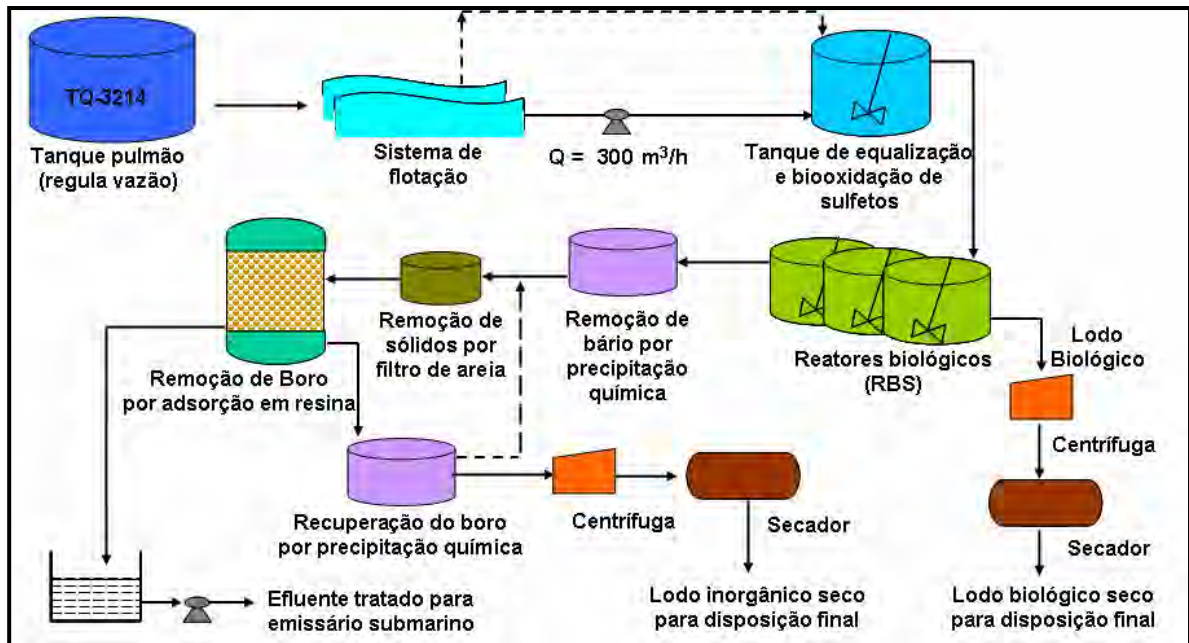


Figura 6. Esquema representando as fases do tratamento da água de produção na nova Estação de Tratamento de Efluentes, que será instalada no do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.

Os reatores biológicos funcionarão em sistema aeróbio com biomassa em suspensão. Os ciclos de operação compreendem etapas de enchimento, reação, sedimentação e drenagem. Cada ciclo compreenderá  $12 \pm 4$  horas para enchimento e drenagem e 8 horas de reação e sedimentação.

A operação foi delineada para compreender os processos de nitrificação e desnitrificação, onde, durante a etapa de nitrificação será realizado o controle do oxigênio dissolvido (OD) mediante aeração do reator. A desnitrificação ocorrerá em anóxia ( $OD < 0,5$  ppm) com adição de fonte externa de carbono.

A produção de lodo pelos reatores biológicos será de 120 kg/h, saindo dos reatores com teor de sólidos em torno de 4%. A secagem do lodo será realizada por centrifugação, onde espera-se obter teor de sólidos em torno de 20 a 25% e, em seguida, o lodo será submetido à secagem térmica, aumentando o teor de sólidos para 80 a 85%.

Após o tratamento espera-se enquadrar os parâmetros do efluente da nova ETE aos limites legais para descarte. Entretanto, o sistema de tratamento biológico produzirá um resíduo sólido (lodo biológico) que necessita ser estudado, para o reconhecimento de suas características, assim como, as possíveis opções de destino final ambientalmente compatível com sua composição e possíveis efeitos tóxicos.

### 3.1.4. Coleta do lodo biológico

A visita técnica para reconhecimento da estação piloto de tratamento de água de produção e coleta do lodo biológico foi realizada no dia 02 de fevereiro de 2006 (FIGURAS 7; 8 e 9), sendo na ocasião coletados 120 L de lodo biológico. A coleta do lodo foi realizada diretamente do reator biológico, por meio de uma válvula localizada na região mediana do reator (FIGURA 10).



Figura 7. Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.



Figura 8. Reservatório de água de produção, na entrada do reator biológico, e amostras do efluente após o tratamento biológico (becker) e lodo biológico (proveta).



Figura 9. Reator biológico e detalhe do retorno do lodo na região superior do reator, Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.



Figura 10. Coleta do lodo gerado pelo tratamento biológico da água de produção no Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.

### 3.2. Métodos

O estudo das características tóxicas e genotóxicas do lodo gerado pela etapa de tratamento biológico da Estação Piloto de Tratamento da Água de Produção, assim como, os possíveis efeitos de sua disposição em aterro, frente ao processo de biodegradação da matéria orgânica presente no solo, foram realizados de acordo com os seguintes procedimentos.

- Determinação de parâmetros do lodo em estado bruto (SILVA, 1977; CETESB, 1978);
- Classificação de resíduos sólidos, Norma Técnica NBR 10.004 (ABNT, 2004a);
- Toxicidade à germinação de sementes (LABOURIAU; AGUDO, 1987);
- Toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo (MORALES, 2004);
- Toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de *Allium cepa* (MORALES, 2004);
- Genotoxicidade em tecido meristemático radicular de *Allium cepa* (MATSUMOTO *et al.*, 2006);
- Biodegradação do lodo em solo (CETESB, 1990).

As atividades descritas a seguir, foram realizadas no Laboratório de Toxicidade de Águas do Departamento de Bioquímica e Microbiologia e Laboratório de Mutagênicidade do Departamento de Biologia da Universidade Estadual Paulista – Unesp, Campus de Rio Claro, SP.

### **3.2.1. Determinação de parâmetros do lodo em estado bruto**

Logo após a coleta do lodo, procedeu-se a determinação de alguns parâmetros do material em estado bruto. As análises foram realizadas de acordo com as metodologias descritas por Silva (1977) e CETESB (1978).

O restante do material coletado foi acondicionado sob refrigeração (4°C) e, em seguida submetido à desidratação.

- Concentração dos Sólidos:
  - Sólidos Totais;
  - Sólidos Totais Fixos;
  - Sólidos Totais Voláteis;
  - Sólidos Sedimentáveis.
- Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).
- Determinação do pH e Condutividade.
- Contagem de unidades formadoras de colônia de bactérias heterotróficas

### **3.2.2. Desidratação do lodo**

De acordo com as informações cedidas pelo CENPES, antes de sua disposição final o lodo passa por um processo de desidratação para a diminuição do volume total de resíduo a ser transportado e disposto. Desta forma, o lodo em estado bruto foi inicialmente desidratado por meio de filtração à vácuo, em sistema funil de Büchner e Kitassato. Em seguida a torta de lodo concentrada foi acondicionada em bandejas, mantidas em estufa a 45°C para completar o processo de desidratação.



Por esse procedimento foi possível obter uma concentração de sólidos compatível com a esperada pelo projeto da ETE, que também contempla um processo térmico de secagem. O lodo desidratado foi empregado nas análises de classificação de resíduos, toxicidade, genotoxicidade e biodegradação, descritas a seguir.

### **3.2.3. Classificação de resíduos sólidos**

#### **3.2.3.1. Lixiviação do lodo**

O ensaio de lixiviação do lodo foi realizado de acordo com as recomendações da norma técnica NBR 10.005 “Procedimentos para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos” (ABNT, 2004b). O ensaio consiste em determinar a capacidade de transferência de substâncias orgânicas e inorgânicas presentes no resíduo sólido, por meio de dissolução no meio extrator. A solução de extração é determinada de acordo com o pH do resíduo avaliado, a proporção de mistura resíduo/solução é de 1:20, mantida em agitação durante 18 ( $\pm 2$ ) hs à temperatura de até 25°C com rotação de 30 ( $\pm 2$ ) rpm. Após este período, o material deve ser filtrado à vácuo em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  e o extrato lixiviado analisado quanto à concentração de alguns elementos constituintes, que apresentam concentração limitada. Os resultados obtidos são comparados com os limites de concentração estabelecidos pelo Anexo F “Concentração – Limite máximo no extrato obtido no teste de lixiviação” da NBR 10.004 (ABNT, 2004a).

#### **3.2.3.2. Solubilização do lodo**

O ensaio de solubilização do lodo foi realizado de acordo com as recomendações da norma técnica NBR 10.006 “Solubilização de resíduos – Procedimento” (ABNT, 2004c). O ensaio consiste em manter em contato estático com água deionizada, uma amostra do resíduo sólido na proporção de mistura resíduo/água deionizada 1:4, por um período de 7 dias à temperatura de até 25°C. Após esse período, o material deve ser filtrado à vácuo em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  e o extrato solubilizado obtido ao final do processo analisado quanto à concentração de alguns dos elementos constituintes. Os resultados obtidos são comparados aos limites de concentração estabelecidos pelo Anexo G “Padrões para o teste de solubilização” da NBR 10.004 (ABNT, 2004a).

### 3.2.4. Soluções testadas nos ensaios de toxicidade e genotoxicidade

O produto obtido pela solubilização do lodo desidratado (extrato solubilizado), representa a capacidade do lodo em alterar a composição de uma amostra de água deionizada, ou seja, com baixa concentração de íons em solução. Essa solução de composição complexa foi empregada na execução dos testes de toxicidade e genotoxicidade, em virtude desta amostra representar a fração do lodo sujeita a dissolução em meio aquoso, representando a parcela mais biodisponível do lodo.

A condutividade elétrica das diluições do extrato solubilizado foi aferida em condutivímetro e, a partir dos valores obtidos calculou-se a pressão osmótica (TABELA 4) conforme Forsythe (1966), *apud* Santana *et al.* (2003):

#### Cálculo da Pressão Osmótica (PO)

$$PO = 0,0365 * CE$$

Onde:

PO = pressão osmótica (MPa);

CE = condutividade elétrica da diluição do extrato solubilizado ( $dS\ m^{-1}$ ).

Tabela 4. Valores de condutividade elétrica e potencial osmótico das diluições do extrato solubilizado, empregadas nos testes de toxicidade.

Concentração Extrato Solubilizado (v/v)	Condutividade Elétrica ( $dS.m^{-1}$ ) a 25°C	Potencial Osmótico (MPa)
5%	5.17	-0.19
10%	9.65	-0.35
15%	13.57	-0.50
20%	17.49	-0.64
25%	21.32	-0.78

### 3.2.5. Ensaio de toxicidade

O efeito das diferentes concentrações do extrato solubilizado do lodo sobre a germinação de sementes e desenvolvimento da raiz e hipocótilo, foi avaliado pela utilização de quatro diferentes espécies vegetais como organismos teste: *Barbarea verna* Mill. (Agridão do seco), *Brassica oleracea* L. (Couve manteiga), *Cucumis sativus* L. (Pepino caipira) e *Eruca sativa* Mill. (Rúcula). As sementes foram adquiridas de um mesmo fornecedor (TopSeed®). Nos casos onde mais de um lote de sementes foi necessário para a realização do teste, procedeu-se a homogeneização das sementes, com o objetivo de uniformizar a amostra.

#### 3.2.5.1. Toxicidade à germinação de sementes

Cada espécie vegetal foi submetida, no mínimo, a cinco diluições do extrato solubilizado, em três repetições de 50 sementes cada. As sementes foram distribuídas uniformemente em placa de petri, sobre papel de filtro previamente esterilizado. A cada placa foi adicionado 3,5 mL da respectiva diluição testada e em seguida incubada em câmara climática (Incubadora de DBO) a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , ao abrigo da luz. O controle negativo foi composto por três repetições contendo água mineral, também empregada para a diluição de todas as soluções testadas. Como controle positivo foi utilizado solução de 0,05 N de  $\text{ZnSO}_4$ .

A contagem de sementes germinadas foi realizada em intervalos consecutivos de 24 horas, sendo consideradas germinadas as sementes que apresentassem 2 mm de protrusão da radícula, sendo então removidas após cada contagem.

Os dados obtidos nos ensaios foram utilizados para calcular a porcentagem (%G), tempo médio (T) e velocidade média (VM) da germinação, utilizando-se as equações citadas por Labouriau e Agudo (1987).

#### Porcentagem de germinação (%G)

$$\%G = (n/a) \times 100$$

Onde:

n – número total de sementes germinadas

a – número total de sementes da amostra.

**Tempo médio de germinação (T)**

$$T = \frac{\sum ni \times ti}{\sum ni}$$

Onde:

ni – número de sementes germinadas no tempo ti.

**Velocidade média de germinação (V):**

$$V = 1/t$$

Onde:

t – tempo médio de germinação.

Os dados percentuais de germinação foram transformados em arco seno ( $\%G = \sqrt{x/100}$ ) (LABOURIAU, 1983), a comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey, em nível de significância  $\alpha = 0,05$ , empregando o *software* Bioestat 4.0 (AYRES *et al.*, 2006).

**3.2.5.2. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo**

A realização dos testes de toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo seguiu os procedimentos descritos por Morales (2004). Para cada espécie testada, 20 sementes foram adicionadas em placas de Petri contendo discos de papel de filtro estéril. Os tratamentos contavam com três repetições por diluição do extrato solubilizado testada, além dos respectivos controles. As placas receberam 3,5 mL das diluições, em seguida foram envolvidas em saco plástico, a fim de evitar que a evaporação interferisse nas concentrações avaliadas.

O controle negativo foi composto por três repetições contendo água mineral, também empregada para a diluição de todas as soluções testadas. Como controle positivo foi utilizada solução de 0,05 N de  $ZnSO_4$ .

Os testes foram mantidos em câmara climática (Incubadora de DBO) a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  por 120 horas, em ausência de luz. Após este período as placas foram submetidas ao congelamento em freezer, este procedimento, além de interromper o crescimento das plântulas de modo uniforme, facilita as medições pela diminuição da rigidez dos tecidos vegetais, evitando possíveis quebras das plântulas durante a realização das medições.

Para cada plântula foram tomadas medidas da raiz e hipocótilo (FIGURA 11). O conjunto de dados obtidos permitiu a elaboração de curvas dose-resposta e cálculo da Concentração de Inibição de 50% ( $CI_{50}$ ) do conjunto de medidas da raiz e hipocótilo, frente ao crescimento médio obtido pelo controle negativo, para cada espécie vegetal testada.

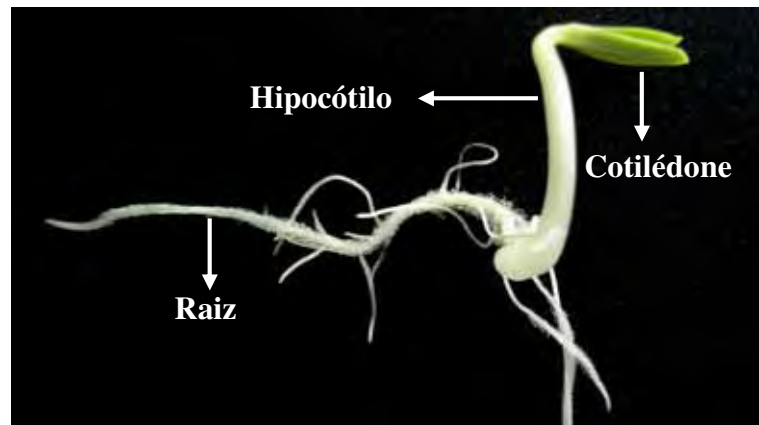


Figura 11. Plântula de *Cucumis sativus* representando as estruturas mensuradas.

### 3.2.5.3. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de *Allium cepa*

A avaliação da toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de *Allium cepa* seguiu os procedimentos descritos por Morales (2004). Foram selecionados bulbos de tamanho semelhante, com aproximadamente 1,5-2,0 cm de diâmetro, acondicionados em tubos de ensaio pequenos, de 1,5cm de diâmetro por 10cm de comprimento.

Para a realização do experimento, alguns critérios devem ser seguidos. Os bulbos selecionados não devem ter iniciado o desenvolvimento de folhas verdes, bulbos ressecados ou com desenvolvimento de fungos devem ser descartados. Dentro de uma população normal é esperada a existência de bulbos com baixa taxa de desenvolvimento, desta forma, para cada tratamento testado, 12 bulbos devem ser selecionados ao início do experimento, os 10 melhores bulbos desta série devem ser selecionados nas primeiras 24 ou 48 hs para a continuidade do teste, com duração total de 120hs.

Os bulbos devem ser preparados antes do início do teste, folhas secas mais externas e os restos de tecidos e raízes devem ser removidos, tomando-se o cuidado de manter intacto o anel de primórdios radiculares. Após esses procedimentos, os bulbos foram mantidos imersos em água para evitar a desidratação dos primórdios radiculares. Os bulbos preparados dessa forma foram transferidos para os tubos de ensaio, contendo as diluições do extrato solubilizado (FIGURA 12).

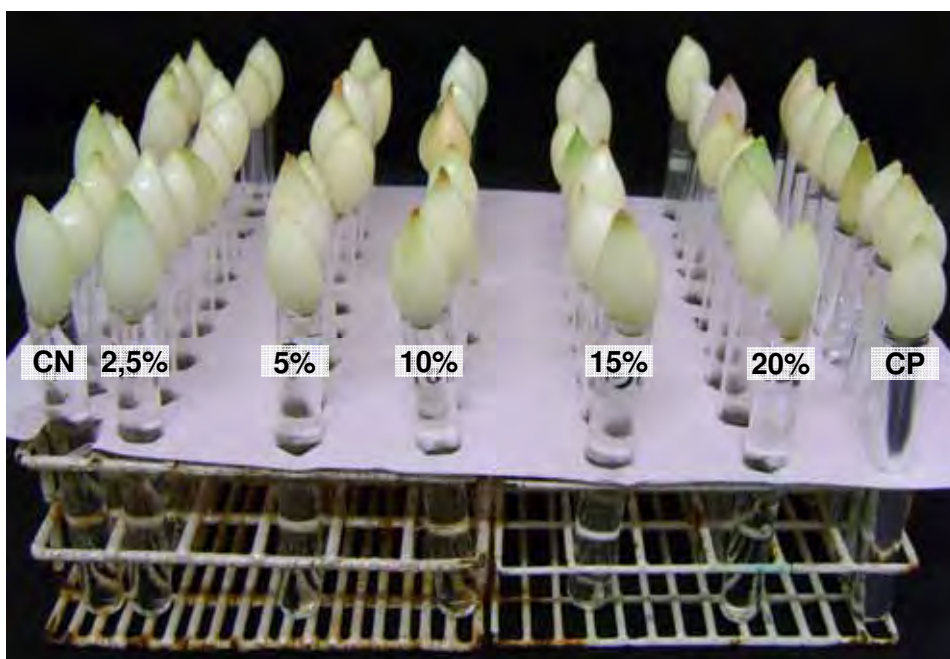


Figura 12. Experimento de toxicidade empregando bulbos de *Allium cepa*. Controle Negativo (CN), Controle Positivo (CP).

O experimento foi realizado sob temperatura de 20°C e protegido da incidência direta da luz do sol. As soluções testadas foram armazenadas sob refrigeração (4°C) e utilizadas somente após equilíbrio com a temperatura ambiente. Diariamente os tubos foram completados com as respectivas soluções testadas para restabelecer o volume perdido por absorção e evaporação.

Foram testadas cinco diferentes diluições do extrato solubilizado do lodo, que variaram de 2,5 a 20% de concentração, O controle negativo foi composto por água mineral, como controle positivo foi utilizado uma solução do herbicida trifluralina.

Ao término do período de exposição, as raízes de cada bulbo foram medidas com auxílio de régua métrica (Figura 13). O conjunto de dados obtidos permitiu a elaboração da curva dose-resposta e cálculo da Concentração de Inibição ( $CI_{50}$ ) do conjunto de medidas das raízes frente ao crescimento médio obtido pelo controle negativo.

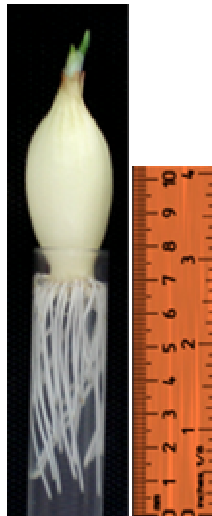


Figura 13. Determinação da medida dos feixes radiculares de *Allium cepa*, após 120 horas de contato com a solução testada.

### 3.2.6. Genotoxicidade em tecido meristemático radicular de *Allium cepa*

O teste de genotoxicidade seguiu os procedimentos descritos por Matsumoto *et al.* (2006), empregando como material de análise, amostras de raízes provenientes do ensaio de toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de *Allium cepa*. Ao final do período de exposição, após a tomada da medida das raízes, porções das raízes que apresentavam a região meristemática intacta foram fixadas em álcool/ácido acético (3:1 v/v) pelo período de 24 hs.

Para a realização das análises citológicas, as raízes foram submetidas à hidrólise ácida em HCl 1N a 60°C, durante 10 minutos, seguido de lavagem em água destilada. Em seguida foram submetidas à coloração com Reativo de Schiff, por duas horas ao abrigo da luz. A partir das raízes coradas foram confeccionadas lâminas para observação em microscopia. A região meristemática das raízes foi separada do restante do tecido radicular, em seguida adicionou-se Carmin Acético (1%) para intensificar a coloração. Os meristemas assim preparados foram submetidos a esmagamento suave entre lâmina e lamínula. As lamínulas foram extraídas em nitrogênio líquido e as lâminas montadas em *Entellan*. A análise das lâminas foi realizada por microscopia óptica sob aumento de 40X, sendo avaliado o número de células em divisão, presença de alterações cromossômicas e celulares em cada tratamento testado.

Para cada tratamento avaliado foram observadas cinco lâminas, cada lâmina era confeccionada a partir da região meristemática de uma única raiz, sendo analisadas 1.000 células por lâmina, totalizando 5.000 células por tratamento. Os tratamentos avaliados foram os mesmos do ensaio de toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de *Allium cepa*, ou seja, cinco diferentes concentrações que variaram entre 2,5 e 20% de concentração do extrato solubilizado, além dos controles positivo e negativo.

Foram observadas células que apresentavam anormalidades como: células portadoras de micronúcleos, prófases com perda de material genético, aderências cromossômicas na metáfase, C-metáfases, anáfases irregulares (multipolares, com atraso, pontes anafásicas), células com perdas e quebras cromossômicas, células com ponte telofásicas, células com alterações nucleares (núcleos amebóides e células polinucleadas) e células em processo de morte celular (apoptose).



Os resultados de cada concentração testada foram avaliados e apresentados como número de observações por 1000 células e comparados ao controle negativo. A análise estatística dos dados foi realizada pelo método de Kruskal-Wallis, em nível de significância  $\alpha = 0,05$ , empregando o *software* Bioestat 4.0 (AYRES *et al.*, 2006).

### 3.2.7. Ensaio de biodegradação do lodo em solo

A respiração da comunidade microbiana do solo tem sido utilizada como indicador da atividade biológica em seu perfil. Esta metodologia constitui numa ferramenta importante para avaliar o potencial de biodegradação de compostos orgânicos dispostos no solo, assim como, a possível influência da adição de resíduos sólidos sobre a atividade desses microrganismos.

O respirômetro de Bartha e Pramer é um sistema fechado, constituído de duas câmaras interligadas, onde ocorrem a biodegradação do resíduo e a remoção do  $\text{CO}_2$  produzido durante o processo (FIGURA 14).

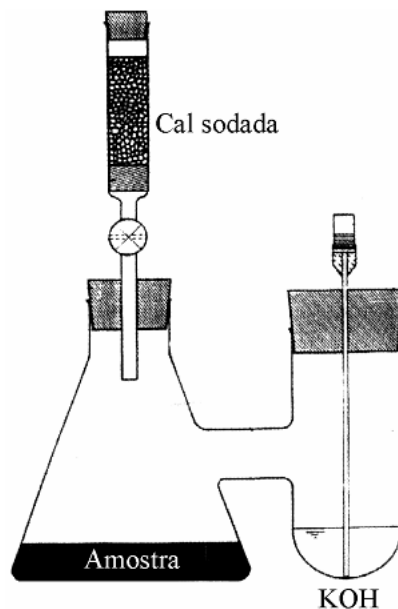


Figura 14. Esquema representativo do Respirômetro de Bartha e Pramer

Considera-se que há uma correlação entre a produção de CO<sub>2</sub> e a biodegradação da matéria orgânica no solo. O conhecimento da quantidade de CO<sub>2</sub> produzido por um resíduo disposto no solo permite determinar a eficiência de sua degradação, tornando possível determinar o tempo de estabilização do resíduo em diferentes taxas de aplicação, a relação solo/resíduo mais adequada para determinados tipos de solo, e ainda, verificar a possibilidade de detecção de agentes tóxicos que inibem a população microbiana.

O ensaio de biodegradação do lodo foi realizado de acordo com a norma técnica L6.350 “Solos – Determinação da Biodegradação de Resíduos: método respirométrico de Bartha” (CETESB, 1990). Foram testados três diferentes tratamentos cada um contando com quatro repetições (TABELA 5). Os tratamentos continham proporções crescentes do lodo desidratado (10, 25 e 50%) misturado ao solo proveniente do Aterro Sanitário do município de Rio Claro, SP., empregado na cobertura diária das células do aterro. Em cada frasco respirométrico foi adicionado 50 g da respectiva proporção solo+lodo desidratado (FIGURA 15). A fim de adequar o teor de umidade das misturas aos requisitos da norma técnica (entre 50 e 60% da capacidade de campo) e fornecer um fonte de microrganismos heterotróficos adaptados às condições do aterro, a umidade inicial do solo foi determinada e corrigida mediante a adição de *chorume*, também coletado no Aterro Sanitário. O controle negativo foi composto apenas pela mistura de solo do Aterro Sanitário e *chorume*. Os respirômetros foram incubados em estufa a 27°C.

Tabela 5. Tratamentos testados no ensaio de biodegradação do lodo desidratado.

<b>Tratamento</b>	<b>Solo (g)</b>	<b>Lodo (g)</b>	<b>Chorume (mL)</b>
<b>Controle</b>	<b>50</b>	<b>---</b>	<b>5,5</b>
<b>L10%</b>	<b>45</b>	<b>5</b>	<b>5,5</b>
<b>L25%</b>	<b>37,5</b>	<b>12,5</b>	<b>5,5</b>
<b>L50%</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>5,5</b>



Figura 15. Respirômetros de Bartha e Pramer durante a realização do ensaio de biodegradação.

Nos respiômetros o  $\text{CO}_2$  gerado pela atividade microbiana em seu interior é absorvido pela solução de KOH (10 mL, 0,2 N) adicionada ao braço lateral do frasco. A reação do  $\text{CO}_2$  com a solução de KOH no interior do respiômetro tem como resultado o consumo do KOH e produção do carbonato de potássio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ). Desta forma, a titulação do KOH residual com uma solução padronizada de HCl (0,1 N), após precipitação do carbonato pela adição de cloreto de bário (1 mL, 1 N), permite o cálculo da quantidade de  $\text{CO}_2$  gerado no período considerado, de acordo com a seguinte equação:

$$\text{CO}_2 \text{ gerado } (\mu\text{mol}) = (\text{VB} - \text{VA}) \cdot 50 \cdot \text{fHCl}$$

Onde:

VB – volume de HCl 0,1 N utilizado para titular o branco, em mL;

VA – volume de HCl 0,1 N utilizado para titular o tratamento, em mL;

fHCl – fator de correção da normalidade do HCl.

Após a titulação, os respiômetros foram aerados, por aproximadamente 1 minuto, o fluxo de ar foi forçado através de uma coluna contendo ascarita (cal sodada), a fim de eliminar o  $\text{CO}_2$  presente. Em seguida, o braço lateral do respiômetro foi reabastecido com nova solução de KOH e os respiômetros recolocados na estufa para um novo período de incubação.

A determinação do intervalo de tempo entre as titulações do KOH deve ser realizada a fim de evitar que todo o KOH em solução reaja com o CO<sub>2</sub> produzido. A reação do CO<sub>2</sub> com KOH faz o pH dessa solução baixar, podendo ultrapassar o ponto de viragem do indicador utilizado na titulação (fenolftaleína), impossibilitando determinação da quantidade de CO<sub>2</sub> produzido.

A geração de gás carbônico no sistema é consequência da biodegradação do carbono orgânico presente na amostra adicionada no interior do respirômetro. Entretanto, nem todo carbono biodegradado é diretamente convertido à CO<sub>2</sub>, sendo considerado que 50% do carbono biodegradado fica retido no solo, na forma de húmus e biomassa. Dessa forma a quantidade total de carbono biodegradado pode ser expressa pela seguinte equação:

$$\text{Quantidade total de carbono biodegradado } (\mu\text{mol}) = 2 \cdot \text{CO}_2 \text{ produzido } (\mu\text{mol})$$

A partir da determinação da quantidade de carbono biodegradado durante o período de execução do ensaio, a eficiência da biodegradação (EB) pode ser calculada por meio da seguinte equação:

$$\text{EB\%} = \frac{\text{Quantidade total de carbono biodegradado } (\mu\text{mol})}{\text{Quantidade de carbono orgânico inicial no solo } (\mu\text{mol})} \cdot 100$$

A análise de granulometria, macro e micronutrientes e quantidade de carbono orgânico total presente nos tratamentos testados foi realizada pelo laboratório “Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo” (ICASA), de acordo com a metodologia Embrapa (1997). A quantificação do desenvolvimento de bactérias heterotróficas no início e ao final do ensaio respirométrico foi realizada de acordo com CETESB (1978), pela técnica de *Pour Plate* utilizando meio de cultura Nutriente Ágar (Na) e NA contendo 50 g.L<sup>-1</sup> de NaCl.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Determinação de parâmetros do lodo em estado bruto

A Tabela 6 apresenta os resultados das análises realizadas com o lodo em estado bruto. A concentração de sólidos do lodo no momento da coleta foi de 6,3%, sendo a maior proporção dos sólidos representada pelos sólidos dissolvidos fixos que compunham 56% dos sólidos totais. Essa proporção indica o alto teor de sais dissolvidos no lodo em relação ao material orgânico presente.

Tabela 6. Resultado das análises do lodo biológico da ETEpiloto do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP., em estado bruto.

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>	<b>Unidade</b>
Sólidos Totais	63,04	g/L
Sólidos Totais Fixos	54,65	g/L
Sólidos Totais Voláteis	8,39	g/L
Sólidos em Suspensão Totais	25,05	g/L
Sólidos em Suspensão Fixos	19,44	g/L
Sólidos em Suspensão Voláteis	5,61	g/L
Sólidos Dissolvidos Totais	37,99	g/L
Sólidos Dissolvidos Fixos	35,25	g/L
Sólidos Dissolvidos Voláteis	2,74	g/L
Sólidos Sedimentáveis	550,00	mL/L
pH	7,01	--
Condutividade Elétrica	68,0	dS.m <sup>-1</sup>
DBO <sub>5</sub>	300,53	mgO <sub>2</sub> /L
Bactérias Heterotróficas	1,48.10 <sup>7</sup>	UFC/mL

Segundo Macêdo (2002), a maioria dos sólidos totais voláteis é composta por material orgânico, biodegradável ou não, e a maioria dos sólidos totais fixos é formada de material mineral. A avaliação da série de sólidos demonstra que os sólidos totais voláteis representam 13,3% do total de sólidos presentes na amostra. O teor de matéria orgânica em solução, determinada pelos sólidos dissolvidos voláteis, representa 4,3% do total de sólidos. A fração de sólidos em suspensão voláteis, variável que pode ser utilizada como indicador da concentração da biomassa de microrganismos decompositores da matéria orgânica, representa aproximadamente 9% do total de sólidos encontrado no lodo.

Esses resultados indicam uma importante característica do lodo gerado pelo tratamento biológico da água de produção, o alto teor de sais dissolvidos. Essa característica é consequência inerente à composição do efluente tratado, ou seja, das altas concentrações de sais dissolvidos normalmente encontradas na água de produção do petróleo, aliado às propriedades intrínsecas ao processo de biodegradação que dá origem ao lodo, onde busca-se a mineralização da fração orgânica presente. Essas características refletem no alto valor de condutividade elétrica encontrado no lodo.

Dessa forma, a concentração de sólidos dissolvidos fixos determinada para o lodo em estado bruto, indica uma quantidade de sais semelhante à normalmente encontrada na água do mar, que apresenta em média 35 g/L (WHITTEN *et al.*, 2004).

A DBO<sub>5</sub> representa a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica presente em uma amostra, por meio da decomposição microbiana aeróbia, em produtos finais estáveis ou mineralizados, num período de cinco dias. A presença de alto teor de matéria orgânica pode induzir à completa extinção do oxigênio na água, provocando sérias alterações sobre a comunidade de organismos aquáticos existente em um corpo hídrico. A DBO<sub>5</sub> determinada para o lodo estudado encontra-se entre os valores de DBO<sub>5</sub> normalmente encontrados para os lodos provenientes do tratamento de esgotos domésticos, que variam entre a faixa de 110 a 400 mgO<sub>2</sub>/L (CETESB, 2009).

Em geral, o tratamento de efluentes industriais biodegradáveis com alto teor de sólidos dissolvidos confere certa dificuldade para o tratamento biológico, devido a problemas de pressão osmótica (MACÊDO, 2002). A grande variabilidade e complexidade química, aliada à alta salinidade, dificultam o tratamento biológico da água de produção, uma vez que a elevada concentração salina do meio, além de alterar o transporte de espécies químicas entre o

meio e o interior da célula microbiana, provoca mudanças e efeitos inibitórios ao metabolismo. A elevada concentração salina tende a causar desidratação e lise celular, devido à grande diferença de pressão osmótica entre o citoplasma e o ambiente (DAN *et al.*, 2003). A consequência geral desses efeitos provocados pela alta salinidade na comunidade microbiana é a diminuição da eficiência do processo biológico.

Embora a comunidade microbiana comumente encontrada em processos de lodos ativados possa se aclimatar às altas salinidades, a extensão dessa adaptação é limitada. Vários estudos têm mostrado que culturas convencionais não podem ser usadas para tratar efluentes com concentrações salinas maiores que 3 a 5% (WOOLARD; IRVINE, 1995).

A operação dos reatores da estação piloto do TEBAR não prevê a adição de inóculo microbiano. O desenvolvimento da biomassa ocorre a partir da própria população microbiana presente na água de produção, mediante o fornecimento de uma fonte de carbono externa para estimular seu crescimento. A contagem de bactérias heterotróficas da ordem de  $1.10^7$  Unidades Formadoras de Colônia (UFC), representa a intensa atividade biológica do lodo, composto por microrganismos adaptados às condições de salinidade do efluente em tratamento.

Segundo Medeiros *et al.* (2005), procedimentos adequados de aclimação da biomassa a alta salinidade minimizam os efeitos adversos causados à comunidade microbiana. Em estudo que avaliou os efeitos da salinidade no desempenho do processo de lodos ativados, aplicado ao tratamento de um efluente industrial complexo, observou-se que mesmo após procedimentos de adaptação do lodo às diferentes salinidades, uma apreciável diminuição da atividade microbiana foi observada quando o lodo foi submetido às concentrações de cloreto de 15 e 20 g.L<sup>-1</sup>, onde a eficiência do processo de remoção do carbono orgânico dissolvido (COD) foi de 70 e 20% respectivamente.

## 4.2. Classificação de resíduos sólidos

A análise química do extrato solubilizado do lodo gerado pelo tratamento biológico da água de produção demonstra que na composição deste resíduo a concentração dos elementos: sódio, chumbo, ferro, manganês, bário e cloreto encontram-se acima dos limites máximos estabelecidos para o ensaio de solubilização. Os resultados obtidos pela análise do extrato lixiviado não apresentaram concentração dos elementos avaliados acima dos limites estabelecidos para este ensaio (TABELA 7). Assim, de acordo com a Norma Técnica NBR 10.004 “Resíduos Sólidos – Classificação” (ABNT, 2004b), esse resíduo é classificado como: **Classe II-A, Não Perigoso – Não Inerte.**

Tabela 7. Resultados das análises químicas dos ensaios de Solubilização e Lixiviação ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), realizado com o lodo biológico da ETEpiloto do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP.

Parâmetros	Solubilização	LM <sup>1</sup>	Lixiviação	LM <sup>2</sup>
Sódio	<b>10.400,0</b>	200,0	247,0	*
Potássio	369,0	*	75,3	*
Silício	4,4	*	2,6	*
Cálcio	1.583,0	*	977,0	*
Estrôncio	112,0	*	49,6	*
Magnésio	478,0	*	139,0	*
Chumbo	<b>0,28</b>	0,01	0,012	1,0
Ferro	<b>0,79</b>	0,3	0,007	*
Manganês	<b>0,74</b>	0,1	0,29	*
Cromo Total	< 0,05	0,05	< 0,05	5,0
Fósforo	4,6	*	24,5	*
Alumínio	< 0,1	0,2	0,47	*
Zinco	0,026	5,0	0,029	*
Bário	<b>4,02</b>	0,7	0,6	70,0
Níquel	0,021	*	0,024	*
Boro	10,02	*	--	*
Prata	< 0,1	0,05	--	5,0
Cobre	< 0,008	1,0	--	*
Sulfato	270,0	400,0	--	*
Cloreto	<b>23.000,0</b>	250,0	--	*
Cádmio	< 0,005	0,005	< 0,005	0,5

LM<sup>1</sup> - Limite Máximo Permissível para o Ensaio de Solubilização;

LM<sup>2</sup> - Limite Máximo Permissível para o Ensaio de Lixiviação;

\* elementos químicos não considerados pela NBR 10.004 (Anexo G e F).



Os processos de tratamento dos efluentes industriais, na maioria das vezes, têm como consequência a geração de resíduos que necessitam de destinação adequada, uma vez que diversos compostos normalmente presentes nos resíduos industriais são tóxicos, muitas vezes apresentando capacidade de bioacumulação e transferência pela cadeia alimentar.

De acordo com o princípio legal do poluidor-pagador, instituído pela Lei nº 6938 (BRASIL, 1981), fica determinado que compete ao gerador a responsabilidade pelos resíduos produzidos, compreendendo todas as etapas, desde o acondicionamento, coleta, armazenamento, tratamento até a destinação final do mesmo. Além disso, a terceirização desses serviços não isenta de responsabilidade o gerador pelos danos que vierem a ser causados, bem como os responsáveis pelo serviço terceirizado. O gerador sempre será o responsável pelo seu resíduo até a sua destinação final.

Outro fator relevante é que os aterros sanitários municipais não estão autorizados a receber resíduos industriais, mesmo que estes sejam classificados como classe II-A ou classe II-B, salvo se o aterro obtiver uma licença de operação junto ao órgão ambiental, onde esteja discriminado que este passa a ser considerado um “Aterro Industrial Classe II-A e II-B”. Fora essa exceção, em caso de destinação inadequada, tanto o gerador quanto o receptor incorrerão no artigo 60 da chamada Lei de Crimes Ambientais, Lei nº 9.605 (BRASIL, 1998). Desta forma, podemos observar que a legislação brasileira encontra-se constituída de forma a disciplinar as questões relativas à destinação adequada dos resíduos industriais, cabendo ao poder público a obrigação de fiscalizar o cumprimento da legislação vigente.

Em um estudo realizado por Sisino (2003), com o objetivo de avaliar a toxicidade potencial dos resíduos produzidos em indústrias de diferentes segmentos, 21 amostras foram analisadas de acordo com as orientações descritas na NBR 10.004. Das 21 amostras, duas foram classificadas como resíduos perigosos, uma como resíduo inerte e 18 como resíduos não-inertes. Os principais parâmetros que contribuíram para a classificação das amostras em resíduos não-inertes foram: alumínio, ferro, manganês, fenol e surfactantes. Segundo o autor, o Estado do Rio de Janeiro não possui aterros para resíduos industriais não-inertes, os resíduos assim classificados produzidos no Estado muitas vezes são dispostos em aterros municipais junto aos resíduos urbanos, comprometendo a área onde o aterro está localizado e áreas sob sua influência.

Dessa forma, verifica-se a importância da destinação adequada dos resíduos gerados pelos processos industriais, de acordo com critérios determinados pelo nível de periculosidade do resíduo, uma vez que a implantação de um sistema de gestão ambiental está relacionada a uma série de benefícios potenciais, como a manutenção de boas relações com a sociedade, fortalecimento da imagem e diminuição de incidentes que impliquem na responsabilidade civil (ABNT, 1996). Assim, a implantação das normas do sistema de gestão ambiental (série ISO 14.000) fomenta a prevenção de processos que levam a contaminação ambiental, uma vez que para a obtenção e manutenção da certificação é exigido: o cumprimento da legislação ambiental, o diagnóstico atualizado dos aspectos e impactos ambientais de cada atividade realizada pela empresa e o estabelecimento de procedimentos padrões e planos de ação para eliminar ou diminuir os impactos ambientais. Dado estes critérios, a classificação dos resíduos gerados com o objetivo de destiná-los de forma adequada, assim como o estudo da composição do resíduo, principais contaminantes, suas características e propriedades configuram-se indispensáveis nesse processo.

A presença de manganês na água está relacionada à solubilização do solo e da decomposição das rochas, sendo normal a ocorrência de variação sazonal na concentração de manganês dos rios. Em geral, os níveis se apresentam mais baixos nos meses com baixa precipitação pluviométrica. Altas concentrações são encontradas em águas que recebem descartes de resíduos industriais (MARTINS; LIMA, 2001). O descarte de líquidos e/ou resíduos sólidos de produtos contendo Mn pode contribuir para a contaminação do ar, do solo e da água. As informações sobre o grau de poluição proveniente de acidentes ambientais relacionados ao Mn são esparsos (MARTINS; LIMA, 2001).

Nos oceanos, o manganês é encontrado principalmente na forma de dióxido ( $MnO_2$ ), produzido por meio da ação de bactérias sobre os sais do metal. No meio marinho, o manganês concentra-se tanto nos sedimentos de águas profundas quanto em áreas próximas à região costeira. São observadas variações regionais e influência de fatores, tais como: composição da água, atividade vulcânica e produtividade orgânica na concentração do metal (WHO, 1981). O manganês é frequentemente transportado no meio aquático adsorvido em partículas suspensas. Desta forma, o material particulado suspenso nas águas pode conter concentrações apreciáveis de Mn (WHO, 1999).

O elemento ferro compõe 30% da massa total do planeta, constitui 80% do núcleo e representa o quarto elemento mais abundante da crosta terrestre depois do oxigênio, silício e

alumínio (SIENKO, 1977). Ao lado do alumínio, o ferro é o elemento metálico mais importante no ambiente terrestre (O'NEIL, 1994). A maior parte aparece combinada com oxigênio, silício ou enxofre. Quase todas as rochas e solos contêm pelo menos traços de ferro (SIENKO, 1977). Dos depósitos de minérios de ferro existentes os mais importantes são os minérios de ferro oxidado formados como sedimentos em grande quantidade nos mares primitivos (NORIVAL, 1998).

Em soluções aquosas, o ferro ocorre como ferro (II) ou ferro (III) ou como complexos orgânicos de ferro (II) e ferro (III). Em condições aeróbias, ou quando o pH se aproxima da neutralidade, a forma férrica dos sais inorgânicos é a que prevalece. O ferro existe na água do mar, principalmente como  $\text{Fe(OH)}$  (NORIVAL, 1998). Vários parâmetros e processos influenciam a disponibilidade do ferro no sistema aquático (pH e potencial redox do meio, captação pela biota aquática, deposição do metal no sedimento). A presença de substâncias húmicas no solo leva a maior disponibilidade biológica por aumentar a solubilidade dos elementos metálicos. O ferro no sedimento encontra-se complexado, principalmente com substâncias húmicas que contêm grupos funcionais carboxílicos e fenólicos, capazes de reduzir íons metálicos (LU *et al.*, 2000).

O chumbo é um elemento relativamente abundante na crosta terrestre. As maiores fontes geológicas de chumbo são as rochas ígneas e metamórficas, as principais emissões naturais compreendem o vulcanismo e intemperismo geoquímico (WHO, 1995). Embora os processos naturais possam contribuir com a liberação de chumbo para o ambiente, as emissões antropogênicas são as principais responsáveis pela contaminação ambiental (ATSDR, 1993).

No ano de 1984, a combustão da gasolina contendo chumbo como aditivo foi responsável por aproximadamente 90% do total de emissões antropogênicas (ATSDR, 1993). Atualmente, com a diminuição do teor de chumbo na gasolina em muitos países, e a eliminação em outros, a contribuição das fontes industriais na porcentagem de emissão atmosférica total do metal é progressivamente maior (THORNTON *et al.*, 1995). Entretanto, deve-se considerar que embora tenha havido essa diminuição, o metal no solo é imóvel e a contaminação proveniente desta fonte é duradoura. Alguns fatores interferem na mobilidade do chumbo no solo e em sua disponibilidade, tais como: pH, composição mineral do solo, quantidade e tipo de matéria orgânica, presença de colóides inorgânicos e óxidos de ferro,

características de troca iônica e quantidade do elemento no solo. (ATSDR, 1993; WHO, 1995).

A adsorção do chumbo é um processo potencialmente importante para a diminuição da disponibilidade do metal. Devido ao processo de adsorção ser essencialmente irreversível, a presença de uma fonte adsorvente no solo também pode acarretar reduções na disponibilidade do chumbo. O chumbo é fortemente adsorvido à matéria orgânica, podendo ser imobilizado pela quelação com os ácidos fúlvicos e húmicos do solo. Os óxidos de manganês têm sido reconhecidos como fontes adsorventes para o chumbo (HETTIARACHCHI *et al.*, 2000).

A contaminação do meio aquático pelo chumbo acontece como resultado da erosão de solos contaminados (ATSDR, 1995). A maior parte do metal encontra-se fortemente ligada ao sedimento (WHO, 1989), consistindo em partículas coloidais ou partículas grandes de carbonato de chumbo, óxido de chumbo, hidróxido de chumbo ou outros compostos de chumbo incorporados a componentes particulados, lixiviados do solo (ATSDR, 1993). Após sua deposição na água, o metal se divide rapidamente entre o sedimento e a fase aquosa, conforme o pH da água, sais dissolvidos e presença de compostos orgânicos. Em pH > 5 a solubilidade do chumbo é de aproximadamente 30 µg/L em águas duras, ou seja, com alto teor de cálcio dissolvido e, de aproximadamente 500 µg/L em águas moles (com baixos teores de cálcio) (ATSDR, 1993; WHO, 1995).

Um dos fatores mais importantes que influenciam a toxicidade aquática do metal é a concentração iônica livre, a qual interfere na disponibilidade do chumbo para os organismos. A toxicidade do sal inorgânico de chumbo é dependente das condições ambientais, como a dureza da água, pH e salinidade (WHO, 1989). Em geral, compostos inorgânicos do chumbo apresentam toxicidade mais baixa para os microrganismos do que os tri e tetraalquil compostos. Em organismos aquáticos a captação e acúmulo do chumbo da água e sedimentos são influenciados por vários fatores ambientais como temperatura, salinidade, pH e conteúdo dos ácidos húmico e algínico, além de ser influenciada por fatores inerentes ao organismo, como idade, estado fisiológico, condição nutricional e, possivelmente, fatores genéticos. (WHO, 1989).

O bário é um metal alcalino terroso que compõe 0,05% da massa total da crosta terrestre e é encontrado amplamente distribuído pelo planeta. Sob condições naturais

apresenta-se como um cátion divalente combinado a outros elementos. A forma de ocorrência natural mais comum é o sulfato de bário, seguido do carbonato de bário. O sulfato de bário apresenta baixa solubilidade em água (USEPA, 1998), sua fonte natural é o mineral barita, empregado como agente selador na lama de perfuração durante a exploração do petróleo (IPCS, 1990). O carbonato e o fosfato de bário apresentam considerável solubilidade em água (WHO, 2001). A toxicidade do bário é produzida pelo cátion livre, devido à contaminação do ambiente aquático por compostos de alta solubilidade (USEPA, 1998). Entretanto, sob condições ácidas alguns sais insolúveis podem solubilizar-se (USEPA, 1984). As maiores concentrações que atingem o ambiente são oriundas de fontes antropogênicas, liberadas para o ambiente por meio de emissões industriais, resultantes de atividades de mineração, refino ou processamento de minérios de bário ou manufatura de produtos contendo bário (USEPA, 1998). Entre as principais fontes de contaminação do ambiente aquático encontra-se o lançamento de águas residuárias de processos metalúrgicos. Na água os sais de bário mais tóxicos são convertidos em sais insolúveis que precipitam, estima-se que apenas 0,006% do bário total oriundo das fontes de água doce que deságuam no oceano permaneça em solução, assim, o bário apresenta uma baixa tendência de acumular-se nos organismos aquáticos (WHO, 2001). Concentrações elevadas no solo pode ser resultado da disposição de lodos de processos industriais em aterros (IPCS, 1990).

As concentrações de bário no ambiente marinho geralmente aumentam com a profundidade da coluna d'água (IPCS, 1990; WHO, 2001). Bernat *et al.* (1972) *apud* WHO (1991) encontrou concentrações de bário no Oceano Pacífico, que variaram de 5,2 a 25,2 mg/L em águas marinhas superficiais e profundas respectivamente.

### 4.3. Toxicidade a germinação de sementes.

O processo de germinação exige que o eixo embrionário desenvolva um potencial de crescimento alto o suficiente para neutralizar as restrições mecânicas impostas pelos tecidos circundantes (ZIVKOVIC, 2007). A água é o fator que exerce a mais determinante influência sobre o processo de germinação. Da absorção de água resulta a reidratação dos tecidos, com a conseqüente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culmina no fornecimento de energia e de nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 1988).

Apesar da referência padrão de germinação e do crescimento serem programados pela constituição genética da espécie em questão, a expressão eventual deste modelo é freqüentemente modificada pelas condições do ambiente sob o qual as sementes estão expostas (SANTOS *et al.*, 1992)

Os resultados dos testes de germinação são apresentados na Tabela 8. Observa-se de maneira geral, que entre o potencial osmótico de -0,5 e -0,64 MPa os efeitos deletérios do excesso de salinidade começam a causar diminuição significativa no percentual de germinação.

Tabela 8. Porcentagem média de germinação para as espécies testadas, submetidas à concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico.

Espécie	Potencial Osmótico (MPa) / Concentração do Solubilizado					
	Controle	- 0,19 / 5%	- 0,35 / 10%	- 0,50 / 15%	- 0,64 / 20%	- 0,78 / 25%
	Germinação (%)					
<i>B. verna</i>	96,6 aA	92,2 aA	53,3 bA	17,8 cA	4,4 dA	0,0 eA
<i>B. oleracea</i>	97,8 aA	95,4 aA	92,2 aB	77,8 aB	80,0 aB	46,7 bB
<i>C. sativus</i>	100 aA	100 aA	100 aB	98,3 aB	63,3 bB	25,0 cC
<i>E. sativa</i>	98,9 aA	96,7 aA	86,7 abB	78,3 bB	73,3 bB	33,3 cBC

Médias seguidas das mesmas letras, maiúscula para coluna e minúscula para linha, não diferem pelo teste de Tukey, em nível de significância  $\alpha = 0,05$ .

Entre as espécies testadas, *B. verna* demonstrou maior sensibilidade do processo de germinação em relação ao aumento da concentração do extrato solubilizado. A partir do potencial osmótico de -0,35 MPa já é possível observar diferença significativa em relação ao tratamento controle, sendo o potencial de -0,78 MPa responsável pela inibição total da germinação. Com exceção de *B. verna*, as outras espécies testadas apresentaram taxa de inibição da germinação acima de 50%, apenas quando submetidas à 25% de concentração do extrato solubilizado.

A germinação de *B. oleracea* foi pouco afetada pelos potenciais osmóticos testados, sendo possível observar diferença significativa entre as diluições do extrato solubilizado, somente sob potencial osmótico de -0,78 MPa. No intervalo entre 20 e 25% de concentração observa-se uma diminuição de 33% na taxa de germinação de *B. oleracea*, indicando uma curta faixa de pressão osmótica onde um ponto crítico em relação à capacidade de germinação é atingido.

A espécie *C. sativus* apresentou diminuição significativa em sua taxa de germinação sob potencial osmótico de -0,64 MPa, atingindo 75% de diminuição da taxa de germinação, em relação ao controle, quando submetida ao potencial osmótico de -0,78 MPa. As sementes de *E. sativa* foram inibidas significativamente a partir do potencial osmótico de -0,5 MPa. Sob potencial osmótico de -0,78 MPa *E. sativa* apresentou porcentagem de germinação semelhante ao das espécies *B. oleracea* e *C. sativus*.

Geralmente, as plantas apresentam grande diversidade quanto a tolerância à salinidade. Plantas com baixa tolerância à salinidade nos vários estágios de seu desenvolvimento, incluindo a germinação, são denominadas glicófilas e as mais tolerantes halófilas (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989). Em condições naturais a distribuição das espécies vegetais depende principalmente da habilidade da semente em completar a germinação e a capacidade da plântula em desenvolver-se com sucesso sob condições desfavoráveis (ZIVKOVIC, 2007). Em condições salinas ocorre uma diminuição na disponibilidade de água, ou seja, com o acúmulo de sais em solução o potencial total da água sofre diminuição. Segundo Prisco e O'Leary (1970), a absorção de água pelas sementes ocorre em função do gradiente de potencial osmótico no sistema solo-planta ou solo-semente, assim, o potencial osmótico de uma solução salina pode apresentar valores mais negativos do que aquele das células do embrião. Como a água tende a deslocar-se do ponto de maior para o de menor potencial

osmótico, a absorção da água necessária para a germinação da semente será dificultada, havendo um maior gasto de energia pela planta (LIMA, 1997).

Potenciais osmóticos muito negativos, especialmente no início da embebição, promovem drástica diminuição na absorção de água pelas sementes, podendo inviabilizar a seqüência de eventos do processo germinativo (BANSAL *et al.*, 1980). Desta forma o estresse hídrico atua diminuindo a velocidade e a porcentagem de sementes germinadas. Sob baixas concentrações salinas, apenas o efeito sobre a velocidade de germinação é observado, entretanto, em altas concentrações salinas a diminuição da porcentagem total de sementes germinadas pode ser observada. Assim, para cada espécie existe um potencial hídrico abaixo do qual a germinação não ocorre (ADEGBUYI *et al.*, 1981; THERIOS, 1982; SHANNON; GRIEVE, 1999).

Trabalhos com sementes de diversas espécies têm sido conduzidos sob condições de deficiência hídrica. Para tanto, diversas soluções osmóticas têm sido usadas para simular um ambiente com reduzida umidade. Dentre estas, pode-se citar os solutos não iônicos PEG (polietileno glicol) e Manitol, e os solutos iônicos  $\text{CaCl}_2$  (cloreto de cálcio), KCl (cloreto de potássio) e NaCl (cloreto de sódio). Entretanto, as diferenças químicas existentes entre estas soluções podem acarretar diferenças nos resultados de germinação e vigor das sementes, mesmo em potenciais hídricos similares (SOUZA; CARDOSO, 2000). Os sais de alta solubilidade são os mais nocivos porque as sementes ao absorverem água do substrato, absorvem também os sais que em excesso provocam toxicidade e, conseqüentemente, acarretam distúrbios fisiológicos às sementes, produzindo decréscimo no potencial de germinação (TORRES *et al.*, 2000).

A salinidade afeta a germinação não só por dificultar a cinética da absorção de água, mas também por facilitar a entrada de íons em quantidades tóxicas nas sementes durante a embebição (Santos *et al.*, 1992). Segundo Larcher (1995), a elevada concentração iônica do meio pode causar desequilíbrio nutricional, toxicidade de alguns íons e interferência no equilíbrio hormonal, capazes de diminuir a plasticidade da célula e causar a diminuição da permeabilidade da membrana citoplasmática, além de influenciar o processo da fotossíntese dado que o conteúdo de clorofila sob essas condições pode ser diminuído.

O efeito do excesso de sais solúveis sobre as plantas é devido à pressão osmótica elevada e à ação tóxica de alguns íons, como o  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e o  $\text{Cl}^-$ , que podem causar



distúrbios fisiológicos às plantas e, em casos extremos, ocasionar sua morte (MELLO *et al.*, 1983; RUNBAUGH *et al.*, 1993; BERNSTEIN *et al.*, 1995). A presença de íons  $\text{Na}^+$  ou  $\text{K}^+$  pode desestabilizar o equilíbrio osmótico das membranas, o que deslocaria o metabolismo para a realização de reparos nas estruturas celulares, levando a diminuição drástica de crescimento e acúmulo de matéria seca (YANG; POOVAIAH, 2002).

Segundo Harris (1915) *apud* Campos e Assunção (1990), o grau de toxicidade de sais solúveis para a germinação de trigo, milho, beterraba, alfafa, aveia e cevada apresentou a seguinte ordem:  $\text{NaCl} > \text{CaCl}_2 > \text{KCl} > \text{NaNO}_3 > \text{MgCl}_2 > \text{KNO}_3 > \text{MgNO}_3 > \text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{K}_2\text{CO}_3 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{K}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4$ .

Em resposta à salinidade as plantas realizam ajustes osmóticos, geralmente aumentando as concentrações de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  em suas células e vacúolos ou sintetizando osmólitos compatíveis para diminuir o potencial osmótico do citoplasma celular. Plantas halófilas possuem alta capacidade em diminuir a concentração de  $\text{Na}^+$  do citoplasma, realizando o acúmulo da concentração excedente em vacúolos, evitando os efeitos tóxicos do sódio (AJMAL KHAN *et al.*, 2000).

Para avaliar os efeitos do estresse salino e hídrico na germinação e vigor de sementes de soja, Santos *et al.* (1992) utilizou soluções de cloreto de sódio, cloreto de cálcio, sulfato de sódio e manitol. Os resultados indicaram que o manitol praticamente não afetou a germinação até um potencial osmótico bastante baixo (-1,2 MPa). Entretanto, sob condições salinas (-0,9 MPa) a porcentagem de sementes não germinadas foi muito alta, sugerindo que os efeitos tóxicos provocados pelos sais sejam mais nocivos à germinação do que apenas o efeito osmótico.

Cucci *et al.* (1994), avaliando a influência da salinidade na germinação de sementes de chicória, tomate, feijão, berinjela e espinafre, observaram que o limiar de salinidade além do qual foi observado diminuição da germinabilidade variou de 6 a 16  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , com feijão e berinjela representando as espécies mais sensíveis e chicória e espinafre as mais resistentes.

Torres *et al.* (2000), avaliando o efeito do potencial osmótico de soluções de NaCl na germinação e no desenvolvimento do pepino, observou, para a germinação que a partir do potencial osmótico de -0,4 MPa os efeitos deletérios do excesso de sal começam a causar reduções significativas na germinação. Nesse estudo, a porcentagem de germinação sob potencial osmótico de -0,8 MPa foi de 64%. Sob potencial osmótico de -0,78 MPa *C. sativus*

apresentou porcentagem de germinação de 25% (TABELA 8), indicando que o solubilizado do lodo produziu um efeito tóxico mais severo do que o encontrado quando os íons em solução eram apenas  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ .

A Figura 16 apresenta os resultados obtidos para o cálculo da velocidade média de germinação das espécies testadas. Assim como os resultados obtidos para a porcentagem de germinação, o aumento da concentração do extrato solubilizado resultou em gradual diminuição da velocidade média de germinação. Desta forma, observou-se que o aumento do potencial osmótico das diluições testadas aumentou o intervalo de tempo entre a primeira e última observação de germinação, resultando em um retardamento deste processo. Resultado similar foi encontrado por Popinigs (1985), mostrando que a porcentagem de germinação com sementes de alfafa e aveia diminuía com o aumento do potencial osmótico causado pela adição de sais.

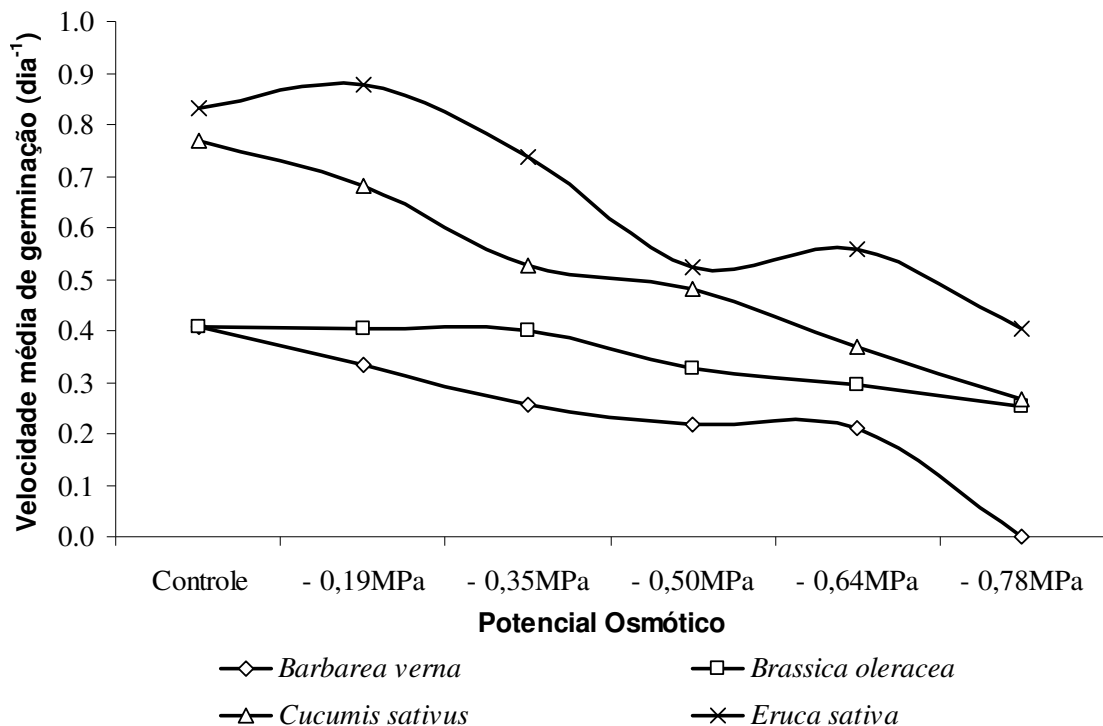


Figura 16. Velocidade média de germinação para as espécies testadas, submetidas à concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico.

A salinidade ou presença de um soluto não iônico produz um efeito osmótico responsável pelo atraso do processo de embebição das sementes, aumentando o intervalo de tempo necessário para a semente atingir um nível de hidratação permissível para a germinação. De acordo com a diminuição do potencial osmótico a germinação é mais atrasada e uma porcentagem maior de sementes deixa de germinar (BLISS *et al.*, 1986; NÓBREGA *et al.*, 1999; ROSA *et al.*, 2005).

A comparação entre os resultados de porcentagem e velocidade média de germinação demonstra a importância deste último parâmetro para a obtenção de uma melhor avaliação do comportamento das espécies durante o processo de germinação. Observa-se para a espécie *C. sativus* que mesmo em concentrações onde a taxa de germinação não diferiu do controle, permanecendo em torno de 100%, a diminuição da velocidade média de germinação foi evidente. Comportamento semelhante pôde ser observado para a germinação de *B. oleracea*, entretanto com diminuição da velocidade média de germinação menos pronunciada.

#### 4.4. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo.

As Figuras 17 e 18 apresentam a regressão linear resultante do teste de toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo. A Figura 19 apresenta o aspecto de plântulas após 120 hs de desenvolvimento em contato com diferentes concentrações do extrato solubilizado do lodo. O conjunto de dados para as quatro espécies testadas apresentou um coeficiente de determinação ( $r^2$ ) entre 84 e 96 %, indicando um alto grau de correlação entre os dados obtidos experimentalmente e os valores de inibição calculados para a determinação da concentração de inibição ( $CI_{50}$ ).

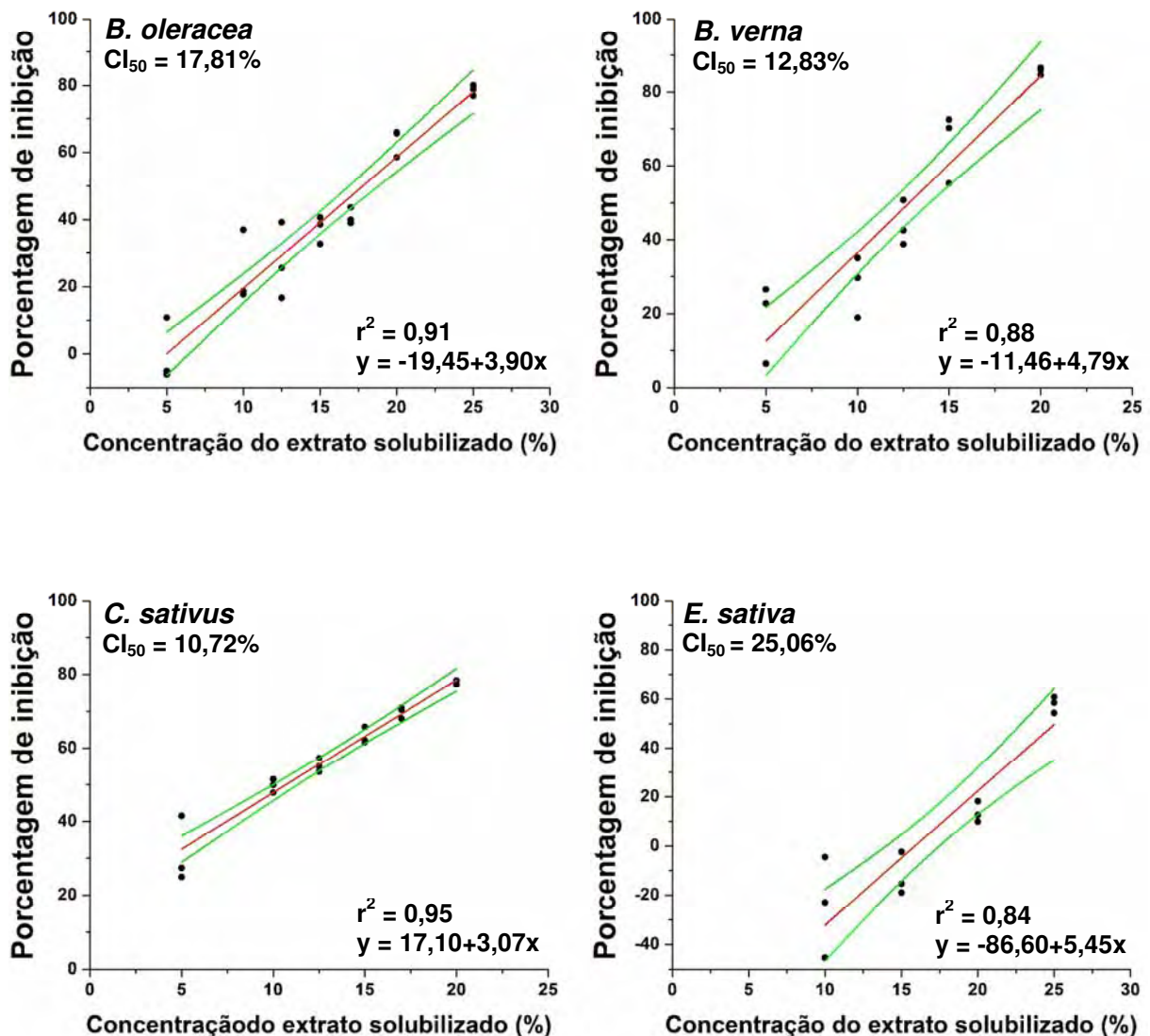


Figura 17. Regressão linear da porcentagem média de inibição do crescimento da raiz, em relação ao tratamento controle, das espécies testadas sob concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. A linha central representa a reta ajustada. Linhas superior e inferior representam o intervalo de confiança (IC95%) calculado para o conjunto de dados.

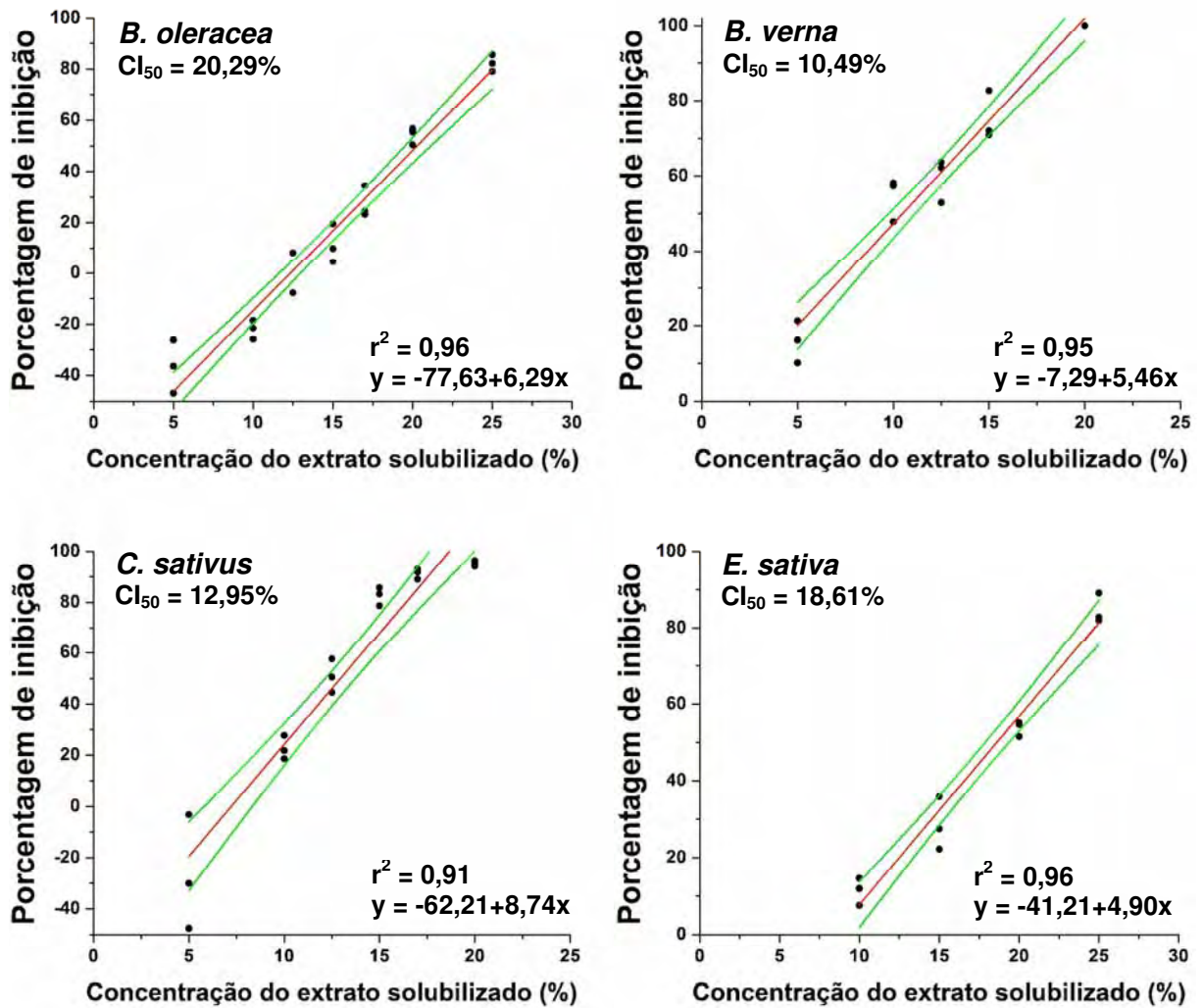


Figura 18. Regressão linear da porcentagem média de inibição do crescimento do hipocótilo, em relação ao tratamento controle, das espécies testadas sob concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. A linha central representa a reta ajustada. Linhas superior e inferior representam o intervalo de confiança (IC95%) calculado para o conjunto de dados.

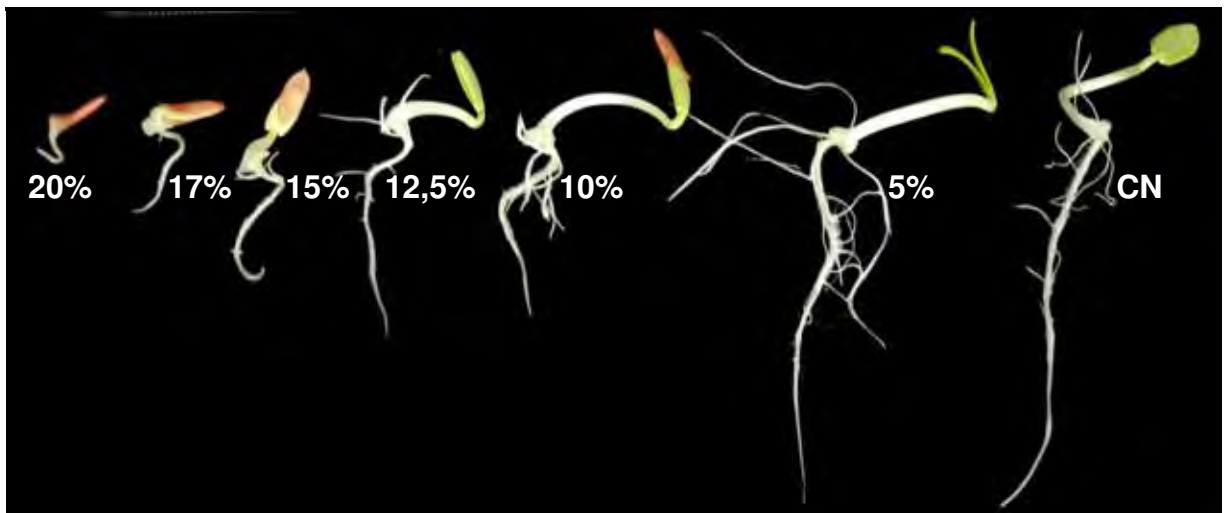


Figura 19 Exemplo do aspecto de plântulas após 120hs de desenvolvimento em contato com as concentrações do extrato solubilizado do lodo biológico. Espécie: *Cucumis sativus*. Controle negativo (CN) contendo água mineral.

O tratamento controle de *B. oleracea*, para o comprimento da raiz, apresentou média de 42,38 mm (IC95%=40,27 a 44,22 mm), o comprimento do hipocótilo foi em média 24,09 mm (IC95%=22,70 a 25,26 mm), os valores de CI<sub>50</sub> calculados para a inibição da raiz e hipocótilo de *B. oleracea* foram respectivamente de 17,81 e 20,29% de concentração do extrato solubilizado.

Os valores obtidos no tratamento controle para o comprimento da raiz de *B. verna*, apresentaram média de 18,30 mm (IC95%=16,45 a 19,85 mm) e, para o comprimento do hipocótilo, apresentaram média de 22,93 mm (IC95%=21,55 a 24,32 mm). Os valores calculados de CI<sub>50</sub> para a raiz e hipocótilo de *B. verna* apresentaram respectivamente valores de 12,83 e 10,49% de concentração do extrato solubilizado.

A média encontrada para o comprimento das raízes de *C. sativus*, no tratamento controle, foi de 70,36 mm (IC95%=67,57 a 72,68 mm), o comprimento médio do hipocótilo foi de 28,62 mm (IC95%=27,60 a 29,50 mm), os valores de CI<sub>50</sub> calculados para a inibição da raiz e hipocótilo de *C. sativus* foram respectivamente de 10,72 e 12,95% de concentração do extrato solubilizado.

Os valores obtidos no tratamento controle para o comprimento da raiz de *E. sativa* apresentaram média de 37,25 mm (IC95%=34,50 a 40,06 mm), o comprimento do hipocótilo foi em média 30,98 mm (IC95%=29,52 a 32,31 mm), os valores de CI<sub>50</sub> calculados para a inibição da raiz e hipocótilo de *E. sativa* foram respectivamente de 25,06 e 18,61% de concentração do extrato solubilizado.

Os resultados observados não indicam claramente maior sensibilidade da raiz ou hipocótilo ao extrato solubilizado. Entre as espécies testadas duas apresentaram maior sensibilidade para o desenvolvimento da raiz, as duas espécies restantes apresentaram maior sensibilidade para o desenvolvimento do hipocótilo. Entretanto, os resultados obtidos apresentaram pequena variação, em torno de 2% entre a concentração de inibição encontrada para a raiz e hipocótilo, com exceção da espécie *E. sativa*, onde, entre a CI<sub>50</sub> determinada para a raiz e hipocótilo foi observada variação da ordem de 6%.

A comparação entre os resultados do teste de toxicidade à germinação e inibição ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo demonstra que, para *B. verna* ambos os testes apresentaram resultados semelhantes, onde a inibição em 50% dos fenômenos observados

pode ser observada sob concentrações em torno de 10% de concentração do extrato solubilizado.

As espécies *B. oleracea*, *C. sativus* e *E. sativa* não sofreram efeitos pronunciados sobre a porcentagem de germinação até a faixa compreendida entre 20 e 25% de concentração do extrato solubilizado (-0,64 e -0,78 MPa respectivamente). Para a inibição do desenvolvimento da raiz e hipocótilo, *B. oleracea* e *E. sativa* foram as espécies que apresentaram maior tolerância às concentrações testadas, sendo observada concentração de inibição (CI<sub>50</sub>) em torno de 20% do extrato solubilizado. Entretanto, a maior divergência entre o resultado do teste de germinação e do desenvolvimento da raiz e hipocótilo foi observado para *C. sativus*, onde a CI<sub>50</sub> manteve-se próxima de 10% de concentração do extrato solubilizado.

Os testes de crescimento da raiz e hipocótilo demonstram que, para as espécies testadas, as concentrações mais baixas do extrato solubilizado já refletiram em algum grau de inibição ao crescimento inicial das plântulas. Os testes de germinação apresentaram efeitos menos graduais em relação ao aumento das concentrações testadas, indicando uma menor sensibilidade desse teste, no caso em estudo. Maior sensibilidade do teste de desenvolvimento radicular frente à inibição da germinação também foi encontrado por Plaza *et al.* (2005), para as espécies *Secale cereale*, *Lactuca sativa*, *Zea mays*, *Lepidium sativum*, *Triticum vulgare* e *Brassica oleracea*, em estudo sobre a toxicidade de solos contaminados por hidrocarbonetos.

De acordo com Fuentes *et al.* (2004), a germinação de sementes é considerado um método de menor sensibilidade quando comparado ao crescimento radicular em avaliações de fitotoxicidade. Segundo Araújo e Monteiro (2005), o crescimento vegetal foi um parâmetro mais sensível que a germinação de sementes na avaliação do efeito tóxico de um composto produzido a partir de lodo têxtil. Torres *et al.* (1999), em um estudo sobre o efeito do estresse hídrico na germinação e desenvolvimento de plântulas de pepino, verificou que a diminuição do comprimento das plântulas foi mais acentuado que o efeito observado sobre a germinação das sementes. Segundo os autores, os resultados podem ser explicados pela diminuição do metabolismo das sementes em função da menor disponibilidade de água para hidrólise e mobilização das reservas armazenadas.

Segundo Sá (1987), a menor absorção de água pelas sementes atua minimizando a velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos e, com isso, as plântulas resultantes desse meio com menor grau de água disponível apresentam menor desenvolvimento, caracterizado por menores comprimentos da plântula.

O desenvolvimento da raiz pode ser afetado pelas condições ambientais como o pH, temperatura, sais e a presença de metais (CAMARGO *et al.*, 2004). Sob baixa concentração salina, o crescimento radicular é em geral menos afetado, podendo até ser estimulado pela salinidade. (SHANNON; GRIEVE, 1999), como observado na Figura 18, para o desenvolvimento radicular de *B. oleracea* e *E. sativa*, e na Figura 19 para o desenvolvimento do hipocótilo de *B. oleracea* e *C. sativus*. Entretanto, sob condições de estresse salino as raízes apresentam diminuição do alongamento e suberização, o que reduz a absorção de água e nutrientes (CRUCIANI, 1987).

O estresse hídrico, causado pela alta concentração e sais dissolvidos no meio, diminui o crescimento e o desenvolvimento das plantas devido ao baixo potencial osmótico da água, podendo também ocasionar problemas de toxicidade e desordem nutricional (SHANNON, 1997). O estresse hídrico, de acordo com Izzo *et al.* (1991), representa um dos mais sérios fatores a limitar o crescimento e a produção das culturas, induzindo alterações morfológicas, estruturais e metabólicas nas plantas superiores.

O efeito geral da salinidade sobre o desenvolvimento de plântulas é a diminuição da taxa de crescimento, resultando em folhas menores, menor altura e algumas vezes, menor número de folhas (MUNNS; TERMAAT, 1986). De acordo com a composição da solução salina e da toxicidade dos íons em solução, deficiências nutricionais podem surgir devido à predominância de um íon específico ou efeito de competição entre cátions ou ânions (Bernstein *et al.*, 1974 *apud* SHANNON; GRIEVE, 1999).

Santos *et al.* (1992) avaliando o comprimento da raiz e do hipocótilo de sementes de soja submetidas a estresse salino e hídrico, observaram diminuição progressiva dessas variáveis em relação ao aumento da concentração salina. O manitol, apesar de ter apresentado um efeito menos prejudicial que os sais, também proporcionou diminuição do comprimento da raiz e hipocótilo à medida que aumentou a concentração deste soluto. Sob potencial osmótico de -0,6 MPa os sais proporcionaram severa inibição ao desenvolvimento tanto da raiz quanto do hipocótilo das plântulas de soja.



Cordeiro *et al.* (1999) constataram que a utilização de água salina com níveis de 4 dS.m<sup>-1</sup> a 8 dS.m<sup>-1</sup> não comprometeu a produtividade da beterraba, indicando alta tolerância à salinidade desta espécie vegetal. Cavalcanti *et al.* (2004) avaliou o efeito da salinidade sobre o desenvolvimento de *Ricinus communis* (mamona), a água de irrigação utilizada era constituída de diferentes proporções dos sais NaCl e CaCl<sub>2</sub>. A altura da planta, número de folhas e diâmetro do caule não foram afetados pela salinidade da água de irrigação até 4,7 dS m<sup>-1</sup>.

O efeito tóxico observado nos testes realizados pode não estar exclusivamente relacionado ao potencial osmótico a que as sementes foram expostas. A condutividade elétrica das soluções testadas (TABELA 4) era devida principalmente aos sais presentes na água do mar, concentrados pela desidratação térmica do lodo. Entretanto, outros contaminantes provenientes da água de produção do petróleo foram encontrados pela análise química do extrato solubilizado, indicando que estes elementos podem ter contribuído para maior efeito tóxico sobre as espécies vegetais testadas.

A contaminação de plantas por metais pode ocorrer diretamente da contaminação aquática ou do solo, com subsequente transferência para a planta. Embora o teor de metais nos solos contaminados possa ser elevado, os níveis nas plantas permanecem baixos. Normalmente, a captação de metais pela planta não ocorre como uma resposta linear às concentrações de metais no solo, exceto em níveis muito baixos. De modo geral, as concentrações individuais de cada metal nas plantas são baixas, e mantidas dentro de estreitos limites para garantir a atividade biológica (DUDKA; MILLER, 1999; JORDÃO *et al.*, 1999).

Sob o efeito de uma mistura complexa de contaminantes, como os lodos produzidos pelo tratamento de efluentes industriais, a absorção dos metais pesados pelas plantas pode ser diferente da verificada com elementos isolados. Este fato ocorre em função das diversas interações entre os contaminantes, que podem ser independentes, antagonistas ou sinérgicas. Desta forma a resposta das espécies ao excesso de metais pesados apresenta-se de forma diferenciada, em consequência da especiação desses elementos no solo (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 1992).

Segundo Chaney e Oliver (1996) as plantas mantêm uma íntima ligação com o solo, podendo se comportar como um mecanismo de transferência dos contaminantes do solo para níveis mais altos da cadeia trófica. Entretanto, representam barreiras importantes para essa transferência, restringindo a absorção da maioria dos metais pesados no ambiente.

O chumbo ocorre naturalmente nas plantas, existindo uma relação diretamente proporcional entre as concentrações de chumbo nas plantas e no solo (DAVIES *et al.*, 1987). Em valores de pH entre 4 e 6 os complexos orgânicos de chumbo formados tornam-se solúveis e sofrem lixiviação, ou podem ser absorvidos pelas plantas (ATSDR, 1993; WHO, 1995), o metal pode afetar plantas em locais onde as concentrações ambientais são muito elevadas (WHO, 1989).

A tendência do chumbo inorgânico em formar sais altamente insolúveis e complexos com vários ânions, juntamente com sua ligação aos solos, diminui drasticamente a disponibilidade do metal em plantas terrestres. Parte do metal que passa para as células da raiz da planta pode se combinar com a parede celular, sendo removido do citoplasma da célula. Existem evidências de pouca translocação do chumbo para outras partes da planta, os níveis encontrados nos brotos e no tecido foliar são geralmente muito menores do que os existentes na raiz (WHO, 1995).

Em áreas localizadas em uma região de mineração, no estado de Minas Gerais, foram obtidas em diversas espécies de plantas concentrações de chumbo que variaram entre 0,8 µg/g na espécie *Melinis minutiflora* a 1,4 µg/g em plantas do gênero *Paspalum*. A toxicidade nas plantas ocorre em concentrações acima de 30 µg/g (JORDÃO *et al.*, 1999).

As plantas que se desenvolvem em solos com alta concentração de bário podem bioacumular apenas quantidade limitada deste elemento, em diferentes partes de seu organismo. Segundo WHO (1991) não são encontrados efeitos adversos às plantas terrestres devido à exposição ao bário. Entretanto, Llugany *et al.* (2000) estudando a toxicidade do bário sobre a espécie *Phaseolus vulgaris* (feijão) encontraram que a presença de bário, mesmo em concentrações que não afetam o crescimento vegetal, refletiu em efeito inibitório sobre a concentração de potássio presente nas folhas, também interferindo na absorção de sulfato e cálcio pela planta.

As plantas absorvem o manganês no estado divalente, presente em maior concentração quando as condições do meio apresentam pH ácido e baixa aeração,

favorecendo a sua redução química e a absorção pelas plantas. A entrada do manganês em algumas espécies de plantas, tomando-se por base o peso seco, pode apresentar-se extremamente variável, algumas espécies podem acumular quantidade três vezes maior de Mn em relação a outras menos susceptíveis à absorção de metais (WHO, 1981).

A adubação ou aplicação de nitrogênio ao solo diminui consistentemente a disponibilidade do manganês. A presença de materiais orgânicos, associados ao aumento do pH, pode produzir complexos orgânicos do manganês bivalente que são absorvidos em pequena proporção por algumas culturas, tais como as leguminosas e cereais (WHO, 1981). Fargasová e Beinrohr (1998) estudaram a bioacumulação de metais, dentre eles o Mn, em plantas da espécie *Sinapis alba* (mostarda branca) sob sistema hidropônico de crescimento. Os autores relataram que o Mn acumula-se em concentrações mais altas em partes superiores do vegetal que na raiz. A acumulação do Mn na raiz pareceu ser inibida pela presença concomitante do cobre.

Quatro espécies vegetais, *Trifolium glomeratum*, *Trifolium tomentosum*, *Hordeum murinum* e *Bromus hordaceus*, foram submetidas a lixiviados contendo boro, zinco, ferro e manganês para se verificar a incorporação dos elementos pelas plantas. Nas quatro espécies estudadas os níveis de B, Fe, Mn estiveram dentro da faixa normalmente encontrada para as espécies (ADARVE *et al.*, 1998).

#### **4.5. Toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de *Allium cepa***

A Figura 20 apresenta a regressão linear resultante do teste de toxicidade ao desenvolvimento da raiz em bulbos de *Allium cepa*. O teste foi realizado em replicata, de forma independente, ou seja, os bulbos utilizados nos testes foram adquiridos em momentos diferentes e, amostras do lodo desidratado foram submetidas à solubilização exclusivamente para a realização de cada teste (1 e 2). O coeficiente de determinação ( $r^2$ ) obtido pela regressão linear dos resultados foi de 99 e 98%, assim como os resultados obtidos para avaliação da toxicidade ao desenvolvimento da raiz e hipocótilo, observa-se um alto grau de correlação entre os dados obtidos experimentalmente e os valores de inibição calculados para a determinação da  $CI_{50}$ .

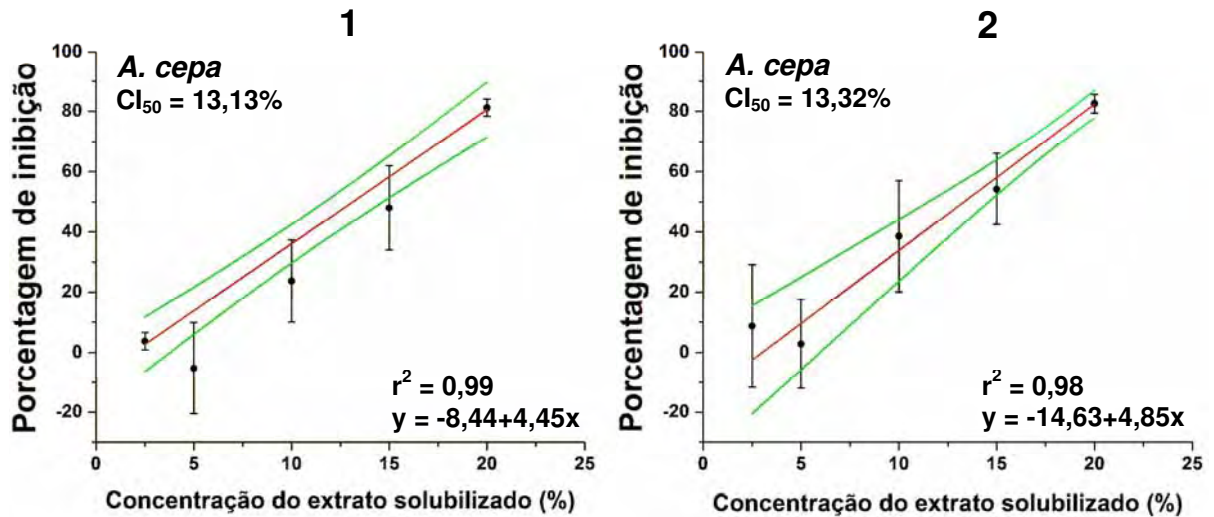


Figura 20. Regressão linear da porcentagem média de inibição do crescimento das raízes do bulbos de *Allium cepa*, em relação ao tratamento controle, sob concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico. A linha central representa a reta ajustada. Linhas superior e inferior representam o intervalo de confiança (IC95%) calculado para o conjunto de dados. As barras verticais indicam o desvio padrão ( $\pm DP$ ) do conjunto de dados para cada diluição testada.

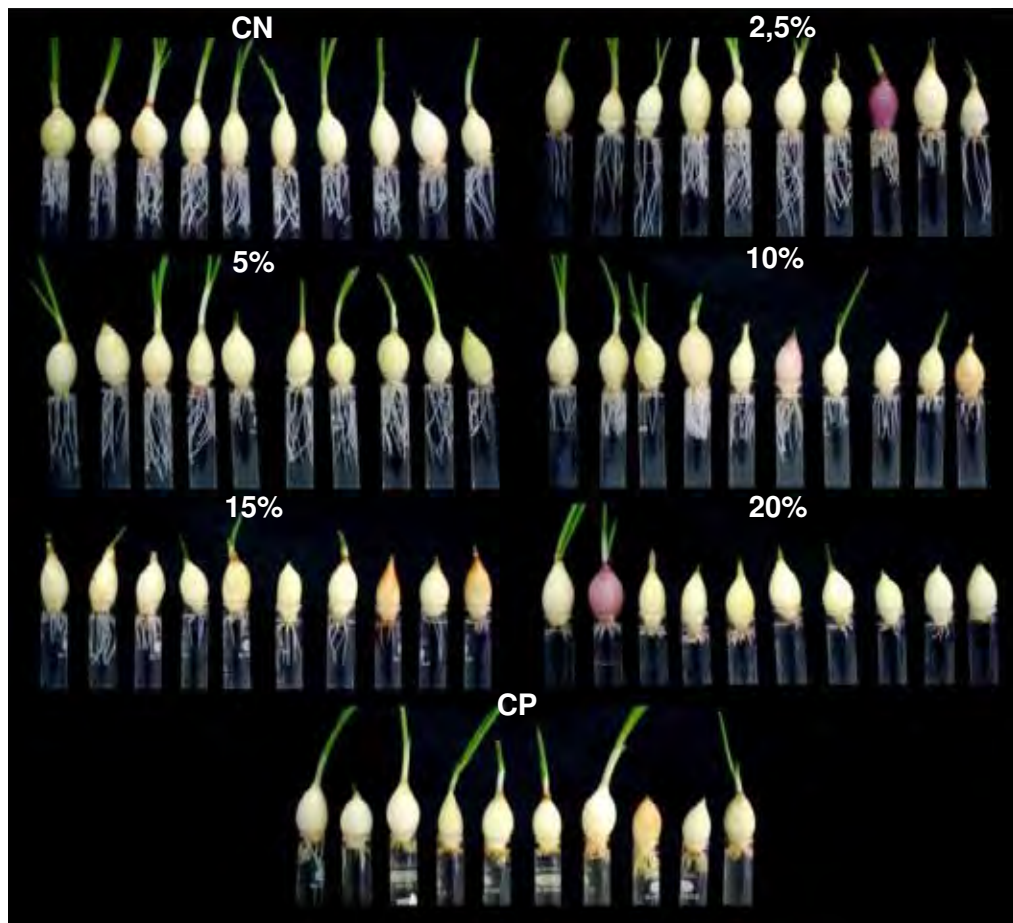


Figura 21. Aspecto dos bulbos de *Allium cepa*, após 120hs de contato com as concentrações do extrato solubilizado do lodo biológico. Controle negativo (CN) contendo água mineral. Controle positivo (CP) contendo trifluralina.

Os valores obtidos para o comprimento da raiz dos bulbos de *Allium cepa* nos tratamentos controle dos testes realizados apresentaram média de 32,50 mm (IC95%=31,20 a 33,90 mm) e, média de 31,90 mm (IC95%=30,80 a 32,70 mm). Os resultados demonstram que sob baixas concentrações do extrato solubilizado do lodo (2,5 e 5%), pouco efeito pode ser observado, podendo ocorrer um pequeno estímulo ao desenvolvimento das raízes. Entretanto, o aumento da concentração testada representou efeito proporcional de inibição ao desenvolvimento das raízes. Os valores calculados de  $CI_{50}$  para as raízes dos bulbos apresentaram valores de 13,13 e 13,32% de concentração do extrato solubilizado. Esses resultados indicam grande uniformidade nos dados obtidos pelos dois testes realizados, indicando que o sistema-teste de *Allium cepa* apresentou sensibilidade ao material testado, com adequada reprodutibilidade dos resultados.

A Figura 21 apresenta o aspecto geral dos bulbos de *Allium cepa* após 120hs de contato com as soluções testadas. A série de bulbos permite a observação do gradual efeito inibitório sobre o desenvolvimento das raízes frente ao incremento da concentração do extrato solubilizado do lodo, assim como maior inibição ao desenvolvimento das folhas, a partir da concentração de 10% do extrato solubilizado.

As plantas necessitam de nutrientes minerais essenciais para seu crescimento e desenvolvimento. Entretanto, o excesso de sais solúveis no solo é prejudicial para a maioria das plantas. Segundo Katsuhara e Kawasaki (1996), a inibição ao crescimento radicular sob estresse salino pode ocorrer por duas razões principais. Inicialmente observa-se a diminuição da pressão de turgidez necessária ao crescimento celular, devido ao baixo potencial osmótico do meio externo, em seguida ocorre a morte celular, devido à toxicidade dos íons em solução.

Segundo Combrink *et al.* (1995) alta concentração de cloreto restringe o crescimento radicular. A curva de crescimento apresentada pelas raízes de *Allium cepa*, cultivadas em solução NaCl, demonstra que a partir de concentrações de 0,3%, ou seja 3 g.L<sup>-1</sup>, é observado efeito de restrição ao crescimento (FISKESJÖ, 1985a).

As concentrações de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> de células radiculares em divisão ou em rápido crescimento normalmente está bem abaixo de níveis tóxicos (JESCHKE *et al.*, 1986). As raízes podem regular os níveis de NaCl por meio da translocação para o solo ou parte aérea da planta, mantendo níveis praticamente constantes desses íons (TESTER; DAVENPORT, 2003).

Bernstein e Ayers (1953) *apud* Shannon e Grieve (1999), testaram a tolerância à salinidade de bulbos de *Allium cepa*, o declínio da produtividade teve como limiar a condutividade de  $1,4 \text{ dS.m}^{-1}$  e a diminuição da produtividade em 50% ocorreu sob condutividade de  $4,1 \text{ dS.m}^{-1}$ . A concentração iônica dos bulbos aumentou em função da concentração de sais testada sendo observada diminuição de diâmetro e peso nos bulbos produzidos, diminuição do crescimento radicular, tamanho da planta e número de folhas.

#### 4.6. Genotoxicidade em tecido meristemático radicular de *Allium cepa*

Os resultados do teste de genotoxicidade às células meristemáticas das raízes de *Allium cepa* são apresentados na Tabela 9. Pode-se observar gradual diminuição do Índice Mitótico (IM) de acordo com o incremento da concentração do extrato solubilizado do lodo nos tratamentos, sendo observada diferença significativa a partir da concentração de 10 e 15% de adição do extrato solubilizado para o primeiro e segundo testes respectivamente. Dessa forma, os resultados indicam que as soluções testadas afetam o processo de divisão celular das células meristemáticas das raízes de *Allium cepa*.

O crescimento e desenvolvimento geral de uma planta dependem dos processos mitóticos que ocorrem nos tecidos meristemáticos. A divisão celular é um processo composto por diversas fases, essas, demandam o funcionamento correto de diversas organelas celulares e dos produtos de muitos genes para que o processo se complete. Desta forma, existem muitos alvos potenciais para compostos químicos que podem alterar a eficiência do processo sem inviabilizá-lo totalmente (BOND, 1987).

O índice mitótico reflete a frequência de divisões celulares e representa importante parâmetro na determinação do crescimento radicular (LIU *et al.*, 1992). Desta forma, a diminuição do índice mitótico reflete os resultados observados para o desenvolvimento radicular dos bulbos de *Allium cepa*, sendo encontrada concentração significativa para o IM próxima ao  $CI_{50}$  determinado para o desenvolvimento das raízes.

O estresse osmótico normalmente afeta a divisão celular de forma negativa (MUNNS, 2002). Radic *et al.* (2005) avaliando os efeitos citogenéticos do estresse osmótico observou que altas concentrações de sal refletiram na total ausência de células radiculares mitoticamente ativas e induziu danos massivos à membrana e citoplasma, indicando alta citotoxicidade.

Tabela 9. Índice mitótico (IM), aberrações cromossômicas (AC), micronúcleo (MN) e morte celular (MC) nas repetições 1 e 2 do teste de genotoxicidade em células meristemáticas de *Allium cepa*, após tratamento com concentrações crescentes do extrato solubilizado do lodo biológico.

Tratamento	IM		AC		MN		MC	
	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>CN</b>	117.20 ± 12.68	101.60 ± 10.62	0.80 ± 0.84	1.20 ± 1.10	0.20 ± 0.45	0.00 ± 0.00	24.40 ± 8.11	4.80 ± 5.59
<b>2.50%</b>	117.20 ± 25.84	120.60 ± 12.17	0.80 ± 0.84	0.60 ± 0.89	0.00 ± 0.00	0.20 ± 0.45	27.40 ± 9.71	3.40 ± 2.41
<b>5%</b>	88.60 ± 6.11	96.80 ± 12.93	0.00 ± 0.00	0.80 ± 0.84	0.60 ± 0.89	0.20 ± 0.45	82.60 ± 21.97	8.20 ± 1.92
<b>10%</b>	74.00 ± 12.51 <sup>a</sup>	75.60 ± 3.58	0.80 ± 1.10	0.80 ± 0.84	0.40 ± 0.55	1.00 ± 1.40	128.60 ± 38.47 <sup>a</sup>	12.80 ± 4.09
<b>15%</b>	58.80 ± 17.46 <sup>a</sup>	60.00 ± 14.26 <sup>a</sup>	1.00 ± 1.22	1.00 ± 1.22	0.40 ± 0.55	0.80 ± 0.84	196.40 ± 18.02 <sup>a</sup>	27.20 ± 8.58 <sup>a</sup>
<b>20%</b>	38.40 ± 6.11 <sup>a</sup>	34.40 ± 7.83 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.89	0.40 ± 0.55	0.00 ± 0.00	0.40 ± 0.55	196.80 ± 6.30 <sup>a</sup>	39.00 ± 9.35 <sup>a</sup>
<b>CP</b>	91.20 ± 6.30	72.00 ± 18.42	103.40 ± 36.65 <sup>a</sup>	80.00 ± 59.77 <sup>a</sup>	19.80 ± 15.87 <sup>a</sup>	15.20 ± 13.36 <sup>a</sup>	69.60 ± 12.30	21.40 ± 4.45 <sup>a</sup>

5000 células analisadas por tratamento. Média ± D.P. Controle Negativo (CN) / Controle Positivo (CP).

<sup>a</sup> Diferença significativa frente ao controle negativo ( $p < 0.05$ ), teste de Kruskal-Wallis.

Vidaković-Cifrek *et al.* (2002) estudando danos citogenéticos em células meristemáticas das raízes de *Allium cepa*, conclui que o efeito dos sais sobre a divisão celular resulta no distúrbio das relações osmóticas, sendo, em geral, observado a diminuição do crescimento em raízes osmoticamente estressadas. A fração de células em mitose após o tratamento com soluções de sais foi significativamente menor que o controle, o IM diminuiu proporcionalmente ao aumento da concentração de sais.

Os resultados para o efeito de Morte Celular (MC) seguiram o mesmo padrão observado para o IM, sendo observada diferença significativa, em relação ao controle negativo, a partir de 10% de concentração do extrato solubilizado para o primeiro teste e 15% para o segundo. Os valores de células em processo de morte celular encontrado para os dois testes realizados apresentam considerável diferença, sendo observado valores maiores para o primeiro teste. Essa variação pode estar relacionada a diferenças entre os dois lotes de bulbos utilizados em cada teste, os bulbos foram adquiridos em momentos diferentes não representando duas amostras de uma mesma população. A variação observada pode estar relacionada a diferenças no tempo e condições de estocagem dos bulbos, ou mesmo variação no vigor dos bulbos entre as duas amostras avaliadas. Entretanto, mesmo com a variação observada nos valores obtidos pela avaliação da MC entre os tratamentos realizados, as concentrações significativas para esse parâmetro foram semelhantes.

A apoptose é a principal via de morte celular e é necessária para a manutenção da cinética do equilíbrio de tecidos saudáveis. Evidências indicam que a apoptose pode representar um mecanismo para a deleção seletiva de células cuja sobrevivência prejudicaria o organismo como um todo. Entretanto, a apoptose pode ser induzida no curso normal de crescimento e desenvolvimento de tecidos e, além disso, por uma variedade de compostos e condições (STEINERT, 1996). Durante o processo de morte celular as células inicialmente sofrem diminuição em seu tamanho, em seguida seus núcleos condensam-se e as células desintegram-se em corpos apoptóticos (DMITRIEVA *et al.*, 2001; VENTURA, 2004). Katsuhara (1997) observou o processo de morte celular em células da região meristemática de raízes de cevada, em função do estresse salino. Ogawa *et al.* (2006) encontrou inibição ao crescimento radicular, com diminuição do índice mitótico e aumento na frequência de morte celular, em plântulas de centeio, sob concentração de  $14,6 \text{ g.L}^{-1} \text{ NaCl}$ .



Nos meristemas tratados com trifluralina (CP) (FIGURA 23), foram observadas prófases com brotos nucleares, micronúcleos, perda de material genético e células binucleadas. Células metafásicas apresentaram poliploidias, perdas de cromossomo e C-metáfases. Nas células em anáfase, foram registradas poliploidias, pontes cromossômicas, anáfases multipolares com e sem perda de cromossomos. Nas células em telófase foram observadas pontes cromossômicas. Esses resultados indicam a sensibilidade do organismo teste durante as fases da divisão mitótica, frente a um composto com conhecido efeito sobre a atividade mitótica de células vegetais (FERNANDES, 2005).

Os resultados encontrados para ocorrência de Aberrações Cromossômicas (AC) e Micronúcleos (MN) não apresentaram diferenças significativas em relação ao tratamento controle, indicando que as concentrações testadas do extrato solubilizado não induziram maior frequência de danos ao material genético das células meristemáticas das raízes dos bulbos de *Allium cepa*.

A Figura 22 apresenta as fases normais da divisão mitótica de *Allium cepa*, observadas no tratamento controle negativo (CN).

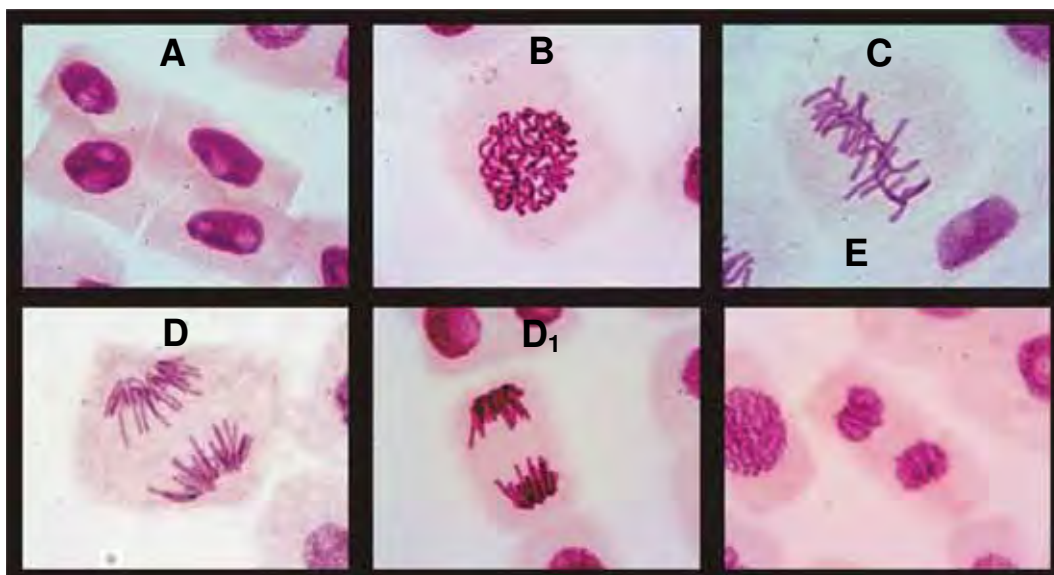


Figura 22. Fases normais da divisão mitótica em células do meristema radicular de bulbos de *Allium cepa*, submetidos ao contato com diluições do extrato solubilizado do lodo biológico, produzido pelo tratamento da água de produção pela ETEpiloto do Terminal Marítimo de São Sebastião (TEBAR), SP. A: interfase; B: prófase; C: metáfase; D: anáfase; D<sub>1</sub>: anáfase final; E: telófase.

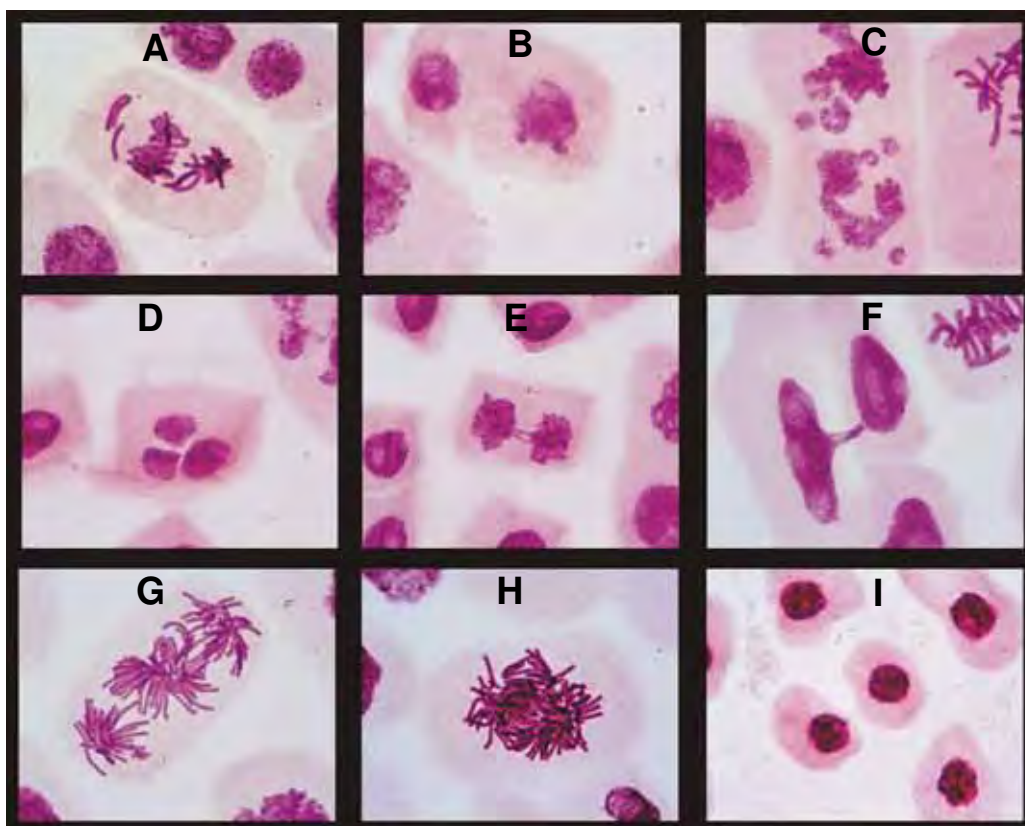


Figura 23. Alterações cromossômicas e nucleares encontradas no tratamento controle positivo A: anáfase com perdas cromossômicas; B: célula com broto nuclear; C: célula com núcleo lobulado e micronúcleos; D: célula polinucleada; E e F: telófase com ponte cromossômica; G: anáfase poliplóide multipolar, H: anáfase poliplóide; I: células em processo de morte celular.

O chumbo é um elemento químico que apresenta propriedades tóxicas aos organismos vivos podendo expressar efeitos de genotoxicidade. Entretanto, existem poucas evidências da interação direta com o DNA. Os efeitos genéticos do chumbo parecem ser mediados, em parte, pelo aumento de espécies reativas de oxigênio, assim como, pela interação com proteínas envolvidas no reparo do DNA. Essas propriedades podem resultar em mutação, proliferação celular e mudanças na expressão gênica, as quais podem contribuir para uma resposta carcinogênica sob condições de exposição crônica (IARC, 2004).

A Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (IARC), afirma que existem evidências limitadas para o efeito carcinogênico da exposição humana ao chumbo inorgânico, entretanto existem informações suficientes para testes com animais (IARC, 2004). Desta

forma o IARC classifica o chumbo inorgânico como pertencente ao Grupo 2A - provavelmente carcinogênico para humanos (IARC, 2008).

Os compostos orgânicos do chumbo são metabolizados pelos seres humanos e animais na forma iônica do chumbo. Desta forma, compostos orgânicos do chumbo, segundo o IARC (2008), são incluídos no Grupo 3 - não são classificáveis quanto a sua carcinogenicidade para humanos.

A avaliação da toxicologia e carcinogenicidade do bário foi realizada em roedores mediante o fornecimento de água contendo cloreto de bário em concentrações de até 4.000 mg/L. Nenhuma evidência de atividade carcinogênica foi encontrada nos roedores, nem claro efeito neuro-comportamental ou toxicidade reprodutiva relacionada ao bário (NTP, 1994). Tardiff *et al.* (1980) *apud* Oskarsson e Reeves (2007) realizaram um estudo de toxicidade crônica com água contendo entre 10 e 250 g Ba<sup>2+</sup>.L<sup>-1</sup>, na forma de cloreto de bário, os resultados não indicaram efeitos tóxicos mensuráveis.

O teste de Ames, com as linhagens TA1535, TA1538, TA1537, TA97, TA98 e TA100 de *Salmonella typhimurium*, com ou sem ativação metabólica indicam que o cloreto de bário e o nitrato de bário não induzem mutações genéticas (MONACO *et al.*, 1990, 1991; NTP, 1994). Em cultura de células ovarianas de hamster chinês o cloreto de bário não induziu aberrações cromossômicas, com ou sem ativação metabólica (NTP, 1994). Baseado nessas evidências o bário e seus compostos são classificados pela U.S. EPA como pertencente ao grupo D - não classificado como um carcinógeno humano (U.S. EPA, 1996).

Doses relativamente altas de manganês afetam a replicação e o reparo do DNA em bactérias, apesar de o teste de Ames não apresentar uma resposta evidente ao manganês. O sulfato de manganês não é mutagênico para as linhagens TA97, TA98, TA100, TA 1535 ou TA 1537 de *Salmonella typhimurium*, na presença ou ausência de ativação metabólica. O cloreto de Mn não é mutagênico para as linhagens TA98, TA100, TA 1535, mas foi para a linhagem TA 1537 de *Salmonella typhimurium* (WHO, 1999).

Ensaio *in vivo* em camundongos mostraram que doses orais de sulfato de Mn causam aberrações cromossômicas na medula óssea, efeito não observado quando são administradas doses de cloreto de Mn (WHO, 1999). Apesar das aberrações cromossômicas observadas não ocorreu a indução de efeitos carcinogênicos (SARDIC; LUCCHINI, 2007).

Resultados de testes *in vitro* mostram que algumas formas químicas do Mn têm potencial mutagênico. Em células de mamíferos doses elevadas de manganês induzem o surgimento de aberrações cromossômicas (GERBER *et al.*, 2002). Todavia, testes *in vivo* em mamíferos apresentam resultados inconsistentes e não permitem concluir quais os possíveis danos mutagênicos do manganês e seus compostos em humanos (WHO, 1999).

A Agência de Proteção Ambiental Norte Americana (U.S. EPA) não reconhece o manganês e seus compostos como carcinogênicos. Os estudos realizados em animais são inconclusivos, não havendo dados para seres humanos. Desta forma, o manganês e seus compostos são classificados pela U.S. EPA como pertencente ao grupo D - não classificado como um carcinógeno humano (U.S. EPA, 1986).

Fiskesjö (1985a) avaliou o efeito genotóxico do íon  $Mn^{2+}$  em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, a concentração das soluções testadas variam de 5,4 a 5.493  $mg.L^{-1}$  de  $Mn^{2+}$  na forma de cloreto de manganês. Os resultados indicaram baixo grau de c-mitoses, de pontes e quebras cromossômicas. A análise química do extrato solubilizado do lodo apresentou concentração de manganês de 0,74  $mg.L^{-1}$  (Tabela 8), concentração relativamente inferior às testadas por Fiskesjö. Entretanto, a concentração do manganês, assim como dos outros metais que apresentaram concentração acima dos limites determinados para o ensaio de solubilização de resíduos sólidos (chumbo, bário e ferro), eram ainda menores devido ao fator de diluição das soluções testadas nos ensaios de toxicidade e genotoxicidade. De forma geral, as maiores concentrações testadas, ou seja, 20 ou 25% de concentração do extrato solubilizado, foram responsáveis pela inibição praticamente total do processo avaliado, seja ele a germinação, desenvolvimento de estruturas das plântulas ou raízes dos bulbos de *Allium cepa*. Essas soluções testadas representam uma diluição de 4 ou 5 vezes a concentração original do extrato solubilizado. Desta forma, ao compararmos as concentrações dos metais presentes nas soluções testadas com os altos valores de condutividade elétrica dessas diluições, em grande parte relacionada às altas concentrações de sódio (10.400 mg/L), cálcio (1.583 mg/L) e cloreto (23.000 mg/L), pode-se concluir que os efeitos observados estão relacionados à alta concentração de sais presente, ou seja, baixo potencial osmótico e toxicidade dos respectivos íons em solução. A baixa frequência de aberrações cromossômicas e micronúcleos encontrada para as células meristemáticas de *Allium cepa* estão de acordo com Radic *et al.* (2005), segundo esses autores, ainda não foram realizadas observações diretas de dano ao DNA de plantas devido ao NaCl.

#### 4.7. Ensaio de biodegradação do lodo em solo

Para a realização do ensaio de biodegradação do lodo foi utilizado solo proveniente da escavação das áreas do Aterro Sanitário do município de Rio Claro, SP. Este solo é normalmente empregado na cobertura diária da massa compactada dos resíduos sólidos urbanos do município. A Tabela 10 apresenta o resultado da análise de composição granulométrica do solo.

Tabela 10. Composição granulométrica do solo proveniente do Aterro Sanitário do município de Rio Claro, SP., utilizado no ensaio de biodegradação do lodo biológico.

	Composição granulométrica (%)					Classe	Sub-classe
	Areias		Argila	Limo	Cascalho		
	Grossa	Fina					
<b>Solo Controle</b>	22,5	37,1	29,5	10,9	0	Barrentos	Barrentos

A análise dos tratamentos testados no ensaio de biodegradação do lodo (TABELA 11) demonstra aumento na concentração dos elementos químicos quantificados, de acordo com o incremento na taxa de aplicação do lodo, com exceção dos elementos Fe e Cu que apresentaram maior concentração no solo controle. As altas concentrações de Ca, S, Na e Cl encontradas estão relacionadas à alta salinidade presente na água de produção do petróleo, na forma de carbonatos, sulfatos e cloretos. Entretanto, a concentração dos elementos químicos não extrapolou os valores de intervenção determinados para elementos inorgânicos no solo, definidos pela CETESB (2005).

Tabela 11. Análise química dos tratamentos testados no ensaio de biodegradação do lodo biológico (L).

Elementos químicos	Tratamento				Lodo desidratado	Unid:
	Controle	L10%	L25%	L50%		
<b>Potássio</b>	8,3	10,0	12,5	18,1	25,5	mmol <sub>c</sub>
<b>Cálcio</b>	110,0	160,0	200,0	280,0	500,0	mmol <sub>c</sub>
<b>Magnésio</b>	19,0	31,0	49,0	80,0	180,0	mmol <sub>c</sub>
<b>Enxofre</b>	18,0	200,0	220,0	340,0	680,0	mg.k
<b>Sódio</b>	290,0	6.800,0	16.000,0	28.000,0	52.000,0	mg.k
<b>Cloreto</b>	295,0	1.897,0	2.784,0	3.756,0	5.150,0	mg.k
<b>Manganês</b>	2,0	8,5	12,7	15,8	19,9	mg.k
<b>Boro</b>	0,3	3,15	4,98	7,8	13,2	mg.k
<b>Bário</b>	0,69	2,39	3,69	5,95	8,27	mg.k
<b>Zinco</b>	1,8	53,0	90,0	95,0	50,0	mg.k
<b>Ferro</b>	12,0	10,0	7,0	3,0	1,0	mg.k
<b>Cobre</b>	1,1	1,0	0,8	0,4	0,1	mg.k

Tabela 12. Valores inicial e final de condutividade elétrica e pH dos tratamentos testados no ensaio de biodegradação do lodo biológico (L).

Tratamento	Condutividade elétrica (dS.m <sup>-1</sup> )		pH	
	inicial	final	inicial	final
<b>Controle</b>	0,87	1,50	7,13	6,02
<b>L10%</b>	10,08	11,89	7,45	7,22
<b>L25%</b>	19,44	26,88	7,44	7,29
<b>L50%</b>	37,86	47,31	7,48	7,37

A Tabela 12 apresenta os resultados de condutividade elétrica e pH do solo controle e tratamentos avaliados no início e final do ensaio de biodegradação do lodo. A adição de lodo foi responsável pelo aumento da condutividade elétrica do solo, mesmo a adição de 10% de lodo elevou a condutividade elétrica para 10,08 dS.m<sup>-1</sup>, valor encontrado em solos naturais salinizados (RUIZ *et al.*, 2004). O pH do solo foi pouco alterado pela a adição do lodo. A comparação entre os valores inicial e final de condutividade elétrica dos tratamentos avaliados demonstra a elevação desse parâmetro após o período de biodegradação avaliado, efeito esperado em decorrência da mineralização de compostos orgânicos.

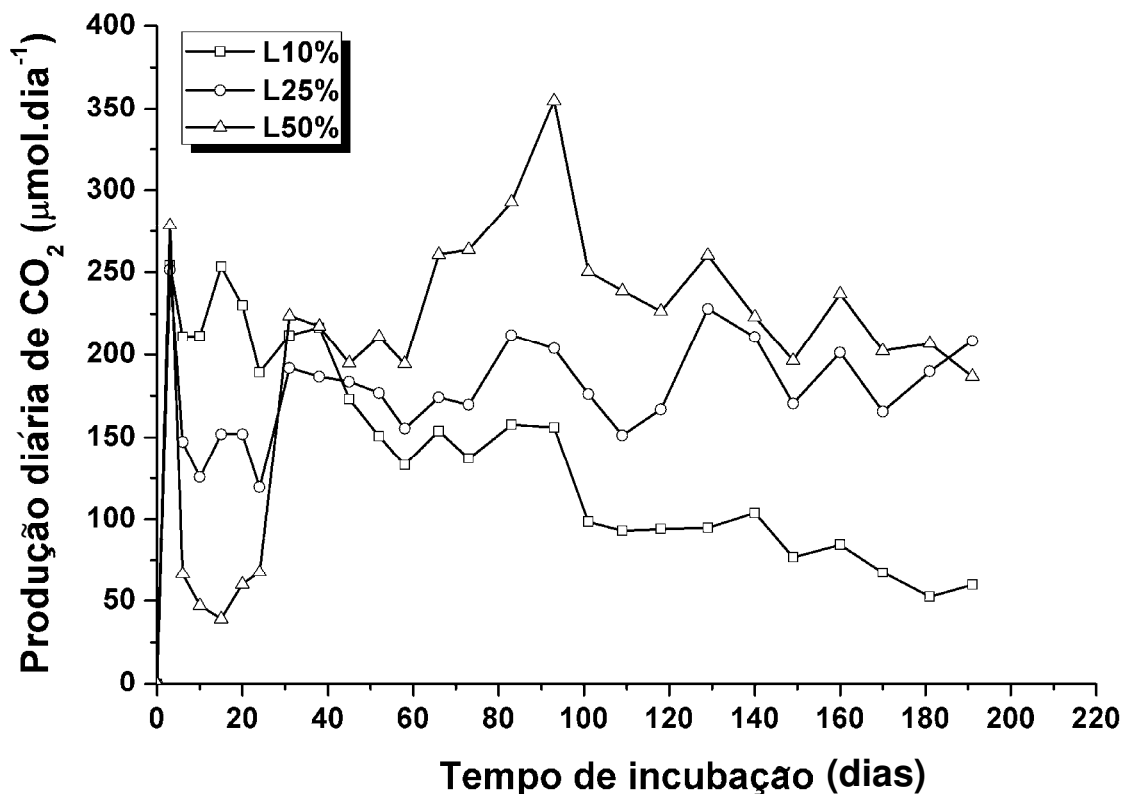


Figura 24. Produção diária de CO<sub>2</sub> devido à biodegradação do lodo biológico.

A biodegradação do lodo foi acompanhada por um período de 212 dias. O intervalo entre as titulações do KOH inicialmente foram de três dias, com o decorrer do tempo esse período foi estendido até o intervalo de 10 dias entre titulações consecutivas, devido à menor taxa de emissão de CO<sub>2</sub> no sistema respirométrico em todos os tratamentos testados. A Figura 24 apresenta a média da produção diária de CO<sub>2</sub> nos respirômetros. Nos primeiros 20 dias de acompanhamento da biodegradação observa-se que apenas o tratamento L10% apresentou produção de CO<sub>2</sub> mais constante, entre 200 e 250 μmol. Nos outros tratamentos a produção de CO<sub>2</sub> foi inibida de acordo com o aumento da concentração de lodo presente, chegando a valores próximos de 25 μmol no tratamento L50%. Após o 25º dia de biodegradação observa-se considerável aumento na produção de CO<sub>2</sub> pelos tratamentos L25 e L50%, indicando que as maiores taxas de adição do lodo, num primeiro momento, restringiram a atividade metabólica dos microrganismos inoculados, efeito não observado no tratamento L10%. Desta forma, as maiores taxas de adição de lodo ao solo parecem ter induzido uma fase de adaptação (*lag*) da microbiota presente, período onde provavelmente ocorreu a adaptação metabólica e/ou seleção de espécies resistentes às novas condições do meio de acordo com a adição do lodo ao solo. Após esta fase inicial, que compreendeu os primeiros 30 dias de biodegradação, observa-se o incremento da produção de CO<sub>2</sub> pelo tratamento L50%, atingindo a maior produção de CO<sub>2</sub> entre os tratamentos testados em torno do 90º dia. Deste momento em diante, o padrão de produção de CO<sub>2</sub> nos tratamentos L25 e L50% foram semelhantes. O tratamento L10%, a partir do 40º dia de biodegradação, apresentou uma gradual tendência de diminuição na produção de CO<sub>2</sub>, que se estendeu até o final do período de avaliação do experimento.

A produção de CO<sub>2</sub> que inicialmente ocorreu de forma mais lenta nos tratamentos L25 e L50%, no intervalo entre o 100º e 120º dias, superou a produção acumulada pelo tratamento L10% (FIGURA 25). Ao final dos 212 dias de biodegradação a produção acumulada de CO<sub>2</sub> atingiu média de 5.306 e 4.711 μmol de CO<sub>2</sub> para os tratamentos L50 e L25%, respectivamente, e 3.813 μmol para o tratamento L10%, sendo observada diferença significativa apenas quando comparado os tratamentos L10 e L50% (Kruskal-Wallis, p<0,05). Os valores de CO<sub>2</sub> acumulado no período de biodegradação avaliados permitiram o cálculo da eficiência da biodegradação do carbono orgânico total (COT) presente nos tratamentos avaliados (FIGURA 26). A concentração de COT no lodo desidratado, misturado ao solo do aterro sanitário, era de 72 mg/g de lodo. A maior eficiência de biodegradação do COT foi obtida pelo tratamento L10%, seguido do tratamento L25 e L50%. Desta forma, a adição de

uma taxa crescente de lodo ao solo, apesar de um efeito inibitório inicial, representou um gradual aumento na quantidade de  $\text{CO}_2$  produzido pelos tratamentos avaliados. Entretanto, esta relação foi inversa quando considerada a eficiência do processo. O tratamento que obteve a maior taxa de eficiência de biodegradação recebeu a menor taxa de adição de lodo, indicando que ao considerarem-se valores absolutos, os tratamentos responsáveis pela biodegradação de maior quantidade de matéria orgânica foram os menos eficientes. Esta aparente contradição está relacionada ao incremento da quantidade de carbono orgânico, pelo aumento na taxa de aplicação de lodo aos tratamentos e, a velocidade da biodegradação da matéria orgânica presente, que, como observado na Figura 24, ocorreu de forma relativamente constante, porém lentamente. Desta forma, uma maior parcela do COT presente nos tratamentos poderia ter sido consumida, se considerado um período de incubação mais longo. Padrão semelhante de biodegradação da matéria orgânica adicionada em solos com alta concentração salina foi observado por Pathak e Rao (1998). Estes autores encontraram uma rápida taxa de biodegradação da matéria orgânica nos primeiros 50 dias de avaliação, seguida por uma taxa constante e lenta.

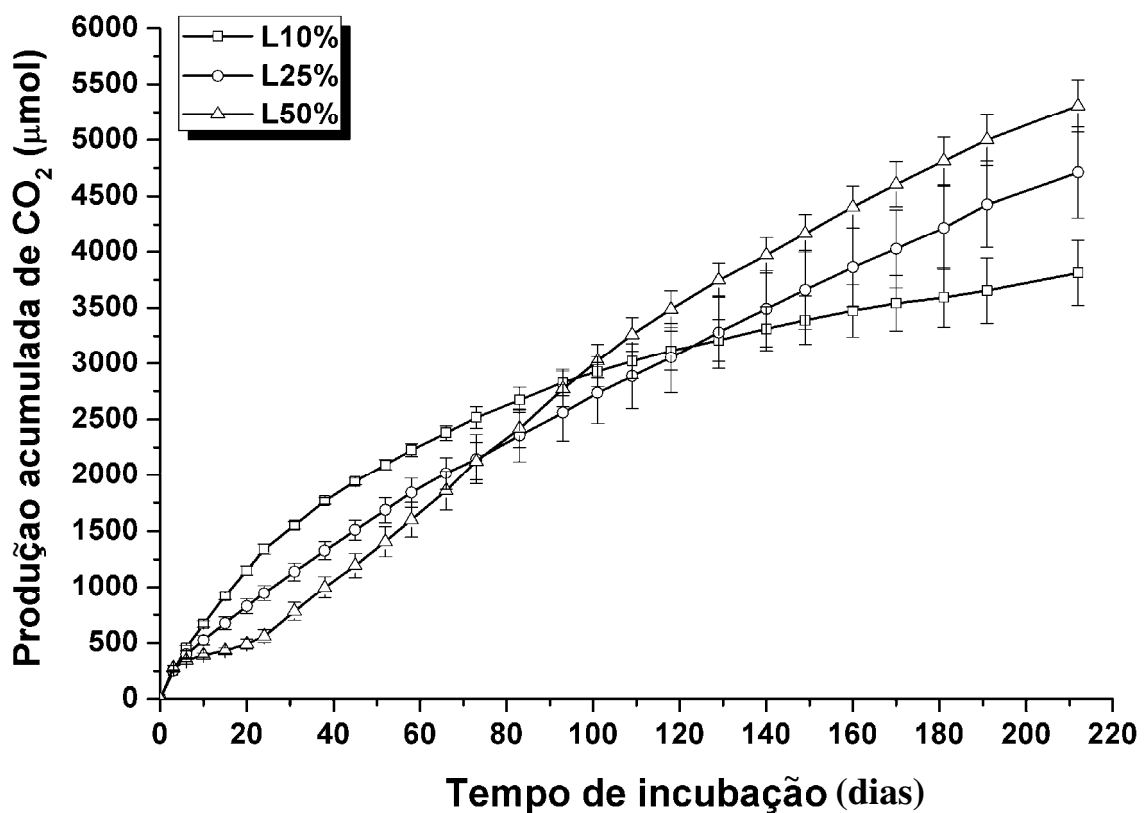


Figura 25. Produção acumulada de  $\text{CO}_2$  devido à biodegradação do lodo biológico. Barras horizontais indicam  $\pm\text{DP}$  da média das quatro repetições de cada tratamento avaliado.



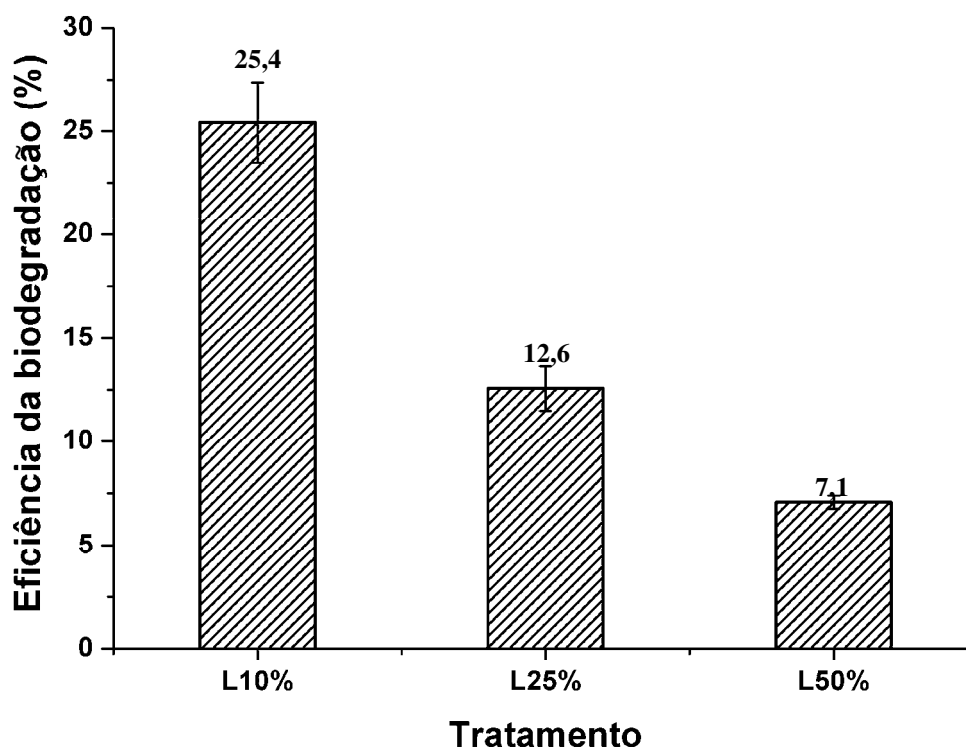


Figura 26. Eficiência da biodegradação obtida pelos tratamentos avaliados no ensaio de biodegradação do lodo biológico.

Segundo Marin *et al.* (2005), a disposição final de um lodo com alta concentração salina deve ser realizada com critério. Quantidades excessivas de sal implicam em efeitos adversos às propriedades físico-químicas e processos microbiológicos do solo, incluindo a mineralização do carbono, nitrogênio e atividade enzimática do solo, parâmetros cruciais para a decomposição da matéria orgânica e liberação dos nutrientes necessários à manutenção da produtividade do solo (PATHAK; RAO, 1998).

Marin *et al.* (2005) encontraram efeito negativo da salinidade sobre a biodegradação de hidrocarbonetos em solo de *landfarming*, especialmente quando a salinidade era devida a presença de cloretos em relação aos sulfatos. Entretanto, Beltrán-Hernandez *et al.* (1999) não observaram alteração na decomposição de lodo de esgotos aplicado em solos salinos, sob condutividade elétrica entre 4 e 70  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ . De acordo com os autores a atividade microbiana não foi inibida pela alta concentração salina, indicando a presença de uma população microbiana bem adaptada a esta condição.

A Figura 27 apresenta o resultado da quantificação de bactérias heterotróficas no início e ao final do ensaio de biodegradação do lodo. A contagem inicial de unidades

formadoras de colônia (UFC) entre os tratamentos foi semelhante, com valores em torno de 1 a  $3.10^6$ . A similaridade dos resultados era esperada, considerando-se a inoculação dos tratamentos com um mesmo volume de *chorume*. Ao final dos 212 dias de avaliação da biodegradação, observa-se gradual diminuição da contagem bacteriana, de acordo com o aumento da concentração de lodo presente. Os tratamentos L10 e L25% apresentaram a contagem de 4,7 e  $1,9.10^5$  UFC/g de solo, respectivamente, o tratamento L50%  $7,7.10^4$  UFC/g de solo, indicando um maior efeito inibitório sobre a população de bactérias heterotróficas nesta taxa de aplicação do lodo. Entretanto, a quantificação final de bactérias heterotróficas, sob salinidade de 50g/L (0,85 M) de NaCl, demonstra a existência de uma maior proporção de bactérias resistentes à salinidade nos tratamentos testados, quando comparado ao tratamento controle. Segundo Imhoff (1986), de acordo com a concentração salina necessária para o crescimento ótimo, as bactérias podem ser classificadas em: não halófilas (crescimento ótimo abaixo de 0,2 M NaCl), levemente halófilas (entre 0,2 e 1,2 M NaCl), moderadamente halófilas (entre 1,2 e 2,5 M NaCl) e halófilas extremas (crescimento ótimo acima de 2,5 M NaCl). Desta forma, a maior proporção de UFC de bactérias heterotróficas sob condições salinas de cultivo, esta provavelmente relacionada à seleção de espécies mais tolerantes nos tratamentos avaliados. O tratamento L25% apresentou a maior proporção de UFC de bactérias heterotróficas sob condições de salinidade, com contagem de  $9,5.10^6$  UFC/g de solo, o tratamento L10% apresentou contagem de  $1,7.10^6$  UFC/g solo, o tratamento L50%  $5,7.10^5$  UFC/g solo, assim, o tratamento contendo a maior proporção de lodo apresentou as menores contagens de bactérias heterotróficas ao final do período de avaliação da biodegradação do lodo.

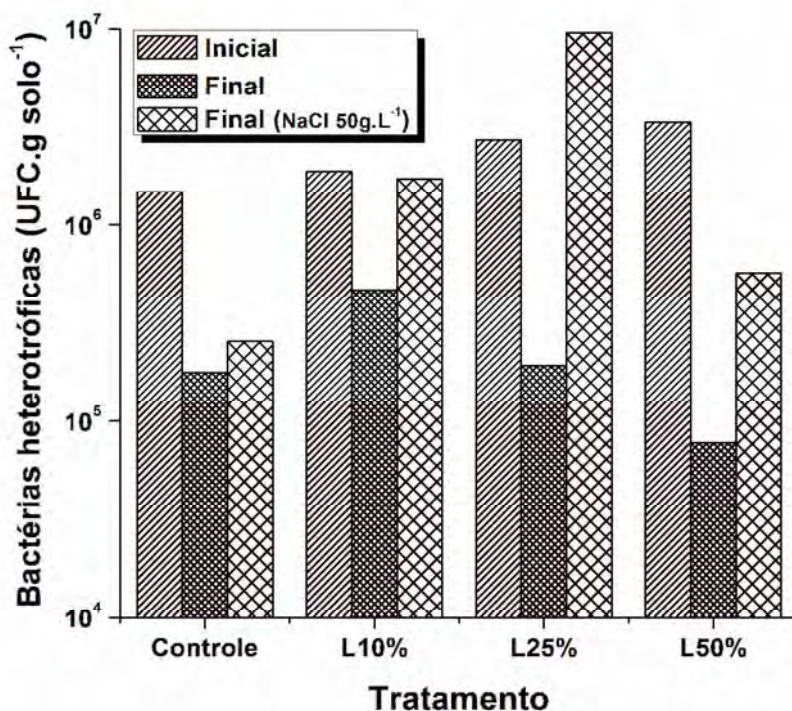


Figura 27. Quantificação inicial e final de bactérias heterotróficas nos tratamentos avaliados pelo ensaio de biodegradação do lodo biológico.

Alta concentração de metais geralmente afetam o crescimento, morfologia e metabolismo dos microrganismos do solo (KANDELER *et al.*, 1996), diminuindo a atividade microbiana do solo. Segundo Valsecchi *et al.* (1995) os metais pesados causam alteração no ciclo do carbono e modificam o metabolismo energético dos microrganismos do solo, levando à diminuição da mineralização da matéria orgânica do solo. Diversos metais podem formar complexos com o cloreto, os quais geralmente apresentam maior mobilidade no solo, porém menor biodisponibilidade que os cátions metálicos livres (ALLOWAY, 1995). Altas concentrações salinas aparentemente causam um efeito mais severo que a poluição por metais pesados, representando uma das condições ambientais mais estressantes para os microrganismos do solo (SARDINHA *et al.*, 2003).

Tam (1998) avaliou o impacto da disposição de água residuária sintética sobre a população microbiana do solo. As amostras continham salinidade equivalente a metade da encontrada na água do mar e concentração dos metais Cu, Zn, Mn e Cd equivalente a quatro vezes a encontrada na composição do esgoto local. Os resultados indicaram efeito inibitório sobre a população e atividade microbiana, entretanto, o aporte de matéria orgânica e

nutrientes, assim como a salinidade, representaram efeitos mais significantes sobre a atividade microbiana do solo que os metais pesados.

Os ambientes salinos contêm diversos íons que podem interferir com a absorção de água e apresentar toxicidade para um grande número de microrganismos, os quais exibem características estruturais e fisiológicas alteradas em função das condições de salinidade do meio, sendo observadas alterações como: inchaço, alongamento e encolhimento do volume celular (ZAHNAN, 1997). Segundo Larsen (1986) a adaptação das bactérias ao estresse osmótico necessita de um equilíbrio entre o potencial osmótico da membrana e citoplasma celular, com o potencial do meio externo. O aumento ou diminuição do potencial osmótico extracelular normalmente induz alterações correspondentes nas concentrações intracelulares de solutos compatíveis (CSONKA, 1989). A maior parte das bactérias tolerantes à salinidade pode realizar a regulação osmótica sintetizando compostos orgânicos específicos ou acumulando solutos inorgânicos como:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Mg}^{2+}$  (ZAHNAN, 1997). Os fatores que causam estresse à comunidade microbiana tendem a diminuir seu tamanho e atividade metabólica (OREN, 1999; PANKHURST *et al.*, 2001; RIETZ; HAYNES, 2003). Os solos geralmente contêm grupos microbianos taxonomicamente diversos, entre eles bactérias com diversos graus de tolerância às condições de salinidade. Evidentemente uma substancial atividade microbiana persiste sob condições salinas, mesmo com a diminuição da atividade microbiana (VENTOSA *et al.*, 1998).

Hunter *et al.* (1986) observaram que o número total de bactérias e a diversidade de espécies diminuíram com o aumento da salinidade. Segundo Alkaabi *et al.* (2006) altas concentrações salinas tendem a aumentar a fase *lag* e diminuem o volume total de metano produzido pela degradação de resíduos sólidos urbanos, em bioreatores anaeróbios. Pathak e Rao (1998) obtiveram taxas de mineralização do carbono orgânico de 35; 33,5; 25,9 e 16,8%, sob condutividade elétrica de 16; 26; 70 e 97  $\text{dS.m}^{-1}$ , respectivamente. Mesmo com a diminuição da atividade microbiana, a constante evolução do  $\text{CO}_2$  durante os três meses de duração do estudo demonstra que a microbiota heterotrófica permanecia ativa.

## 5. CONCLUSÃO

De acordo com a classificação do lodo produzido pelo tratamento biológico da água de produção do petróleo e, considerando as limitações impostas pela legislação ambiental, a destinação final deste resíduo sólido deve ser realizada em aterro específico para a disposição final de resíduos industriais, dotado de medidas para a prevenção da contaminação do solo ou águas superficiais e subterrâneas pela solubilização de elementos nocivos ao ambiente.

O efeito do extrato produzido pela solubilização do lodo frente às espécies vegetais empregadas nos ensaios de germinação e crescimento da raiz e hipocótilo indica toxicidade relacionada principalmente ao baixo potencial osmótico e toxicidade de íons presentes em alta concentração, oriundos da dissolução dos sais presentes no lodo desidratado. As espécies *C. sativus* (Pepino caipira) e *B. verna* (Agrião do seco) apresentaram maior sensibilidade ao extrato solubilizado quando comparadas a *B. oleracea* (Couve manteiga) e *E. sativa* (Rúcula).

Melhor possibilidade de interpretação dos resultados do ensaio de toxicidade frente à germinação de sementes, pela associação de testes quantitativos (porcentagem de germinação) e qualitativos (velocidade média de germinação), permitindo a identificação de efeitos inibitórios nas menores concentrações do extrato solubilizado testadas.

Ausência de efeitos genotóxicos sobre o sistema-teste de *Allium cepa*, onde apenas efeitos tóxicos relacionados à diminuição do índice mitótico e maior ocorrência de células em processo de morte celular foram observados.

Viabilidade da biodegradação do lodo desidratado pela disposição em solo, inoculado com microrganismos presentes no *chorume* de aterro sanitário, após período de adaptação e/ou seleção de bactérias heterotróficas com maior resistência às condições de salinidade impostas pela adição do lodo ao solo, nos tratamentos contendo as maiores taxas de adição de lodo (25 e 50%). Progressiva, porém lenta produção de CO<sub>2</sub> durante o período de biodegradação avaliado, resultando em eficiência de biodegradação do carbono orgânico inversamente proporcional a taxa de adição do resíduo.

## 6. REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR - 10.004** Resíduos Sólidos - Classificação, 2004(a), 71p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR - 10.005** Lixiviação de Resíduos, 2004(b), 16p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR - 10.006** Solubilização de Resíduos, 2004(c), 3p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR - 10.007** Amostragem de Resíduos, 2004(d), 21p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Sistema de gestão ambiental: diretrizes gerais sobre os princípios, sistemas e técnicas de apoio – **NBR ISO 14.004**. Rio de Janeiro, 1996.

ADARVE, M. J.; HERNÁNDEZ, A. J.; GIL, A.; PASTOR, J. Boron, zinc, iron, and manganese content in four Grassland Species. **Journal of Environmental Quality**, v. 27, p.1286-1293, 1998.

ADEGBUYI, E.; COOPER, S. R.; DON, R. Osmotic priming of some herbage grass seed using polyethylene glycol (PEG). **Seed Science and Technology**, v.9, n.3, p.867-878, 1981.

AJMAL KHAN, M.; UNGAR, I. A.; SHOWALTER, A. M. Effects of salinity on growth, water relations and ion accumulation of the subtropical perennial halophyte *Atriplex griffithii* var. *Stocksii*. **Annals of Botany**. v.85, p.225–232, 2000.

ALKAABI, S.; VAN GEEL, P. J.; WARITH, M. A. Enhancement of the performance of bioreactor landfills operating under saline conditions by sludge addition. **Annual General Conference of the Canadian Society for Civil Engineering**, Alberta, Canada, 2006.

ALLOWAY, B. J. **Heavy Metals in Soils**. Blackie Academic and Professional: Glasgow, U.K., 1995, 50p.

ALOISI, R. R. **Deposição de resíduos da indústria cítrica em solos de textura média**. 1995, vol 1, 116 f. Tese (Livre Docência) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

AL-SABTI, K.; METCALFE, C. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. **Mutation Research**, Amsterdam, v.343, p.121-135, 1995.

ANDREOLI, C. V.; PINTO, M. A. T. **Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final**. Cleverson Vitório Andreoli (Org.). Rio de Janeiro: RiMa, ABES, 2001, 282 p.

ANP – AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>> Acesso em : 20 janeiro 2006.

API - AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE. Overview of exploration and production waste volumes and waste management practices in the United States. **ICF Consulting for the American Petroleum Institute**, Washington, 2000.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. **Scientia Agrícola**, v.62, n.3, p.286-290, 2005.

ARNAIZ, R. R. **Las toxinas ambientales y sus efectos genéticos**, México, 2. ed., 1995, 267p.

ARTHUR, D. J.; LANGH, B. G. **Technical summary of oil & gas produced water treatment technologies**. 2005, Disponível em: <<http://www.all-llc.com/IOGCC/PDF/PWTTECHNICALSUMMARY3-06r-V3.pdf>> Acesso em: 22 janeiro 2006.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for lead**. Atlanta, 1993. 307 p.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Annual report – Lead**, 1995. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov>>. Acesso em: 5 jan. 2009.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat 4.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas de Ciências Biológicas e Médicas**. Sociedade Civil Mamirauá, Belém, Brazil. 2006.

BANSAL, R.P.; BHATI, P.R. & SEND, D.N. Differential specificity in water imbibition of Indian arid zone. **Biologia Plantarum**, v.22, n.5, p.327-331, 1980.

BARBERO, P.; BELTRAMI, M.; BAUDO, R.; ROSSI, D. Assessment of Lake Orta sediments phytotoxicity after the liming treatment. **Journal of Limnology**, v.60, n.2, p269-276, 2001.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelos y Planta**, v.2, p.345-361, 1992.

BELTRÁN-HERNANDEZ, R. I.; COSS-MUÑOZ, E.; LUNA-GUIDO, M. L.; MERCADO-GARCÍA, F.; SIEBE, C.; DENDOOVEN, L. Carbon and nitrogen dynamics in alkaline saline soil of the former Lake Texcoco (Mexico) as affected by application of sewage sludge. **European Journal of Soil Science**, v. 50, p.601-608, 1999.

BERNARDES, R. S.; SOARES, S. R. A. **Fundamentos da respirometria no controle da poluição da água e do solo**. Brasília: Editora Universidade de Brasília, Finatec, 2005, 164p.

- BERNSTEIN, N.; SILK, W. K.; LAUCHLY, A. Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress: possible role of some mineral elements in growth inhibition. **Planta**, v.196, p. 699–705, 1995.
- BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. Reciclagem de lodo de esgoto na agricultura. In: Workshop sobre Biodegradação, 2. **Anais...** Embrapa Meio Ambiente, 2001, 426p.
- BLISS, R. D.; PLATT-ALOIA, K. A.; THOMSON, W. W. Osmotic sensitivity in relation to salt sensitivity in germinating barley seeds. **Plant, Cell and Environment**. v.9, p.721-725, 1986.
- BOND, D. J. Mechanisms of aneuploid induction. **Mutation Research**, v.181, n.2, p.257-266, 1987.
- BRAKSTAD, O. G.; OLSEN, A. J.; NORDTUG, T.; FROST, T. K.; AUNAAS, T.; JOHNSEN, S. Uptake and degradation of discharged produced water components in marine microorganisms. In: **International Conference on Health, Safety and Environment in Oil and Gas Exploration and Production**, 3. New Orleans: TATS-UNIS, 1996, p.219-229.
- BRASIL. **Lei nº 9.605**, de 12 de fevereiro de 1998. Lei de Crimes Ambientais. Brasília, 1998.
- BRASIL, **Lei nº 6938**, de 02 de setembro de 1981. Política Nacional do Meio Ambiente. Brasília, 1981
- BRASILEIRO, I. M. N.; VILAR, E. O.; CAVALCANTI, E. B.; TONHOLO, J. Eletrooxidação do fenol presente em águas de produção de campos de petróleo. In: Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, 3., 2005, Salvador, BA. **Anais...** Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás, 2005.
- BURNS, K. A.; CODI, S.; FURNAS, M.; HEGGIE, D.; HOLDWAY, D.; KING, B.; MCALLISTER, F. Dispersion and fate of produced formation water constituents in an australian northwest shelf shallow water ecosystem. **Marine Pollution Bulletin**, v.38, n.7, p.593-603, 1999.
- CAMARGO, C. E. O.; FERREIRA-FILHO, A. W. P.; SALOMON, M. V. Temperature and pH of nutrient solution on wheat primary root growth. **Scientia Agricola**, v.61, p.313-318, 2004.
- CAMPOS, I. S.; ASSUNÇÃO, M. V. Efeitos do cloreto de sódio na germinação e vigor de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.6, p.837-843, 1990.
- CAMPOS, J. C.; BORGES, R. M. H.; OLIVEIRA FILHO, A. M.; NOBREGA, R. SANT'ANNA, G. L. Oilfield wastewater treatment by combined microfiltration and biological processes. **Water Research**, v.36, p.95-104, 2002.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.



CAVALCANTI, M. L. F.; BARROS, G. J.; CARNEIRO, P. T.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; CAVALCANTI, R. S. Crescimento inicial da mamoneira submetido à salinidade da água de irrigação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v.4, n.1, 2004.

CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Variáveis de qualidade das águas**. Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp>>, Acesso em: 13 janeiro 2009.

CETESB - Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. Decisão de Diretoria nº 195, 2005, 4p.

CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **L6.350** Determinação da biodegradação de resíduos: método respirométrico de Bartha. São Paulo, 1990. 15p.

CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **L5.201** Contagem padrão de colônias de bactérias. São Paulo, 1978. 11p.

CHANEY, R. L.; OLIVER, D. P. Sources, potential adverse effects and remediation of agriculture soil contaminants. In: NAIDU, R. (Ed.). **Contaminants and the soil environment in the Australasia-Pacific region**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p.323-359.

CHAPELLE, F. H. **Ground-Water Microbiology and Geochemistry**. Somerset: John Wiley and Sons, 1993, 502p.

COMBRINK, N. J. J.; LABUSCHAGNE, N.; BARNARD, R. O.; KOTZE, J. M. The effect of chloride on four different citrus rootstocks. **South African Journal of Plant and Soil**, v.12, n.3, p.95–98, 1995.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. **Resoluções do Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Brasília: Ambiental, 2005.

COPELAND, L. O.; MILLER, B. M. **Seed Science and Technology**. 3º ed. Chapman and Hall: NY. 1995. 409 p.

CORDEIRO, G. G.; RESENDE, G. M.; PEREIRA, J. R.; COSTA, N. D. Utilização de água salina e condicionador de solo na produção de beterraba no semi-árido brasileiro. **Horticultura Brasileira**, v.17, n.1, p.39-41, 1999.

CRUCIANI, D. E. **A. drenagem na agricultura**. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1987. 337p.

CSONKA, L. N. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. **Microbiological Reviews**, v.53, p.121–147, 1989.

CUCCI, G.; DE CARO, A.; CICIPRETTI, L.; LEONI, B. Salinity and seed germination of some vegetable crops. **Acta Horticulturae**. v.362, p.305-310, 1994.

DAN, N. P.; VISVANATHAN, C.; BASU, B. Comparative Evaluation of Yeast and Bacterial Treatment of High Salinity Wastewater Based on Biokinetic Coefficients. **Bioresource Technology**, v. 87, p.51–56, 2003.

DAVIES, D. J.; WATT J. M.; THORNTON, I. Lead levels in Birmingham dusts and soils. **Science of the Total Environment**, v.67, p.177-185, 1987.

DE DEUS, A. B. S. **Codisposição de resíduos domésticos e industriais perigosos**. Porto Alegre: IPH/UFRGS, 1996. 26p.

DEWHURST, R. E.; WHEELER J. R.; CHUMMUN, K. S.; MATHER, J. D.; CALLAGHAN, A.; CRANE, M. The comparison of rapid bioassays for the assessment of urban ground water quality. **Chemosphere**, v.47, p.547-554, 2002.

DMITRIEVA, N. I.; MICHEA, L. F.; ROCHA, G. M.; BURG, M. B. Cell cycle delay and apoptosis in response to osmotic stress. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v.130, p.411-420, 2001.

DÓREA, H. S.; BISPO, J. R. L.; ARAGÃO, K. A. S.; CUNHA, B. B.; NAVICKIENE, S.; ALVES, J. P. H.; ROMÃO, L. P. C.; GARCIA, C. A. B. Analysis of BTEX, PAHs and metals in the oilfield produced water in the state of Sergipe, Brazil. **Microchemical Journal**, v.85, p. 234-238, 2007.

DUDKA, S.; MILLER, W. P. Accumulation of potentially toxic elements in plants and their transfer to human food chain. **Journal of Environmental Science and Health**, v.34, n. 4, p. 681-708, 1999.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA **Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos**. Manual de Métodos de Análises de Solos. Rio de Janeiro, 1997.

ESPINOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPINOLA, E. L. G. (Org.) **Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi Guaçu**. São Carlos: Rima, 2003, p.129-148.

FARGASOVÁ, A.; BEINROHN, E. Metal-metal interactions in accumulation of  $V^{5+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Mo^{6+}$ ,  $Mn^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  in under and above-ground parts of *Sinapsis alba*. **Chemosphere**, v.36, n.6, p.1305-1317, 1998.

FERNANDES, T. C. C. **Investigação dos efeitos tóxicos, mutagênicos e genotóxicos do herbicida trifluralina, utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como sistemas-teste**. 2005, 212 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.

FISKESJÖ, G. The Allium test in wastewater monitoring. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v.8, p.291-308, 1993.

FISKEJÖ, G. The Allium test. An alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research**, v.197, n.2, p.243-260, 1988.

FISKESJÖ, G.. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p. 99-112, 1985(a).

FISKESJÖ, G. *Allium* test on river water from Braan and Saxan before and after closure of a chemical factory. **Ambio**, v.14, n.2, p.99-103, 1985(b).

FLYNN, S. A.; BUTLER, E. J.; VANCE, I. Produced water composition, toxicity, and fate. A review of recent BP North Sea studies. In: REED, M.; JOHNSEN, S. (Org.) **Environmental Science Research: Produced Water. Environmental Issues and Mitigation Technologies**, 1996. New York: Plenum Press. p.69-80.

FUENTES, A.; LLORENS, M.; SAEZ, J.; AGUILAR, M. I.; ORTUÑO, J. F.; MESEGUER, V. F. Phytotoxicity and heavy metals speciation of stabilized sewage sludges. **Journal of Hazardous Materials**, v.108, p.161-169, 2004.

GALLAGHER, J. R. **Anaerobic biological treatment of produced water**. 2001. Disponível em: <<http://www.osti.gov/bridge/servlets/purl/791058-6iLoKQ/native/791058.pdf>> Acesso em: 22 janeiro 2006.

GERBER, G. B., LEONARD, A., AND HANTSON, P. L. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v.42, n.1, p.25-34, 2002.

GOMES, A. S.; PALMA, J. J. C.; SILVA, C. G. Causas e conseqüências do impacto ambiental da exploração dos recursos minerais marinhos. **Revista Brasileira de Geofísica.**, v.18, n.3, p.447-454, 2000.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium*. A report of the US Environmental Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v.99, p.273– 291, 1982.

GRINI, P. G.; HJELSVOLD, M.; JOHNSEN, S. Choosing produced water treatment technologies based on environmental impact reduction. **SPE International Conference on Health, Safety and Environment in Oil and Gas Exploration and Production**. Kuala Lumpur, Malaysia. March, 2002.

GUERRA, R. C.; ANGELIS, D. F. Classificação e biodegradação de lodo de estações de tratamento de água para descarte em aterro sanitário. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, p.87-91, 2005.

HAYES, T.; ARTHUR, D. Overview of emerging produced water treatment technologies. IN: **Annual International Petroleum Environmental Conference, 11.**, 2004, Albuquerque, NM.

HENCKLEIN, F. A. **Estabilização de “landfarming” de refinaria de petróleo, mediante metabolismo microbiano, e aplicabilidade em solos pré-desertificados**. 2008, 90 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.

HENDERSON, S. B.; GRIGSON, S. J. W; JOHNSON, P.; RODDIE, B. D. Potential impact of production chemicals on the toxicity of produced water discharges from North Sea oil platforms. **Marine Pollution Bulletin**, v.38, n.12, p. 1141-1151, 1999.

HERKOVITS, J.; CARDELLINI, P.; PAVANATI, C.; PEREZ-COLL, C. S. Susceptibility of early life stages of *Xenopus laevis* to cadmium. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.16, n.2, p.312-316, 1997.

HETTIARACHCHI, G. M.; PIERZYNSKI, G. M.; RANSOM, M. D. In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide. **Environmental Science & Technology**, v.34, p.4614-4619, 2000.

HOLDWAY, D. A. The acute and chronic effects of wastes associated with offshore oil and gas production on temperate and tropical marine ecological processes. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p.185-203, 2002.

HOUK, V. S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents – a review. **Mutation Research**, v. 277, p.91-138, 1992.

HUNTER, M.; STEPHENSON, T.; KIRK, P W. W.; PERRY, R.; LESTER, J. N. Effect of salinity gradients and heterotrophic microbial activity on biodegradation of nitrilotriacetic acid in laboratory simulations of the estuarine environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v.51, n.5, p.919-925, 1986.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Inorganic and organic lead compounds**. v.87, 2004. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Meetings/vol87.php>> Acesso em: 10 novembro 2008.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Agents reviewed by the IARC monographs**. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/Listagentsalphorder.pdf>>. Acesso em: 10 novembro 2008.

IMHOFF, J. F. Osmoregulation and compatible solutes in eubacteria. **Microbiological Reviews**, v.39, p.57-66, 1986.

INGA, T.; UTVIK, R. Chemical characterization of produced water from four offshore oil production platforms in the North Sea. **Chemosphere**, v.39, n.15, p.2593-2606, 1999.

IPCS - International Programme on Chemical Safety. **Barium: environmental health criteria 107**. Genebra, 1990. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc107.htm>>, Acesso em: 15 janeiro 2009.

IZZO, R. NAVARI-IZZO, F.; QUARTACCI, F. Growth and mineral absorption in Maize seedlings as affected by increasing NaCl concentrations. **Journal of Plant Nutrition**, v.14, p.687-699, 1991.

JARDIM, G. M. **Estudos Ecotóxicológicos da Água e do Sedimento do Rio Corumbataí, SP**. Dissertação. (Mestrado). 2004, 138 f. Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 2004.

JESCHKE, W. D.; ASLAM, Z.; GREENWAY, H. Effects of NaCl on ion relations and carbohydrate status of roots and on osmotic regulation of roots and shoots of *Atriplex amnicola*. **Plant, Cell & Environment**, v.9, p.559-569, 1986.

- JORDÃO, C. P.; PEREIRA, J. L.; JHAM, G. N.; BELLATO, C. R. Distribution of heavy metals in environmental samples near smelters and mining areas in Brazil. **Environmental Technology**, v.20, n.5, p.489-498, 1999.
- JI, G.; SUN, T.; ZHOU, Q.; SUI, X.; CHANG, S.; LI, P. Constructed subsurface flow wetland for treating heavy oil-produced water of the Liaohe Oilfield in China. **Ecological Engineering**, v.18, p. 459-465, 2002.
- JINREN, L.; XIULIN, W.; BAOTIAN, S.; XIMING, L.; WEIDONG, W. Analysis of chemical compositions contributable to chemical oxygen demand (COD) of oilfield produced water. **Chemosphere**, v. 62, n.2, p.322-331, 2005.
- KANDELER, E.; KAMPICHLER, C.; HORAK, O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, v.23, p299-306, 1996.
- KARMAN, C. C.; REERINK, H. G. Dynamic assessment of the ecological risk of the discharge of produced water from oil and gas producing platforms. **Journal of Hazardous Materials**, v.61, p.43-51, 1998.
- KATSUHARA, M. Apoptosis-like cell death in barley roots under salt stress. **Plant and Cell Physiology**. v.38, n.9, p.1091-1093, 1997.
- KATAOKA, A. P. A. G. **Biodegradação de resíduo oleoso de refinaria de petróleo por microorganismos isolados de “landfarming”**. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Unesp – Rio Claro, 2001.
- KATSUHARA, M.; KAWASAKI, T. Salt stress induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of barley roots. **Plant and Cell Physiology**, v.37, n.2, p.169-173, 1996.
- KEDDY, C. J.; GREENE, J. C.; BONNELL, M. A. Review of whole-organism bioassays: soil, freshwater sediment, and freshwater assessment in Canada. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.30, p.221-251, 1995.
- KHARAKA, Y. K.; DORSEY, N. S. Environmental issues of petroleum exploration and production. **Environmental Geosciences**, v.12, n.2, p.61-63, 2005.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington, OEA, 1983, 170 p.
- LABOURIAU, L. G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. I. Temperature effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.59, n.1, p. 37-56, 1987.
- LARCHER, W. **Physiological plant ecology**. 3ed. Berlin: Springer – Verlag, 1995. 506p.
- LARSEN, H. Halophilic and halotolerant microorganisms: an overview and historical perspective. **Microbiological Reviews**, v.39, p.3–7, 1986.

- LEE, R.; SERIGHT, R.; HIGHTOWER, M.; SATTLER, A.; CATHER, M.; MCPHERSON, B.; WROTENBERY, L.; MARTIN, D.; WHITWORTH, M. **Strategies for produced water handling in New Mexico**, 2002. Disponível em : <[http://www.gwpc.org/e-Library/Proceedings/PW02/Papers/Robert\\_Lee\\_PWC2002.pdf](http://www.gwpc.org/e-Library/Proceedings/PW02/Papers/Robert_Lee_PWC2002.pdf)> Acesso em: 23 janeiro 2006.
- LI, Q.; KANG, C.; ZHANG, C. Waste water produced from an oilfield and continuous treatment with an oil-degrading bacterium. **Process Biochemistry**, v.40, p.873–877, 2005.
- LIMA, L. A. Efeitos de sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; QUEIROZ, J. E.; MEDEIROS, J. M. (Ed.) **Manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada**. Campina Grande: UFPB, SBEA, 1997, p.113-136.
- LIU, D.; JIANG W.; LI, M. Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. **Hereditas**, v.117, n.1, p.23-29, 1992.
- LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Assessment of barium toxicity in bush beans. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.39, n.4, p.440–444, 2000.
- LU, X. Q.; HANNA, J. V.; JOHNSON, W. D. Source indicators of humic substances: an elemental composition, solid state <sup>13</sup>C CP/MAS NMR and Py-GC/MS study. **Applied Geochemistry**, v.15, p.1019-1033, 2000.
- MA, T. H.; XU, C.; MCCONNEL, H.; RABAGO, E. V.; ARREOLA, G. A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleous assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research**, v. 334, n.2, p.185-195, 1995.
- MACÊDO, J. A. B. **Introdução a Química Ambiental**. CRQ-MG, 2002. 487p.
- MACHADO, N. B. N.; CUSTÓDIO, C. C.; COSTA, P. R.; DONA, F. L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 28, n.1, p.142-148, 2006.
- MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel**. 2006, 147 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.
- MARIN, J. A.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C. Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: influence on soil microbial activity. **Environmental Research**, v.98, p.185–195, 2005.
- MARTINS, I.; LIMA, I. V. **Ecotoxicologia do manganês e seus compostos: série cadernos de referência ambiental**, v. 7. Salvador: CRA, 2001, 121p.
- MATSUMOTO, S. T.; FONSECA, I.; MARIN-MORALES, M. A.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I.; DIAS, A. L. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics And Molecular Biology**, v.29, n.1, p.148-158, 2006.

- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Great Britain: Pergamon Press, 1989. 270p.
- MCCORMACK, P.; JONES, P.; HETHERIDGE, M. J. Analysis of oilfield produced waters and production chemicals by electrospray ionisation multi-stage mass spectrometry. **Water Research**, v.35, n.15, p.3567–3578, 2001.
- MEDEIROS, V. A.; FONTOURA, G. A. T.; DEZOTTI, M.; SANT'ANA, G. L. Avaliação do efeito da salinidade e da adição de um suplemento nutricional no tratamento biológico de um efluente industrial complexo. Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 23. **Anais...** Campo Grande, MS. 2005.
- MELLO, F. A. F.; SOBRINHO, M. O. C. B.; ARZOLLA, S. **Fertilidade do solo**. Piracicaba: Nobel, 1983. 400 p.
- MENZIE, C. A. The environmental implications of offshore oil and gas activities. **Environmental Science & Technology**, v.16, n.8, p.1267-1275, 1982.
- MONACO, M.; DOMINICI, R.; BARISANO, P. Studio dell'attivata mutagena del bario cloruro in *Salmonella typhimurium*. **La Medicina del Lavoro**, v.81, n.1, p.54-64, 1990.
- MONACO, M.; DOMINICI, R.; BARISANO, P. Valutazione della presunta attivata mutagena del bario nitrato. **La Medicina del Lavoro**, v.82, n.5, p.439-445, 1991.
- MUNNS, R., Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell & Environment**, v.25, p.239-250, 2002.
- MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole-plant responses to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.13, p.143–160, 1986.
- MORAES, D. S. L.; JORDAO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n.3, p.370-374, 2002.
- MORALES, C. G. **Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Agua: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**. IMTA: México, 2004, 142p.
- NEGRI, A. P.; HEYWARD, J. A. Inhibition of fertilization and larval metamorphosis of the coral *Acropora millepora* (EHRENBERG, 1834) by petroleum products. **Marine Pollution Bulletin**, v.41, n.7, p.420-427, 2000.
- NOBREGA, G. M. N.; QUEIROZ, J. E.; SILVA, L. M. M.; SANTOS, R. V. Efeito da salinidade na germinação e desenvolvimento inicial da *Leucena*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.3, n.2, p.257-260, 1999.
- NOGUEIRA, R. F. P.; MODE, D. F. Fotodegradação de fenol e clorofenóis por processo foto-Fenton mediado por ferrioxalato. **Eclét. Quím.**, vol.27, n.spe, p.169-185, 2002.
- NORIVAL, P. **Análise de risco ambiental em processo siderúrgico**. 1998. 157 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.

NTP - National Toxicology Program. **NTP Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of barium chloride dihydrate in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies)**. NTP TR 432. Research Triangle Park, 1994.

NUVOLARI, A. **Aplicação de Lodo de Esgotos Municipais no Solo: Ensaio de Respirometria para Avaliar a Estabilidade do Lodo**. 1996, 158f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

ODEIGAH, P. G. C.; NURUDEEN, O.; AMUND, O. O. Genotoxicity of oilfield wastewater in Nigeria. **Hereditas**, v. 126, p.161-167, 1997.

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. **Environmental indicators**, Paris, 1994. 159p.

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. Terrestrial plants: Growth test. **OECD Guidelines for testing of chemicals**, Paris: No. 208, 1984.

OGAWA, A.; KITAMICHI, K.; TOYOFUKU, K. KAWASHIMA, C. Quantitative analysis of cell division and cell death in seminal root of rye under salt stress. **Plant Production Science**, v.9, n.1, p.56-64, 2006.

OLIVEIRA, E. P.; SANTELLI, R. E.; CASSELLA, R. J. Direct determination of lead in produced waters from petroleum exploration by electrothermal atomic absorption spectrometry X-ray fluorescence using Ir–W permanent modifier combined with hydrofluoric acid. **Analytica Chimica Acta**, v.545, p.85-91, 2005.

OLIVEIRA, R. C. G. Novo conceito de dessalgação de petróleo para centrais de tratamento. **Boletim Técnico da Petrobras**, v.43, n.2, p.111-119, 2000.

OLIVEIRA, R. C. G.; OLIVEIRA, M. C. K. Remoção de contaminantes tóxicos dos efluentes líquidos oriundos da atividade de produção de petróleo no mar. **Boletim Técnico da Petrobras**, v.43, n.2, p.129-136, 2000.

O'NEIL, P. Major elements in the earth's crust – Iron. In: O'NEIL, P. (Ed). **Environmental Chemistry**. 2ed. New York: Chapman e Hall, 1994. cap.9, p.151-168.

OREN, A. Bioenergetic aspects of halophilism. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v.65, p.334–348, 1999.

OSKARSSON, A.; REEVES, A. L. Barium. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. (Eds.). **Handbook on the Toxicology of Metals**. 3th ed. Elsevier Inc., 2007, cap.20, p.407-414.

OSPAR - Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic. **Background Document Concerning Techniques for the Management of Produced Water from Offshore Installations**. 2002. Disponível em: <[http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00162\\_Techniques%20for%20the%20management%20of%20Produced%20Water.pdf](http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00162_Techniques%20for%20the%20management%20of%20Produced%20Water.pdf)> Acesso em: 23 de janeiro 2006.



OSPAR - Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic. **Discharges, Spills and Emissions from Offshore Installations in 2003**, 2005. Disponível em: <www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00221\_Offshorereport2003.pdf> Acesso em: 22 janeiro 2006.

PANKHURST, C. E.; YU, S.; HAWKE, B. G.; HARCH, B. D. Capacity of fatty acid profiles and substrate utilization patterns to describe differences in soil microbial communities associated with increased salinity or alkalinity at three locations in South Australia. **Biology and Fertility of Soils**, v.30, n.3, p.204-217, 2001.

PATHAK, H.; RAO, D. L. N. Carbon and nitrogen mineralization from added organic matter in saline and alkali soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.30, n.6, p.695-702, 1998.

PEREIRA, O. A. E TRAVALLONI, A. M. Metodologia experimental de amostragem isocinética para efluentes. **Boletim Técnico da Petrobras**, v.43, n.1, p.62-68, 2000.

PEÑA, L. F. M. **Uso do teste de micronúcleo em eritrócitos circulantes de peixes para monitorização de um local do rio Tibagi e avaliação da genotoxicidade de agrotóxicos em bioensaios**. 1996, 199 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Londrina, 1996.

PLAZA, G.; NALECZ-JAWECKI, G.; ULFIG, K.; BRIGMON, R. L. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. **Chemosphere**, v.59, p.289-296, 2005.

POHLAND, F. G.; GOULD, J. P. Codisposal of municipal refuse and industrial waste sludge in landfills. In: **INTERNATIONAL SEMINAR ON ANAEROBIC DIGESTION IN TROPICAL COUNTRIES**. São Paulo, 1986. São Paulo, Cetesb.

POPINIGS, F. **Fisiologia da semente**. 2ed, Brasília: AGIPLAN, 289p, 1985.

PRISCO, J. T.; O'LEARY, J. W. Osmotic and toxic effects of salinity on germination of *Phaseolus vulgaris* L. seeds. **Turrialba**. v.20, n.2, p.177-184, 1970.

RADIC, S.; PROLIC, M.; PAVLICA, M.; PEVALEK-KOZLINA, B. Cytogenetic effects of osmotic stress on the root meristem cells of *Centaurea ragusina* L. **Environmental and Experimental Botany**, v.54, p.213-218, 2005.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. Introduction. In: Rand, G. M.; Petrocelli, S. R. (Eds.) **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications**, Hemisphere Publishing Corporation, Washington, 1985. p.1-28.

RANK, J.; LOPEZ, L. C.; NIELSEN, M. H.; MORETTON, J. Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. **Hereditas**, v.136, p.13-18, 2002.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. Genotoxicity of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberrations assay. **Mutation Research**, v.418, p.113-119, 1998.

REBHUN, M.; GALIL, N. Technological strategies for protecting and improving the biological treatment of wastewater from a petrochemical complex. **Water Science and Technology**, v.29, n.9, p.133-141, 1994.

RESTREPO, J. F. C. **Environmental legislation concerned with offshore platform discharges**. 2005 Disponível em: <<http://www.oilandgasforum.net/management/PaperLegisl.PDF>> Acesso em: 23 janeiro 2006.

RIETZ, D. N.; HAYNES, R. J. Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. **Soil Biology & Biochemistry**, v.35, p.845-854, 2003.

ROE, T. I.; JOHNSEN, S. Discharges of produced water to the North Sea. In: REED, M.; JOHNSEN, S. (Org.) **Environmental Science Research: Produced Water. Environmental Issues and Mitigation Technologies**, 1996. New York: Plenum Press p.13-25.

RONCO, A.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P. Conceptos Generales. In: MORALES, G. C. (Ed.), **Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Agua: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**. IMTA: México. 2004, 142p.

ROSA, L. S.; FELIPPI, M.; NOGUEIRA, A. C.; GROSSI, F. Avaliação da germinação sob diferentes potenciais osmóticos e caracterização morfológica da semente e plântula de *Ateleia glazioviana* Baill (Timbó). **Cerne**, v.11, n.3, p306-314, 2005.

RUIZ, H. A.; SAMPAIO, R. A.; OLIVEIRA, M.; VENEGAS, V. H. A. Características químicas de solos salino-sódicos submetidos a parcelamento da lâmina de lixiviação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.11, p.1119-1126, 2004.

RUMBAUGH, M. D.; JOHNSON, D. A.; PENDERY, B. M. Germination inhibition of alfalfa by two component salt mixtures. **Crop Science**, v.33, n.5, p.1046-1050, 1993.

SÁ, M. E. **Relações entre qualidade fisiológica, disponibilidade hídrica e desempenho de sementes de soja (Glycine max (L.) Merrill)**. 1987. 147f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, ESALQ, Piracicaba, 1987.

SANTANA, M. J.; CARVALHO, J. A.; SILVA, E. L.; MIGUEL, D. S. Efeito da irrigação com água salina em um solo cultivado com o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Agrotécnica**, v.27, n.2, p443-450, 2003.

SANTOS, V. L. M.; CALIL, A. C.; RUIZ, H. A.; ALVARENGA, E. M.; SANTOS, C. M. Efeito do estresse salino e hídrico na germinação e vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.2, p.189-194, 1992.

SÃO PAULO (Estado). **Lei Estadual nº 12.300**, de 16 de março de 2006. São Paulo, 2006.

SÃO PAULO (Estado). **Decreto Estadual nº. 8.468**, de 8 de setembro de 1976. São Paulo, 1976.

SARDIC, M.; LUCCHINI, R. Manganese. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. (Eds.). **Handbook on the Toxicology of Metals**. 3ed. Elsevier Inc., 2007, cap.32, p.645-674.

- SARDINHA, M.; MÜLLER, T.; SCHMEISKY, H.; JOERGENSEN, R. G. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. **Applied Soil Ecology**, v.23, p. 237–244, 2003.
- SAURABH CHANDRA, L. K. S.; CHAUHANA, R. C.; MURTHYB, P. N.; SAXENA, P. N.; PANDEC, S. K.; GUPTA, T. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. **Science of the Total Environment**, v.347, p.46-52, 2005.
- SENN, W. A.; JOHNSON, P. H. **Interpretation of Gas Chromatography Data as a Tool in Subsurface Hydrocarbon Investigations**. In: National Water Well Association, 1986.
- SHANNON, M. C. Adaptation of plants to salinity. **Advances in Agronomy**, v.60, p.75-120, 1997.
- SHANNON, M. C.; GRIEVE, C. M. Tolerance of vegetable crops to salinity. **Scientia Horticulturae**. v.78, p.5–38, 1999.
- SIENKO, M. J.; PLANE, R. A. Elementos de transição II. In: SIENKO, M. J.; PLANE, R. A. (Eds.) **Química**. 5ed. São Paulo: Nacional, 1977. cap.21, p.436-454.
- SILVA, A. P.; BIDONE, F. R. A.; MARQUES, D. M. L. M. Avaliação da lixiviação de alumínio e da produção de ácidos graxos voláteis em reatores anaeróbios utilizados para estudar a disposição de lodos de ETAs em aterros sanitários. Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 27. **Anais...** Porto Alegre, RS. 2000.
- SILVA, C. R. R. **Água produzida na extração de petróleo**. 2000. Disponível em: <<http://www.teclim.ufba.br/curso/monografias/petroleo/download/completa.PDF>> Acesso em: 22 janeiro 2006.
- SILVA, M. O. S. A. **Análises Físico-Químicas para Controle de Estações de Tratamento de Esgotos**. 1º ed. São Paulo: CETESB, 1977. 226 p.
- SISINNO, C. L. S. Disposição em aterros controlados de resíduos sólidos industriais não-inertes: avaliação dos componentes tóxicos e implicações para o ambiente e para a saúde humana. **Cadernos de Saúde Pública**, v.19, n.2, p.369-374, 2003.
- SIVIERO, A. R. **Avaliação da Biodegradação em Solo de Resíduos Sólidos de Fundação – Areia Fenólica – Utilizando o Método Respirométrico**. 1999, 78 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1999.
- SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M; TOMAN, J. M. The evaluation of waste surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research**, v.38, p.171-179, 1997.
- SNYMAN, H. G.; JONG, J. M.; Aveling, T. A. S. The stabilization of sewage sludge applied to agricultural land and the effects on maize seedlings. **Water Science and Technology**, v. 38, n. 2, p.87 – 95, 1998.

- SOUZA, A. M. G. F. **Aplicação de método respirométrico na avaliação do emprego de areia fenólica de fundição, juntamente com solo, na cobertura de aterro sanitário.** 2000, 132 f. Tese (Doutorado) ) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2000.
- SOUZA, G. M.; CARDOSO, V. J. M. Effects of different environmental stress on seed germination. **Seed Science Technology**, v.28, n.3, p.621-630, 2000.
- STEINERT, S. A. Contribution of apoptosis to observed DNA damage in mussel cells. **Marine Environmental Research**, Barking, v.42, p.253-259, 1996.
- STEPHENSON, M. T. A survey of produced water studies. In: RAY, J. P.; ENGELHART, F. R. (Eds) **Produced Water**. New York: Plenum Press. 1992, p.1-13.
- STROMGREN, T.; SORSTROM, S. E.; SCHOU, L.; KAARSTAD, I.; AUNAAS, T.; BRAKSTAD, O. G.; JOHANSEN, O. Acute toxic effects of produced water in relation to chemical composition and dispersion. **Mariner Environmental Research**, v.40, n.2, p.147-169, 1995.
- SUBLETTE, K; KOLHATKAR, R. RATERMAN, K. Technological aspects of the microbial treatment of sulfide-rich wastewaters: A case study. **Biodegradation**, v.9, p.259-271, 1998.
- TAM, N. F. Y. Effects of wastewater discharge on microbial populations and enzyme activities in mangrove soils. **Environmental Pollution**, v.102, p.233-242, 1998.
- TELLEZ, G. T.; NIRMALAKHANDAN, N.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Evaluation of biokinetic coefficients in degradation of oilfield produced water under varying salt concentrations. **Water Research**, v.29, n.7, p.1711-1718, 1995.
- TELLEZ, G. T.; NIRMALAKHANDAN, N.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Performance evaluation of an activated sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield produced water. **Advances in Environmental Research**, v.6, p.455-470, 2002.
- TELLEZ, G. T.; NIRMALAKHANDAN, N.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Kinetic evaluation of a field-scale activated sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield-produced water. **Environmental Progress**, v.24, n.1, p.96-104, 2005.
- TESTER, M.; DAVENPORT, R.  $\text{Na}^+$  tolerance and  $\text{Na}^+$  transport in higher plants. **Annals of Botany**, v.91, p.503-527, 2003.
- THERIOS, I. N. Effects of temperature, moisture stress and pH on the germination of seeds of amond (*Prunus amygdalu* “Truioto”). **Seed Science and Technology**, v.10, n.3, p.585-594, 1982.
- THORNTON, I.; RAMSEY, M.; ATKISON, N. **Metals in the global environment: facts and misconceptions**. Ontario: ICME, 1995.
- TIBBETTS, P. J. C.; BUCHANAN, I. T.; GAWEL, L. J.; LARGE, R. **Produced Water**, In: RAY, J. P.; ENGELHART, F. R. (Eds.) New York: Plenum Press, 1992. p.97-112.
- TIMBRELL, J. A. **Introduction to Toxicology**. 2º ed. Taylor & Francis Ed, 1999. 167p.

TORRES, S. B.; VIEIRA, E. L.; MARCOS-FILHO, J. Efeitos da salinidade na germinação e no desenvolvimento de plântulas de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.2, p.39-44, 2000.

TORRES, S. B.; VIEIRA, E. L.; MARCOS-FILHO, J. Efeitos do estresse hídrico na germinação e no desenvolvimento de plântulas de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.59-63, 1999.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. **Toxicological review of barium and compounds**. Washington, DC, 1998. Disponível em: <<http://www.epa.gov/NCEA/iris/toxreviews/0010-tr.pdf>>, Acesso em: 15 janeiro 2009.

U.S. EPA. - United States Environmental Protection Agency. Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.4200. **Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test**, 1996. EPA 712-C-96-154.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. Final NPDES General Permit for Offshore Oil and Gas Operations on the Outer Continental Shelf (OCS) and State Waters of Alaska: Arctic NPDES General Permit (No. AKG284200). 1995. Disponível em: <[www.epa.gov/fedrgstr/EPA-WATER/1995/May/Day-24/pr-118.html](http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-WATER/1995/May/Day-24/pr-118.html)> Acesso em: 22 janeiro 2006.

U.S. EPA- United States Environmental Protection Agency. **Guidelines for Carcinogen Risk Assessment**. Risk Assessment Forum, Washington, DC, 1986, 33p.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. **Health effects assessment for barium (EPA 540/1-86-021)**. Prepared for the Office of Emergency and Remedial Response, Washington, DC. 1984.

U.S. GS - United States Geological Survey. **Research on saline waters co-produced with energy resources**. 2002. Disponível em: <<http://greenwood.cr.usgs.gov/energy/factshts /003-97/FS-003-97.html> - 2002> Acesso em: 15 setembro 2008.

VALSECCHI, G.; GIGLIOTTI, C.; FARINI, A. Microbial biomass, activity, and organic matter accumulation in soils contaminated with heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v.20, p.253-259, 1995.

VAN DER MERWE, M.; VAN VUREN, J. H. J.; DU PREEZ, H. H.. Lethal copper concentration levels for *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) – a preliminary study. **Koedoe**, v.36, n.2, p.77-86, 1993.

VASQUEZ, J. C.; MEYER, J. F. C. A. Descarga de água de produção em operações *offshore*: modelagem matemática, aproximação numérica e simulação computacional. **Biomatemática**, v.15, p.119-136, 2005.

VEGUERIA, S. F. J.; GODOY, J. M.; MIEKELEY, N. Environmental impact studies of barium and radium discharges by produced waters from the “Bacia de Campos” oil-field offshore platforms, Brazil. **Journal of Environmental Radioactivity**, v.62, p.29-38, 2002.

- VENTOSA, A.; NIETO, J. J.; OREN, A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v.62, p.504–544, 1998.
- VENTURA, B. C. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do herbicida atrazina, utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como sistema-teste**. 2004, 124 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004.
- VIDAKOVIĆ-CIFREK, Z.; PAVLICA, M.; REGULA, I.; PAPERS, D. Cytogenetic damage in shallot (*Allium cepa*) root meristems induced by oil industry “high-density brines”. **Environmental Contamination and Toxicology**, v.43, p. 284-291, 2002.
- WASHBURN, L.; STONE, S.; MACINTYRE, S. Dispersion of Produced Water in a Coastal Environment and its Biological Implications. **Continental Shelf Research**, v.19, n.1, p. 57-78, 1999.
- WHITTEN, K. W.; GAILEY, K. D.; DAVIS, R. E. **General chemistry with quantitative analysis**. 7ed. Saunders College Publ., 2004. 1232p.
- WHO - World Health Organization. **Manganese, environmental health criteria 17**. Geneva, 1981.
- WHO - World Health Organization. **Concise international chemical assessment document n° 12: manganese and its compounds**. Geneva, 1999.
- WHO - World Health Organization. **Environmental health criteria 85: lead environmental aspects**. Geneva, 1989. 106p.
- WHO - World Health Organization. **Barium health and safety guide**. Geneva, 1991. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg046.htm>>. Acesso em: 7 jan. 2009.
- WHO - World Health Organization. **Environmental health criteria 165 - inorganic lead**. Geneva, 1995. 300p.
- WHO - World Health Organization. **Concise international chemical assessment document 33: barium and barium compounds**. Geneva, 2001, 57p.
- WOOLARD, C. R.; IRVINE, R. L. Treatment of Hypersaline Wastewater in the Sequencing Batch Reactor. **Water Research**, v.29, n.4, p.1159–1168, 1995.
- YANG, T.; POOVAIAH, B. W. Hydrogen peroxide homeostasis: activation of plant catalase by calcium/calmodulin. **Proceedings of Natural Academy of Sciences of the United States of America**, v.99, p.4097-4102, 2002.
- ZAHRAN, H. H. Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments. **Biology and Fertility of Soils**, v.25, p.211–223, 1997.
- ZIVKOVIĆ, S.; DEVIĆ, M.; FILIPOVIĆ, B.; GIBA, Z.; GRUBIŠIĆ, D. Effect of NaCl on seed germination in some *Centaureum* Hill. species (Gentianaceae). **Archives of Biological Science**, v.59, n.3, p.227-231, 2007