



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Tecnologia e Ciências

Instituto de Química


Graciane Silva

**Bioestímulo e bioaumento na remediação de solo  
contaminado com óleo lubrificante usado – escala  
piloto**

Rio de Janeiro  
2010

Graciane Silva

**Bioestímulo e bioaumento na remediação de solo contaminado com  
óleo lubrificante usado – escala piloto**



Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos, Petróleo e Meio Ambiente.

Orientadores: Prof. Dr. Marco Antonio Gaya de Figueiredo  
Profa. PhD. Marcia Marques Gomes – FEN/UERJ

Rio de Janeiro  
2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

S586      Silva, Graciane.  
            Bioestímulo e bioaumento na remediação de solo contaminado  
            com óleo lubrificante usado - escala piloto. / Graciane Silva. - 2010.  
            154 f.

            Orientador: Marco Antonio de Figueiredo Gaya.  
            Orientador: Marcia Marques Gomes.  
            Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de  
            Janeiro, Instituto de Química.

            1. Biorremediação - Teses. 2. Solos- Contaminação – Teses. 3.  
            Hidrocarbonetos – Teses. 4. Ferro – Teses. I.Gaya, Marco Antonio de  
            Figueiredo. II. Gomes, Márcia Marques. III. Universidade do Estado  
            do Rio de Janeiro. Instituto de Química. IV. Título.

CDU 628.5

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta  
tese.

---

Assinatura

---

Data

Graciane Silva

**Bioestímulo e bioaumento na remediação de solo contaminado com  
óleo lubrificante usado – escala piloto**

Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos, Petróleo e Meio Ambiente.

Aprovada em:

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Marco Antonio Gaya de Figueiredo – (orientador)  
Instituto de Química da UERJ

---

Profa. PhD Marcia Marques Gomes – (orientadora)  
Faculdade de Engenharia

---

Prof. Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa  
Instituto de Química da UERJ

---

Prof. Dra. Denise Celeste Godoy de Andrade Rodrigues  
Faculdade de Tecnologia – FAT/UERJ

---

Prof. Dr. Fábio Merçon  
Instituto de Química da UERJ

Rio de Janeiro  
2010

*Dedico este trabalho a Deus*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu “Pai Amado - Deus Todo Poderoso” por cumprir mais esta promessa em minha vida. Obrigada meu Deus por não desistir de mim, mesmo muitos dizendo que não, a sua voz prevaleceu dizendo: SIM.

Aos meus sábios pais Agassis Silva Filho e Maria das Graças Custódio Silva que investiram em mim desde o jardim de infância e vibram mais do que ninguém pelas minhas vitórias. Amo muito vocês!

As minhas irmãs Lidiane Silva e Antonia Carolina Silva. Agradeço a Deus todos os dias da minha vida por sermos tão diferentes para formar um único sentimento, o amor incondicional que temos uma pela outra.

Aos meus orientadores, Dr. Marco Antonio Gaya de Figueiredo pela confiança e amizade e a PhD Marcia Marques Gomes, por ter me dado a chance de mudar a minha vida profissional, confiando-me um desafio de projeto que com a benção de Deus retribuir em cumpri-lo.

A Pesagro-Rio e ao Sr. Ivanil pelo acesso e obtenção do solo utilizado no estudo.

A Embrapa Solos, em especial ao pesquisador Dr. Daniel Vidal Pérez, pela realização das análises físicas e químicas para caracterização do solo *in natura*.

A Companhia Municipal de Limpeza Urbana – Comlurb- RJ, em especial ao gerente da Usina de Transferência, Compostagem e Reciclagem do Caju José Emidio de Araújo Neto, pelo fornecimento do Resíduo Sólido Urbano.

A empresa de re-refino Tasa Lubrificantes e a amiga Christiane Chaffin, pelo fornecimento e obtenção do óleo lubrificante usado.

A Gerência de Geociências do CENPES, em especial a Maria de Fátima Almeida, pelas análises de carbono orgânico total e as profissionais Rosiane D’enofre Ventura, Rosane Alves Fontes e Regina Binotto, por toda ajuda dispensada no desenvolvimento deste trabalho, principalmente na interpretação das análises cromatográficas.

A garagem da Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ, em especial aos motoristas, pelo fornecimento do óleo lubrificante usado e pela paciência e ajuda nas diversas viagens necessárias para conduzir o experimento.

A Cetrel Lumina Soluções Ambientais e ao Jorge Antônio Lopes, pelo apoio financeiro e técnico durante um período do experimento.

Ao professor Dr. Ricardo Miranda, por me ceder os sensores de monitoramento de unidade de solo.

Ao Instituto de Geografia e ao Departamento de Geografia Física, em especial aos Coordenadores do Laboratório de Geografia Física Alexandre Antônio de Mello Santos e Antônio Soares, por me apoiar com espaço físico, infindáveis memorandos para entrada em feriados e finais de semana para condução do experimento.

Bem, temo esquecer de alguém, mas perdoe-me amigos, pois graças a Deus vocês são muitos. Quero agradecer ao Alexandre Antônio de Mello, meu querido amigo que nos momentos mais difíceis esteve ao meu lado, obrigada sem você não seria igual.

Professor Ricardo Miranda, obrigada por ser o meu padrinho querido nesta empreitada.

Aos amigos Leonardo Batista Salgado, Frank Gundin e família, vocês foram primordiais na minha caminhada, sem vocês não existiria o começo para justificar o fim. Obrigada pela amizade incondicional, vocês são os meus verdadeiros irmãos de coração.

Para montar os reatores e monitorá-los contei com ajuda de duas comunidades muito importantes em minha vida: comunidade LAGEFIS (Carlos Eduardo, José Renato, Letícia, Raquel [Geografia], Raquel [Química], Thales, Vanessinha, Thiago) e a comunidade LABIFI (Roberta, Chris, André, Rodrigo, Siomara - Sio, Amanda, Sanye, Bárbara, Tatiana - Tatizinha, Wesley e Erika).

Quero agradecer de forma muito especial a minha irmã Antonia, pessoa que do início ao final estive ao meu lado me apoiando, principalmente nos momentos finais quando eu mais precisei de uma amiga-irmã. Muito obrigada!

A amiga e colega de laboratório Roberta Carvalho Ciannella, pela paciência e companheirismo nas infindáveis reuniões para discutir a dissertação. Realmente aprendemos muito juntas.

A aluna de iniciação científica Erika Queiroz, aos estagiários Anderson Millar e Alessandra, as alunas da Química Raquel e Janaína, aos mestres em Engenharia Ambiental André Salomão e Rodrigo Sondermann pela ajuda na condução dos experimentos.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, pelos ensinamentos transmitidos através das disciplinas ministradas.

Aos funcionários do Instituto de Química, em especial às secretárias Denise e Marise pelo carinho e cuidado oferecido, o que tornou essa trajetória mais agradável.

A todos os amigos e colegas do mestrado, aqueles que passaram e aqueles que permaneceram. Meus sinceros agradecimentos em especial a Antonia, Denise, Andreia, Mari, Igor, Arnaldo, Ingrid, Wilson, Rafael, Maria Denise e Luís Alberto, com os quais dividi as angústias e as realizações.

Aos meus amigos de longa jornada, em especial aos funcionários da Embrapa Solos, que mesmo de longe permaneceram torcendo pelo meu sucesso acadêmico e profissional.

Aos meus amigos que mesmo de longe torceram muito por mim. Obrigada, Liliane Serafim, Fabíola Petri, Amanda Alves Fonseca e Regina Alves, pela presença nos momentos mais marcantes da minha vida.

A todos que, embora não citados, de alguma forma contribuíram para a conclusão de mais uma importante etapa da minha vida. OBRIGADA!



*“Esperei com paciência no Senhor, e ele se inclinou para mim, e ouviu o clamor  
(...) Bem-aventurado o homem que põe no  
Senhor a sua confiança, e que não respeita os  
soberbos nem os que se desviam para a  
mentira”*

*Salmos 40: 1 e 4*

## RESUMO

SILVA, Graciane. Bioestímulo e bioaumento na remediação de solo contaminado com Óleo Lubrificante Usado – em escala piloto. 2010. 143 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

O óleo lubrificante mineral é amplamente utilizado no cenário mundial no funcionamento de máquinas e motores. No entanto, o ciclo de vida deste petroderivado resulta na geração de um resíduo (óleo lubrificante usado), o qual é nocivo ao meio ambiente quando não descartado adequadamente ou reciclado. No Brasil, apesar das normas que tratam especificamente do armazenamento, recolhimento e destino de óleo lubrificante usado, grande parte do mesmo ainda é despejado diretamente no meio ambiente, sem qualquer tratamento, sendo de grande importância estudos que visem o entendimento dos processos e o desenvolvimento de tecnologias de remediação de áreas contaminadas por esse resíduo. O objetivo geral do presente trabalho foi conduzir estudos de tratabilidade de solo arenoso contaminado experimentalmente com 5% (m m<sup>-1</sup> seco) de óleo lubrificante usado, através de duas diferentes estratégias de biorremediação: bioestímulo e bioaumento. Foram conduzidos dois experimentos. No primeiro, foi avaliada a atividade microbiana aeróbia na biodegradação do OLU através do método respirométrico de Bartha. No segundo, foram montados três biorreatores de fase sólida simulando biopilhas estáticas com aeração forçada, cada um contendo 125 kg de solo e 5% (m m<sup>-1</sup> seco) de óleo lubrificante automotivo usado, os quais receberam como tratamento: bioestímulo por ajuste de pH e umidade (BIOS<sub>ca</sub>); bioestímulo por ajuste de pH e umidade associado ao bioaumento com a adição de composto maduro (BIOA<sub>1ca</sub>); e bioestímulo por ajuste de pH e umidade associado ao bioaumento com a adição de composto jovem (BIOA<sub>2ca</sub>). Foram também montados três biorreatores de bancada simulando biopilhas estáticas sem aeração forçada, cada um contendo 3 kg de solo e 5% (m m<sup>-1</sup>) do mesmo contaminante, sendo que o primeiro continha solo sem contaminação - CONT<sub>sa</sub>, o segundo, solo contaminado com ajuste de pH - BIOS<sub>sa</sub> e o terceiro, solo contaminado com adição de 0,3% de azida sódica - ABIO<sub>sa</sub>. Os tratamentos foram avaliados pela remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs) e após 120 dias de experimento obteve-se remoções de HTPs de 84,75%, 99,99% e 99,99%, com BIOS, BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub>, respectivamente, demonstrando que a estratégia de bioestímulo associada ao bioaumento foram promissoras na remediação do solo contaminado pelo óleo lubrificante usado. Os tratamentos que receberam composto (BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub>) não apresentaram diferenças quanto à remoção de HTPs, evidenciando que a fase de maturação dos compostos não apresentou influência na eficiência do processo. No entanto, verificou-se uma eficiência nos tratamentos que receberam composto quando comparado ao tratamento sem adição de composto.

Palavras-chave: óleo lubrificante automotivo usado; bioaumento; bioestímulo.

## ABSTRACT

Lubricating oil is worldwide in machinery and motors. The life-cycle of this petroleum-based product generates a waste, the spent lubricating oil SLO, which is hazardous to the environment when inappropriately disposed. In Brazil, regardless the norms that establish rules for storage, collection, recycling and final disposal of spent-lubricating oil, a large part of it ends up in different environment compartments, causing among others, soil contamination. Therefore, it is important to carry out studies focusing on processes and technology development for remediation of sites contaminated by SLO. The objective of this work was to carry out two experiments of treatability studies for sandy soil contaminated experimentally with 5% (weight/dry weight) of SLO, through two different bioremediation strategies: biostimulation and bioaugmentation. During the first experiment, the aerobic microbial activity in SLO-contaminated soil was assessed through Bartha's respirometry ( $\text{CO}_2$  productino). During the second experiment, three reactors simulating static biopiles with forced (up-flow) aeration received 125 kg of soil contaminated with 5% (w/dw) SLO, which received the following treatments: pH and moisture adjustment-BIOS<sub>ca</sub>; pH and moisture adjustment associated to bioaugmentation through addition of mature compost from urban solid waste-BIOA<sub>1ca</sub> and pH and moisture adjustment associated to bioaugmentation with non-mature compost-BIOA<sub>2ca</sub>. Another group of three bench reactors with no forced aeration, each one containing 3 kg of soil also contaminated with 5% (w/dw) of SLO were filled as following: the first received non-contaminated soil-CONT<sub>sa</sub>; the second received contaminated soil with pH adjustment-BIOS<sub>sa</sub>; the third one received contaminated soil with addition of 0.3% (w/dry w) of sodium azide-ABIO<sub>sa</sub>. The treatments were compared based on removal of total petroleum hydrocarbons (TPHs) and its fractions. After 120 days, the TPH removal was about 75%, 99.99% and 99.99% in BIOS, BIOA<sub>1</sub> and BIOA<sub>2</sub> respectively, suggesting that optimization of conditions associated to bioaugmentation were the most promising strategy to treat SLO contaminated soils. The fact that after 120 days BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub> did not present differences regarding TPH removal shows that giving time enough, the degree of the compost maturation does not influence the TPH removal. However, treatments that received compost were more efficient than biostimulation alone.

Keywords: used lubricating oil; bioaugmentation; biostimulation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Obtenção do óleo básico.....	27
Figura 2.	Consumo de óleo lubrificante em regiões brasileiras.....	30
Figura 3.	Contaminação do solo e corpo hídrico por OLUC.....	32
Figura 4.	Intoxicação da biota aquática pela presença de compostos aromáticos.....	33
Figura 5.	Destino correto do OLUC.....	34
Figura 6.	A relação de total de municípios brasileiros e os que recebem coleta.....	36
Figura 7.	Percentagem das metas regionais progressivas anuais de coleta de OLUC.....	38
Figura 8.	Atividade da biomassa em relação à transformação de xenobióticos no solo.....	43
Figura 9.	Tecnologias empregadas no processo de biorremediação atualmente.....	46
Figura 10.	Fluxograma com resumo das atividades e etapas experimentais.....	55
Figura 11.	Campo Experimental da Pesagro-Rio, com indicação do local de coleta do solo de estudo (área sinalizada pelo círculo).....	56
Figura 12.	Fluxograma dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos avaliados no solo <i>in natura</i> (sem contaminação).....	58
Figura 13.	Foto ilustrativa do procedimento de obtenção de solo contaminado artificialmente. (a) Solo <i>in natura</i> , (b) Solo recebendo o contaminante (OLUC), (c) Homogeneização do solo com o OLUC e (d) Solo contaminados.....	61
Figura 14.	Esquema do Respirômetro de Bartha preconizado na NBR 14283...	62
Figura 15.	Respirômetros de Bartha utilizados no experimento de biodegradação.....	63
Figura 16.	Biorreatores piloto com aeração forçada.....	71
Figura 17.	Biorreatores de bancada sem aeração forçada.....	72

Figura 18.	Ilustração do sistema integrado de aeração forçada dos três reatores em escala piloto.....	73
Figura 19.	Rotâmetro de marca Dwyer utilizado para controlar a vazão de ar na entrada de cada biorreator piloto.....	74
Figura 20.	Sistema de irrigação utilizado nos biorreatores em escala piloto.....	75
Figura 21.	Componente do sistema de umidade do solo, coletor de dados de umidade.....	76
Figura 22.	Componente do sistema de umidade do solo, sensor de capacitância para determinação da umidade.....	76
Figura 23.	Registrador virtual Field Logger utilizado no monitoramento da temperatura dos biorreatores piloto e dos biorreatores de bancada...	77
Figura 24.	Termopares usados na medição para monitoramento da temperatura. (a) Termopar PT100 usado nos biorreatores piloto; (b) Termopar K usado nos biorreatores de bancada.....	78
Figura 25.	Método padrão de diluição e contagem em placas.....	82
Figura 26.	Quantificação da população heterotrófica total.....	83
Figura 27.	Fluxograma de determinação da concentração de fósforo assimilável.....	84
Figura 28.	Caracterização do OLUC em relação aos HTP (hidrocarbonetos totais do petróleo), HRP (hidrocarbonetos resolvidos do petróleo) e MCNR (mistura complexa não-resolvida).....	90
Figura 29.	Caracterização do OLUC em relação aos n-alcanos e os isoprenóides pristano (2,6,10,14-tetrametil-pentadecano) e fitano (2,6,10,14-tetrametil-hexadecano).....	91
Figura 30.	Quantidade acumulada de CO <sub>2</sub> produzida por biodegradação durante os 30 dias.....	94
Figura 31.	Eficiência nos tratamentos em 30 dias de ensaio respirométrico.....	96
Figura 32.	Temperatura do solo no interior dos biorreatores (piloto e bancada) durante 180 dias de experimento.....	102
Figura 33.	Monitoramento da população microbiana heterotrófica total nos seis reatores durante o período experimental.....	105

Figura 34.	Valores de pH nos diferentes tratamentos adotados ao longo do experimento.....	108
Figura 35.	Curva de neutralização de pH, massa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ versus pH.....	133
Figura 36.	Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores $\text{BIOS}_{\text{sa}}$ e $\text{ABIO}_{\text{sa}}$ .....	140
Figura 37.	Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores $\text{BIOS}_{\text{ca}}$ , $\text{BIOA}_{1\text{ca}}$ e $\text{BIOA}_{2\text{ca}}$ .....	141

## LISTA DE TABELA

Tabela 1.	Produção do óleo lubrificante básico por Refinarias em 2009.....	28
Tabela 2.	Principais contaminantes presentes em OLUC e concentrações estimadas.....	31
Tabela 3.	Centros de coleta e empresas de rerrefino por regiões.....	36
Tabela 4.	Processos, tecnologias e autores relacionados às alternativas remediadoras.....	41
Tabela 5.	Processos de transformações e seus respectivos princípios.....	44
Tabela 6.	Microrganismos em relação à faixa de pH.....	51
Tabela 7.	Delineamento dos tratamentos empregados na avaliação da biotratabilidade.....	64
Tabela 8.	Descrição das condições experimentais adotadas no experimento....	70
Tabela 9.	Intervalos amostrais e parâmetros avaliados ao longo do experimento.....	79
Tabela 10.	Composição do meio Agar-melaço.....	81
Tabela 11.	Caracterização físico-química e biológica do solo <i>in natura</i> .....	87
Tabela 12.	Análises granulométricas dos compostos utilizados.....	92
Tabela 13.	Composições dos inertes dos compostos utilizados.....	92
Tabela 14.	Caracterização físico-química dos compostos da Comlurb produzidos na Usina de Compostagem do Caju (RSU <sub>matu</sub> = 60 dias e RSU <sub>semi-matu</sub> = 210 dias de compostagem.....	93
Tabela 15.	. Os valores de carbono inicial degradado (mg C 50 g <sup>-1</sup> de solo), constantes de biodegradação ( <i>k</i> ), tempo de meia-vida e respectivos ajustes de reta ( <i>r</i> <sup>2</sup> ).....	97
Tabela 16.	Caracterização do solo contaminado no início do experimento ( <i>t</i> <sub>0</sub> = 0 dia) representado pela média das triplicatas.....	100
Tabela 17.	Capacidade de campo e umidade dos solos dos biorreatores durante os seis meses de experimento (valores médios a partir de triplicatas).....	103

Tabela 18.	Quantificação microbiana heterotrófica total (UFC g <sup>-1</sup> de solo) nos seis biorreatores durante o período experimental.....	106
Tabela 19.	Porcentagem de remoção dos hidrocarbonetos nos biorreatores de bancada.....	111
Tabela 20.	Porcentagem de remoção dos hidrocarbonetos nos biorreatores piloto.....	113
Tabela 21.	Caracterização do óleo lubrificante usado e/ou contaminado - OLUC, em relação aos componentes voláteis orgânicos - VOCs.....	134
Tabela 22.	Caracterização do óleo lubrificante usado e/ou contaminado - OLUC, em relação aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - HPAs.....	134
Tabela 23.	Caracterização do óleo lubrificante usado e /ou contaminado - OLUC, em relação aos metais tóxicos.....	135
Tabela 24.	Monitoramento da Umidade, média e desvio-padrão.....	136
Tabela 25.	Quantificação do potencial hidrogeniônico (pH).....	137
Tabela 26.	Teste de Kruskal-Wallis para os reatores em estudo.....	139
Tabela 27.	Valores orientadores para solos no Estado de São Paulo.....	142



## SUMARIO

	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>20</b>
<b>1</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>24</b>
<b>1.1</b>	<b>O petróleo e seus derivados.....</b>	<b>24</b>
<b>1.2</b>	<b>Óleos lubrificantes – OLs.....</b>	<b>24</b>
1.2.1	<u>Óleos básicos.....</u>	25
1.2.2	<u>Obtenção de óleo lubrificante.....</u>	27
1.2.3	<u>Produção de óleos lubrificantes básicos.....</u>	28
1.2.4	<u>Óleo lubrificante acabado.....</u>	29
1.2.5	<u>Consumo de óleos lubrificantes.....</u>	29
1.2.6	<u>Óleo lubrificante usado e / ou contaminado – OLUC.....</u>	30
1.2.6.1	Aspectos econômicos, ambientais e regulatórios sobre OLUC.....	35
1.2.7	<u>Biorremediação.....</u>	39
1.2.7.1	Aspectos relevantes para a biorremediação de solos contaminados.....	39
1.2.7.2	Estratégias, aplicações e tecnologias utilizadas na técnica de biorremediação.....	45
1.2.7.3	Fatores limitantes a biodegradação.....	50
1.2.7.4	Utilização de biorreatores na biorremediação de solos contaminados.....	53
<b>2.</b>	<b>METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....</b>	<b>55</b>
<b>2.1</b>	<b>Atividades preliminares – seleção, coleta, caracterização do solo de estudo; obtenção e caracterização do solo de estudo; obtenção e caracterização do OLUCs e obtenção e preparação do RSU.....</b>	<b>56</b>
2.1.1	<u>Seleção, coleta e caracterização do solo de estudo.....</u>	56
2.1.2	<u>Obtenção e caracterização do OLUC.....</u>	58
2.1.3	<u>Obtenção e preparo do Resíduo Sólido Urbano (RSU).....</u>	59
<b>2.2</b>	<b>Preparo e contaminação do solo (Ajuste de pH, contaminação do solo e avaliação da biotratabilidade do estudo).....</b>	<b>60</b>
2.2.1	<u>Ajuste de pH do solo.....</u>	60
2.2.2	<u>Contaminação do solo.....</u>	61

<b>2.3</b>	<b>Primeiro experimento: Ensaio de biodegradação em respirômetros de Bartha.....</b>	<b>62</b>
2.3.1	<u>Descrição dos respirômetros de Bartha.....</u>	62
2.3.2	<u>Montagem dos respirômetros - design dos tratamentos adotados.....</u>	64
2.3.3	<u>Monitoramentos dos ensaios respirométricos.....</u>	66
2.3.4	<u>Quantificação da produção de CO<sub>2</sub>.....</u>	66
2.3.5	<u>Quantificação da produção de CO<sub>2</sub> por biodegradação.....</u>	68
2.3.6	<u>Quantificação do carbono biodegradado.....</u>	68
2.3.7	<u>Eficiência da biodegradação a partir da evolução de CO<sub>2</sub>.....</u>	69
2.3.8	<u>Estudo cinético.....</u>	69
<b>2.4</b>	<b>Segundo experimento: Ensaio de biodegradação em biorreatores..</b>	<b>70</b>
2.4.1	<u>Montagem dos biorreatores.....</u>	70
2.4.2	<u>Montagem dos sistemas para controle da aeração, irrigação, umidade e temperatura.....</u>	73
2.4.2.1	Sistema de aeração.....	73
2.4.2.2	Sistema de irrigação.....	75
2.4.2.3	Sistema de monitoramento de umidade.....	76
2.4.2.4	Sistema de monitoramento de temperatura.....	77
2.4.3	<u>Monitoramento das variáveis dos tratamentos de biodegradação.....</u>	79
2.4.3.1	Determinação do teor de umidade.....	80
2.4.3.2	Medição da temperatura.....	81
2.4.3.3	Quantificação dos microrganismos heterotróficos totais.....	81
2.4.3.4	Determinação do pH.....	83
2.4.3.5	Quantificação de fósforo assimilável.....	83
<b>2.5</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>85</b>
<b>2.6</b>	<b>Valores de referência.....</b>	<b>86</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>87</b>
<b>3.1</b>	<b>Caracterização do solo de estudo, do RSU e do OLUC.....</b>	<b>87</b>
3.1.1	<u>Caracterização do solo de estudo <i>in natura</i>.....</u>	87
3.1.2	<u>Caracterização do OLUC.....</u>	89
3.1.3	<u>Caracterização dos RSU (Compostagem).....</u>	92

<b>3.2</b>	<b>Primeiro experimento: Ensaio de biodegradação em respirômetros de Bartha.....</b>	<b>94</b>
3.2.1	<u>Quantificação do carbono biodegradado.....</u>	94
3.2.2	<u>Eficiência da biodegradação a partir da produção de CO<sub>2</sub>.....</u>	95
3.2.3	<u>Estudo cinético.....</u>	97
<b>3.3</b>	<b>Segundo experimento: Ensaio de biodegradação em biorreatores: bancada e piloto.....</b>	<b>98</b>
3.3.1	<u>Caracterização dos tratamentos no início do experimento (t<sub>0</sub>= 0 dia).....</u>	98
3.3.2	<u>Monitoramento das variáveis dos tratamentos de biodegradação.....</u>	101
3.3.2.1	Temperatura.....	101
3.3.2.2	Umidade.....	103
3.3.2.3	Quantificação microbiana heterotrófica total.....	104
3.3.2.4	Quantificação do potencial hidrogeniônico (pH).....	107
3.3.2.5	Eficiência dos tratamentos: remoção do hidrocarboneto total de petróleo.....	109
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>116</b>
	<b>SUGESTÕES.....</b>	<b>119</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>120</b>
	<b>APÊNDICE A – Curva de neutralização de pH, massa de Ca(OH)<sub>2</sub> versus pH.....</b>	<b>133</b>
	<b>APÊNDICE B – Caracterização do óleo lubrificante usado e/ou contaminado – OLUCs.....</b>	<b>134</b>
	<b>APÊNDICE C – Monitoramento da umidade, média e desvio-padrão..</b>	<b>136</b>
	<b>APÊNDICE D – Quantificação do potencial hidrogeniônico (pH).....</b>	<b>137</b>
	<b>APÊNDICE E – Teste de Kruskal-Wallis para os reatores.....</b>	<b>138</b>
	<b>APÊNDICE F - Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores BIOS<sub>sa</sub> e ABIO<sub>sa</sub>.....</b>	<b>140</b>
	<b>APÊNDICE G - Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores BIOS<sub>ca</sub>, BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>.....</b>	<b>141</b>
	<b>ANEXO A - Valores orientadores para solos no Estado de São Paulo...</b>	<b>142</b>

## INTRODUÇÃO

As indústrias petrolíferas são reconhecidas mundialmente pelo grande potencial de contaminação de solo, água e ar, e uma série de impactos ambientais decorrentes da mesma. Estas indústrias são responsáveis pela geração de quantidades significativas de resíduos sólidos ao longo da cadeia produtiva (exploração, produção, transporte, processamento e distribuição). A disposição inadequada de resíduos provenientes de atividades petrolíferas elevou-se à medida que mais resíduos foram gerados (SPILBORGHS, 1997).

Dentre os derivados do petróleo, o óleo lubrificante é um dos segmentos de grande importância por seu valor agregado, diversificação de consumidores e alta tecnologia no processo de fabricação. No entanto, o seu ciclo de vida termina com a geração de um resíduo que é o “óleo lubrificante usado e/ou contaminado - OLUC”. Esse é altamente perigoso ao meio ambiente caso não seja conduzido ao rerrefino (GOMES, 2007).

Dados do Sindicato Nacional da Indústria do Rerrefino de Óleos Minerais (SINDIRREFINO, 2010) apontam que o Brasil consome por ano aproximadamente 1 milhão de m<sup>3</sup> de óleo lubrificante (OL), o qual representa aproximadamente 2% dos derivados do petróleo. Dessa porcentagem, 60% são consumidos pelo mercado automobilístico e 40% pelas indústrias. Durante o consumo, parte do óleo é queimado ou incorporado ao resíduo final, restando cerca de 350 mil m<sup>3</sup> por ano de óleo lubrificante usado e/ou contaminado (OLUC). Caso esse volume fosse conduzido adequadamente ao rerrefino, a situação estaria controlada, entretanto, na prática, em torno de 100 mil m<sup>3</sup> por ano de óleo lubrificante usado ou contaminado são despejados de maneira ilegal no ambiente (GOMES et al., 2008).

Atualmente existe uma grande polêmica em torno dos vazamentos de petróleo e derivados, que sensibilizam grande parte da população em todo mundo, principalmente no que diz respeito aos impactos ambientais e econômicos. Entretanto, a sociedade não está conscientizada sobre os impactos causados especificamente pelo óleo lubrificante usado e/ou contaminado que é descartado pelos veículos de forma indiscriminada diariamente. O destino irregular do óleo ainda não teve consequências visíveis que provocassem uma grande repercussão na mídia, justamente por se tratar de uma poluição silenciosa e constante decorrente do comportamento dos usuários dos veículos, dos funcionários e proprietário de postos de combustíveis (GOMES et al., 2008).

Os óleos lubrificantes usados e/ou contaminados (OLUCs) são constituídos de compostos oxigenados (ácidos orgânicos e cetonas), compostos aromáticos polinucleados, aditivos químicos que contém em sua composição metais (Ba, Ca, Zn, Pb, Cr, Mg, Sb, Ni, Cd, Hg e Mo) e aditivos originados do desgaste das ligas metálicas (Fe, Cu, Cd, Zn, Ni e Pb) que compõem as peças do motor. Tal composição torna os descartes do OLUC uma ameaça para o meio ambiente devido à presença de diferentes contaminantes orgânicos e inorgânicos (GOMES, 2007).

Atualmente, em decorrência do aumento do número de eventos de liberações descontroladas ou ilegais de petróleo e seus derivados, muitos países atentaram para a necessidade desenvolverem tecnologias e medidas de intervenção e remediação para compartimentos contaminados. Estas tecnologias estão baseadas em processos biológicos, físicos e químicos a fim de reduzir a contaminação a um nível seguro e aceitável (KHAN et al., 2004). Existe uma busca por tecnologias ambientais de custos acessíveis, de fácil operação e de riscos reduzidos (MARQUES, 2007). A escolha pela tecnologia a ser aplicada consiste na relação custo benefício, o que muitas vezes avalia a biorremediação como uma tecnologia viável, por apresentar valor de tratamento inferior aos físico-químicos já existentes (TRINDADE, 2002).

A biorremediação é uma técnica ecologicamente aceitável para a remediação de solos contaminados, a qual acelera de forma natural a degradação de compostos orgânicos, em especial os hidrocarbonetos do petróleo, produzindo através da mineralização os compostos CO<sub>2</sub> e água. (MOLINA-BARAHONA, 2004; NAKAGAWA e ANDRÉA, 2006). As estratégias de biorremediação que podem ser utilizadas em todas as tecnologias de tratamento disponíveis são bioestímulo, bioaumento, biosurfactantes, engenharia genética e adição de material estruturante, sendo que a combinação destes pode ser utilizada com objetivo de melhorar a eficiência da remediação (RIZZO et al., 2006).

As tecnologias para tratamento de solos contaminados podem ser aplicadas em duas classes: *in situ* e *ex situ*. Nesta última utiliza-se biorreatores, tradicionalmente aplicados no tratamento de resíduos líquidos, mas que se tornou uma inovação para resíduos sólidos (URURAHY, 1998). A eficiência de um sistema de biorreatores está relacionada ao controle e manutenção das condições operacionais; controle de emissões atmosféricas e coleta de possíveis lixiviados; facilidade de incorporação de aditivos diretamente no reator e sistema de aeração facilitado (RIZZO et al., 2006).

Tendo em vista o elevado grau poluidor do óleo lubrificante usado e/ou contaminado associado ao volume desse resíduo que não é coletado nem reaproveitado, o desenvolvimento de novos estudos envolvendo diferentes estratégias de biorremediação pode ser de grande importância para remediação de solos contaminados por esse produto em particular. Portanto, o objetivo principal do presente trabalho consistiu no estudo de tratabilidade de um solo arenoso contaminado experimentalmente com 5% ( $\text{m m}^{-1}$ ) de óleo lubrificante usado, através de duas diferentes estratégias de biorremediação: bioestímulo e bioaumento. Dentre os objetivos específicos destacam-se:

- Avaliar, através do método respirométrico de Bartha, padronizado pela norma brasileira NBR 14283 (ABNT, 1999), a atividade microbiana aeróbia na biodegradação do OLU no solo e a aplicabilidade do tratamento posterior do solo em biorreatores (bancada e piloto);
- Construir e avaliar, previamente, a operacionalidade de um sistema de tratamento constituído por três biorreatores piloto com: fluxo de ar forçado, controle de temperatura e umidade;
- Investigar em escala de bancada, um biorreator, bioestímulo (com ajuste de pH e sem aeração forçada) e um reator de controle de processo abiótico (sem ajuste de pH, sem aeração forçada e com adição de 0,3% ( $\text{m m}^{-1}$ ) de azida sódica);
- Investigar em biorreatores piloto o efeito do bioaumento a partir de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) (60 dias e 7 meses de maturação) na remoção dos hidrocarbonetos de petróleo, comparando-os às estratégias de bioestímulo (ajuste de pH e umidade).

Após esse capítulo introdutório, segue-se o capítulo 1 que apresenta uma revisão bibliográfica abrangendo: a problemática das características do óleo lubrificante usado e/ou contaminado quando recebe disposição final inadequada; e os aspectos relevantes da biorremediação na remediação de solos contaminados, ressaltando as principais técnicas envolvidas. Além disto, são apresentados alguns conceitos e aspectos importantes acerca de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) e solo. No capítulo 2 são apresentadas as etapas desenvolvidas na avaliação das estratégias de biorremediação e as metodologias analíticas empregadas nos ensaios físico-químicos e microbiológicos para monitorar a eficiência dos processos de tratamento testados. No Capítulo 3 são apresentados os resultados da caracterização físico-química e microbiológica do solo,

assim como os resultados dos ensaios de biodegradação. A discussão sobre os mesmos também se encontra apresentada neste capítulo.

No capítulo 4 estão apresentadas as conclusões, e as sugestões seguem no capítulo 5. Ao término deste, estão listadas as referências utilizadas no desenvolvimento deste trabalho e, ao final das referências, encontram-se os apêndices e anexos que complementam o trabalho.

## **1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **1.1. O petróleo e seus derivados**

Em 2009, segundo a Agência Nacional do Petróleo - ANP, no Brasil existiam 16 refinarias, 62 terminais aquaviários e 29 terminais terrestres, 508 bases de distribuição, 68 concessionárias de exploração e produção, uma produção anual de petróleo de 711,9 milhões de barris e uma comercialização de aproximadamente 92,8 mil m<sup>3</sup> dia<sup>-1</sup> dos principais derivados de petróleo. Em 2010, o Brasil foi o 14º maior produtor mundial de petróleo (incluindo óleos crus, condensados e líquido de gás natural -LGN).

A formação do petróleo é decorrente da decomposição da matéria orgânica no fundo dos mares e lagos, em ausência de oxigênio e sob a ação da gravidade, originando a combinação de uma mistura complexa de moléculas de carbono e hidrogênio, conhecida como os hidrocarbonetos de petróleo. A maior parte é constituída por alcanos e hidrocarbonetos aromáticos, e em pequena quantidade por compostos orgânicos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio, assim como baixas concentrações de compostos orgânicos metálicos, principalmente níquel e vanádio (FETTER, 1993; PEDROZO et al., 2002).

O início do processo de beneficiamento do óleo cru envolve separação por destilação fracionada, que consiste em obter as frações do petróleo em diferentes intervalos de temperaturas de ebulição e pressão. Além desta destilação, existem nas refinarias de petróleo outros processos para aperfeiçoar a obtenção de certos produtos desejados (MARIANO, 2006).

No Brasil, cerca de 1 % do petróleo processado é convertido em bases lubrificantes, os chamados óleos básicos minerais. No ano de 2008, a produção deste derivado de petróleo não-energético alcançou 756 mil metros cúbicos, um resultado que vem se mantendo ao longo dos últimos 10 anos (Agência Nacional do Petróleo, 2009).

### **1.2. Óleos Lubrificantes – (OLs)**

Os OLs são constituídos de uma base lubrificante combinada a aditivos especiais que lhe conferem propriedades físicas ou químicas adicionais. Contudo, as bases lubrificantes são classificadas segundo a sua origem, como: bases minerais e bases sintéticas. As bases minerais são obtidas do petróleo e, conseqüentemente, suas



propriedades estão relacionadas à natureza do óleo bruto original e ao processo de refino utilizado. Já as bases sintéticas são sintetizadas quimicamente para suportar condições mais adversas (CARRETEIRO e BELMIRO, 2006).

As funções essenciais dos OLs nos motores envolvem a lubrificação, que tem como função amenizar os atritos entre as peças metálicas internas, a refrigeração, para absorção do calor gerado durante o funcionamento do motor, e a limpeza, que evita a oxidação, proporcionando uma melhor compressão e diminuindo a contaminação por combustível e queima de óleo (CERQUEIRA, 2004).

Os OLs são aplicados para fins automotivos e industriais, sendo que 60 % são consumidos para abastecer o mercado automotivo e 40 % para atender o mercado industrial (QUELHAS, 2003). Nas aplicações automotivas, tanto a porcentagem de aditivos, quanto a porcentagem de contaminantes são bem mais elevados quando comparado às aplicações industriais. No uso automobilístico, o óleo é muito utilizado em motores a diesel. Por outro lado, nas aplicações industriais, o óleo é utilizado em sistemas hidráulicos, motores estacionários, turbinas, ferramentas de corte, dentre outros usos (INTERLUBRI LUBRIFICANTES ESPECIAIS, 2008).

Moura e Carreteiro (1978) apresentaram algumas generalidades sobre os óleos lubrificantes, que estão descritos nos itens que se seguem.

#### 1.2.1. Óleos básicos

Os óleos lubrificantes básicos são misturas complexas de hidrocarbonetos saturados com mais de 15 átomos de carbono por moléculas. O óleo básico é o principal constituinte dos óleos lubrificantes automotivos, industriais, marítimos e ferroviários e na produção de graxas lubrificantes, sendo preparados com crus de petróleo. São classificados de acordo com as suas obtenções, como: óleos básicos minerais, óleos básicos sintéticos, óleos compostos e óleos graxos.

Os óleos minerais são obtidos pela destilação do petróleo e possuem suas propriedades muito semelhantes ao óleo cru do qual se originou e ao processo de refrigeração empregado, ou são obtidos a partir do rerrefino dos óleos usados. São os que têm maior importância como agente lubrificante e possuem menor custo quando comparados aos óleos sintéticos.

O petróleo é constituído de séries de hidrocarbonetos, por exemplo: série parafínica (alcanos); série naftênica (cicloparafinas), olefinas e aromáticos. Mas, quando encontram-se juntas, séries de classificação diferentes são denominadas base mista. Entretanto, os óleos são classificados em naftênicos e parafínicos, pois as propriedades dos aromáticos não atendem as necessidades lubrificantes.

Os óleos sintéticos são desenvolvidos por síntese química devido à necessidade de se obter lubrificantes aptos a trabalhar em regimes de temperatura e pressão mais adversas possíveis. Geralmente, os básicos sintéticos têm como vantagens sobre os básicos minerais uma maior estabilidade térmica e a oxidação, melhores propriedades a baixas temperaturas e menor volatilidade. Em contrapartida, os básicos minerais possuem um custo inferior quando comparado aos sintéticos.

Atualmente, os óleos lubrificantes sintéticos podem ser agrupados em termos de classificação, quanto: oligômeros de olefinas (PAO's ou polialfaolefinas), ésteres de ácidos dibásicos, ésteres de organofosfatos, ésteres de silicatos, silicones, compostos de ésteres de polioliol (POE), polibutenos (poliisobutilenos), pologlicóis (polialquilenoglicóis ou PAG) e alquilados aromáticos. Dentre esses, os oligômeros de olefina (PAO's) são constituídos de bases sintéticas usadas na formulação de lubrificantes muito utilizadas em motores automotivos, pois atendem especificações mais restritivas e possuem características similares aos óleos minerais parafínicos altamente refinados. As PAO's são sintetizadas a partir da combinação de duas ou mais moléculas de deceno em oligômeros ou polímeros de cadeia.

Estes produtos sofrem exigências de órgãos ambientais internacionais, federais e estaduais, quanto as suas características biodegradáveis, toxidez e reciclabilidade. Além disso, os fabricantes de equipamentos estão exigindo lubrificantes com vida útil mais longa, volatilidades mais baixa e maior eficiência energética.

Os óleos compostos ou semi-sintéticos são constituídos dos óleos minerais básicos adicionados aos óleos graxos com percentagem na faixa de 1 a 25%. Essa mistura proporciona maior facilidade de emulsão em presença de vapor d'água, muito aplicado em lubrificação sujeita a grandes cargas em cilindros a vapor.

Os óleos graxos foram os primeiros óleos usados como lubrificantes, são de origem vegetal ou animal. Quando comparado aos demais, os óleos minerais possuem baixo custo, não sofrem hidrólise nem se tornam ácidos ou corrosivos pelo uso. Todavia, sofrem oxidação facilmente, tornando-se rançoso e pouco utilizado.

### 1.2.2. Obtenção do óleo lubrificante

Para obtenção do óleo lubrificante, primeiramente, destila-se o petróleo, em seguida trata-se os óleos básicos (Figura 1).

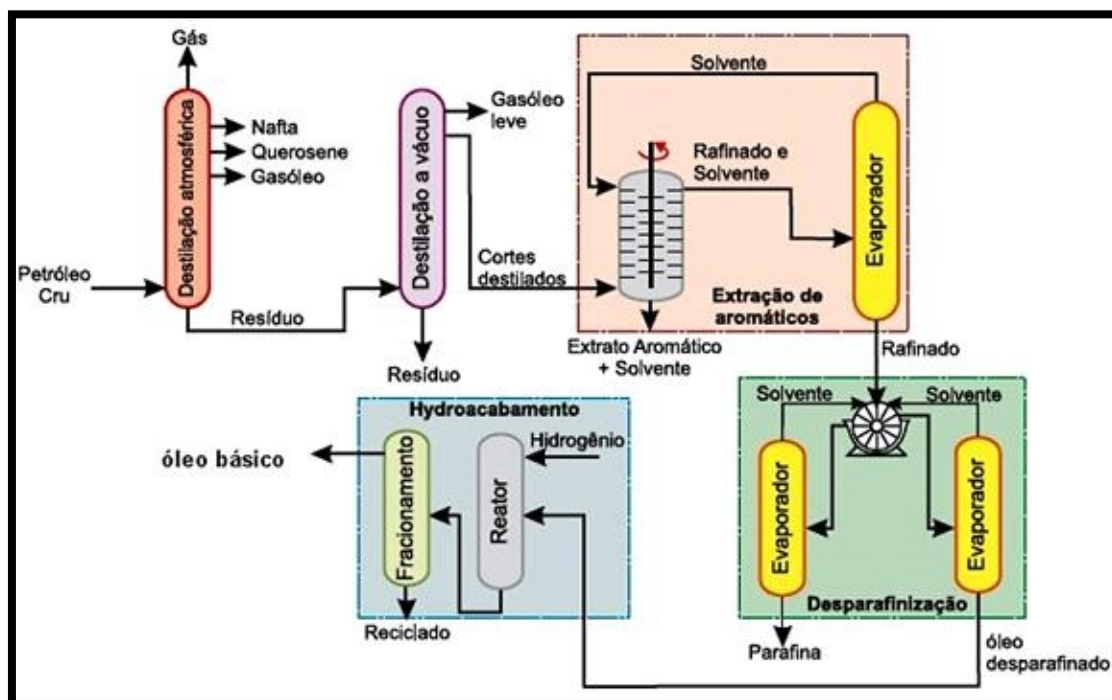


Figura 1. Obtenção do óleo básico. Fonte: ZAMBONI, 2008.

O petróleo sofre uma redução, sendo separado em frações mais leves (gases e combustíveis) e mais pesado (um material que será utilizado na obtenção do óleo básico). A fração mais pesada é submetida à destilação a vácuo, onde se obtém os produtos tipo neutro: Spindle, Neutro Leve, Neutro Médio e Neutro Pesado. Os resíduos gerados neste processo passam por desasfaltamento a propano que, dependendo do grau de extração, obtém: Bright Stock, Cilindro Leve e Cilindro Pesado. Em seguida, para eliminar os componentes aromáticos, este produto é destinado a Desaromatização por Furfural, melhorando o desempenho e o índice de viscosidade dos básicos. Procede ainda a Desparafinação em metil-isobutil-cetona (MIBC) eliminando as ceras pesadas, permitindo um baixo ponto de fluidez e de resíduo de carbono. Por fim, o óleo básico é obtido através do processo de hidrogenação, visando eliminar as múltiplas ligações existentes nas cadeias de carbono (CARRETEIRO e BELMIRO, 2006).

Os óleos básicos são destinados às companhias que realizam a obtenção dos óleos lubrificantes. Eles são levados a misturadores providos de agitadores e

aquecimento, onde são adicionados os aditivos até que o produto esteja dentro das especificações desejadas. Há uma mistura automática contínua nas tubulações coletoras, por onde os óleos lubrificantes são transportados para um tanque de armazenamento. Amostras são recolhidas para confirmação da qualidade do produto (CARRETEIRO e BELMIRO 2006).

Para tratar a qualidade dos óleos lubrificantes básicos, é de fundamental importância distinguir dois aspectos: suas características físicas e químicas, e sua eficiência para devidas aplicações. São realizadas algumas análises típicas que têm como finalidade caracterizar o produto dentro de uma faixa de valores, de modo a verificar a sua uniformidade. Isso efetiva os limites específicos, principalmente para a viscosidade, caracterizando: índice de viscosidade, cor, ponto de fulgor, ponto de fluidez, resíduo de carbono, cinzas, índice de neutralização e corrosividade (CARRETEIRO e BELMIRO 2006).

### 1.2.3. Produção de óleos lubrificante básicos

O setor de lubrificantes não ocupa um lugar de destaque entre os derivados de petróleo, principalmente devido ao seu volume consumido, quando comparado aos combustíveis. No entanto, é o único derivado de petróleo que permite o processo de reciclagem, o que faz com que o setor de lubrificante tenha o mesmo tratamento dispensado aos combustíveis (Agência Nacional de Petróleo, 2009).

A produção nacional de óleos lubrificantes básicos em 2009, segundo a Agência Nacional do Petróleo (2009), foi de 593.794 m<sup>3</sup>. A Tabela 1 apresenta a produção de óleo lubrificante básico por refinarias, sendo a Petrobrás a única produtora de óleos lubrificantes básicos no Brasil.

Tabela 1. Produção do óleo lubrificante básico por Refinarias em 2009.

Refinarias	Produção em mil m <sup>3</sup>
Lubnor (CE)*	70.216
Reduc (RJ)*	449.863
RLAM (BA)*	73.715
Total	73.715

Nota: \* não inclui o consumo próprio de derivados das refinarias.

Fonte: Agência Nacional do Petróleo (2009)

A grande parte do petróleo que é destinado à produção de lubrificante é importada e, de acordo com Fontes e Nogueira (2003), a Petrobrás desenvolve através do seu centro de pesquisa (CENPES) estudos para encontrar matérias-primas alternativas para processamento em suas refinarias, com a finalidade de interromper a dependência de 30 anos com o mercado externo.

#### 1.2.4. Óleo lubrificante acabado

Os óleos lubrificantes são largamente utilizados em milhares de tipos de modelos de equipamentos mecânicos em setores, tais como automotivo, industrial, marítimo e ferroviário. Contudo, cada tipo de equipamento possui componentes mecânicos muito específicos, como rolamentos, engrenagens e mancais, que necessitam de lubrificantes com características bem definidas para que possam operar eficientemente.

Algumas características dos óleos lubrificantes estão relacionadas unicamente às bases lubrificantes as quais lhe deram origem. Entretanto, existem outras que podem ser influenciadas por incorporação de compostos químicos denominados “aditivos”.

Os aditivos são substâncias químicas que têm como finalidade obter melhor comportamento das propriedades necessárias aos óleos lubrificantes. Ultimamente, para alcançar maior desempenho, tornou-se necessário o uso de aditivos especiais, objetivando um melhor índice de viscosidade, redução de fluidez, ação como detergente dispersante, e, por fim, antidesgastante e antiespumante aumentando a resistência à oxidação.

#### 1.2.5. Consumo de óleos lubrificantes

A demanda do OL está relacionada ao movimento de um conjunto de variáveis intercorrelacionadas, como o aumento da frota de veículo em circulação, produção agrícola, produção de bens de capital e serviço, consumo por tipo de combustível, consumo de óleo básico e outros insumos. O mercado de OL é diversificado, sendo composto por usuários que se encontra em diferentes tipos de segmentos de atividades econômicas: agricultura, transporte, mineração, fabricantes de máquinas e veículos, alimentos, entre outras (SINDIRREFINO, 2010).

Em relação ao consumo de óleos lubrificantes formulados, o Brasil, hoje, consome em torno de 1 milhão de m<sup>3</sup> de óleos lubrificantes por ano. A Figura 2 apresenta o consumo de OL distribuído por regiões brasileiras.

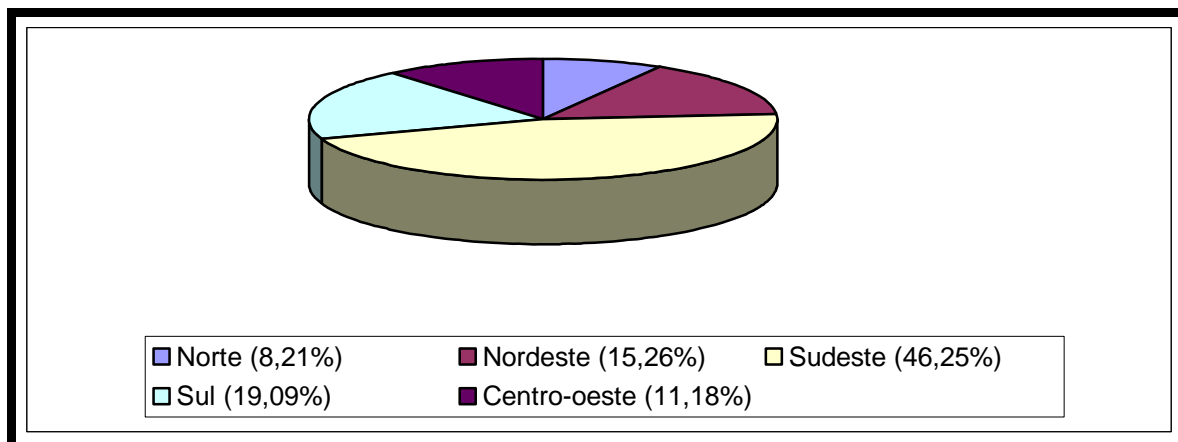


Figura 2. Consumo de óleo lubrificante em regiões brasileiras. Fonte: SINDICOM, 2010

A análise da Figura 2 através da ótica da distribuição da demanda de OL por região constata uma maior concentração do consumo nacional na região sudeste (46,25%), seguido do centro sul (19,09%), nordeste (15,26%), centro-oeste (11,18%) e norte (8,21%). O alto consumo da região sudeste deve-se ao grande centro industrial que é o estado de São Paulo (SINDICOM, 2010).

#### 1.2.6. Óleo lubrificante usado e/ou contaminado (OLUC)

Os OLs por melhor formulação que apresente, com o tempo de uso, ocorrem uma deterioração parcial gerando um resíduo, conhecido por óleo lubrificante usado ou contaminado (OLUC). Este possui na sua composição moléculas inalteradas de óleo básico, que podem ser recuperadas, produtos resultantes da deterioração parcial do próprio óleo básico (como ácidos orgânicos e cetonas), compostos aromáticos polinucleares, resinas, lacas, restos dos aditivos adicionados e contaminantes diversos (TRISTÃO et al., 2008).

Dentre os contaminantes são comumente encontrados os compostos leves, como água, gasolina e diesel; os solúveis que incluem os aditivos previamente incorporados ao óleo básico, no processo de formulação de lubrificantes e ainda não foram

consumidos; e os compostos insolúveis, como os hidrocarbonetos oxidados, partículas metálicas (chumbo, cromo, bário e cádmio), sílica, fuligem, poeira e óxido (CARRETEIRO e BELMIRO, 2006). O OLUC pode apresentar ainda como contaminantes, alguns solventes ascaréis (bifenis policlorados) que, por vezes, são contrários ao decoro, adicionados ao óleo usado, afetando as características do básico original e aumentando a insalubridade inerente aos óleos e seus contaminantes (CERQUEIRA, 2004). A Tabela 2 apresenta um resumo dos principais contaminantes presentes em óleo lubrificante usado e/contaminado.

Tabela 2. Principais contaminantes presentes em OLUC e concentrações estimadas.

Contaminantes	Origem	Faixa de concentração (ppm)
Bário	Aditivos detergentes	<100
Cálcio	Aditivos detergentes	1000-3000
Magnésio	Aditivos detergentes	100-500
Zinco	Aditivos antidesgastantes	500-1000
Ferro	Degradação do motor	100-500
Cromo	Degradação do motor	traços
Níquel	Degradação do motor	traços
Alumínio	Mancal	traços
Cobre	Mancal	traços
Estanho	Mancal	traços
Silício	Aditivos / Água	50 - 100
Enxofre	Óleo básico / produto da combustão	0,2 – 1%
Água	Combustão	5 – 10%
Hidrocarbonetos leves	Combustão	5 – 10%
HPA	Combustão incompleta	< 1000

Fonte: CONCAWE, 1996

Os processos de deterioração e consequente contaminação do OL podem ser provenientes do desgaste do motor, em razão do cisalhamento; térmica, em virtude do atrito e temperatura; química, devido à oxidação, à catálise e à emulsão; e elétrica, em virtude da passagem de corrente ou uma descarga elétrica ou campos magnéticos

(CARRETEIRO e BELMIRO, 2006). Com a deterioração do OL, há acúmulo de contaminantes, os quais alteram suas propriedades físico-químicas, restringindo seu desempenho e tornando-o impróprio para o uso. Nesse estado, o OLUC deve ser trocado e conduzido à reciclagem, pois uma vez disposto na natureza de forma inadequada, compromete o solo, a água e o ar por serem constituídos por substâncias químicas tais como, metais, gasolina, diesel e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS).

Uma vez contaminado o solo, o OLUC pode ser levado pela chuva até alcançar os corpos hídricos (Figura 3). A presença dos HPAs aos OLUCs é extremamente preocupante, por apresentar grande complexidade estrutural, baixa solubilidade em água e tendência de sorção na fase sólida do solo. Além disso, por não serem biodegradável, podem levar dezenas de anos para desaparecer do ambiente, causando danos a saúde do homem e dos ecossistemas, principalmente quando integrados com outros poluentes comuns nas áreas mais urbanizadas (NETTO et al., 2000; ADÃO, 2004).



Figura 3. Contaminação do solo e corpo hídrico por OLUC. Fonte: MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (2009)



Assim, alguns hidrocarbonetos saturados, por sua vez, podem recobrir as partículas do solo com uma película impermeável, destruindo o húmus vegetal e impossibilitando a passagem de oxigênio, o que dificulta o intercâmbio com atmosfera e o processo de aeração do solo, e tem como consequência a infertilidade da área. Uma vez atingindo o lençol freático, inutiliza os poços da região de entorno (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2009).

Já em corpos hídricos, os OLUCs, principalmente os automotivos, dificultam a passagem de ar e de luz, podendo causar intoxicação da biota aquática pela presença de compostos aromáticos como tolueno, benzeno e xileno (Figura 4). E quando jogados nas redes coletoras de esgoto, esses irão comprometer todo o funcionamento das estações de tratamento de água residuária, podendo em alguns casos causar a interrupção desse serviço (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2009).



Figura 4. Intoxicação da biota aquática pela presença de compostos aromáticos. Fonte: LUBES em Foco, 2010

Ao queimar o OLUC de forma indiscriminada, sem um prévio tratamento de desmetalização, podem ser geradas emissões significativas de óxidos metálicos e outros gases tóxicos, como dioxinas e óxido de enxofre, em fortes concentrações de poluentes num raio de 2 km. Além disso, são geradas grandes quantidades de particulados, que precipitam e “colam” na pele, penetrando no sistema respiratório das pessoas (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2009).

A troca de óleo usado de forma inadequada, principalmente os OLs automobilísticos, representa uma grande fonte de contaminação, pois o descarte dos resíduos gerados durante a troca, armazenamento e movimento do mesmo está entre os principais geradores de OLUC. Estes, após a troca, devem ser conduzidos ao tratamento com a finalidade de serem reciclados para retornarem ao mercado lubrificante (Figura 5).

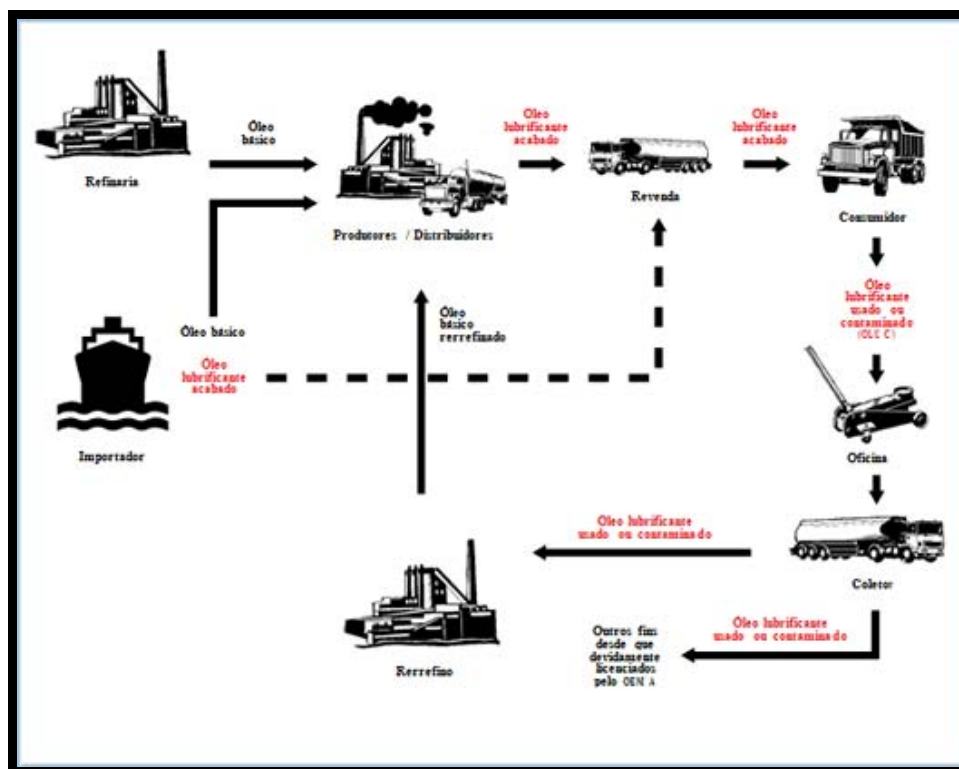


Figura 5. Destino correto do OLUC. Fonte: (Rizzo et al., 2006)

O objetivo da reciclagem do OLUC é remover os compostos originários da degradação termo-oxidativa do óleo e de contaminantes presentes em baixas proporções através de processos físico e/ou químico, de modo a torná-lo reutilizável à sua aplicação inicial ou insumo para outros processos de produção. O grau de degradação e contaminação de certos tipos de lubrificantes pode limitar a reciclagem dos mesmos. Por exemplo, os óleos usados automotivos que apresentam elevado nível de contaminantes e aditivos em sua composição não são passíveis de reciclagem, portanto devem ser conduzidos ao processo de rerrefino. Este processo consiste em uma sequência de tratamento do óleo usado para remoção de todos os contaminantes presentes (CARRETEIRO e BELMIRO, 2006).

#### 1.2.6.1. Aspectos econômicos, ambientais e regulatórios sobre OLUC

O OLUC é um derivado de petróleo que possui um valor agregado devido à possibilidade de sofrer um processo de rerrefino com obtenção do óleo mineral básico. Segundo o Sindicato Nacional da Indústria do Rerrefino de Óleos Minerais (SINDIRREFINO), o rerrefino é uma atividade sustentável que permite uma redução na importação do óleo básico como matéria-prima na produção de óleo lubrificante, sendo comprado por rerrefinadores. Esta atividade impossibilita que esta fração seja destinada de forma inadequada ao meio ambiente. Em termos industriais, recentemente, é possível visualizar a “Logística Reversa” corroborando com os interesses econômicos, à competitividade, à responsabilidade social, à ética e a infra-estrutura nacional (COSTA, 2006).

As empresas rerrefinadoras são devidamente cadastradas na Agência Nacional do Petróleo (ANP), conforme exigências das Portarias 125, 127 e 128 da Agência Nacional do Petróleo. O Brasil já contou com a participação de cerca de 50 pequenas usinas de reciclagem para o re-refino do óleo usado (SINDIRREFINO, 2010).

Nesse contexto, até 1987 havia um incentivo para as empresas de rerrefinamento de OLUC, pois sobre o valor do óleo básico incidiam impostos que alcançavam o somatório de US\$ 1.000/m<sup>3</sup> de óleo básico, que subsidiavam a coleta dos óleos lubrificantes usados em garagem de troca de óleo e postos de gasolinas. A partir do mesmo ano, com a queda do imposto único e o aumento dos custos ambientais, grande parte destas empresas encerrou as suas atividades (SINDIRREFINO, 2010).

Hoje, tem instalado no Brasil um pouco mais de 10 empresas de rerrefino de óleo e 34 centros de coleta em funcionamento e cadastradas na ANP, com autorização para realizar as coletas nas principais regiões do Sul, Sudeste, Centro Oeste e em várias cidades dos estados que compõem a região Norte (Tabela 3). Essas empresas somam aproximadamente 550 veículos para coleta (SINDIRREFINO, 2010).

Embora existam regulamentações quanto aos gerenciamentos de OLUC, os processos de coleta e rerrefino no Brasil ainda são precários em vários estados, inclusive em alguns estados das regiões Norte e Nordeste. Nessas regiões, em particular na região Norte, o óleo usado ainda é queimado indiscriminadamente em substituição ao óleo combustível ou conduzido às aplicações ilegais, ou ainda despejadas diretamente no meio ambiente sem tratamento e fiscalização (TÁVORA e QUELHAS, 2003; CERQUEIRA, 2004).

Tabela 3. Centros de coleta e empresas de rerrefino por regiões.

Regiões	Centros de coleta	Empresas de rerrefino
Norte	02	02
Nordeste	04	02
Centro-oeste	05	00
Sudeste	15	12
Sul	08	03
Total	34	19*

Fonte: SINDIRREFINO (2010), Agência Nacional do Petróleo (2008)

\*Total de empresas de rerrefino cadastradas na ANP e não cadastradas.

A Figura 6 apresenta a quantidade de municípios que possuem a coleta de acordo com a região, de forma a totalizar 77% dos municípios brasileiros. Para que seja cumprida a legislação é necessário que este processo de coleta ocorra em todo território nacional (SINDIRREFINO, 2010).

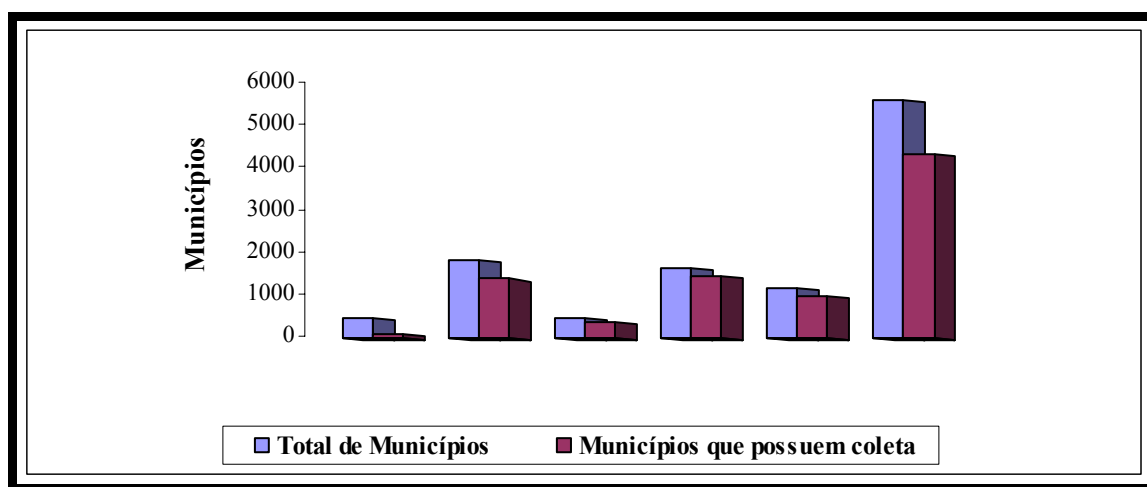


Figura 6. A relação de total de municípios brasileiros e aqueles que recebem coleta.

Fonte: (SINDIRREFINO, 2010)

Hoje, o Brasil consome por ano cerca de 1 milhão de m<sup>3</sup> de OL e gera aproximadamente 350.000 m<sup>3</sup> de OLUC. O país rerrefina um pouco acima de 100.000 m<sup>3</sup> de OLUC. Desse óleo Lubrificante Usado ou Contaminado que resta, parte é despejado em sistema de esgoto ou depositado diretamente no solo e a outra parte é utilizada como fonte energética, processo que colabora para poluição atmosférica. No

entanto, em torno de 18 % de todo o óleo básico consumido no Brasil é proveniente do rerrefino (Compromisso Empresarial para Reciclagem, 2008).

Tendo em vista que o destino inadequado de OLUC pode resultar em diversos impactos ambientais pela presença de diferentes contaminantes orgânicos e inorgânicos em sua composição, nas últimas décadas alguns países passaram a elaborar legislações sobre a gestão de OLUC (TÁVORA e QUELHAS, 2003; CERQUEIRA, 2004).

No Brasil, alguns atos legais foram determinados proibindo o destino de OLUC para fins que não o rerrefino, os quais antecederam a resolução nº 09 de 1993 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Este, por sua vez, determinou a divulgação de informações sobre a reciclabilidade do OLUC nos rótulos das embalagens e nos postos de venda, porém admitia a queima controlada do OLUC contrariando os interesses do país.

Esta resolução foi revisada por um Grupo de Trabalho e sofreu profundas alterações, tornando vigente a Resolução CONAMA 362/2005, que definiu como devem ser realizados o armazenamento, o recolhimento e o destino do OLUC, e ainda incluiu punição severa ao descumprimento das normas relativas ao gerenciamento. De acordo com esta resolução, o descarte do OLUC em solos, subsolos, águas interiores e nos sistemas de esgoto ou evacuação de águas residuais é proibido, devendo todo o óleo lubrificante usado e/ou contaminado ser destinado à reciclagem por meio do processo de rerrefino, com exceção daqueles definidos no artigo 10º (CONAMA, 2005).

Além disso, de acordo com esta resolução, os processos de incineração e de combustão não foram considerados formas de reciclagem ou de destino adequado do OLUC, atribuindo responsabilidade ao órgão ambiental competente licenciar ou não, qualquer outro processo tecnológico que não seja o rerrefino (CONAMA, 2005). A resolução adotou o “Princípio Poluidor Pagador”, responsabilizando o produtor e importador de OL pela coleta efetiva e destino final, assim como os custos envolvidos (CONAMA, 2005; SINDIRREFINO, 2010). O Ministério do Meio Ambiente e o Ministério de Minas e Energia devem estabelecer, ao menos anualmente, o percentual mínimo de coleta de OLUC, não inferior a 30%, em relação ao óleo lubrificante acabado comercializado. No entanto, esse percentual varia de acordo com a região (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2009).

Entre 2001 e 2007, o percentual de coleta anual exigido permaneceu em 30% até a edição da Portaria Interministerial MMA/MME Nº 464/2007 – de 29.08.2007, que estabeleceu metas regionais progressivas anuais, conforme a Figura 7.

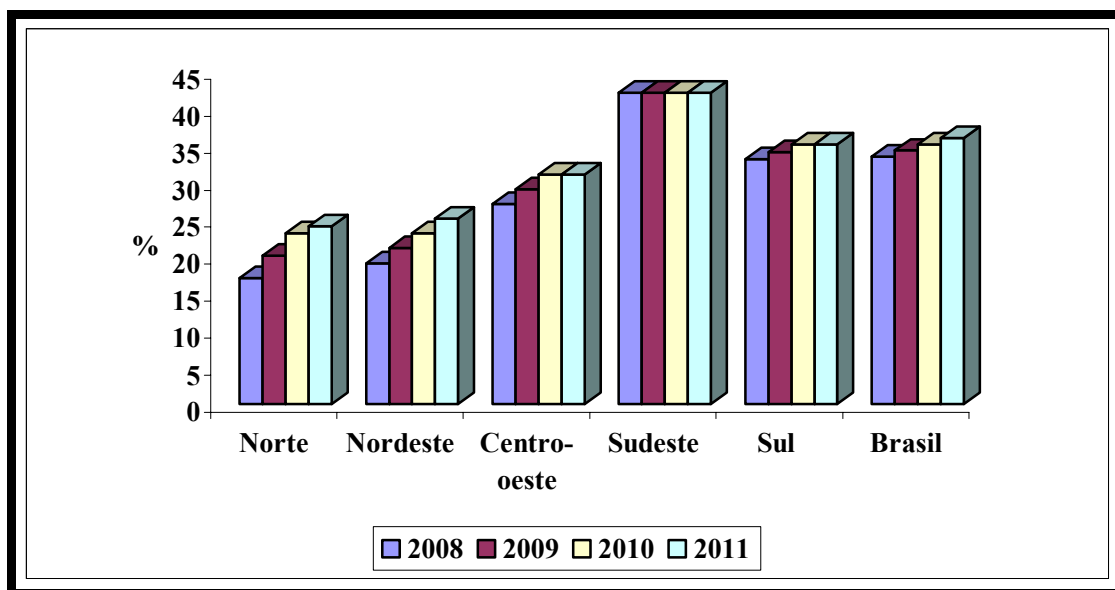


Figura 7. Percentagem das metas regionais progressivas anuais de coleta de OLUC.  
Fonte: (SINDIRREFINO, 2010)

Com a severa legislação ambiental e influência da sociedade e das organizações não-governamentais, está se elevando a preocupação por parte das empresas em adotar um maior percentual de OLUC conduzido à reciclagem (SINDIRREFINO, 2010)

A Associação Brasileira de Normas Técnicas classifica o OLUC como “Resíduo Perigoso – Classe I”, com a característica de periculosidade, tóxico (ABNT, 2004). O OLUC, por não ser biodegradável, leva até dezenas de anos para desaparecer do ambiente, quando descartado de forma inadequada. Vale ressaltar como agravantes que cada litro de óleo forma um filme de espessura que contamina 1 milhão de litros de água, que a combustão de OLUC gera gases nocivos, e que o solo contaminado por OLUC contém os metais pesados intrínsecos aos hidrocarbonetos, tais como chumbo, cádmio, cromo, mercúrio e níquel (SINDIRREFINO, 2010).

A reciclagem do OLUC consiste de processos físicos e/ou químicos, envolvendo uma estrutura tecnológica, de modo a obter as frações inalteradas do OLUC em óleo mineral básico (CONAMA, 2005; CARRETEIRO e BELMIRO, 2006). A finalidade principal da reciclagem de OL, segundo Cerqueira (2004), é remover os aditivos, compostos originários da degradação termo-oxidativa do OL e dos contaminantes que foram incorporados ao mesmo. Dentre os processos físicos empregados estão incluídas a sedimentação, filtração, centrifugação, desgaseificação, destilação, desidratação e

extração por solvente. Dentro dos processos químicos empregam-se técnicas como acidulação, neutralização e hidroacabamentos.

Ao retirar estes contaminantes pelo processo clássico, podem ser geradas grandes quantidades de borra ácida. Atualmente existem processos mais modernos que incluem etapas utilizando evaporadores especiais, sendo bem específicos de acordo com a origem do OLUC, gerando resíduos que podem ser usados como impermeabilizantes, revestimentos plásticos e asfálticos (Compromisso empresarial para reciclagem, 2008).

Cabe salientar que o petróleo utilizado para a produção de OL possui 12 a 16% de fração lubrificante, enquanto que os OLUCs possuem de 70 a 75% de óleo básico de alta qualidade capaz de retornar à cadeia produtiva por ilimitadas vezes (TRISTÃO et al., 2008).

Em 2008, o setor de OL comercializou cerca de 1 milhão de m<sup>3</sup> de OLUC, porém, em torno de 600 mil m<sup>3</sup> não foram contabilizados durante o processo de coleta de OLUC monitoradas pelos órgãos ambientais. Isso sugere que este volume foi reutilizado ou descartado sem o devido tratamento, possibilitando a liberação de substâncias altamente perigosas à saúde do homem e dos ecossistemas, tais como chumbo, enxofre e cádmio (SINDIRREFINO, 2010).

Segundo o Ministério do Meio Ambiente, o aspecto financeiro é o maior responsável por este comércio clandestino, pois o valor pago durante a coleta fica em torno de R\$ 0,20 por litro de óleo, enquanto os compradores do comércio ilegal pagam até R\$ 0,70 por litro. Existe uma percentagem do OLUC com destino ainda mais criminoso, passando por uma filtragem simples com adição de corante, retornando aos motores dos veículos carregados de toda a contaminação e sem atender as especificações dos órgãos responsáveis.

### 1.2.7. Biorremediação

#### 1.2.7.1. Aspectos relevantes para a biorremediação de solos contaminados

A biorremediação é uma técnica que se beneficia da atividade microbiana, normalmente plantas ou microrganismos, para a remoção ou redução de concentrações de poluentes no meio ambiente (GAYLARDE et al., 2005).

O solo é um recurso natural formado pelas ações de agentes físicos, químicos e biológicos ao longo de milhares de anos (PEDRON et al., 2004). Através dele ocorre o

controle do fluxo de substâncias entre a atmosfera, litosfera e hidrosfera, permitindo a interação entre os ecossistemas (LAL, 2000). O solo é um meio complexo e heterogêneo, produto da alteração dos rearranjos da estrutura do material de origem (LEPSCH, 2002). A estrutura do solo é constituída por uma mistura de gases, líquidos, sólidos e microrganismos, com características e funções relevantes para a vida do homem (SPARKS, 2003).

O solo, a água e o ar durante muito tempo foram vistos como depósitos infinitos para todo tipo de resíduo gerado pela sociedade, alterando as características naturais desses elementos, o que dificulta as interações existentes entre eles. Hoje existe em quase todo o mundo extensas áreas contaminadas com diferentes tipos de poluentes (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

A contaminação existe em função das inúmeras atividades antrópicas, sobretudo aquelas desenvolvidas pelas indústrias petrolíferas (JACQUES et al., 2007). Os compostos de origem do petróleo no solo tendem a ser adsorvidos nas camadas superiores, nos poros de minerais e matéria orgânica superficial, podendo constituir uma fonte potencial de contaminação de águas subterrâneas, oferecendo riscos para os mananciais hídricos, fauna e flora aquática e, conseqüentemente para a saúde da população (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000; VANDERMEER e DAUGULIS, 2007).

Em decorrência dos crescentes casos de contaminação no solo e águas subterrâneas foi necessário buscar alternativas para minimizar os impactos causados pelos agentes contaminantes. Estas são tecnologias remediadoras que envolvem processos físicos, químicos e biológicos, de modo atuar na retenção, imobilização, remoção ou destruição destes contaminantes (KHAN et al., 2004). Essas tecnologias têm sido estudadas e discutidas por vários autores na literatura, conforme apresenta a Tabela 4.

Nas últimas duas décadas, a técnica de biorremediação começou a ser mais utilizada com a finalidade de tratar solos e águas subterrâneas, por se tratar de uma tecnologia inovadora, viável e eficaz na remediação de ambientes contaminados com compostos orgânicos de difícil degradação (OLIVEIRA et al., 2007). Ela pode ser considerada uma tecnologia atrativa por conduzir a biotransformação parcial ou completa de muitos contaminantes orgânicos à biomassa microbiana e ao produto final inócuo estável (HARITASH e KAUSHIK, 2009). Essa tecnologia também tem sido considerada ambientalmente mais segura, menos onerosa e agressiva, e mais adequada



para manter o equilíbrio ecológico quando comparada aos processos de tratamentos físico-químicos (SEMPLÉ et al., 2001; GAYLARDE et al., 2005).

Tabela 4. Processos, tecnologias e autores relacionados às alternativas remediadoras.

Processos	Tecnologias	Referências	
Físico-Químicos	Disposição em aterros	EPA(1994)	
	Extração de vapor do solo		
	Separação térmica		
	Lavagem do solo		
	Incineração		
	Coprocessamento		UNEP (2005)
	Barreiras reativas in situ		CETESB (2001)
	Zonas reativas in situ		
	Faturamento hidráulico e pneumático		
	Bombeamento e Tratamento		
Biológicos	Atenuação natural	PEREIRA (2008)	
	Barreiras biológicas	CETESB (2001)	
	Biorremediação	Biopilhas	PALA (2002); BERGER (2005); SEABRA (2005); VAZ (2010)
		Biorreatores	PALA (2002); SEABRA (2005)
	Landfarming	SILVA (2009)	
	Fitorremediação	AGUIAR (2006)	

Fontes: EPA (1994); CETESB (2001); Pala (2002); Berger, Seabra e UNEP (2005); Aguiar (2006); Pereira (2008); Silva (2009); Vaz (2010).

A biorremediação utiliza da capacidade dos organismos vivos presentes no solo - bactérias, fungos, algas, vírus e protozoários - em colonizar com sucesso vários nichos ecológicos (OLIVEIRA et al., 2008). Há predominância de centenas de espécie de fungos e uma grande diversidade de bactérias com populações que variam  $10^7$  a  $10^8$  células por grama de solo (PEPPER et al., 2006). Segundo Canhos et al (1998), os

microrganismos do solo desempenham funções essenciais para o bom funcionamento e a manutenção dos ecossistemas, participando da ciclagem de nutrientes e fluxo de energia, da decomposição da matéria orgânica, da formação e estruturação do solo e da formação de gases componentes da atmosfera terrestre.

Dentre a população microbiana, as bactérias estão envolvidas em quase todas as biotransformações que ocorrem no solo, incluindo o metabolismo de compostos orgânicos e inorgânicos. De acordo com a sua prevalência e diversidade sobre os demais microrganismos, também como sua elevada taxa de crescimento e adaptabilidade, esses microrganismos apresentam uma capacidade quase ilimitada na degradação de compostos naturais, além de xenobióticos recalcitrante. Por outro lado, os fungos filamentosos e leveduras são importantes componentes na degradação de compostos complexos e em processos de decomposição de material orgânico sob condições de estresse ambiental, como, por exemplo, pH ácido, que comumente limita o crescimento bacteriano (PEPPER et al., 2006). Em muitos casos, os fungos tornam-se mais eficientes que as bactérias nos processos de degradação de contaminantes, por obter uma capacidade de sobreviver sob condições ambientais adversas (LEMOS et al., 2008).

Os microrganismos na degradação de compostos químicos xenobióticos no solo envolvem a utilização de sistemas enzimáticos através de duas estratégias diferentes de metabolização: catabolismo e co-metabolismo. Quando o composto xenobiótico é degradado por estratégia catabolítica, ele percorre todos os passos catalíticos de uma determinada via catabólica enzimática de forma a ser degradado em moléculas menores até total obtenção de energia. Sendo assim, há produção de novas células microbianas a partir do substrato que foi mineralizado. Durante o co-metabolismo, o xenobiótico é degradado de forma parcial, resultando em produtos intermediários, não alcançando a degradação completa do composto. No entanto, estes produtos intermediários do co-metabolismo podem servir de substrato para transformações enzimáticas de outros grupos de microrganismos, viabilizando a degradação completa do xenobiótico (GAYLARDE et AL., 2005; PEPPER et al., 2006). Existem ainda os metabólitos residuais da transformação inicial que podem ser mantidos no reservatório de carbono no solo ou incorporados à biomassa, quando estes completarem seu ciclo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Todo o processo catalítico descrito neste parágrafo está representado na Figura 8.

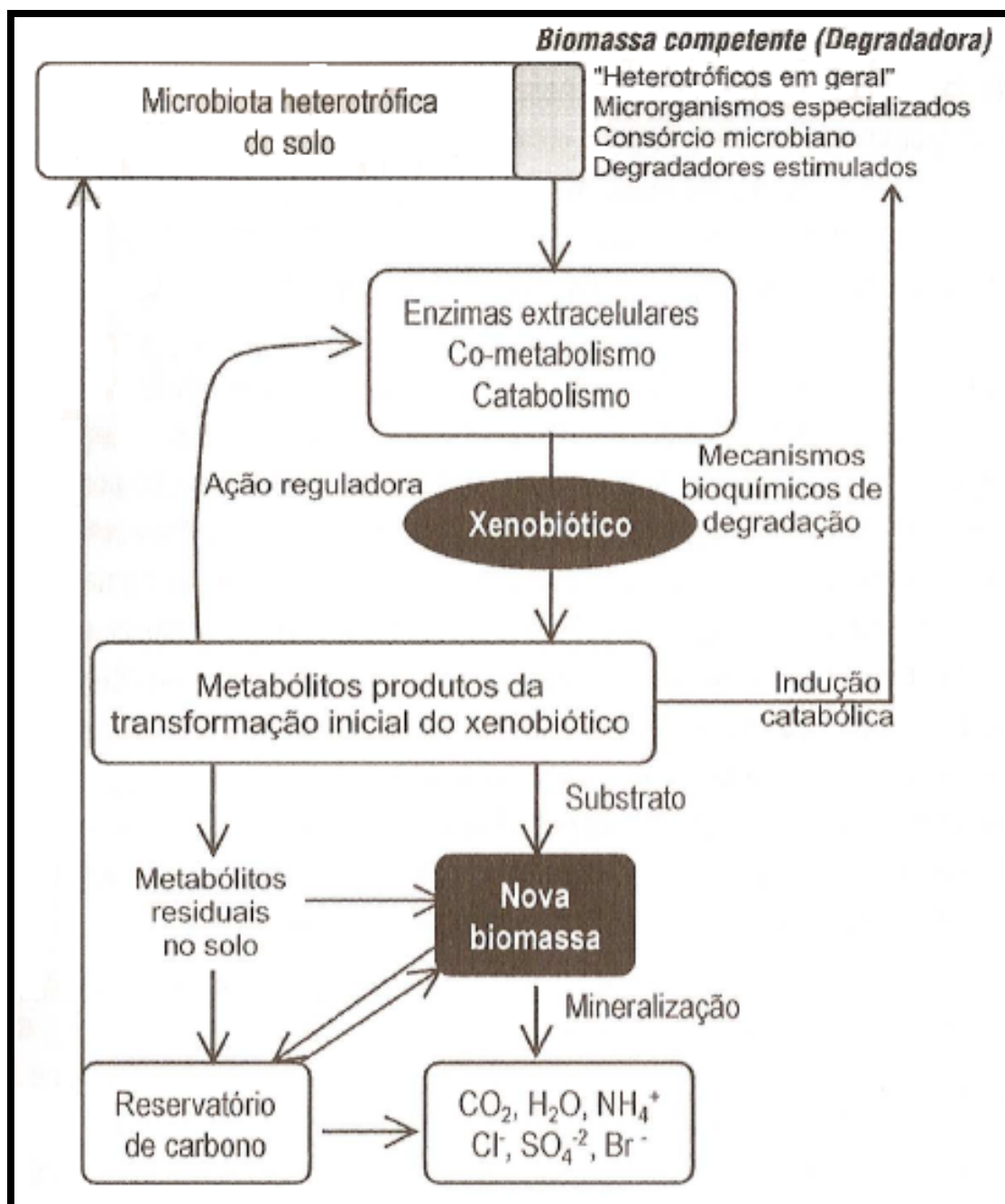


Figura 8. Atividade da biomassa em relação à transformação de xenobióticos no solo.

Fonte: (Moreira e Siqueira, 2006)

Além dos sistemas enzimáticos já citados, catabolismo e co-metabolismo, existem outras transformações sofridas pelos xenobióticos no solo para obtenção de reações bioquímicas que envolvem destoxicação, degradação, mineralização, conjugação, ativação e mudança de espectro de toxicidade de xenobiótico (Tabela 5) (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Tabela 5. Processos de transformações e seus respectivos princípios.

Processos de transformações		Princípios
Destoxificação		Converte uma molécula tóxica a um metabólito ou produto menos tóxico ou atóxico
Degradação		Altera a estrutura química por microrganismos, plantas ou enzimas, transformando uma substância tóxica em outra mais simples, mas não necessariamente menos tóxicas
Degradação	Fotoquímicos	Quebra da molécula pela absorção de luz solar. Depende da estrutura química e da sensibilidade do composto à exposição à luz solar
	Microbianos	Degradação de xenobióticos por microrganismos, também denominada biodegradação ou degradação biótica. É muito complexa, influenciada por inúmeros fatores.
	Químicos	Modifica a estrutura dos compostos xenobióticos através de alterações químicas envolvendo reações de hidrólise ou de oxi-redução. É uma transformação abiótica, controlada essencialmente pelos fatores ambientais.
	Metabólicos	Transformação química após a absorção pelas plantas ou animais. A molécula precisa ser absorvida pelo organismo. Geralmente, apenas moléculas pequenas e solúveis sofrem tal tipo de transformação.
Mineralização		Degradação completa da molécula a formas inorgânicas como $\text{CO}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{NH}_3$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{PO}_4^{-3}$ , $\text{SO}_4^{-2}$ , $\text{Br}^-$ e outros.
Conjugação		Ocorre adição de metabólicos microbianos ou outros materiais do solo, como substâncias húmicas e argilas, geralmente tornando os compostos menos tóxicos e mais recalcitrantes.
Ativação		Converte bioticamente o produto não tóxico em outro com ação biocida.
Mudança de espectro de toxicidades		Transforma um produto tóxico a um grupo de organismos-alvo, gerando substâncias tóxicas para organismos diferentes.

Fonte: Moreira e Siqueira, 2006

### 1.2.7.2. Estratégias, aplicações e tecnologias utilizadas na técnica de biorremediação.

A biorremediação consiste em uma técnica que engloba tecnologias bastante versáteis (Figura 9) e, em alguns casos, estratégias diferentes visando à otimização do processo de degradação dos poluentes (DUA et al., 2002; DONLON e BAUDER, 2008). As tecnologias de biorremediação podem ser aplicadas sem que haja a necessidade de remoção ou transporte do solo contaminado (*in situ*) que inclui “bioventing”, “bioparting”, bioaumento e atenuação natural (SEPÚLVEDA e TREJO, 2002; SPARKS, 2003). Segundo Rizzo et al., (2006), esses processos são fundamentados no bioestímulo natural do contaminante na subsuperfície do solo através da adição de nutrientes, oxigênio e, em alguns casos, bioaumento (adição de microrganismos). Existem, ainda, tecnologias de biorremediação que requerem primeiramente a remoção do material contaminado (*ex situ*) por escavação, drenagem ou qualquer outro processo, para posterior tratamento do mesmo, que pode ser no próprio local contaminado (*on-situ*) - tecnologia landfarming - ou fora do local (*off-situ*) - biopilhas estáticas e biorreatores (BOOPATHY, 2000; SPARKS, 2003).

A escolha da aplicabilidade, *ex situ* ou *in situ*, depende da tecnologia a ser empregada, podendo ter custos mais elevados devido aos gastos com transporte e disposição final do solo removido (SEPÚLVEDA e TREJO, 2002). No entanto, em alguns casos, a remoção pode ser necessária, sobretudo pela natureza e concentração do contaminante, e possibilidade de contaminação de pessoas e do ambiente ao redor durante o processo de biorremediação (JACQUES et al., 2007). As aplicações *ex situ* são comumente mais investigadas devido à facilidade de serem avaliadas em escalas menores, todavia, são as aplicações *in situ* as mais adotadas em tratamentos de recuperação de áreas impactadas, por ser de baixo custo, apresentar menor risco de exposição ao contaminante e melhor aplicabilidade nos casos reais (USEPA, 2007). A decisão normalmente cabe ao responsável pela remediação, que atua no contexto financeiro e se baseia em recomendações de uma equipe de consultores. Estes especialistas apresentam as técnicas disponíveis para solucionar a contaminação em um curto período de tempo e da maneira mais econômica, sob uma supervisão de uma autoridade, que tende a ser neutra e sujeita às questões políticas (STIER, 2004).

<b>Tecnologia</b>	<b>Princípio</b>	<b>Aplicabilidade</b>
<b>Bioventing (in situ)</b>	<b>Introduzir ar e nutrientes na zona insaturada do solo de modo estimular a atividade biodegradadora dos microrganismos.</b>	<b>Compostos orgânicos biodegradáveis semivoláteis e não voláteis; Compostos orgânicos semivoláteis e não voláteis.</b>
<b>Biosparging (in situ)</b>	<b>Semelhante ao Bioventing, porém com duas diferenças: o ar é introduzido na zona saturada (lençol freático) com o objetivo de suprir as necessidades de oxigênio e transferir os poluentes voláteis para a zona insaturada para a degradação dos microrganismos.</b>	
<b>Air sparging (in situ)</b>	<b>Injetar ar na zona saturada do solo para volatilização dos contaminantes e remoção dos mesmos em sistemas coletor de gases.</b>	<b>Compostos orgânicos voláteis, dissolvidos (VOCs); solventes clorados e hidrocarbonetos do petróleo</b>
<b>Atenuação natural monitorada (in situ)</b>	<b>Consistir na degradação intrínseca ou natural pelos microrganismos autóctones do solo, sendo apenas monitorada e avaliada periodicamente.</b>	<b>Áreas contaminadas por vazamentos de tanques subterrâneos; benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno - BTEX</b>
<b>Fitorremediação (in situ)</b>	<b>Empregar plantas para remover, transformar ou mobilizar os contaminantes.</b>	<b>Benzeno, tolueno, xileno, etilbenzeno e xileno, etilbenzeno, HPA, metais, pesticidas e herbicidas</b>
<b>Landfarming (ex situ)</b>	<b>Aplicação e incorporação dos contaminantes na superfície de um solo, onde se encontra grande parte dos microrganismos. O solo é arado e condições físico-químicas (água, nutriente e aeração) são ajustadas.</b>	<b>Petróleo e seus derivados</b>
<b>Compostagem (ex situ)</b>	<b>Usar microrganismos aeróbios termofílicos para degradar o material contaminado através do empilhamento estático ou aerado.</b>	<b>Gasolina, HPA, pentaclorofenol, hidrocarbonetos totais (HTP).</b>
<b>Biopilhas (ex situ)</b>	<b>Versão mais refinada do Landfarming que permite controlar a perda física dos contaminantes por lixiviação e volatilização.</b>	<b>Superfícies contaminadas em hidrocarbonetos de petróleo.</b>
<b>Biorreatores (ex situ)</b>	<b>Consiste em biodegradar o solo contaminado (fase sólida) e/ou fase aquosa (lama) em um sistema de contenção (reator) contendo vários aparatos com agitação e aeração para a atividade microbiana.</b>	<b>Hidrocarbonetos de petróleo; águas bombeadas de plumas de contaminação.</b>

Figura 9. Tecnologias empregadas no processo de biorremediação atualmente. Fontes: Boopathy, Vidali, Accioly e Siqueira (2000); Sepúlveda e Trejo (2002)

As principais vantagens da biorremediação *in situ* são: a não necessidade de remoção do solo ou da água subterrânea; custo-benefício superior aos tratamentos convencionais; destruição efetiva e não apenas remoção ou imobilização dos contaminantes (solução permanente). A biorremediação *ex situ* tem a vantagem de permitir maior intervenção e controle das variáveis de processo, ser mais rápida e menos dependente de alta condutividade hidráulica. Entretanto, tem como desvantagem a necessidade de escavação/ remoção do solo e/ou água (SEPÚLVEDA e TREJO, 2002; SPARKS, 2003).

A eficiência da biorremediação depende de um conjunto de fatores, tais como: condições ambientais (pH, temperatura, teor de umidade, nutrientes e oxigênio); biodegradabilidade do contaminante (propriedades físico-químicas, distribuição, contenção); disponibilidade de nutrientes; propriedades físico-químicas do substrato; concentração da biomassa e diversidade populacional da biota (BOOPATHY, 2000; PEPPER et al., 2006). Dentre esses, as condições ambientais (taxa nutricional e percentagem de oxigênio), a biodegradabilidade do contaminante, concentração de biomassa e diversidade populacional são fatores que influenciam fortemente no processo de biodegradação. Todavia, algumas estratégias de biorremediação foram desenvolvidas a fim de aperfeiçoar o processo de degradação dos contaminantes. Hoje, as mais usadas são: adição de surfactantes, de microrganismos modificados geneticamente, de material estruturante, bioestímulo e bioaumento (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2001; RIZZO et al., 2006).

A adição de surfactantes consiste em promover a metabolização dos contaminantes, principalmente de hidrocarbonetos, facilitando o transporte dos mesmos para o interior da célula ou diminuindo as interações superficiais com fração do solo (argila). Os surfactantes são constituídos por duas porções, uma hidrofóbica e outra hidrofílica, o que aumenta a solubilidade dos compostos presentes nos hidrocarbonetos, tornando-os disponíveis aos microrganismos e facilitando a biodegradação dos mesmos (PIEPER e REINEKE, 2000; RIZZO et al., 2008).

Os organismos geneticamente modificados (OGMs) são organismos cujo seu material genético foi modificado em laboratório através de técnicas avançadas, que permitem alterar sua estrutura genética pela introdução de um gene modificado ou de um gene pertencente a uma outra variedade ou espécie, obtendo características específicas (SUZUKI, 2006). O uso de organismos geneticamente modificados tem por objetivo aumentar a taxa de degradação dos contaminantes, uma das principais limitações do processo de biorremediação (PAUL et al., 2005). O emprego OGMs consiste na troca de material genético entre microrganismos.

Muitas rotas catabólicas de compostos complexos estão localizadas no genoma plasmidial e os processos de intercâmbio genético ocorrem através da transferência de plasmídeos (que pode ocorrer entre bactérias de uma espécie ou mesmo espécies diferentes), favorecendo a disseminação das enzimas relacionadas à biodegradação dos compostos recalcitrante (GAYLARDE et al., 2005). No entanto, esta estratégia deve ser bem avaliada, uma vez que o conhecimento sobre os impactos da introdução destes organismos em áreas contaminadas é pouco conhecido (RIZZO et al., 2006).

A adição de material estruturante tem por finalidade reduzir a densidade do solo, aumentando a sua porosidade e facilitando a difusão de oxigênio entre as partículas sólidas, conseqüentemente, pode ocorrer alteração na capacidade de retenção de água do solo. Esses fatores aumentam a aeração do sistema solo-contaminante durante o processo de biorremediação. Dentre os materiais estruturantes podem-se empregar os materiais de origem orgânica ou inorgânica. Os materiais de origem orgânica incluem resíduos sólidos como casca de coco, palha, cavaco de madeira, serragem e farelo de trigo, sendo esses os mais citados na literatura em processos de biorremediação de solo contaminado com petróleo. Por outro lado, os materiais de origem inorgânica utilizados são, a argila calcinada, a vermiculita, areia, perlita e cascalho (RIZZO et al., 2006).

O bioestímulo consiste de fontes de nutrientes adicionais para aumentar a atividade microbiana, tornando o processo eficaz. Geralmente, os microrganismos necessitam de fontes de nutrientes inorgânicos em seus processos fisiológicos e bioquímicos. Para que a mineração ocorra é necessário que as relações nutricionais estejam dentro de uma faixa ótima (RIZZO et al., 2006). Mesmo em situações em que os microrganismos não tenham como alvo os hidrocarbonetos como fonte de carbono, esses serão biodegradados mais rapidamente quando comparado ao processo de degradação natural, devido à elevação da população de microrganismos causada pelo aumento dos níveis de nutrientes (SARKAR et al., 2005). A incorporação de nutrientes pode ser realizada na forma de fertilizantes orgânicos (biossólidos) e/ou inorgânicos (nitrogênio, fósforo e potássio), e oxigênio através da aeração do meio e/ou da adição de agentes oxidantes tais como peróxido de hidrogênio (SARKAR et al., 2005; RIZZO et al., 2006).

O bioaumento ou bioenriquecimento, como denominado por alguns autores, consiste na adição de microrganismos ao sistema empregado para aumentar a biodegradação do solo contaminado e redução do período de adaptação dos microrganismos presentes no sítio contaminado (SEABRA, 2005). O bioaumento pode ser realizado pela introdução de culturas puras de microrganismos exógenos e /ou de um consórcio microbiano previamente



selecionado para degradação de contaminante (endógeno ou exógeno) (SEABRA, 2005; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

O bioaumento apresenta um diferencial quando aplicado com a finalidade de biodegradar contaminantes ambientais complexos, particularmente os hidrocarbonetos de petróleo, devido ao emprego de consórcio microbiano que apresenta a possibilidade de aumentar a taxa de biodegradação dos contaminantes uma vez que diferentes microrganismos degradam diferentes substâncias e alguns sobrevivem em condições ambientais adversas. No entanto, alguns autores (SEABRA, 2005; RIZZO et al., 2006, CIANNELLA, 2010) ressaltam que a estratégia de bioaumento não supera significativamente a biodegradação em solo contaminado quando comparado à estratégia de simples ajuste de fatores ambientais (nutrientes, água, pH, entre outros).

Oliveira (2006) avaliou o efeito da adição de composto maduro produzido a partir de resíduos sólidos urbanos (RSU) na remediação de solo contaminado com óleo cru a 3% ( $\text{m.m}^{-1}$ ), comparando com o resultado do tratamento de solo contaminado sem adição de composto em biorreatores escala piloto. Os estudos evidenciaram benefício significativo no uso do RSU, levando a uma redução da contaminação de n-alcenos em 96%, enquanto no biorreator sem adição de compostos a redução foi de 30%. O bioaumento pode ser benéfico em alguns casos em que existam compostos recalcitrantes ou que o solo tenha uma baixa atividade microbiana (SEABRA, 2005).

O uso de composto (RSU) quando adicionado ao solo contaminado proporciona maior permeabilidade do solo, aumentando a taxa de transferência de oxigênio, além de colaborar como fonte de carbono, nitrogênio e energia capaz acelerar e favorecer o crescimento de uma população microbiana (RIZZO et al., 2006). Ressalta-se que ao introduzir o RSU ocorre incorporação de diferentes comunidades de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e fungos que predominam em fases diferentes da compostagem. A compostagem pode ser dividida em duas etapas. A primeira é mais ativa e caracteriza-se por uma forte atividade metabólica e pelo aumento de temperatura dos materiais em decomposição, incluindo uma fase mesofílica, e outra termofílica. A segunda etapa caracteriza-se por taxa metabólica mais reduzida, e denominada de arrefecimento e maturação, durante a qual o material se torna estável, escuro amorfo, com aspecto de húmus e um cheiro de terra (WITTER e LOPEZ-REAL, 1987).

### 1.2.7.3. Fatores limitantes a biodegradação

Variáveis ambientais podem afetar o processo de biodegradação em diferentes níveis, de forma a influenciar o crescimento e a atividade microbiana, além de influenciar nas propriedades físicas e químicas dos poluentes (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Dentre os fatores físicos, Gaylarde et al., (2005) destacam a natureza física da matriz ambiental (solo, água, sedimento), temperatura e energia luminosa. Em relação aos fatores químicos, os mesmos autores destacam a estrutura química e concentração do poluente, e as condições ambientais da matriz ambiental como pH, umidade, nutriente, teor de oxigênio dissolvido e potencial redox.

A temperatura é um fator de extrema importância na promoção da atividade metabólica microbiana, pois pode influenciar tanto nas reações fisiológicas das células quanto nas características físico-químicas do ambiente (volume do solo, potencial de oxirredução, pressão, tensão superficial, estrutura da água). A taxa de degradação enzimática e o metabolismo microbiano, de forma empírica, têm seus valores duplicados a cada aumento de 10°C, até que seja atingida uma temperatura em torno de 40 °C, a partir da qual verifica-se efeito inibitório para a maioria dos microrganismos. Em temperaturas elevadas, as proteínas microbianas podem ser irreversivelmente danificadas, provocando interrupções das funções da célula. Ressalta-se que os microrganismos termófilos capazes de suportar altas temperaturas estão presentes em quantidades inferiores quando comparados aos mesófilos, os quais atuam em temperatura ambiente (MILLIOLI, 2009). Por outro lado, em baixas temperaturas, a cinética de degradação dos poluentes é retardada devido ao aumento na viscosidade, diminuindo a solubilidade dos contaminantes na água, o que promove a volatilização dos alcanos tóxicos e de baixo peso molecular. Segundo Miroslav et al., (1996) a faixa de 30 a 40 °C é considerada ideal na biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo.

Os microrganismos degradadores devem estar presentes em número suficiente para serem capazes de metabolizar os hidrocarbonetos e os produtos intermediários da degradação (WISE et al., 2000). Quando o contaminante encontra-se no solo em altas concentrações, a atividade microbiana pode ser inibida devido aos efeitos tóxicos sobre os microrganismos. Todavia, concentrações muito baixas podem limitar a biodegradação. O sucesso da biodegradação ainda pode ser afetada devido à predação dos microrganismos biodegradadores por protozoários presentes no solo, o que torna o bioestímulo uma estratégia via de regra mais interessante, pois estimula o crescimento de microrganismos nativos pelo fornecimento de condições ótimas de desenvolvimento (SEABRA, 2005).

O pH do solo tem ação direta na atividade metabólica da microbiota, pois em pH muito ácido alguns metais estão disponíveis em solução, o que torna o ambiente tóxico para grande parte da comunidade microbiana. Uma acidez elevada pode causar desnaturação protéica e inibição enzimática, comprometendo o metabolismo microbiano (MOREIRA e SIQUEIRA 2006). Em solos, a taxa de biodegradação é frequentemente maior em condições alcalinas, preferidas pelas bactérias. No entanto, os fungos competem com as bactérias em solos com valores abaixo que 5 (solos ácidos), portanto, nestas condições, os microrganismos que dominam na degradação são os fungos (MAIER et al., 2000). Em relação ao pH os microrganismos podem ser classificados conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Microrganismos em relação à faixa de pH.

Microrganismos	Faixa de pH
Indiferentes	Crescem numa faixa ampla de valores de pH. É o caso de um grande número de bactérias, que podem apresentar crescimento entre valores de pH 6 e 9. Para os fungos os valores variam entre 2,0 e 8,0.
Neutrófilos	Preferem pH próximo à neutralidade até ligeiramente alcalino. Em geral, as cianobactérias e diatomáceas preferem ambientes neutros ou pouco alcalinos. A maioria dos actinomicetos não apresenta crescimento em valores de pH inferiores a 5,5.
Acidófilos	Preferem ambientes ácidos.
Basófilos	Não suportam valores de pH inferiores a 8,0.

Fonte: TSAI et al., 1992

A umidade, de acordo com a capacidade de campo do solo em questão, é essencial para o crescimento e mobilidade dos microrganismos degradadores de hidrocarbonetos, difusão dos nutrientes e eliminação dos produtos do metabolismo (SEABRA, 2008). Segundo Paul e Clark (1989), a faixa de teor de água no solo ideal é entre 25 e 85% da capacidade de campo. Porém, tal teor deve ser ajustado de acordo com outras propriedades do solo e do contaminante em questão.

O solo contaminado normalmente é deficiente em nutrientes necessários ao crescimento e manutenção dos microrganismos. O balanceamento dos principais macronutrientes (carbono, nitrogênio e fósforo) é primordial ao crescimento celular, pois o N é constituinte de proteínas, ácidos nucleicos e componentes da parede celular, enquanto o P, na forma de fosfatos inorgânicos, é utilizado, sobretudo, na geração de energia (adenosina trifosfato - ATP), da qual dependem para realizar as sínteses celulares (CUNHA, 2008). Diferentes relações C:N:P são sugeridas, entretanto, a mais frequentemente utilizada é 100:10:1 (RISER-ROBERTS, 1998). Tal relação foi deduzida a partir da composição química média das células bacterianas crescendo em meio com carbono de fácil assimilação, que é de 50% de C, 14% de N e 3% de P da massa seca, que resulta em uma relação de C:N:P de 50:14:3, expressa em miligramas. Com a incorporação de 40% de C na biomassa, uma relação teórica seria 120:14:3 em mg ou 100:10:1 em molar (LEUS et al., 2005 *apud* MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Entretanto, outras taxas têm sido consideradas mais adequadas em diversos estudos tais como 100:1.25:1 para biorremediação de solos brasileiros contaminados por hidrocarbonetos de petróleo (TRINDADE, 2002). A condutividade hidráulica (K) do solo deve ser suficientemente alta para transportar os nutrientes essenciais e o acceptor de elétrons através do solo e/ou do aquífero. Solos com  $K > 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$  são considerados adequados para serem tratados por biorremediação *in situ* (WISE et al., 2000). Abaixo desse valor a biorremediação *in situ* fica comprometida.

A disponibilidade do oxigênio no solo depende das taxas de consumo realizado pelos microrganismos, do tipo de solo, da saturação do solo e da presença de outros aceptores que podem ser utilizados concomitantemente ao oxigênio (LEAHY e COLWELL, 1990). As reações biodegradativas também podem ocorrer em ambientes anóxicos e sob condições anaeróbicas, permitindo que a redução e possível degradação ocorram tendo nitrato, sulfato e dióxido de carbono como acceptor de elétrons. Compostos como os hidrocarbonetos clorados, BTEX, o naftaleno e o acenafteno também são degradados na ausência do oxigênio (ROSATO, 1997; OUDOT, 1998).

A biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo ocorre devido à reação de oxirredução, onde o hidrocarboneto é oxidado (doador de elétrons) e um acceptor de elétrons é reduzido. Vários compostos podem atuar como aceptores de elétrons, tais como o oxigênio, nitratos, óxidos de ferro, sulfatos, água e dióxido de carbono, sendo esta a sequência preferencial de utilização. Geralmente, a velocidade de oxidação dos hidrocarbonetos é mais elevada para os aceptores de elétrons com potencial de oxidação mais elevado (CORSEUIL e ALVAREZ, 1996). No caso do oxigênio dissolvido, o seu teor no solo é um fator limitante,

pois ele, além da função deceptor final de elétrons na respiração aeróbia, atua como substrato nas etapas iniciais do processo de biorremediação dos componentes do petróleo devido ao catabolismo dos hidrocarbonetos alifáticos, cíclicos e aromáticos (CRAVO JR, 1998).

Devido à influência de vários fatores bióticos e abióticos no metabolismo dos microrganismos, Rizzo et al., (2006) enfatizaram o emprego de biorreatores como uma alternativa interessante e promissora para o tratamento de solos contaminados, especialmente os de natureza argilosa, que, por possuírem baixa permeabilidade, podem apresentar dificuldade para a incorporação de oxigênio e nutrientes. Ainda de acordo com esses autores, a aplicabilidade das técnicas de *landfarming*, biopilhas e compostagem muitas vezes são inviabilizadas devido a limitações geológicas da área contaminada, dificuldades operacionais e condições climáticas, o que torna o uso do biorreatores ainda mais interessante.

#### 1.2.7.4. Utilização de biorreatores na biorremediação de solos contaminados

Os biorreatores são sistemas fechados que podem assumir vários tipos e configurações, assim promovendo um maior contato dos microrganismos com os contaminantes, nutrientes e o oxigênio durante um período mais curto, o que facilita a aclimatização da microbiota assim como o seu desenvolvimento (RIZZO et al., 2006; SANTOS, 2007; JACQUES et al., 2007).

A aplicabilidade dessa tecnologia vem surgindo como solução viável e decisiva para tratamento de solo contaminado com compostos orgânicos (RIZZO et al., 2006). Esta tecnologia permite um monitoramento contínuo do sistema, característica essencial no processo de biodegradação (SANTOS, 2007).

O mecanismo fundamental do tratamento em um biorreator é a degradação natural por populações endógenas bioestimuladas e/ou microrganismos adicionados (bioaumento). Os biorreatores normalmente apresentam eficácia na remediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo (óleo, gasolina, diesel), sendo frequentemente utilizados na degradação de compostos altamente recalcitrante tais como organoclorados e HPA (LALLI e RUSSEL, 1996; LIMA, 2004; SILVA, 2009).

Dentre as configurações de um biorreator, o de leite de lama (*slurry*) é o mais comum, sendo uma alternativa para o tratamento de resíduos que necessitam de um controle operacional. Nesse tipo de biorreator opera-se em fase semi-sólida e o solo contaminado é

misturado à água, de modo a formar uma suspensão com 10 a 40% de sólidos. Essa suspensão é então mecanicamente aerada por meio de agitação. Após a redução dos contaminantes aos níveis desejados, a suspensão é desidratada e a água pode ser reutilizada no biorreator. Alguns projetos, no entanto, podem incluir etapas subsequentes, o que incide em custos adicionais (SANTOS et al., 2007; JACQUES et al., 2007).

O biorreator em fase sólida se baseia nos mesmos princípios do biorreator em lama, entretanto, o solo é organizado em pilhas que funcionam como células de tratamento. Essas células recebem um controle mais rigoroso de temperatura, umidade, volatilização, lixiviação e escoamento superficial de todo o solo contaminado (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000; URURAHY et al., 2008). Algumas vezes o solo pode formar pelotas com microrganismos, o que influencia no processo de remediação através da redução de poluentes disponíveis aos microrganismos (LALLI e RUSSEL, 1996).

Comparado aos tratamentos *in situ*, os biorreatores são mais onerosos devido aos gastos com transporte do material contaminado, construção de equipamentos, mão-de-obra e energia. Contudo, apresentam um menor custo quando comparado às outras técnicas de disposição (ALEXANDER, 1999). Ressalta-se que os custos são altamente relacionados ao contaminante a ser tratado e suas concentrações no meio. No entanto, os tratamentos biológicos são empregados frequentemente por serem mais econômicos quando comparados aos físico-químicos (OLIVEIRA et al., 2007).

## 2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

O presente estudo abordou experimentalmente a tratabilidade de um solo arenoso contaminado com OLU a 5% ( $\text{m m}^{-1}$ ) através de diferentes estratégias de biorremediação. Foram conduzidos dois experimentos: (i) ensaios de biodegradação em respirômetros de Bartha; (ii) ensaios de biodegradação empregando sistemas de biorreatores em escala piloto, simulando biopilhas com aeração forçada, e outro de bancada, simulando biopilhas sem aeração forçada. O segundo experimento visa o monitoramento do decaimento dos HTTs (Hidrocarbonetos Totais do Petróleo), acompanhado da caracterização e monitoramento de variáveis físicas, químicas e biológicas do solo. A Figura 10 ilustra as principais etapas desenvolvidas no presente trabalho.

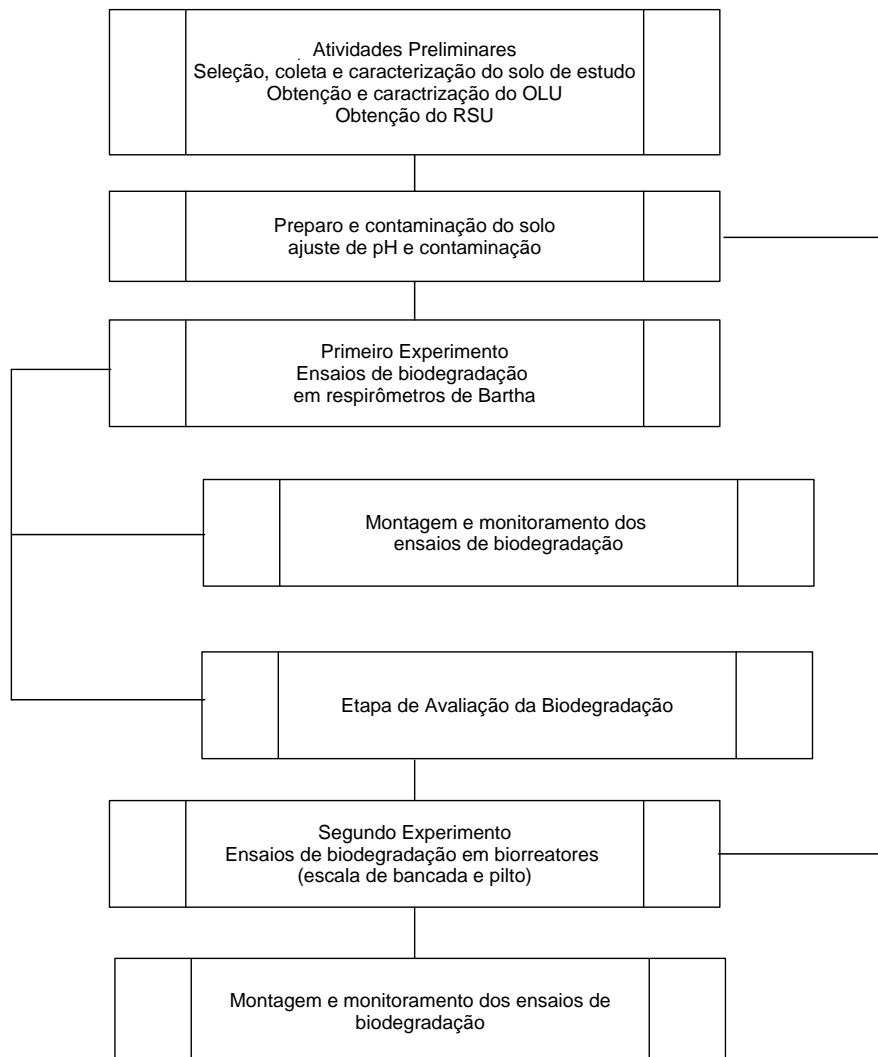


Figura 10. Fluxograma com resumo das atividades e etapas experimentais.

## 2.1 Atividades preliminares – seleção, coleta, caracterização do solo de estudo; obtenção e caracterização do OLUC e obtenção e preparação do RSU.

### 2.1.1 Seleção, coleta, caracterização do solo de estudo.

O solo utilizado para o presente estudo foi coletado na Estação Experimental de Seropédica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (Pesagro-Rio), no município de Seropédica, km 47 da antiga rodovia Rio - São Paulo (BR 465), em coordenadas geográficas  $22^{\circ} 45'S$  e  $43^{\circ} 41'W$ , a 23 metros (Figura 11).



Figura 11. Campo Experimental da Pesagro-Rio, com indicação do local de coleta do solo de estudo (área sinalizada pelo círculo). Fonte: Google maps (2010)

O solo predominante na região é o Planossolo Háplico Distrófico Arênico, caracterizado pela presença de horizontes superficiais mais arenosos quando comparados aos subsuperficiais (perfil típico de horizontes A, E, B<sub>tg</sub> e C<sub>g</sub>), e pela presença dos horizontes superficiais (A e E), de textura variando de areia a areia franca, além da baixa capacidade de



drenagem (OLIVEIRA, 2008). O local foi escolhido em função da probabilidade de estar isento de contaminação química de qualquer natureza, inclusive de petróleo e seus derivados.

A coleta foi realizada em janeiro de 2009. Os dias que antecederam a coleta foram de alta pluviosidade, motivo pelo qual o solo superficial apresentava saturação hídrica. Para a coleta foi escolhida uma área de baixada, uniforme quanto à cor, topografia, textura e manejo recebido. Como primeiro passo fez-se a remoção da serapilheira (restos de vegetação e animais, em diferentes estágios de decomposição, que forma uma camada ou cobertura sobre o solo) contida na superfície do solo. A amostragem foi realizada através da técnica zig-zag, retirando-se, com auxílio de uma pá, amostras de solo de 15 pontos diferentes, da superfície até a profundidade de 20 cm. As várias amostras foram colocadas em sacos plásticos limpos e transportadas para o Laboratório de Geografia Física da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – LAGEFIS, da UERJ, onde foram misturadas, formando uma amostra composta de cerca de 600 kg. Esta, por sua vez, foi distribuída sobre bancadas, onde permaneceu por cerca de uma semana a temperatura ambiente para secagem. Após o período de secagem, todo o solo foi peneirado, em malha de 2,0 mm de abertura (Peneira Granutest ABNT 10; Tyler 9). Em seguida, o solo peneirado foi particionado em duas partes, em proporções diferentes. A primeira parte foi destinada à caracterização física, química e microbiológica, conforme Figura 17. A segunda foi acondicionada em sacos plásticos e armazenada sob refrigeração de 4°C até a realização do experimento (LEE et al., 2007; MELO e AZEVEDO, 2008).

Os parâmetros físicos e químicos foram realizados pelos laboratórios da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Solos), localizada no Município do Rio de Janeiro, de acordo com o Manual de Métodos de Análises de Solo (EMBRAPA, 1997), com exceção dos parâmetros umidade e capacidade de campo (é a quantidade de água retida pelo solo depois que o excesso tenha drenado e a taxa de movimento descendente tenha decrescido acentuadamente, o que geralmente ocorre dois a três dias depois de uma chuva ou irrigação em solos permeáveis de estrutura e textura uniformes), analisados no LAGEFIS e, a quantificação da população microbiana nativa heterotrófica total analisada no Laboratório de Biorremediação e Fitorremediação - LABIFI, na UERJ, de acordo com as metodologias apresentadas nas *seções 2.4.4.1 e 2.4.4.3*, respectivamente. A Figura 12 apresenta o fluxograma dos parâmetros envolvidos na caracterização inicial do solo *in natura*.

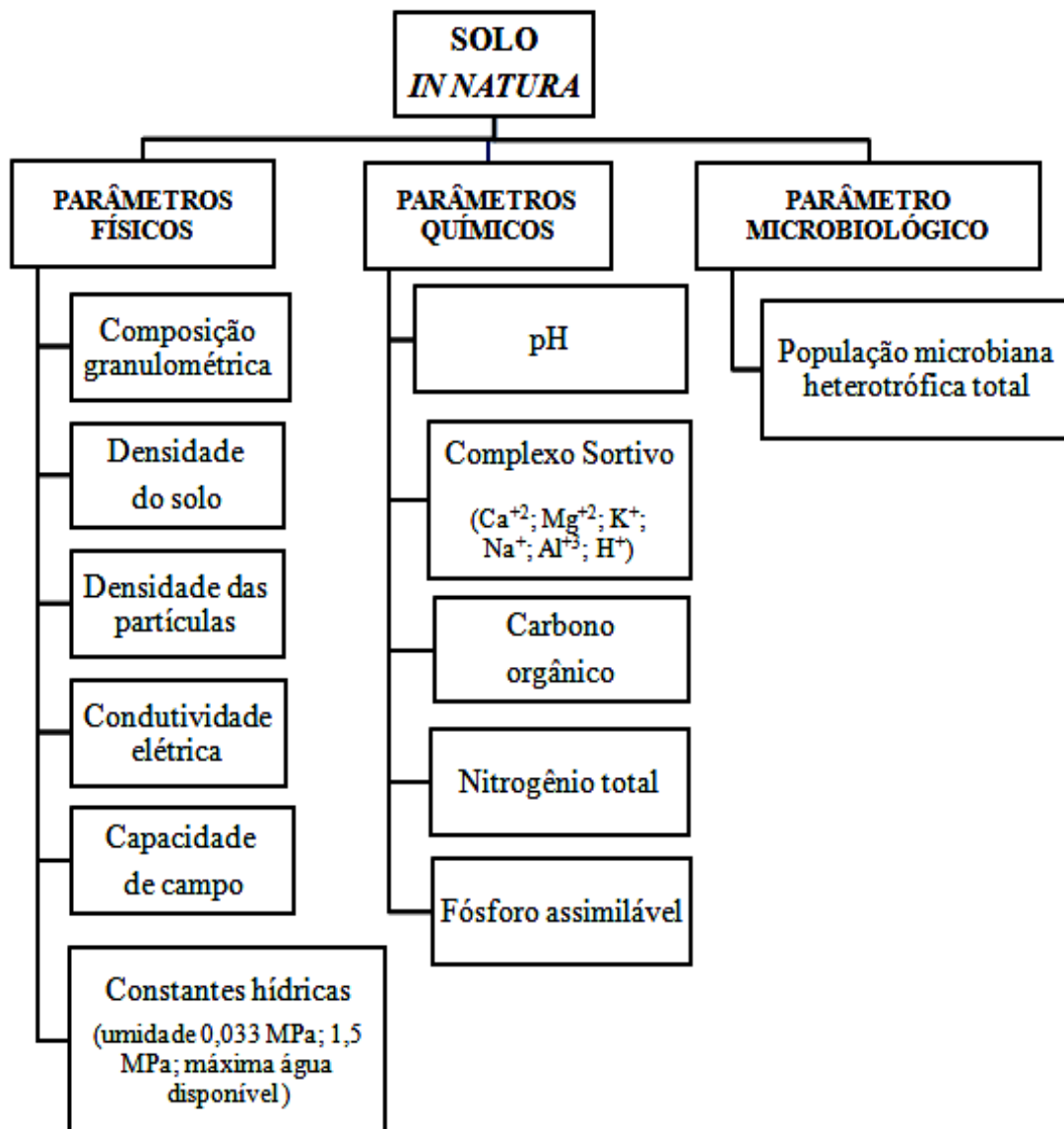


Figura 12. Fluxograma dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos avaliados no solo *in natura* (sem contaminação).

### 2.1.2 Obtenção e caracterização do OLUC

O óleo lubrificante usado utilizado é proveniente de uma mistura 1:1 de duas fontes distintas, em tanques de armazenamento, a saber: a garagem da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ e a empresa de re-refino Tasa Lubrificantes Ltda.

A garagem da UERJ realiza a troca de óleo de uma pequena frota de veículos a serviço da universidade em intervalos regulares, armazenando este em pequenos tanques (PVC) de 50 litros. A re-refinadora coleta o óleo usado em caminhões-tanque em garagens, oficinas mecânicas, lojas de troca de óleo, nas indústrias e nas instalações portuárias de

reabastecimento de lubrificantes a embarcações, e ao retornar a usina de reciclagem, este óleo é vertido em tanques de armazenagem constituído em aço carbono. Geralmente, estas empresas dispõem de vários tanques para depósito, em sua planta industrial, onde o óleo usado é descarregado e permanece até o momento do processo de re-refino. É evidente que os óleos usados são provenientes de várias misturas e por isso, formam durante a estocagem misturas com características próprias.

Na realização da amostragem, seguiu-se a técnica de coletar em cima, no meio e fundo do tanque, formando uma amostra composta representativa. As amostras são coletadas em vasilhames metálicos, em média 5 litros. Não há necessidade de se fazer qualquer preservação, simplesmente tendo-se o cuidado para que o vasilhame esteja limpo e seco. Os óleos usados são estáveis à temperatura ambiente.

As amostras coletadas foram misturadas em duas alíquotas iguais, para realização da caracterização do óleo e a contaminação do solo. O mesmo foi caracterizado pelo Centro de Qualidade Analítica (CQA) – Campinas, SP, quanto ao teor de hidrocarbonetos totais por cromatografia de fase gasosa com detector de ionização em chama (CG-FID), componente orgânico voláteis (VOCs), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – HPAs e metais tóxicos. (Tabela 10,11e 12 - APÊNDICE A)

O OLUK foi armazenado em tanque de armazenamento (PVC) de 50 litros, ao abrigo da luz e a temperatura de 20-25 °C até o uso.

### 2.1.3 Obtenção e preparação do resíduo sólido urbano (RSU)

Foram utilizados dois tipos de resíduos (compostos) para a biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo presentes no solo contaminado: um em fase de maturação (*RSU<sub>60 dias</sub>*) e outro maturado (*RSU<sub>7 meses</sub>*). Tais resíduos foram obtidos já com caracterização física e química, junto a Companhia Municipal de Limpeza Urbana Empresa – Comlurb, RJ. Os compostos foram previamente passados em uma peneira de malha de 2 mm de abertura (Peneira Granutest ABNT 10; Tyler 9), granulometria igual ao solo em estudo, pois o único objetivo da adição do RSU é a sua atuação na estratégica de bioaumento e não intervir intensamente na textura do solo, de forma a proporcionar maior aeração.

## **2.2 Preparação e contaminação do solo (Ajuste de pH, contaminação de solo e avaliação da biotratabilidade do estudo).**

### 2.2.1 Ajuste de pH de solo

De modo a não comprometer a atividade microbiana, o pH do solo *in natura* foi ajustado para um valor próximo da neutralidade (7,0) e dentro da faixa de 6,5 a 8,5, considerada adequada à atividade da maioria dos microrganismos (SARKAR et al., 2005). Tal ajuste foi efetuado pela adição de hidróxido de cálcio,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , cuja quantidade foi determinada através de uma curva de neutralização, elaborada conforme metodologia de Lima (2004), descrita a seguir. Ressalta-se que o ajuste foi efetuado antes da contaminação e, verificado a cada três dias durante os quinze dias que antecederam a contaminação para garantir a total neutralização do solo.

Em erlenmeyers, foram pesados (em duplicata)  $20 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$  do solo de estudo e adicionados, com precisão, as seguintes quantidades de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  marca Vetec para cada ponto da curva: 0 (controle); 0,001 g; 0,006 g; 0,010 g; 0,015 g; 0,030 g; 0,051 g; 0,100 g; 0,300 g; 0,500 g. Cada sistema (erlenmeyer) foi vigorosamente homogeneizado com bastão de vidro e deixado em repouso por 24 h. Em seguida, foram adicionados, a cada um deles, 50 mL de água destilada. Os sistemas foram mantidos sob agitação orbital de  $150 \text{ min}^{-1}$  em *shaker* modelo Q 816M20 durante 1 h. Após agitação, os mesmos foram deixados em repouso por mais 1 h para posterior medição dos valores de pH. Seguidamente, foi efetuada a construção da curva de neutralização de pH x massa de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (APÊNDICE A - Figura 35). Esta curva foi construída para orientar a quantidade necessária de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  a ser adicionado a massa de solo, de modo que promove-se o ajuste de pH do solo.

Para verificação do pH do solo adotou-se a metodologia descrita no Manual de Métodos de Análise de Solo (EMBRAPA, 1997), na qual a medição é realizada em solução salina. Para tal, adicionou-se 10 mL em um becker de 10 mL. A este foram adicionados 25 mL da solução de KCl – 1N. O sistema solo + água foi agitado manualmente no interior de um tubo Falcon de 50 mL. A medição do pH foi realizada no líquido sobrenadante com auxílio de pH-metro Quimis modelo Q 400AS, previamente calibrado com soluções padrão de pH 4,0 e 7,0 (Quimis), e eletrodo combinado de vidro.

### 2.2.2 Contaminação de solo

A contaminação do solo foi conduzida em recipientes plásticos aos quais foram adicionados, por vez, 50 kg do solo de estudo com pH ajustado e 2,5 kg de OLU (Figura 13), o que correspondeu a um percentual de contaminação de 5% ( $\text{m.m}^{-1}$  seco). Tal percentual foi escolhido com base em um conjunto de estudos laboratoriais observados por MARQUES (2007) com esse petroderivado.

A homogeneização foi realizada misturando-se manualmente o contaminante (OLU) ao solo. A Figura 13 ilustra o processo de contaminação do solo de estudo.

Após a contaminação, o solo foi transferido para sacos plásticos escuros e acondicionados sob refrigeração de 4°C, durante 15 dias, até a realização do experimento (LEE et al., 2007; MELO e AZEVEDO, 2008).



Figura 13. Foto ilustrativa do procedimento de obtenção de solo contaminado artificialmente. (a) Solo *in natura*, (b) Solo recebendo o contaminante (OLUC), (c) Homogeneização do solo com o OLUC e (d) Solo contaminado.

### 2.3 Primeiro experimento: Ensaio de biodegradação em respirômetros de Bartha

Esse primeiro experimento, realizado em julho de 2009, teve por objetivo avaliar a atividade microbiana aeróbia através do teste respirométrico de Bartha, padronizado pela norma brasileira NBR 14283 (ABNT, 1999), como parâmetro indicador da biodegradação do OLU no solo e posterior estudo em escala piloto. Tal teste, adaptado de uma norma holandesa, tem se mostrado bastante útil na avaliação da biodegradação de contaminante orgânico presente no solo (ANDREO, 1999; BALBA et al., 1998).

A seguir, encontram-se descritas as principais atividades desenvolvidas nesse experimento.

#### 2.3.1 Descrição dos respirômetros de Bartha

No presente estudo foi utilizado respirômetros de Bartha preconizados pela norma NBR 14283 (ABNT, 1999) com algumas adaptações (Figuras 14 e 15). Tais respirômetros consistem em um sistema fechado, constituído de duas câmaras interligadas (Figuras 14 - Letra G e Figura 14- Letra D).

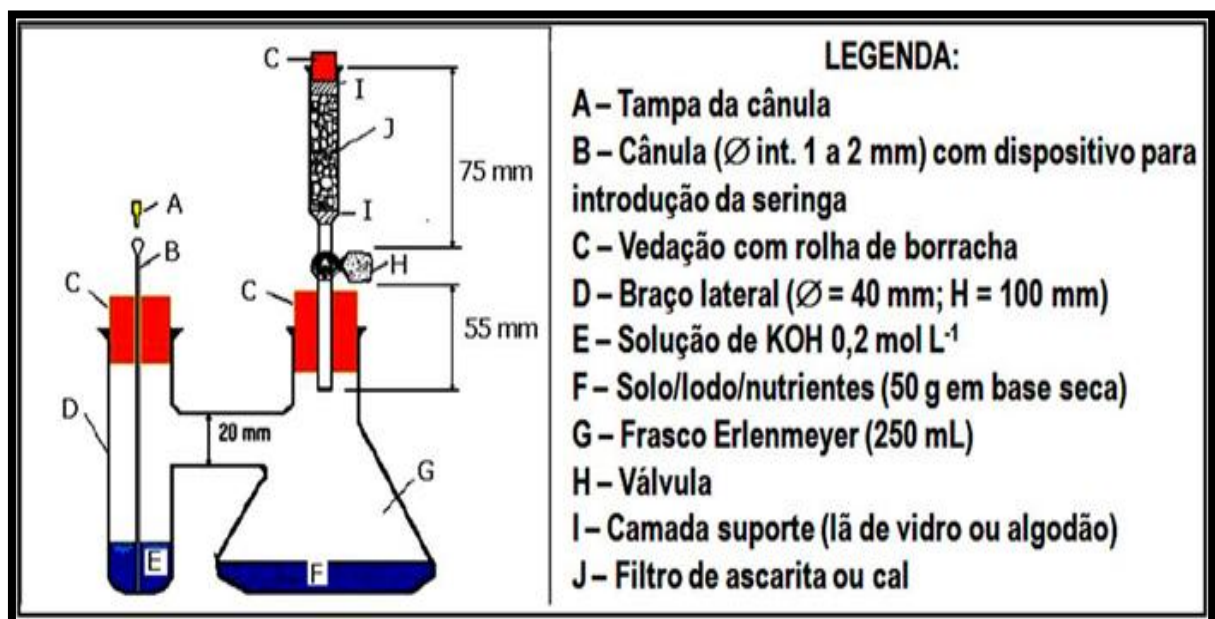


Figura 14. Esquema do Respirômetro de Bartha preconizado na NBR 14283 (ABNT, 1999).





Figura 15. Respirômetros de Bartha utilizados no experimento de biodegradação.

O princípio do teste baseia-se na captura e quantificação do  $\text{CO}_2$  gerado durante o processo de respiração aeróbia, o qual ocorre na câmara principal (Figura 14 - Letra G) onde se encontra a amostra de solo. O gás produzido é dissolvido em uma solução alcalina de hidróxido de potássio (KOH), colocada na câmara secundária (Figura 14 - Letra D). A quantificação do  $\text{CO}_2$  é feita em instantes de tempo regulares, através da titulação da alcalinidade residual da solução de KOH com uma solução de ácido clorídrico (HCl), na presença de cloreto de bário ( $\text{BaCl}_2$ ). Uma vez que a respiração representa a oxidação da matéria orgânica pelos microrganismos aeróbios presentes no solo, pode-se estimar, através da evolução do  $\text{CO}_2$ , a quantidade de carbono biodegradado durante o processo de mineralização do contaminante (ANDREO, 1999; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

### 2.3.2 Montagem dos respirômetros – design dos tratamentos adotados

A partir do solo contaminado foi conduzida a montagem de cinco sistemas de tratamento, em triplicatas, para cada uma das condições experimentais descritas na Tabela 7.

Tabela 7. Delineamento dos tratamentos empregados na avaliação da biotratabilidade.

<b>Respirômetros</b>	<b>Tratamentos</b>	<b>Condições experimentais</b>
CONT	Controle	Solo sem contaminação + ajuste de pH+ ajuste de umidade
ABIO	Processos abióticos	Solo com ajuste de pH + 5% OLU + 0,3% NaN <sub>3</sub> + ajuste de umidade
BIOS	Bioestímulo	Solo com ajuste de pH + 5% OLU + ajuste de umidade
BIOA <sub>1</sub>	Bioestímulo + Bioaumento	Solo com ajuste de pH + 5% OLU (m.m <sup>-1</sup> ) + 10 % RSU <sub>7 meses</sub> + ajuste de umidade
BIOA <sub>2</sub>	Bioestímulo + Bioaumento	Solo com ajuste de pH + 5% OLU (m.m <sup>-1</sup> ) + 10 % RSU <sub>60 dias</sub> + ajuste de umidade

O tratamento CONT (controle - solo sem contaminação) foi realizado com o objetivo de quantificar a produção de CO<sub>2</sub> proveniente apenas da atividade microbiana do solo sem a influência do contaminante.

Para investigar a eventual remoção do contaminante por processos abióticos (ABIO) procedeu-se a inibição da atividade microbiana do solo pela adição de 0,3% (m.m<sup>-1</sup>) de azida sódica (NaN<sub>3</sub>), conforme procedimento adotado por Aguiar (2006).



Para avaliar apenas a ação da população nativa do solo na biodegradação do contaminante, foi conduzido o tratamento BIOS, contendo somente solo contaminado com ajuste de pH. Já para avaliar o efeito dos resíduos na biodegradação foram conduzidos os tratamentos BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub>.

A montagem de cada sistema de tratamento (respirômetros) foi iniciada pela adição de uma alíquota de 50 g de solo contaminado a 5 % (m.m<sup>-1</sup>) de OLU. No entanto, antes da introdução do solo nos respirômetros, foram realizados os procedimentos de ajuste de umidade e adição de 10% (m.m<sup>-1</sup>) de RSU.

O ajuste de umidade inicial foi efetuado em todos os tratamentos para aproximadamente 30% da capacidade de campo, valor este que se encontra dentro da faixa ótima de umidade recomendada na literatura (PAUL e CLARK, 1989). A umidade foi corrigida pela adição de água destilada. O volume total de água a ser adicionado foi calculado a partir da Equação 1:

$$m_{\text{água ajuste}} = m_{\text{água 30\%CC}} - m_{\text{água umidade}} \quad (1)$$

Onde:

$m_{\text{água ajuste}}$  = massa de água necessária para o ajuste;

$m_{\text{água 30\%CC}}$  = massa de água correspondente a 30% da capacidade de campo do solo;

$m_{\text{água umidade}}$  = massa de água correspondente ao teor de umidade do solo, determinada previamente à contaminação do solo.

A capacidade de campo (CC), por sua vez, foi determinada previamente conforme a metodologia descrita por Trindade (2002). Em uma proveta de 50 mL, de massa conhecido, pesou-se 50 g do solo de estudo úmido ( $m_{su}$ ), suficiente para formar uma pequena coluna. Em seguida, ao solo da proveta, adicionou-se água destilada gota a gota, até que a percolação da água chegasse ao fundo da proveta (condição de saturação). O sistema proveta + solo foi pesado ( $m_{ssa}$ ) e levado à secagem em estufa microprocessada da Quimis modelo 317-2M, a 110 °C, por 24 h. Ao término desse período, o sistema foi novamente pesado ( $m_{sse}$ ) e a capacidade de campo determinada conforme as Equações 2 e 3.

$$m_{(ar)} = m_{(ssa)} - m_{(sse)} \quad (2)$$

$$C.C.(%) = \frac{m_{(ar)}}{m_{(su)}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

$m_{ar}$  = massa de água retida

$m_{ssa}$  = massa do sistema saturado

$m_{sse}$  = massa do solo seco

$m_{su}$  = massa de solo úmido

CC = Capacidade de campo

Após a introdução do solo em cada sistema procedeu-se a preparação do sistema de absorção de CO<sub>2</sub> que consistiu na adição de 10 mL de uma solução de KOH 0,2 mol L<sup>-1</sup> na câmara secundária do respirômetro (Figura 14 – Letra D) (ABNT, 1999).

### 2.3.3 Monitoramento dos ensaios respirométricos

Após a montagem, os respirômetros foram incubados em estufa (Tecnal TE-401), no escuro, a temperatura de 28 C ± 2 C (Figura 16). O experimento foi conduzido por 30 dias e a quantidade de CO<sub>2</sub> produzida em cada respirômetro determinada em intervalos regulares de 24 horas, pelo método titulométrico preconizado na NBR 14283 (ABNT, 1999), descrito na seção 2.3.4. A cada 24 horas, durante o procedimento de titulação, o filtro de ascarita ou cal soldada (Figura 14 – Letra J), permanecia aberto por cerca de 90 segundos para aeração do sistema.

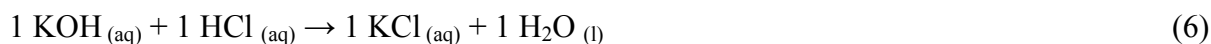
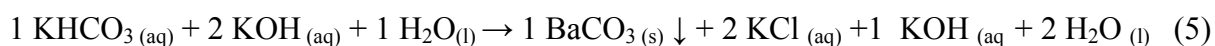
A partir da produção diária de CO<sub>2</sub>, acumulada ao longo dos 30 dias de experimento, estimou-se a quantidade total de carbono biodegradado em cada tratamento, assim como a eficiência da biodegradação dos mesmos. Os cálculos para tais determinações encontram-se descritos, respectivamente, nas seções: 2.3.6 e 2.3.7.

### 2.3.4 Quantificação da produção de CO<sub>2</sub>

A determinação da quantidade de CO<sub>2</sub> produzida foi realizada através da titulação da alcalinidade residual da solução de KOH 0,2 mol L<sup>-1</sup>, contendo o CO<sub>2</sub> dissolvido, com solução de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A solução de KOH foi retirada do respirômetro de Bartha utilizando-se uma seringa de 10 mL, e conduzida para um frasco erlenmeyer de 250 mL.

Durante esse procedimento a válvula do filtro da ascarita (Figura 13 - Letra H) permaneceu aberta com objetivo de viabilizar a aeração e a substituição de outra alíquota de 10 mL de KOH isenta de CO<sub>2</sub> no braço secundário do respirômetro (Figura 13 - Letra D), de forma a dar continuidade à captura do CO<sub>2</sub> produzido pela mineralização proveniente da biodegradabilidade de hidrocarbonetos. Antes de realizar a troca de KOH no braço secundário foram feitas três lavagens com água descarboxilada no braço, utilizando a seringa de 10 mL e água de lavagem foi adicionada aos 10 mL de KOH contendo CO<sub>2</sub> dissolvido, 2 gotas de fenolftaleína e 1 mL de solução de BaCl<sub>2</sub> para precipitar o carbonato presente na solução e, em seguida, foi realizado a titulação com a solução de ácido clorídrico.

As principais reações que ocorrem no ensaio respirométrico estão representadas nas Equações 4, 5 e 6.



Para cada dia de ensaio, as soluções de KOH e HCl eram previamente padronizadas, de acordo com os procedimentos descritos na NRB 14283 (ABNT, 1999). Um controle branco constituído por 10 mL da solução de KOH 0,2 mol L<sup>-1</sup>, 2 gotas de fenolftaleína, 1 mL da solução de BaCl<sub>2</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup> e 30 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub> também era conduzido. Ressalta-se que a água isenta de CO<sub>2</sub> era produzida diariamente. Todos os reagentes utilizados foram da marca Vetec.

A produção diária de CO<sub>2</sub> em cada respirômetro foi calculada a partir da Equação 7:

$$\text{CO}_2(\text{mg}) = (A - B) \times 50 \times 0,044 \times f_{\text{HCl}} \quad (7)$$

Onde:

CO<sub>2</sub> (mg) = μmol de gás carbônico produzido durante a respiração do solo contaminado.

A = A média do volume gasto de HCl 0,1M durante a titulação do teste em branco.

B = A média do volume gasto de HCl 0,1M durante a titulação do ensaio respirométrico com solo.

50 = Fator para transformar equivalente em mol de CO<sub>2</sub>

0,044 = fator para transformar  $\mu\text{mol}_{CO_2, SU}$  em  $\text{mg}_{CO_2, SU}$

f<sub>HCl</sub> = fator de correção da normalidade do HCl

Ressalta-se que a produção diária de CO<sub>2</sub> em cada tratamento foi dada pela média aritmética das três réplicas de respirômetros.

### 2.3.5 Quantificação da produção de CO<sub>2</sub> por biodegradação

A quantidade de CO<sub>2</sub> produzida por biodegradação foi determinada a partir da subtração da quantidade diária de gás produzida o tratamento controle (CONT) da quantidade produzida no respirômetro-ensaio (demais tratamentos). A produção acumulada de CO<sub>2</sub> por biodegradação em função do tempo (30 dias) foi determinada através de soma de todas as massas de CO<sub>2</sub> obtidas em cada um dos intervalos de tempo analisados.

### 2.3.6 Quantificação de carbono biodegradado

A quantidade de carbono biodegradado foi calculada conforme a Equação 8:

$$C_b (\text{mg C}) = 2 \times CO_{2b} (\text{mg CO}_2) \quad (8)$$

onde :

C<sub>b</sub> (mg C) = massa de Carbono (C) biodegradado em miligrama (mg).

CO<sub>2b</sub> (mg CO<sub>2</sub>) = massa de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) biodegradado em miligrama (mg).

Em tal equação admitiu-se que 50% do carbono biodegradado se transforma em CO<sub>2</sub> e os 50% remanescente se incorporam ao solo sob a forma de húmus e biomassa microbiana, conforme preconizado na NBR 14283 (ABNT, 1999).

### 2.3.7 Eficiência da biodegradação a partir da produção de CO<sub>2</sub>

A eficiência de biodegradação de cada tratamento ao final do experimento foi calculada a partir da quantidade acumulada de carbono biodegradado, conforme a Equação 9 (TRINDADE, 2002; MARIANO, 2006).

$$EB (\%) = \frac{C_b(\text{mg C})}{C_o(\text{mg C})} \times 100 \quad (9)$$

Onde:

EB% = eficiência da biodegradação,

C<sub>b</sub> (mg C) = massa de Carbono (C) biodegradado em miligrama (mg),

C<sub>o</sub> (mg C) = massa de Carbono orgânico (C) inicial no solo em miligrama (mg).

### 2.3.8 Estudo cinético

Este estudo teve como objetivo avaliar a cinética de degradação da fração orgânica em cinco ensaios, conforme apresentado na Tabela 13, sendo cada experimento constituído de um solo mais seus respectivos tratamentos. Segundo Seabra (2005), os estudos cinéticos da biodegradação dos contaminantes orgânicos presentes no solo são representados por uma reação de 1ª ordem expressa em vários trabalhos como a lei de velocidade de reação da biodegradação. Conforme a Equação 10:

$$\frac{dC_b}{dt} = -kC \quad (10)$$

Integrando a Equação 10, de 1ª ordem, em ambos os lados entre os limites t = 0 (quando [C<sub>b</sub>] = [C<sub>o</sub>]) e no instante de interesse, t (quando [C<sub>b</sub>] = [C<sub>t</sub>]):

$$\ln \left( \frac{C_b}{C_o} \right) = -kt \quad (11)$$

Retirando a forma logarítmica, conforme Equação 11:

$$C_b = C_o \times e^{-kt} \quad (12)$$

O processo biológico de consumo da matéria-orgânica tem a sua taxa de destruição representada por uma curva do tipo exponencial de decaimento de primeira ordem (MARTINES,2005; FIRME, 2005; PEDROTI, 2007).

## 2.4 Segundo experimento: Ensaio de biodegradação em biorreatores

### 2.4.1 Montagem dos biorreatores

Para avaliar o efeito das estratégias de bioestímulo e de bioaumento com adição de RSU, diferentes tratamentos foram adotados, baseados nos experimentos realizados na avaliação da biotratabilidade do estudo.

O experimento foi conduzido em um anexo do Laboratório de Biorremediação e Fitotecnologia – LABIFI, espaço físico de aproximadamente 5 m<sup>2</sup>, com pontos de fornecimento de energia para alimentação dos sistemas de aeração, irrigação, temperatura e umidade. Foram montados seis sistemas de tratamento, conforme as condições experimentais descritas na Tabela 8.

Tabela 8. Descrição das condições experimentais adotadas no experimento.

Sistemas de tratamento	Biorreatores	Estratégia de biorremediação	Caracterização
<b>Com aeração forçada – leito fixo (escala piloto)</b>	BIOS <sub>ca</sub>	Bioestímulo	Solo com ajuste de pH + 5% OLU + ajuste de umidade + aeração
	BIOA <sub>1ca</sub>	Bioestímulo	Solo com ajuste de pH + 5% OLU + 10 %
		+	<i>RSU<sub>matu</sub></i>
		Bioaumento	+ ajuste de umidade + aeração
<b>Sem aeração (escala de bancada)</b>	BIOA <sub>2ca</sub>	Bioestímulo	Solo com ajuste de pH + 5% OLU
		+	+ 10 % <i>RSU<sub>semi-matu</sub></i> + ajuste de umidade + aeração
<b>Sem aeração (escala de bancada)</b>	CONT <sub>sa</sub>	Controle <sub>1</sub>	Solo com ajuste de pH
	BIOS <sub>sa</sub>	Bioestímulo	Solo com ajuste de pH + 5% OLU
	ABIO <sub>sa</sub>	Processos abióticos	Solo com ajuste de pH + 5% OLU + 0,3% NaN <sub>3</sub>

Notas: *RSU<sub>matu</sub>* = composto de resíduo sólido urbano maduro obtido de uma leira de 7 meses; *RSU<sub>semi-matu</sub>* = composto de resíduo sólido urbano semi-maduro obtido de uma leira de 2 meses.

Nos tratamentos com aeração forçada foram utilizados, como biorreatores, bombonas de PVC, com capacidade de 120 L, tampa e fechamento em metal (Figura 16).



Figura 16. Biorreatores piloto com aeração forçada.

No fundo de cada biorreator piloto (bombona) foram projetados dois furos: um de  $\frac{1}{2}$ " com controle através de válvula para coleta de eventuais lixiviados gerados; e outro de  $\frac{3}{4}$ " com uma distância de 3 cm de altura da base para a entrada de ar no sistema. Na parte superior, foi “projetado um furo de  $\frac{3}{4}$ ” para eventual escape dos gases volatilizados. No interior, foi adicionada brita nº 02 em quantidade suficiente a formar uma camada de aproximadamente 10 cm de altura da base. Tal camada teve por objetivo proporcionar uma melhor distribuição do ar no interior do sistema e evitar a formação de caminho preferencial do mesmo. Acima da camada de brita foi colocada uma tela fina de nylon para suportar o solo contaminado e evitar a passagem do mesmo para a camada de brita. Ainda em cada biorreator foram feitos 2 furos de  $\frac{1}{2}$ ”: um posicionado no centro da base para eventual expurgo; e o outro a 8 cm de altura da mesma para servir de comunicação com o sistema de aeração, descrito mais adiante, na seção 2.4.3.1. Cada biorreator piloto recebeu 125 kg de solo contaminado com 5% de OLU, e o seu respectivo tratamento.

Nos tratamentos sem aeração foram utilizados como biorreatores recipientes plásticos com capacidade de 3 litros (Figura 17); cada um com 3 kg de solo. Estes tratamentos foram realizados com o objetivo de avaliar o comportamento de processos abióticos e processos bióticos, na biodegradabilidade do solo contaminado, em escala de bancada.



Figura 17. Biorreatores de bancada sem aeração forçada.

Para investigar a eventual remoção do contaminante por processos abióticos procedeu-se à inibição da atividade microbiana do solo pela adição de 0,3% ( $m\ m^{-1}$ ) de azida sódica ( $NaNO_3$ ), conforme procedimento adotado por Aguiar (2006).

Posteriormente à introdução do solo contaminado nos biorreatores, foi conduzido os procedimentos de ajuste de umidade, citado na *seção 2.3.2*, e adição do *RSU* (compostos).

A adição do *RSU*<sub>60 dias</sub> no tratamento  $BIOA_{2ca}$  e do *RSU*<sub>7 meses</sub> (maturado) no tratamento  $BIOA_{1ca}$  foi efetuada apenas no início do experimento. Cada tratamento recebeu uma alíquota de 12,50 kg do respectivo resíduo ( $10\%\ m\ m^{-1}$ ), de concentração de população heterotrófica total igual a  $2,29 \times 10^9\ UFC\ g^{-1}$  e  $4,28 \times 10^8\ UFC\ g^{-1}$ , respectivamente. Essa concentração correspondeu ao número total de colônias enumeradas pelo método de plaqueamento descrito na *seção 2.4.4.3*.



A seguir encontram-se descritos os sistemas de aeração, irrigação, umidade e temperatura dos biorreatores piloto, assim como o sistema de temperatura dos biorreatores de bancada.

#### 2.4.2 Montagem dos sistemas dos biorreatores (Sistemas de aeração, irrigação, umidade e temperatura)

##### 2.4.2.1 Sistema de aeração

O sistema de aeração foi constituído por uma tubulação central em PVC de 2 m de comprimento (Figura 19 a) com uma válvula de escape de pressão em uma das pontas (Figura 19 b) e saídas ortogonais, também em PVC (Figura 18 c), que se comunicavam lateralmente com os biorreatores através de mangueiras de  $\frac{3}{4}$ " de diâmetro interno. O ar foi injetado por uma bomba (modelo NO22 da marca Neuberger) que possui uma vazão máxima de  $19 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ , vácuo máximo de 26,9 in Hg e é capaz de suportar até 36 psig de pressão contínua, o que corresponde a 2,24 atmosfera (Figura 18 d).

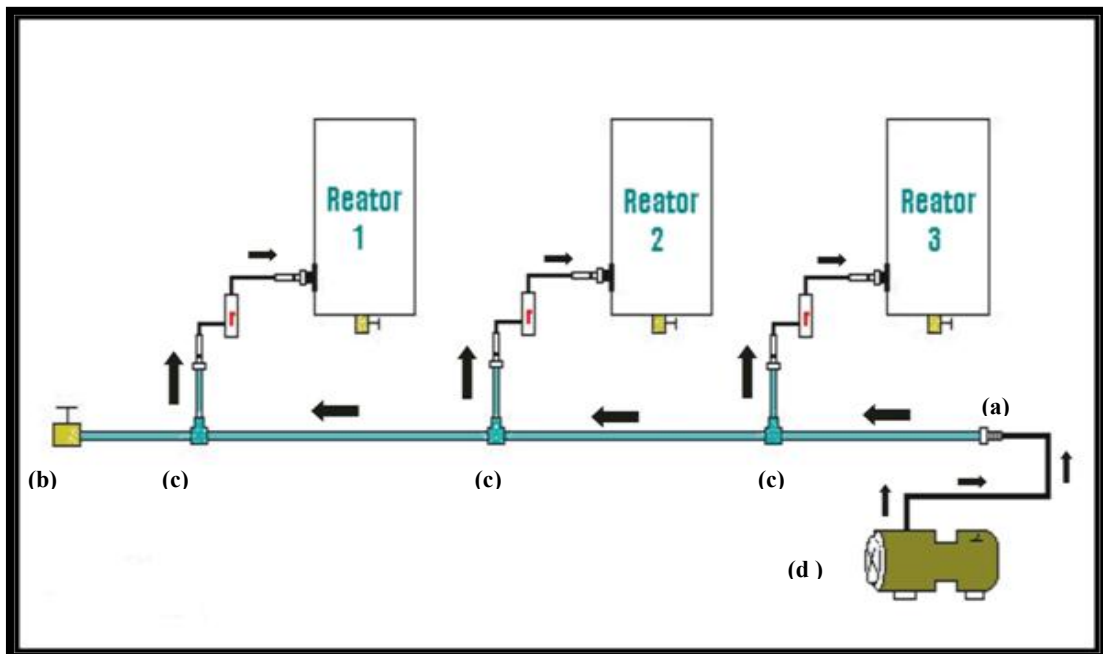


Figura 18. Ilustração do sistema integrado de aeração forçada dos três reatores em escala piloto.

A mangueira de cada biorreator (Figura 18 - d) e antes do ponto de entrada do mesmo foi interligado um rotômetro marca Dwyer (0 a 25 l min<sup>-1</sup>) (Figura 18 - e) para controle do ar a ser distribuído no sistema. Cada mangueira, por sua vez, foi acoplada ao respectivo biorreator através de niples de ½” flanges de ½”. A aeração foi programada para garantir a seguinte relação: 0,6 l de ar min<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> de solo contaminado, de acordo com ensaios realizados, em biorreatores piloto por (COSTA, 2007).

A leitura da vazão de ar é realizada diretamente através de uma escala graduada fixada em rotômetros, que são aparelhos constituídos por um tubo cônico transparente com flutuador esférico, em nylon, o que proporciona alta resistência química, baixa absorção de umidade e transparência para facilitar a inspeção de rotina, conforme ilustrado na Figura 19.



Figura 19. Rotômetro de marca Dwyer utilizado para controlar a vazão de ar na entrada de cada biorreator piloto.

#### 2.4.2.2 Sistema de irrigação

O sistema de irrigação consistiu de um reservatório de capacidade de 13 l, interligado a uma bomba (marca JABAO) submersa em água. Esta era conduzida até a parte superior do biorreator para irrigação do solo, através de uma mangueira de ½” (Figura 20).

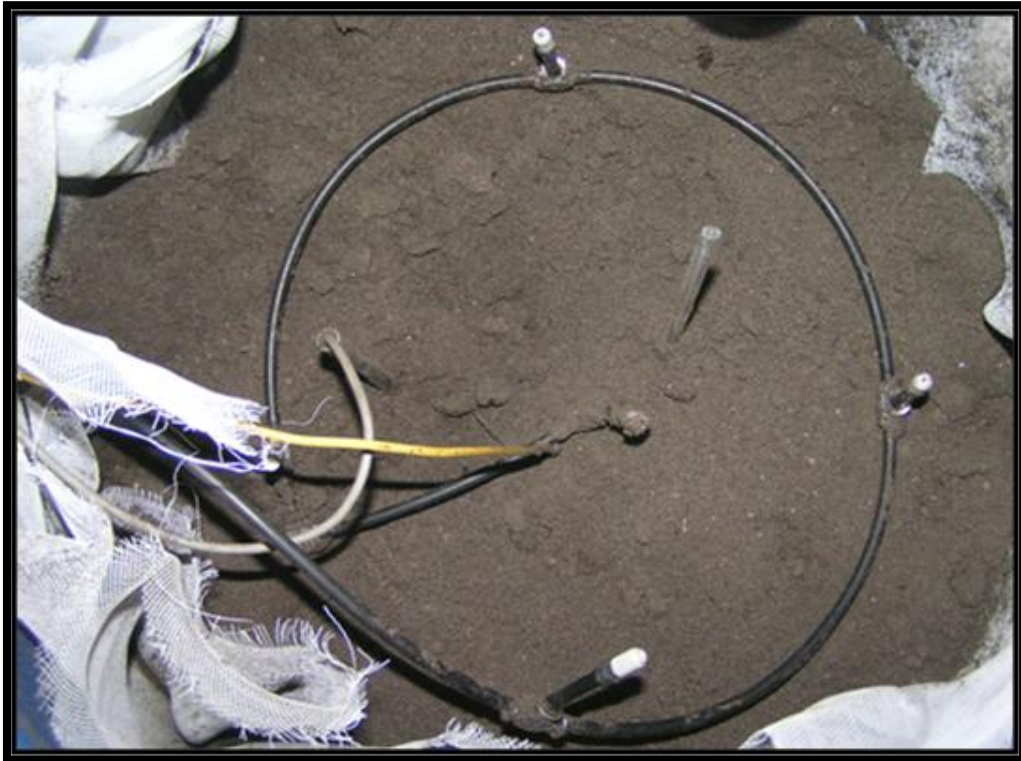


Figura 20. Sistema de irrigação utilizado nos biorreatores em escala piloto.

A irrigação foi controlada por um timer digital (Elcon TE-310), cuja função é de um dispositivo programável que funciona como uma chave de tensão e permite manter o funcionamento de um sistema temporizado. Esse timer foi utilizado para programar o funcionamento da bomba e do sistema de injeção de água para o controle da umidade do solo. Esta, por sua vez, foi mantida dentro da faixa de 30% a 50% da capacidade de campo do solo. Para tanto, medições eram registradas por um sistema datalogger (Em50 ECH<sub>2</sub>O, Decagon Devices), a cada hora. Posteriormente, médias diárias, semanais e mensais desse parâmetro foram realizadas para cada biorreator. Ressalta-se que o sistema foi automatizado de modo a proporcionar uma maior eficiência e precisão quanto às condições de umidade do solo ao metabolismo microbiano dentro do biorreator.

### 2.4.2.3 Sistema de monitoramento de umidade

O sistema do monitoramento da umidade do solo contaminado, nos biorreatores piloto, foi feito através da Reflectometria de Domínio de Freqüência (FDR), que foi constituído por sensores de capacitância ECH<sub>2</sub>O (Decagon Devices) (Figura 21) ligados ao coletor de dados Em50 ECH<sub>2</sub>O (Decagon Devices) (Figura 22). Tais sensores medem a permitividade dielétrica do meio que o envolve. No solo, a permitividade dielétrica está indiretamente relacionada ao conteúdo volumétrico de água. O princípio de funcionamento dos mesmos está baseado na diferença existente entre a constante dielétrica da água e a constante dielétrica do ar e dos minerais presentes no solo. Como a constante dielétrica da água é muito maior que a dos outros constituintes do solo, uma pequena variação do conteúdo de água gera um aumento considerável na constante dielétrica da mistura ar-água-solo, tornando possível a determinação do conteúdo volumétrico de água no solo (VIELMO, 2008).



Figura 21. Componente do sistema de umidade do solo, coletor de dados de umidade.



Figura 22. Componente do sistema de umidade do solo, sensor de capacitância para determinação da umidade. (Fonte: Catálogo Decagon Devices)

Em cada biorreator piloto foi instalado um sensor ECH<sub>2</sub>O de 20 cm de comprimento. Os mesmos foram instalados verticalmente, no centro de massa dos biorreator piloto.

Os biorreatores de bancada receberam a injeção de água ao longo do ensaio através de borrifadas de água destilada.

#### 2.4.2.4 Sistema de monitoramento de temperatura

O sistema de temperatura foi constituído pelo registrador virtual *Field Logger* (Novus), composto por uma unidade microprocessada que adquire e registra informações em tempo real, armazenando-as em sua memória interna para posterior análise. Tal registrador é devidamente configurado através de um *software* que o acompanha e que roda sobre os sistemas operacionais Windows\*98 (Figura 23).



Figura 23. Registrador virtual Field Logger utilizado no monitoramento da temperatura dos biorreatores piloto e dos biorreatores de bancada. Fonte: Catálogo Novus.

Para medição da temperatura foram acoplados ao *Field Logger* seis termopares: três termorresistências (tipo Pt 100) para monitoramento da temperatura nos biorreatores piloto (Figura 24a) e três tipo K (S-08) para monitoramento nos biorreatores de bancada (Figura 24b).

Os termopares Pt 100 são manufacturados em tecnologia de filme fino sobre substrato plano de cerâmica a que lhes confere alta precisão no intervalo de temperaturas entre -200 e 530 °C. Além de serem sensores de superfície por contato com respostas rápidas, esses possuem comprimento de 50 cm, o que permite percorrer todo o perfil dos biorreatores com aeração forçada. Essas características foram relevantes para a escolha destes sensores nos biorreatores pilotos

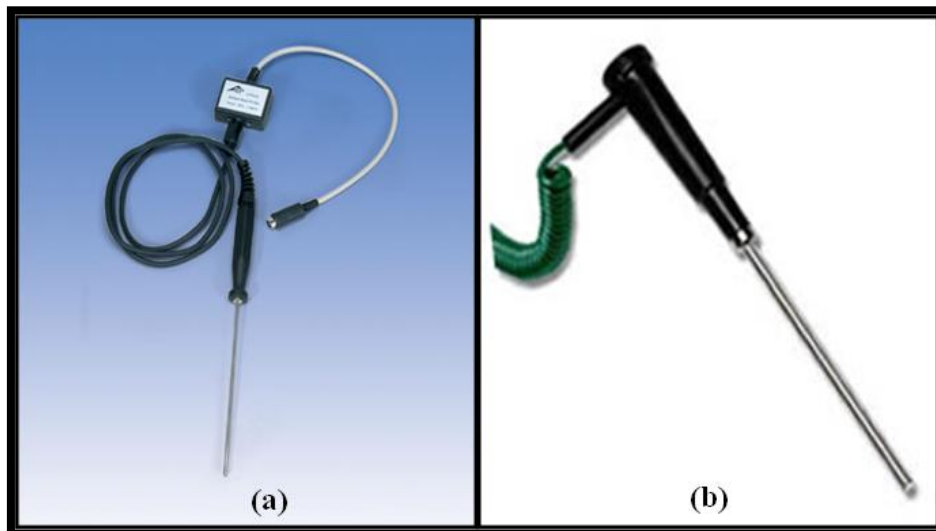


Figura 24. Termopares usados na medição para monitoramento da temperatura. (a) Termopar Pt100 usado nos biorreatores piloto; (b) Termopar K usado nos biorreatores de bancada.

Já os termopares S-08 K são dispositivos eletrônicos com larga aplicação para medição de temperatura. A sua maior limitação é a exatidão, uma vez que erros inferiores a 1°C são difíceis de obter. Sua faixa de medição varia de -90 °C a 1370 °C, tendo uma sensibilidade de aproximadamente  $41 \mu\text{V} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ . É um termopar robusto, de fácil utilização e conveniência. O termopar tipo K, se submetido a uma temperatura de 300 °C irá produzir 12,2 mV. Nos biorreatores de bancada foram utilizados termopares K por se tratar de um volume menor de solo, o que torna a variação da temperatura inferior quando comparada aos biorreatores piloto.

### 2.4.3 Monitoramento das variáveis dos tratamentos de biodegradação

O segundo experimento foi conduzido por seis meses. Durante esse período o solo dos biorreatores com aeração forçada foram aerados durante 2 horas a cada hora. O solo de cada biorreator também era umedecido periodicamente com água para manter um teor de umidade no solo. Os biorretores recebiam alimentação de água através do sistema de irrigação e biorreatores de bancada eram umedecidos por meios manuais.

Para o monitoramento dos tratamentos adotados, amostras compostas de solo de cada biorreator, piloto e bancada, foram coletadas ao longo dos seis meses de experimento e usadas na determinação dos parâmetros constantes na Tabela 9. As escolhas dos intervalos amostrais e dos parâmetros ambientais tiveram como base os trabalhos de SEABRA (2005).

Tabela 9. Intervalos amostrais e parâmetros avaliados ao longo do experimento.

Parâmetros	Análises	Intervalo amostral (dias)						
		t <sub>0</sub> - 0	t <sub>1</sub> -30	t <sub>2</sub> -60	t <sub>3</sub> -90	t <sub>4</sub> -120	t <sub>5</sub> -150	t <sub>6</sub> -180
<b>Físicos</b>	Umidade	Leitura realizada diariamente, exceto para biorreatores <sup>(1)</sup>						
	Temperatura	Leitura realizada diariamente.						
<b>Biológico</b>	UFC	x	x	x	x	x	x	x
	pH	x	x	x	x	x	x	x
	COT	x						
<b>Químicos</b>	Nitrogênio total	x						
	Fósforo assimilável	x						
	HTP e frações	x		x		x		x

Nota: <sup>(1)</sup> Nos biorreatores de bancada as leituras foram realizadas mensalmente.

A amostragem foi realizada através de um amostrador tubular, de forma aleatória e ao longo do perfil do solo. As amostras compostas consistiram em uma mistura de 12 subamostras, que imediatamente após a retirada foram acondicionadas em recipientes de vidro previamente autoclavados por 15 minutos. Ressalta-se que o amostrador tubular foi devidamente descontaminado a cada amostragem, conforme orientações do Manual de procedimentos de amostragem de solo da CETESB (2008).

Os parâmetros umidade, temperatura, população microbiana heterotrófica total, respirometria do solo, pH e fósforo assimilável foram analisados no LABIFI de acordo com as metodologias apresentadas nas *seções* 2.4.4.1, 2.4.4.1, 2.4.4.3 e 2.4.4.4, respectivamente. A análise de Carbono Orgânico Total - COT foi realizada pelo CENPES, através do método de combustão com detecção por infravermelho, segundo norma de referência da Sociedade Americana para Testes e Materiais ASTM D 4239 e metodologia U.S.EPA NCE-C-1282, ambas com adaptações. Já o teor de nitrogênio total e a quantificação dos hidrocarbonetos de petróleo foram analisados pelo Laboratório Analytical Solutions - RJ, segundo ao método do Persulfato (4500C) e U.S.EPA 8015.

#### 2.4.3.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade do solo dos biorreatores piloto foi determinado através do sistema de umidade descrito na seção 2.4.3.3. Já o teor de umidade do solo dos biorreatores de bancada foi analisado pelo método gravimétrico constante no Manual de Métodos de Análises de Solo (EMBRAPA, 1997), descrito a seguir.

Em um recipiente de alumínio previamente numerado e de peso conhecido, pesou-se cerca de 5 g de solo, o qual foi levado à estufa microprocessada (Quimis 317-2M) por 24 h a temperatura de 110 °C. Após período de secagem, o material foi colocado em dessecador por cerca de 30 minutos e, posteriormente, pesado. O procedimento de secagem e pesagem foi repetido até a obtenção de peso constante em três medições subsequentes. A umidade foi calculada através da diferença de massa, conforme Equações 13 e 14:

$$m_{(água)} = m_{(su)} - m_{(ss)} \quad (13)$$

$$UG(\%) = \frac{m_{(a)}}{m_{(SU)}} \times 100 \quad (14)$$

Onde:

$m_{(água)}$  = massa de água

$m_{(su)}$  = massa de solo úmido

$m_{ss}$  = massa de solo seco

UG (%) – percentagem da umidade gravimétrica



#### 2.4.3.2 Medição de temperatura

A temperatura do solo no interior dos biorreatores piloto e bancada foi monitorada através do sistema de temperatura descrito na *seção 2.4.3.4*. Medições deste parâmetro foram realizadas em tempo real durante todo o experimento. Porém, os valores registrados correspondem à média diária, durante 180 dias.

#### 2.4.3.3 Quantificação dos microrganismos heterotróficos totais.

A quantificação da população microbiana heterotrófica total foi realizada pelo método padrão de diluição e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) em placas de Petri. A metodologia consiste no plaqueamento de alíquotas da suspensão microbiana diluída sucessivamente, seguida da incubação das placas em estufa e posterior contagem direta do número de colônias (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Para a extração dos microrganismos do solo, 10 g deste foram pesados e adicionados em um frasco erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL de solução salina 0,85%. O frasco foi mantido sob agitação de  $150 \text{ min}^{-1}$  em *shaker* (Quimis 816M20) durante 30 min, a temperatura de  $30 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ , de acordo com os procedimentos adotados por Lima (2004) e Trindade (2002). Após agitação foram realizadas diluições decimais seriadas da suspensão do solo, na faixa de  $10$  a  $10^8$ , conforme ilustrado na Figura 25. A partir de diluições previamente escolhidas, prosseguiu-se o plaqueamento das mesmas em meio de cultivo sólido (Tabela 10), através da técnica *pour plate*. Após solidificação do meio, as placas foram incubadas em estufa microbiológica (TE-392/I) a  $30 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , por 72 h.

Tabela 10. Composição do meio Ágar-melaço.

Componentes	Concentrações ( $\text{g.l}^{-1}$ )
Melaço da cana-de-açúcar	10,0
Triptona	5,0
Extrato de levedo	2,5
Ágar-Ágar bacteriológico	15,0
pH = $7,0 \pm 0,2$	

Fonte: Pereira (2008).

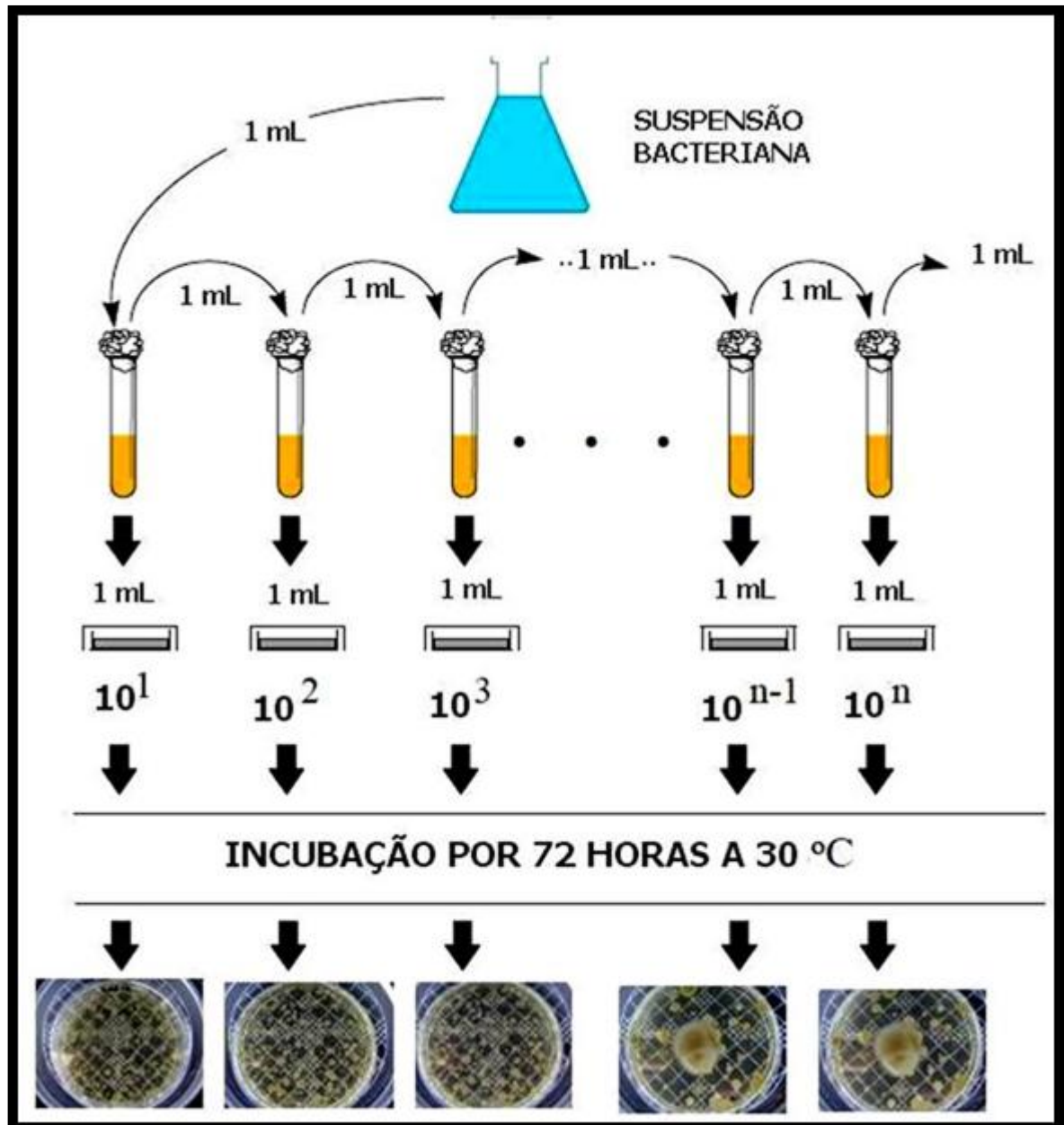


Figura 25. Método padrão de diluição e contagem em placas.

Ao término do período de incubação foi quantificada a população heterotrófica total em placa de Petri (Figura 26), com o auxílio de um contador eletrônico de colônias (Quimis modelo Q 2958). A contagem foi realizada segundo a metodologia do Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento (MAPA, 2003), considerando-se o intervalo de precisão e repetibilidade de 30 a 300 colônias, ou seja, placas com contagem de 30 a 300 colônias. Os resultados foram expressos em UFC  $g^{-1}$  de solo. Ressalta-se que todo material e vidraria utilizados nas análises microbiológicas, assim como o meio de cultura e a solução

salina, foram previamente esterilizados em autoclave (Quimis 290-I2) a 121° C por 15 min, antes do uso.

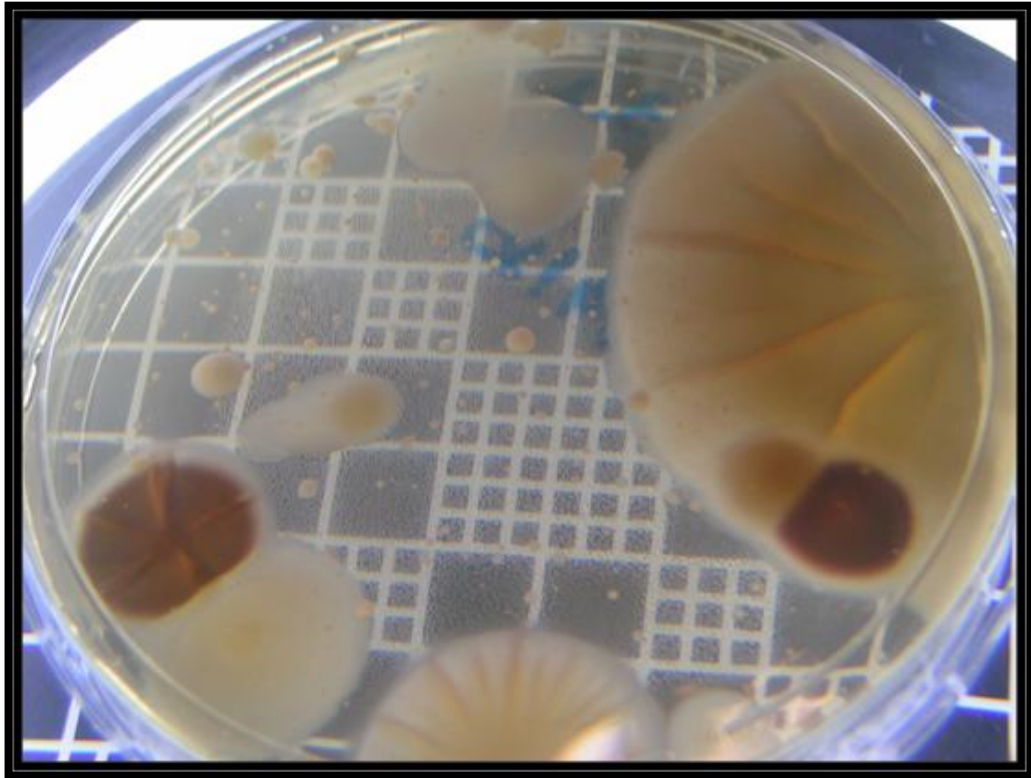


Figura 26. Quantificação da população heterotrófica total.

#### 2.4.3.4 Determinação de pH

A determinação do pH da amostra de solo contaminado foi realizada de acordo com a metodologia descrita na *seção 2.2.1*.

#### 2.4.3.5 Quantificação de fósforo assimilável

O teor de fósforo assimilável foi analisado segundo a metodologia descrita no Manual de Métodos de Análises Químicas para Avaliação da Fertilidade do Solo (EMBRAPA, 1998), cujas principais etapas encontram-se ilustradas na Figura 27 e descritas a seguir.

Em erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 100 mL da solução extratora duplo-ácida ( $\text{HCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,0125 \text{ mol L}^{-1}$ ) e 10 mL ( $\text{cm}^3$ ) da amostra de solo a ser analisada.

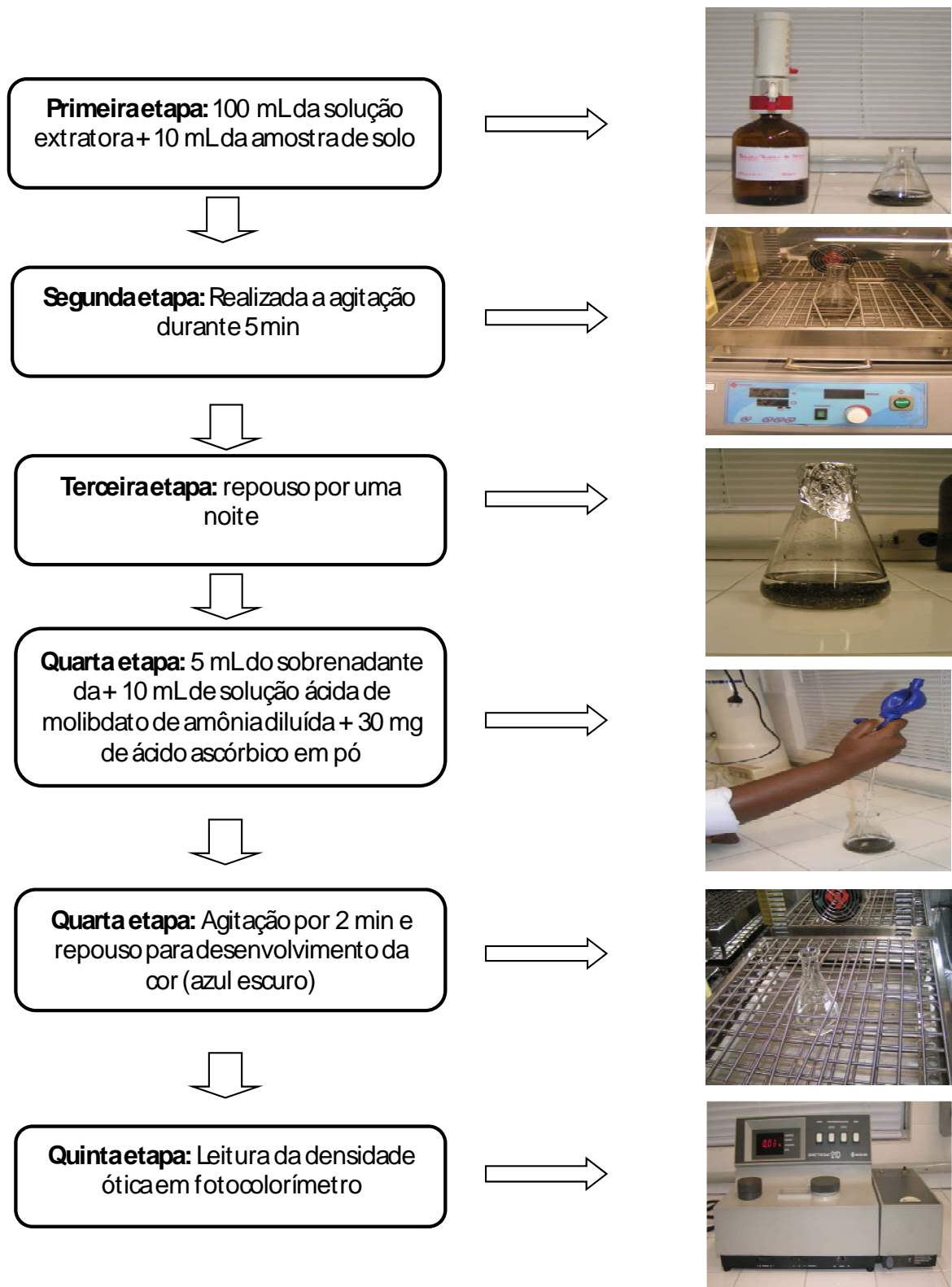


Figura 27. Fluxograma de determinação da concentração de fósforo assimilável.

A mistura foi submetida à agitação em *shaker* (Quimis 816M20) durante 5 min. Após agitação, a solução foi deixada em repouso por uma noite para desfazer os montículos de solo que se formam no fundo dos erlenmeyers. Posteriormente, 5 mL do extrato foram adicionados a outro erlenmeyer (125 mL), seguidamente de 10 mL de solução de molibdato de amônia diluída e 30 mg de ácido ascórbico em pó (Vetec). A mistura foi agitada por 2 min em *shaker*, ficando em repouso por 1h para o desenvolvimento da cor azul escuro (complexo fosfomolibdico produzido pela redução do molibdato com ácido ascórbico). Após este período, foi efetuada a leitura da densidade ótica em fotocolorímetro (Spectronic 21D – Milton Roy), no comprimento de onda de 660 nm do complexo. Para obtenção da concentração do analito em questão uma curva de concentração foi construída utilizando-se padrões de 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg e 5 mg de  $P_2O_5$ .

## 2.5 Análise estatística

Os dados obtidos das análises físicas, biológicas e químicas foram analisados por meio de técnicas descritivas, como obtenção de média e desvios padrões das repetições, organização em tabelas e a geração de gráficos para determinados parâmetros. Os dados de quantificação da população heterotrófica total foram transformados em  $\log(x)$ .

Tendo em vista o pequeno tamanho amostral da análise de hidrocarboneto total do petróleo (HTP), optou-se pela utilização do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para as análises de HTP, sendo adotado o nível de significância de 5% ( $\alpha < 0,05$ ).

A interpretação de teste de Kruskal-Wallis é basicamente igual ao teste paramétrico ANOVA, exceto pelo fato de que é baseado em pontos de observações e não em médias.

A estatística não-paramétrica representa um conjunto de ferramentas de uso mais apropriado quando não se conhece o tipo de distribuição da população e/ou quando o tamanho da amostra analisada é pequeno, impossibilitando a suposição da condição de que os dados seguem o padrão de distribuição normal.

Foram realizadas as análises estatísticas utilizando as planilhas do *Microsoft Office Excel 2003*.

## 2.6 Valores de referência

Os valores dos contaminantes avaliados foram comparados, quando possível, a diferentes concentrações tidas como valores de referência. Foram utilizados os valores do “*Relatório de Estabelecimento de Valores Orientadores para Solo e Água subterrâneas no Estado de São Paulo*” (CETESB, 2005), denominada neste trabalho “Lista da CETESB”, por serem do órgão ambiental responsável pelo Estado de São Paulo.

O monitoramento de HTP, objetivo desta dissertação, foi comparado com os valores da “Lista Holandesa de Valores de Qualidade do Solo e da Água Subterrânea”, uma vez que é a recomendação da CETESB nos casos onde a sua lista não apresenta valores orientadores. A Holanda estabelece um limite de intervenção para os óleos minerais de  $5.000 \text{ mg kg}^{-1}$  de solos contaminados (LECOMTE e MARIOTTI, 1997 *apud* SEABRA, 2005). Ressalta-se que, quando foram utilizados os valores de referência da Lista Holandesa, por causa das propriedades do solo em estudo, foi levado em consideração um solo padrão com 25% de argila e 10% de matéria orgânica.

Os valores orientadores da CETESB têm as seguintes definições:

- (i) *Valor de referência de Qualidade -VRQ*, que indica um nível de qualidade do solo limpo. É avaliado com base em interpretações estatísticas de análises físico-químicas de amostras de diversos tipos de solos do Estado de São Paulo. Deve ser utilizado como referência nas ações de prevenção da poluição de solo;
- (ii) *Valor de intervenção - VI*, que indica um nível de qualidade de solo acima do qual existem riscos para a saúde humana e para o ambiente. Foram estabelecidos três cenários para diferentes usos de solo: áreas agrícolas e áreas de proteção máxima - APM<sub>ax</sub>, áreas residenciais e áreas industriais;
- (iii) *Valor de Prevenção - VP*, que é um valor intermediário entre os valores de referência e intervenção. Este valor indica a qualidade de um solo capaz de sustentar as suas funções primárias, de forma a proteger os receptores ecológicos. Tem como objetivo orientar a introdução de substâncias no solo, como aplicação de lodo de estação de tratamento, a aplicação de insumos agrícolas fabricados a partir de resíduos industriais, avaliação da qualidade de solos utilizados em disposição final e a avaliação de fonte de contaminação por deposição atmosférica de material particulado.

Apresenta-se em anexo (Tabela 21 – ANEXO A), os valores de orientadores para solos no Estado de São Paulo (CETESB, 2005).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Caracterização do solo de estudo, do RSU e do OLUC.

##### 3.1.1. Caracterização do solo de estudo *in natura*.

A caracterização físico-química e biológica do solo *in natura* (sem contaminação) está apresentada na Tabela 11.

Tabela 11. Caracterização física, química e biológica do solo *in natura*.

Composição granulométrica da terra fina dispersão com NaOH /calgon (g Kg <sup>-1</sup> )	Areia 2-0,05 mm	888
	Silte 0,05-0,002 mm	72
	Argila <0,002 mm	40
% Silte / % Argila		1,8
Densidade (g cm <sup>-3</sup> )	Solo	1,43
	Partículas	2,9
Porosidade total (%)		50,69
Constantes hídricas (g 100 g <sup>-1</sup> de solo)	Umidade 0,033 Mpa	3,8
	Umidade 1,5 Mpa	1,5
	Água disponível máxima	2,2
Capacidade de campo (%)		30
pH (1:2,5) – (Solo : Solução)	Água	5,7
	KCl (1N)	5,5
Complexo Sortivo (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Ca <sup>2+</sup>	0,9
	Mg <sup>2+</sup>	0,03
	K <sup>+</sup>	0,05
	Na <sup>+</sup>	0,02
	Valor S (soma)	1,00
	Al <sup>3+</sup>	0,00
	H <sup>+</sup>	1,50
	Valor T (soma)	2,50
<b>Nutrientes</b>		
Fósforo assimilável (g kg <sup>-1</sup> )		0,076
Carbono orgânico (g kg <sup>-1</sup> )		3,6
Matéria Orgânica (g kg <sup>-1</sup> )		7,2
Nitrogênio total (g kg <sup>-1</sup> )		0,5
Relação C:N		7,2
População heterotrófica total UFC g <sup>-1</sup> de solo		4,45 x 10 <sup>6</sup>

Notas: Valor S (S) = Soma de bases trocáveis (Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, K<sup>+1</sup>, Na<sup>+1</sup>); Valor T = Soma das bases trocáveis mais a acidez potencial (S + H<sup>+</sup> + Al<sup>3+</sup>)

De acordo com a Tabela 18 o solo de estudo *in natura* apresentou uma proporção de areia superior a 80% do total, evidenciando uma textura arenosa do mesmo. Tal textura, por sua vez, apresenta aspectos importantes para o processo de biodegradação. Normalmente, os solos arenosos apresentam melhores taxas de aeração e uma distribuição mais uniforme de nutrientes e água, em função do maior tamanho de suas partículas e do seu espaço poroso (predomínio de macroporos) (ELEKTOROWICZ, 1993).

Segundo Sheffer (1998) e Kiehl et al., (1979), tanto a textura quanto a porosidade do solo influenciam diretamente na densidade e permeabilidade deste, o que por sua vez reflete na distribuição de gases e água. Quanto maior a densidade do solo mais compacto será o mesmo e menor será a sua porosidade. Dessa forma, solos arenosos podem ser tratados mais facilmente quando comparados aos solos com frações mais finas constituído por uma porcentagem maior de silte e argila. Os mesmos autores ressaltam também que a textura influencia diretamente na capacidade de retenção do contaminante. Assim, solos argilosos são capazes de reter mais facilmente uma quantidade maior do contaminante por meio do processo de adsorção.

A determinação da capacidade de campo (CC), conjuntamente com a textura e a porosidade são de fundamental importância na aplicação do processo de biorremediação em solos contaminados. Tal parâmetro permite o conhecimento do teor máximo de água que o solo é capaz de reter, sendo bastante utilizado para ajustar a umidade do mesmo (BAPTISTA, 2003; SEABRA, 2005; CHAGAS-SPINELLI, 2007). Normalmente, a literatura tem reportado teores ideais de água no solo para a atividade microbiana na faixa de 12% a 30% (m.m<sup>-1</sup>), o que corresponde a 40% - 85% da capacidade de campo (SILVA, 2004).

O pH do solo do presente estudo apresentou-se moderadamente ácido - 5,7 em água e 5,5 em KCl - estando ambos os valores abaixo da faixa ótima de pH reportada na literatura para processos de biorremediação (6,5 a 8,5) (SARKAR et al., 2005). Tal fato, por sua vez, poderia restringir a atividade e o crescimento microbiano, principalmente bacteriano (SARKAR et al., 2005). Por esse motivo, o solo teve o pH ajustado para aproximadamente 7,0, antes do início dos ensaios de biodegradação.

De acordo com a Tabela 18, a capacidade de troca catiônica (CTC) ou valor T do solo de estudo apresentou argila de baixa atividade ( $T < 27$  cmolc/kg). Esse resultado reflete que, sob condições naturais ácidas, o solo de estudo apresenta baixa capacidade para reter cátions. Segundo CHAGAS-SPINELLI (2007), altas concentrações de argila de baixa atividade resultam em uma CTC semelhante à de solos arenosos, fato que ressalta a textura arenosa do solo estudado. Cabe mencionar que a capacidade de troca catiônica indica uma intensa



lixiviação dos cátions  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $K^{+}$  e  $Na^{+}$  trocáveis, indicando que este solo possui baixa fertilidade e elevado grau de intemperismo (MEURER, 2004).

A relação nutricional C:N:P do solo *in natura* apresentou-se em torno de 100:13,6:2,1. Tal relação foi calculada a partir dos resultados de carbono orgânico, nitrogênio e fósforo assimilável, que foram respectivamente de:  $3,6 \text{ g kg}^{-1}$ ,  $0,5 \text{ g kg}^{-1}$  e  $76 \text{ mg Kg}^{-1}$ . A relação recomendada pela EPA (1994) de Carbono, Nitrogênio e Fósforo para manter um crescimento microbiano adequado e manter o processo de biodegradação do solo contaminado encontra-se na faixa de 100:10:1 a 100:1:0,5.

Ainda, segundo U.S.EPA (2004), para que biopilhas sejam efetivas, a quantificação mínima de microrganismos heterotróficos no solo deve ser de  $10^3 \text{ UFC g}^{-1}$ . O solo de estudo *in natura* apresentou uma população heterotrófica total (PHT) de  $4,45 \times 10^6 \text{ UFC g}^{-1}$  de solo, mostrando-se inicialmente bastante satisfatória ao processo de biorremediação.

### 3.1.2 Caracterização do OLUC

Em relação ao perfil do OLUC, está apresentada na Figura 28 a quantificação dos HTPs e suas frações presentes no OLUC. Na Figura 29 estão apresentadas as concentrações de n-alcenos e os isoprenóides pristano (2,6,10,14-tetrametil-pentadecano) e fitano (2,6,10,14-tetrametil-hexadecano). As Tabelas 22, 23 e 24, no Anexo B, apresentam os componentes orgânicos voláteis (VOCs), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e metais tóxicos.

Na Figura 28 observou-se uma considerável presença de hidrocarbonetos de petróleo, porém, as Tabelas 22, 23 e 24 não apresentam quantidades significativas de VOCs, HPAs e metais tóxicos quando adicionado 10 % ( $\text{m m}^{-1}$ ) de OLUCs ao solo, o que torna dispensável o monitoramento destes contaminantes (VOCs, HPAs e metais tóxicos).

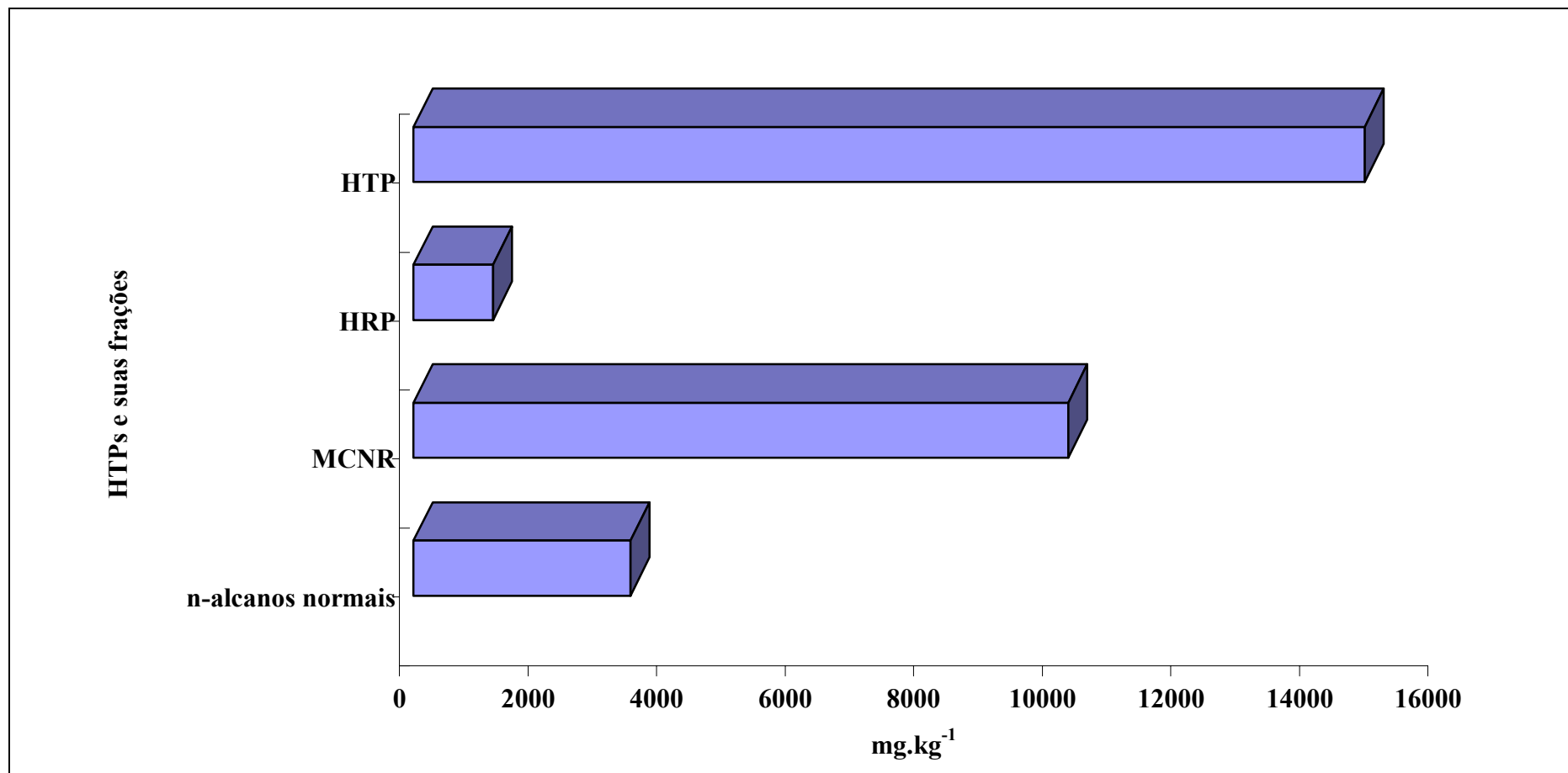


Figura 28. Caracterização do OLUK em relação aos HTP (hidrocarbonetos totais do petróleo), HRP (hidrocarbonetos resolvidos do petróleo) e MCNR (mistura complexa não-resolvida).

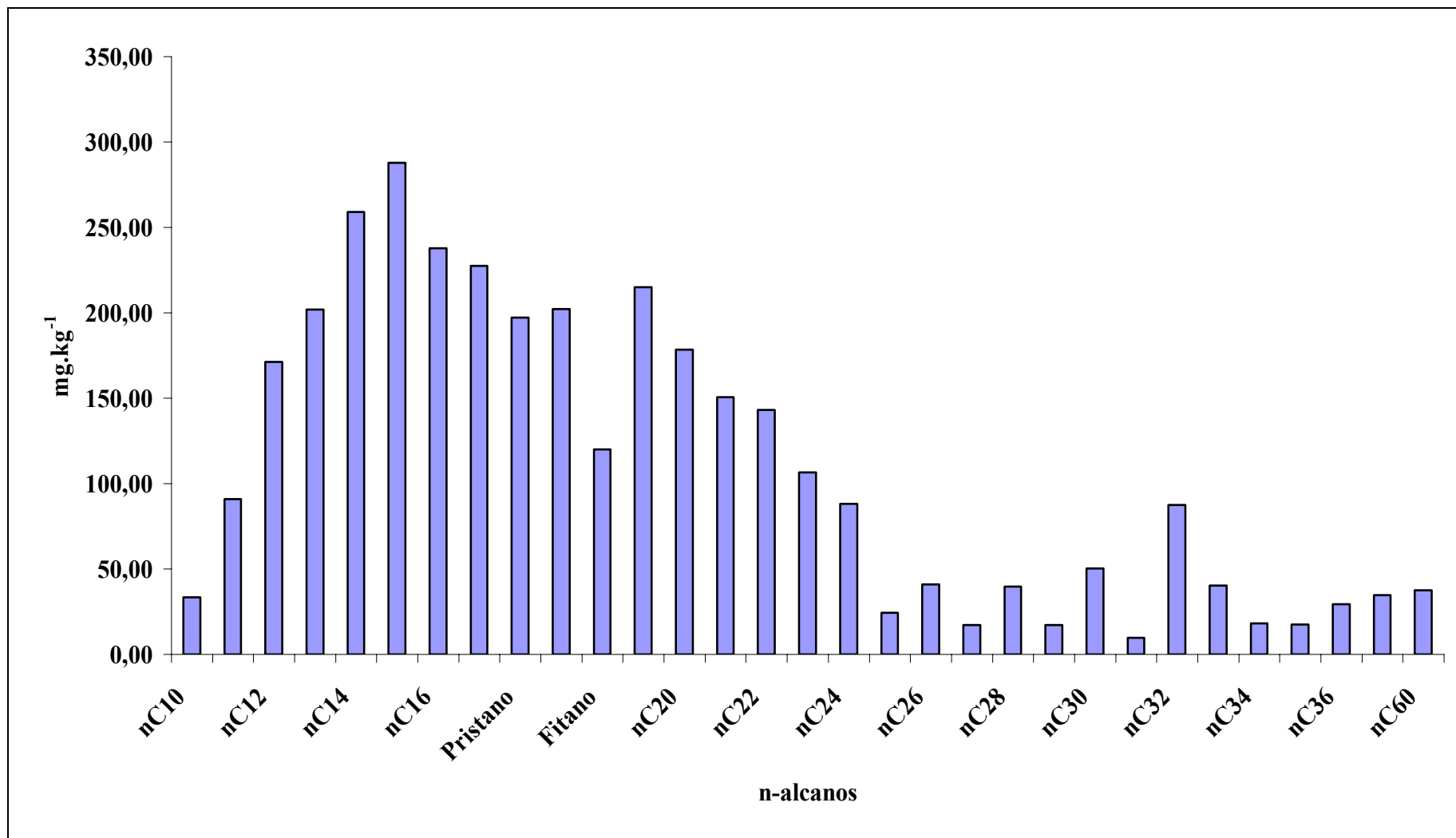


Figura 29. Caracterização do OLUC em relação aos n-alcenos e os isoprenóides pristano (2,6,10,14-tetrametil-pentadecano) e fitano (2,6,10,14-tetrametil-hexadecano).

### 3.1.3 Caracterização do RSU (Compostagem)

As Tabelas 12, 13 e 14 apresentam as propriedades físicas e químicas da compostagem de resíduos sólidos urbanos utilizados nos experimentos de biodegradação. Ressalta-se que ambos os compostos apresentaram-se com alto grau de mineralização, ou seja, taxa de C:N = 10,5:1 e 14:1, respectivamente  $RSU_{matu}$  e  $RSU_{semi-matu}$ , com o teor de nitrogênio suficiente para ser utilizado como fertilizante e teores de metais tóxicos dentro dos limites aceitáveis para uso como condicionador de solos. Em relação à população heterotrófica total foi apresentada uma concentração igual a  $4,28 \times 10^8$  UFC  $g^{-1}$  para  $RSU_{matu}$  e a  $2,29 \times 10^9$  UFC  $g^{-1}$  para  $RSU_{semi-matu}$ .

Tabela 12. Análises granulométricas dos compostos utilizados.

Abertura da peneira (mm)	% de amostra retida por peneira (base seca)	
	$RSU_{matu}$	$RSU_{semi-matu}$
1 ½ (38,1 mm)	0,00%	0,00%
1 (25,4 mm)	1,15%	0,00%
¾ (19,4 mm)	1,18%	0,00%
½ (12,7 mm)	6,34%	0,00%
⅜ (9,52 mm)	6,14%	0,00%
4 (4,76 mm)	18,62%	8,92%
8 (2,38 mm)	27,19%	32,66%
FUNDO	39,38%	58,42%
Total	100,00%	100,00%

Tabela 13. Composições dos inertes dos compostos utilizados.

Material	%	
	$RSU_{matu}$	$RSU_{semi-matu}$
Vidro	47,92	76,77
Metal	2,56	0,00
Pedra/Louça	25,33	21,16
Plástico filme	5,45	0,00
Plástico duro	16,40	2,07
Tecido	2,34	0,00
Total	100,00	100,00

Tabela 14. Caracterização física, química dos compostos da Comlurb produzidos na Estação de Compostagem do Caju ( $RSU_{matu} = 60$  dias e  $RSU_{semi-matu} = 210$  dias de compostagem).

Análises Físico-Químicas				
Parâmetros	$RSU_{semi-matu}$	$RSU_{matu}$	Limites para Composto Orgânico	
Tempo de compostagem (dias)	62	214	I. N.**	USEPA ***
pH (em solução $\text{CaCl}_2$ 0,01 M)	8,38	8,09	Mínimo 6,50	-
Peso específico ( $\text{kg.m}^{-3}$ ou $\text{g.L}^{-1}$ )	412,50	463,75	-	-
Teor de umidade (%)	39,86	42,32	Máximo 50%	-
Matéria Orgânica Total (% base seca)	62,94	34,86	Mínimo 40%	-
Nitrogênio total (% N, base seca)	2,5	1,85	Mínimo 1%	-
Carbono total (% C, base seca)	34,97	19,37	-	-
Relação C:N	14:1	10,5:1	Máximo 18:1	-
Ca (% Cão, base seca)	6,41	1,26	-	-
K (% $\text{K}_2\text{O}$ , base seca)	0,71	1,01	-	-
Fe ( $\text{mg.kg}^{-1}$ , base seca)	11875,00	13150,00	-	-
Cr ( $\text{mg.kg}^{-1}$ , base seca)	N.D.*	96,00	-	Máximo 500
Pb ( $\text{mg.kg}^{-1}$ , base seca)	N.D.*	224,00	-	Máximo 300
Zn ( $\text{mg.kg}^{-1}$ , base seca)	425,00	850,00	-	Máximo 2.800
Cu ( $\text{mg.kg}^{-1}$ , base seca)	125,00	302,00	-	Máximo 1.500
Ni ( $\text{mg.kg}^{-1}$ , base seca)	125,00	78,00	-	Máximo 175
Na ( $\text{mg.kg}^{-1}$ , base seca)	6375,0	7250,00	-	-
Inertes (% base seca)	7,29	15,54	-	-

Notas: (\*) = não detectado; (\*\*) = Instrução Normativo no. 23 de 31 de agosto de 200; (\*\*\*) = Instrução Normativa no. 27 de 05 de junho de 2006 (USEPA Part 503)

### 3.2 Primeiro experimento: Ensaio de biodegradação em respirômetros de Bartha

#### 3.2.1 Quantificação do carbono biodegradado

A Figura 30 ilustra a quantidade acumulada de C-CO<sub>2</sub> produzida por biodegradação durante os 30 dias de experimento.

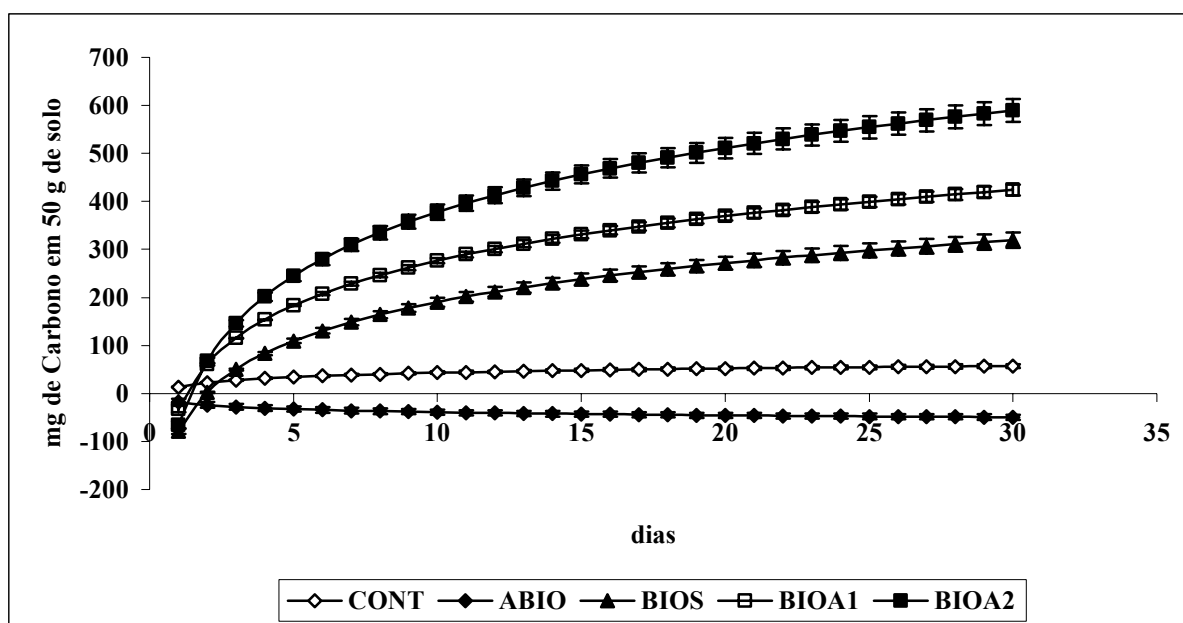


Figura 30. Quantidade acumulada de CO<sub>2</sub> produzida por biodegradação durante os 30 dias.

Observa-se na Figura 30 que a incorporação dos 5 % (m m<sup>-1</sup>) de OLU ao solo, associado ou não a adição do resíduo, proporcionou alterações na produção e acumulação do C-CO<sub>2</sub> quando comparada ao solo controle sem contaminação e sem resíduo. O tratamento BIOA<sub>2</sub> (óleo e composto semi-maturado) foi o que apresentou a maior produção acumulada de C-CO<sub>2</sub> por biodegradação aos 30 dias de incubação (589,42 mg 50g<sup>-1</sup>), seguido do tratamento BIOA<sub>1</sub> (423,89 mg 50g<sup>-1</sup>). O bioestímulo (BIOS), por sua vez, apresentou uma produção acumulada de C-CO<sub>2</sub> por biodegradação de 318,88 mg 50g<sup>-1</sup> e o controle abiótico (ABIO) apresentou valor negativo de 49,29 mg 50g<sup>-1</sup>. Este valor negativo ocorreu devido à produção de C-CO<sub>2</sub> do processo abiótico ser inferior à produção observada no controle (solo sem óleo). Dentre todos os tratamentos, o controle de processo abiótico (ABIO) foi o único que apresentou produção de C-CO<sub>2</sub> menor que a do controle (CONT), durante toda a incubação. Segundo Ciannella (2010), tal comportamento sugere um efeito tóxico da azida sódica em relação à atividade microbiana, confirmando assim, sua eficácia na esterilização de

solos para fins de controle de processos microbiológicos. Cabe ressaltar que esta afirmação está baseada apenas na produção de CO<sub>2</sub> observada para esse tratamento.

No gráfico que representa a quantidade acumulada de CO<sub>2</sub> (Figura 30) observa-se curvas de inclinação mais elevadas nos primeiros 10 dias para os tratamentos BIOS, BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub>, sugerindo que não houve uma fase de adaptação dos microrganismos (fase *lag*) nos referidos tratamentos. Ressalta-se, no entanto, que após 24 horas de incubação, os tratamentos BIOS, BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub> apresentaram uma produção de CO<sub>2</sub> menor que a do respirômetro-controle (CONT) (Figura 31), o que pode indicar um curto período de aclimação, no qual os microrganismos estariam rearranjando seu sistema enzimático, a fim de dar início à metabolização do substrato disponível (ANDRADE, 2008). Vale ressaltar que as técnicas analíticas podem ter influenciado.

De acordo com a análise estatística, o intervalo de confiança para as médias de quantificação acumulada de CO<sub>2</sub> durante o tempo de incubação mostrou que todos os tratamentos foram estatisticamente diferentes ( $\alpha < 0,05$ ), apresentando a seguinte ordem decrescente de produção acumulada de CO<sub>2</sub>: BIOA<sub>2</sub> > BIOA<sub>1</sub> > BIOS > CONT > ABIO. Como esperado, os tratamentos onde ocorreu bioaumento com composto de RSU apresentaram melhores condições iniciais devido à adição de comunidades microbianas, nutrientes e células mais jovens presentes no composto. Ao longo do período espera-se que as diferenças existentes entre os tratamentos apenas bioestimulados (BIOS) e aqueles que receberam bioestímulo e bioaumento (BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub>) desapareçam, devido à redução da biodisponibilidade das fontes de carbono remanescentes (SEABRA, 2005).

### 3.2.2 Eficiência da biodegradação a partir da produção de CO<sub>2</sub>

Através da quantificação total de C-CO<sub>2</sub> produzido para cada condição testada, ao final da fase de avaliação foi verificada a eficácia de inclusão da matéria orgânica biodegradada à biomassa, por meio do cálculo da eficiência de biodegradação. A Figura 31 apresenta a eficiência de biodegradação nos tratamentos.

A eficiência de remoção foi utilizada como variável resposta, a qual é necessária para definir o ensaio em escala piloto. Através deste ensaio realizado durante 30 dias foram estimadas as eficiências para estes tratamentos BIOS (32,17%), BIOA<sub>1</sub> (35,60%) e BIOA<sub>2</sub> (54,74%).

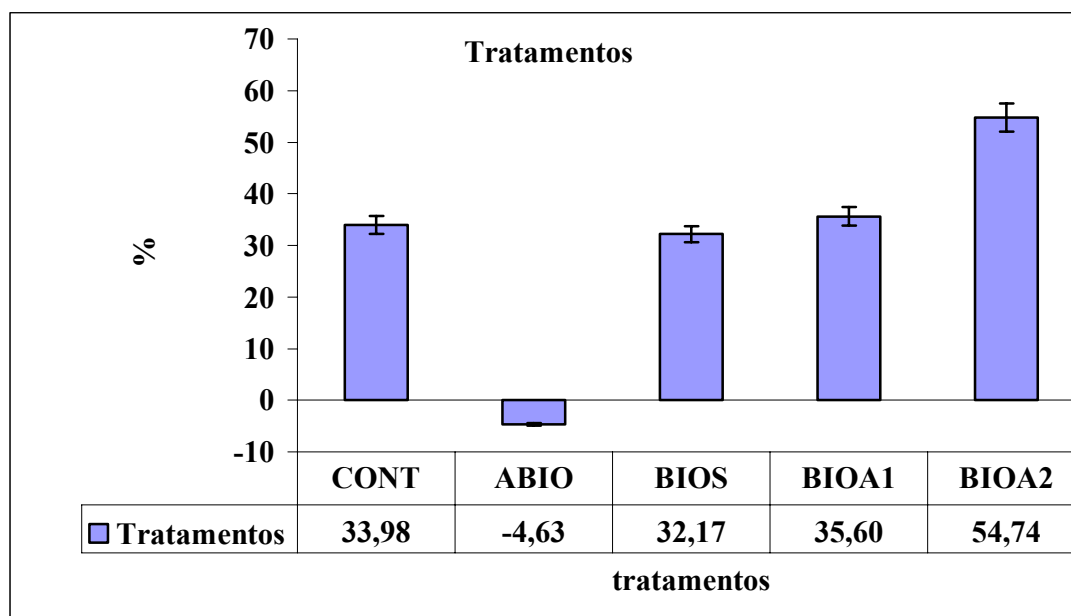


Figura 31. Eficiência nos tratamentos em 30 dias de ensaio respirométrico.

Devido o objetivo de avaliar o efeito da adição de RSU em estágios de maturação diferenciados, comparando com a estratégia de bioestímulo e, com base nesses resultados, decidiu-se realizar o estudo de biorremediação em escala piloto somente para os tratamentos BIOS, BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub>. Para o processo abiótico (ABIO) e o controle (CONT) procedeu-se o ensaio em escala de bancada sem aeração. Foi adicionado à escala de bancada um biorreator com tratamento bioestímulo sem aeração.

Os altos valores encontrados para a eficiência dos tratamentos podem ser atribuídos ao fato de se tratar de um solo extremamente arenoso, o que possibilita o fluxo de nutrientes e água, além de facilitar a disponibilidade do contaminante aos microrganismos presente no meio. O pH está dentro de uma faixa considerada ótima para o crescimento microbiano, fato que facilita a remoção do contaminante. E é provável que a alta eficiência inicial seja decorrente da biodegradação dos compostos mais facilmente biodegradáveis (SEABRA, 2005).

Os resultados de eficiência apresentados na Figura 31 para os tratamentos BIOA<sub>2</sub>, BIOS e BIOA<sub>1</sub> aproximaram-se dos valores encontrados por Coneglian et al., (2006), os quais verificaram a biodegradação de borra oleosa resultante do processo de refino de petróleo e do lodo biológico resultante de tratamento do efluente industrial de uma refinaria, observando que nos primeiros 20 dias de incubação ocorreu uma remoção de 65%, 59% e 55%, quando se aplicou 4%, 8% e 12% de borra óleo, respectivamente.



Diferentemente, Seabra (2005) que avaliou a evolução da percentagem da biodegradação do carbono presente no solo argiloso contaminado pelo óleo cru a 3% (m m<sup>-1</sup>), estimulado pela adição de composto 10% (m m<sup>-1</sup>), observou após 67 dias de experimento uma remoção de 13,3%. Sugere-se que tal diferença de remoção, assim como no presente estudo, seja devido à textura do solo e percentagem de concentração do contaminante (CONEGLIAN et al.; RIZZO et al., 2006).

### 3.2.3 Estudo cinético

A degradação do carbono orgânico no presente estudo foi explicada através de uma reação de primeira ordem, sendo que os valores acumulados de massa de CO<sub>2</sub> produzido durante a incubação do solo contaminado foram ajustados ao modelo. A Tabela 15 apresenta os valores de concentração de carbono inicial degradado (mg C 50 g<sup>-1</sup> de solo), constantes de biodegradação (*k*) e dos respectivos ajustes de reta (*r*<sup>2</sup>) obtidos para cada um dos tratamentos adotados. Na mesma tabela estão representados também os valores de meia-vida de degradação.

Tabela 15. Os valores de carbono inicial degradado (mg C 50 g<sup>-1</sup> de solo), constantes de biodegradação (*k*), tempo de meia-vida e respectivos ajustes de reta (*r*<sup>2</sup>).

Tratamentos	$C_x = C_0 \times e^{-kt}$			
	C <sub>0</sub> (mg 50g <sup>-1</sup> de solo)	<i>k</i> (dia <sup>-1</sup> )	Meia-vida (dias)	<i>r</i> <sup>2</sup>
BIOA <sub>2</sub>	4,6528	0,0734	9	0,8729
BIOS	4,5449	0,0479	15	0,9502
BIOA <sub>1</sub>	4,0147	0,0459	14	0,9322
ABIO	4,7570	0,0144	48	0,9445

A cinética de biodegradação foi mais acelerada no tratamento BIOA<sub>2</sub>, seguida dos tratamentos BIOS e BIOA<sub>1</sub>, que não apresentaram diferença significativa entre si. Os valores das constantes de biodegradação (dia<sup>-1</sup>) destes tratamentos foram 0,0734, 0,0479 e 0,0459, respectivamente. Entre os tratamentos, o processo abiótico (ABIO) foi o que apresentou uma resposta menos eficaz, o que já era esperado devido à baixa atividade microbiana apresentada.

Os valores de *k* apresentados na Tabela 15 para os tratamentos BIOA<sub>2</sub>, BIOS e BIOA<sub>1</sub> corroboram com os valores encontrados por NAMKOONG et al., (2002), os quais estudaram

o uso de lodo de esgoto e composto na biorremediação de solo contaminado com óleo diesel, obtendo coeficientes de remoção ( $k$ ) para os hidrocarbonetos de petróleo total (HTP) na faixa de 0,036 a 0,124 dia<sup>-1</sup>.

Avaliar a meia-vida do contaminante é relevante para a degradação da fração de fácil biodegradação, de forma que, neste estudo, foi possível estimar que nos primeiros quinze dias de incubação metade do carbono inicial do solo ( $C_0$ ) foi liberada na forma de C-CO<sub>2</sub>, evidenciado, primeiramente, uma fase de rápida degradação, seguida de outra mais lenta e de estabilização dos fluxos de C-CO<sub>2</sub>. Esse comportamento é comum quando são adicionados resíduos orgânicos a solos agrícolas (SANTOS et al., 2002).

### **3.3 Segundo experimento: Ensaio de biodegradação em biorreatores - bancada e piloto**

#### **3.3.1 Caracterização dos tratamentos no início do experimento ( $t_0=0$ dia)**

A caracterização física, química e biológica do solo contaminado no interior de cada biorreator está apresentada na Tabela 16.

A temperatura é um fator determinante da população microbiana durante toda biodegradação, sendo um excelente agente indicador do perfil microbiano durante o processo. Em baixas temperaturas ( $\leq 0$  °C), por exemplo, somente determinados grupos microbianos classificados como psicrófilos podem sobreviver. Em temperaturas na faixa de 20-42 °C encontram-se os mesófilos. Até 50 °C sobrevivem os termotolerantes e acima de 85 °C temperatura os hipertermofílicos (MARGESIN e SCHINNER, 2001).

A temperatura do solo é um dos parâmetros fundamentais no controle da atividade microbiana e das taxas de biodegradação da matéria orgânica. Tal parâmetro também tem influência no perfil da microbiota. Neste estágio inicial do ensaio a temperatura da massa do solo no centro dos biorreatores de bancada e piloto variou entre 29°C e 31°C.

No início do experimento todos os biorreatores mostraram valores de umidade (W) em torno de 30% da capacidade de campo. Segundo Alexander (1999), os solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo apresentam, normalmente, ótimas taxas de biodegradação quando o teor de umidade situa-se entre 30 a 90 % da capacidade de campo do solo. Entretanto, o valor ótimo desse parâmetro dependerá das propriedades do solo e do contaminante em questão.

As densidades iniciais do solo de cada um dos biorreatores foram consideradas baixas quando comparadas ao solo sem contaminação (*in natura*). Isso se deve à presença de hidrocarbonetos que proporcionam a diminuição da densidade do solo, devido à densidade do contaminante ser inferior a do solo.

O pH inicial do solo nos biorreatores apresentou variações entre 6,5 e 8,8. Estes valores estão dentro de uma faixa ótima reportada na literatura, que é de 6,5 a 8,5 (SARKAR et al., 2005). A exceção é o biorreator de controle de processos abióticos (ABIO<sub>sa</sub>) que apresentou valor de pH igual a 8,8. O pH do solo tem ação direta na atividade metabólica da microbiota, pois em pH abaixo de 4,2 alguns metais são disponibilizados em solução, o que torna o ambiente tóxico para uma grande parte da comunidade microbiana. (SIDDIQUE et al., 2002).

Em relação ao carbono orgânico total e, tendo em vista o aumento da quantidade disponível deste para degradação microbiana ocasionada pela introdução do OLU (5% m m<sup>-1</sup>), foi observada uma relação inferior ao solo *in natura* apresentado posteriormente. Entretanto, nesse caso, tanto os teores de nitrogênio quanto de fósforo estariam bem próximos da razão 100:1:0,5, considerada adequada para biodegradação de hidrocarbonetos pela U.S.EPA (2004). Por isso, optou-se por não bioestimular o solo após sua contaminação pela adição de nutrientes. Além disso, em altas concentrações de contaminação com compostos orgânicos, a relação C:N:P não pode ser ajustada, uma vez que a quantidade de carbono é muito alta e a adição de nitrogênio e de fósforo nessas proporções poderia levar a uma salinização do solo (SEMPLE et al., 2001). Salienta-se que as taxas nutricionais ótimas dependem essencialmente do tipo, da concentração e da biodisponibilidade do contaminante, fatores abióticos (textura do solo, pH, temperatura, umidade, entre outros) e microrganismos envolvidos na biodegradação. Sendo assim, as taxas indicadas na literatura têm sido extremamente variadas, além de serem muito específicas para cada condição de estudo (TRINDADE, 2002; CIANNELLA, 2010). A relação nutricional mais utilizada em certas condições é 100:10:1, porém, não deve ser considerado que 100% do carbono quantificado está disponível para total assimilação da biomassa, pois, dependendo do contaminante, parte do carbono orgânico possui componentes recalcitrantes e de difícil mineralização. Ressaltar-se que a determinação da melhor relação nutricional não foi alvo de estudo da presente dissertação.

Em relação à população microbiana heterotrófica total, detectou-se no dia 0 a presença de microrganismos heterotróficos no biorreator BIOA<sub>2ca</sub> ( $2,30 \times 10^8$  UFC g<sup>-1</sup>) levemente superior ao tratamento BIOA<sub>1ca</sub> ( $4,30 \times 10^7$  UFC g<sup>-1</sup>), devido à adição de composto semi-

maturado. O solo sem contaminação apresentou uma quantificação de microrganismos heterotróficos totais superiores a  $10^3$  UFC  $g^{-1}$ , e ao acrescentar o contaminante alterações significativas pode ser observadas nos biorreatores BIOS<sub>sa</sub> e BIOS<sub>ca</sub>, apresentando  $3,20 \times 10^6$  UFC. $g^{-1}$  e  $2,00 \times 10^5$  UFC. $g^{-1}$ , respectivamente.

Tabela 16. Caracterização do solo contaminado no início do experimento ( $t_0 = 0$  dia) representado pela média das triplicatas.

Tratamentos	Parâmetros						
	Físicos			Químicos			Biológico
	T (°C)	CC (%)	W (%) *	$\rho$ ( $g.cm^{-3}$ )	pH (KCl)	C:N:P	PHT (UFC $g^{-1}$ )
CONT <sub>sa</sub>	30	30,0	13,0	1,81	7,69	100:13,6: 2,1	$4,45 \times 10^6$
BIOS <sub>sa</sub>	30	28,6	8,5	1,29	6,5	100:5,8:0,05	$3,20 \times 10^6$
ABIO <sub>sa</sub>	29	28,6	8,5	1,29	8,79	100:9,3:0,05	$6,00 \times 10^5$
BIOS <sub>ca</sub>	31	28,6	8,5	1,29	6,59	100:5,8:0,05	$2,00 \times 10^5$
BIOA <sub>1ca</sub>	30	39,01	11,3	1,17	7,86	100:7,1:0,10	$4,30 \times 10^7$
BIOA <sub>2ca</sub>	29	42,29	12,75	1,21	7,52	100:7,8:0,10	$2,30 \times 10^8$

Notas: T = temperatura; CC = Capacidade de campo; W = Umidade;  $\rho$  = densidade de partículas; PHT = População heterotrófica tota

Ciannella (2010), que avaliou a eficácia de diferentes estratégias de biorremediação no tratamento de solo contaminado por óleo diesel B5 em microcosmos, também observou no início do experimento uma quantificação de microrganismos heterotróficos totais na ordem de  $10^6$  em todos os seus tratamentos, exceto no tratamento de controle de processos abióticos.

Observou-se a presença de microrganismos heterotróficos total no controle de processos abióticos (ABIO), ao qual foi adicionado ázida sódica a 0,3 % ( $m.m^{-1}$ ), que indica a possibilidade de quantidade insuficiente de ázida acrescentada para garantir a eliminação total dos microrganismos presentes no solo, contrariando o que foi observado no primeiro experimento quando foi apenas observado a produção de  $CO_2$ .

O crescimento microbiano no controle de processos abióticos, também observado nos trabalhos de Ciannella (2010), Seabra (2005) e Trindade (2002), empregando adição de 0,3 % ( $m.m^{-1}$ ) de azida sódica na eliminação da população microbiana, pode ter ocorrido devido à quantidade de azida sódica adicionada não ter sido o suficiente para eliminar esses microrganismos, permitindo que os mesmos sobrevivessem em estado latente.

### 3.3.2 Monitoramento das variáveis dos tratamentos de biodegradação

#### 3.3.2.1 Temperatura

Segundo Miroslav et al., (1996), a faixa de temperatura de 30°C a 40°C é considerada ideal à biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo. A temperatura do solo durante o processo de biorremediação é fundamental para controlar a biodegradação da matéria orgânica e da atividade microbiana. Um aumento de 10°C na temperatura proporciona uma maior atividade enzimática e microbiana (USEPA, 2004).

A Figura 32 apresenta os resultados do comportamento de temperatura no centro de massa dos biorreatores (bancada e piloto) os 180 dias de experimento.

Em todos os biorreatores (bancada e piloto) a temperatura apresentou uma variação dentro da faixa mesofílica de compostagem (20 - 42°C). As temperaturas maiores na etapa inicial podem estar relacionadas a maiores atividades microbianas nesta etapa. Em estudos com biopilhas, Kastner (2000) recomenda temperaturas na faixa de 25 a 35° C para a degradação biológica de contaminantes.

Os biorreatores de bancada apresentaram temperaturas mais elevadas pela ausência de um sistema de irrigação automatizado. Os biorreatores CONT<sub>sa</sub>, ABIO<sub>sa</sub> e BIOS<sub>sa</sub>, de bancada, não apresentaram diferença durante o monitoramento, sendo observada uma faixa de temperatura mais elevada durante todo o ensaio. Essa escala de biorreatores apresentou variação de temperatura entre 25 a 30°C, permanecendo em uma fase mesófila.

Os biorreatores piloto apresentaram uma variação de temperatura entre eles, variando de 23,8 a 27,5°C. De acordo com Mueller et. al., (1996), há anos se obtém sucesso na remediação de áreas contaminadas por HTP sob condições mesofílicas.

O experimento foi realizado no laboratório, em temperatura ambiente (28 ± 3 °C).

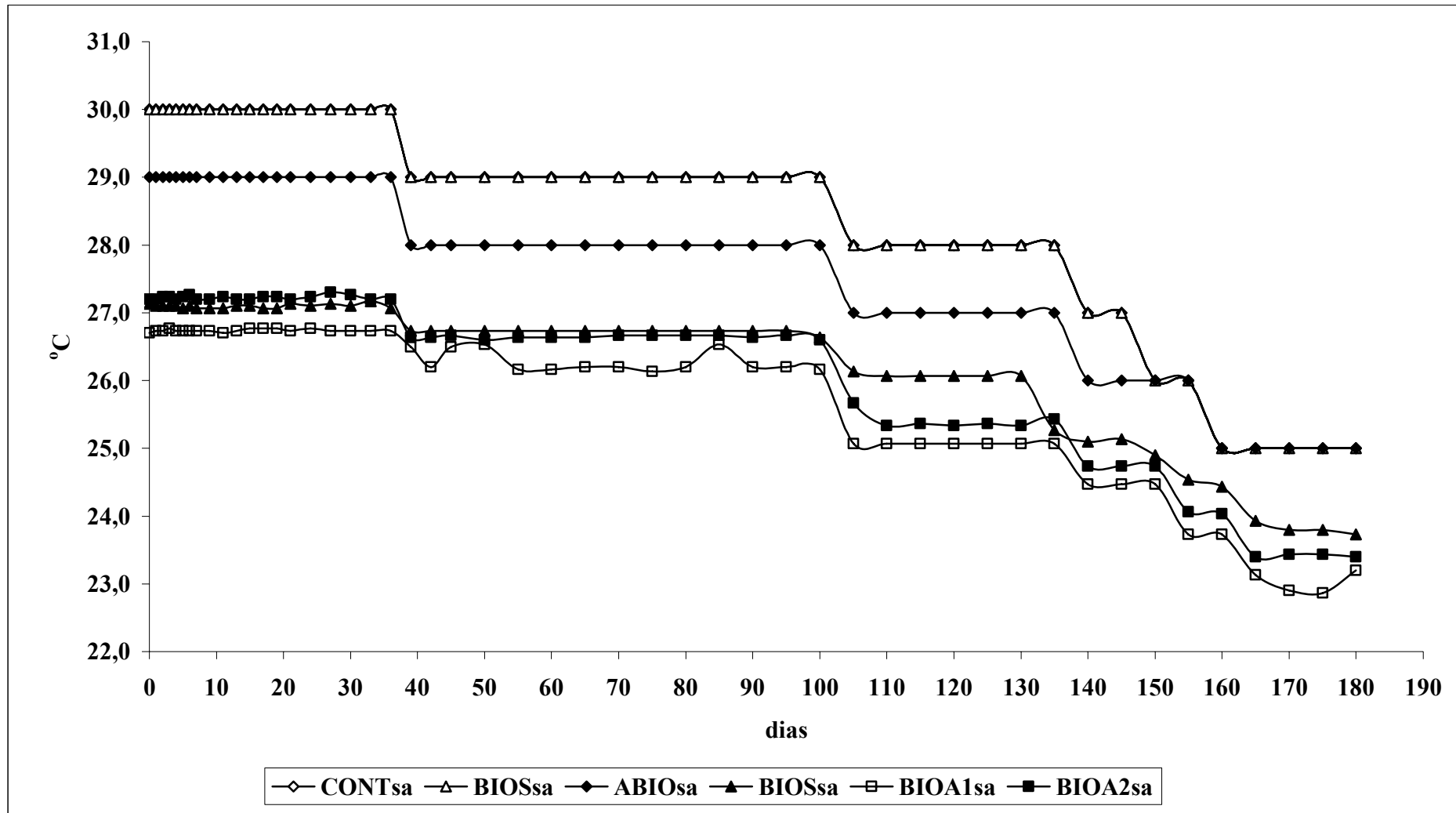


Figura 32. Temperatura do solo no interior dos biorreatores (piloto e bancada) durante 180 dias de experimento.

## 3.3.2.2 Umidade

A Tabela 17 apresenta os resultados de umidade do solo e da capacidade de campo de cada um dos biorreatores (bancada e piloto) durante os 180 dias de experimento. Os valores apresentados correspondem à média diária nos intervalos: 0d, 30d, 60d, 90d, 120d e 180d.

Tabela 17. Capacidade de campo e umidade dos solos dos biorreatores durante os seis meses de experimento (valores médios a partir de triplicatas).

temp	Parâmetros	CONT <sub>sa</sub>	BIOS <sub>sa</sub>	ABIO <sub>sa</sub>	BIOS <sub>ca</sub>	BIOA <sub>1ca</sub>	BIOA <sub>2ca</sub>
0 d	CC	30,00	28,60	28,60	28,60	39,01	42,29
	W (%)	13,00	8,50	8,50	8,50	11,30	12,75
30 d	CC	29,00	34,00	32,00	33,00	44,70	37,00
	W (%)	8,70	10,80	9,60	10,30	12,80	11,10
60 d	CC	28,30	36,70	39,40	38,70	49,70	48,90
	W (%)	9,50	14,68	11,82	11,80	15,30	16,80
90 d	CC	29,40	36,00	38,30	37,00	40,20	45,70
	W (%)	8,44	10,90	11,50	11,80	12,80	14,20
120 d	CC	30,80	25,70	26,40	23,40	35,60	51,30
	W (%)	9,42	10,82	8,73	9,45	12,30	16,80
150 d	CC	30,50	36,60	38,20	42,70	45,70	58,10
	W (%)	10,68	12,81	11,46	12,90	14,20	18,30
180 d	CC	29,7	32,60	35,90	34,30	23,40	32,70
	W (%)	9,91	10,78	11,56	11,30	7,50	10,80

Notas: W (%) = umidade; CC = capacidade de campo

Ressalta-se que as modificações das capacidades de campo foram devido à conformação do volume associado aos efeitos da biodegradação no sistema, pois no decorrer da degradação do solo contaminado a sua capacidade de campo tende aproximar a do solo *in natura* (Oliveira, 2006).

Durante todo o ensaio os biorreatores de bancada receberam ajuste de umidade de forma manual, após verificar a umidade através da metodologia citada na seção 2.3.2. Foi possível realizar o ajuste de forma mais simplificada para este estudo devido ao volume de

massa envolvida nesta escala ser reduzido (três quilogramas). Como não foi o objetivo desse estudo a quantificação da concentração de oxigênio no sistema, os tratamentos só receberam aeração durante a retirada de amostra para análises físicas, químicas e microbiológicas a cada 30 dias. Entretanto, por se tratar de um sistema sem aeração forçada, a umidade foi mantida dentro da faixa de 30% da capacidade de campo, mesmo sem um controle automatizado de irrigação.

Ao longo do ensaio, os biorreatores piloto permaneceram com a programação da injeção de ar, de modo que a disponibilidade de oxigênio foi garantida durante todo o ensaio e a degradação gerada era definitivamente aeróbica. Durante esse período todos os tratamentos piloto apresentaram a umidade na faixa de 30% da capacidade de campo.

Estão apresentados em anexo (Tabela 25 – ANEXO C) o monitoramento da umidade, a média e o desvio-padrão.

### 3.3.2.3 Quantificação microbiana heterotrófica total

A importância da presença de uma grande gama de espécies distintas de microrganismos está atrelado ao fato de que nenhuma espécie sozinha é capaz de degradar completamente um composto tão complexo quanto a maioria dos HTPs. É de fundamental importância a disponibilidade do contaminante a ser degradado, condições nutricionais adequadas, fatores abióticos e baixos índices de toxicidade, além da necessidade de versatilidade genética, característica encontrada em consórcios de microrganismos (cometabolismo) com espécies aptas a realizar todas as etapas de clivagem, até a quebra total dos hidrocarbonetos do petróleo (CHAGAS-SPINELLI, 2007).

Inicialmente as análises do solo em relação à população microbiana heterotrófica total podem contribuir para estimar o grau de metabolização microbiana de carbono orgânico presente no solo. A contagem de unidade formadora de colônia (UFC) pode indicar se o solo contém uma população mínima para iniciar o processo de biodegradação e, o monitoramento, durante a biorremediação do solo, é uma importante ferramenta para avaliar os efeitos do contaminante na população e discernir o potencial desta degradação. Existe uma grande correlação entre as densidades de microrganismos por unidade de massa do solo e a degradação de compostos orgânicos (SONG e BARTHA, 1990). A Figura 33 apresenta as quantificações da população heterotrófica total nos diferentes tratamentos adotados ao longo do período de realização do experimento. As mesmas foram expressas em unidades formadoras de colônia por grama de solo ( $\text{UFC g}^{-1}$ ).



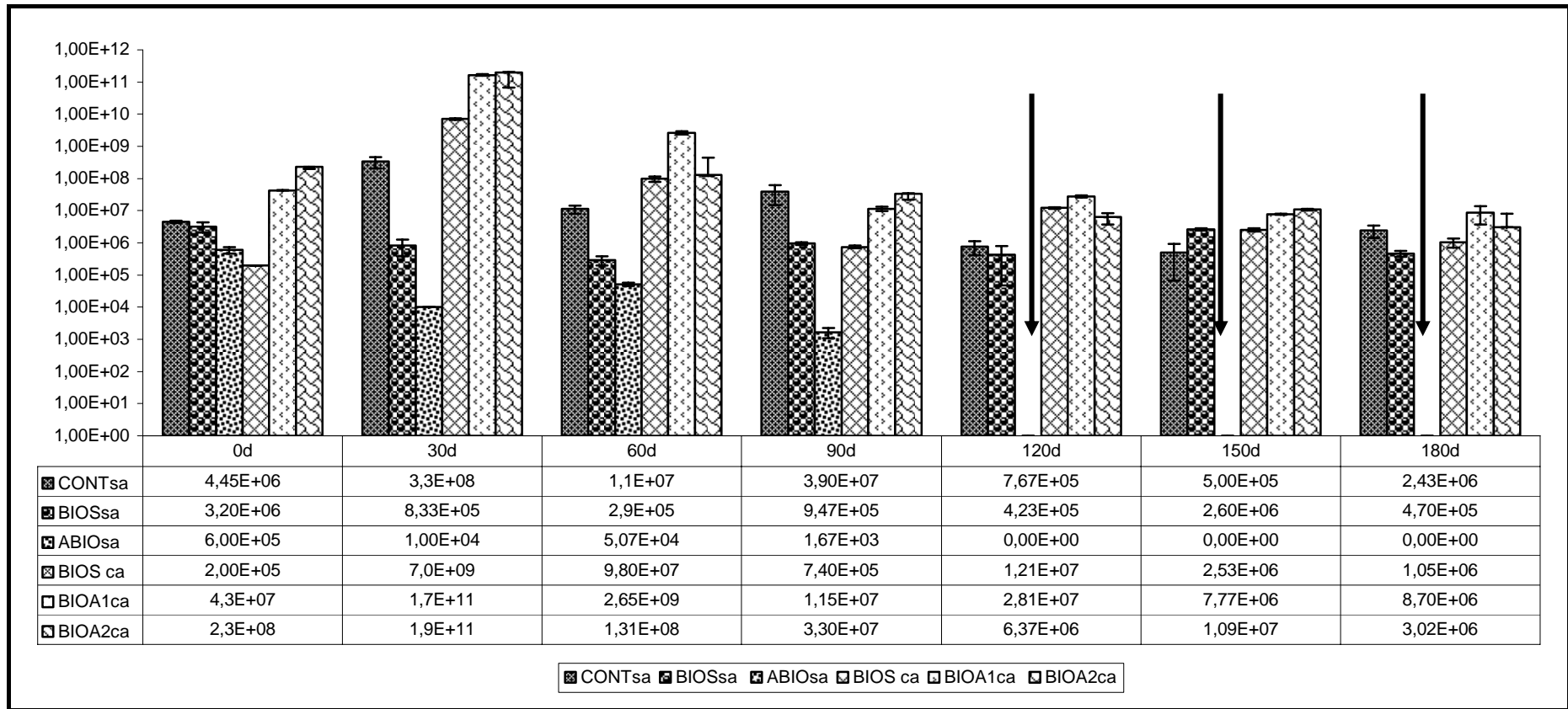


Figura 33. Monitoramento da população microbiana heterotrófica total nos seis biorreatores durante o período experimental.

Devido à ampla variação ao longo do experimento, os dados foram ajustados para log na base 10 e estão analisados desse modo a seguir, de modo que os dados foram padronizados. A Tabela 18 apresenta o monitoramento da quantificação heterotrófica totais em log microrganismos.g<sup>-1</sup> de solo.

Tabela 18. Quantificação microbiana heterotrófica total (UFC g<sup>-1</sup> de solo), nos seis biorreatores, durante o período experimental.

Tratamentos	Intervalo amostral (dias)						
	t <sub>0</sub> -0	t <sub>1</sub> -30	t <sub>2</sub> -60	t <sub>3</sub> -90	t <sub>4</sub> -120	t <sub>5</sub> -150	t <sub>6</sub> -180
CONT <sub>sa</sub>	6,65	8,52	7,04	7,59	5,88	5,70	6,39
BIOS <sub>sa</sub>	6,51	5,92	5,46	5,98	5,63	6,41	5,67
ABIO <sub>sa</sub>	5,78	4,00	4,71	3,22	0,00	0,00	0,00
BIOS <sub>ca</sub>	5,30	9,85	7,99	5,87	7,08	6,40	6,02
BIOA <sub>1ca</sub>	7,63	11,23	9,42	7,06	7,45	6,89	6,94
BIOA <sub>2ca</sub>	8,36	11,28	8,12	7,52	6,80	7,04	6,48

Conforme a Figura 34 e a Tabela 28, o tratamento de bancada no qual o solo recebeu apenas o OLU e ajuste de pH, BIOS<sub>sa</sub>, manteve-se praticamente, entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup>, ao longo do experimento, apresentando população heterotrófica total abaixo da encontrada no controle (CONT<sub>sa</sub>), que apresentou uma população microbiana na faixa entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>8</sup>.

Nos processos abióticos (ABIO) houve crescimento de microorganismos acima de 10<sup>5</sup>, no tempo 0, demonstrando a ineficácia da adição de ázida sódica em curto espaço de tempo, que deveria ser altamente tóxica para os mesmos, o que comprometeu a verificação do desaparecimento de HTP por processo abiótico. No entanto, aos 120 dias observou-se a atuação da ázida: verificou-se a ausência de microrganismos, sendo que tal ausência manteve-se até o final do estudo. Ao longo dos quatro primeiros meses de experimento, não foi observado a presença de fungos no tratamento ABIO, somente bactérias. Não foi objetivo do presente estudo identificação de espécies microbianas.

Não foram observadas diferenças significativas entre a população microbiana heterotrófica total ao longo do experimento nos biorreatores de bancada, com exceção do tratamento ABIO<sub>sa</sub>.

Nos tratamentos piloto que receberam aeração forçada (BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>) foi observado um favorecimento significativo da população heterotrófica total no primeiro mês de experimento na ordem de  $10^{11}$ . Após esse período, no entanto, ocorreu um decaimento da população microbiana no segundo mês, nos biorreatores BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>, e nos meses seguintes estes biorreatores apresentaram uma variação na faixa de  $10^6$  a  $10^7$ .

Ressalta-se que o biorreator BIOS<sub>ca</sub> apresentou no primeiro mês de experimento uma quantificação microbiana heterotrófica total na ordem de  $10^9$ . No decorrer do experimento, o mesmo comportamento foi observado nos biorreatores bioaumentados (BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>).

De forma geral, o crescimento da população microbiana nos primeiros dias de experimento deve-se à maior disponibilidade de nutrientes nesse período, assim como à presença de fonte de carbono mais facilmente assimilável (TRINDADE, 2002; ESPIRITO SANTO, 2004). No entanto, o decréscimo do número de microrganismos ao longo do processo de biodegradação, comumente reportado na literatura, pode estar associado a fatores como envelhecimento da população microbiana, esgotamento de nutrientes e /ou diminuição da fonte de carbono como consequência da utilização dos hidrocarbonetos, principalmente daqueles mais susceptíveis ao ataque microbiano (JORGENSEN et al., 2000; MOLINA-BARAHONA et al., 2004; PEREIRA, 2008).

#### 3.3.2.4 Quantificação do potencial hidrogeniônico (pH)

De acordo com a curva de neutralização construída para o ajuste do pH (em Anexo), foi acrescentado Ca(OH)<sub>2</sub> em todo o solo antes da contaminação, de forma que o pH inicial de cada tratamento corresponde às características do tratamento referido.

A Figura 34 apresenta os resultados do monitoramento do pH nos biorreatores de bancada e piloto durante os 180 dias de experimento.

O ensaio controle, sem contaminação, manteve o pH basicamente inalterado durante todo o tratamento ( $\Delta$  pH = - 0,45).

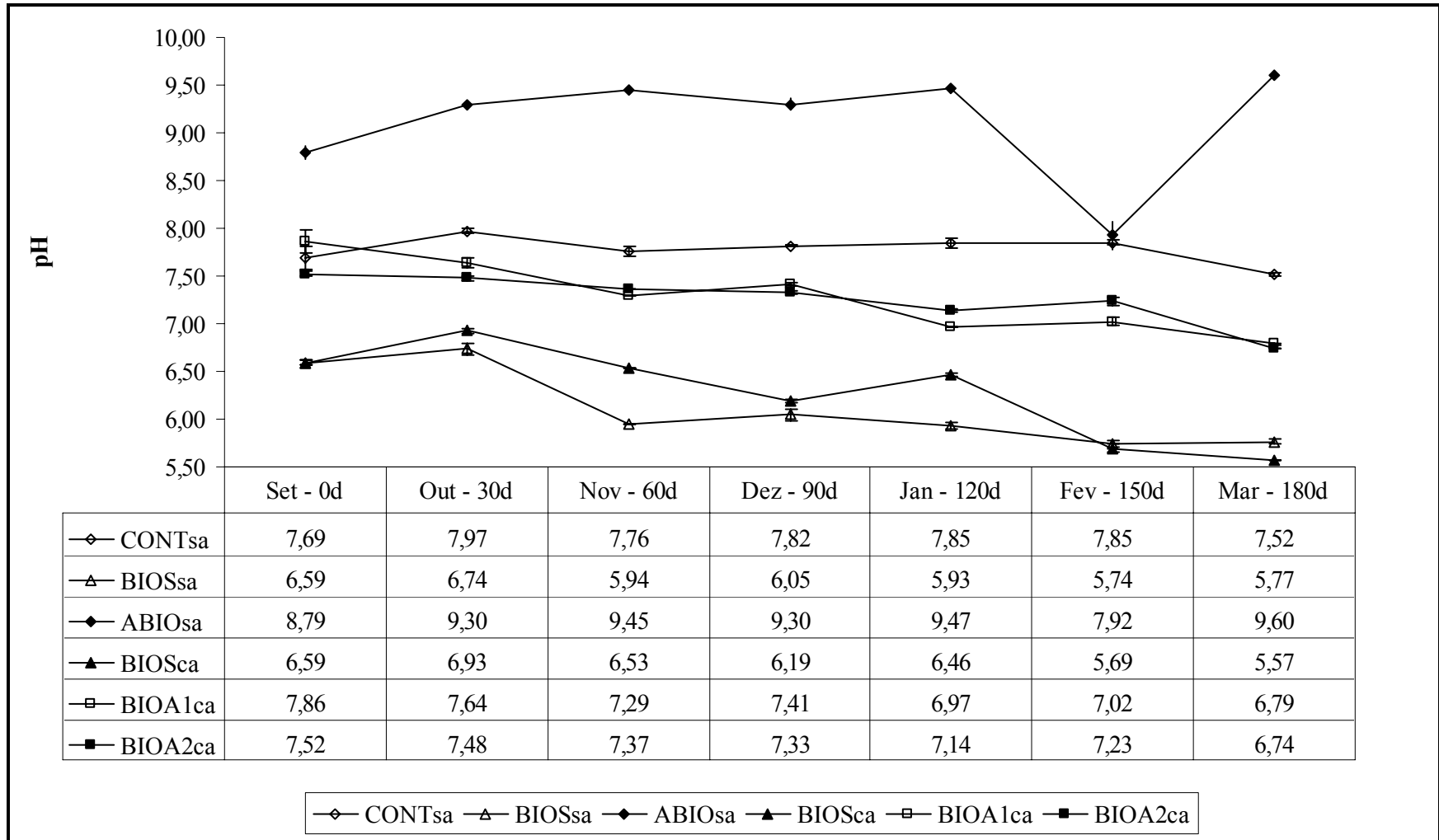


Figura 34. Valores de pH nos diferentes tratamentos adotados ao longo do experimento.

A presença do OLU provocou um decaimento no pH, sugerindo um caráter ácido ao derivado do petróleo, uma vez que, após a contaminação do solo, o pH variou ( $\Delta \text{pH} = -1,1$ ) quando comparado ao solo sem contaminação. Estas condições são verificadas no biorreator  $\text{BIOS}_{\text{sa}}$ , entretanto, este pH permaneceu dentro da faixa ótima para crescimento da maioria das bactérias crescerem.

A azida sódica adicionada ao solo do tratamento de controle de processos abióticos ( $\text{ABIO}_{\text{sa}}$ ) acarretou valores de pH de caráter mais básico (entre 7,92 e 9,60) durante todo o período experimental. Este tratamento com predominância de pH relativamente básico propiciou um ambiente preferencial para algumas espécies microbianas. Todavia, aos 150 dias ou intervalo entre 120 e 180 dias apresentou o menor valor de pH (7,92) e durante todo o ensaio o processo abiótico apresentou uma variação ( $\Delta \text{pH} = +1,68$ ). Em investigação realizada por Trindade (2002) no estudo do processo de biorremediação de solo contaminado a 5% com óleo cru, a adição de 0,3% de azida sódica não apresentou variação de pH durante os primeiros 45 dias de experimentos.

No biorreator piloto ( $\text{BIOS}_{\text{ca}}$ ), após a contaminação do solo, o pH variou ( $\Delta \text{pH} = -1,1$ ) quando comparado com o solo sem contaminação, entretanto, este pH também permaneceu dentro da faixa ótima para a maioria das bactérias crescerem.

Nos tratamentos que receberam 10% do composto ( $\text{BIOA}_{1\text{ca}}$  e  $\text{BIOA}_{2\text{ca}}$ ) o comportamento do pH foi bastante semelhante ao longo dos seis meses de experimento, apresentando uma leve variação ( $\Delta \text{pH} = -1,0$ ). Em ambos os tratamentos o pH manteve-se dentro da faixa considerada adequada à atividade microbiana (6,8 – 7,8).

Durante todo o ensaio os tratamentos bioamentados apresentaram uma queda no valor de pH final em relação ao inicial, sugerindo um aumento na formação de compostos intermediário de caráter ácido resultantes do processo de oxidação bioquímica dos HTPs.

Todos os tratamentos mantiveram-se em ausência da luz UV, sendo rejeitada a ocorrência de processos fotooxidativos (TRINDADE, 2002).

Apresenta-se em anexo (Tabela 26 – ANEXO D) a média e o desvio-padrão da quantificação do potencial hidrogeniônico (pH).

### 3.3.2.5 Eficiência dos tratamentos: remoção dos hidrocarbonetos de petróleo

Com base nas análises, o óleo lubrificante usado OLU é constituído por uma mistura complexa de hidrocarbonetos de petróleo envolvendo diferentes hidrocarbonetos alifáticos

(normais, ramificados e cíclicos) de cadeia longa, com até 60 átomos de carbono, e alguns compostos aromáticos, que não podem ser totalmente separados por cromatografia gasosa. Em geral, somente os n-alcenos normais e alguns hidrocarbonetos ramificados podem ser identificados separadamente. A maior fração dos componentes não é caracterizada, aparecendo no cromatograma como uma “lombada” denominada de mistura complexa não resolvida (MCNR) (MARIANO, 2008). Cabe mencionar que existem diferentes métodos de quantificação de hidrocarbonetos no solo. Entretanto, nenhum é capaz de abranger todo o espectro de hidrocarbonetos presentes nos derivados de petróleo de elevada complexidade com os OLUCs (BERGUER, 2005).

No presente experimento, a remoção dos hidrocarbonetos alifáticos na faixa de C<sub>10</sub>-C<sub>36</sub> (n-alcenos), dos alcenos ramificados, da mistura complexa não resolvida (MCNR) e dos HTPs foi utilizada como parâmetro de avaliação da biodegradação do OLUCs. Ressalta-se que os HTP referem-se à soma dos hidrocarbonetos totais resolvidos de petróleo (HTR), os quais estão incluídos os n-alcenos com a MCNR.

Os n-alcenos, em função da sua estrutura molecular, apresentam maior susceptibilidade à biodegradação quando comparados aos demais hidrocarbonetos presentes no OLU. Por isso, são frequentemente investigados e utilizados como indicadores de biodegradação (COIMBRA, 2006).

Já os alcenos ramificados, particularmente os isoprenóides pristano e fitano que são normalmente encontrados no petróleo e derivados, são moléculas bastante resistentes à biodegradação e às alterações químicas no ambiente, apresentando maior resistência ao ataque microbiano (ATLAS, 1981). Ururahy et al., (1998), por exemplo, verificaram a possibilidade de utilizar estas frações para o monitoramento do grau de contaminação ambiental, utilizando o desaparecimento desses compostos como indicador da eficácia do tratamento biológico.

Os hidrocarbonetos totais resolvidos (HTR) são hidrocarbonetos não degradados e representados no cromatograma pelos picos bem resolvidos, porém não identificados. Os hidrocarbonetos totais do petróleo são a soma dos HTR com a MCNR.

A MCNR, por sua vez, é composta de uma combinação de vários isômeros e homólogos de hidrocarbonetos ramificados e cíclicos não resolvidos pela coluna capilar, ou seja, não diferenciados dos outros compostos, apresentando estruturas complexas e de cadeias não-lineares (BOULOUBASSI e SALIOT, 1993). De acordo com Snape et al., (2005) essa fração é relativamente recalcitrante.

A Tabela 20 apresenta as porcentagens de remoção dos hidrocarbonetos e suas frações ao longo dos 180 dias de experimento comparado as concentrações iniciais de cada fração nos biorreatores de bancada. A figura 36 – Anexo F ilustra os dados apresentados na Tabela 19.

Tabela 19. Porcentagem de remoção dos hidrocarbonetos dos biorreatores de bancada.

	ABIO <sub>sa</sub>			BIOS <sub>sa</sub>		
	0d-60d	0d-120d	0d – 180d	0d-60d	0d-120d	0d – 180d
n-alcanos	66,69%	68,35%	92,36%	100%	100%	100%
Pristano	23,82%	35,29%	94,95%	83,44%	85,27%	98,46%
Fitano	14,38%	28,13%	93,45%	76,59%	72,1,%	96,80%
HRP	78,66%	75,18%	93,75%	99,05%	99,62%	99,74%
MCNR	72,50%	71,18%	93,15%	82,52%	71,91%	84,46%
HTP	73,18%	71,63%	93,22%	83,16%	73,07%	90,42%

Nota: d=dias.

A comparação entre o processo de controle abiótico e o do bioestímulo teve por finalidade quantificar o que foi removido efetivamente através de processos bioquímicos. Entretanto, no controle de processo abiótico foi alcançada a eliminação total da população heterotrófica total apenas aos 120 dias de experimento. Desta forma, foi inviabilizado quantificar a remoção dos HTPs somente por processo biológico (Remoção total dos HTPs no reator BIOS<sub>sa</sub> – Perdas abióticas no reator ABIO<sub>sa</sub>).

Seabra (2005) estudou a aplicação de biopilha na biorremediação de solos argilosos com adição de ázida sódica em solo contaminado com óleo cru, onde foi verificado a redução de 43,64% de HTP durante quatro meses de tratamento. No entanto, este valor é muito alto para um ensaio supostamente abiótico, o que pode indicar a ineficiência da aplicação da azida sódica.

De acordo com a Tabela 20, observa-se que inicialmente, no período de até 60 dias, ocorreu uma expressiva remoção dos n-alcanos em relação aos isoprenóides pristano e fitano, especialmente no tratamento BIOS<sub>sa</sub>, fato que corrobora com a ordem crescente de susceptibilidade dos hidrocarbonetos ao ataque microbiano reportada na literatura, na qual os alcanos lineares são mais susceptíveis ao ataque à biodegradação que os alcanos ramificados (ROSA e TRIGUIS, 2006).

Analisando-se os dois tratamentos adotados (BIOS<sub>sa</sub> e ABIO<sub>sa</sub>), observa-se que a remoção dos n-alcanos nos primeiros 60 dias atingiu 100% no tratamento BIOS<sub>sa</sub>. No tratamento ABIO<sub>sa</sub>, no mesmo período a remoção foi apenas de 66,7%. As porcentagens de

remoção dos isoprenóides pristano e fitano, assim como dos HRP também foram maiores em relação ao tratamento BIOS<sub>sa</sub>, sugerindo a existência do benefício do bioestímulo na biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo.

É possível observar que os dois tratamentos promoveram uma redução dos HTPs e suas frações. Entretanto, nos primeiros 120 dias de experimento o tratamento bioestimulado (BIOS<sub>sa</sub>) apresentou as melhores porcentagens de remoção da fração de n-alcanos e dos isoprenóides pristano e fitano. Quanto a MCNR e HTP não foram observadas grandes diferenças entre os dois tratamentos.

Forno (2006) avaliou o efeito dos aceptores de elétrons peróxido de hidrogênio e nitrato de potássio como agentes estimulantes a biorremediação microbiana e observou um aumento de HTP após seis meses do início do experimento. Esses resultados sugerem a presença de compostos das cadeias mais longas de carbono em decomposição, gerando subprodutos das transformações dos hidrocarbonetos (OLIVEIRA et al., 2007).

No entanto, Perreira (2008) ao avaliar a eficácia da biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo tratados em laboratório com atenuação natural, solo com bioaumento, solo com bioestímulo e solo com bioaumento associado ao bioestímulo para monitorar as taxas de degradação dos hidrocarbonetos lineares e polinucleares, durante 60 dias de monitoramento, observou uma redução nas concentrações da MCNR ao longo do período, o que sugere que esta fração pode contribuir como nutrientes para a população microbiana presente no solo.

Nos dois tratamentos adotados (BIOS<sub>sa</sub> e ABIO<sub>sa</sub>), a remoção dos HTPs ocorreu mais expressivamente nos primeiros dois meses após o início do experimento. Tal fato, por sua vez, pode estar relacionado à maior disponibilidade de nutrientes nesse período, assim como à presença de fonte de carbono mais facilmente assimilável (ESPÍRITO SANTO, 2002; TRINDADE, 2002). Telhado (2009), que investigou a extração química com Hidroxipropil – Beta – Ciclodextrina (HPCD-β) na prevenção da biodisponibilidade de petróleo em um solo submetido a um processo de Atenuação Natural Monitorado (ANM), em três diferentes concentrações (0,5%, 2,5% e 5%), diferentemente, verificou maiores remoções dos HTP nos últimos dois meses de experimento.

De modo geral, não foram observadas diferenças estatísticas ( $\alpha = 0,050$ ) quanto ao percentual de remoção dos HTPs entre os tratamentos ABIO<sub>sa</sub> (93,22%) e BIOS<sub>sa</sub> (90,42%) aos 180 dias. No entanto, uma pequena elevação da MCNR aos 120 dias de experimento foi observada juntamente no tratamento BIOS<sub>sa</sub>. Tal fato, por sua vez, pode ser decorrente da degradação das cadeias mais longas de carbono e dos subprodutos das transformações dos



hidrocarbonetos do tratamento BIOS<sub>sa</sub>, o que sugere a superioridade deste tratamento em relação ao tratamento ABIO<sub>sa</sub> (LÓPEZ e MUELLER, 2009). Já no controle de processo abiótico (ABIO<sub>sa</sub>) observou-se que a remoção dos hidrocarbonetos ocorreu de maneira mais lenta que no tratamento BIOS<sub>sa</sub>, sendo mais intensa entre 120 e 180 dias, sugerindo a possibilidade de alcance de maiores remoções em um período acima dos 180 dias do experimento.

A Tabela 20 apresenta as porcentagens de remoção dos hidrocarbonetos e suas frações ao longo dos 180 dias de experimento comparado as concentrações iniciais de cada fração nos biorreatores piloto. A Figura 37 – Anexo G ilustra os dados apresentados na Tabela 20.

Tabela 20. Porcentagem de remoção dos hidrocarbonetos nos biorreatores piloto.

	0d – 60d			0d – 120d			0d – 180d		
	BIOS <sub>ca</sub>	BIOA <sub>1ca</sub>	BIOA <sub>2ca</sub>	BIOS <sub>ca</sub>	BIOA <sub>1ca</sub>	BIOA <sub>2ca</sub>	BIOS <sub>ca</sub>	BIOA <sub>1ca</sub>	BIOA <sub>2ca</sub>
n-Cn (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Pri (%)	81,21	95,23	30,90	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Fit (%)	72,43	88,38	68,10	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
HRP (%)	99,22	99,81	97,41	99,93	99,93	99,84	99,99	99,92	99,32
MCNR (%)	75,73	85,82	84,74%	82,86	100,00	100,00	96,30	93,02	68,99
HTP (%)	78,33	87,21	86,42	84,75	99,99	99,98	95,18	97,32	96,58

*n-Cn = n-alcanos, Pri = pristano, Fit = fitano, HRP = hidrocarbonetos resolvidos do petróleo, MCNR = mistura complexa não-resolvida, HTP = hidrocarboneto total do petróleo.*

Na Tabela 20 pode-se observar que, aos 60 dias, os HTPs nos biorreatores BIOA<sub>1ca</sub> (87,21%) e BIOA<sub>2ca</sub> (86,42%) apresentaram um índice superior de degradação quando comparado ao tratamento bioestímulo BIOS<sub>ca</sub> (78,33%). Todavia, a remoção do HTPs não apresentou diferença estatística entre os tratamentos para  $\alpha = 0,05$ . A partir dos valores das constantes cinéticas de degradação apresentados na Tabela 16, pode-se sugerir que em

intervalos menores de observação seria possível verificar diferença entre os tratamentos, principalmente devido à elevada velocidade da biodegradação apresentado no tratamento BIOA<sub>2ca</sub> quando comparado aos demais tratamentos em escala piloto.

Observou-se que durante aos dois primeiros meses os n-alcenos alcançaram 100% de remoção nos três tratamentos em escala piloto. Resultado semelhante foi observado por Oliveira (2001) que investigou a biorremediação em solo arenoso contaminado a 1,4% ( $\text{m m}^{-1}$ ) de óleo cru, observando remoção total de n-alcenos em 56 dias de tratamento. Perreira (2008), em estudo semelhante, atingiu aproximadamente 81% de remoção de n-alcenos nos primeiros 20 dias de monitoramento.

O biorreator bioestimulado (BIOS<sub>ca</sub>), após 60 dias de tratamento apresentou uma remoção de HTP de 78,33%. Berger (2005) avaliou a biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo com procedimento que aperfeiçoam o desempenho dos microrganismos degradadores presentes no solo capazes realizar quebras nas cadeias dos hidrocarbonetos, sob condições específicas – Terraferm e observou uma remoção média de HTP de 80,9% em 60 dias de ensaio através do bioestímulo em biopilhas.

Os tratamentos BIOS<sub>ca</sub>, BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub> apresentaram valores de remoção de HTPs menores nos primeiros dois meses de experimento. Nos demais meses as porcentagens de remoção foram superiores. O mesmo foi observado por Vaz (2010), que analisou a biodegradação de solo argiloso contaminado por hidrocarbonetos derivados de petróleo numa biopilha em escala de campo, constatando uma redução de 81% na concentração de HTPs no solo utilizado após 150 dias de testes. A degradação ocorreu em duas etapas. A primeira etapa (entre 0-30 dias de testes) corresponde à etapa com maior disponibilidade de compostos de baixo peso molecular, onde se verificou uma maior taxa de degradação. A segunda (30-150 dias) apresenta uma taxa de degradação muito mais lenta, a qual estaria associada à presença de TPH com maior peso molecular.

Sarkar et al., (2005) observou em seu estudo que a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo sofreu incremento com a adição de biossólidos e fertilizantes em solos contaminados com diesel. Após oito semanas, estes solos tratados degradaram mais de 96% do HTP da contaminação original enquanto que o solo controle degradou 94%.

Após dois meses de experimento a fração HRT não apresentou diferenças estatísticas ( $\alpha = 0,050$ ) entre os três tratamentos, o que pode ser observada pela remoção de HRT de 99,22% BIOS<sub>ca</sub>, 99,81% BIOA<sub>1ca</sub> e 97,41% BIOA<sub>2ca</sub>, confirmando os primeiros dois meses o melhor período de degradação. Posteriormente, pode ser observada uma degradação mais lenta desta fração até o final do experimento.

Aos 120 dias de experimento os dois tratamentos que receberam compostos (BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>) apresentaram resultados semelhantes, não sendo observadas, no entanto, diferenças estatísticas entre estes dois tratamentos.

Não foram observadas diferenças significativas ( $\alpha = 0,050$ ) entre os tratamentos BIOS<sub>ca</sub> (84,75%), BIOA<sub>1ca</sub> (99,99%) e BIOA<sub>2ca</sub> (98,98%) quanto às porcentagens de remoção dos HTPs aos 120 dias. Neste período foi observada remoção de 100% dos isoprenóides pristano e fitano, nos três tratamentos, o que não indica diferença entre os tratamentos para estas frações.

Ao final dos 180 dias de experimento os três tratamentos (BIOS<sub>ca</sub>, BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>) apresentaram excelentes remoções. Porém, o aumento da fração MCNR nos ensaios BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub> sugere superioridade dos tratamentos bioalimentados em relação ao tratamento bioestímulo (BIOS<sub>ca</sub>) na degradação dos hidrocarbonetos, conforme já discutido no biorreator (BIOS<sub>sa</sub>) de bancada.

Apresenta-se em anexo (Tabela 27 – ANEXO E) o teste de Krushal-Wallis para os reatores em estudo.

#### 4. CONCLUSÃO

O solo contaminado com o óleo lubrificante usado utilizado no presente estudo de biorremediação não apresentou concentrações de VOCs, HPAs e metais tóxicos acima dos valores limite de intervenção estabelecido pela Lista Holandesa de 1994. Deste modo, apenas as concentrações de HTPs foram monitoradas ao longo do experimento em estudo.

Com relação ao estudo de respirometria de solos contaminados, os resultados obtidos permitiram estabelecer as seguintes conclusões:

- ✘ A respiração do solo medida pela evolução de CO<sub>2</sub> aumentou com a adição do óleo lubrificante usado comparado ao controle, provavelmente decorrente da maior disponibilidade de fonte de carbono orgânico para os microorganismos, de modo que não foi observado efeito tóxico deste sobre a comunidade microbiana;
- ✘ O tratamento com adição de composto jovem (em fase intermediária de maturação) resultou em maior produção de CO<sub>2</sub> quando comparado ao tratamento com adição de compostagem madura e ao tratamento de bioestímulo apenas;
- ✘ A azida sódica adicionada ao tratamento para avaliação dos processos abióticos como agente esterilizante na concentração de 0,3% (m m<sup>-1</sup>) resultou em alterações significativas na atividade respirométrica do solo;
- ✘ Durante o experimento, o estudo cinético indicou o tratamento BIOA<sub>2</sub> como possuindo a maior constante cinética de biodegradação, apresentando condições de obter maior eficiência na remoção dos contaminantes quando comparados aos demais tratamentos (BIOA<sub>1</sub>, BIOS e ABIO);
- ✘ O tratamento por bioestímulo associado ao bioaumento com adição de composto maduro e bioestímulo associado ao bioaumento com adição de composto jovem apresentaram eficiências de biodegradação elevadas em 30 dias de experimento, o que determinou que os mesmos fossem conduzidos à análise de biodegradação em escala piloto, sob as mesmas condições associado à análise de hidrocarbonetos de petróleo e suas frações;

As quantidades de C-CO<sub>2</sub> acumulados foram superiores nos tratamentos que receberam adição de compostagem. As diferenças verificadas entre a quantidade de C-CO<sub>2</sub> liberadas nestes tratamentos indicam a contribuição positiva das compostagens na atividade microbiana edáfica (MARTINES, 2005). A maior liberação de C-CO<sub>2</sub> em solos tratados com adição de

compostagem não se deve apenas à incorporação de matéria orgânica e nutriente, mas também à ação inoculante da compostagem, que já possui microorganismos adaptados à presença das diferentes substâncias químicas encontradas no lixo e que podem ser atuantes na degradação do solo contaminado (CASTILHOS et al., 2000).

Em relação ao experimento de biodegradação em biorreatores de bancada e piloto, os resultados obtidos permitiram concluir que:

- ✘ Os biorreatores piloto com aeração forçada de fluxo ascendente, assim como o sistema automatizado de aeração programada, sensores de temperatura e umidade instalados funcionaram de maneira satisfatória, simulando biopilhas estáticas de aeração forçada;
- ✘ Durante o ensaio os parâmetros físicos, químicos e biológicos avaliados mantiveram-se nas faixas consideradas ótimas para melhor biodegradação do contaminante;
- ✘ O controle dos processos abióticos apresentou, na prática, população microbiana considerável até os 120 dias do experimento, o que não permitiu observar a degradação exclusivamente de processos abióticos. O que sugeri que a adição da azida sódica a 0,3% ( $m.m^{-1}$ ), ao tratamento ABIO<sub>sa</sub>, não foi o suficiente para eliminar a atividade microbiana por completo. Sendo assim, ao final de 180 dias de experimento, este tratamento (ABIO<sub>sa</sub>) apresentou remoção de HTPs semelhante ao observado no biorreator que recebeu bioestímulo (BIOSsa);
- ✘ As estratégias de bioestímulo com ajuste de pH, bioestímulo associado ao bioaumento com compostagem madura e bioestímulo associado ao bioaumento com compostagem jovem apresentaram-se promissores na remoção de hidrocarbonetos de petróleo no solo contaminado por óleo lubrificante usado;
- ✘ Pode-se observar que o intervalo escolhido de monitoramento dos hidrocarbonetos do petróleo foi muito longo, impedindo a avaliação da eficiência de biodegradação das frações mais fáceis de serem degradadas nas primeiras semanas;
- ✘ A introdução do composto maduro e do composto jovem promoveu um decaimento mais rápido de MCRN aos 120 dias quando comparado ao tratamento apenas bioestimulado. No entanto, aos 180 dias, esta fração aumentou nos tratamentos bioaumentado. Sugere-se que tal contribuição possa ser devido à biodegradação de cadeias longas alcançadas pelos tratamentos BIOA<sub>1</sub> e BIOA<sub>2</sub>;

- ✖ Pode-se verificar que os dois biorreatores que continham em suas massas contaminadas uma adição de compostagem madura, e outro, adição de compostagem jovem obtiveram eficiências favoráveis e semelhantes;
- ✖ Foi concluído que a estratégia de bioaumento com compostagem de RSU, independente do estado de maturação, contribui significativamente para a biodegradação de sólido contaminado com óleo lubrificante usado.

Em suma, o experimento de respirometria em respirômetros de Bartha foi uma ferramenta fundamental para avaliar a melhor estratégia de biorremediação a ser adotada, visto que pré-estabeleceu as condições ideais ao metabolismo microbiano.

## SUGESTÕES

- ✘ Recomenda-se que os testes respirométricos, quando utilizados com finalidade de avaliar a biodegradação de contaminante orgânicos, sejam acompanhados por métodos que permitam a quantificação analítica dos mesmos e quantificação da população heterotrófica total;
- ✘ É condescendente realizar estudo específico em relação à taxa de C:N:P para estabelecer a melhor relação para as condições locais;
- ✘ É necessário realizar o monitoramento de pH e quantificação da população heterotrófica total em intervalos de tempos menores;
- ✘ É de grande relevância o monitoramento dos nutrientes presentes em cada tratamento, ao longo de todo ensaio;
- ✘ Existe uma necessidade de realizar ensaios de ecotoxicidade em solo, com o uso de uma gama de organismos (minhocas, plantas, etc), sobretudo organismos nativos, para melhor compreender os efeitos biológicos da presença de substâncias orgânicas no solo;
- ✘ É de grande importância realizar tratamentos de biorremediação em diferentes tipos de solo, principalmente, em solo com um perfil argiloso;

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, v. 1, p. 299-352, 2000.

ADÃO, Daniele Cristina. Monitoramento e avaliação dos processos abióticos atuantes na remediação de solo impactado com petróleo. 2004. 50 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

AG SOLVE MONITORAMENTO AMBIENTAL. Apresenta Linha DECAGON DEVICES de Sistema de monitoramentos meteorológico, umidade do solo e irrigação. Disponível em: < <http://www.agsolve.com.br/produtos.php?cat=49> >. Acesso em 26 mar 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis. Rio de Janeiro, 2009a, 218 p. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/?id=548> >. Acesso em: 16 fev. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). Portaria no. 129, de 30 de julho de 1999. Estabelece o Regulamento Técnico ANP no. 004/99, que especifica os óleos lubrificantes básicos de origem nacional ou importado para comercialização em território nacional. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>. Acesso em 23 out. 2008.

\_\_\_\_\_. Portaria Interministerial no. 1. 29 de julho de 1999. Disponível em: <[www.anp.gov.br](http://www.anp.gov.br)>. Acesso em: 24 out. 2009.

\_\_\_\_\_. Portaria n. 125, de 30 de julho de 1999. Regulamentação para atividade de recolhimento, coleta e destinação final do óleo lubrificante usado ou contaminado. Disponível em: <[www.anp.gov.br](http://www.anp.gov.br). Acesso em: 24 out. 2009.

\_\_\_\_\_. Portaria No. 127. de 30 de julho de 1999. Regulamentação para atividade de coleta de óleo lubrificante usado ou contaminado. Disponível em: <[www.anp.gov.br](http://www.anp.gov.br)>. Acesso em: 24 out. 2009.

\_\_\_\_\_. Portaria No. 128. de 30 de julho de 1999. Regulamentação para atividade de industrial de rerefino de óleo lubrificante usado ou contaminado. Disponível em: <[www.anp.gov.br](http://www.anp.gov.br)>. Acesso em: 24 out. 2009.

AGUIAR, Cristiane Rosas Chafim. Desempenho de soja e braquiária na fitorremediação de solos contaminados com petróleo. 2006. 109 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

ALEXANDER, M. Biodegradation and bioremediation. Academic Press, 2 ed, San Diego, USA, 239 p., 1999.



ANDRADE, Daniela Marques. Avaliação de bactérias provenientes de um biofiltro de tratamento de vapores de gasolina. 2008. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

ANDREO, Ana Paula. Ensaio de respirometria: monitoração do CO<sub>2</sub> utilizando um sistema de FIA com detecção condutométrica. 1999. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil na Área de Saneamento e Ambiente) - Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). Norma – 14283: Resíduos de solos – Determinação da biodegradação pelo método respirométrico. Rio de Janeiro, 1999, 8p.

ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiological Reviews*, v. 45, n. 1, p. 180-209, Mar., 1981.

BALBA, M. T.; AL-AWADHI, N.; AL-DAHER, R. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *Journal of Microbiology Methods*, v. 32, n. 2, p. 155-164, Apr., 1998.

BAPTISTA, Sandro José. Seleção das melhores condições de biodegradação de petróleo em solo argiloso. 2003. 163 f. Dissertação (Mestrado em Processamento, Gestão e Meio Ambiente na Indústria do Petróleo e Gás Natural) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

BERGER, T.M. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos totais do petróleo – enfoque na aplicação do processo terraferm. 2005. 85 f. Tese(Doutorado em Ecologia) - Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. UFRGS, Porto Alegre, RS.

BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, v. 74, n. 1, p. 63-67, Aug. 2000.

BOULOUBASSI, I.; SALIOT, A., 1993. Investigation of anthropogenic and natural organic inputs in estuarine sediments using hydrocarbon markers (NAH, LAB, PAH). *Oceanologica Acta*, 16(2), 145-161.

CANHOS, V. P.; COUTINHO, H. L. C.; VAZOLLER, R.; RUMJANEK, N.; ROSADO, A.; BARROS, E.; AZEVEDO, J. L. PELLIZARI, V.; MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O.; MORAIS, G.; SCHENBERG, A. C. Estratégia nacional de diversidade biológica. Microorganismos e biodiversidade de solos. 1998. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/doc/gtt10.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2008.

CARRETEIRO, R. P.; BELMIRO, P. N. A. Lubrificantes e lubrificação industrial. 2 ed. Rio de Janeiro: Interciência - IBP, 2006. 504 p.

CASTILHOS, D.D.; VIDOR, C.; CASTILHOS, R. M.V. Atividade microbiana em solo suprido com lodo de curtume e cromo hexavalente. *Revista Brasileiro de Agrociência*, v. 6, n 1, p. 71-76, 2000.

CERQUEIRA, Cláudio Pereira de. P. Estudo do reaproveitamento energético de óleos lubrificantes usados. 2004. 104 f. Dissertação (Mestrado em Regulação da Indústria de Energia) – Universidade de Salvador, Salvador.

CHAGAS-SPINELLI, Alessandra Carla Oliveira. Biorremediação de solo argiloso contaminado por hidrocarbonetos poliaromáticos provenientes de derrame de óleo diesel. 2007. 174 f. Tese (Doutorado em Geociências) - Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 200

CIANNELLA, Roberta Carvalho. Avaliação de diferentes estratégias de biorremediação no tratamento de solo contaminado por óleo diesel B5.2010. 184 f. Dissertação (Mestrado em Química Ambiental) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

COIMBRA, M. A. C., Avaliação dos resultados analíticos de hidrocarbonetos como instrumento jurídico em caso de derrames de petróleo: mangue de Bertioiga. 110 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Manual de Gerenciamento de áreas contaminadas - Investigação para remediação. São Paulo: CETESB, 2001b. Disponível em: < [http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas\\_contaminadas/manual.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/manual.asp)>. Acesso em: 10 mar. 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo: CETESB, 2005.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de emergências químicas atendidas. São Paulo: CETESB, 2008, 81p. Disponível em:< <http://www.cetesb.sp.gov.br/>> Acesso em: 7 ago. 2009.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Informações diversas. –Disponíveis em: [www.cetesb.sp.gov.br /Solo/areascontaminadas/areas.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areascontaminadas/areas.asp). Acesso em: 22 de julho de 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Informações diversas. Disponíveis em: [www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/acidentes/acidentes.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/acidentes/acidentes.asp). Acesso em: 23 jul. 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Informações diversas. Disponíveis em: [http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/legislacao/legislacao\\_int.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/legislacao/legislacao_int.asp). Acesso em: 23 jul. 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Informações diversas. –Disponíveis em: [www.cetesb.sp.gov.br /Solo/areascontaminadas/areas.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areascontaminadas/areas.asp). Acesso em: 22 de julho de 2010.

COMPROMISSO EMPRESARIAL PARA RECICLAGEM (CEMPRE). Apresenta fichas técnicas contendo informações sobre o mercado para reciclagem de vários produtos. Disponível em: <[http://www.cempre.org.br/fichas\\_técnicas.php\\_ink=ft\\_oleo\\_usado.php](http://www.cempre.org.br/fichas_técnicas.php_ink=ft_oleo_usado.php)>. Acesso em: 24 set. 2008.

CONCAWE. Collection and disposal of used lubricating oil. Report n. 5. nov. 1996.

CONEGLIAN C. M. R.; SIVIERO, A. R.; POLETI, E. C.C.; VENDEMIATI, J. A. S.; DRAGONI, G. S.; RIBEIRO, M. S.; ANGELIS, D. F.; FURLAN, L. T.; GONÇALVES, R. A., Avaliação da biodegradação no solo de resíduos gerados em refinaria de petróleo. HOLOS Environment, v. 6, n. 2, 2006 – p. 106, 2006.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA (Brasil). Resolução n. 362, de 23 de junho de 2005. Documentação, Brasília, DF, n. 121, p. 128-130, jun. 2005, seção 01.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA (Brasil). Portaria Interministerial MMA/MME no. 464/2007 – de 20 de agosto de 2007. Disponível em: [www.mma.gov.br/conama/](http://www.mma.gov.br/conama/). Acesso em: 23 ago. 2010.

CORSEUIL, H. X.; ALVAREZ, P. J. J. Natural bioremediation perspective for BTXcontaminated groundwater in Brazil: effect of ethanol. Wat. Sci. Tech., v. 34, p.311-318, 1996.

COSTA, C. A Logística Reversa e a Influência no Risco Percebido em Ambiente de Compra On-Line. In: IX Simpósio de Administração da Produção, Logística e Operações Internacionais, São Paulo. Anais. São Paulo: SIMPOI, 2006

COSTA, G. M.; BRITO, T. O.; SODRÉ, E. D.; MARQUES, M.; CORRÊA, S. M. Design, construção e operação de biorreator aeróbio em escala piloto para biorremediação de solos contaminados com petróleo e derivados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24, 2007, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: ABES, 2007.

CRAVO JÚNIOR, W. B. Biodegradação de querosene de aviação (QAV) por culturas mistas e por *Pseudomonas aeruginosa*. 1998. 68p. Dissertação (Mestrado em Química) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

CUNHA, C. D.; LEITE, S. G. F.; ROSADO, A. S.; ROSÁRIO, M. Biorremediação de água subterrânea contaminada com gasolina e análise molecular da comunidade bacteriana presente. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. 45 p. (Tecnologia Ambiental, 47).

DONLON, D. L., BAUDER, J. W. A general essay on bioremediation of contaminated soil. The department of land resources and environmental science. Water quality & irrigation management. 2008 (atualizada em 2008 Set 17; acesso em 23 out 2008). Disponível em: <http://waterquality.Montan.edu/docs/methane/Donlan.shtml>.

DUA, M.; SINGH, A.; SETHUNATHAN, A. K.; JOHRI, A.K. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. Appl. Microbiol Biotechnol. 2002 (59) 143-152.

ELEKTOROWICZ, M. Bioremediation of petroleum-contaminated clayey sil with pretreatment. *Environmental Technology*, 15: 373 -380. 1994.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2 ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1998. 212 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise química para avaliação de fertilidade do solo. 1 ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 42 p.

EPA – ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers (1994). [www.epa.gov/outs/pubs/tums.htm](http://www.epa.gov/outs/pubs/tums.htm)> Acesso em 19 jun. 2009.

ESPÍRITO SANTO, Lidiane Silva do. Biodegradabilidade de óleo diesel por microorganismos nativos da areia da praia de Suapé-Pe e predição de um modelo relacionado ao derramamento do poluente. 2002. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

FETTER, C. W. Contaminant Hydrogeology. New York: Macmillan, 1993.

FIRME, L. P. Cinética de degradação microbiológica de torta de filtro no solo na presença de cádmio e níquel. 2005. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.

FONTES, A. E. F.; NOGUEIRA, W. S. Produção de lubrificantes e parafinas na Petrobrás: busca por petróleo alternativos. *Revista Petro & Química*, 249 ed., p. 108-111, jun. 2003.

FORNO, Rafaela Ghellere Dal. Avaliação da poluição do solo por derivados de petróleo e sua remediação. 2006. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do solo) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Biorremediação. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, ano 8, n. 34, p. 36-43, jan./jun., 2005.

GOMES, A. P. N.; LIMAS, M. M.; CORSEUIL, H. X. Biodegradação do biodiesel de mamona em águas superficiais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24º, 2007, Minas Gerais. Anais... Belo Horizonte, MG: FITABES, 2007.

GOMES, Ana Paula Nogareti. Biodegradação de biodiesel de soja, mamona e hidrocarbonetos monoaromáticos em ambientes aquáticos. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

GOMES, M.M. Fitorremediação de solos multi-contaminados por HPAs e metais pesados a partir de óleo lubrificante usado. Projeto do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico – CNPQ, Universidade do estado do Rio de Janeiro, p. 13, 2007.

GOMES, P. L.; OLIVEIRA, V. B. P.; NASCIMENTO, E. A. (2008). Aspectos e Impactos no Descarte de Óleos Lubrificantes: o Caso das Oficinas. IV Congresso Nacional de Excelência em Gestão: Responsabilidade Sócio-ambiental das Organizações Brasileira, Niterói, Rio de Janeiro.

GOOGLE MAPS. Serviço de pesquisa e visualização de mapas e imagens de satélite da Terra. Disponível em: <<http://maps.google.com.br/maps?hl=pt-BR&tab=wl>>. Acesso em: 10 jun. 2010.

HAITASH, A.K., KAUSHIK, C.P. 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review, J. Hazard. Mater. 169:1-15.

INTERLUBRI LUBRIFICANTES ESPECIAIS. Apresenta manual de lubrificação para seus clientes. Disponível em: <[http://www.interlubri.com.br/ups\\_manuallub.htm](http://www.interlubri.com.br/ups_manuallub.htm)> Acesso em 3 out. 2008.

JACCQUES; R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Ciência Rural, Santa Maria, v. 37, n. 4, p.1192-1201, jul./ago., 2007.

JORGENSEN, K. S.; PUUSTINEN, J.; SUORTTI, A. M. Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. Environmental Pollution, v. 107, n. 2, p. 245-254, Feb., 2000.

KÄSTNER, M.; BREUER-JAMMALI, M.; MAHRO, B. Impact of inoculation protocols, salinity, and pH on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) and survival of PAH-degrading bacteria introduced into soil. Applied and Environmental Microbiology, v. 64, n. 1, p. 359-362, Jan., 2000.

KHAN, F. I.; HUSAIN, T.; HEJAZI, R. (2004) An Overview and Analysis of Site Remediation Technologies. Journal of Environmental Management, v. 71, p. 95-122, 2004.

KIEHL, E.J. Manual de edafologia. São Paulo: Agronômica Ceres, 1979.

LAL, R. SOIL Management in the developing countries. Soil Science, v. 165, n.1, p. 58-72, January, 2000.

LALLI, C; RUSSEL, M. Soil and water bioremediation using bioreactors (1996). Disponível em: [ewr.cee.vt.edu/environmental/teach/gwprimer/bioreact/bior.html](http://ewr.cee.vt.edu/environmental/teach/gwprimer/bioreact/bior.html)>. Acesso em 24 Set. 2010.

LEAHY, J. G.; COLWELL, R. R. Microbial degradation of hydrocarbons in the Environmental. Microbiological Reviews, v. 54, n. 3, p. 305-315, 1990.

LEE, Y. B.; LORENZ, N.; DICK, K. L.; DICK, R. P. Cold storage and pretreatment incubation effects on soil microbial properties. Soil Biology & Biochemistry, v. 71, n. 11, p. 1299-1305, July/August, 2007.

LEMOS, J. L. S.; BARROS, C. A.; OLIVEIRA, S. D.; REICHE, A. P. Fungos filamentosos: agentes de degradação de petróleo e de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs). Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. 58 p. (Tecnologia Ambiental, 46).

- LEPSCH, Igo F. Formação e conservação dos solos. São Paulo, Oficina de Textos, 2002.
- LIMA, Cristiane Andrade. Quantificação do decréscimo do risco associado à biorremediação de um solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.
- LÓPES, D. A. R.; MUELLER, D. Uso de peróxido de cálcio na biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonatos. Caderno de Pesquisa série Biologia, v. 21 n. 3, p. 61-72, 2009.
- LUBES em foco. Disponível em: <[www.lubes.com.br/revista/ed02n04.html](http://www.lubes.com.br/revista/ed02n04.html)>. Acesso em: 21 nov. 2010.
- MAIER, R. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. Environmental microbiology. San Diego, California: Academic Press, 2000. 585p.
- MARGESIN, R.; ZIMMERBAUER, A.; SCHINNER, F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. Chemosphere, v. 40, n. 4, p. 339-346, 2000.
- MARIANO, A. P.; ANGELIS, D.; BONOTTO, D. M. Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação de biodegradação em área contaminada com óleo diesel. Eng. Sanit. Ambient. [online].v.12, n.3, p. 296-304, 2007.
- MARIANO, Adriano Pinto. Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel. 2006. 162 f. Tese (Doutorado em Geociências e Meio Ambiente) - Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, 2006.
- MARQUES, M. Fitorremediação de solos multi-contaminados por HPAs e metais pesados a partir de óleo lubrificante usado. Projeto aprovado pelo Edital Universal CNPq No 15/2007, Processo 475644/2007 no âmbito do Programa de Pesquisa Científica, Tecnológica e Inovação, MCT/CNPq, 2007.
- MARTINES, A. M.. Impacto do lodo de curtume nos atributos biológicos e químicos do solo. 2005.62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.
- MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Estratégias de isolamento de microorganismos envolvidos na degradação de xenobióticos. In:\_\_\_\_\_. Microbiologia Ambiental. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. Cap. 9, p. 99-216.
- MEURER, E. J. Fundamentos de química do solo. 2ª. Edição. Porto Alegre, p. 290. Gênese, 2004.
- MILLIOLI, Valéria Souza. Avaliação da potencialidade da utilização de surfactantes na biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo. 2009. 200 f. Tese (Doutorado em Processamento, Gestão e Meio Ambiente na Indústria do Petróleo e Gás Natural) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa 62, de 22 de agosto de 2003. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14. Anexo IV.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=ascom.noticiaMMA&idEstrutura=8&codigo=5373>>. Acesso em: 04 dez. 2009.

MIROSLAV, N.; HORAKOVA, D. Mixture of microorganisms, its use for biodegradation of hydrocarbons, as well as process for its application. Patent Number: US 5575998. 1996.

MOLINA-BARAHONA, L.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R.; HERNÁNDEZ-VELASCO, M.; VERGA-JAQUÍN, C.; ZAPATA-PÉREZ, O.; MENDOZA-CANTÚ, A.; ALBORES, A. Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. *Applied Soil Ecology*, v. 27, n. 2, p. 165-175, 2004.

MOURA, C. R. S.; CARRETEIRO, R. P. Lubrificantes e lubrificação. Rio de Janeiro. Livros Técnicos e Científicos, 1978.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2 ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MUELLER, P.; BREIDENBACH, D.; HOFMAN, M. Ist der Einsatz von speziell in Labor gezuchteten Mikroorganismen in der Bodensanierung sinnvoll. In: STEGMANN, R. *Neue Techniken der Bodenreinigung*. Bonn: Econômica, 1996.

NAKAGAWA, L. E.; ANDRÉA, M. M. Efeito de Alterações nas Características do Solo sobre a Degradação de Hexaclorobenzeno. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.30, p.575-582, 2006.

NAMKOONG, W.; HWANG, EUI-YOUNG; PARK, JOON-SEOK; CHOI, JUNG-YOUNG. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution*, v. 119, n. 1, p. 23-31, 2002.

NETTO, P. R. C.; ROSSI, L. F. S.; ZAGONEL, G. F.; RAMOS, L. P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. *Química Nova*, v. 23, n. 4, p. 531-37, 2000.

NOVUS PRODUTOS ELETRÔNICOS. Apresenta manual de registrador virtual – Fieldlogger. Disponível em: <<http://www.novus.com.br/site/default.asp?TroncoID=621808&SecaoID=607370&SubsecaoID=0>>. Acesso em 14 jun. 2009.

OLIVEIRA, D. S.; BAISCH, P. R. M.; MACHADO, M. I. Degradação do petróleo em ambiente estuarino da lagoa dos Patos através de um derrame induzido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS, 4, 2007, Campinas, SP. Anais... Campinas: DPETRO, 2007.

OLIVEIRA, F. J. S. Biorremediação de solo arenoso contaminado por óleo cru. 2001. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

OLIVEIRA, J. B. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos: banco de dados. Embrapa Solos; 2008. Disponível em: < <http://200.20.158.8/blogs/sibcs/>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

OLIVEIRA, T. B.; COSTA, G. M.; MARQUES, M.; CORRÊA, S. M. MACEDO, J. R. Biorremediação de solos contaminados por diesel e mistura de diesel/biodiesel-B5 em biorreatores aeróbios. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24, 2007, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: ABES, 2007.

OLIVEIRA, Thaís Brito de. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e mistura diesel e biodiesel em biorreator aeróbico. 2006. 78 f. Projeto Final (Graduação em Engenharia Civil – ênfase Sanitária) – Escola de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

OLIVEIRA, V. M.; SETTE, L. D.; FANTINATTI-GARBOGGINI, F. Preservação e prospecção de recursos microbianos. Multiciência, São Paulo. 2006. Disponível em: < <http://www.multiciencia.unicamp.br/>>. Acesso em 20 out. 2008.

OU DOT, J.; MERLIN, F.X.; PINVIDIC, P. Weathering rates of oil component in a bioremediation experiment in Estuarine sediments, Mar. Environ. Res. 45, 113–125 p., 1998.

PALA, Danielle Marins. Estudo da biorremediação de solo impactado por petróleo. 2002. 114 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) - Instituto Alberto Luiz Coimbra (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

PAUL, E.A., CLARK, F.E., 1989, Soil Microbiology and Biochemistry. San Diego, Academic Press, Inc

PAUL, D.; PANDEY, G.; PANDEY, J. M.; JAIM R. K. Accessing microbial diversity for bioremediation and environmental restoration. TRENDS in Biotechnology, v. 23, n.3, p. 135-142, March., 2005.

PEDRON, F. A.; DALMOLIN, R. S. D.; AZEVEDO, A.C.; KAMINSKI, J. Solos urbanos. Ciência Rural, Santa Maria, v. 34, n.5, p.1647-1653, set/out, 2004.

PEDROTI, G. I., Ensaios de biodegradabilidade aeróbia de hidrocarbonetos derivados do petróleo em solos. 2007. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2007.

PEDROZO, M. F. N.; BARBOSA, E. M.; CORSEUIL, H. X.; SHNEIDER, M. R.; LINHARES, M. M. Ecotoxicologia e avaliação de risco do petróleo. Salvador: Centro de Recursos Ambientais, 2002. 246 p. (Cadernos de Referência Ambiental, 42).

PEPPER, I. L.; GERBA, C. P.; BRUSSEAU, M. L. Environmental and pollution science. 2 ed. San Diego, Califórnia: Academic Press, 2006, 532 p.



PEREIRA, Priscila Fernanda da Silva. Perfil analítico da biodegradação de solos arenoso e argiloso contaminados por óleo cru. 2008. 215 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

PIEPER, D. H; REINEKE, W. Engineering bacteria for bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 11, n. 3, p. 262-270, 2000.

QUELHAS, O. L. G.; TÁVORA, S. P. Óleos Lubrificantes usados - Evolução das responsabilidades pela coleta/destinação e alternativas para aplicações: uma contribuição para a tecnologia de produção mais limpa. . Rio de Janeiro: UFF, 2003.

RISER-ROBERTS, E. Remediation of petroleum contaminated soils: biological, physical, and chemical processes, 1998.

RIZZO, A. C. L. et al. Preliminary identification of the bioremediation limiting factors of a clay bearing soil contaminated with crude oil. *J. Braz. Chem. Soc.*[online]. 2008, vol.19, n.1, pp. 169-174. ISSN 0103-5053.

RIZZO, A. C. L.; LEITE, S. G. F.; SORIANO, A. U.; SANTOS, R. L. C.; SOBRAL, L. G. S. Biorremediação de solos contaminados por petróleo: ênfase no uso de biorreatores. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2006. 76 p. (Tecnologia Ambiental, 37).

ROSA, A. P.; TRIGÜIS, J. A. Processo de biorremediação usando fertilizante NPK em eventuais derrames de óleo – experimentos laboratoriais. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 36, n. 2, p. 232-242, 2006.

ROSATO, Y. B., 1997, Biodegradação de petróleo. In: Melo, I. S. Azevedo, J.L. (eds), *Microbiologia Ambiental*, pp. 307, Jaguariúna, Embrapa –CNPMA.

SANTOS R. M.; LEITE, S. G. F.; SOBRAL, L. G. S.; RIZZO, A. C. L. Remediação de solo contaminados por petróleo em biopilhas – escala piloto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS, 4, 2007, Campinas, SP. Anais...Campinas, São Paulo: PDPETRO, 2007.

SANTOS, D.S.; ANDRADE, C. A.; MATTIAZZO, M.E. Degradação da fração orgânica de lodos de esgoto após aplicação no solo (compost disc). In: FERTBIO, Rio de Janeiro, 2002. Resumos. Rio de Janeiro: SBCS; SBM: UFFRJ, 2002.

SANTOS, R. M. Avaliação da adição do pó da casca de coco verde, como material estruturante, na biorremediação de solo contaminado por petróleo. 2007. 143 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

SARKAR, D. M.; FERGUSON, M.; DATTA, R.; BIRNBAUM, S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environmental Pollution*, v. 136, n. 1, p. 187-195, 2005.

SEABRA, Paulo Negrais Carneiro. Aplicação de biopilha na biorremediação de solos argilosos contaminados por petróleo. 2005. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências em Engenharia Química) -

Instituto Alberto Luiz Coimbra (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

SEABRA, Paulo Negrais. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e derivados. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Microbiologia Ambiental. 2 ed. Jaguariúna – SP: Embrapa Meio Ambiente, 2008. Cap. 24, p. 547-570.

SEMPLE, K. T.; REID, B. J.; FERMOR, T. R. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution*, v. 112, n. 2, p. 269-283, 2001.

SEPÚLVEDA, T. V.; TREJO, J. A. V. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. México: INE-SEMARNAT, 2002. 64 p.

SCHEFFER, P. Lehrbuch der Bodenkunde. 14 ed. Stuttgart: Enke, 1998.

SIDDIQUE, T.; OKEKE, B.C.; ARSHARD, M; FRANKENBERGER, W. T. Jr. Temperature and pH effects on biodegradation of hexachlorocyclohexane isomers in water and soil slurry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. V. 50,pp. 5070-5076, 2002.

SILVA, Edmilson Pinto. Avaliação preliminar do potencial de aplicação da tecnologia de biopilhas para a biorremediação do solo de Guamaré- RN. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, 2004.

SILVA, Leonardo Jordão. Processo de Landfarming para tratamento de resíduos oleosos. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Processamento, Gestão e Meio Ambiente na Indústria do Petróleo e Gás Natural) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

SINDICATO DE COMBUSTÍVEIS E LUBRIFICANTES (Brasil). Produção de lubrificantes. Disponível em:<[www.sindicom.com.br](http://www.sindicom.com.br)>. Acesso em: 04 abr. 2010.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DO RERREFINO DE ÓLEOS MINERAIS (Brasil). Fóruns e Seminários. ANP - Fórum Downstream. Emissões no transporte - C N T. Disponível em:[www.sindirrefino.org.br/lubrificantes/foruns-ANP.htm](http://www.sindirrefino.org.br/lubrificantes/foruns-ANP.htm). Acesso em: 07 jun 2010.

SNAPE, I.; HARVEY, P.M.; FERGUSON, S.H.; RAYNER, J.L.; REVILL, A. T. – Investigation of evaporation and biodegradation of fuel spills in Antarctica – I. A chemical approach using a GC-FID – *Chemosphere* – 61- pg 1485 1494- 2005.

SON, H. G.; BARTHA. R,. Effect of jet fuel on the microbial community of soil. *Appl. Environmental Microbiology*, v. 56, p. 646-651, 1990.

SPARKS, Donald. L. Environmental soil chemistry. 2th ed. San Diego, California: Academic Press, 2003. 352 p.

SPILBORGS, M. C. F. Biorremediação de aquíferos contaminado com hidrocarbonetos. Dissertação de Mestrado - Instituto de Geociências. Universidade de São Paulo, São Paulo - SP. 1997.

STIER, THOMAS. Remediação e revitalização de áreas contaminadas. Aspectos Técnicos, Legais e Financeiros. Experiências nacionais e internacionais. Instituto EKOS BRASIL. Editora SIGNUS. São Paulo, 2004.233 p.

SUZUKI, Jorge Brunetti. OGM: aspectos polêmicos e a nova lei de biossegurança. Jus Navigandi, Teresina, ano 11, n. 997, 25 mar. 2006. Disponível em:<<http://jus.uol.com.br/revista/texto/8148>>. Acesso em: 30 jan. 2011.

TÁVORA, S. P.; QUELHAS, O. L. G. Óleos lubrificantes usados – evolução das responsabilidades pela coleta; destinação e alternativas para aplicações: uma contribuição para a tecnologia de produção mais limpa. Produção online, Santa Catarina. v. 3, n. 2, p. 1193-97, 2003. Disponível em: <http://www.doaj.org/doi/func=abstract&id=215012>. Acesso em 3 set. 2008.

TSAI, S. M.; BARAIBAR, A. V. L.; ROMANI, V. L. M.. Efeitos de fatores físicos e químicos sobre os micrororganismos do solo: umidade e aeração. In CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. Microbiologia do solo Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Campinas, 1992.

TELHADO, M. C. S. C.L. Avaliação da biodisponibilidade de contaminante orgânico em solo. 2009. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

TRINDADE, Pedro Veltri Ormastroni. Avaliação das técnicas de bioaumentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo. 2002. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

TRISTÃO, J. A. M.; FREDERICO, E; VIÉGAS, R. F. O processo de reciclagem do óleo lubrificante. In: Simpósio de Administração e Operações Internacionais, XI, 2008, São Paulo. Anais... São Paulo: FGU-EAESP, 2008. p. 186.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (U.S.EPA). Enhanced aerobic bioremediation. In: How to evaluate alternative cleanup technology for underground storage tank sites: a guide corrective action plan reviews. EPA 5010-R-04-002. May 2004. 69 p. Disponível em:< <http://www.epa.gov/swrust1/pubs/tums.htm>>. Acesso em: 13 ago. 2009.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (U.S.EPA). Treatment technologies for site cleanup: annual status report (twelfth edition). EPA-542-R-07-012. Washington D.C.: Office of Solid Waste and Emergency Response, 2007. Disponível em: < <http://www.clu-in.org/asr/>>. Acesso em: 12 set. 2008.

URURAHY, A. F.P. Biorremediação de Resíduos Oleoso Proveniente de Refinaria de Petróleo. 1998, p. 344. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

URURAHY, A.F. P.; PERREIRA, N. Jr.; MARIS, M. D. M. Desempenho de um biorreator do tipo CSTR no processo de degradação de borra oleosa. Boletim Técnico PETROBRÁS, Rio de Janeiro, v. 41 (3/4): 125-132, jul./dez., 2008.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). Expert Group on Best Available Techniques and Best environmental Practices First meeting. Compilation of comments received from Parties and others on the draft Guidelines on Best Available Techniques and provisional Guidance on Best Environmental Practices Geneva, Switzerland, 28 nov. – 2 dec. 2005.

VANDERMEER, K. D.; DAUGULIS, A. J. Enhanced degradation of a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons by a defined microbial consortium in a two-phase partitioning biorreator. Biodegradation. 2007 (18) p. 211-21.

VAZ, M. J. – Biodegradação ex-situ e avaliação da atividade biológica de solos contaminados por hidrocarbonetos. Universidade de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2010. (Mestrado) Departamento de Tecnologia Ambiental. Universidade Santa Cruz do Sul – UNICS, Santa Cruz do Sul, RS.

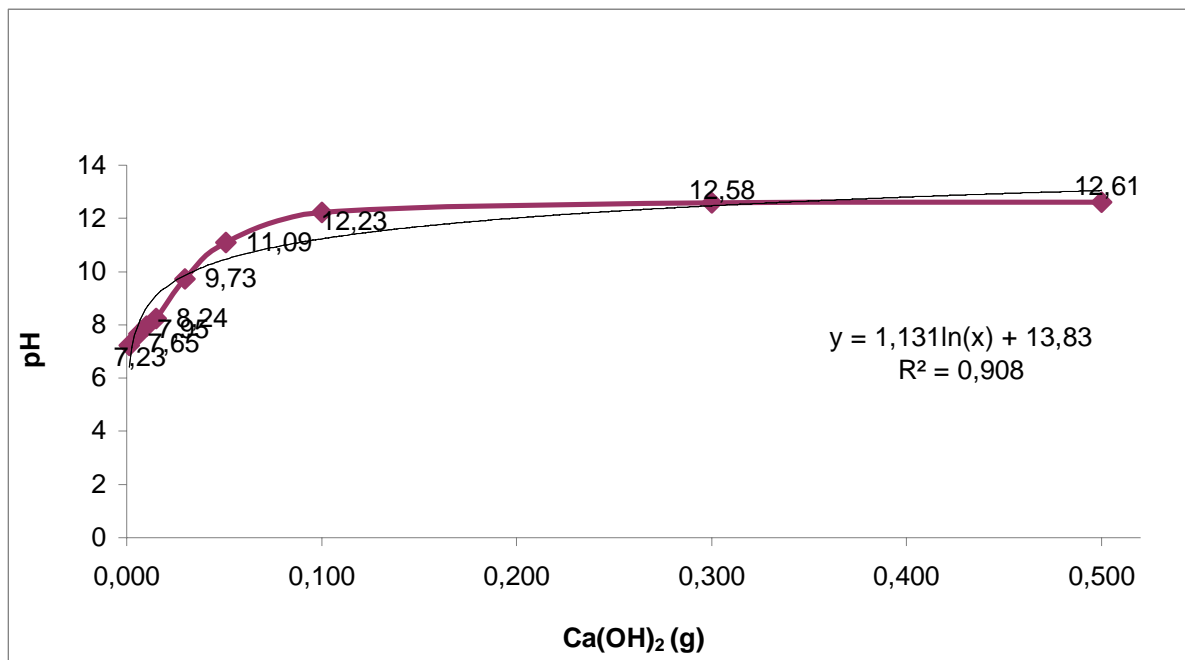
VIDALI, M. Bioremediation: an overview. Pure Applied Chemistry, v. 73, n. 7, p. 1163-1172, 2000.

VIELMO, A. L. Limite superior da retenção da água no solo: método de campo e método de estimativa. 2008. 82 f. Dissertação. Mestrado em Engenharia Agrícola. Centro de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, RS.

WISE, D.L., TRANTOLO, D.J., CICHON, E.J., INYANG, H. I., STOTTMEISTER, U. Remediation Engineering of Contaminated Soils, CRC Press, 996p, 2000

WITTER,E.; LOPEZ-REAL, JM 1987. Acompanhamento do processo de compostagem utilizando os parâmetros de estabilidade do composto. Em: M de Bertoldi, MP Ferranti, 'Hermite P.L Zucconi & F. (eds) Composto: Qualidade e Uso, pp 351-358. Elsevier Applied Science, em Londres.

ZAMBONI, Gustavo Eduardo. Óleos básicos.Lubes em Foco, Rio de janeiro, ano 2, n. 5, fev./mar., 2008. Disponível em: <<http://www.lubes.com.br/>>. Acesso em 15 jun. 2010.

APÊNDICE A – Curva de neutralização de pH, massa de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  versus pH.Figura 35. Curva de neutralização de pH, massa de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  versus pH.

**APÊNDICE B** – Caracterização do Óleo lubrificante usado e / ou contaminado - OLUCs

Tabela 21. Caracterização do óleo lubrificante usado e / ou contaminado - OLU, em relação aos componentes voláteis orgânicos – VOCs.

VOCs	UNIDADES	LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADOS
Benzeno	mg kg <sup>-1</sup>	2	< 2
Etilbenzeno	mg kg <sup>-1</sup>	2	< 2
Tolueno	mg kg <sup>-1</sup>	2	< 2
Xileno	mg kg <sup>-1</sup>	2	< 2

Tabela 22. Caracterização do óleo lubrificante usado e /ou contaminado - OLU, em relação aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – HPAs

HPAs	UNIDADES	LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADOS
Antraceno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
Benzo (a) antraceno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
Benzo (a) pireno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
Benzo (k) Fluoranteno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
Criseno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
DiBenzo (ah) antraceno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
DiBenzo (ahi) perileno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
Fenatreno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
Indeno (1,2,3-c,d) pireno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008
Naftaleno	mg kg <sup>-1</sup>	0,008	< 0,008

Tabela 23. Caracterização do óleo lubrificante usado e / ou contaminado – OLU, em relação aos metais tóxicos.

Metais tóxicos	UNIDADES	LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADOS
Alumínio	mg Al kg <sup>-1</sup>	0,001	212
Arsênio	mg As kg <sup>-1</sup>	0,001	< 0,001
Bismuto	mg Bi kg <sup>-1</sup>	0,02	< 0,02
Bário	mg Ba kg <sup>-1</sup>	0,006	186
Boro	mg B kg <sup>-1</sup>	0,1	1,3
Cádmio	mg Cd kg <sup>-1</sup>	0,001	< 0,001
Chumbo	mg Pb kg <sup>-1</sup>	0,01	< 0,01
Cobre	mg Cu kg <sup>-1</sup>	0,002	12,0
Cobalto	mg Co kg <sup>-1</sup>	0,002	0,80
Cromo Total	mg Cr kg <sup>-1</sup>	0,01	5,8
Estanho	mg Sn kg <sup>-1</sup>	0,02	< 0,02
Estrôncio	mg Sr kg <sup>-1</sup>	0,01	133
Ferro	mg Fé kg <sup>-1</sup>	0,01	329
Lítio	mg Li kg <sup>-1</sup>	0,01	< 0,01
Magnésio	mg Mg kg <sup>-1</sup>	0,5	418
Manganês	mg Mn kg <sup>-1</sup>	0,01	28,0
Mercúrio	mg Hg kg <sup>-1</sup>	0,0001	< 0,0001
Níquel	mg Ni kg <sup>-1</sup>	0,01	33,0
Potássio	mg K kg <sup>-1</sup>	0,5	68,0
Prata	mg Ag kg <sup>-1</sup>	0,01	< 0,01
Silício	mg Si kg <sup>-1</sup>	0,5	26,0
Sódio	mg Na kg <sup>-1</sup>	0,5	215
Vanádio	mg V kg <sup>-1</sup>	0,01	32,0
Zinco	mg Zn kg <sup>-1</sup>	0,01	136

**APÊNDICE C – Monitoramento da Umidade, média e desvio-padrão.**

Tabela 24. Monitoramento da Umidade dos tratamentos, ao longo de todo o período experimental, média e desvio padrão.

tempo	Parâmetros	CONT <sub>sa</sub>	BIOS <sub>sa</sub>	ABIO <sub>sa</sub>	BIOS <sub>ca</sub>	BIOA <sub>1ca</sub>	BIOA <sub>2ca</sub>
0 d	CC	30,00 ± 0,56	28,60 ± 0,14	28,60 ± 0,12	28,60 ± 0,11	39,01 ± 0,87	42,29 ± 0,82
	W (%)	13,00 ± 0,08	8,50 ± 0,02	8,50 ± 0,04	8,50 ± 0,04	11,30 ± 0,34	12,75 ± 0,22
30 d	CC	29,00 ± 0,14	34,00 ± 0,17	32,00 ± 0,23	33,00 ± 0,43	44,70 ± 0,45	37,00 ± 0,34
	W (%)	8,70 ± 0,04	10,80 ± 0,08	9,60 ± 0,04	10,30 ± 0,05	12,80 ± 0,45	11,10 ± 0,31
60 d	CC	28,30 ± 0,12	36,70 ± 0,16	39,40 ± 0,45	38,70 ± 0,32	49,70 ± 0,43	48,90 ± 0,34
	W (%)	9,50 ± 0,03	14,68 ± 0,07	11,82 ± 0,05	11,80 ± 0,45	15,30 ± 0,15	16,80 ± 0,56
90 d	CC	29,40 ± 0,14	36,00 ± 0,14	38,30 ± 0,12	37,00 ± 0,34	40,20 ± 0,45	45,70 ± 0,34
	W (%)	8,44 ± 0,05	10,90 ± 0,03	11,50 ± 0,04	11,80 ± 0,07	12,80 ± 0,23	14,20 ± 0,38
120 d	CC	30,80 ± 0,12	25,70 ± 0,12	26,40 ± 0,12	23,40 ± 0,17	35,60 ± 0,34	51,30 ± 0,67
	W (%)	9,42 ± 0,04	10,82 ± 0,03	8,73 ± 0,04	9,45 ± 0,08	12,30 ± 0,37	16,80 ± 0,30
150 d	CC	30,50 ± 0,16	36,60 ± 0,12	38,20 ± 0,15	42,70 ± 0,45	45,70 ± 0,67	58,10 ± 0,84
	W (%)	10,68 ± 0,08	12,81 ± 0,08	11,46 ± 0,06	12,90 ± 0,67	14,20 ± 0,56	18,30 ± 0,78
180 d	CC	29,7 ± 0,14	32,60 ± 0,11	35,90 ± 0,13	34,30 ± 0,27	23,40 ± 0,97	32,70 ± 0,86
	W (%)	9,91 ± 0,03	10,78 ± 0,05	11,56 ± 0,06	11,30 ± 0,43	7,50 ± 0,04	10,80 ± 0,07



## APÊNDICE D: Quantificação do potencial hidrogeniônico (pH)

Tabela 25. Quantificação do potencial hidrogeniônico (pH), média e desvio-padrão.

Tratamentos	Intervalo amostral (dias)						
	t <sub>0</sub> - 0	t <sub>1</sub> -30	t <sub>2</sub> -60	t <sub>3</sub> -90	t <sub>4</sub> -120	t <sub>5</sub> -150	t <sub>6</sub> -180
CONT <sub>sa</sub>	7,70 ± 0,10	7,97 ± 0,02	7,76 ± 0,05	7,82 ± 0,01	7,80 ± 0,05	7,85 ± 0,03	7,52 ± 0,01
BIOS <sub>sa</sub>	6,60 ± 0,00	6,74 ± 0,06	5,94 ± 0,00	6,05 ± 0,06	5,90 ± 0,03	5,74 ± 0,04	5,77 ± 0,02
ABIO <sub>sa</sub>	8,80 ± 0,10	9,30 ± 0,02	9,45 ± 0,03	9,30 ± 0,06	9,50 ± 0,03	7,92 ± 0,14	9,60 ± 0,01
BIOS <sub>ca</sub>	6,60 ± 0,00	6,93 ± 0,06	6,53 ± 0,06	6,19 ± 0,04	6,50 ± 0,02	5,69 ± 0,04	5,57 ± 0,02
BIOA <sub>1ca</sub>	7,90 ± 0,10	7,64 ± 0,06	7,29 ± 0,00	7,41 ± 0,02	7,00 ± 0,00	7,02 ± 0,04	6,79 ± 0,00
BIOA <sub>2ca</sub>	7,50 ± 0,00	7,48 ± 0,02	7,37 ± 0,00	7,33 ± 0,02	7,10 ± 0,02	7,23 ± 0,05	6,74 ± 0,00

## APÊNDICE E – Teste de Kruskal Wallis para os reatores.

### Primeira etapa:

$H_0$  = Não existe diferença entre os reatores para o intervalo de tempo determinado.

$H_1$  = Existe diferença entre os reatores para o intervalo de tempo determinado.

**Segunda etapa:** Estabelecendo o nível de significância:  $\alpha = 0,05$ .

**Terceira etapa:** Estabelecendo a estatística de teste **H**.

**Quarta etapa:** Estabelecendo os valores críticos.

× Como existem n reatores ,  $k = n$ .

× Como cada reator consiste de quatro valores temos  $N_1 = N_2 = N_3 = N_4 = N$ .

$\chi^2$  crítico ( $\alpha = 0,05$  e  $gl = k - 1$  )

$\chi^2$  observado = **H**

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^k \frac{(R_j)^2}{n_j} - 3(N+1)$$

15

N = números total de observações

K = números de amostras

N<sub>j</sub> = números de observações na j-ésima amostra

R<sub>j</sub> = Soma dos postos da j-ésima amostra

Tabela 26. Teste de Kruskal Wallis: comparação entre os reatores determinados no intervalo de tempo considerado.  $\alpha = 0,05$

Reatores	gl	N	$\chi^2_{\text{observado}}$	$\chi^2_{\text{crítico}}$	p-valor	Conclusões
ABIO <sub>sa</sub>						$\chi^2_{\text{observado}} < \chi^2_{\text{crítico}}$ ; Se $p\text{-valor} > \alpha$ , a hipótese nula
BIOS <sub>sa</sub>	1	8	0,3333	3,841	0,563722	deverá ser aceita. Não há diferença estatística entre os reatores ABIO <sub>sa</sub> e BIO <sub>sa</sub> .
BIOS <sub>ca</sub>						$\chi^2_{\text{observado}} < \chi^2_{\text{crítico}}$ Se $p\text{-valor} > \alpha$ , a hipótese nula
BIOA <sub>1ca</sub>	1	8	3,2083	3,841	0,073265	deverá ser aceita. Não há diferença estatística entre os reatores BIOS <sub>ca</sub> e BIOA <sub>1ca</sub> .
BIOS <sub>ca</sub>						$\chi^2_{\text{observado}} < \chi^2_{\text{crítico}}$ Se $p\text{-valor} > \alpha$ , a hipótese nula
BIOA <sub>2ca</sub>	1	8	0,3333	3,841	0,563722	deverá ser aceita. Não há diferença estatística entre os reatores BIOS <sub>ca</sub> e BIOA <sub>1ca</sub>
BIOA <sub>1ca</sub>						$\chi^2_{\text{observado}} < \chi^2_{\text{crítico}}$ Se $p\text{-valor} > \alpha$ , a hipótese nula
BIOA <sub>2ca</sub>	1	8	0,0001	3,841	0,992021	deverá ser aceita. Não há diferença estatística entre os reatores BIOA <sub>1ca</sub> e BIOA <sub>2ca</sub>
BIOS <sub>ca</sub>						$\chi^2_{\text{observado}} < \chi^2_{\text{crítico}}$ Se $p\text{-valor} > \alpha$ , a hipótese nula
BIOA <sub>1ca</sub>	2	12	1,0769	5,226	0,583652	deverá ser aceita. Não há diferença estatística entre os reatores BIOS <sub>ca</sub> , BIOA <sub>1ca</sub> e BIOA <sub>2ca</sub> .
BIOA <sub>2ca</sub>						

APÊNDICE F – Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores BIOS<sub>sa</sub> e ABIO<sub>sa</sub>

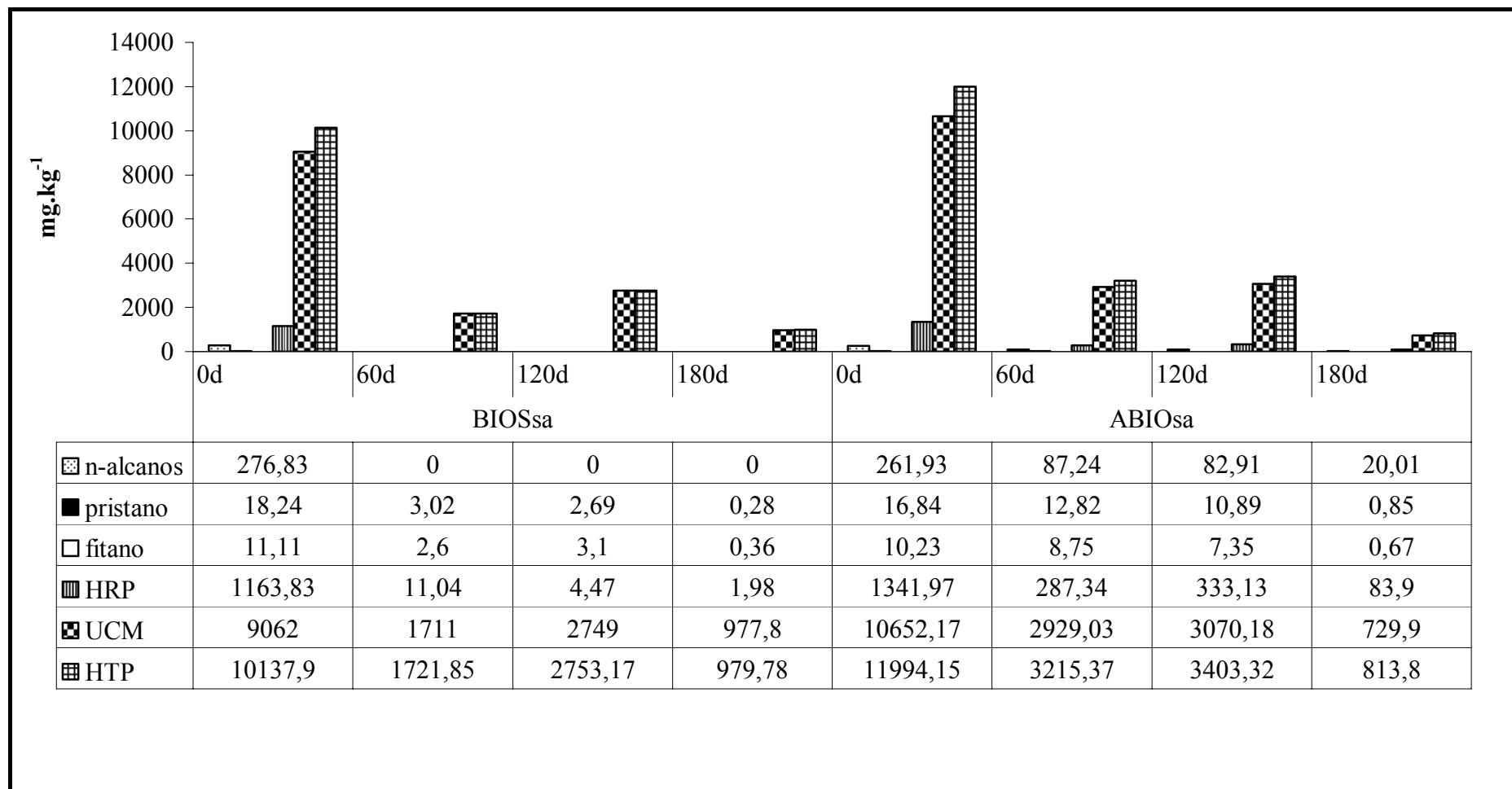


Figura 36. Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores BIOS<sub>sa</sub> e ABIO<sub>sa</sub>

APÊNDICE G - Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores BIOS<sub>ca</sub>, BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>

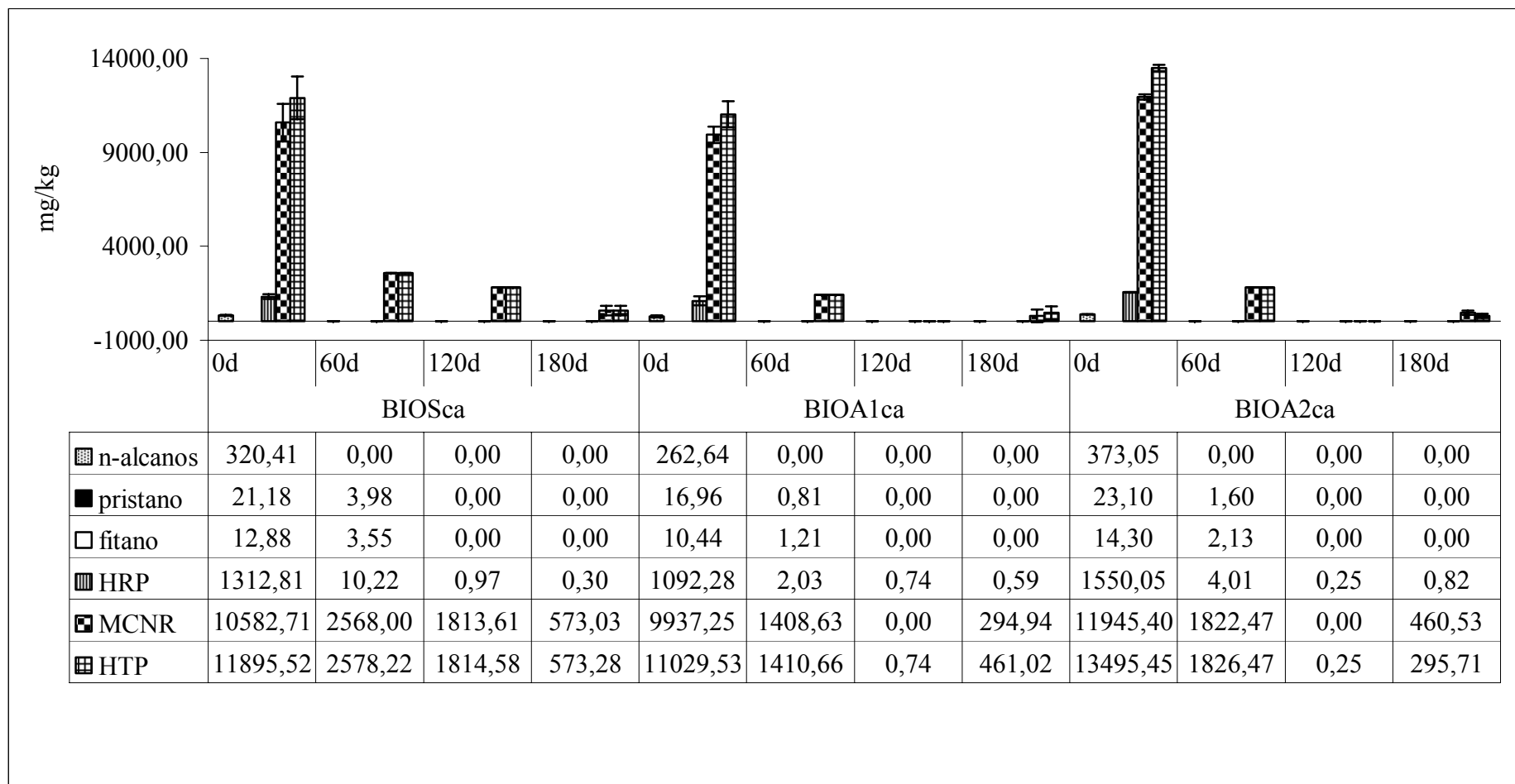


Figura 37. Monitoramento dos HTPs e suas frações, nos biorreatores BIOS<sub>ca</sub>, BIOA<sub>1ca</sub> e BIOA<sub>2ca</sub>.

## ANEXO A – Valores orientadores para solos no Estado de São Paulo

Tabela 27. Valores orientadores para solos em Estado de São Paulo.

Substância	CAS No.	Solo (mg.kg <sup>-1</sup> de peso seco) <sup>(1)</sup>				
		Referência de Qualidade	Prevenção	Intervenção		
				Agrícola APMax	Residencial	Industrial
<b>Inorgânicos</b>						
Alumínio	7429-90-5	-	-	-	-	-
Antimônio	7440-36-0	<0,5	2	5	10	25
Arsênio	7440-38-2	3,5	15	35	55	150
Bário	7440-39-3	75	150	300	500	750
Boro	7440-42-8	-	-	-	-	-
cádmio	7440-48-4	<0,5	1,3	3	8	20
Chumbo	7440-43-9	17	72	180	300	900
Cobalto	7439-92-1	13	25	35	65	90
Cobre	7440-50-8	35	60	200	400	600
Cromo	7440-47-3	40	75	150	300	400
Ferro	7439-89-6	-	-	-	-	-
Manganês	7439-96-5	-	-	-	-	-
Merúrio	7439-97-6	0,05	0,5	12	36	70
Molibdênio	7439-98-7	<4	30	50	100	120
Níquel	7440-02-0	13	30	70	100	130
Nitrato (N)	797-55-08	-	-	-	-	-
Prata	7440-22-4	0,25	2	25	50	100
Selênio	7782-49-2	0,25	5	-	-	-
Vanádio	7440-62-2	275	-	-	-	-
Zinco	7440-66-6	60	300	450	1000	2000
<b>Hidrocarbonetos aromáticos voláteis</b>						
Benzeno	71-43-2	na	0,03	0,06	0,08	0,15
Estireno	100-42-5	na	0,2	15	35	80
Etilbenzeno	100-41-4	na	6,2	35	40	95
Tolueno	108-88-3	na	0,14	30	30	75
Xilenos	1330-20-7	na	0,13	25	30	70
<b>Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos</b>						
Antraceno	120-12-7	na	0,039	-	-	-
Benzo(a)antraceno	56-55-3	na	0,025	9	20	65
Benzo(k)fluoranteno	207-06-9	na	0,38	-	-	-
Benzo(g,h,i)perileno	191-24-2	na	0,57	-	-	-
Benzo(a)pireno	50-32-8	na	0,052	0,4	1,5	3,5
Criseno	218-01-9	na	8,1	-	-	-
Dibenzo(a,h)antraceno	53-70-3	na	0,08	0,15	0,6	1,3
Fenantreno	85-01-8	na	3,3	15	40	95
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	193-39-5	na	0,031	2	25	130
Naftaleno	91-20-3	na	0,12	30	60	90

