



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

ESTUDO DE APLICAÇÃO DE SERRAGEM COMO MATERIAL
ESTRUTURANTE E DE AERAÇÃO NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS
CONTAMINADOS COM ÓLEO DIESEL

GABRIELA MENTA ALVIM

BELO HORIZONTE

2015

GABRIELA MENTA ALVIM

ESTUDO DE APLICAÇÃO DE SERRAGEM COMO MATERIAL
ESTRUTURANTE E DE AERAÇÃO NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS
CONTAMINADOS COM ÓLEO DIESEL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas
Gerais como requisito parcial para obtenção do título
de Engenheiro Ambiental e Sanitarista.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Patrícia Procópio Pontes

BELO HORIZONTE

2015

Alvim, Gabriela Menta.

Estudo de aplicação de serragem como material estruturante e de aeração na biorremediação de solos contaminados com óleo diesel / Gabriela Menta Alvim.-2015.

62f.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Patrícia Procópio Pontes

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 2015

1. Biorremediação. 2. Serragem. 3. Aeração. 4. Título. I. Procópio Pontes, Patrícia. II. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais. III. Estudo de aplicação de serragem como material estruturante e de aeração na biorremediação de solos contaminados com óleo diesel.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois Sua força é o alicerce para minha luta. Obrigada Pai, pela vida, sabedoria e perseverança para concluir este trabalho.

À minha mãe, ao meu pai, aos meus avós e familiares que me apoiaram nos momentos difíceis, compreenderam minha ausência e falta de tempo e me incentivaram a prosseguir mesmo diante do cansaço.

Ao Emídio, à minha irmã Thiala e aos meus amigos pelo apoio incondicional em todas as horas e pela compreensão nos momentos que precisei me ausentar para dedicar ao estudo.

A todos os professores que tive a honra de ser aluna. Obrigada por transmitirem uma das maiores virtudes que se pode ter: o conhecimento.

À minha orientadora, Prof^a. Dra., Patrícia Procópio Pontes, que sabiamente me orientou para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pela dedicação, atenção e pelos conselhos.

RESUMO

GABRIELA MENTA ALVIM, Estudo de aplicação de serragem como material estruturante e de aeração na biorremediação de solos contaminados com óleo diesel. 2015. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) – Departamento de Ciência e Tecnologia Ambiental, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

Vazamentos acidentais de hidrocarbonetos de petróleo têm causado globalmente grande preocupação em função de seus efeitos negativos ao ambiente e à saúde humana. Deste modo, torna-se importante o desenvolvimento de técnicas de remediação em áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo e derivados. O proposto estudo tem o objetivo de avaliar o efeito da adição de diferentes proporções de material estruturante (serragem a 5% e 10%) e do uso da aeração por revolvimento na biorremediação de solos contaminados com óleo diesel. Após caracterização inicial, o solo foi contaminado com óleo diesel, objetivando simular o vazamento de resíduos. Foram utilizadas amostras de 50g de solo, colocadas em garrafas de 250ml e mantidas em estufa a uma temperatura média de 25°C, durante de 26 dias. O monitoramento do processo de biodegradação das amostras foi realizado pelo método respirométrico, utilizando o sistema de medida *OxiTop* (*OxiTop-C[®]*), para medida da produção de CO₂ durante o período de incubação. Foram realizadas, ainda, análises de óleos e graxas para determinação do teor de óleo remanescente ao final do experimento e da porcentagem de remoção do contaminante. O maior grau de degradação do óleo diesel foi obtido para a combinação 5% Serragem + Aeração e 10% Serragem + Aeração, com remoções de 55% e 50% do combustível, respectivamente. Verificou-se que a adição de serragem atuou elevando a atividade microbiana do solo, mas não a ponto de tornar a degradação do óleo diesel mais efetiva. Conclui-se que a aeração foi o principal agente atuante no aumento da biodegradação do contaminante. Espera-se que o estudo da técnica de biorremediação em solos contaminados com óleo diesel auxilie futuramente na minimização de impactos decorrentes de acidentes ambientais.

Palavras-chave: BIORREMEDIAÇÃO. ÓLEO DIESEL. SOLOS CONTAMINADOS. SERRAGEM. AERAÇÃO.

ABSTRACT

GABRIELA MENTA ALVIM, Aeration and sawdust implementation study as a structural material in the bioremediation of soils contaminated with diesel oil. 2015 62p. Monograph (Graduate) - Department of Environmental Science and Technology, Federal Center of Technological Education of Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

Accidental spills of petroleum hydrocarbons have caused global concern because of its negative effects on the environment and human health. Thus, it becomes important to develop remediation techniques in contaminated areas by petroleum hydrocarbons and derivatives. This study aims to evaluate the effect of adding different proportions of bulking agents (5% and 10% of sawdust) and the use of aeration in the bioremediation of soils contaminated with diesel oil. The soil contamination was simulated by adding diesel oil to the soil. Samples with 50g of soil were placed in bottles (250 ml) and maintained in an incubator at 25°C for 26 days. The monitoring of the biodegradation rates was performed by the respirometric method using the measurement system *OxiTop* (*OxiTop-C*®) to measure CO₂ production during the incubation period. At the end of the bioremediation experiment, the oils and greases analysis were done to determine the residual oil content and the percentage of contaminant removal. The greatest degradation of diesel oil occurred in the Aeration + 5% sawdust and Aeration + 10% sawdust treatments with 55% and 50% of oil removal, respectively. It was found that the addition of sawdust improved the soil microbial activity, but not enough to make a more effective degradation of diesel oil. As conclusion, the aeration was the main active agent in increasing the contaminant biodegradation. It is hoped that the study of bioremediation technique in contaminated soils may help to minimize future impacts of environmental accidents.

Keywords: BIOREMEDIATION. DIESEL OIL. CONTAMINATED SOIL. SAWDUST. AERATION.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1	Contaminação do solo por petróleo e seus derivados	16
3.2	Composição do óleo diesel e seus efeitos no meio	18
3.3	Técnicas de remediação de solos contaminados	20
3.3.1	Métodos de contenção	21
3.3.2	Processos de tratamento químico	22
3.3.3	Processos de tratamento físico.....	23
3.3.4	Processos de tratamento térmico	24
3.3.5	Processos de tratamento biológico	25
3.4	Uso da biorremediação em solos contaminados por óleo diesel	29
3.4.1	Fatores ambientais que influenciam a biorremediação.....	29
3.4.2	Estratégias de aumento da eficácia dos processos de biorremediação	33
3.5	Escolha dos materiais estruturantes	39
3.6	Monitoramento da biorremediação	41
3.6.1	Respirometria utilizando o método da titulometria: Respirômetro de Bartha....	41
3.6.2	Respirometria utilizando o método da condutivimetria	42
3.6.3	Respirometria utilizando o método manométrico: Sistema de medida <i>OxiTop-C</i> [®]	42
3.7	Legislações federais e estaduais.....	45
4	METODOLOGIA.....	49

4.1	Coleta, preparo e caracterização da amostra de solo	49
4.2	Preparo do material estruturante	50
4.3	Experimentos de biorremediação.....	50
4.4	Sistema de medição	51
4.5	Caracterização final do solo.....	54
4.6	Determinação do carbono da biomassa microbiana.....	54
4.7	Análise estatística	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1	Caracterização inicial do solo	55
5.2	Avaliação da respirometria	55
5.2.1	Comparação entre os experimentos com 5% e 10 % de serragem	55
5.2.2	Efeito do uso de serragem na biorremediação de óleo diesel.....	57
5.2.3	Efeito da aeração na biorremediação.....	58
5.3	Análise microbiológica	59
5.4	Remoção de óleo do solo	61
5.5	Determinação do carbono da biomassa microbiana.....	62
6.	CONCLUSÕES.....	63
7	RECOMENDAÇÕES.....	65
8	REFERÊNCIAS	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do sistema de medida OxiTop-C®.	44
Figura 2 - Local de amostragem do solo no bairro Buritis (19° 58`36.20" S 43°58`10.13"W).	49
Figura 3- Garrafas e controle remoto usados no monitoramento pelo sistema OxiTop-C®	52
Figura 4 - Consumo de oxigênio na respiração do solo utilizando 5% e 10% de serragem.....	56
Figura 5- Consumo de oxigênio na respiração do solo com óleo diesel, com e sem adição de serragem.....	57
Figura 6- Consumo de oxigênio na respiração do solo utilizando 5% e 10% de serragem e aeração por revolvimento.	59
Figura 7- Análise microbiológica do solo utilizando 5% e 10% de serragem (S).....	60
Figura 8- Análise microbiológica do solo nos experimentos com aeração combinada com a adição de serragem (S).	61
Figura 9 - Grau de remoção de óleo diesel nos experimentos.....	62
Figura 10 - Carbono da biomassa microbiana em amostras com e sem serragem.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Principais técnicas de remediação de solos contaminados.....	21
Tabela 2- Efeitos de alterações em parâmetros ambientais do meio nos micro-organismos e contaminantes.	32
Tabela 3 - Condições ambientais ideais para a degradação.....	33
Tabela 4 - Experimentos de biorremediação.	50
Tabela 5 - Experimentos de determinação do carbono da biomassa microbiana.	54
Tabela 6 - Resultado da caracterização do solo.....	55

LISTA DE SIGLAS

BCA – Bagaço de cana-de-açúcar

BDA – Banco de Declarações Ambientais

BMS-C – Carbono da Biomassa Microbiana do Solo

BTEX – Compostos formados por benzeno, tolueno, etil-benzeno e os xilenos.

C:N:P – Proporção entre carbono, nitrogênio e fósforo

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CERH – Conselho Estadual de Recursos Hídricos

CO₂ (g) – Gás carbônico

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

COPAM – Conselho Estadual de Política Ambiental

COVs – Compostos orgânicos voláteis

DN – Deliberação Normativa

FEAM – Fundação Estadual do Meio Ambiente

HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

HTP – Hidrocarbonetos Totais de Petróleo

ITOPF – *International Tanker Owners Pollution Federation*

m/m – Proporção massa por massa

NAPL – *Non-aqueous phase liquid* / Fase líquida não aquosa

O₂ (g) – Gás oxigênio

OECD – *Organisation for Economic Co-operation and Development* / Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

p/p – Proporção peso por peso

POAs – Processos Oxidativos Avançados

Ppm – Partes por milhão

SMMA - Secretaria Municipal de Meio Ambiente

SVE – *Soil Vapor Extraction* / Extração de Vapores no Solo

SVOCs – Compostos Orgânicos Semi Voláteis

U.S. EPA – *United States Environmental Protection Agency* / Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

UFC – Unidade formadora de colônia.

1 INTRODUÇÃO

Acidentes envolvendo contaminação do ambiente por hidrocarbonetos de petróleo têm se tornado frequentes devido ao aumento da exploração do combustível (HUTCHINSON *et al.*, 2001 *apud* BONA *et al.*, 2011). Segundo Baptista (2007), os acidentes com petróleo e derivados no Brasil entre 1975 e 2004 foram, em conjunto, responsáveis por lançar aproximadamente 40 milhões de litros do contaminante no meio ambiente, impactando solos, rios, manguezais e praias.

Apesar dos grandes acidentes com petróleo e derivados, dados divulgados pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 2009) apontam que a principal fonte de contaminação por óleo diesel seja devido aos pequenos vazamentos ocorridos principalmente em postos de combustíveis. Essa atividade tem se destacado como a principal causa da contaminação do solo nas cidades metropolitanas de Belo Horizonte e São Paulo (CETESB, 2012; FEAM, 2013)

Segundo a CETESB (2012), os principais compostos encontrados nessas áreas contaminadas são solventes aromáticos, combustíveis líquidos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), metais e solventes halogenados. Tais compostos, a exemplo dos HPAs, estão associados ao aumento da incidência de câncer no homem e na alteração de estruturas de plantas, o que reduziria a capacidade dessas em reter água, oxigênio e nutrientes (MARANHÃO *et al.*, 2007; BONA *et al.*, 2011). Verifica-se, então, a importância do monitoramento dessas substâncias em episódios de contaminação (ANDRADE *et al.*, 2010).

Em função dos efeitos negativos ao ambiente e à saúde humana proporcionados pela presença de óleo diesel no solo, têm-se desenvolvido tecnologias para sua remoção do ambiente (MENEGETTI, 2007). A biorremediação é uma técnica que possibilita a degradação completa do contaminante e vem se destacando devido sua simplicidade de manutenção, possibilidade de aplicação em grandes áreas e seu baixo custo (BENTO *et al.*, 2005).

Estudos apontam que a biorremediação pode ser favorecida pela alteração das condições ambientais como temperatura, pH e umidade do solo, concentração de oxigênio e nutrientes, sendo esses elementos que afetam o desenvolvimento dos micro-organismos no solo (ANDRADE *et al.*, 2010; VIDALI, 2001; BAPTISTA, 2007; PROVIDENT *et al.*, 1993; JACQUES *et al.*, 2007).

A adição de materiais estruturantes como areia, cascalho, bagaço de cana-de-açúcar, casca de coco, palha e serragem, tem demonstrado melhoria em algumas propriedades do solo devido a diminuição da densidade, ao aumento da porosidade e da permeabilidade e, conseqüentemente, da difusão do oxigênio (RAIMUNDO *et al.*, 2004). Outra técnica que favoreceria o crescimento microbiano seria o uso da aeração forçada e, segundo Vendramel *et al.* (2004), os métodos de tratamento de biorremediação que usam a aeração apresentam melhores respostas em relação à degradação dos poluentes.

Atualmente, percebe-se a carência de estudos comparativos do efeito do uso de materiais estruturantes e da aeração do meio na biodegradação do óleo diesel no solo. Além disso, as pesquisas existentes são aplicadas ao óleo cru em diferentes estados brasileiros, não sendo aplicadas a óleo diesel e a solos característicos do estado de Minas Gerais. Deste modo, o presente trabalho possui o objetivo de avaliar a biorremediação de solos característicos de Minas Gerais e contaminados com óleo diesel, comparando o efeito do uso de aeração por revolvimento e da adição de diferentes proporções de serragem como material estruturante.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo desse trabalho é desenvolver um estudo da biorremediação de óleo diesel em solos contaminados característicos do estado de Minas Gerais, avaliando o efeito do uso de aeração por revolvimento e da adição de diferentes proporções de serragem como material estruturante na eficiência do processo.

2.2 Objetivos específicos

1. Realizar a caracterização do solo utilizado nos experimentos;
2. Avaliar o efeito do uso de serragem na eficiência do processo de biorremediação de óleo diesel;
3. Realizar um estudo comparativo do efeito do uso de diferentes proporções de serragem como material estruturante e do uso de aeração por revolvimento no processo de biorremediação de solos contaminados com óleo diesel.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Contaminação do solo por petróleo e seus derivados

Mesmo sendo uma fonte não renovável, o petróleo é o principal recurso energético usado atualmente na sociedade moderna (SILVA *et al.*, 2008). Estima-se que o aporte anual de petróleo e seus derivados no mar exceda 1.300.000 toneladas em todo mundo (NRC, 2003). O aumento de sua exploração torna frequente a ocorrência de acidentes envolvendo contaminação do ambiente por hidrocarbonetos (HUTCHINSON *et al.*, 2001 *apud* BONA *et al.*, 2011).

Segundo registros de 2014 do ITOPF (International Tanker Owners Pollution Federation), na década de 90 ocorreram 358 acidentes durante a extração e transporte do combustível, resultando na liberação de 1.133.000 toneladas desse no meio ambiente. Na década de 2000, foram 179 acidentes, responsáveis por 208.000 toneladas e de 2010 a 2014, foram 35 derramamentos, liberando em 26.000 toneladas no ambiente.

Apesar dos grandes vazamentos acidentais de petróleo e de seus derivados constituírem um importante meio de contaminação do ambiente, estima-se que pequenos vazamentos em reservatórios, falhas em operações de descarga e acidentes devido ao transporte rodoviário constituem a principal fonte de contaminação do meio (BARROS *et al.*, 2010; CETESB, 2012). Segundo estudo realizado por NRC (2003), os lançamentos de petróleo e derivados ocorridos por fonte difusa durante seu consumo representam 70% (ou 480.000 toneladas) do combustível introduzido nos oceanos de todo o mundo por ano.

Em análise aos dados do Cadastro das Áreas Contaminadas e Reabilitadas no Estado de São Paulo, a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) verificou que em 2012 os postos de combustíveis se destacaram, sendo os responsáveis pelo registro de 3.510 áreas contaminadas, representando 76% das áreas registradas.

O mesmo padrão foi encontrado pela Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM) em que 69% das áreas contaminadas de Minas Gerais registradas em 2013 também foram representadas pelos postos de combustíveis. Nesse estudo também foi constatado que as principais formas de contaminação identificadas foram através de vazamento e infiltração do poluente, sendo o solo e a água subterrânea os meios mais impactados. A Gerência de Licenciamento de Empreendimento de Impacto da Secretaria Municipal de Meio Ambiente de Belo Horizonte (SMMA) verificou que das 197 áreas contaminadas do município, 195 são ou foram áreas de atividades de postos de combustíveis (FEAM, 2013).

De acordo com a CETESB (2006), os principais produtos identificados nas áreas vazamentos de tanques em postos de combustíveis entre 1984 e 2006 foram a gasolina (71,1%) e o óleo diesel (18,6%). Tal verificação é compatível com os dados apresentados pela CETESB (2012), em que os principais grupos de contaminantes detectados nas áreas contaminadas no Estado de São Paulo foram solventes aromáticos (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos) constituintes da gasolina, representando 34% das constatações, combustíveis líquidos (30%) e PAHs (19%). Resultados semelhantes foram obtidos pela FEAM (2013) ao verificar que, dos poluentes presentes nas áreas contaminadas de Minas Gerais, 58% constituíam-se por hidrocarbonetos.

3.2 Composição do óleo diesel e seus efeitos no meio

O petróleo é uma mistura complexa de hidrocarbonetos e derivados orgânicos nitrogenados, oxigenados e sulfurados, sendo os vários tipos dos compostos sulfurados predominantes. Sua composição e propriedades físicas e químicas variam de acordo com sua origem (ANDRADE *et al.*, 2010; FARAH, 2012).

O óleo diesel é o derivado do petróleo que possui mais demanda no mercado brasileiro. É composto por hidrocarbonetos de baixas densidade e solubilidade em água (FARAH, 2012; MENEGHETTI, 2007). Segundo Baptista (2007), existem alguns tipos de óleo diesel (a exemplo dos tipos B, C, D, Marítimo e Padrão), sendo diferenciados principalmente pelo teor de enxofre na composição.

O comportamento do petróleo e de seus derivados no solo é variado, pois depende da composição desses que consistem de uma mistura complexa de diversos hidrocarbonetos com diferentes pressões de vapor e solubilidades em água. Ao atingir o solo, as frações leves dos hidrocarbonetos podem sofrer volatilização, sendo liberados para a atmosfera, sorvidos no solo ou dissolvidos em águas do solo ou subterrâneas; os vapores e as fases líquidas e não aquosas (NAPL – *non-aqueous phase liquid*) podem sofrer aprisionamento nos poros do solo, sorção na superfície sólida (em coloides, matéria orgânica ou argila) ou ainda, permanecerem dissolvidos na solução do solo; a fração de óleo livre e menos volátil pode ser transportada e, devido sua baixa solubilidade, pode funcionar como fonte contínua de contaminação (FINE *et. al.*, 1997; ORTEGA-CALVO *et. al.*, 1997; BAPTISTA, 2007).

A NAPL pode ser dividida em DNAPL (*dense non-aqueous phase liquid*) e em LNAPL (*light non-aqueous phase liquid*). A primeira é constituída pela fase líquida mais densa que a água, tendendo a se depositar na base do aquífero e a segunda, constituída pela fase líquida menos densa que a água, mantendo-se sobre o nível d'água. Devido esse comportamento, percebe-se que a contaminação por DNAPL normalmente é de mais difícil remediação quando comparada ao tratamento de locais contaminados por LNAPL (BAPTISTA, 2007).

Em solos contaminados por petróleo e seus derivados, os contaminantes que se destacam são benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, conhecidos como BTEX. Esses compostos possuem anel benzênico e são usados, principalmente, em solventes e em combustíveis (ANDRADE *et al.*, 2010). Os BTEX são considerados substâncias perigosas por afetarem o sistema nervoso central (MARANHÃO *et al.*, 2007) e o benzeno, por exemplo, em uma

concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ pode causar leucemia em seres humanos (BELLER *et al.*, 1992 *apud* MAZZUCO, 2004).

Além dos BTEX, os solos contaminados por petróleo e seus derivados possuem concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), compostos orgânicos voláteis (COV) totais e hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) (ANDRADE *et al.*, 2010). Segundo, Maranhão *et al.* (2007), a maior presença de HPAs em amostras de água subterrânea e solo pode caracterizar uma maior toxicidade do ambiente, pois sabe-se que os HPAs e seus derivados são compostos por naftaleno, metilnaftaleno, dimetilnaftaleno, entre outros, e estão associados ao aumento da incidência de câncer no homem.

Em estudo relativo aos efeitos do solo contaminado com óleo diesel nas estruturas de plantas, Bona *et al.* (2011) afirmam que solos com hidrocarbonetos têm tendência a reter menor quantidade de água, apresentar menor disponibilidade de oxigênio e de nutrientes, principalmente o nitrogênio, elemento usado pelas plantas para o crescimento.

Deste modo, considera-se importante o monitoramento dessas substâncias em episódios de contaminações, sendo esse controle feito considerando a toxicidade, mobilidade e persistência do componente no meio ambiente (ANDRADE *et al.*, 2010).

3.3 Técnicas de remediação de solos contaminados

Em função da percepção dos efeitos negativos ao ambiente e à saúde humana proporcionada pela presença de óleo diesel no solo, tem-se atualmente uma crescente demanda em relação ao gerenciamento de áreas contaminadas (SPILBORGH, 1997 *apud* MARIANO, 2006). Deste modo, percebe-se o desenvolvimento de tecnologias que utilizam de processos físico-químicos ou biológicos e objetivam a remoção de hidrocarbonetos de petróleo e derivados do solo (MENEGHETTI, 2007).

As técnicas de remediação de áreas contaminadas surgiram para prevenir a exposição de seres por inalação, ingestão e contato dérmico aos poluentes do solo, prevenindo por consequência a bioacumulação no organismo desses componentes. Essas técnicas também objetivam evitar a percolação e lixiviação dos contaminantes para águas subterrâneas (PEDROZO *et al.*, 2002).

A escolha da técnica de tratamento deve, entretanto, levar em consideração as condições físicas, químicas e biológicas do local contaminado (geologia, mineralogia e hidrogeologia da água subterrânea), a concentração e o tipo de contaminante (densidade, pressão de vapor, viscosidade e solubilidade), o tempo requerido para a degradação ou a remoção do composto alvo (fatores de degradação), os produtos de decomposição gerados e o custo total do tratamento (ANDRADE *et al.*, 2010; PEDROZO *et al.*, 2002; ROBERTS, 1998 *apud* FRANCO, 2013).

Pedrozo *et al.* (2002) apontam que a escolha da tecnologia de remediação também deve considerar a localização da área contaminada em relação à população circundante, a proximidade de mananciais, a hidrogeologia da área e o atual e futuro uso da área e da água subterrânea local.

De acordo com Vidali (2001), as melhores opções de remediação são aquelas que possibilitam destruir completamente os poluentes ou, pelo menos, transformá-los em substâncias inofensivas. Sendo assim, é desejável que os produtos das reações de degradação sejam inócuos ou apresentem carga poluente inferior aos dos produtos de origem (PEDROZO *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2009; DIPLOCK *et al.*, 2009). Deste modo, como atenta Franco (2013), os derivados voláteis da degradação devem ser monitorados para que a dissipação desses não comprometam a eficácia do tratamento.

Técnicas convencionais de remediação que removem e transferem o solo contaminado para um aterro sanitário possuem alguns inconvenientes, pois a movimentação, a escavação e

o transporte de materiais contaminados podem criar situações de risco e a disponibilidade de aterros sanitários é cada vez menor e constitui uma opção onerosa. Entretanto, técnicas que limitam as áreas contaminadas em um *site* também possuem desvantagens, pois o isolamento de áreas contaminadas é uma solução provisória que necessita de acompanhamento e manutenção constantes (VIDALI, 2001).

Segundo Bragato (2006), a literatura atual não apresenta uma convenção para a classificação dos métodos de remediação de solos contaminados, variando de acordo com o autor. Na ausência de uma classificação formal, neste trabalho as técnicas de tratamento do solo foram categorizadas como a seguir, sendo os principais métodos usualmente executados como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1- Principais técnicas de remediação de solos contaminados.

Processos de tratamento				
Contenção	Químicos	Físicos	Térmico	Biológicos
Imobilização - Cobertura - Barreiras verticais e horizontais	Convencionais	Extração de vapores	Aquecimento por radiofrequência	Fitorremediação
		Remoção e lavagem		
	Oxidativos avançados	Incineração	Injeção de vapor	Biorremediação - Atenuação natural monitorada - Landfarming e biopilhas
		Vitrificação		

Fonte: Modificado de Khan *et al.* (2004) e Boscov (2008).

3.3.1 Métodos de contenção

Os métodos de contenção não são exatamente um método de tratamento, pois não atua na degradação do poluente. Entretanto, impedem que a contaminação atinja maiores áreas do solo, devendo, portanto, ser considerados como primeira etapa de todo tratamento (BRAGATO, 2006).

3.3.1.1 Imobilização

A técnica de imobilização ou encapsulamento geotécnico, geralmente aplicada *in situ*, constitui-se no confinamento de um local contaminado usando barreiras de baixa permeabilidade, evitando a lixiviação de poluentes para o lençol freático (BOSCOV, 2008). Deste modo, não há destruição do contaminante, apenas inertização desse, recuperando o solo

para usos específicos. É usada quando a remoção e destruição do poluente são impraticáveis devido aos custos, grandes volumes de solo contaminado e/ou por limitações técnicas (BRAGATO, 2006). De acordo com Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, 1997), durante a aplicação do método é comum ocorrer emissões de poluentes voláteis que devem ser coletados e tratados.

A imobilização pode ser realizada através de barreiras hidráulicas e físicas. As hidráulicas, ao contrário das físicas, são usadas em locais onde há a possibilidade de contato entre o solo contaminado e o aquífero freático. O processo de contenção hidráulica é feito através do bombeamento das águas subterrâneas em poços ou através de trincheiras drenantes. O processo de imobilização físico é realizado pelo uso de camadas impermeabilizantes no solo, tais como argila, dificultando a expansão da pluma contaminante (CETESB, 2001). Os métodos de imobilização podem ser:

- *Cobertura*

O método de cobertura ou *capping* é executado no entorno da área contaminada através da implantação de camadas de baixa permeabilidade, que impedem a entrada água no material confinado, o escape de gases e o acesso de animais. Em geral, é construída de solos, misturas solo-aditivo e geossintéticos. Tem expectativa de integridade de contenção por cinco anos (BRAGATO, 2006; BOSCOV, 2008; SMITH e HAYWARD, 1993).

- *Barreiras verticais e horizontais*

As barreiras verticais e horizontais impedem o fluxo horizontal e vertical de água contaminada, respectivamente. São, geralmente, construídas em todo o perímetro da área contaminada, envolvendo o solo em camada de baixa permeabilidade. Podem ser executadas somente à jusante da direção de fluxo subterrâneo, ou à montante, evitando entrada de água limpa no local contaminado (BRAGATO, 2006).

3.3.2 Processos de tratamento químico

Métodos químicos de remediação são processos simplificados, normalmente de oxirredução, que objetivam a degradação de compostos químicos e, conseqüentemente, a redução da toxicidade dos contaminantes (FRANCO, 2013).

Os métodos convencionais químicos utilizam íons como agentes oxidantes, por exemplo, o permanganato de potássio (KMnO_4). Já os Processos Oxidativos Avançados, chamados de POAs, utilizam diferentes reagentes para produzir radicais livres, principalmente o hidroxil ($\bullet\text{OH}$) que é altamente oxidante, pouco seletivo, reage rapidamente e pode promover a degradação de vários compostos poluentes eficientemente (FIOREZE *et al.*, 2014; GRACIANO *et al.*, 2012). De acordo com Souza (2010), os POAs podem ser divididos em: com irradiação, podendo ser O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, Foto-Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}/\text{UV}$) e a fotocatalise heterogênea ($\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$); e em sem irradiação, sendo $\text{O}_3/\text{HO}^\bullet$, $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, Reativo de Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) e $\text{O}_3/\text{Catalisador}$.

A oxidação química apresenta a limitação dos oxidantes químicos não serem seletivos e, portanto, são capazes de reagirem com qualquer substância que possa ser oxidada no solo. Deste modo, pode ocorrer a degradação da matéria orgânica natural do solo, aumentando o consumo do reagente oxidante e encarecendo o tratamento. As reações de alguns agentes oxidantes com substâncias orgânicas também podem gerar compostos organoclorados, considerados tóxicos (BRAGATO, 2006; FLORES *et al.*, 2004).

3.3.3 Processos de tratamento físico

De acordo com Franco (2013), os processos físicos são aqueles que utilizam calor, pressão ou vapor superaquecido. São técnicas que atuam fisicamente e objetivam modificar estruturalmente o contaminante, deixando-o inativos ou reduzindo seu poder poluente.

3.3.3.1 *Extração de vapores*

A Extração de Vapores no Solo ou *Soil Vapor Extraction* (SVE) é uma técnica considerada de baixo custo para remediação do solo em zonas não saturadas, onde há espaços entre as partículas do solo, sendo parcialmente preenchidas por gases, ar atmosférico, vapor de água e água. Na SVE ocorre a aplicação de vácuo em pontos do solo com o objetivo de induzir, de modo controlado, o fluxo de ar. Os gases contaminantes extraídos devem ser coletados e tratados para, posteriormente, serem lançados na atmosfera. É uma técnica aplicada no caso de contaminantes capazes de se transferirem para a fase gasosa quando o vácuo é aplicado, limitando, deste modo, sua aplicação em solos contaminados por compostos orgânicos voláteis (COVs) e compostos orgânicos semi-voláteis (SVOCs) (KHAN *et al.*, 2004; ANDRADE *et al.*, 2010).

3.3.3.2 Remoção e lavagem

A técnica de Remoção e Lavagem consiste em remover parte do solo contaminado e realizar a lavagem das regiões vizinhas à área removida. É utilizada principalmente onde o uso de SVE é impossibilitado (FRANCO, 2013). Segundo Khan *et al.* (2004) as partes contaminadas retiradas devem ser tratadas por outros métodos, como a incineração ou a biorremediação. As partes a serem lavadas utilizam água ou uma combinação de solventes específicos selecionados de acordo com a capacidade desses em solubilizar os contaminantes e de acordo com seus efeitos na saúde e no meio ambiente.

3.3.3.3 Incineração

Outra técnica existente para o tratamento de solos contaminados é a incineração, processo o qual degrada compostos orgânicos perigosos a partir da quebra das ligações químicas em ambiente oxidante e em temperaturas entre 870°C e 1200°C. Para o funcionamento da técnica é necessário que não haja contaminantes que possam ser volatilizados e lançados para a atmosfera, como metais pesados. Apesar de sua eficiência, o processo possui como inconvenientes a produção de solo sinterizado, impróprio para a agricultura, e o alto consumo de energia (EC, 2006; BRAGATO, 2006).

3.3.3.4 Vitrificação

A vitrificação é realizada usando-se uma fonte de energia capaz de fornecer calor, com temperaturas variando entre 1600 e 2000°C, fazendo com que solo venha a fundir, imobilizando a maioria dos inorgânicos e destruindo poluentes orgânicos por pirólise. Após resfriamento o solo sofre solidificação e os materiais inorgânicos, tais como metais pesados e radionuclídeos, são incorporados na estrutura vitrificada que é geralmente forte, durável e resistente à lixiviação. Essa tecnologia é mais comumente utilizada para imobilização de metais, porém pode ser eficiente na extração de COVs se for associada a técnicas de extração de vapores (ABDANUR, 2005; KHAN *et al.* 2004).

3.3.4 Processos de tratamento térmico

3.3.4.1 Aquecimento por radiofrequência

O aquecimento por radiofrequência é uma técnica *in situ* em que ocorre a instalação de uma antena que emite ondas de rádio. Estas ondas aumentam a movimentação molecular, o

que resulta no aquecimento do solo. Ocorre a evaporação de compostos químicos voláteis presentes. É importante que testes sejam realizados para garantir que a poeira e os gases emitidos estejam sendo devidamente capturados e tratados. A técnica possui elevada eficiência de tratamento de COVs em meios com baixa permeabilidade, apesar do alto custo de operação (CETESB, 2001; JUNIOR, 2006).

3.3.4.2 Injeção de vapor

É uma técnica *in situ* em que o vapor ou água quente é injetado no subsolo por meio de poços de injeção, aquecendo a área e mobilizando, evaporando ou destruindo os compostos químicos contaminantes presentes no local. Essa técnica é responsável por mobilizar e extrair compostos em fase líquida não aquosa ou *non-aqueous phase liquid* (NAPL's) do solo (CETESB, 2001).

3.3.5 Processos de tratamento biológico

3.3.5.1 Fitorremediação

A fitorremediação é uma técnica que utiliza a capacidade de algumas plantas em retirar, acumular e/ou degradar poluentes presentes no solo, pela ação das próprias plantas ou por facilitarem a ação de micro-organismos associados (BRAGATO, 2006; GWRTAC, 1997).

É uma tecnologia *in situ* baseada em processos naturais como a captação de metais e de compostos orgânicos moderadamente solúveis em água (tais como os BTEX), a acumulação, volatilização, metabolização e a mineralização de poluentes através do uso de enzimas, a captação de águas subterrâneas para o uso das plantas e o aumento de carbono e oxigênio ao redor das raízes devido aos processos de degradação (GWRTAC, 1997). Assim, o processo é influenciado pelo tipo de solo (estrutura, textura e teor de matéria orgânica), pela temperatura e pela disponibilidade local de água, oxigênio, nutrientes e radiação solar (PEDROZO *et al.*, 2002).

Segundo Frick *et al.* (1999), a fitorremediação tem sido utilizada de forma eficaz para remediar contaminantes orgânicos e inorgânicos no solo e na água subterrânea. Várias plantas como a canola (*Brassica napus* L.), aveia (*Avena sativa*), cevada (*Hordeum vulgare*), alamo switchgrass (*Panicum virginatum*) e choupos híbridos (*Populus x Deltoides nigra*) são capazes de tolerar e acumular metais (por exemplo, selênio, cobre, cádmio e zinco), remover

hidrocarbonetos de petróleo, acumular radionuclídeos (como o cézio-137 e o estrôncio-90), reduzir a concentração de nitrato e degradar bifenilos policlorados (PCB) e herbicidas clorados.

Ainda segundo o autor, a técnica é de fácil aplicação, esteticamente agradável, aplicável a grandes áreas e possibilita o aumento indireto da qualidade do solo e do ar, prevenindo erosão e reduzindo a poluição atmosférica, respectivamente. Entretanto, as plantas podem apresentar limitações de crescimento devido aos níveis de poluição local e caracteriza-se como um processo lento, que pode permitir a ocorrência de lixiviação e volatilização dos contaminantes antes da efetiva remediação desses.

3.3.5.2 Biorremediação

A biorremediação pode ser definida como o processo pelo qual os resíduos orgânicos são biologicamente degradados, sob condição controlada, para um estado inócuo ou a níveis abaixo dos limites de concentração estabelecidos por regulamentações (MUELLER *et al.*, 1996).

É um processo que utiliza agentes biológicos heterótrofos de ocorrência natural (nativos) ou cultivados, para remover por degradação ou imobilizar contaminantes em águas subterrâneas e em solos. Pode ocorrer em condições aeróbia ou anaeróbia e os agentes geralmente utilizados são bactérias, fungos filamentosos e leveduras, sendo as primeiras as mais empregadas (NRC, 1993; BAPTISTA, 2007; BRAGATO, 2006). E, segundo Vidali (2001), a biodegradação de um composto é, muitas vezes, resultado das ações de vários organismos.

Nesse processo, os micro-organismos degradam os compostos orgânicos complexos em compostos mais simples através de reações de oxi-redução, liberando energia, carbono e elementos essenciais para a síntese celular (SAHM, 1993 *apud* BRAGATO, 2006).

Como vantagens da biorremediação estão a degradação de poluentes através de um processo natural, que produz resíduos geralmente inofensivos (CO₂, H₂O e biomassa celular), a possibilidade de destruição completa de uma vasta variedade de contaminantes ao invés de transferi-los para outros locais (como aterros ou incineradores), o baixo consumo de energia, a possibilidade de ser aplicada em locais de difícil acesso ou com poucos recursos tecnológicos, o requerimento de pouca infraestrutura, a aplicabilidade em grandes áreas e em ambientes heterogêneos e multifásicos como solos, efluentes, água e ar, a aceitação por parte da população e a possibilidade de ser conduzida *in situ*, reduzindo custos e chances de contaminação durante

o transporte (VIDALI, 2001; NRC, 1993; BENTO, 2005; BRAGATO, 2006; BOOPATHY, 2000).

Entretanto, a biorremediação apresenta como desvantagens a sua limitação a compostos biodegradáveis e a possibilidade de formação de produtos da degradação parcial do contaminante que sejam compostos intermediários mais persistentes ou mais tóxicos que os compostos de origem. Há também a possibilidade de ser uma técnica de tratamento demorado (tipicamente de um a dois anos) e, por ser um processo biológico, depende de fatores ambientais, como a presença de micro-organismos metabolicamente capazes de degradar o contaminante específico e de níveis adequados de nutrientes, água, oxigênio, entre outros (VIDALI, 2001; BRAGATO, 2006).

- *Atenuação natural monitorada*

A atenuação natural monitorada é a remediação passiva do solo que, apesar de classificada como um tratamento do tipo biológico, envolve a ocorrência de processos naturais físicos e químicos como volatilização, dispersão, diluição e adsorção, além da biodegradação. Esse processo reduz massa, toxicidade, mobilidade e concentração de contaminantes no solo sem a intervenção humana (EPA, 2008; ANDRADE, 2010).

É uma técnica simples, normalmente lenta e de baixo custo. Entretanto, é necessária a presença de micro-organismos nativos capazes de biodegradar o contaminante presente no solo e de condições ideais geológicas e hidrológicas do local, exigindo uma avaliação mais rigorosa e mais dispendiosa, do local e dos contaminantes (BAPTISTA, 2007; BARROS *et al.*, 2010).

- *Landfarming e biopilhas*

Biopilhas ou biocélulas são pilhas de compostagem usadas para reduzir a concentração de contaminantes, notadamente compostos de petróleo, VOCs, SVOCs e pesticidas, através da degradação microbiana. As células acumulam os solos contaminados em pilhas, sendo que a atividade microbiana aeróbica pode ser estimulada através da aeração feita por tubulações entre as pilhas e/ou adição de nutrientes, minerais e umidade (EPA, 2004; PEDROZO *et al.*, 2002).

A técnica *landfarming* é semelhante às biopilhas, por ser *ex situ* e utilizar a degradação aeróbica, entretanto a aeração é realizada através de arado ou de revolvimentos periódicos. O solo escavado é espalhado em uma fina camada, devendo o local ser impermeabilizado para

evitar a lixiviação de contaminantes em degradação (PEDROZO *et al.*, 2002; MONTEIRO, 2014).

As biopilhas e o *landfarming* são tecnologias fáceis de serem implantadas, podem ser dimensionadas para controlar a emissão de vapores e o tempo de tratamento geralmente é pequeno (entre 6 meses a 2 anos). Entretanto, podem demandar grandes áreas, os vapores emitidos podem necessitar de tratamento antes do lançamento na atmosférica, a redução de contaminantes em mais de 95% pode ser difícil de ser alcançada e a presença de metais pesados (acima de 2.500ppm) e/ou compostos de petróleo (superiores a 50.000ppm) podem inibir o crescimento microbiano. No caso do *landfarming*, problemas na impermeabilização local podem causar a lixiviação de compostos em degradação e, conseqüentemente a contaminação do solo e da água subterrânea (EPA, 2004).

3.4 Uso da biorremediação em solos contaminados por óleo diesel

Dentre as técnicas existentes de remoção de hidrocarbonetos de petróleo e de seus derivados no solo, a biorremediação vem se destacando por ser uma técnica que possibilita a destruição de contaminantes a partir da atividade biológica natural, por apresentar baixo custo, simplicidade na manutenção, alta aceitação pública e possibilidade de aplicação *in situ* e em grandes áreas (VIDALI, 2001; BENTO *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2010).

De acordo com Andrade *et al.* (2010), o fator crítico para definir se a biorremediação é a técnica mais apropriada para o tratamento de um local é a biodegradabilidade do contaminante presente e, portanto, a avaliação de parâmetros e de fatores que afetam o processo se faz importante e deve ser realizada de maneira cautelosa.

3.4.1 Fatores ambientais que influenciam a biorremediação

Para a biorremediação ser efetiva, os micro-organismos devem atacar enzimaticamente os poluentes e, para isso, as condições ambientais devem permitir o crescimento e a atividade microbiana. A velocidade de remediação de solos contaminados por diversas substâncias com degradabilidades diferentes depende do número de micro-organismos presentes, da quantidade de contaminante e da disponibilidade de enzimas específicas. Deste modo, a aplicação da biorremediação muitas vezes envolve a manipulação de parâmetros ambientais (ANDRADE *et al.*, 2010; VIDALI, 2001).

O processo de biorremediação pode ser influenciado por condições não favoráveis à sobrevivência e à atividade dos micro-organismos degradadores presentes no solo. Anteriormente ao processo de degradação, a microbiota pode passar por um período de aclimação, chamado de *fase lag*, no qual as células se ajustam às condições físicas e aos nutrientes disponíveis. Durante este período, não ocorre divisão celular, mantendo-se, assim, o número de indivíduos da microbiota. A medida em que as células se tornam adaptadas ao meio, inicia-se o processo de sintetização celular, elevando a atividade metabólica dos micro-organismos (SPILBORGHS, 1997; TRABULSI, 1989).

A umidade do solo é considerada por Haider (1999) *apud* Jacques *et al.* (2007), como o fator mais crítico na biodegradação, pois a maioria dos micro-organismos vive no filme d'água em torno da partícula do solo e a disponibilidade de oxigênio é inversa ao teor de água, afetando consequentemente a atividade de degradação aeróbica. Além disso, os contaminantes devem

estar acessíveis aos micro-organismos, sendo que a água atua como meio de transporte de partículas, como nutrientes e contaminantes. Deste modo, a baixa solubilidade compostos orgânicos em água limita o processo de biodegradação (ORTENGA-CALVO *et al.*, 1997; BAPTISTA, 2007).

De acordo com Providenti *et al.* (1993), o aumento da umidade do solo pode facilitar o movimento microbiano pelo solo, permitindo o contato desse com o contaminante. Entretanto, a adição de água também pode diminuir a disponibilidade de oxigênio no solo e ocasionar lixiviação de poluentes solúveis em profundidade.

A umidade também influencia no pH do solo ao alterar a difusão de gases através desse. O pH afeta diretamente a atividade microbiana devido aos efeitos dos íons H^+ na atividade enzimática e na permeabilidade celular. Também influencia a disponibilidade e a toxicidade de minerais, como Fe, Al e Mn, esses últimos, presentes em solos ácidos (BAPTISTA, 2007; JACQUES *et al.*, 2007; LEITE e ARAÚJO, 2007).

A faixa de pH ideal observada por pesquisadores para que os micro-organismos tenham atividade ótima fica em torno da neutralidade, ou seja, entre 6,5 e 8,0. Em situações de solos ácidos, a correção do pH do solo faz-se necessária para não ocorrer perda da eficiência da biorremediação (MARIANO, 2006; FIORAVANTI, 2013; ANDRADE *et al.*, 2010).

A temperatura é outro fator de influência na biorremediação ao afetar a atividade metabólica e, conseqüentemente, alterar o consumo de substrato pelos micro-organismos, ou seja, a degradação dos HAPs (JACQUES *et al.*, 2007). De acordo com Vidali (2001), as taxas de reações bioquímicas entre contaminantes e micro-organismos podem dobrar a cada aumento de 10°C, entretanto, acima de certa temperatura as células podem morrer. A faixa de temperatura ideal para que as maiores taxas de degradação de hidrocarbonetos ocorram são discutidas por pesquisadores e apresentam-se entre 25 e 35°C (JACQUES *et al.*, 2007 *apud* HAIDER, 1999).

A disponibilidade de nutrientes no solo é um fator que influencia o crescimento e o metabolismo microbiano. Normalmente, o carbono atua como nutriente limitante nos ambientes, entretanto, em solos contaminados com óleo diesel e, portanto, com elevadas concentrações de hidrocarbonetos, outros nutrientes tornam-se limitantes, notadamente o nitrogênio, fósforo, ferro e enxofre. Estes nutrientes desempenham funções celulares que estão diretamente relacionadas ao metabolismo dos HAPs (JACQUES *et al.*, 2007; BAPTISTA,

2007). Como conclui Seabra (2005) em estudo, o aumento da concentração de óleo como contaminante no solo, aumenta a demanda desse por nutrientes e aceptores de elétrons.

Como alerta Jacques (2005), a adição de nutrientes deve, entretanto, ser realizada somente após criterioso estudo, para se evitar adições desnecessárias, aumentando, conseqüentemente, custos e gerando impactos ambientais ainda maiores no local a ser biorremediado. Selberg *et al.* (2013) afirmam que fertilizantes solúveis em água, se forem não consumidos rapidamente pela microbiota, podem lixiviar em profundidade no solo, podendo atingir águas subterrâneas.

Como a biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo é geralmente aeróbia, o teor de oxigênio é outro fator importante no processo. Deste modo, condições aeróbicas e a presença de micro-organismos específicos são necessárias para se obter uma biorremediação com taxas ótimas, sendo que, baixas concentrações de oxigênio no solo limitam o processo (MORAIS, 2005; VASUDEVAN e RAJARAM, 2001). A degradação inicial de hidrocarbonetos de petróleo requer a ação de enzimas oxigenases (dioxigenases e monooxigenases), o que torna o oxigênio um fator limitante para a degradação em muitos ambientes naturais (ATLAS, 1981; BOOPATHY, 2000). Segundo Chaerun *et al.* (2004), hidrocarbonetos alifáticos não são fermentáveis, sendo degradados somente na presença de O₂.

As concentrações de oxigênio no solo dependem da taxa de atividade microbiana, da textura, da umidade e da profundidade do solo (VASUDEVAN e RAJARAM, 2001; VON WEDEL *et al.*, 1988). O aumento da concentração de oxigênio pode ser realizado por aeração (forçada ou por revolvimento), por adição de agentes oxidantes, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) ou pela adição de materiais estruturantes no solo (SANTOS, 2007; RIZZO, 2008). Entretanto, como comentam Providenti *et al.* (1993), o peróxido de hidrogênio pode reagir, oxidando a matéria orgânica e inibindo a atividade de degradação microbiana.

A aeração por revolvimento aumenta a concentração de O₂ atmosférico e reduz a de CO₂, devido ao aumento da difusão de gases no solo, altera física e quimicamente as propriedades do solo, reduz a necessidade de fertilização e redistribui os nutrientes (carbono, nitrogênio e água) e o contaminante no terreno, tornando-o mais disponível para a degradação microbiana (RHYKERD *et al.*, 1999; MELOPE *et al.*, 1987 *apud* VASUDEVAN e RAJARAM, 2001). Segundo Rizzo (2008), o movimento do solo possibilita que micro-

organismos atinjam os nutrientes e os contaminantes, sendo importante para que a biodegradação de substâncias pouco solúveis se torne eficaz.

A aeração forçada aumenta o teor de O₂ no solo durante a compostagem (ATLAS e BARTHA, 1993 *apud* RHYKERD *et al.*, 1999) e, como verificado por Lo *et. al.* (1993), a aeração forçada atua na redução do tempo de degradação de resíduos sólidos suínos.

Providenti *et al.* (1993) apresentam, em estudos, os efeitos consequentes de alterações em parâmetros ambientais nos micro-organismos e nos contaminantes, considerando o processo de biorremediação. Os efeitos ambientais podem ser analisados de forma resumida na Tabela 2. A partir de sua análise, percebe-se que o processo de biodegradação é influenciado por diversos fatores ambientais que afetam de alguma maneira o metabolismo da microbiota e a disponibilidade dos contaminantes para a ação da dessa. Deste modo, como alertam Andrade *et al.* (2010), para que a biorremediação apresente melhores resultados, medidas corretivas podem ser adotadas. Na Tabela 3 são mostradas as condições ambientais, obtidas por Vidali (2001), que podem ser consideradas como ótimas para a atividade microbiológica e para a degradação de óleo no solo.

Tabela 2- Efeitos de alterações em parâmetros ambientais do meio nos micro-organismos e contaminantes.

Parâmetro	Efeitos em micro-organismos	Efeitos em contaminantes
Umidade do solo	Umidade inadequada reduz o metabolismo e o movimento microbiano no solo.	Umidade inadequada reduz o transporte de contaminantes e nutrientes pelo solo. A sorção decresce com o aumento da umidade.
pH do solo	Atividade microbiana depende do pH do solo.	Solubilidade em água e sorção em solo e em sedimentos variam com o pH do solo.
Aeração	Oxigênio frequentemente limita a atividade no solo e em sistemas aquáticos. É necessário para a respiração aeróbia.	Oxigênio é o substrato de diversas reações catabólicas de vários contaminantes.
Temperatura	O metabolismo microbiano varia e a sorção decresce com o aumento da temperatura.	Pode afetar solubilidade, sorção, viscosidade de volatilização do contaminante.
Tipo de solo	Afeta a atividade e movimento microbiano. A sorção aumenta com o aumento de matéria orgânica e argila no solo e decresce com o aumento de areia.	O processo de sorção de contaminantes varia com o tipo de solo.

Fonte: Modificado de Providenti *et al.* (1993).

Tabela 3 - Condições ambientais ideais para a degradação.

Parâmetros	Condições requeridas para a atividade microbiana	Valor ideal para a degradação de óleo
Umidade do solo	25 - 28% da capacidade retenção de água	30-90%
pH do solo	5,5 – 8,8	6,5 – 8,0
Teor de O₂	Aeróbico: espaço cheio de ar de no mínimo 10% dos poros	10 - 40%
Teor de nutrientes	Nitrogênio e Fósforo para crescimento microbiano	C:N:P ≡ 100:10:1
Temperatura	15 – 45°C	20 – 30°C
Contaminantes	Não tóxicos demais	Hidrocarbonetos: 5 -10 % do peso seco do solo
Metais pesados	Teor total de 2000ppm	700ppm
Tipo de solo	Baixo teor de silte ou argila	-

Fonte: VIDALI (2001).

3.4.2 Estratégias de aumento da eficácia dos processos de biorremediação

Segundo Bento (2005), a busca das condições ótimas a serem estabelecidas para um melhor rendimento da biodegradação deve considerar características locais antes do início do tratamento, como a presença e a densidade populacional da microbiota específica responsável pela degradação do contaminante desejado e a concentração residual desse contaminante.

Considerando os diversos fatores que influenciam o processo de biorremediação do solo contaminado com hidrocarbonetos, têm sido desenvolvidas estratégias que buscam aumentar a atividade microbiana na degradação desses compostos (RIZZO, 2008).

3.4.2.1 *Bioestímulo ou atenuação natural acelerada*

Técnica usada na biorremediação *in situ* que possui o objetivo de induzir o crescimento da microbiota nativa através do controle das condições físico-químicas do habitat natural, sendo, para isso, comum a adição de oxigênio, materiais estruturantes, aceptores finais de elétrons e nutrientes essenciais (por exemplo, nitrogênio, fósforo, potássio) e a correção de pH

e do teor de umidade do local a ser remediado (ANDRADE *et al.*, 2010; BAPTISTA, 2007; RIZZO, 2008; ARMENDÁRIZ *et al.*, 2004).

A adição de nutrientes é uma prática padronizada para o aumento da degradação de hidrocarbonetos (ATLAS e BARTHA, 1998). Entretanto, de acordo com Bento (2005), é necessário conhecimento para planejar corretamente a adição de nutrientes, sendo que em seu estudo, a adição de nitrogênio (N) e fósforo (P) resultou em uma degradação mínima de óleo diesel.

Quando usada corretamente, a técnica não causa impactos negativos ao meio e o processo natural de degradação é acelerado, reduzindo o tempo da biorremediação, ao permitir o aumento da taxa de crescimento e da atividade metabólica da microbiota (ANDRADE *et al.*, 2010; BAPTISTA, 2007).

3.4.2.2 Bioaumento e bioenriquecimento

Segundo Rizzo (2008), a taxa e extensão da biorremediação de hidrocarbonetos são influenciadas pela densidade microbiana no solo. O bioaumento é uma técnica de biorremediação que envolve a adição de micro-organismos endógenos e o bioenriquecimento, de micro-organismos exógenos adaptados às condições do solo contaminado (VIDALI, 2001; BENTO, 2005; BARROS *et al.*, 2010).

A inoculação de micro-organismos é usada quando a população de degradadores de contaminantes, principalmente de misturas complexas, é pequena e não se revela capaz de realizar a biodegradação (RIZZO, 2008). De acordo com Providenti *et al.* (1993), a técnica pode aumentar a velocidade de biodegradação e reduzir o período de aclimação.

São comuns em estudos relatos de bons resultados a partir da aplicação da técnica de bioaumento e bioenriquecimento em ambientes contaminados. Bento *et al.* (2005) compararam a atuação natural, o bioestímulo e o bioaumento, sendo que o melhor resultado foi obtido pelo último, apresentando degradação de 72,7% e 75,2% de frações leves e pesadas de HTP, respectivamente. Bons resultados também foram obtidos para o bioaumento quando comparado a atenuação natural em estudo realizado por Deon *et al.* (2012).

Como fatores limitantes da técnica, cita-se que as populações não-nativas raramente competem o bastante com as populações endógenas para que se desenvolvam a níveis populacionais úteis e a maioria dos solos com exposição a longo prazo a resíduos

biodegradáveis possui micro-organismos nativos eficazes para a degradação, se o local for corretamente gerenciado (VIDALI, 2001).

3.4.2.3 Adição de surfactantes

Surfactantes ou agentes tenso-ativos são compostos anfifílicos que possuem uma porção hidrófoba não polar, normalmente constituída por cadeia carbônica, ligada a uma porção polar ou iônica (TADROS, 2005).

Os surfactantes podem ser naturais ou sintéticos e possuem a capacidade de mobilizar hidrocarbonetos de petróleo sorvidos em partículas da superfície do solo. Possibilitam, deste modo, o aumento da solubilidade de tais contaminantes em água, aumentando a biodisponibilidade desses aos micro-organismos degradadores. Alguns micro-organismos possuem a capacidade de produzir surfactantes, chamados, então, de biosurfactantes. Esses normalmente são glicolipídeos que atuam na redução da tensão interfacial, produzindo emulsão dos contaminantes em água. RIZZO, 2008; BANERJI *et al.*, 1995).

As vantagens do uso desses compostos são sua elevada biodegradabilidade, bons resultados apresentados em estudos e sua capacidade de desintoxicação do meio, quando adicionados em baixas concentrações. Entretanto, como os surfactantes aumentam a solubilidade e, conseqüentemente, a diluição de contaminantes em água, tem-se como resultado, a elevação a toxicidade local. Seu uso também pode ocasionar a lixiviação em profundidade de poluentes hidrofóbicos em água e, se empregado em altas concentrações, a toxicidade do surfactante em si pode tornar-se um problema (POREMBA, 1993; PROVIDENTI *et al.*, 1993).

3.4.2.4 Adição de materiais estruturantes

Os processos aeróbios são os mais utilizados na recuperação de solos contaminados com resíduos oleosos. Deste modo, faz-se necessária a manutenção de teores ótimos de oxigênio no solo, pois as baixas concentrações desse componente dificultam a mineralização de compostos orgânicos. A adição de estruturantes constitui uma alternativa para a oxigenação do solo a ser biorremediado (MORAIS, 2005; SANTOS, 2007).

De acordo com Rhykerd *et al.* (1999) e Vasudevan e Rajaram (2001), materiais estruturantes são compostos de baixa densidade que, reduzem a densidade do solo, aumentando sua porosidade e permeabilidade, possibilitando maior difusão de oxigênio ou, ainda,

auxiliando na formação de agregados estáveis com a água. O uso destes materiais, portanto, podem aumentar o processo de aeração do solo o qual possui, segundo Jenkins e Lion (1993), sua porosidade reduzida de 86% para cerca de 5%, quando contaminados com hidrocarbonetos.

Os estruturantes possuem a vantagem de apresentarem baixo custo e possuírem disponibilidade na área do seu reaproveitamento (SANTOS, 2007). Além disso, estudos têm apresentado bons resultados para tratamentos de solos que recebem adição desses materiais.

Outra vantagem do uso de agentes estruturantes é a existência de uma gama de materiais que podem ser usados para esse fim, podendo ser de origem inorgânica como areia, perlita e cascalho, ou de origem orgânica, como casca de coco, farelo de trigo, palha, serragem e casca de arroz (RAIMUNDO *et al.*, 2004). De acordo com Schroeder *et al.* (2002) a incorporação de materiais tais como areia, resíduos agrícolas (cascas de cacau, resíduos de banana, etc) ou outros materiais vegetais aumentam a aeração do solo e melhoram o processo de biorremediação. Entretanto, é importante que o estruturante não apresente competitividade com o contaminante na fonte de carbono, ou seja, deve preferencialmente possuir reduzida biodegradação (SANTOS, 2007).

Rhykerd *et al.* (1999) realizaram estudo que avaliou a adição de diferentes materiais estruturantes (feno, serragem e vermiculita) e a realização de diferentes métodos de aeração (estático, aeração por revolvimento e forçada) em solo contaminado com óleo. Em 30 semanas, foram obtidos 90% de degradação dos hidrocarbonetos de petróleo para o feno e para a vermiculita, ambos em conjunto com a aeração por revolvimento, contra 77% de degradação dos hidrocarbonetos quando o processo foi estático e não foram adicionados materiais estruturantes.

Raimundo *et al.* (2004) também avaliaram a eficiência da adição de palha e serragem como material estruturante no processo de biorremediação de solo contaminado com óleo cru. O estudo demonstrou que a adição dos materiais estruturantes foi responsável por um aumento de cerca de 100% no percentual de biodegradação de óleos contaminantes, quando comparados ao tratamento controle (bioestímulo da microbiota nativa). Sendo que a serragem e a palha foram responsáveis pela remoção de 20% do óleo, enquanto a condição somente bioestimulada removeu cerca de 10% do contaminante.

Em estudo realizado por Santos (2007), comparou-se o uso da mamona, do pó de coco verde, da serragem e da vermiculita como materiais estruturantes adicionados a 10% p/p. O pó

de coco apresentou uma remoção dos hidrocarbonetos de petróleo 22% maior que a serragem e 45% maior que a adição de vermiculita. A mamona não apresentou degradação relativa ao óleo.

Ainda segundo o autor, a remoção de óleo devida à vermiculita pode estar relacionada com a adsorção do composto aos poros preenchidos do estruturante quando expandido, reduzindo a disponibilidade do contaminante aos micro-organismos degradadores. A serragem foi considerada como um estruturante potencialmente favorável na remoção do óleo. Como conclusão, o autor sugeriu que a remoção do contaminante pela serragem e pelo pó de coco pode estar associado a degradação realizada por fungos que, ao degradarem materiais ligno-celulósicos, liberam enzimas degradadoras de óleo.

Neto *et al.* (2005) avaliaram a eficácia da adição da serragem a 10% p/p na biorremediação conduzida em biorreator de solos com frações de petróleo. Como resultado, verificou-se que a utilização da serragem promoveu um aumento de cerca de duas vezes na eficiência de remoção do poluente em relação aos testes realizados sem o estruturante. Com o estudo, concluiu-se que a serragem foi responsável por alterar positivamente características do solo, como permeabilidade, porosidade e densidade, aumentando as taxas de biodegradação.

A eficácia do uso da serragem como material estruturante em solos com teores mais altos de silte e argila e contaminados com petróleo também foi comprovada por Seabra (2005). Segundo o estudo, ao comparar serragem, torta de cana-de-açúcar, fibra de coco, casca de pinho, casca de arroz, casca de coco e composto de compostagem de lixo doméstico no sistema de respirometria, a serragem foi aquele estruturante que mais incentivou a biodegradação do óleo nos testes de respirometria, independentemente das concentrações de óleo usadas ou da temperatura adotada. A torta de cana, resíduo proveniente do processo de fabricação de açúcar e álcool, é composta pela mistura de bagaço moído e lodo da decantação, sendo um fertilizante orgânico rico em carbono orgânico e nutrientes como nitrogênio, cálcio, fósforo e potássio (NOLLA *et al.*, 2015). Seu baixo desempenho na biodegradação do óleo pôde ser explicado pelo seu alto teor de carbono orgânico, o qual estimulou a microbiota no consumo do carbono da torta de cana em detrimento ao carbono do contaminante (SEABRA, 2005). Tal fato foi apontado em Santos (2007) ao verificar a importância do estruturante não apresentar competitividade com o contaminante na fonte de carbono.

Rizzo (2008) também avaliou o uso da serragem (10% m/m) como material estruturante em um biorreator em escala piloto ao comparar seu uso com a técnica de bioestímulo, pela adição de nutrientes (uréia). Como resultados, o autor verificou uma remoção de óleos e graxas em 23%, quando utilizou-se a serragem + bioestímulo e em 14%, no controle (somente bioestímulo). A remoção de HTP também aumentou de 15% no experimento sem serragem (em 7 semanas) para 35% com serragem (em 7 semanas) e, posteriormente, para 51% (em 14 semanas).

A comparação entre a adição de nutrientes (carbono, nitrogênio e fósforo - C:N:P na proporção de 100:5:1) e de serragem também foi realizada por Rocha *et al.* (2006). No estudo, a remoção de óleos e graxas com material estruturante (e com nutrientes) foi de 27,52% e, sem material estruturante (e com nutrientes) foi de 12,83%, mostrando que o uso da serragem como estruturante gerou resultados positivos na biodegradação.

Em estudo, Kriipsalu *et al.* (2007) avaliaram o uso de areia, compostos orgânicos e resíduos de madeira picada como materiais estruturante na biodegradação de compostos oleosos presentes em lamas da unidade de flotação-floculação da estação de tratamento de águas residuais de uma refinaria de petróleo. A areia apresentou redução de 62% dos HTP e 97% dos HPAs.

O uso de resíduos vegetais como palha de ervilha, palha de trigo e feno foram avaliados em estudos de biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos por Shahsavari *et al.* (2013). A palha de ervilha foi o estruturante que apresentou o melhor resultado, apresentando 83% de redução dos HTP contra 57%, do grupo controle. Entretanto, verificou-se que todos os resíduos vegetais usados mostraram efeitos positivos na redução dos HTP e ocasionaram o aumento da atividade microbiana no solo.

O bagaço da cana-de-açúcar (BCA) é outro resíduo vegetal que tem sido avaliado como material estruturante em potencial. Armendáriz *et al.* (2004) avaliaram a eficiência do BCA em estimular a microbiota nativa e, conseqüentemente, estimular a biodegradação de hidrocarbonetos presentes no solo. Em 13 dias, foi observada uma remoção de cerca de 50% de HTP no solo associado ao bagaço de cana. Concluiu-se que o BCA, além de melhorar a porosidade do solo, também proporcionou fonte de carbono, importante para o crescimento microbiano. E, assim, a degradação de hidrocarbonetos pôde ser associada ao tipo e à quantidade de microrganismos associados ao BCA.

Díaz *et al.* (2013) compararam a eficiência em remoção de HPAs presentes em solos por bactérias nativas associadas a ácidos húmicos, BCA, vermicomposto e minhocas. A mistura bacteriana, composta por ácidos húmicos e o BCA, mostrou o melhor desempenho para degradar HPAs no solo. Hernández *et al.* (2007) também avaliaram o potencial do BCA como estruturante e, como resultado, obtiveram-se uma biodegradação de aproximadamente 40% de petróleo bruto pesado em 15 dias. Concluiu-se que o BCA possuía micro-organismos nativos associados em uma densidade considerável, o que contribuiu para os bons resultados obtidos.

Outros estudos também têm mostrado bons resultados na adição de resíduos vegetais em solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo e de óleo. Barahona *et al.* (2004) compararam a correção de umidade, o uso de resíduos agrícolas (milho e cana-de-açúcar) e a adição de nutrientes, medida pela proporção de carbono e nitrogênio (C: N), na biodegradação de óleo diesel. Os melhores resultados foram obtidos para as combinações 3% milho + C:N $\equiv$ 100:10 + 30% umidade e 3% cana-de-açúcar + C:N $\equiv$ 100:30 + 30% umidade, sendo as remoções de diesel de 67% e 58%, respectivamente. Concluiu-se que o uso de resíduos vegetais como estruturantes foi responsável pelo aumento de 35% na remoção do diesel. Notou-se, também, que as condições permitiram a bioestimulação da microbiota nativa.

A concentração do material estruturante usada no tratamento por biorremediação tem sido avaliada em diversos estudos, sendo a quantidade ideal aquela que não tenha ação inibidora sobre a atividade dos microrganismos degradadores (THOMAS *et al.*, 1992 *apud* SEABRA, 2005). A proporção usada e recomendada tem variado de 2% a 12% por diversos autores (SANTOS, 2007; SEABRA, 2005; RIZZO, 2008; ROCHA *et al.*, 2006; BARAHONA *et al.*, 2004; BARROS e LEMOS, 2002). De acordo com Santos (2007), proporções de estruturantes superiores a 30 p/p não têm apresentado bons resultados. E, segundo Seabra (2005), elevadas quantidades do estruturante poderiam ser interpretadas como uma diluição do solo não sendo, portanto, um tratamento aceito pelos órgãos ambientais.

3.5 Escolha dos materiais estruturantes

Decidiu-se utilizar como material estruturante um composto que apresentasse bons resultados em estudos, que possuísse baixo custo e alta disponibilidade na região de Minas Gerais. Deste modo, optou-se por avaliar a eficiência do uso de serragem como estruturante.

A serragem é gerada em volumes consideráveis em serrarias (ROSÁRIO, 2011). Estima-se que uma serraria de porte médio, com produção de 2000m³ de madeira serrada por

mês, pode gerar 78 toneladas de serragem durante esse período. Assim, calcula-se que 620 mil toneladas de serragem são produzidas por ano, considerando todas as serrarias do país (DANTAS FILHO, 2004). Ainda de acordo com o autor, uma parte do resíduo tem sido queimado, liberando gás carbônico para a atmosfera, e a outra parte tem sido descartado de maneira inadequada em aterros ou em rios. Segundo Maria *et al.* (2015), o descarte inadequado da serragem no solo favorece a proliferação de fungos e pode ocasionar a liberação de chorume, contaminando o local.

Deste modo, o uso de resíduos industriais, como a serragem, pode constituir uma alternativa viável por se tratar de um material de baixo custo e de alta disponibilidade (ASSUMPÇÃO *et al.*, 2011). Assim, o uso da serragem como material estruturante no tratamento de solos contaminados constitui uma alternativa ao descarte inadequado dessa.

3.6 Monitoramento da biorremediação

Para confirmar a eficácia da aplicação de um processo de biorremediação, faz-se necessária a quantificação de parâmetros químicos e/ou físico-químicos e/ou biológicos, como a concentração residual de hidrocarbonetos e/ou metais, a análise do consumo de O₂ ou produção de CO₂ e a avaliação do crescimento da biomassa microbiana (SANTOS, 2007; RIZZO, 2008).

Uma metodologia que tem sido amplamente utilizada para o monitoramento e avaliação da biorremediação é a respirometria, pois fornece resultados confiáveis e rápidos, possibilitando a realização de vários testes em um curto espaço de tempo (MORAIS, 2005). Além disso, segundo Pedroti (2007), o método é simples e economicamente viável.

A respirometria é uma técnica adequada à quantificação da atividade biológica aeróbia, pois determina a velocidade de respiração de uma biomassa ativa e possibilita estimar a velocidade de degradação completa de resíduos no solo, o tempo de estabilização dos compostos orgânicos e uma possível toxicidade dos contaminantes. É usada para auxiliar estudos da cinética de biodegradação em função de parâmetros ambientais, como umidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes (CAMARGO *et al*, 2009; PEDROTI, 2007; SANTOS, 2007).

A técnica tem se mostrado muito adequada na avaliação das atividades biológicas, entretanto, como limitação percebe-se a impossibilidade de prever qual contaminante está sendo metabolizado, ou seja, não há como verificar a ocorrência da biodegradação de compostos específicos, principalmente quando realizada em misturas (BAKER e HERSON, 1994; RODRIGUES, 2011).

3.6.1 Respirometria utilizando o método da titulometria: Respirômetro de Bartha

O método respirométrico de Bartha mede a evolução da produção de CO₂ durante a biodegradação dos compostos orgânicos presentes no solo através da consequente reação desse gás com uma solução alcalina (MARIANI, 2005). É especificado na Norma NBR 14.283 – Resíduos em solos - Determinação da Biodegradação pelo método Respirométrico (ABNT, 1999).

Através do método é possível avaliar a tratabilidade de resíduos em solos, determinando o índice de biodegradação da matéria orgânica contida nesses. Assim, determina-se a taxa de

mineralização dos contaminantes orgânicos, principalmente hidrocarbonetos, no solo de maneira indireta (MORAIS, 2005; PEDROTI, 2007).

O respirômetro é um sistema fechado, constituído de duas câmaras interligadas. Na primeira câmara ocorre a degradação dos compostos orgânicos a partir da atividade dos microrganismos presentes no solo, e a consequente produção do gás carbônico (CO_2). O gás produzido é transferido para a segunda câmara, reagindo com uma solução alcalina, normalmente hidróxido de potássio (KOH), presente no local (MELLO *et al*, 2007; SANTOS, 2007). A quantificação do CO_2 evoluído é realizada através da titulação do KOH retirado do respirômetro acrescido de BaCl_2 e fenolftaleína com HCl. Através da medida do CO_2 produzido na degradação de hidrocarbonetos presentes no solo, a porcentagem de resíduo degradado é calculada (MORAIS, 2005).

3.6.2 Respirometria utilizando o método da condutivimetria

O método respirométrico feito por condutivimetria, assim como o método feito por titulometria, determina a atividade microbiológica pela geração de gás carbônico, entretanto, foi adaptado a um sistema semi-estático de absorção de CO_2 (BORGES, 2006).

No método da respirometria por condutivimetria, o CO_2 produzido entra em contato com uma solução básica de hidróxido de sódio (NaOH) e, então, é produzido carbonato de sódio (Na_2CO_3). Como o carbonato é menos dissociável que a base, ocorre uma diminuição na condutividade da solução quando comparada a solução inicial de NaOH. As mudanças na condutividade são registradas por um condutímetro e tais dados podem ser usados para determinar a formação de CO_2 durante a biodegradação com bastante precisão (COSTA, 2010).

Em estudo a respeito da calibração para determinação condutimétrica do CO_2 , Rodella e Saboya (1999) compararam os métodos da titulometria e da condutimetria. Como resultado, os autores concluíram que não existem diferenças significativas entre os dois métodos testados, podendo, portanto, ser considerados equivalentes.

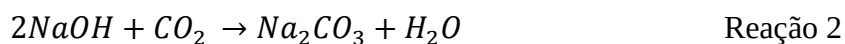
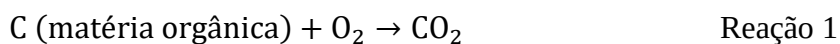
3.6.3 Respirometria utilizando o método manométrico: Sistema de medida OxiTop-C®

Outra técnica de respirometria que vem sendo empregada para a caracterização de processos respiratórios é a medida manométrica do consumo de oxigênio. Os respirômetros manométricos, conhecidos como respirômetros de Warburg, avaliam a diferença de pressão em

um sistema com volume constante, enquanto o oxigênio é consumido (COSTA, 2010), ou seja, medem a variação da pressão no interior do sistema, provocada pela respiração dos micro-organismos aeróbios presentes no meio reacional (ANDREO, 1999).

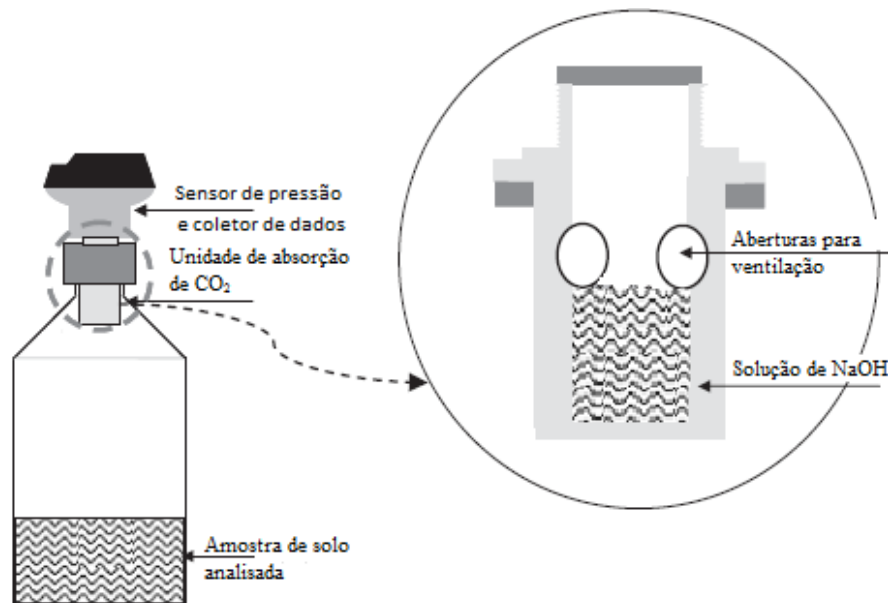
Os respirômetros de medida manométrica usados atualmente baseiam-se no funcionamento do respirômetro de Warburg com mudanças no tamanho, forma e grau de automação. Um exemplo de aparelho que segue este mecanismo de funcionamento é o *OxiTop-C*[®] (WTW). O sistema é semi-automatizado e possui sensores que detectam a variação de pressão em garrafas hermeticamente fechadas, permitindo avaliar a evolução de produção de CO₂ e/ou o consumo de O₂ durante a biodegradação (COSTA, 2010). As medições são precisas, simultâneas de CO₂ e/ou O₂ e ocorrem em tempo real (KAAKINEN *et al.*, 2007; KARHU *et al.*, 2009).

A variação da pressão medida pelo sistema *OxiTop-C*[®] pode ser relacionada com o consumo de O₂ pelos micro-organismos e a sequente reação do CO₂ com o hidróxido de sódio (NaOH) presente na solução (Figura 1). Essas reações (1 e 2) proporcionam uma queda de pressão uma vez que o CO₂, libertado para a fase gasosa, é captado pelo NaOH e possui uma relação estequiométrica direta com o O₂ que está disponível no sistema (VEEKEN *et al.*, 2003; PLATEN e WIRTZ, 1999).



Ao medir o consumo de oxigênio no sistema, o *OxiTop-C*[®] permite o cálculo da Demanda Biológica de Oxigênio (DBO[g g⁻¹]) durante o processo de degradação. O sistema tem sido usado na avaliação da degradação de compostos orgânicos em água e em solos (SANTOS, 2013; COSTA, 2010), é fácil de manusear, relativamente barato e os valores de pressão podem ser consultados em qualquer momento durante o período de teste (VEEKEN *et al.*, 2003).

Figura 1 - Representação esquemática do sistema de medida *OxiTop-C*[®].



Fonte: Modificado de Grigatti (2007).

Kaakinen *et al.* (2007) estudaram a biodegradabilidade de biocombustíveis em solos de florestas, avaliando o uso do sistema *OxiTop-C*[®] como método respirométrico. Como conclusão, os autores afirmaram que o sistema *OxiTop-C*[®] provou ser uma ferramenta adequada para a análise de estudos de biodegradação de óleos no solo. Resultados semelhantes também foram encontrados em Vähöja *et al.* (2005) e Karhu *et al.* (2009).

Em estudo a respeito da biodegradabilidade do petróleo, Costa (2010) avaliou a eficiência do método respirométrico condutivimétrico em comparação ao método manométrico, utilizando o *OxiTop-C*[®]. Ao adotar o *OxiTop-C*[®], detectou-se uma faixa indicativa de biodegradabilidade sendo que, para concentrações de petróleo ácida de 1%, foi atingida a eficiência mínima recomendada pela OECD 301F (1992) de 60%. Entretanto, ao adotar o método condutivimétrico, não foram observadas faixas que indicassem biodegradabilidade efetiva. Esses resultados mostram que, para as mesmas condições, a adoção de diferentes metodologias pode resultar em dados diferentes e, portanto, ao monitorar um processo de biodegradação é necessário atentar qual metodologia será adotada.

3.7 Legislações federais e estaduais

O Artigo 225 do capítulo VI da Constituição Federal do Brasil de 1998 estabelece que:

“Art. 225. Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações”.

Percebe-se, deste modo, que dar-se importância a manutenção de um meio equilibrado para garantir a qualidade de vida a todos. Entretanto, segundo CETESB (1999), as legislações nacionais direcionadas especificamente para áreas contaminadas foram dispostas no final de 1980, possuindo, majoritariamente, caráter corretivo, não sendo tratadas ações preventivas de modo a se evitar possíveis contaminações.

Em 1979 foi promulgada a Lei Federal nº 6.766 a qual dispõe sobre o Parcelamento do Solo Urbano a ser realizado pelos estados, pelo Distrito Federal e pelos municípios. De acordo com essa lei, fica estabelecido que:

“Art. 3º, Parágrafo único: Não será permitido o parcelamento do solo: [...]

II – em terrenos que tenham sido aterrados com material nocivo à saúde pública, sem que sejam previamente saneados; [...]

V – em áreas [...] onde a poluição impeça condições sanitárias suportáveis, até a sua correção”.

Deste modo, a lei, ao não permitir o parcelamento do solo em áreas poluídas, constitui um instrumento significativo na relação entre áreas contaminadas e o desenvolvimento urbano (CETESB, 1999).

Objetivando um maior controle das atividades que possam causar poluição, a Política Nacional do Meio Ambiente, disposta pela Lei Federal nº 6.938 de 31 de agosto de 1981, estabelece que atividades de produção, processamento, transporte, armazenagem, comércio de petróleo, óleo e derivados constituem atividades potencialmente poluidoras e, portanto, são passivas de gestão e fiscalização pelos órgãos ambientais.

A Lei Federal nº 9.605 de 12 de fevereiro de 1998, a qual dispõe sobre as sanções penais e administrativas para condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, possui uma seção (Seção III) destinada a tratar da “Poluição e outros Crimes Ambientais”. Nessa seção, por exemplo, estabelece-se penas de reclusão, detenção e multa para a atividade que:

“Art. 54. Causar poluição de qualquer natureza em níveis tais que resultem ou possam resultar em danos à saúde humana, ou que provoquem a mortandade de animais ou a destruição significativa da flora”

Buscando melhor controlar e gerir a poluição dos solos causada por petróleo, óleos e derivados, em 2002 estabeleceu-se a Resolução CONAMA nº 319, alterando a Resolução CONAMA nº 273 de 2000. Estas resoluções dispõem sobre a prevenção e o controle da poluição em postos de combustíveis e serviços, estabelecendo sobre equipamentos e montagem e instalação de sistemas de armazenamento e de distribuição de combustíveis automotivos. Estes devem ser avaliados para a manutenção da conformidade, de acordo com o Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade.

Em 2009, foi promulgada a Resolução CONAMA nº 420, alterada pela Resolução CONAMA nº 460 de 2013. Essas dispõem sobre os critérios e os valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelecem diretrizes para o gerenciamento de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.

Segundo o CONAMA (2009), tais resoluções consideram que áreas contaminadas podem constituir um risco à saúde pública e ao meio, havendo, portanto, a necessidade de prevenir a contaminação do subsolo e das águas subterrâneas, bem como promover ações para o uso sustentável do solo com o objetivo de prevenir a perda de sua funcionalidade.

Assim, com as Resoluções CONAMA nº 420 e nº 460, foi estabelecido que os Estados e do Distrito Federal devem estabelecer os Valores de Referência de Qualidade (VRQs) para as substâncias químicas naturalmente presentes no solo. Estabelecem também os Valores de Prevenção (VPs), sendo esses a concentração de valor limite de determinada substância no solo capaz de sustentar as funções do solo, e os Valores de Investigação (VI) para área residencial e atividades agrícolas e industriais de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais à saúde humana.

Segundo dados de 2015 do Ministério do Meio Ambiente (MMA), a Resolução CONAMA nº 420 possibilitou o conhecimento das características e dos impactos causados pelas áreas contaminadas, o que proporcionou bases para a tomada de decisão e para o início do gerenciamento dessas. De acordo com a REVISTA ABAS (2010), a Resolução foi um

avanço para a gestão ambiental do solo brasileiro, possibilitando o cadastro, a prevenção e o tratamento das áreas contaminadas.

Considerando que o comércio e o armazenamento de combustíveis são atividades potencialmente causadoras de impactos ambientais, buscando um instrumento para o controle dessas atividades o estado de Minas Gerais dispôs a Deliberação Normativa COPAM nº 50. Essa deliberação estabelece os procedimentos para o licenciamento ambiental de postos revendedores, postos de abastecimento, instalações de sistemas retalhistas e postos flutuantes de combustíveis, estando de acordo com o proposto pela Resolução CONAMA nº 273 de 2000.

Em 2007, a DN nº 50 foi alterada pela Deliberação Normativa COPAM nº 108 à qual acrescenta ações necessárias caso ocorra construção, instalação, modificação, ampliação, paralisação e operação de postos revendedores, postos de abastecimento, instalações de sistemas retalhistas e postos flutuantes de combustíveis.

Um importante instrumento para o processo de gerenciamento de áreas contaminadas no estado de Minas Gerais foi disposto pela Deliberação Normativa COPAM nº116 em 2008 a qual visa identificar áreas suspeitas e contaminadas no Estado nº116 em 2008 a qual visa identificar áreas suspeitas e contaminadas no Estado, através da criação de um Inventário Estadual de Áreas Contaminadas, sendo esse um conjunto de informações sobre as áreas potencialmente contaminadas, áreas suspeitas de contaminação e áreas contaminadas no Estado.

Com o objetivo de levantar informações a respeito das áreas contaminadas e suspeitas de contaminação no Estado, a DN COPAM nº 116 convocou pessoas físicas, jurídicas e órgãos públicos a efetuarem um cadastro realizado através de uma autodeclaração em *Web* pelo Banco de Declarações Ambientais (BDA).

Em 2010, o estado de Minas Gerais promulgou, através da COPAM e CERH, a Deliberação Normativa Conjunta nº 02 que instituiu o Programa Estadual de Gestão de Áreas Contaminadas, responsável por estabelecer as diretrizes e os procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas no estado. Esta foi alterada pela Deliberação Normativa COPAM nº 166 em 2011, estabelecendo, como solicitado pela Resolução CONAMA nº 420, os Valores de Referência de Qualidade dos Solos para Minas Gerais.

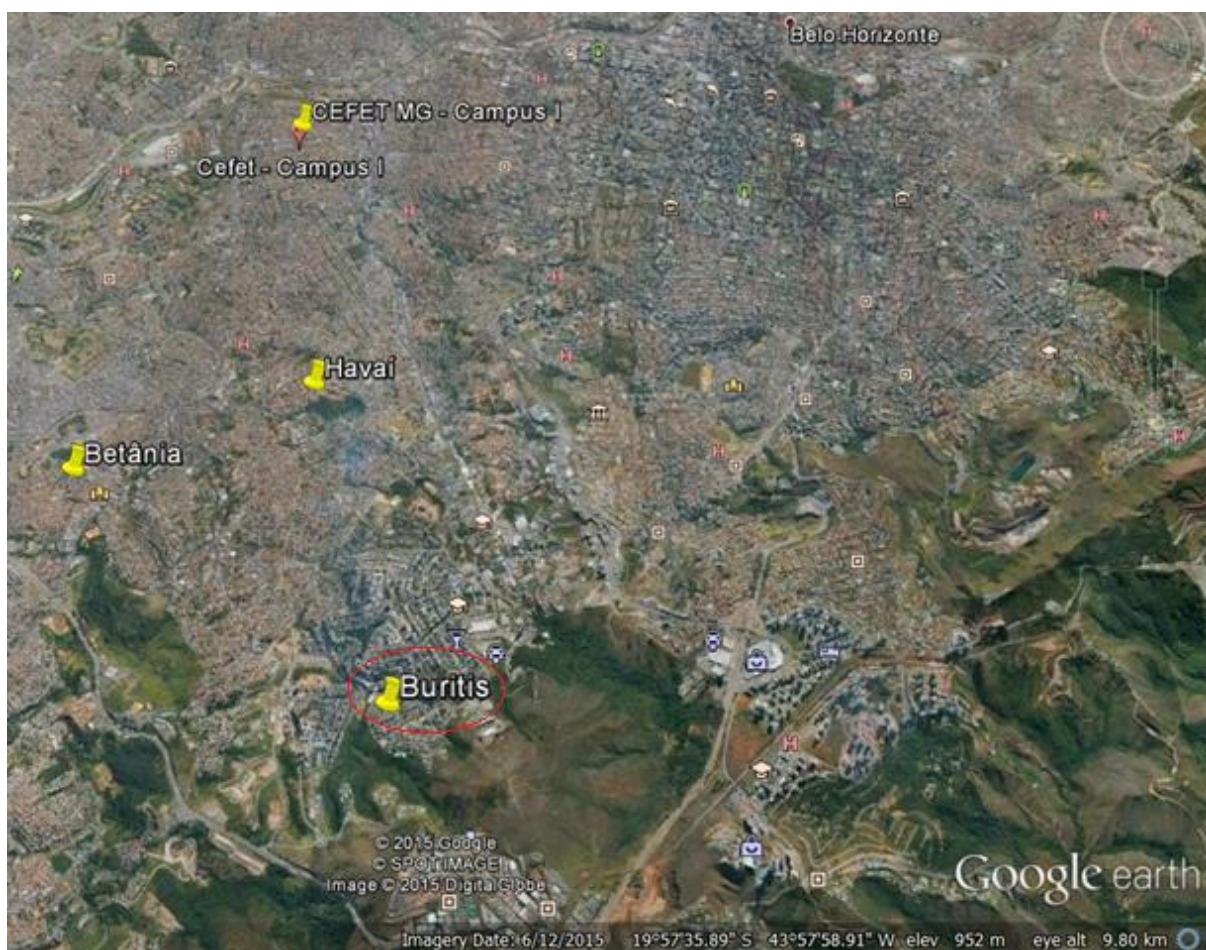
Em 2011, através do Decreto nº 45.825, estabeleceu-se o estatuto da Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM). Nesse foi criada a Gerência de Áreas Contaminadas que tem como finalidade desenvolver planos e programas relativos à prevenção e recuperação de áreas contaminadas no Estado.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta, preparo e caracterização da amostra de solo

A amostragem de solo foi realizada no estado de Minas Gerais, na região oeste da cidade de Belo Horizonte, localizada no bairro Buritis (Figura 2). A região é caracterizada pela intensa densidade urbana, possuindo um grande número de residências e empreendimentos comerciais, como shoppings, universidades, escritórios, supermercados e postos de gasolina (APCBH, 2011).

Figura 2 - Local de amostragem do solo no bairro Buritis (19° 58' 36.20" S 43° 58' 10.13" W).



Fonte: Google Earth.

A amostra coletada possuía aproximadamente 4 kg e foi caracterizada em relação aos parâmetros pH, matéria orgânica, carbono orgânico total, nitrogênio total, fósforo, bactérias heterotróficas totais e bolores e leveduras. A caracterização físico-química e microbiológica foi realizada de acordo com o Manual de Métodos de Análise de Solo (EMBRAPA, 2011) e com o *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA/AWWA/WEF, 2005), respectivamente.

Após a coleta, a amostra de solo foi peneirada em peneira de malha 2mm com o objetivo de remover resíduos vegetais e desagregar grandes torrões de solo, deixando-o mais homogêneo. A umidade do solo foi corrigida para um valor de 21% para favorecer a atividade microbiana.

4.2 Preparo do material estruturante

Para realização dos experimentos, utilizou-se a serragem com material estruturante. Essa, previamente moída e peneirada a 2mm para se obter homogeneidade, foi adicionada às amostras de solo em proporções de 5% e 10%. As quantidades de serragem usadas no presente trabalho são compatíveis com aquelas que normalmente obtiveram bons resultados em estudos (SANTOS, 2007; NETO *et al.*, 2005; SEABRA, 2005; RIZZO, 2008; ROCHA *et al.*, 2006).

4.3 Experimentos de biorremediação

Os experimentos foram realizados em triplicata e conduzidos de maneira a se avaliar o processo de biorremediação do óleo diesel no solo a uma temperatura de 25 °C. Um resumo das condições experimentais utilizadas é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Experimentos de biorremediação.

Experimento	Descrição
1	Solo (frasco controle)
2	Solo + Óleo diesel
3	Solo + serragem 5% (frasco controle)
4	Solo + serragem 10% (frasco controle)
5	Solo + Óleo diesel + serragem 5%
6	Solo + Óleo diesel + serragem 10%
7	Solo + Óleo diesel + serragem 5% + aeração
8	Solo + Óleo diesel + serragem 10% + aeração

Fonte: Própria.

Para avaliação do processo de biodegradação foram utilizados 50 g de solo, colocadas em garrafas de 250 ml. Objetivando simular a contaminação por vazamento de óleo diesel, nas amostras contaminadas, foram adicionadas 5% m/m do resíduo ao solo. O óleo diesel utilizado foi o S500, com densidade entre 0,815 – 0,865 g/cm³ e teor de enxofre de 500ppm (FISPQ, 2014). A escolha pelo óleo diesel S500 foi baseada em seu vasto uso, visto que, segundo a Revista Petrobras (2005), o óleo está sendo distribuído desde 2005 nas principais regiões metropolitanas do Brasil, locais que concentram cerca de 70% da frota nacional de ônibus e caminhões e são responsáveis por 21% da demanda de diesel no país.

Nos testes com aeração, o solo foi revolvido durante 30 segundos com uma espátula de metal duas vezes na semana, seguindo uma frequência compatível com a utilizada por outros pesquisadores (MORAIS, 2005; BENTO, 2005; CIANNELLA, 2010; SANTOS *et al.*, 2007; CHOROM *et al.*, 2010). A espátula usada era limpa com água destilada a cada revolvimento, evitando a contaminação do solo da garrafa seguinte.

4.4 Sistema de medição

O monitoramento da biodegradação das amostras foi realizado pelo método respirométrico manométrico através do sistema de medida *OxiTop-C*[®] medindo-se o consumo de O₂ durante o período de incubação. As garrafas foram mantidas em incubadora a uma temperatura média de 25°C durante um período de 26 dias, de acordo com a norma OECD 301f (OECD, 1992), a qual orienta testes de respirometria utilizando o método manométrico. Períodos de incubação similares também foram adotados por outros pesquisadores (COSTA, 2010; KAAKINEN *et al.*, 2007; KARHU *et al.*, 2009; ROPPOLA, 2009).

Para absorção de CO₂, foi utilizado um volume de 8 ml de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,05M. De acordo com Platen e Wirtz (1999), a solução de hidróxido de sódio é indicada para ser usada como agente de absorção do CO₂ produzido durante a biodegradação, sendo a pastilha sólida de hidróxido de sódio não recomendada por causar ressecamento no solo.

O sistema de medida *OxiTop-C*[®] avalia a diferença de pressão em um volume constante, enquanto o oxigênio é consumido. As medidas de consumo de oxigênio/produção de CO₂ são armazenadas automaticamente a cada 112 minutos (WTW, Weilheim, Germany), totalizando, deste modo, 335 valores ao final dos 26 dias de degradação analisados. Os dados de variação de pressão são gravados em um controle remoto que também determina a pressão momentânea na garrafa, dado que pode ser usado quando desejado para o monitoramento da respiração do solo (Figura 3). O uso do *OxiTop-C*[®] no presente estudo foi determinado pelo atendimento a norma internacional OECD 301f no tratamento de solos contaminados, pela sua facilidade de manuseamento e devido ao elevado número de medidas disponíveis ao final do período de incubação.

Figura 3- Garrafas e controle remoto usados no monitoramento pelo sistema *OxiTop-C*[®].



Fonte: Própria.

Segundo Platen e Wirtz (1999), as medidas no *OxiTop-C*[®] devem ser realizadas no modo “Pressure P”, afim de serem obtidos gráficos da pressão produzida pelo CO₂ gasoso. O *OxiTop-C*[®] possui um limite de medição de 1300 hPa, sendo que pressões acima de 2000 hPa podem danificar o aparelho.

Ainda segundo os autores, para calcular a quantidade de O₂ consumido ou de CO₂ produzido durante a mudança de pressão (Δm) utiliza-se a Equação 1.

$$\Delta m = \frac{\Delta p V_{fr} M_r}{R' T}$$

Equação 1

Nesta equação, Δp [JL⁻¹] é a variação da pressão registrada pelo *OxiTop-C*[®] no modo “Pressure P”; V_{fr} [L] é o volume de gás livre; M_r é a massa [g/mol] do gás que se deseja medir; R' é a constante do gás, sendo que R' para o O₂, medido a 273K e a 1013 hPa, vale 8,301 Jmol⁻¹K⁻¹ e o R' para o CO₂, medido a 273K e a 1013 hPa, vale 8,2502 Jmol⁻¹K⁻¹; T é a temperatura ambiente [K].

O volume de gás livre (V_{fr}) usado na Equação 1 pode ser calculado usando a Equação 2 (PLATEN e WIRTZ, 1999):

$$V_{fr} = V_{ges} - V_{AG} - V_{Am} - V_{Bf}$$

Equação 2

Na qual, V_{ges} [L] representa o volume total do recipiente de medição fechado, sem solo e sem o recipiente do absorvente; V_{AG} [L] é o volume do recipiente usado pelo agente absorvente; V_{AM} [L] representa o volume de absorvente usado; V_{Bf} [L] é o volume do solo úmido.

Para calcular a respiração do solo (BA) [mgO_2/kgTS] utiliza-se a Equação 3 (PLATEN e WIRTZ, 1999).

$$BA = \frac{Mr(O_2)V_{fr}\Delta p}{R T m_{Bt}}$$

Equação 3

Em que m_{Bt} , em kg, é a massa de solo seco usado no preparo do processo e R é 83,1441 L hPa mol⁻¹ K⁻¹. O cálculo da massa de solo seco usada é feito usando a Equação 4 (PLATEN e WIRTZ, 1999):

$$m_{Bt} = \frac{m_{Bf} * TS}{100\%}$$

Equação 4

Em que m_{Bf} , em kg, é a massa de solo úmido usado e TS é o teor de solo seco em %.

O cálculo da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO[g g⁻¹]) de óleo é calculado usando a Equação 5 (ROPPOLA *et al.*, 2008; ROPPOLA, 2009; KUOKKANEN *et al.*, 2011).

$$DBO [g g^{-1}] = \frac{\Delta m}{m_{amostra}}$$

Equação 5

Sendo Δm a quantidade de oxigênio consumido[g] e $m_{amostra}$ a massa do poluente (exemplo, óleo diesel) aplicada no experimento (KARHU *et al.*, 2009).

4.5 Caracterização final do solo

Foram realizadas, ainda, análises para a caracterização química e microbiológica das amostras após os ensaios de biodegradação. Através da análise de óleos e graxas determinou-se o teor de óleo remanescente ao final do experimento (APHA/AWWA/WEF, 2005). A determinação final de bactérias heterotróficas totais e bolores e leveduras (APHA/AWWA/WEF, 2005) foi importante para a análise do comportamento microbiológico após a adição de contaminante e/ou serragem e aeração ao solo.

4.6 Determinação do carbono da biomassa microbiana

A determinação da atividade microbiana foi realizada após a verificação dos resultados da respirometria. Objetivava-se verificar o comportamento da microbiota nas amostras de solo com e sem serragem. Os testes foram realizados em duplicata a partir da determinação do Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (BMS – C), seguindo a metodologia descrita em Silva *et al.* (2007). Um resumo das condições experimentais utilizadas no procedimento é apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Experimentos de determinação do carbono da biomassa microbiana.

Experimento	Descrição
1	Solo (frasco controle)
2	Solo + serragem 2%
3	Solo + serragem 5%
4	Solo + serragem 10%

Fonte: Própria.

4.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas através do software STATISTICA versão 12. Utilizando-se Testes de Turkey obtiveram-se valores indicadores de diferença significativa ou não entre as médias das amostras, considerando um intervalo de confiança de 95% ($R^2=0,99$; $p \leq 0,05$)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização inicial do solo

A Tabela 6 mostra os resultados obtidos na caracterização físico-química e microbiológica inicial do solo usado nos experimentos.

Tabela 6 - Resultado da caracterização do solo.

Parâmetro	Resultado
pH	5,0
Matéria Orgânica	0,76 %
Carbono orgânico total	1,14 %
Nitrogênio Total	910 mg/kg
Fósforo	531,8 mg/kg
Bactérias Heterotróficas Totais	$4,10 \times 10^4$ UFC/g
Bolores e leveduras	$2,7 \times 10^3$ UFC/g

Fonte: Própria.

A partir da análise Tabela 6, percebe-se que a amostra coletada se caracteriza como um solo ácido e com baixo teor de matéria orgânica (BAPTISTA, 2007; EMBRAPA, 2004). De acordo com as condições mais adequadas para ocorrência da biodegradação apresentadas por Vidali (2001), percebe-se que o pH do solo usado estava abaixo do ideal (pH 6,5 a 8,0).

Verifica-se também que os solos apresentavam baixos teores de nitrogênio e fósforo, visto que esses se encontravam abaixo de 2,22 g N/kg solo e 30 mg P/kg solo, respectivamente, conforme apresentado por Jaramillo (1996).

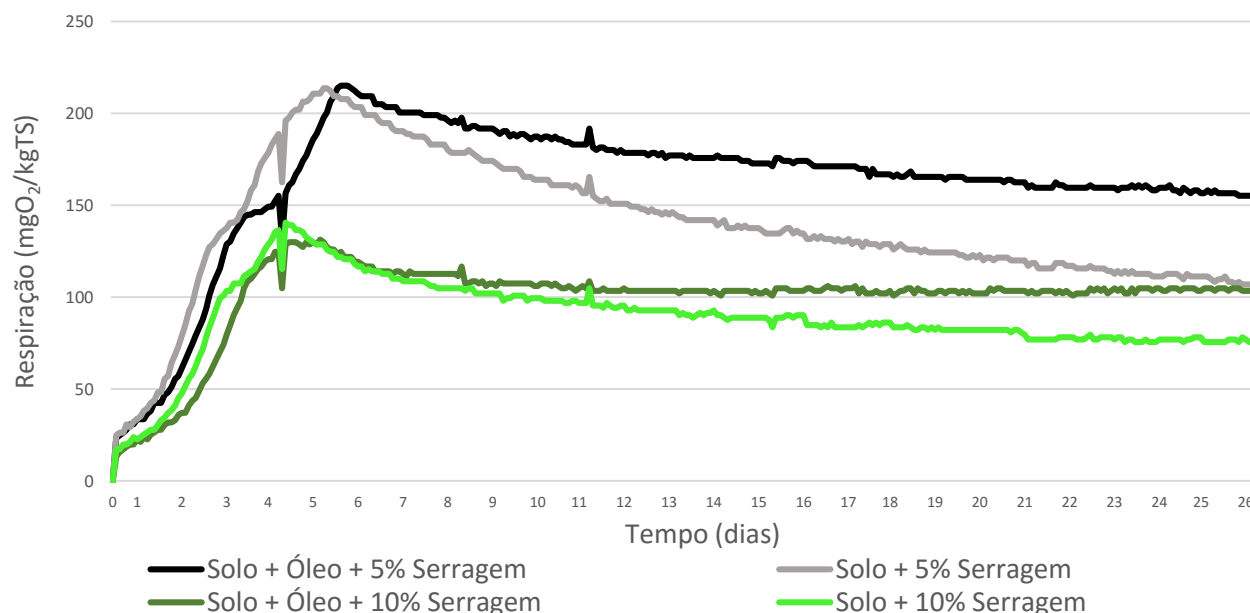
Como o objetivo do presente trabalho é desenvolver um estudo da biorremediação de solos característicos do estado de Minas Gerais, não houve adição de nutrientes ou correção de pH nas amostras.

5.2 Avaliação da respirometria

5.2.1 Comparação entre os experimentos com 5% e 10 % de serragem

Para avaliar o efeito da adição de diferentes proporções de serragem no solo contaminado com óleo diesel, realizou-se um estudo comparativo a partir do uso de 5% (p/p) e 10% (p/p) do material estruturante. A partir dos dados obtidos no sistema *OxiTop-C*[®], calculou-se o consumo de oxigênio na respiração do solo em mgO₂/kgTS para os casos considerados (Figura 4).

Figura 4 - Consumo de oxigênio na respiração do solo utilizando 5% e 10% de serragem.



A partir da análise da Figura 4, foi possível verificar que, nos primeiros dias de incubação, o aumento do consumo de O_2 das amostras sem óleo diesel foi superior ao das amostras com o combustível, tanto para 5% quanto para 10% de serragem. Verifica-se, conforme esperado, que as amostras com óleo diesel necessitam de um período maior para a aclimação inicial dos micro-organismos.

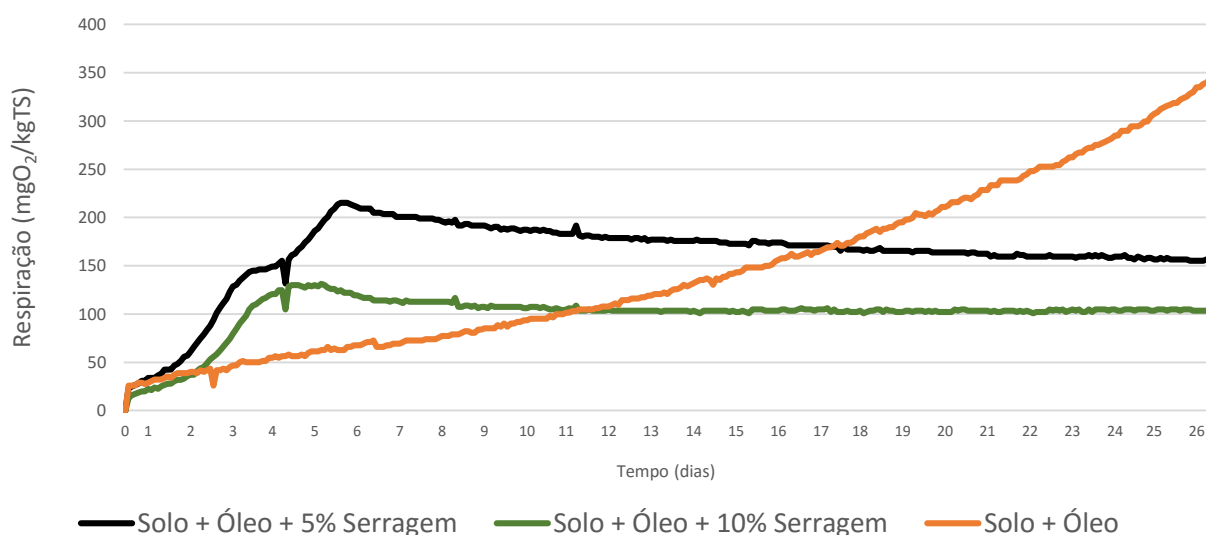
A análise da Figura 4 também permite verificar que o consumo de oxigênio caiu com o aumento da proporção de serragem utilizada. Assim, percebe-se que a proporção de 10% de estruturante mostrou não ser a relação ótima para o uso na biorremediação.

Considerando o efeito comparativo das diferentes proporções de serragem na degradação do óleo diesel, percebe-se, a partir de dados estatísticos (Teste Turkey), que não foi constatada diferença significativa entre os valores de consumo médio de O_2 para a degradação do óleo nas amostras Solo + Óleo + 5% Serragem e Solo + Óleo + 10% Serragem ($p = 0,99586$). Infere-se, deste modo, que, apesar do maior consumo de oxigênio nas amostras Solo + Óleo + 5% Serragem (Figura 4), a variação da proporção do estruturante não atuou significativamente no aumento do consumo médio de O_2 .

5.2.2 Efeito do uso de serragem na biorremediação de óleo diesel

Com o objetivo de avaliar o efeito do uso de serragem na eficiência do processo de biorremediação de óleo diesel, realizou-se um estudo comparativo entre a biodegradação do óleo no solo *in natura* (atenuação natural) e no solo com adição de 5% (p/p) e 10% (p/p) de serragem. Para tal, a partir dos dados obtidos pelo sistema *OxiTop-C*[®], calculou-se o consumo de oxigênio na respiração do solo em mgO₂/kgTS para os casos considerados (Figura 5).

Figura 5- Consumo de oxigênio na respiração do solo com óleo diesel, com e sem adição de serragem.



A partir da análise da Figura 5, percebe-se um consumo acentuado de O₂ nos primeiros dias de incubação, atingindo uma respiração máxima no 5º dia para o ensaio com 5% de serragem e óleo. Uma curva com o mesmo padrão foi obtida para o ensaio com 10% de serragem e óleo, entretanto, com menores valores de consumo de oxigênio. Em ambos os casos, foi possível verificar a ausência na fase *lag*, sugerindo uma boa aclimação da microbiota nos ensaios.

A partir do 7º dia de incubação nota-se uma redução do consumo de oxigênio na respiração do solo nos experimentos com estruturantes, seguida de uma estabilização. Como possível explicação para tal comportamento sugere-se a degradação das frações mais lábeis do óleo diesel nos períodos iniciais ou uma limitação da disponibilidade de nutrientes das amostras. O mesmo padrão de resultado foi obtido por Costa (2010) e McGill *et al.* (1981) em estudos de

degradação do petróleo utilizando o sistema de medida *OxiTop-C*[®] e sobre o comportamento microbiológico e as taxas de degradação de petróleo em solos contaminados, respectivamente.

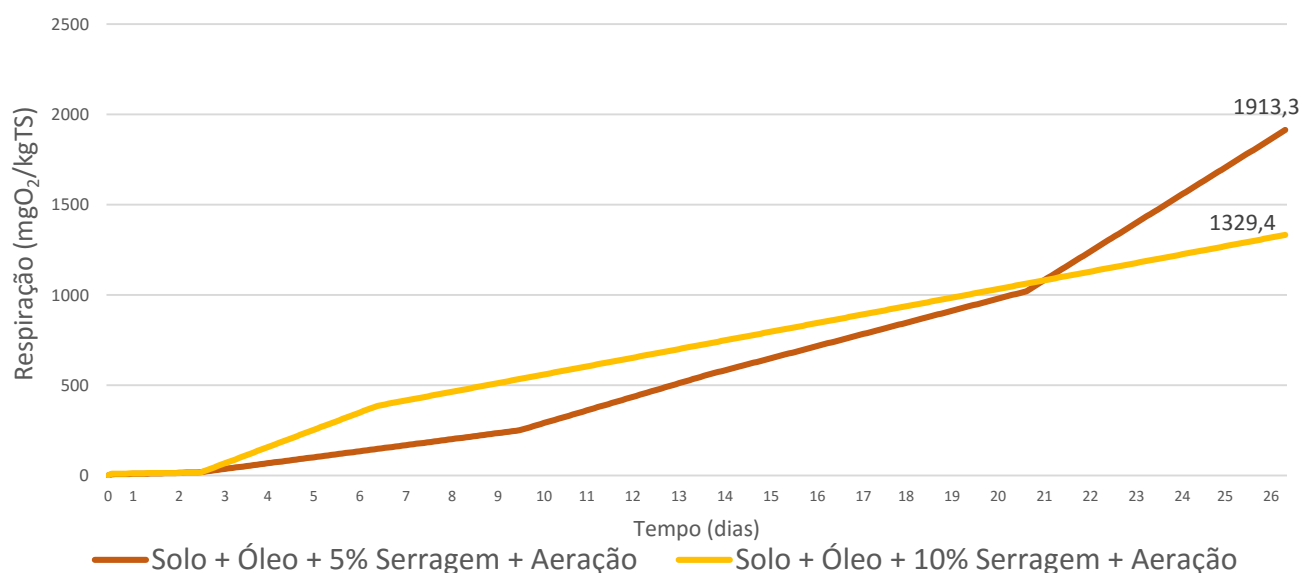
A amostra de Solo + Óleo apresentou valores de respiração superiores aos dos experimentos com serragem somente a partir do 18º dia de incubação, inferindo-se que a atenuação natural, quando em pequenas escalas de contaminação, é um tratamento possível de ser realizado, porém mais lento que a biorremediação utilizando o material estruturante. Resultados semelhantes foram encontrados em Costa (2010), o qual, a partir de análises respirométricas com o *OxiTop-C*[®], apontou que, para pequenas contaminações de óleo, o ambiente teria o potencial de degradar o contaminante através do processo de atenuação natural.

Para melhor comparação do consumo médio de O₂ entre as amostras com e sem adição de serragem foi realizado o teste estatístico de Turkey. Os resultados estatísticos apontaram para uma diferença não significativa entre os valores de consumo médio de O₂ para as amostras em atenuação natural (solo *in natura*) para aquelas com serragem ($p = 0,9933$ e $p = 1$ para 5% e 10% de serragem, respectivamente). Infere-se, deste modo que, apesar das maiores taxas iniciais de respiração ocorrerem nas amostras com serragem (Figura 5), o estruturante, independentemente da proporção utilizada, não atuou aumentando significativamente o consumo médio de O₂.

5.2.3 Efeito da aeração na biorremediação

Com o objetivo de se avaliar o efeito da aeração por revolvimento no processo de biorremediação de solos contaminados com óleo diesel, realizou-se um estudo comparativo a partir da combinação da adição de serragem e da aplicação da aeração. A partir dos dados obtidos no sistema *OxiTop-C*[®], calculou-se o consumo de oxigênio na respiração do solo em mgO₂/kgTS para os casos considerados (Figura 6).

Figura 6- Consumo de oxigênio na respiração do solo utilizando 5% e 10% de serragem e aeração por revolvimento.



A análise da Figura 6 permite verificar que adição de serragem combinada com a aeração elevou consideravelmente o consumo de oxigênio das amostras, sendo que, inicialmente, a adição de 10% de serragem mostrou-se mais eficiente nesse aumento. Entretanto, ao final do experimento, a amostra com 5% de serragem atingiu valores superiores de consumo de oxigênio (1913 mgO₂/kgTS) quando comparado ao atingido ao experimento com 10% do estruturante (1332 mgO₂/kgTS).

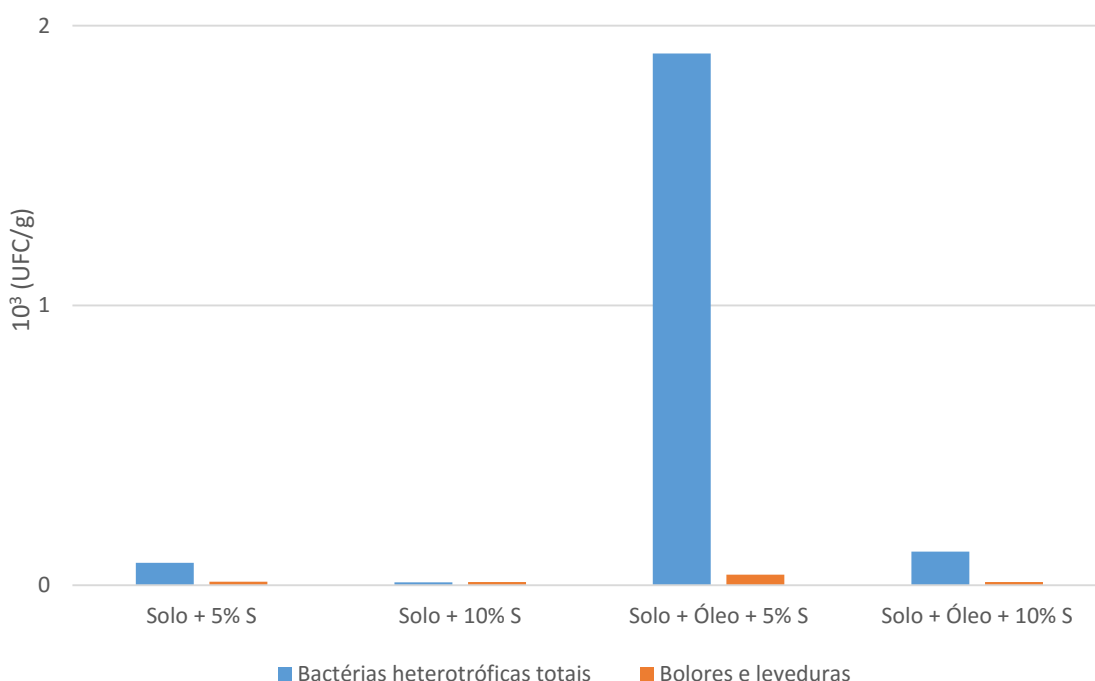
Para melhor comparação do consumo médio de O₂ entre as amostras com aeração foi realizado o teste estatístico de Turkey. Os resultados estatísticos indicam uma diferença significativa entre os valores de consumo médio de O₂ para as amostras em atenuação natural (solo *in natura*) e para aquelas com aeração, independentemente da proporção de serragem usada ($p = 0,000174$). Infere-se, deste modo, que o estruturante não atuou aumentando significativamente o consumo médio de O₂, sendo, neste caso, a aeração o principal agente atuante no aumento da biodegradação do contaminante.

5.3 Análise microbiológica

Com o objetivo de verificar a resposta microbiológica a partir da adição de óleo, de diferentes proporções de serragem e aeração no solo, foram realizadas análises de bactérias heterotróficas totais, bolores e levedura das amostras com aeração após o experimento de

biodegradação. A Figura 7 apresenta os resultados obtidos para a contagem da população microbiana no solo nos experimentos com adição de serragem e óleo.

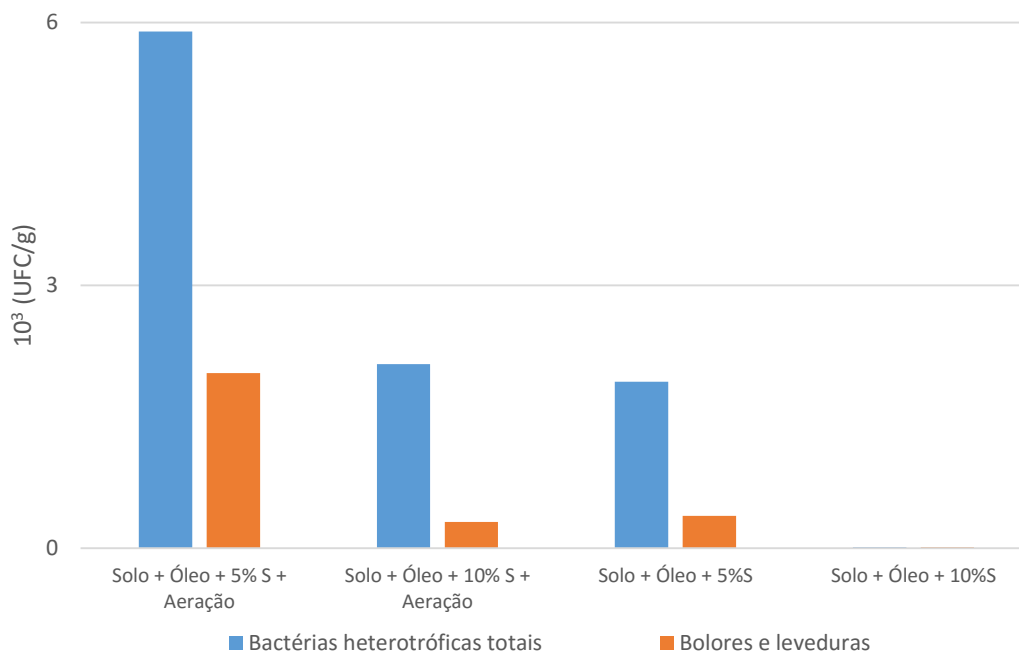
Figura 7- Análise microbiológica do solo utilizando 5% e 10% de serragem (S).



A partir da análise da Figura 7, percebe-se que o óleo diesel atuou como fonte de carbono para a microbiota, apesar da toxicidade do contaminante, elevando de forma considerável a população de bactérias heterotróficas totais, bolores e leveduras. Tal aumento, entretanto, só foi perceptível nas amostras com 5% de serragem, não sendo verificado elevação no número populacional da microbiota para os casos com 10% de serragem. Não foi observado o desenvolvimento excessivo de fungos nas amostras com elevadas proporções de serragem, diferentemente do apresentado por Seabra (2005), que verificou o aumento de populações de fungos com a elevação da proporção do material estruturante usado.

A Figura 8 apresenta os resultados obtidos para a contagem da população microbiana no solo nos experimentos com uso da aeração por revolvimento em amostras com o estruturante.

Figura 8- Análise microbiológica do solo nos experimentos com aeração combinada com a adição de serragem (S).

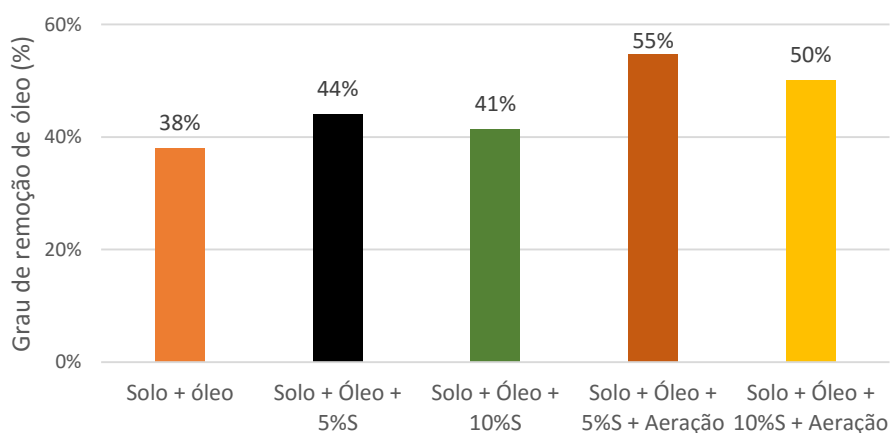


A partir da análise da Figura 8, percebe-se que o número de bactérias heterotróficas totais, bolores e leveduras aumentou com a aplicação da aeração quando comparadas as amostras contendo serragem, independentemente da proporção de serragem usada. Percebe-se também que a população microbiana foi maior para os experimentos que combinaram 5% de serragem e aeração por revolvimento.

5.4 Remoção de óleo do solo

Com o objetivo de comparar os resultados obtidos nos experimentos de respirometria, foram realizadas análises de óleos e graxas ao final dos ensaios nas amostras. Com os teores de óleo remanescente obtidos pela análise foram, então, calculados os graus de remoção do óleo ao final dos 26 dias de incubação (Figura 9).

Figura 9 - Grau de remoção de óleo diesel nos experimentos.

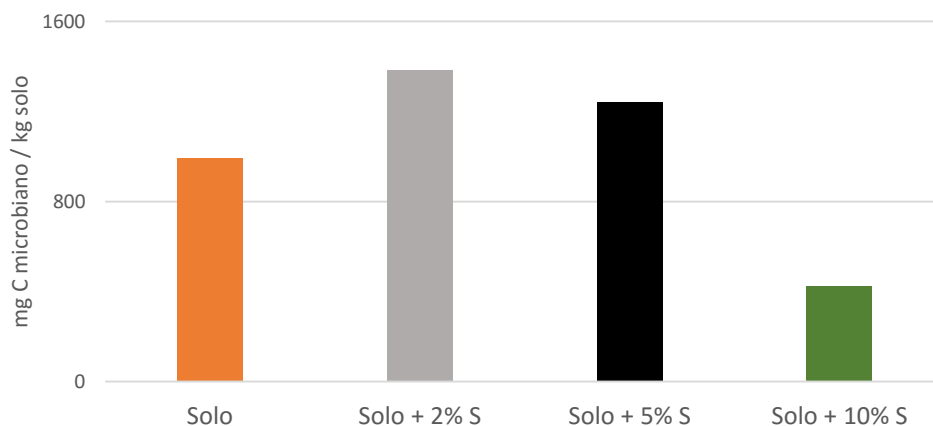


Para melhor interpretação do grau de remoção de óleo diesel (Figura 9), realizou-se a comparação das médias de remoção através do teste estatístico de Turkey. Os resultados estatísticos apontam para uma diferença significativa entre as médias de remoção de óleo diesel nas amostras com 5% e 10% de serragem e aeração, quando comparadas à atenuação natural ($p = 0,000231$ e $p = 0,000847$ para 5% e 10% do estruturante, respectivamente). Entretanto, tal resultado não se mostra significativo quando as médias de remoção entre as demais amostras são comparadas. Infere-se deste modo que, apesar das melhores porcentagens de remoção do óleo ocorrerem nas amostras com serragem quando comparadas a atenuação natural, o estruturante não atuou significativamente na remoção do óleo. Sendo, portanto, as remoções significativas de óleo resultantes da combinação entre o estruturante e a aeração.

5.5 Determinação do carbono da biomassa microbiana

Com o objetivo de verificar o comportamento da microbiota nas amostras de solo com e sem serragem, realizou-se, após a análise dos resultados da respirometria, a determinação da atividade microbiana em solos sem serragem e contendo 2%, 5% e 10% do estruturante. A Figura 10 mostra os resultados obtidos para a BMS – C (Carbono da Biomassa Microbiana do Solo) nas diferentes amostras utilizadas.

Figura 10 - Carbono da biomassa microbiana em amostras com e sem serragem.



Como o BMS – C representa a fração viva da matéria orgânica presente no solo (SOUZA *et al.*, 2010), a atividade microbiana é maior quanto maior for o BMS – C calculado. Percebe-se que as amostras com biomassa mais ativa foram aquelas com 2% e 5% de serragem, respectivamente. Verifica-se, portanto, que a atividade microbiana aumentou com a adição de até 5% de serragem, mas tende a se reduzir com o aumento da proporção do estruturante acima desse valor.

Percebe-se a compatibilidade com os resultados obtidos nos ensaios de respirometria os quais apontaram reduzido consumo de oxigênio nas amostras com 10% do estruturante. Esses resultados são compatíveis com apresentado em Seabra (2005) ao apontar o efeito negativo sobre a atividade microbiana do uso de elevadas proporções de materiais celulósicos na biodegradação do óleo. Infere-se, portanto, que tal proporção de serragem possa ter causado toxicidade na amostra.

6. CONCLUSÕES

- Através da análise do consumo de oxigênio na respiração das amostras com e sem serragem, percebe-se que àquelas com óleo diesel necessitaram de um período maior para aclimação. Verificou-se também a ausência da fase *lag* para os experimentos com serragem, os quais apresentaram um consumo mais acentuado de O₂ nos primeiros dias de incubação, sugerindo uma boa aclimação da microbiota nos ensaios com o estruturante.

- Verificou-se que a atenuação natural é um tratamento possível de ser realizado quando em pequenas escalas de contaminação, porém apresenta menor consumo de O_2 quando comparado àquelas que utilizam material estruturante, indicando, portanto, um processo de biorremediação mais lento.
- Apesar do maior consumo inicial de oxigênio ocorrer nas amostras com serragem, as análises estatísticas indicaram que a variação da proporção do estruturante não atuou significativamente no aumento do consumo médio de O_2 .
- Foi constatada uma diferença significativa entre os valores de consumo médio de O_2 para as amostras em atenuação natural e para aquelas com aeração, independentemente da proporção de serragem usada.
- A partir da análise microbiológica do solo após os experimentos de respirometria, constatou-se que a população microbiana foi maior nas amostras Solo + Óleo + 5% Serragem + Aeração. Constatou-se também que a população microbiana aumentou com a aplicação da aeração, independentemente da proporção de serragem usada. O grau de remoção de óleo diesel também foi maior para as amostras de Solo + Óleo + 5% Serragem + Aeração.
- Maiores atividades microbianas foram obtidas com a adição de até 5% de serragem, tendendo essa a diminuir com aumento da proporção usada do estruturante.
- Verificou-se que a adição de serragem elevou a atividade microbiana do solo, mas não a ponto de tornar a degradação do óleo diesel mais efetiva.
- Constata-se, portanto, que a biodegradação efetiva do óleo diesel ocorreu nas amostras com aeração. Infere-se que o estruturante não atuou aumentando significativamente o consumo médio de O_2 , sendo, neste caso, a aeração o principal agente atuante no aumento da biodegradação do contaminante.

7 RECOMENDAÇÕES

- Realizar ensaios de ecotoxicidade dos solos nas amostras com adição de serragem, objetivando avaliar o efeito de proporções do estruturante iguais ou superiores a 10% na atividade microbiana.
- Avaliar o efeito do uso da aeração sem a adição de serragem, objetivando verificar qual o grau de biodegradação do solo destinado a somente esse parâmetro.
- Realizar análises químicas após a biorremediação para a determinação dos teores de hidrocarbonetos de petróleo remanescentes, a fim de verificar o atendimento ou não aos Valores de Referência de Qualidade dos Solos estabelecidos pela Deliberação Normativa COPAM nº 166/2011.

8 REFERÊNCIAS

ABDANUR, A. **Remediação de solo e água subterrânea contaminados por hidrocarbonetos de petróleo: estudo de caso na refinaria Duque de Caxias/RJ**. 2005. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2005.

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Revista Eclética Química**, v. 35, n. 3, 2010.

ANDREO, A. P. **Ensaio de Respirometria: Monitoração do CO₂ utilizando um Sistema FIA com detecção condutométrica**. 1999. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil. Campinas, São Paulo, 1999.

APCBH. Arquivo Público da Cidade De Belo Horizonte. **Histórias de bairros [de] Belo Horizonte**: Regional Oeste. Belo Horizonte: Arquivo Público da Cidade, 2011.

APHA/AWWA/WEF. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22. ed., 2005.

ARMENDÁRIZ, P. B. *et al.* Biostimulation of micro-organisms from sugarcane bagasse pith for the removal of weathered hydrocarbon from soil. **Letters in Applied Microbiology**, v.38, n.5, p. 373–377, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14.283**: Determinação da Biodegradação pelo Método Respirométrico de Bartha,. Rio de Janeiro: Moderna, 1999.

ASSUMPÇÃO, M. E.; PANZERA, T. H.; CHRISTOFORO, A. L. Estudo da adição de serragem em compósitos particulados poliméricos. **Madeira: Arquitetura e Engenharia**, v. 12, n. 28, 2011.

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

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial Ecology**: Fundamentals and Application. 4. ed. Menlo Park, CA: Addison Wesley Longman, 1998.

ATLAS, R.M., BARTHA, R. Ecological aspects of bioremediation control: soil, waste, and water management. **Microbial Ecology**, Benjamin, Cummings Redwood City, California, p. 349-382, 1993.

BAKER, K. H.; HERSON, D. S. **Microbiology and bioremediation**. In: Bioremediation. New York, USA: McGraw-Hill, 1994.

BANERJI, S. K. (Org.) **Bioremediation of Soils Contaminated with Petroleum Hydrocarbons Using Bioslurry Reactors**. Washington, DC: U.S. Army Corps of Engineers, 2009.

BAPTISTA, S. J. **Avaliação do emprego de biossurfactante na biorremediação de solos contaminados com óleo diesel**. 2007. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ, 2007.

BARAHONA, M. L. *et al.* Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. **Applied Soil Ecology**, v. 27, p. 165–175, 2004.

BARROS, C. A. (Org.). **Monitoramento da Atenuação Natural de Solos Artificialmente Contaminados com Óleo Diesel B0 e B4..** Rio de Janeiro: Série Tecnologia Ambiental CETEM/MCT, 2010.

BARROS, C. A.; LEMOS, J. L. S. Estudo da degradação de petróleo em solo areno-argiloso com bioaumento fúngico utilizando casca de coco como material estruturante. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2002, Salvador. **Anais...** Salvador: CETEM, 2002.

BELLER, H. R.; GRBIC-GALIC, D.; REINHARD, M. Microbial degradation of toluene under sulfate-reducing conditions and the influence of iron on the process. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 3, p. 786-793, mar. 1992.

BENTO, F.M. *et al.* Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 9, p. 1049-1055, jun., 2005.

BONA, C. *et al.* Efeito do solo contaminado com óleo diesel na estrutura da raiz e da folha de plântulas de *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae) e *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae). **Acta Bot. Bras.**, Feira de Santana: v. 25, n. 2, p. 277-285, jun., 2011.

BOOPATHY, R.; Factors limiting bioremediation Technologies. **Bioresourse Technology**, Thibodaux, LA: v. 74, p.63-67, 2000.

BORGES, F. A. T. **Biodegradação de fluidos base e de cascalhos oriundos da perfuração de poços de petróleo e gás**. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, Vitória, 2006.

BOSCOV, M.E. G. **Geotecnia Ambiental**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008.

BRAGATO, M. **Tratamento “in situ” de solo contaminado por derivado de petróleo e metais**. 194f. Tese (Doutorado) - Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BRASIL. Constituição (1988). Emenda constitucional nº 9, de 9 de novembro de 1995. **Lex**: legislação federal e marginália, São Paulo, v. 59, p. 1966, out./dez. 1995.

BRASIL. Lei nº 6.766 de 19 de dezembro de 1979. Dispõe sobre o Parcelamento do Solo Urbano e dá outras Providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 dez. 1979. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L6766.htm>. Acesso em: 10 ago. 2015.

BRASIL. Lei nº 6.938 de 31 de agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 31 ago. 1981. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L6938.htm>. Acesso em: 11 ago. 2015.

BRASIL. Lei nº 9.605 de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 fev. 1998. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9605.htm>. Acesso em: 10 ago. 2015.

CAMARGO, J. A. *et al*. Viabilidade da aplicação do método respirométrico de Bartha para a análise da atividade microbiana de solos sob aplicação de vinhaça. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal: v. 6, n. 2, p. 264-271, 2009.

CARVALHO, S.T. M. **Propriedades térmicas do painel aglomerado de bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2012. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2012.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo. **Meio Ambiente 2009**. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 07 jun. 2015.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Legislação brasileira 2100**. Projeto CETESB – GTZ. São Paulo: CETESB, 1999. Disponível em: <http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2013/11/2100.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2015.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Manual de gerenciamento de áreas contaminadas**. São Paulo: CETESB, 2001. Disponível em: <http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/manual-de-gerenciamento/>. Acesso em: 05 jun. 2015.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2006.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Texto explicativo: Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo**, Diretoria de Controle e Licenciamento Ambiental do Estado de São Paulo, São Paulo, 2012.

CHAERUN, S. K. *et al.* Bioremediation of coastal areas 5 years after Nakhodka oil spill in the Sea of Japan: isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria. **Environ. Int.**, Elmsford: v.30, p.911-922, 2004.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 273 de 29 de novembro de 2000. Estabelece diretrizes para o licenciamento ambiental de postos de combustíveis e serviços e dispõe sobre a prevenção e controle da poluição. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 jan. 2001. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=271>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 319 de 04 de dezembro de 2002. Dá nova redação a dispositivos da Resolução CONAMA no 273/00, de 29 de novembro de 2000, que dispõe sobre a prevenção e controle da poluição em postos de combustíveis e serviços. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 dez. 2002. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=341>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de

substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 dez. 2009. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acesso em: 13 ago. 2015

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 460 de 30 de dezembro de 2013. Altera a Resolução CONAMA nº 420, de 28 de dezembro de 2009, que dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 31 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=702>>. Acesso em: 13 ago. 2015.

COPAM. Conselho Estadual de Política Ambiental. Deliberação Normativa nº 50 de 28 de novembro de 2001. Estabelece os procedimentos para o licenciamento ambiental de postos revendedores, postos de abastecimento, instalações de sistemas retalhistas e postos flutuantes de combustíveis e dá outras providências. **Diário [do] Executivo de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, 15 dez. 2001. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=133>>. Acesso em: 08 dez. 2015.

COPAM. Conselho Estadual de Política Ambiental. Deliberação Normativa nº 108 de 24 de maio de 2007. Altera a Deliberação Normativa Copam 50/01, que estabelece os procedimentos para o licenciamento ambiental de postos revendedores, postos de abastecimento, instalações de sistemas retalhistas e postos flutuantes de combustíveis e dá outras providências. **Diário [do] Executivo de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, 26 mai. 2007. Disponível em: < <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=6850>>. Acesso em: 08 dez. 2015.

COPAM. Conselho Estadual de Política Ambiental. Deliberação Normativa nº 116 de 27 de janeiro de 2008. Dispõe sobre a declaração de informações relativas à identificação de áreas suspeitas de contaminação e contaminadas por substâncias químicas no Estado de Minas Gerais. **Diário [do] Executivo de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, 28 jun. 2008. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=7974>>. Acesso em: 14 ago. 2015.

COPAM/CERH. Conselho Estadual de Política Ambiental e Conselho Estadual de Recursos Hídricos. Deliberação Normativa Conjunta nº 02 de 08 de setembro de 2010. Institui o Programa Estadual de Gestão de Áreas Contaminadas, que estabelece as diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas. **Diário [do] Executivo de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, 16 set. 2010. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=14670>>. Acesso em: 14 ago. 2015.

COSTA, C. C. **Avaliação da biodegradabilidade do petróleo utilizando micro-organismos isolados do estuário do rio Potengui (RN)**. 2010. Tese (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, 2010.

DANTAS FILHO, F. P. **Contribuição ao estudo para aplicação do pó de serra da madeira em elementos de alvenaria de concreto não estrutural**. 2004. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2004.

DEON, M. C. Biorremediação de solos contaminados com resíduos oleosos através de bioaumentação e atenuação natural. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina; v. 33, n. 1, p. 73-82, jan./jun. 2012.

DÍAZ, C. G. *et al.* PAH removal of high molecular weight by characterized bacterial strains from different organic sources. **International Biodeterioration & Biodegradation**, México: v. 85, p. 311-322, nov. 2013.

DIPLOCK, E.E. *et al.* Predicting bioremediation of hydrocarbons: Laboratory to field scale. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 6, p. 1831-1840, 2009.

EC. European Commission. Incineration. 2006. Disponível em: http://ec.europa.eu/environment/archives/youth/waste/waste_incineration_en.html. Acesso em: 20 out. 2015.

EMBRAPA. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropocuéria. **Manual de métodos de análise de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropocuéria. **Produção de sementes sadias de feijão comum em várzeas tropicais**. Rio de Janeiro: Embrapa Arroz e Feijão, Sistemas de Produção, n. 4, 2011.

EPA. Environmental Protection Agency. **Best Management Practices (BMPs) for soils treatment Technologies, Solid Waste and Emergency Response**. EPA530-R-97-007. U.S., 1997.

EPA. Environmental Protection Agency. **Bioremediation in the field**. U.S., 2008. Disponível em: <http://www.epa.gov/>. Acesso em: 28 jul. 2015.

EPA. Environmental Protection Agency. **How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers**. Chapter V – *Landfarming*, EPA 510-R-04-002, U.S., 2004.

FARAH, M. A. **Petróleo e seus derivados: definição, constituição, aplicações, especificações, características de qualidade**. LTC, Rio de Janeiro, 2012.

FEAM, Fundação Estadual de Meio Ambiente. **Inventário de áreas contaminadas do Estado de Minas Gerais – 2013**. Fundação Estadual de Meio Ambiente. Belo Horizonte: FEAM, 2013.

FINE, P.; GRABER, E. R.; YARON, B. Soil interactions with petroleum hydrocarbons: Abiotic processes. **Soil Technology**, Israel: v.10, n., p. 133–153, fev. 1997.
FISPQ. Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico. Óleo Diesel S500. **Petrobrás Distribuidora S.A.**, v. 2, n. BR0109, abr., 2014.

FIORAVANTI, K. L. **Seleção de consórcios microbianos de sedimentos de manguezais com potencial de degradação de hidrocarbonetos de petróleo**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2013.

FIGUEIREDO, M.; SANTOS, E. P.; SCHMACHTENBERG, N. Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. **Eletronica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.18, n.1, p. 79-91, abr. 2014.

FLORES, A. V. *et al.* Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 7, n. 2, jul./dez. 2004.

FRANCO, M. G. **Emissões atmosféricas oriundas da biorremediação de solo do Complexo Petroquímico do Estado do Rio de Janeiro (COMPERJ) experimentalmente contaminado por diesel**. 2013. Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

FRICK, C. M.; FARRELL, R. E.; GERMIDA, J. J. **Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites**. Department of Soil Science University of Saskatchewan Saskatoon, SK Canada, dez. 1999.

GRACIANO, V. A. *et al.* Remediação de um solo contaminado com petróleo por oxidação química. **Brasileira de Ciência do Solo**, v. 6, n. 5, p. 1656 -1660, out./nov. 2012.

GRIGATTI, M. *et al.* A standardized method for the determination of the intrinsic carbon and nitrogen mineralization capacity of natural organic matter sources. **Soil Biology & Biochemistry**, v.39, p.1493–1503, fev. 2007

GWRTAC. Groundwater Remediation Technologies Analysis Center. **Phytoremediation**. Pittsburgh, PA., out. 1997. Disponível em: <https://clu-in.org/download/toolkit/phyto_e.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2015.

HAIDER, K. Microbe-soil-organic contaminant interactions. In: ADRIANO, D.C. *et al.* **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: p.33- 51, 1999.

HERNÁNDEZ, M. R. T. *et al.* Biodegradation of heavy crude oil Maya using spent compost and sugar cane bagasse wastes. **Chemosphere**, México: v 68, n. 5, p. 848–855, 2007.

HUTCHINSON, S.L.; BANKS, M.K.; SCHWAB, A.P. Phytoremediation of age petroleum sludge: effects of inorganic fertilizer. **Journal of Environmental Quality**, Manhattan, USA: v. 30, n. 2, p. 395-403, 2001.

ITOPF. International Tanker Owners Pollution Federation. Oil tanker spill statistics 2014. Disponível em: <http://www.itopf.com/knowledge-resources/data-statistics/statistics/>. Acesso em: 03 jul. 2015.

JACQUES, R. J. S. **Biorremediação de antraceno, fenantreno e pireno em um argissolo**. 2005. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2005.

JACQUES, 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.

JARAMILLO, I. R. **Fundamentos teóricos-práticos de temas selectos de la ciência del suelo**. Universidade Autónoma Metropolitana, México, 1996.

JENKINS, M.B.; LION, L.W. Mobile bacteria and transport of polynuclear aromatic hydrocarbons in porous-media. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 10, p. 3306–3313, out. 1993.

JUNIOR, E. P. Remediação de áreas contaminadas por técnicas de aquecimento do solo e água subterrânea. **Revista Meio Ambiente Industrial**, São Paulo: n.63, set./out., 2006.

KAAKINEN, J. *et al.* Studies on the effects of certain soil properties on the biodegradation of oils determined by manometric respirometric method. **Journal of Automated Methods & Management in Chemistry**, v. 2007, p. 7, 2007.

KARHU M. J. *et al.* Biodegradation of light fuel oils in water and soil as determined by the manometric respirometric method. **Water Air Soil Pollution**, v. 197, n. 1, p. 3-14, 2009.

KHAN, F. I.; HUSAIN, T.; HEJAZI, R. An overview and analysis of site remediation technologies. **Journal of Environmental Management**, Canada: v. 71, p. 95–12, fev. 2004.

KRIIPSALU, M. *et al.* Bio-treatment of oily sludge: The contribution of amendment material to the content of target contaminants, and the biodegradation dynamics. **Journal of Hazardous Materials**, n. 148, p.616–622, 2007.

KUOKKANEN, T.; VALIMAKI, I.; PERAMAKI, P. Biodegradability of forestry hydraulic oils determined by the respirometric BODx OxiTop method. **Finnish Chemical Congress and Exhibition**, Helsinki, Finland: p. 13-15, 2001.

LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. F. **Ecologia microbiana do solo**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, dez. 2007.

LO, K. V.; LAU, A. K.; LIAO, P.H. Composting of separated solid swine wastes. **J. Agric. Engr. Res.**, v. 54, n. 4, 307-317, 1993.

LOPES, J. A. **Estudo em Escala Piloto de Parâmetros de Monitoramento e Operação de Biopilhas no Tratamento de Solos Contaminados por Hidrocarbonetos de Petróleo**. 2012. Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

MARANHÃO, D.; TEIXEIRA, C. A.; TEIXEIRA, T. M. A. **Procedimentos de investigação e avaliação da contaminação em postos de combustíveis, utilizando metodologias em postos de combustíveis, utilizando metodologias de análise de risco: Aplicação da ACBR em estudo de caso na RMS**. 2007. Monografia (Curso de Especialização em Gerenciamento de Tecnologias Ambientais e Tecnologias) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2007.

MARIA, D. M. B. *et al.* Determinação da densidade e umidade de diferentes tipos de serragem visando fins tecnológicos. In: II Congresso florestal no serrado e IV Simpósio sobre ecaliptocultura. **Anais...**Goiás, 2015.

MARIANI, P. D. S. C. **Estudo da biodegradação da blenda de Poli (e caprolactona) e amido modificado em meios sólido e líquido.** 2005. 77f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2005.

MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel.** 2006. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, 2006.

MAZZUCO, L. M. **Atenuação natural de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados com óleo diesel.** 2004. Dissertação (Pós-graduação em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MELLO, G. S. L. *et al.* Viabilidade da aplicação do método respirométrico de Bartha para determinação da biodegradação de poluentes ou resíduos em latossolos. **Artigo Técnico**, v. 12, n. 1, p. 71-78, jan./mar., 2007.

MELOPE, M. B.; GRIWE, I. C.; PEGE, E. R. Contributions by fungi and bacteria to aggregate stability of cultivated soils. **J Soil Sci**, v. 38, p. 71-78, 1987.

MENEGHETTI, L. R. R. **Biorremediação na descontaminação de solo residual de basalto contaminado com óleo diesel e biodiesel.** 2007. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Passo Fundo, RS, 2007.

MINAS GERAIS. Decreto n.º 45.825 de 20 de dezembro de 2011. Contém o Estatuto da Fundação Estadual do Meio Ambiente - FEAM. **Diário [do] Executivo de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, 20 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.feam.br/images/stories/institucional/decreto%2045825.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2015.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/residuos-perigosos/areas-contaminadas>>. Acesso em: 06 ago. 2015.

MONTEIRO, J. F. A. **Avaliação do potencial de atenuação natural do passivo ambiental das bacias de lamas oleosas da RESIM - Águas de St. André - Caso de estudo.** 2014.

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Nova Lisboa, Lisboa, Portugal, 2014.

MORAIS, E. B. **Biodegradação de resíduos oleosos provenientes de refinaria de petróleo através do sistema de biopilhas**. 2005. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2005.

MUELLER, J. G.; CERNIGLIA, C. E.; PRITCHARD, P. H. **Bioremediation of Environments Contaminated by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons**. In *Bioremediation: Principles and Applications*. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. 125-194 p.

MUTECA, F. L. L. **Biorremediação de solo contaminado com óleo cru proveniente de Angola**. 2012. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

NETO, P. F. S.; RIZZO, A. C. L.; SANTOS, R. L. C. Estudo da aplicação de material estruturante na biorremediação de solos contaminados por petróleo em biorreator. In: *Comunicação Técnica a XIII Jornada de Iniciação Científica*. **Anais...** Rio de Janeiro: CETEM, 2005.

NOLLA, A. et al. Atributos e estratégias de utilização da torta de filtro como fertilizante para a cana-de-açúcar. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.4, n. especial, p.121-135, 2015.

NRC. National Research Council. **In Situ Bioremediation: When Does It Work?** Washington, DC: National Academy Press, 1993.

NRC. National Research Council. **Oil in the sea: inputs, fates and effects**. In: *input of oil to the Sea*. Washington, DC: National Academy Press, v. 7, 2003. 197-199p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD 301f: Guidelines for the testing of chemicals. Section 3: Degradation and accumulation, Test 301: Ready biodegradability**. Paris: OECD, 1992.

ORTEGA-CALVO, J.J., LAHLOU, M., SAIZ-JIMENEZ, C. Effect of organic matter and clays on the biodegradation of phenanthrene in soils. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.40, p.101-106, 1997.

PANDEY, A. *et al.* Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80, 2000.

PEDROTI, G. I. **Ensaio de biodegradabilidade aeróbia de hidrocarbonetos derivados do petróleo em solos**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2007.

PEDROZO, M. F. M. *et al.* Ecotoxicologia e avaliação de risco do petróleo. **Cadernos de referência ambiental**, Centro de recursos ambientais, Salvador, BH: v. 12, p. 23-57, 2002.

PEREIRA, C. A.; MARQUES, M. R.; PÉREZ, D. V. Avaliação da potencialidade de processos pseudofenton para remediação de solos contaminados por diesel. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2200-2202, 2009.

PLATEN, H.; WIRTZ, A. **Measurement of the respiration activity of soils using the OxiTop® Control measuring system**: Basic principles and process characteristic quantities. 1. ed. Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH & Co, 1999.

POREMBA, K., *et al.* Marine biosurfactants III. Toxicity testing with marine microorganisms and comparison with synthetic surfactants. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 46, p. 210–216, 1993.

PROVIDENTI, M.A.; LEE H.; TREVORS, J.T. Selected factors limiting the microbial degradation of recalcitrant compounds. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 12, p. 379–395, 1993.

PÜTTSEPP, Ü.; ORUPÖLD, K. Fine-root biodegradation measurements in controlled OxiTop system. In: International Symposium of Root Research and Applications. **Anais...** Vienna, Austria: RootRAP, 2009.

RAIMUNDO, R. S.; MACEDO, R. C.; RIZZO, A. C. L. Tratamento de solo contaminado por petróleo empregando material estruturante. In: 44º Congresso Brasileiro de Química. Associação Brasileira de Química (ABQ). **Anais...** Fortaleza, Ceará: 2004.

REVISTA ABAS. Nova fase para gestão de solos contaminados. São Paulo: fev./mar., n.14, 2010. Bimestral. Reportagem de Daniela Mattiaso. Disponível em: <<http://www.abas.org/imagens/revista14.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2015.

REVISTA PETROBRAS. Diesel S500 – o ar está mais leve. Rio de Janeiro: mai./jun., n. 105, ano 11, 2005.

RHYKERD, R.L. *et al.* Impact of bulking agents, forced aeration, and tillage on remediation of oil-contaminated soil. **Bioresource Technology** Soil and Crop Sciences Department, Texas A&M University, College Station, USA: v. 67, n. 1999, p. 279-285, 1999.

RIZZO, A. C. L. **Desenvolvimento de Biorreator Não Convencional para o Tratamento de Solos Contaminados por Petróleo**. 2008. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

ROBERTS, E. R. **Remediation of petroleum contaminated soils**: biological, physical, and chemical processes. Boca Raton: CRS-Press, 1998. 576 p.

ROCHA, D. A.; AZEVEDO, B. S. M.; RIZZO, A. C. L. Avaliação do crescimento da população microbiana no tratamento de um solo contaminado bioestimulado e com material estruturante. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Associação Brasileira de Química (ABQ). **Anais...** Águas de Lindóia, São Paulo: 2006.

RODELLA, A. A.; SABOYA, L. V. Calibration for conductimetric determination of carbon dioxide. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Química. **Soil Biology and Biochemistry**, Piracicaba, SP: v. 31, p. 2059-2060, 1999.

RODRIGUES, L. D. **A cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de biocombustíveis: Impactos ambientais e o zoneamento agroecológico como ferramenta para mitigação**. 2010. Monografia (Especialista em Análise Ambiental) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2010.

RODRIGUES, N. M. **Avaliação do efeito da lavagem com surfactante na biodegradação de um solo contaminado por óleo diesel**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ROSÁRIO, L. M. **Briquetagem visando utilização de resíduos de uma serraria**. Monografia - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, Espírito Santo, 2011.

SAHM, H.; **Biological Fundamentals**. In: Biotechnology: a multivolume comprehensive treatise. 2 ed revisada, Weinheim: VCH, v.1, p. 50-159, 1993.

SANTOS, L. T. S. O. **Análise da qualidade da água superficial do Rio Subaé-Bahia e influência do uso e ocupação do solo em seu entorno**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual da Feira de Santana, Feira de Santana, BA, 2013.

SANTOS, R. M. **Avaliação da adição do pó da casca de coco verde, como material estruturante, na biorremediação de solo contaminado por petróleo**. 2007. Tese (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

SANTOS, R. M. *et al.* Remediação de Solo Contaminado Por Petróleo Em Biopilhas – Escala Piloto. In: IV Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Petróleo e Gás. **Anais...**Campinas, São Paulo: PDPETRO, 2007.

SCHROEDER, R. H. A.; RODRÍGUEZ, V. I. D.; CARRILLO, L. V. Evaluation of microbial respiration and ecotoxicity in contaminated soils representative of the petroleumproducing region of southeastern Mexico. **Terra Latinoamericana**, México: v. 20, n. 3, p. 253-265, jul./set., 2002.

SEABRA, P. N. C. **Aplicação de biopilhas na biorremediação de solos argilosos contaminados com petróleo**. 2005. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

SELBERG, A. *et al.* **Biodegradation and Leaching of Surfactants During Surfactant-Amended Bioremediation of Oil-Polluted Soil**. In: Applied Bioremediation - Active and Passive Approaches, Chapter 6. 2013.

SHAHSAVARI, E.; ADETUTU, E. M.; ANDERSON, P. A.; BALL, A. S. Plant residues — A low cost, effective bioremediation treatment for petrogenic hydrocarbon-contaminated soil. **Science of the Total Environment**, v. 443, p. 766–774, 2013.

SILVA, J. M. C. *et al.* Impactos ambientais da exploração e produção de petróleo na Bacia de Campos, RJ. In: IV Encontro Nacional Da Anppas. **Anais...**Brasília, DF: 2008.

SMITH, D. L.; HAYWARD, W. M. Decommissioning of a resource conservation and recovery act treatment, storage, and disposal facility: a case study of interim stabilization of the 216-A-29 ditch at Hanford Site. **Waste Management**, v. 13, p. 109-116, 1993.

SOUZA, B. M. **Avaliação de processos oxidativos avançados acoplados com carvão ativado granulado com biofilme para reuso de efluentes de refinaria de petróleo.** 2010. 160f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SOUZA, E. D. *et al.* Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. **Bras. Ci. Solo**, v. 34, p. 79-88, 2010.

SPILBORGHS, M. C. F. **Biorremediação de aquífero contaminado com hidrocarboneto.** 1997. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

TADROS, T.F. **Applied surfactants:** principles and applications. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.: Weinheim, 2005.

THOMAS, J.M. *et al.* **Bioremediation.** In: Encyclopedia of Microbiology. San Diego: Academic Press, 1992.

TRABULSI, L. R. **Microbiologia.** Livraria Atheneu, 2º ed., 386p., 1989.

VÄHÄOJA, P. *et al.* Studies of biodegradability of certain oils in forest soil as determined by the respirometric BOD OxiTop method. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 85, n. 14, 2005.

VASUDEVAN, N.; RAJARAM, P. Bioremediation of oil sludge contaminated soil. **Environ. Int.**, v. 26, p. 409–411, 2001.

VEEKEN, A. *et al.* Standardized determination and classification of compost organic matter stability. In: II BOKU Waste Conference, 2003, Vienna, Austria. **Anais...**Viena: 2003.

VENDRAMEL, M., DEZOTTI, G. L., SANT'ANNA, Jr. Tratamento de efluente de refinaria de petróleo em bio-reator aeróbio de leito fixo submerso. In: XV Congresso Brasileiro de Engenharia de Química, 2004, Curitiba. **Anais...**Curitiba: CBEQ, 2004.

VIDALI, M. Bioremediation. An overview. **Pure Appl. Chem.**, Pádova, Itália: v. 73, n. 7, p. 1163–1172, 2001.

VON WEDEL, R. T. *et al.* Bacterial biodegradation of petroleum hydrocarbons in ground water: in situ augmented bioreclamation with enrichment isolates in California. **Water Sci Technol**, v. 20, p. 501-504, 1988.

WILKE, B. M.; PAETZ, A. **Soil sampling and storage**: Storage of samples. In: Manual for Soil Analysis-monitoring and Assessing Soil Bioremediation. Berlim: Springer-Verlag, 2005. 41-44 p.

WTW, **Determination of soil respiration**. Disponível em: <www.wtw.com>. Acesso em: 21 mai. 2015.