

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

**Monitoramento da Atenuação Natural de Solos
Artificialmente Contaminados com Óleo Diesel B0 e
B4**

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA

Luiz Inácio Lula da Silva

José Alencar Gomes da Silva

Vice-Presidente

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Sérgio Machado Rezende

Ministro da Ciência e Tecnologia

Luiz Antonio Rodrigues Elias

Secretário-Executivo

José Edil Benedito

Subsecretário de Coordenação das Unidades de Pesquisa

CETEM – CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL

José Farias de Oliveira

Diretor

Carlos César Peiter

Coordenador de Apoio Tecnológico à Micro e Pequena Empresa

Arnaldo Alcover Neto

Coordenador de Análises Minerais

Silvia Cristina Alves França

Coordenadora de Processos Minerais

Cosme Antônio de Moraes Regly

Coordenador de Administração

Ronaldo Luiz Correa dos Santos

Coordenador de Processos Metalúrgicos e Ambientais

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Coordenadora de Planejamento, Acompanhamento e Avaliação

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

ISSN 0103-7374

ISBN 978-85-61121-69-3

STA-58

Monitoramento da Atenuação Natural de Solos Artificialmente Contaminados com Óleo Diesel B0 e B4

Claudia Affonso Barros

Química, M.Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e
Bioquímicos, EQ / UFRJ

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Engenheira Química, D.Sc., Coordenadora de
Planejamento, Acompanhamento e Avaliação,
CETEM/MCT

Claudia Duarte da Cunha

Engenheira Química, D.Sc., Pesquisadora do
CETEM/MCT

Eliana Flávia Camporese Sérvulo

Engenheira Química, D.Sc., Professora Adjunta da
Escola de Química da UFRJ

CETEM/MCT

2010

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

Luis Gonzaga Santos Sobral

Editor

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Subeditora

CONSELHO EDITORIAL

Marisa Bezerra de M. Monte (CETEM), Paulo Sergio M. Soares (CETEM), Saulo Rodrigues P. Filho (CETEM), Silvia Gonçalves Egler (CETEM), Vicente Paulo de Souza (CETEM), Antonio Carlos Augusto da Costa (UERJ), Fátima Maria Zanon Zotin (UERJ), Jorge Rubio (UFRGS), José Ribeiro Aires (CENPES), Luis Enrique Sánches (EPUSP), Virginia Sampaio Ciminelli (UFMG).

A Série Tecnologia Ambiental divulga trabalhos relacionados ao setor minerometalúrgico, nas áreas de tratamento e recuperação ambiental, que tenham sido desenvolvidos, ao menos em parte, no CETEM.

O conteúdo desse trabalho é de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Thatyana Pimentel Rodrigo de Freitas

Coordenação Editorial

Vera Lúcia Espírito Santo Souza

Programação Visual

Cláudia Affonso Barros

Editoração Eletrônica

Andreza Milheiro da Silva

Revisão

Barros, Cláudia Affonso
Monitoramento da atenuação natural de solos artificialmente
contaminados com óleo diesel B0 e B4 / Cláudia Affonso de
Barros et al. __ Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010.

68p.:il. (Série Tecnologia Ambiental, 58)

1. Óleo diesel. 2. Solo. I. Centro de Tecnologia Mineral.
II. Rizzo, Andrea C. de Lima. III. Cunha, Claudia Duarte. IV.
Sérvulo, Eliana F. Camporese. V. Título. VI. Série.

CDD – 661.81

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
1.1 Solos	12
1.2. O petróleo e seu derivado: diesel	14
1.3 Processos biológicos aplicados na remediação de solos contaminados com petróleo e derivados	20
2 OBJETIVO	23
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	24
3.1 Solo	24
3.2 Óleo diesel	26
3.3 Detalhamento dos experimentos preliminares	27
3.4 Análises quantitativas	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
4.1 Caracterização do solo	35
4.2 Efeito do biodiesel na biodegradação de óleo diesel em solo franco-argiloso	38
4.3 Avaliação da toxicidade dos solos contaminados após atenuação natural	54
5 CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo monitorar o processo de atenuação natural (AN) de um solo franco-argiloso, característico do Estado do Rio de Janeiro, artificialmente contaminado com 10% (m/m) de óleo diesel puro (B0) ou óleo diesel comercial (B4). A prévia caracterização físico-química, química e microbiológica do solo virgem, revelou a presença de 10^1 NMP/ g solo de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos (hidrocarbonoclasticas (BHC)). O solo não tinha histórico de contaminação por hidrocarbonetos (HC), era ácido e apresentava baixa fertilidade. Os ensaios de AN foram realizados em sistemas reacionais, confeccionados em PVC, com 20 cm de diâmetro e 60 cm de comprimento, contendo 18 kg de solo, visando monitorar a degradação dos HC em diferentes profundidades (20, 40 e 60 cm), por 20, 40 e 60 dias. Os resultados obtidos indicaram que, mesmo as características do solo não sendo ideais para a atividade microbiana, a degradação do diesel B0 foi de 14% em 60 dias. Na presença de biodiesel, ou seja, solo contaminado com B4, não foi possível definir a degradação de HC, embora a população de BHC tenha se mantido ativa. A análise dos solos oriundos da NA, mediante ensaios ecotoxicológicos para sementes de *Lycopersicon esculentum* (tomate), apontou a presença de compostos residuais tóxicos, sendo o solo contaminado com B4 mais tóxico do que o contaminado com B0.

Palavras-chave

Monitoramento, atenuação natural, solo contaminado, óleo diesel.

ABSTRACT

This study aimed at monitoring the natural attenuation (NA) process of a sandy-clay, characteristic from Rio de Janeiro, artificially contaminated with 10% (w/w) of pure diesel oil (B0), or commercial diesel oil (B4). The previous physical-chemical, chemical and microbiological analysis of the virgin soil revealed the presence of 10^1 MPN / g of hydrocarbon degrading bacteria (hydrocarbonoclastic (BHC)). There was no contamination history by hydrocarbons (HC) in the soil. It was acid and there was low fertility in it. The NA tests were performed on PVC reaction systems, 20 cm in diameter and 60 cm long, containing 18 kg of soil, for monitoring the HC degradation at different depths (20, 40, 60 cm) for 20, 40 and 60 days. The results indicated that even the characteristics of the soil were not ideal for microbial activity, the diesel B0 degradation was 14% in 60 days. In the presence of biodiesel, which means soil contaminated with B4, it was not possible to define the degradation of HC, although the population of BHC has remained active. The analysis of soil from the NA, via ecotoxicological tests for seeds of *Lycopersicon esculentum* (tomato), showed the presence of residual toxic compounds; the B4-contaminated soil being more toxic than the B0-contaminated one.

Keywords

Monitoring, natural attenuation, contaminated soil, diesel oil.

1 | INTRODUÇÃO

Os problemas de poluição e degradação ambiental agravaram-se com o desenvolvimento dos centros urbanos e, sobretudo, a partir da Revolução Industrial, por conta do aumento da geração de resíduos sólidos, efluentes líquidos e compostos voláteis (LEITE, 1995; DIAS, 2000).

Poluentes ambientais são definidos por Hutzinger e Verkamp (1981) e Brasil (1981) como compostos químicos de origem sintética ou natural, que são liberados no ambiente, através de atividades antropogênicas, causando efeitos indesejáveis aos seres humanos podendo, ainda, comprometer a biota, tornando inviável a utilização dos recursos para fins comerciais, industriais e recreativos. Na maior parte das vezes, o efeito indesejável é um efeito tóxico, isto é, um efeito prejudicial à vida (DIAS, 2000). Têm importância não só nos aspectos ambientais e de saúde pública, mas também, e principalmente, na ocorrência de episódios críticos de poluição de âmbito mundial, tais como a questão das áreas contaminadas (GÜNTHER, 2005). Como consequência, é crescente a preocupação dos especialistas e das autoridades, o que tem motivado a busca por medidas preventivas da contaminação do ambiente ou remediar as áreas já afetadas.

A intensa movimentação de óleo cru e derivados pode, ocasionalmente, causar a poluição tanto de solos quanto de cursos ou corpos de água. Por exemplo, 40 milhões de litros de óleo e derivados, aproximadamente, foram, acidentalmente, lançados no meio ambiente entre 1975 e 2004, impactando solos, rios, manguezais e praias, no Brasil (BAPTISTA, 2007).

No caso dos solos, o impacto por hidrocarbonetos, que pode afetar, inclusive, os recursos hídricos subterrâneos, depende

não só do tipo de contaminante, como também do tipo de solo envolvido (i.e., argiloso, siltoso ou arenoso) (BAPTISTA, 2007).

A crescente contaminação de solos e águas subterrâneas por hidrocarbonetos derivados de petróleo (óleo diesel), tem sido destaque nas últimas décadas, principalmente em função da frequência com que os episódios de contaminação são verificados e da gravidade com que o meio ambiente é afetado. Embora os grandes vazamentos acidentais de petróleo sejam preocupantes e ocupem grande espaço na mídia, estima-se que a principal fonte de contaminação por óleo diesel seja devido a pequenos vazamentos de combustível ocorridos em reservatórios, a falhas mecânicas ou humanas nas operações de descarga e, também, a acidentes durante o transporte desse produto químico, visto que o modal rodoviário tem sido o mais empregado (BAPTISTA, 2007).

Em virtude de grande parte da frota mundial de veículos automotores utilizar o óleo diesel como combustível, existem vários postos de serviço, terminais de distribuição e refinarias, espalhados por todo o território nacional. Nesses casos, além da poluição do solo e das águas subterrâneas, existe, ainda, a preocupação da contaminação atmosférica e do risco de explosões e incêndios. Os principais grupos de contaminantes encontrados nas áreas contaminadas foram: solventes aromáticos, combustíveis líquidos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), metais e solventes halogenados. Entre os combustíveis líquidos, destacam-se os derivados de petróleo: óleo diesel e gasolina (CETESB, 2010).

Nas últimas décadas, por causa da escassez do petróleo e do aumento crescente da concentração de monóxido de carbono no ar atmosférico nos grandes centros urbanos, alguns países,

entre eles o Brasil, passaram a buscar fontes alternativas de combustíveis, como o etanol e o biodiesel. Segundo a norma da Agência Nacional de Petróleo (ANP), desde julho de 2009, o percentual de biodiesel adicionado ao diesel passou de 3% para 4%. A adição de biodiesel ao diesel pode diminuir os impactos ambientais negativos decorrentes de vazamentos, considerando que o aditivo por ser de origem vegetal ou animal pode favorecer a degradação desse combustível quando da ação microbiana (MENEGETTI, 2007).

Os hidrocarbonetos constituintes do óleo diesel apresentam baixa densidade e, em sua grande maioria, não são solúveis em água ou, pelo menos, quando em seu estado original, não se verifica a sua solubilização em aquíferos. A forma como os hidrocarbonetos interagem com o fluxo freático, com os argilo-minerais e com a matéria orgânica (MO) presente no solo é complexa do ponto de vista físico e químico. Além disso, são susceptíveis de sofrer ações biológicas que resultam em alteração do comportamento do contaminante ao longo do tempo (MENEGETTI, 2007).

Atualmente, uma grande variedade de processos físico-químicos tem sido utilizada na remoção de hidrocarbonetos de petróleo e derivados. No entanto, a maioria dos processos utilizados para remediação de áreas contaminadas envolve, normalmente, longos períodos de tempo, espaço físico e custos elevados (MENEGETTI, 2007).

Dentre as tecnologias viáveis, tem-se a biorremediação, que é um processo que utiliza agentes biológicos, tais como microorganismos e plantas, para remover ou neutralizar contaminantes (CHAPELLE, 2000 *apud* MARTINS *et al.*, 2003).

Pelo processo de biorremediação, a degradação do poluente se dá pela ação dos micro-organismos presentes (atenuação natural) ou inoculados no solo contaminado (bioaumento), podendo ocorrer naturalmente ou sendo estimulada pela adição de nutrientes, tais como, nitrogênio, fósforo entre outros, e oxigênio, contribuindo para o desenvolvimento sustentável do meio ambiente. O processo de biodegradação é baseado na capacidade de populações microbianas de modificar ou decompor determinados poluentes, como os hidrocarbonetos de petróleo ou de seus derivados, utilizando-os como fonte de carbono e energia para suas funções vitais (DIAS, 2000; OLIVEIRA, 2008b).

1.1 | Solos

Os solos são corpos naturais com evolução a centenas de milhares de anos, que compõem a cobertura pedológica que reveste as áreas emersas da Terra. Por sua vez, a cobertura é constituída por uma camada de material resultante de inúmeras combinações de fatores (clima, organismos, tempo, relevo) e de processos (remoção, adição, transporte e transformação) que atuam sobre os materiais de origem (rochas, sedimentos, depósitos orgânicos), o que permite a variedade de solos encontrados (PEDRON *et al.*, 2004).

Segundo a Comissão das Comunidades Europeias (2002), o solo desempenha uma grande variedade de funções vitais de caráter ambiental, ecológico, social e econômico. São funções do solo: sustentação da vida e do habitat para pessoas, animais, plantas e outros organismos, manutenção do ciclo da água e dos nutrientes, proteção da água subterrânea, manutenção do patrimônio histórico, natural e cultural, conservação

das reservas minerais e de matérias-primas, produção de alimentos e manutenção da atividade sócio-econômica.

Portanto, a proteção do solo e a limitação dos processos de degradação deste recurso são, reconhecidamente, imprescindíveis para a sustentabilidade do desenvolvimento, sendo esta necessidade reconhecida internacionalmente (RODRIGUES e DUARTE, 2003).

O solo é um *habitat* de natureza heterogênea complexa e dinâmica, onde organismos com metabolismos díspares convivem lado a lado. Diversos fatores físicos e químicos atuam simultaneamente determinando as condições ambientais, devido à interação de diversos fatores de natureza química, física e biológica (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Por isso, pode-se estabelecer que o solo é formado por diferentes micro-habitats onde ocorrem relações de dependência essenciais para a sobrevivência das populações nele presentes, proporcionando, assim, condições ideais para a ampla biodiversidade presente em solos.

A poluição do solo ocorre pela introdução de elementos ou substâncias que possam afetar a atividade dos componentes bióticos desse ecossistema, e, por conseguinte, comprometer sua funcionalidade e sustentabilidade (BRAGA *et al.*, 2002). Portanto, a poluição do solo está relacionada à atividade antropogênica e é dependente da concentração de resíduos incorporados quer acidentalmente quer intencionalmente.

A introdução de contaminantes no solo pode resultar na perda de algumas ou de várias de suas funções e provocar, ainda, a contaminação da água subterrânea. A ocorrência de contaminantes no solo, originados por várias fontes, acima de certos níveis, provoca múltiplas consequências negativas para a ca-

deia alimentar, para a saúde pública e para os diversos ecossistemas e recursos naturais (RODRIGUES e DUARTE, 2003).

Um dos poluentes que merece destaque é o petróleo e seus derivados, pelo alto teor de contaminantes com drásticos efeitos no meio ambiente e na saúde.

De acordo com a legislação ambiental, certos padrões e indicadores de qualidade do solo devem ser respeitados para controle de um determinado ambiente (BRAGA *et al.*, 2002). Para as inúmeras áreas já degradadas, será necessário adotar formas de tratamento diferenciadas, dependendo do caso. Em particular, o tratamento dependerá do tipo de resíduo e das características da própria área.

As tecnologias disponíveis para o tratamento de resíduos em solos são diversas e, muitas vezes, precisam ser utilizadas em conjunto para que se possa enfrentar o problema da multi-contaminação por componentes tóxicos que não podem ser tratados de uma única forma. O tratamento desses resíduos pode incluir métodos químicos, físicos e biológicos (DIAS, 2000).

1.2. | O petróleo e seu derivado: diesel

Petróleo significa óleo da pedra, por ser encontrado, normalmente, impregnado em determinadas rochas porosas denominadas de arenito, dispostas em camadas geológicas sedimentares (FONSECA, 1992 *apud* OLIVEIRA, 2008b). Nele, o carbono e o hidrogênio estão presentes em grandes percentagens, o que comprova ser o petróleo formado principalmente por hidrocarbonetos. Entretanto, além de compostos orgânicos, o petróleo apresenta, também, outros elementos, considerados

impurezas, que podem aparecer em toda sua faixa de ebulição, mas tendem a convergir para as frações mais pesadas. As impurezas são: enxofre, o elemento mais abundantemente, encontrado no petróleo na concentração média de 0,65% (m/v); nitrogênio, 0,17% (m/v); oxigênio e metais que podem variar de 1 a 1.200 ppm, sendo a composição e as concentrações dependentes do reservatório de origem.

O petróleo é constituído por uma mistura complexa de centenas de hidrocarbonetos e a separação se dá, normalmente, em frações de acordo com a faixa de ebulição dos compostos. (THOMAS *et al.*, 2001)

O óleo diesel é a fração do petróleo composta, principalmente, por hidrocarbonetos alifáticos, com PE (ponto de ebulição) na faixa de 250 a 400°C. É desse combustível que depende a frota de parte dos motores à explosão (Ciclo Diesel), tais como ônibus, navios, locomotivas, tratores, entre outros, e também, tem uso na geração de calor (CARDOSO, 2004).

Contudo, a presença de uma mistura complexa de hidrocarbonetos, tais como compostos voláteis, alcanos (de baixa massa molecular) e naftalenos, o torna potencialmente fitotóxico. Crafts e Reiber (1948) *apud* Adam e Duncan (2002) verificaram que a fitotoxicidade aumenta na seguinte ordem: gasolina, querosene, diesel e óleos pesados. Isto indica que as frações leves do combustível causam menos danos às plantas do que as frações mais pesadas, por serem menos tóxicas ou por sua maior volatilidade, o que faz com que a sua perda no solo seja mais rápida. A fração volátil do diesel comercial corresponde de 5 a 10% (v/v) do total na maioria dos casos.

Existem tipos específicos de óleo diesel, cuja característica principal reside no teor de enxofre em sua composição. Os

cinco principais tipos são: óleo diesel tipo metropolitano, interior, marítimo e padrão (CARDOSO, 2004), como mostra a Tabela 1.2.

Tabela 1.2. Especificações de diferentes tipos de óleo diesel comercializados no Brasil.

Tipo	Teor de enxofre (%)	Disponibilidade / Utilização
Metropolitano	0,05 (ano 2005)	RJ, SP, MG, SE, BA, PR, RS e ES.
Metropolitano	0,005 (ano 2009)	PA, CE, PE, Cidades: Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Belo Horizonte, Salvador, Porto Alegre.
Interior	0,18	Distribuído nas demais cidades do país, possuindo corante vermelho.
Marítimo	$\cong 1,0$	Utilização em motores de embarcações marítimas
Padrão	-	Utilizado para testes em motores a diesel.

Fonte: ANP e Site Petrobras (2010).

A preocupação quanto à liberação do enxofre para a atmosfera é devida, principalmente, à chuva ácida, que provoca danos à saúde dos seres vivos, à agricultura, e às construções (prédios, dutos de superfície, e outras estruturas metálicas etc.). Por isso, a importância de ser feita a redução de enxofre no óleo diesel, principalmente no Brasil, onde há consumo de grandes volumes desse combustível, em função de grande parte destinada ao transporte estar concentrado em rodovias.

Nos dias atuais, a Petrobras já disponibiliza o diesel S50 (0,005% de enxofre) para as frotas de ônibus urbanos de algumas cidades brasileiras (Tabela 1.2), o que representa uma redução de dez vezes na emissão de material particulado para o meio ambiente, em relação ao diesel S500 (0,05% de enxofre). A distribuição atende ao cronograma estabelecido pela Petrobras, Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores (ANFAVEA), Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), Instituto Brasileiro de meio Ambiente (IBAMA), Ministério do Meio Ambiente (MMA), Agência Nacional do petróleo (ANP), e Instituto do Meio Ambiente (IMA) junto ao Ministério Público Federal, definido sob orientação do Ministério do Meio Ambiente (site: Diário do Comércio, 2010).

1.2.1 | Combustível diesel com adição de biodiesel

O biodiesel é um combustível produzido por transesterificação de óleos vegetais (óleo de soja, caroço de algodão, palma, amendoim, colza/canola, girassol, açafrão, coco etc.), gorduras animais (usualmente sebo), ou óleos de descarte (óleos usados em frituras) com um álcool. A escolha da matéria-prima para a produção de biodiesel depende, sobretudo, dos fatores geográficos e climáticos onde será feita a sua produção.

- O biodiesel é totalmente compatível com o diesel de petróleo em praticamente todas as suas propriedades, principalmente no número de cetano (indicativo adimensional da qualidade de ignição de um combustível diesel), o que permite a substituição, total ou parcial, do diesel originado do petróleo em diferentes equipamentos (NEWMAN, 1993). Comparativamente ao combustível fóssil, o biodiesel ainda

apresenta várias vantagens adicionais, como: É derivado de matérias-primas renováveis de ocorrência como soja, girassol, canola, mamona, milho etc., reduzindo, assim, a dependência sobre os derivados de petróleo e preservando as suas últimas reservas;

- É biodegradável, ou seja, o biodiesel, ou metil ésteres de ácidos graxos, são compostos de baixa complexidade estrutural, compostos, predominantemente, de 8 diferentes ácidos graxos (C16-18), incluindo oleato, palmitato, estearato, linoleato, mirístico, laureato e linolenato;
- Gera redução nas principais emissões dos gases de exaustão (com exceção de óxidos de nitrogênio, NO_x);
- Possui um alto ponto de fulgor, o que lhe confere manuseio e armazenamento mais seguros.

Além disso, o biodiesel apresenta excelente lubricidade, fato que vem ganhando importância se comparado ao petrodiesel de baixo teor de enxofre, cuja lubricidade é parcialmente perdida durante o processo de produção. A lubricidade ideal do petrocombustível pode ser restaurada com a adição de baixos teores de biodiesel (1-2%) (KNOTHE *et al.*, 2006), já que este é miscível com diesel de petróleo em qualquer proporção. Em muitos países, esta propriedade levou ao uso de misturas binárias diesel/biodiesel, ao invés do diesel puro. Essas caracterizadas misturas são designadas por acrônimos, como B20 que representa misturas de 20% de biodiesel no diesel de petróleo.

Em outros países, existem combustíveis à diesel contendo altos teores de biodiesel, chegando à substituição total, como

é o caso da Alemanha (OWSIANIAK 2009; site www.biodiesel.gov.br).

Inicialmente, segundo Brasil (2005), foi fixado em 5% (v/v) o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, em qualquer parte do território nacional, com prazo máximo de aplicação em 2013. Porém, a partir de julho de 2009, foi estabelecido pela ANP a adição de 4% de biodiesel ao diesel, e a partir de janeiro de 2010 já foi adotado o percentual de 5%. A adição de biodiesel (5%) ao diesel gerou uma economia de mais de 900 milhões de reais em importação de diesel por ano. Adicionalmente, cada litro da nova mistura representa um decréscimo de 3% na emissão de CO₂ para a atmosfera, correspondendo a uma diminuição anual de mais de 1,2 milhões de toneladas dessas emissões, além de reduzir, também, a emissão de material particulado.

1.2.2 | Biodegradação dos combustíveis

O óleo diesel, puramente originado do petróleo, é constituído de vários compostos recalcitrantes ao ataque microbiano. A velocidade de biodegradação de cada composto está estreitamente relacionada à sua estrutura química na seguinte ordem de decréscimo de susceptibilidade: n-alcenos > alcenos ramificados > aromáticos de baixa massa molecular > ciclo alcenos >>> aromáticos de alta massa molecular (LEAHY e COLWELL, 1990). Além disso, um maior conteúdo de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) encontrados no diesel, dentre os óleos combustíveis de destilação média, por conta da sua persistência no ambiente, pode tornar muito mais difícil sua remediação (ADAM e DUNCAN, 1999).

Estudos têm mostrado que em comparação com o diesel, o biodiesel é mais facilmente degradável por micro-organismos (MAKAREVICINE e JUNULIS, 2003; DEMELLO *et al.*, 2007). Certos micro-organismos, tais como *Pseudomonas oleovorans*, *P. mendocina*, *P. aeruginosa*, *Marinomonas vaga*, *Escherichia coli*, *Burkholderia gladioli*, *B.cepacia*, *Bacillus subtilis*, apresentam potencial para a degradação de biodiesel (FOLLIS, 1994; VIEIRA *et al.*, 2006).

Alguns pesquisadores relataram a facilidade de degradação de hidrocarbonetos de petróleo e seus derivados quando metil ésteres de ácidos graxos (biodiesel) estão presentes. No entanto, também existem trabalhos publicados que demonstram que a presença do biodiesel não interfere na degradação do diesel.

1.3 | Processos biológicos aplicados na remediação de solos contaminados com petróleo e derivados

1.3.1 | Tratamentos Biológicos

A aplicação de processos biotecnológicos envolvendo, individualmente ou conjuntamente, micro-organismos e/ou enzimas, e surfatantes, com o objetivo de solucionar ou minorar problemas de poluição ambiental, tem se tornado crescente. Logo, a degradação microbiana de hidrocarbonetos constitui um campo de pesquisa em pleno desenvolvimento (BONAVENTURA e JOHNSON, 1997). Destaca-se a biorremediação, que há muitas décadas, vem sendo usada com sucesso no tratamento de efluentes industriais, esgotos domésticos, aterros de resíduos perigosos e aterros de resíduos urbanos em geral (DIAS, 2000).

A biorremediação é uma prática atrativa de remoção de hidrocarbonetos de petróleo e seus derivados, por causa da simplicidade da manutenção, aplicação em grandes áreas, baixo custo, além da possibilidade de ocasionar a destruição completa do contaminante (BENTO *et al.*, 2005).

A atenuação natural monitorada é uma forma passiva de remediação que envolve a atividade microbiana sem qualquer forma de intervenção humana (NYER, 1998 *apud* ROSADO, 2005). É uma técnica simples, normalmente lenta, que depende dos processos naturais para reduzir a toxicidade da massa e/ou a mobilidade de um contaminante no solo (SCOW e HICKS, 2005). No entanto, as condições ambientais devem ser adequadas para se empregar tal técnica. Além disso, é necessária a presença de micro-organismos nativos capazes de biodegradar o contaminante presente no solo (BAPTISTA, 2007).

Em geral, os micro-organismos estão presentes na área impactada, e quanto maior o seu tempo de exposição aos compostos xenobiontes, maior a probabilidade de alguns adquirirem a capacidade genética de decodificar enzimas que atuem na degradação desses compostos (DIAS, 2000).

Segundo a Agência Ambiental Norte-Americana – USEPA – o termo “Atenuação Natural Monitorada” (ANM) refere-se ao uso dos processos de atenuação natural que ocorrem, naturalmente, no solo, dentro de um contexto de remediação monitorada e controlada de um sítio, em um período de tempo razoável, com objetivo de reduzir a concentração e toxicidade de contaminantes até níveis adequados à proteção da saúde humana e ao meio ambiente (USEPA, 1999).

Em geral, a ANM tem custo reduzido quando comparado a outros métodos de remediação. Além disso, é um método que

pode ser usado antes ou após outras tecnologias de remediação (MULLINGAN e YONG, 2004), podendo ser aplicado mesmo quando o contaminante encontra-se amplamente difundido no solo (IWAMOTO e NASU, 2001).

O sucesso da biorremediação é dependente das espécies microbianas presentes, mais especificamente da presença ou ausência de bactérias hidrocarbonoclásticas. A taxa de biodegradação depende da presença e do número de micro-organismos no solo capazes de degradar os compostos orgânicos. Existe uma relação direta entre a velocidade de degradação e o tamanho da população, já que quanto maior o número de micro-organismos capazes de degradar o composto, mais rápida será a sua degradação (DRAGUN, 1998). O tamanho da população microbiana é maior na superfície do solo, visto que nesta região a temperatura, a umidade, a aeração e a energia são relativamente mais favoráveis para o desenvolvimento dos micro-organismos (DRAGUN, 1998).

Inúmeros são os registros dos acidentes ambientais ocasionados pelo derramamento de combustíveis. Por isso, a necessidade de obtenção de um maior número de dados técnicos sobre tal problema, para que se possa promover a recuperação do solo contaminado, para cada caso, sem comprometer a biodiversidade local. Pesquisar e entender a dinâmica dos processos de biorremediação torna-se fundamental para desenvolver atividades de descontaminação do ambiente contaminado, bem como para desenvolver uma técnica econômica e ambientalmente viável. Por exemplo, poucos estudos tratam da ação dos micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos derivados de petróleo em solos franco-argilosos, característicos de vários estados brasileiros, como é o caso do Rio de Janeiro.

2 | OBJETIVO

O objetivo desse trabalho, portanto, foi monitorar o processo de atenuação natural de um solo franco-argiloso, artificialmente contaminado com óleo diesel puro (B0) ou óleo diesel comercial (B4) em colunas de PVC de 60 cm de altura com 22 cm de diâmetro.

Para atender o objetivo geral do trabalho, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- Avaliar o comportamento microbiano, por meio da contagem das populações de bactérias heterotróficas totais (BHT) e das bactérias hidrocarbonoclasticas (BHC) nativas durante a atenuação natural do solo contaminado ao longo de 60 cm de profundidade;
- Monitorar a degradação dos contaminantes no solo por espectrometria de infravermelho, de modo a definir o potencial de descontaminação por atenuação natural do solo virgem artificialmente contaminado com diesel puro (B0) e diesel comercial (B4);
- Avaliar o impacto toxicológico dos solos contaminados antes e após atenuação natural, mediante ensaios de fitotoxicidade.

3 | PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 | Solo

Neste trabalho foi utilizado solo do tipo argissolo de coloração avermelhada, antigo podzólico vermelho-amarelo, bastante comum no Brasil e, sobretudo, representativo do Estado do Rio de Janeiro (RIBEIRO, 2009). O solo foi coletado no município de Belford Roxo, Rio de Janeiro, em local sem histórico de contaminação por hidrocarbonetos de petróleo ou de seus derivados. Essa área tem sido usada para empréstimo de solo para aterro em áreas de refinarias. Entretanto, existem poucas publicações que abordam tratamentos de biorremediação desse tipo de solo quando contaminado por derivados de petróleo.

A coleta do solo se deu em 2006, quando este foi distribuído em barricas fechadas que foram mantidas em local coberto à temperatura ambiente. Para esse estudo, em março de 2009, o solo, em quantidade suficiente para o desenvolvimento de todo o trabalho experimental, foi inicialmente seco, por espalhamento no pátio do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCT), onde permaneceu à temperatura ambiente durante 3 dias. O solo, já livre de folhas, raízes e gravetos, foi desagregado, peneirado e quarteado em 16 cortes de 25 kg cada. As subamostras foram devidamente ensacadas e etiquetadas, sendo armazenadas em câmara fria a 4°C até posterior utilização.

3.1.1 | Caracterização do solo

A análise da composição granulométrica (proporção das diferentes classes de partículas) foi realizada segundo EMBRAPA

(1997). Esta análise se baseia na velocidade de sedimentação das partículas que compõem o solo.

A determinação da Densidade de Partícula, Densidade Aparente (*Bulk*), Porosidade do Solo, Capacidade de Retenção de Água e pH foram realizadas segundo a Instrução de Trabalho (IT) elaborada pelo CETEM/MCT, conforme abaixo detalhado:

- a) Densidade aparente do solo (D_a) (CETEM - IT 2008-007-00), ou densidade *bulk* é definida como a razão entre a massa de partículas e o volume que elas ocupam em um recipiente.
- b) Densidade das partículas do solo (D_p) (CETEM - IT 2008-008-00), também conhecida como densidade real, pode ser definida como a massa de sólidos presentes no solo por unidade de volume.
- c) Porosidade do solo (CETEM – IT 2008-006-00) é definida como o volume dos poros do solo dividido pelo volume total de uma amostra de solo. Este parâmetro, expresso em percentagem, é calculado a partir dos valores de Densidade Aparente e Densidade de Partícula.
- d) Capacidade de retenção de água (CRA) (CETEM – IT 2008-006-00) do solo foi determinada conforme adaptação do procedimento descrito em Watwood *et al.* (1991).
- e) A determinação do pH foi realizada segundo o método de Instrução de Trabalho (IT 2008-011-00) elaborado pelo CETEM/MCT. O pH do solo foi medido utilizando o método potenciométrico, empregando-se o potenciômetro da marca Analion, modelo NA 2000, previamente calibrado com soluções tampão (pH 7 e 4).

Para a determinação do potencial de oxi-redução (Eh) foi usado um eletrodo de platina combinado com um eletrodo de referência $\text{Ag}^\circ/\text{AgCl}$, e as leituras expressas em mV.

As determinações de carbono orgânico e fósforo (JARAMILLO, 1996) foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Ambiental (Escola de Química/UFRJ) e a capacidade de troca catiônica (CTC) foi realizada no laboratório de Geotecnia da COPPE/UFRJ. O equipamento utilizado para a quantificação dos cátions foi um espectrômetro de absorção atômica, marca Perkin Elmer, modelo A Analyst 300. Os teores de nitrogênio total e amoniacal foram determinados pelo Laboratório de Análises Mineraias – COAM/CETEM, pelo método Kjeldahl, utilizando um cromatógrafo de íons Metrohm, com um amostrador automático acoplado a um sistema de diálise modelo 788 IC, um degasificador modelo 837 IC e um detector condutimétrico modelo 819 IC.

3.2 | Óleo diesel

Utilizou-se óleo diesel “puro” (B0), isto é, isento de aditivos, e diesel metropolitano comercial (B4), que contém 4% (m/m) de biodiesel. A fim de garantir a qualidade das amostras, ambas foram fornecidas pela Petrobras.

Nos ensaios foram usadas as mesmas amostras de combustíveis de modo a garantir a reprodutibilidade e a confiabilidade dos resultados. Por isso, quantidades suficientes de cada um dos combustíveis foram devidamente acondicionadas em recipientes plásticos, etiquetadas e armazenadas sob refrigeração em câmara fria ($4\pm 1^\circ\text{C}$), até o momento do uso.

3.3 | Detalhamento dos experimentos preliminares

3.3.1 | Ensaio de biodegradação

Sistema experimental

Os ensaios de biodegradação de diesel (B0) e diesel/biodiesel (B4) foram realizados em sistemas estáticos, confeccionados especialmente para o presente trabalho, de modo a permitir a análise do processo de biorremediação de uma seção de solo contaminado ao longo de 60 cm. O sistema consistiu de coluna de PVC, de 60 cm de altura e 22 cm de diâmetro, composta de 3 seções sobrepostas de 20 cm de altura cada, com a finalidade de possibilitar a coleta das amostras de solo em diferentes profundidades (Figura 3.1). Cada reator possui uma válvula de escoamento do percolado, a fim de permitir a checagem da percolação. Cada reator foi carregado com 18 kg de solo.



Figura 3.1 Sistemas estáticos usados nos ensaios de biorremediação dos solos contaminados com diesel (B0) e diesel/biodiesel (B4).

Monitoramento da biodegradação de diesel B0 e B4

Realizaram-se duas “baterias” de ensaios com duração de 60 dias cada. Na primeira etapa, o solo sofreu uma adição de água (40% da CRA) e, a seguir, foi contaminado com 10% (m/m) de diesel puro (B0). Na etapa seguinte, a contaminação do solo foi feita com 10% (m/m) de diesel comercial (B4).

Foram empregados 3 reatores de sacrifício em cada bateria de ensaios, com a finalidade de coletar amostras representativas de cada seção do reator, para cada um dos tempos monitorados (20, 40 e 60 dias). Assim, a cada 20 dias, um reator era sacrificado para a realização das análises microbiológicas, químicas e físico-químicas.

Para cada solo contaminado, foi realizado, também, um controle abiótico, cujo sistema foi sacrificado apenas ao 60º dia de monitoramento. Nos controles abióticos foram utilizados solo, água e diesel estéreis.

O solo foi esterilizado em autoclave a 1 atm por 20 min, sendo que o ciclo de esterilização foi repetido 5 vezes seguidas. Posteriormente, este solo foi seco à temperatura ambiente por 2 dias. No reator, o solo estéril foi lavado com solução do biocida azida de sódio (NaN_3) a 4%(m/v) para garantir a sua esterilidade. A água também foi esterilizada em autoclave a 1 atm por 20 min, e o óleo diesel, B0 ou B4 foi esterilizado por meio do processo de filtração em membrana Milipore de 0,22 μm de porosidade.

Assim, para cada condição estudada, foram operados 4 reatores, totalizando 8 experimentos realizados. A descrição de cada sistema conduzido encontra-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Descrição dos ensaios de biorremediação realizados em coluna de solo.

Experimento	Condição	Tempo (dias)
1	Solo + Diesel B0	20
2		40
3		60
4	Controle Abiótico (Solo + Diesel B0 + Biocida)	60
5	Solo + Diesel B4	20
6		40
7		60
8	Controle Abiótico (Solo + Diesel B4 + Biocida)	60

Para cada tempo foram coletadas amostras nas profundidades de 20, 40 e 60 cm. Os ensaios foram mantidos à temperatura ambiente, em local refrigerado, ($25\pm 2^\circ\text{C}$), com ajustes periódicos de umidade apenas na parte superficial da coluna.

No solo, para cada condição experimental, tempo e profundidade foram feitas análises de: TPH, caracterização orgânica das amostras, contagem de bactérias (heterotróficas totais e hidricarbonoclasticas) e Fitotoxicidade.

3.4 | Análises quantitativas

3.4.1 | Teor de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP)

A caracterização orgânica das amostras de solo artificialmente contaminadas foi feita pela análise de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP). Essa análise foi realizada pela técnica de

Espectrometria na região do Infravermelho, utilizando o analisador Infracal TOG/TPH, da marca Wilks Enterprise, modelo HART-T (Figura 3.2) (CETEM - IT 2008-005-00), sendo possível quantificar os hidrocarbonetos, após extração do óleo do solo com solvente orgânico (n-hexano PA padrão HPLC).

A determinação de HTP por infravermelho baseia-se na medida da absorbância da ligação C-H dos hidrocarbonetos presentes na amostra. As ligações C-H dos hidrocarbonetos alifáticos absorvem energia num comprimento de onda específico, CH (3,38 μm), CH₂ (3,42 μm) e CH₃ (3,50 μm) (EPA, 2001) e a intensidade de absorção é proporcional à quantidade de moléculas de hidrocarbonetos numa amostra (NASCIMENTO *et al.*, 2008). Logo, é possível converter a quantidade total de óleo na amostra original se a razão do solvente com o óleo for cuidadosamente controlada, através de uma calibração.



Figura 3.2 Equipamento Infracal, modelo HART-T da Wilks Enterprise.

3.4.2 | Concentração de bactérias heterotróficas totais (BHT)

A quantificação de BHT foi feita pelo método do espalhamento em superfície (*spread plate method*). Para tanto, uma amostra de 5 g de solo foi suspensa em 50 mL de solução salina (8,5 g/L) que, uma vez homogeneizada, foi diluída em série na mesma solução de 10^{-1} a 10^{-7} . A partir de cada diluição, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas de Petri contendo meio agar simples (Tabela 3.2) para a quantificação de bactérias heterotróficas totais. Após incubação das placas a $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, por 2 dias, foram feitas as contagens das colônias formadas e os resultados expressos em unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de solo (UFC/g solo).

Tabela 3.2. Composição do Meio Agar Simples.

Componentes	Quantidade (g/L)
Agar	20
Peptona de carne	5
Extrato de Lêvedo	2
NaCl	5
Glicose	10

3.4.3 | Concentração de bactérias hidrocarbonoclasticas (BHC)

A quantificação de BHC foi realizada através da técnica do Número Mais Provável (NMP) (BROWN e BRADDOCK, 1990). Para esse procedimento foram preparadas diluições de 10^{-1} até 10^{-7} , em solução salina (8,5 g/L), das quais foram tomadas alíquotas de 0,1 mL que foram semeadas em cada um de 5

poços de placas multipoços, contendo 1,8 mL de meio mineral (Tabela 3.3) e 0,1 mL de óleo cru. As placas foram incubadas a $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 7 dias, e o crescimento foi avaliado visualmente, sendo considerado positivo quando havia alteração do aspecto da gota de óleo em relação ao do teste em branco. O teste em branco consistiu da adição de meio mineral estéril à 5 poços da placa e também à 5 poços com a adição de meio mineral estéril acrescido de óleo cru. Dessa forma, pode-se descontar qualquer efeito que não seja causado pela presença dos micro-organismos a serem quantificados.

Através dos resultados positivos e negativos foram feitos os cálculos, levando em conta a diluição, sendo a concentração celular expressa em NMP/g de solo seco.

Tabela 3.3. Composição do Meio Mineral

Componentes	Quantidade (g/L)
NaCl	5,0
K ₂ HPO ₄	1,0
KNO ₃	3,0
NH ₄ H ₂ PO ₄	1,0
(NH ₄)SO ₄	1,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2

Fonte: VECCHIOLI *et al.*, 1990.

3.4.4 | Teste de Fitotoxicidade

Os testes de ecotoxicidade consistiram na análise da germinação de sementes e crescimento da espécie vegetal *Lycopersicon esculentum* (tomate). Trata-se de um teste simples e de baixo

custo que pode indicar a ação fitotóxica de diferentes compostos químicos. Estes testes foram realizados tanto para monitorar a toxicidade do solo contaminado, após tratamento, bem como a fertilidade do solo virgem. Utilizou-se como teste positivo um solo comercial fértil.

O propósito do teste foi verificar o efeito dos compostos residuais no solo no crescimento do tomate, não sendo baseado em outros experimentos de toxicidade citados na literatura.

Os testes foram realizados em pequenos vasos de planta contendo cerca de 200 g de solo onde foram semeadas, uniformemente, 18 sementes de tomate, distribuídas em 6 orifícios (3 sementes para cada orifício). A espécie empregada foi *Lycopersicon esculentum*, conforme recomendado pela OECD (1984), da marca Isla, isenta de defensivos agrícolas.

No período do ensaio, os vasos ficaram em local arejado, com boa luminosidade natural e, a cada 24 h, foram regados para favorecer a germinação e o crescimento das sementes. Após 20 dias, as plantas foram cortadas na altura do solo com auxílio de uma tesoura de jardineiro, e o comprimento do caule foi medido (Figura 3.3). Cada ensaio foi feito em triplicata.

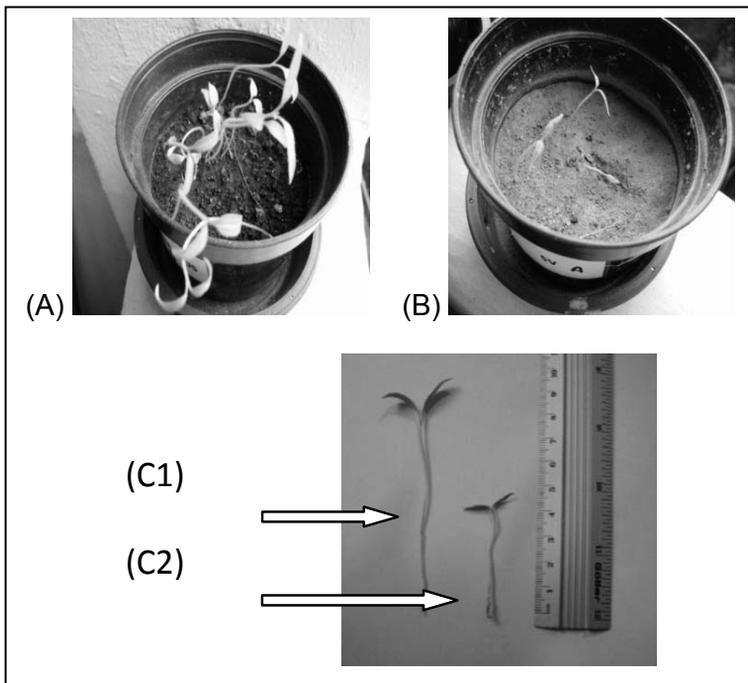


Figura 3.3. Testes de germinação e crescimento do tomateiro em solo fértil (A), solo em estudo sem contaminação (B) e detalhe da medição dos comprimentos dos caules da muda oriunda do solo fértil (C1) e do solo em estudo (C2).

4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 | Caracterização do solo

Preliminarmente, o solo virgem foi caracterizado granulométrica (textural), química, físico-química, e microbiologicamente. Na tabela 4.1 constam os parâmetros analisados e considerados mais relevantes para o processo de biorremediação.

Segundo a classificação textural de solos de Lemos e Santos (1984), o solo empregado neste estudo é da classe franco-argilosa, e de textura média, de acordo com Prado (2005).

O valor de densidade aparente determinado para o solo é representativo de superfícies argilosas (FOTH, 1990) e está no limite considerado apropriado para o desenvolvimento microbiano (ARCHER e SMITH, 1972). Solos com maiores valores de D_p apresentam-se impróprios para o metabolismo das bactérias aeróbicas autóctones por conta da baixa permeabilidade e aeração. A permeabilidade é afetada, principalmente, pelo tamanho da partícula e porosidade do meio. Normalmente os solos argilosos são menos permeáveis (partículas menores) do que os arenosos (partículas maiores), impedindo o fluxo de água de maneira efetiva e, por isso, muitas vezes são considerados impermeáveis (SEABRA, 1997). De uma maneira geral, quanto mais elevada for a densidade aparente do solo, tanto maior será sua compactação e menor a sua porosidade (KIEHL *et al.*, 1979).

Com base nos dados de densidade aparente e densidade de partícula, calculou-se a porosidade do solo como sendo de 45,8%. Este valor é tido como adequado para a atividade mi-

crobiana, já que permite uma melhor permeação da água e do ar através do solo (SILVA, 1996).

Tabela 4.1 Caracterização Granulométrica (Textural), Química, Física-Química e Microbiológica do Solo Virgem.

Parâmetros	Valores
Relação Areia:Silte:Argila (%)	38:30:32
Densidade aparente (Da) (g/mL)	1,3
Densidade de partícula (Dp) (g/mL)	2,41
Capacidade de retenção de água (CRA) (%)	31
pH	4,7
Concentração de matéria orgânica* (g/kg)	3,0
Concentração de nitrogênio (g/kg)	0,17
Carbono Orgânico* (C _{org}) (g/kg)	0,17
Fósforo* (mg/kg)	5
Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP) (g/kg)	0 (Zero)
Umidade (%)	3
Capacidade de Troca catiônica (CTC)* (cmolc/dm ³)	3,72
Bactérias Heterotróficas Totais (BHT) (UFC/g solo)	10 ⁵
Bactérias Hicrocarbonoclasticas (BHC) (NMP/g solo)	10 ¹

* Análises realizadas pelo Laboratório de Geotecnia da COPPE/ UFRJ.

Em relação à análise de pH, o solo caracteriza-se como fortemente ácido (ALVAREZ *et al.*, 1999) e, portanto, impróprio para a atividade da maioria das bactérias. Adicionalmente, a acidez causa a perda de nutrientes pelo solo (OLIVEIRA *et al.*, 2000), o que implica em menor disponibilidade dos elementos essenciais para o metabolismo microbiano na degradação dos contaminantes.

O pH da maioria dos solos se situa na faixa entre 4,5 e 8,0. De acordo com Moreira e Siqueira (2006), os horizontes superfíci-

ais dos solos em climas mais úmidos são geralmente ácidos devido, em parte, à decomposição de serrapilheira. Também, a chuva ácida e a fixação biológica de nitrogênio podem contribuir para abaixar o pH do solo. No caso das argilas, em virtude das cargas negativas, ocorre a atração de íons positivamente carregados (cátions), inclusive H^+ , cujo aumento na superfície da partícula acarretará em redução do pH a valores muito menores do que o da solução do solo.

Para o solo em estudo, foi determinada uma concentração de carbono muito baixa, comprovando o seu histórico de não contaminação, o que é corroborado pela análise de HTP.

Além da fonte de carbono, os elementos nitrogênio e fósforo são essenciais para as funções vitais das células microbianas, principalmente aquelas referentes à geração de energia e à síntese de constituintes celulares, sejam eles estruturais ou genéticos (BRUNKEN e SZARFARE, 1999; GOMES, 2005; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Segundo JARAMILLO (1996), o solo é considerado rico em matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, quando seus respectivos teores são maiores que 42 g/kg, 2,22 g/kg e 0,03 g/kg. Portanto, pode-se aferir que o solo analisado é nutricionalmente limitado.

Apesar disso, e das outras características físico-químicas e nutricionais serem também limitantes para a atividade de bactérias, no solo foi detectada a presença de bactérias heterotróficas totais (BHT), em concentração relativamente elevada e, inclusive, de bactérias hidrocarbonoclasticas (BHC), embora em número bastante reduzido.

4.2 | Efeito do biodiesel na biodegradação de óleo diesel em solo franco-argiloso

A seguir serão apresentados os resultados de monitoramento da biorremediação de óleo diesel puro (B0) e óleo diesel comercial (B4), ao longo de uma coluna de solo de 60 cm por 60 dias.

4.2.1 | Ensaios de atenuação natural de solo contaminado com diesel puro (B0)

A Figura 4.1 mostra a variação da concentração de HTP residual no solo contaminado com óleo diesel puro (B0), nos diferentes pontos monitorados, ao longo do tempo. Nota-se que a eficiência de degradação de HTP variou em função da profundidade do solo.

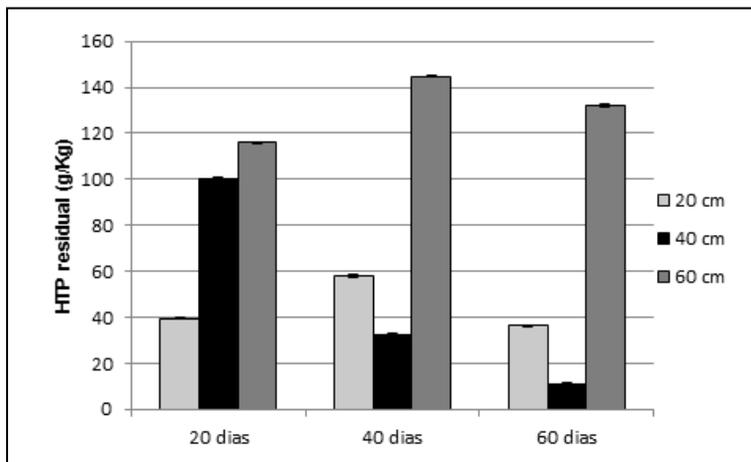


Figura 4.1. Perfil de distribuição de HTP residual em solo contaminado com óleo diesel (B0) em função da profundidade e tempo.

Decorridos 20 dias da contaminação, no solo oriundo da camada mais próxima à superfície (20 cm), evidenciou-se a menor concentração de HTP, enquanto que, para o mesmo intervalo de tempo, os solos das camadas mais profundas (entre 40 cm e 60 cm) apresentaram valores próximos de concentração. Tal fato pode estar relacionado à atividade degradadora ser mais intensa nas zonas onde a disponibilidade de oxigênio é maior. Outra possibilidade, que não exclui a anterior, é a migração dos hidrocarbonetos para as camadas mais profundas do solo.

No decorrer do tempo, verifica-se que a degradação é mais eficiente na zona de 40 cm. Isto é indicativo da participação efetiva dos micro-organismos, mesmo em condições limitantes de oxigênio.

Por outro lado, na maior profundidade, não se percebeu qualquer redução do conteúdo de HTP, possivelmente em consequência da lenta percolação do óleo diesel pelas camadas do solo ou, ainda, da migração mais facilitada dos produtos resultantes da degradação microbiana do óleo diesel, acarretando a estagnação dos hidrocarbonetos mais recalcitrantes nas camadas mais profunda do solo.

As Figuras 4.2 (A e B) apresentam as densidades das populações de bactérias heterotróficas totais (BHT) e bactérias hidrocarbonoclásticas (BHC) no solo contaminado com óleo diesel B0 em função da profundidade e do tempo, respectivamente. Ainda que as condições naturais do solo não fossem adequadas para o metabolismo de bactérias (Tabela 4.1), houve aumento de ambas as populações a partir do óleo diesel como única fonte de carbono introduzida aos sistemas. No entanto,

as populações microbianas apresentaram comportamentos diferentes entre si.

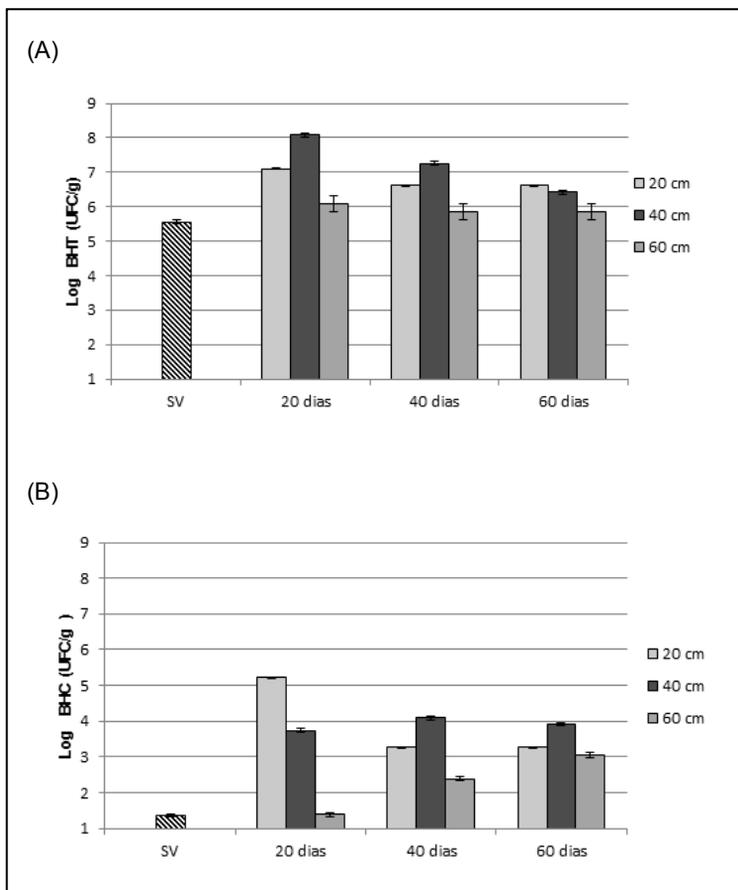


Figura 4.2. Variação dos números de bactérias heterotróficas totais (BHT) e de bactérias hidrocarbonoclásticas (BHC) em solo após contaminação com óleo diesel (B0) em função da profundidade e do tempo (A= BHT; B= BHC; SV= solo virgem, sem contaminação).

Após 20 dias da contaminação do solo com o combustível, foi observado um ligeiro acréscimo de BHT em relação ao solo virgem, em 40 cm de profundidade. Porém, no 40º dia, houve uma leve redução das concentrações celulares nas profundidades de 20 e 40 cm. O decaimento da concentração das BHT pode estar relacionado à diminuição da concentração de compostos mais facilmente degradáveis e, por conseguinte, ao acúmulo e toxicidade dos recalcitrantes para algumas das espécies microbianas.

Na camada mais profunda do solo (60 cm), a concentração de BHT permaneceu similar à do solo virgem durante todo o período monitorado. Provavelmente, a menor atividade microbiana nesta área deve-se à menor disponibilidade de oxigênio e, inclusive, à toxicidade dos hidrocarbonetos em virtude da sua maior concentração (Figura 4.1).

Em relação às bactérias hidrocarbonoclásticas (BHC), no 20º dia, houve um aumento na profundidade de 20 cm, onde a concentração celular atingiu o maior valor. A análise comparativa desses resultados com os do perfil de distribuição de HTP (Figura 4.1) mostra a importância da presença das bactérias degradadoras ou hidrocarbonoclásticas para se ter a remediação de um solo contaminado.

Na estimativa seguinte, ou seja, aos 40 dias, observou-se uma ligeira queda, na profundidade de 20 cm, embora depois a concentração tenha se mantido constante e ainda superior à profundidade de 40 e 60 cm, em 60 dias. Isso nos mostra que a presença de oxigênio propicia um aumento de bactérias aeróbias degradadoras. A leve queda da concentração microbiana pode ser devido à toxicidade, em face do acúmulo de compostos mais recalcitrantes no ambiente, já que houve um aumento

da concentração de HTP (Figura 4.1), fazendo com que esses micro-organismos não sejam mais capazes de degradá-los.

Por outro lado, a densidade de BHC na camada de 40 cm praticamente não se alterou ao longo do tempo. No período de 60 dias, as concentrações de BHC foram praticamente as mesmas nas camadas de 20 e 60 cm de solo analisadas. Isso pode ser explicado pela possível adaptação e seleção de espécies capazes de degradar os compostos mais recalcitrantes.

Considerando que durante o período monitorado, o número de BHC variou para as três profundidades analisadas (Figura 4.2B), sugere-se que a população microbiana se altera, qualitativamente, com aumento das potencialmente degradadoras, embora não haja variação expressiva do quantitativo. O mesmo perfil comportamental das BHC foi evidenciado por Ferreira (2001).

É possível considerar a interdependência entre os micro-organismos no solo, onde a geração de substâncias mais simples, a partir da degradação dos compostos recalcitrantes pelas espécies potencialmente mais degradadoras, possibilita o desenvolvimento de outras espécies microbianas que, por sua vez, podem estabelecer as condições necessárias para as primeiras ou mesmo de outras diferentes espécies, formando-se um ciclo de atividade microbiana.

O pH do solo não sofreu qualquer alteração em função da contaminação com diesel nem durante o monitoramento, variando entre 4,5 e 5,0.

A acidez do solo pode ter influenciado, negativamente, a atividade bacteriana. Porém, é importante ressaltar que, apesar do solo não ter tido histórico prévio de contaminação por hidrocar-

bonetos, e do pH não ser o mais adequado para o metabolismo das bactérias, foi constatada a degradação do diesel e aumento do número de células. Em contrapartida, no controle abiótico houve elevação do pH do solo, principalmente na sua superfície, onde atingiu o valor de 8,5. A alcalinização pode estar relacionada à decomposição do biocida empregado (azida de sódio).

O potencial de oxidação-redução (Eh), parâmetro influenciado pela especiação química e pela concentração de oxigênio (FISH, 1993 *apud* TEIXEIRA *et al.*, 1999), ou seja, diretamente relacionada com a profundidade de cada seção do solo ao longo do tempo, é mostrado na Figura 4.3. Valores de Eh positivos definem sistemas oxidados enquanto os negativos denotam sistemas reduzidos (PONNAMPERUMA, 1972).

Evidenciou-se um pequeno aumento do Eh com o tempo nas camadas mais profundas, como também para cada ponto. Essa variação pode ser creditada à geração de substâncias oxidantes pelos micro-organismos autóctones, já que a difusão de oxigênio através das camadas de solos franco-argilosos, com teores de umidade superiores a 10% é relativamente baixa.

Analisando a Figura 4.3, verifica-se, também, que os valores de Eh, em todas as condições apresentadas, foram superiores a 250 mV, o que é favorável à atuação dos micro-organismos aeróbicos (BITTON & GERBA, 1984). Segundo Bento (2005), este fator tem grande influência na velocidade de degradação do óleo diesel, pois quanto mais oxidante for o solo, mais rápida será a degradação de seus hidrocarbonetos constituintes.

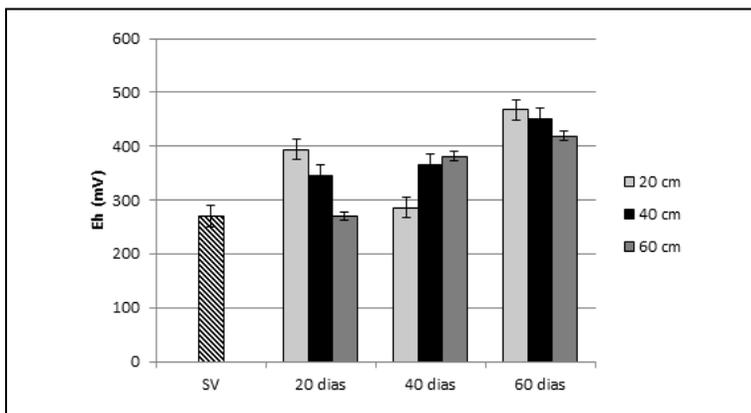


Figura 4.3. Variação do potencial de oxidação-redução (Eh) para amostras de solo contaminado com óleo diesel (B0) em função da profundidade e do tempo (SV= solo virgem, sem contaminação).

Em sistemas redox naturais, os parâmetros Eh e pH estão diretamente relacionados e, a partir de seus valores, pode-se determinar o valor de pe (logaritmo da atividade de elétrons), que representa o inverso do log da atividade elétrica (CAMARGO, SANTOS & ZONTA, 1999). Para solos, o valor de pe em função do Eh (-200 a 700 mV) e do pH (4,5 a 8,5) varia de -5 a 12, indicando: solos oxidados ($pe > 7$); solos suboxidados (pe de 2 a 7) e solos anóxicos ($pe < 2$). De acordo com o diagrama pe, Eh e pH, representado por Tian-Yen (CAMARGO, SANTOS & ZONTA, 1999), o valor de pe para as amostras de solo nas condições estudadas se situa entre 12 e 20 para pH de 4,5 a 5,0 e Eh variando entre 200 e 600 mV.

Os solos suboxidados diferem dos oxidados por apresentarem valores de pe baixos o suficiente para que ocorra depleção de O_2 , porém não tão baixos para haver depleção dos íons SO_4^{2-} (estado anóxico). Logo, o maior valor de pe (de 12 a 24)

representa uma condição oxidada, onde a atividade elétrica é baixa e o potencial de oxi-redução é elevado. Quando há valores baixos ou negativos de p_e , o ambiente se encontra no estado reduzido.

No solo, a água desloca o ar dos espaços porosos, criando regiões de anaerobiose devido à depleção do oxigênio e ao aumento de CO_2 , o qual é produzido pela respiração microbiana. No solo, o oxigênio livre presente é rapidamente consumido pelos micro-organismos aeróbios, no processo de degradação da matéria orgânica. O consumo de O_2 influencia a atividade de elétrons na solução do solo, enquanto que a liberação de CO_2 regula a atividade de prótons na solução.

Como o consumo de oxigênio pelos micro-organismos é mais rápido do que o que é suprido por difusão através da fase líquida nos solos, ocorre a formação de um gradiente de concentração de oxigênio, que dá origem a duas camadas distintas, uma de oxidação e outra de redução, pois um solo submerso ou saturado, não é uniformemente desprovido de oxigênio. Desta forma, a concentração do oxigênio pode ser alta na camada superficial, onde a difusão de oxigênio é suficiente para o consumo dos micro-organismos aeróbios. Em ambientes reduzidos, a matéria orgânica é a principal doadora de elétrons usados pelos micro-organismos anaeróbios facultativos no solo, sendo NO_3^- , Fe^{3+} , SO_4^{2-} etc., produtos da desassimilação da matéria orgânica (CO_2 , N_2) e até íons H^+ usados como aceptores de elétrons (CAMARGO *et al.*, 1993; BARTLETT & JAMES, 1993).

As Figuras 4.4 (A e B) mostram que ao longo do período monitorado existe uma pequena disponibilidade de nitrogênio. Nota-se que nos primeiros 20 dias de tratamento e principalmente

nas profundidades de 20 e 40 cm há um pequeno aumento na concentração de nitrogênio total, comparado ao solo não contaminado (Figura 4.4A). Essa variação de nitrogênio total pode estar relacionada à adição de diesel, que contém em baixas concentrações ou, ainda, ser resultante da lise celular e/ou hidrólise de proteínas por enzimas extracelulares. Pode-se perceber, também, um aumento significativo da concentração de nitrogênio no controle (CA), provavelmente devido ao tratamento do solo com o biocida azida de sódio.

Por outro lado, a variação de nitrogênio amoniacal foi diferenciada (Figura 4.4B). Os maiores valores foram evidenciados na faixa de solo mais próxima à superfície (20 cm) nos primeiros 40 dias de tratamento.

Em estudos visando ao estabelecimento de relações nutricionais adequadas para a biorremediação de solos contaminados por óleo cru, verificou-se que dosagens excessivas de nitrogênio (SORIANO, 2001 *apud* Rizzo, 2008) e de fósforo (BAPTISTA, 2007) podem interferir, negativamente, no processo de biodegradação. O mesmo efeito inibitório foi comprovado por Trindade *et al.* (2004) tendo como base estudos realizados por Walworth *et al.* (2005).

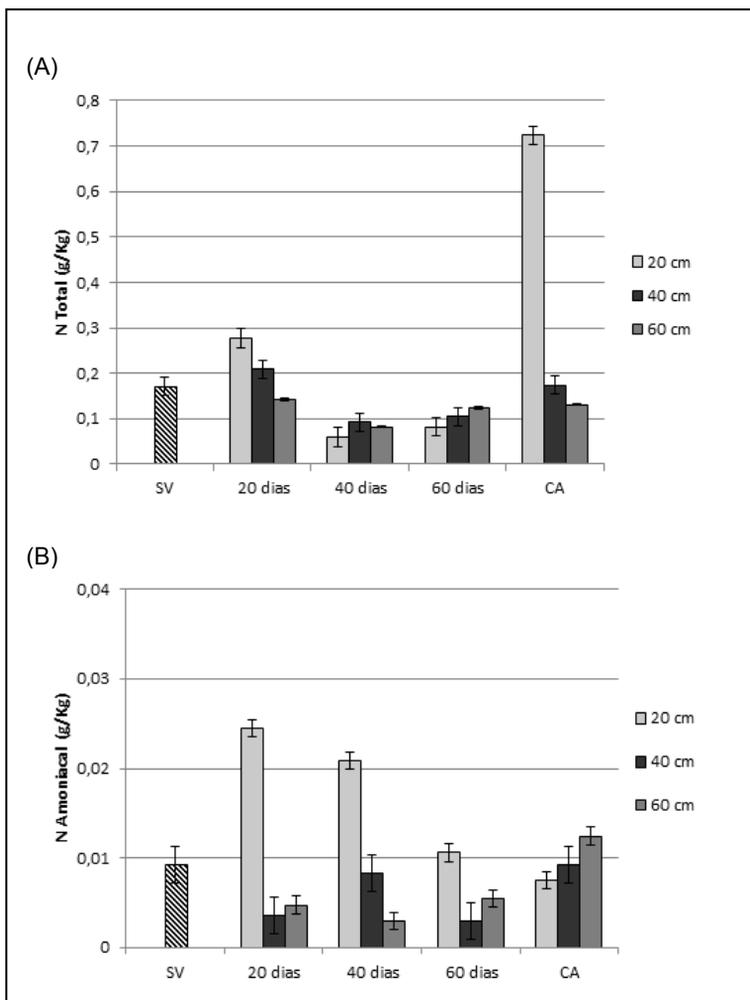


Figura 4.4. Nitrogênio total (A) e nitrogênio amoniacal (B) para amostras de solo contaminado com óleo diesel (B0) em distintas profundidades (SV= solo virgem, sem contaminação; CA= controle abiótico).

Em geral, os estudos de biorremediação de solos contaminados com óleo cru estimam, para efeito de cálculo da relação C:N:P, que 85% do valor de HTP correspondem à concentração de carbono. Se considerada válida esta razão para diesel, a relação C:N:P para o solo após adição de 10% m/m de diesel será de 100:0,2:0,005, isto é, muito aquém do indicado para o processo de biorremediação, que é de 100:10:1 (JARAMILLO, 1996).

4.2.2 | Ensaios de atenuação natural de solo contaminado com diesel comercial (B4)

O perfil de distribuição de HTP residual do solo contaminado com óleo diesel comercial (B4), ao longo da coluna de solo e do tempo monitorado, é apresentado na Figura 4.5. Comparativamente ao perfil de HTP estabelecido para solo contaminado apenas com diesel (Figura 4.1), evidencia-se um comportamento diferenciado.

Nos dois primeiros períodos, 20 e 40 dias, verifica-se um aumento gradativo de HTP ao longo do reator, sendo esse comportamento diferente no 60º dia, concentrando menos HTP na seção intermediária do reator.

Para a metodologia aplicada na quantificação de HTP, foi utilizado o aparelho, Infracal, cuja eficiência foi comprovada no trabalho realizado por Telhado, 2008, para esta análise em óleo cru. A partir disso empregou-se essa técnica para a quantificação de HTP em diesel puro (B0) e em diesel com 4% de biodiesel (B4), já que estes caracterizam-se por conter hidrocarbonetos derivados de petróleo. Para a análise de diesel puro, obtivemos resultados condizentes em todo o trabalho, mas para o combustível B4, observam-se resultados inconsis-

tentes, possivelmente pelo fato da presença do biodiesel no diesel sendo, portanto, descartada essa análise.

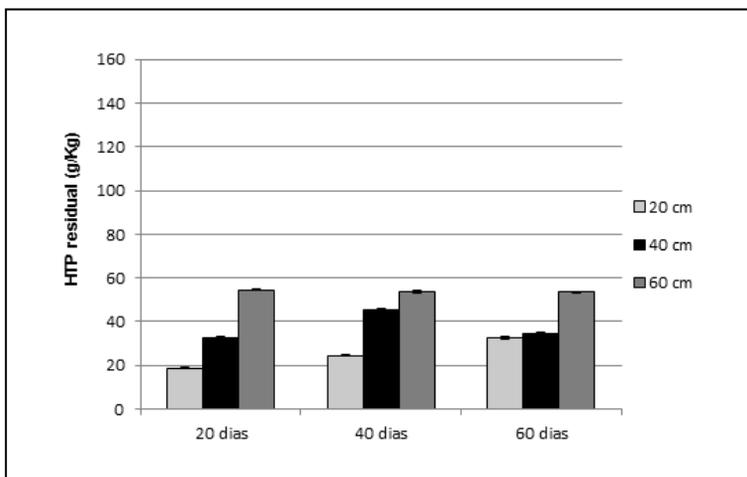


Figura 4.5. Perfil de distribuição de HTP residual em solo contaminado com óleo diesel (B4) em função da profundidade e do tempo.

A análise da Figura 4.6 permite evidenciar que a população de BHT se manteve inalterada em relação ao solo virgem, durante todo o período monitorado. No entanto, a presença de biodiesel estimulou o crescimento das BHC na maioria das condições testadas.

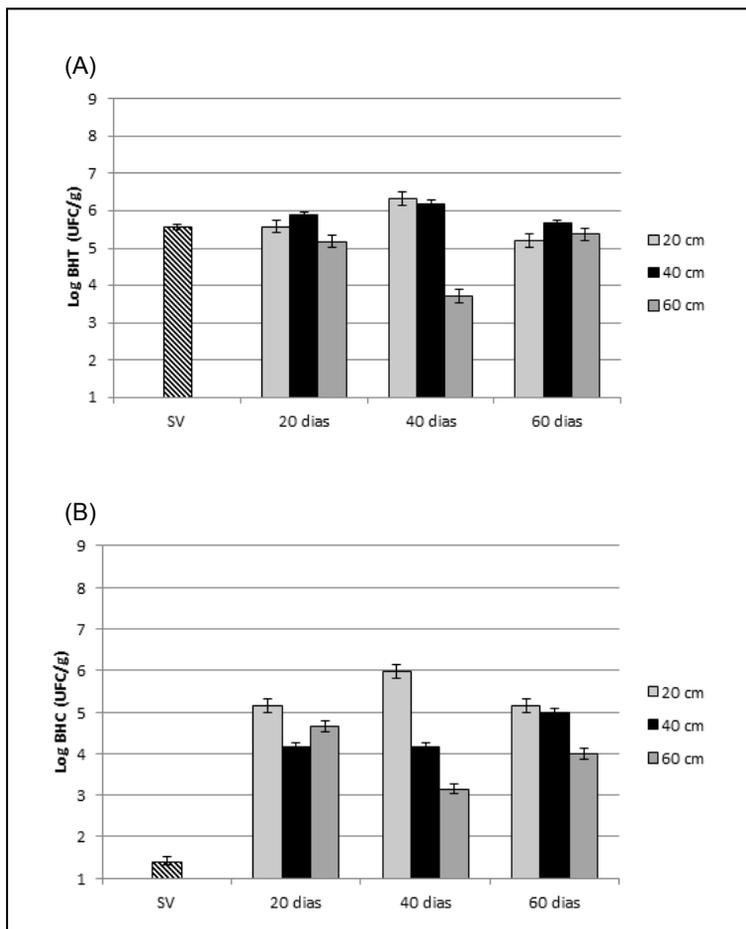


Figura 4.6. Concentração das bactérias heterotróficas totais (BHT) e bactérias hidrocarbonocásticas (BHC) em solo após contaminação com diesel (B4) em diferentes profundidades e para diferentes tempos de monitoramento (A= BHT; B= BHC; SV= solo virgem, sem contaminação).

A presença de matéria orgânica mais facilmente degradável (biodiesel) não alterou o pH do solo, que se manteve ácido, em torno de 5, nas três profundidades, por 60 dias.

A adição de biodiesel ao diesel também não teve efeito no potencial de oxidação-redução do solo (Figura 4.7). Analogamente ao evidenciado para diesel B0 (Figura 4.3), o Eh se manteve positivo.

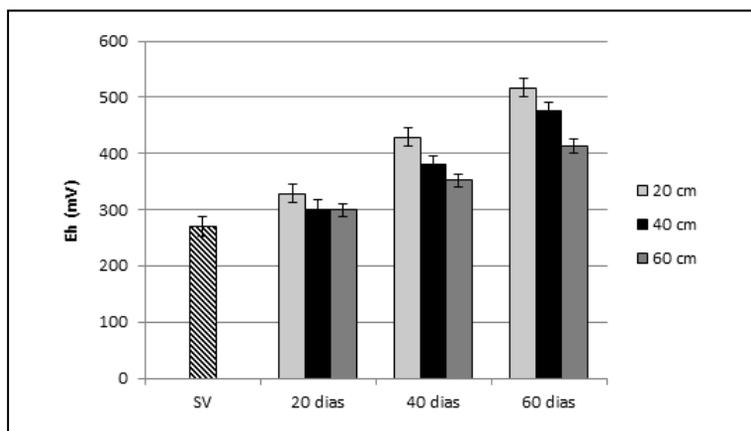


Figura 4.7. Variação do potencial de oxidação-redução (Eh) para amostras de solo contaminado com diesel/biodiesel em função da profundidade e do tempo (SV= solo virgem, sem contaminação).

Comparativamente, as concentrações de nitrogênio total (Figura 4.8 A) e amoniacal (Figura 4.8 B) apresentaram diferentes perfis em relação ao ensaio de AN com solo contaminado com diesel (B0) (Figuras 4.4 A e B).

Observa-se um teor máximo de nitrogênio total no 60º dia de monitoramento.

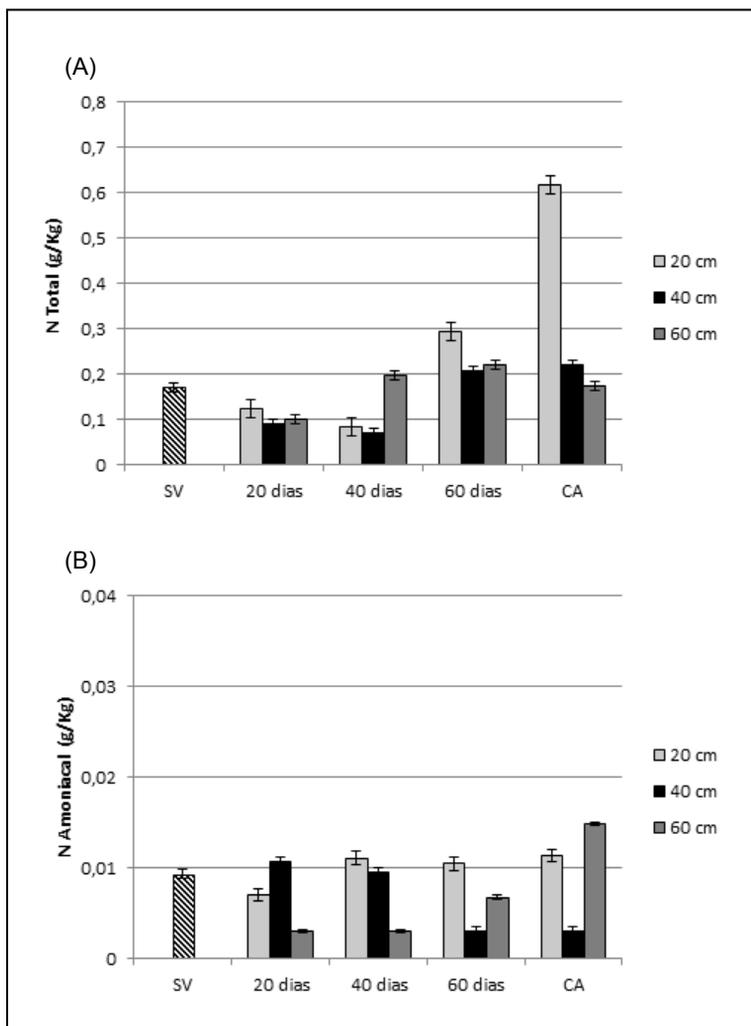


Figura 4.8. Nitrogênio total (A) e nitrogênio amoniacal (B) para amostras de solo contaminado com óleo diesel (B4) em distintas profundidades (SV= solo virgem, sem contaminação; CA= controle abiótico).

4.2.3 | Análise comparativa da degradação de hidrocarbonetos de óleo diesel B0 e de contagem de BHT e BHC em coluna de solo

Para fins comparativos, na Figura 4.9 foram plotados os valores dos percentuais de degradação de HTP, bem como os dados referentes às concentrações de BHT e BHC para o solo contaminado com diesel puro (B0).

Para o solo contaminado apenas com óleo diesel puro (B0), a degradação de HTP foi lenta, tendo início após 20 dias da sua contaminação. A remoção de HTP no controle abiótico foi de 24%, atingindo, portanto, uma degradação de 14% ao final do monitoramento (Figura 4.9). Porém, de acordo com o perfil apresentado, a biorremediação tende a continuar. Os valores máximos, tanto de BHT quanto de BHC, ocorreram no mesmo período (20 dias). Porém, com a continuidade do monitoramento, evidencia-se uma leve tendência ao declínio da viabilidade das bactérias heterotróficas totais. Isso pode ser devido à seleção natural, despontando a atividade preferencial de algumas espécies, em função do acúmulo de frações orgânicas de maior complexidade e, portanto, mais recalcitrantes, uma vez que a atividade na etapa inicial se atribui ao consumo das frações mais leves, ou seja, de menor complexidade. A redução do número de células também pode ser atribuída a depleção de nutrientes, como, por exemplo, a fonte de nitrogênio, o que é um impeditivo para a manutenção das funções vitais das células. Portanto, acredita-se que a degradação dos hidrocarbonetos foi favorecida pela atividade microbiana, mesmo sem ter havido a ingerência para estabelecer condições que favorecessem o metabolismo bacteriano.

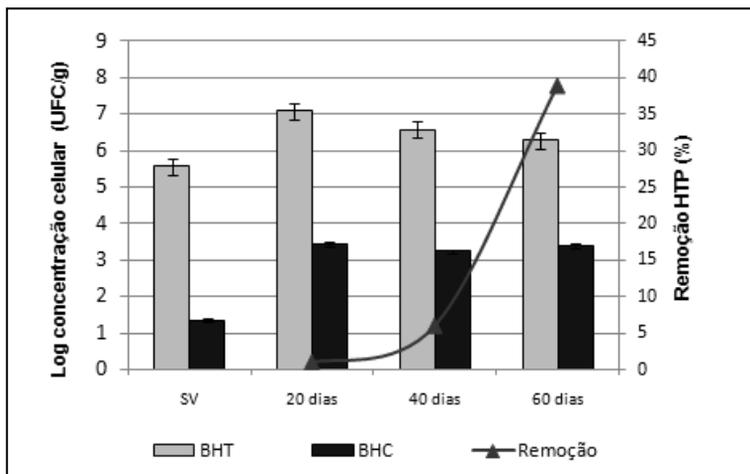


Figura 4.9. Monitoramento de HTP e concentração de bactérias heterotróficas totais (BHT) e de bactérias hidrocarbonoclasticas (BHC) para solo contaminado com óleo diesel (B0).

4.3 | Avaliação da toxicidade dos solos contaminados após atenuação natural

Amostras dos solos artificialmente contaminados com óleo diesel B0 e B4, e naturalmente atenuadas, foram ensaiadas para definir o potencial tóxico dos compostos residuais gerados pela ação microbiana e química sobre os hidrocarbonetos. Os ensaios de ecotoxicidade foram realizados com sementes de tomate, sendo feita a observação de percentual de germinação e crescimento do vegetal (Tabela 4.2).

Notou-se que no solo virgem, tanto o percentual de germinação das sementes quanto o crescimento do vegetal foram bem inferiores ao determinado para o controle positivo. Isto comprova o baixo valor nutricional do solo empregado.

Tabela 4.2. Dados de ensaios de fitotoxicidade realizados com tomate para solos contaminados após atenuação natural.

Amostras	Tempo de tratamento (dias)	Ponto de coleta	Sementes de tomate	
			Germinação (%)	Altura média do caule (cm)
Solo contaminado com óleo diesel (B0) naturalmente atenuado	20	Superfície	0	-
		Mistura ^{*1}	7	-
	40	Superfície	14	1
		Mistura	14	-
	60	Superfície	7	1
		Mistura	14	-
Solo contaminado com óleo diesel (B4) naturalmente atenuado	20	Superfície	7	-
		Mistura	0	-
	40	Superfície	18	1
		Mistura	0	-
	60	Superfície	7	1
		Mistura	0	-
Solo virgem	-	-	62	5
Controle positivo ^{*2}	-	Mistura	100	10
Controle abiótico ^{*3} (diesel)	-	Mistura	0	-
Controle abiótico ^{*4} (diesel/biodiesel)	-	Mistura	0	-

^{*1} Mistura dos solos nas camadas de 40 e 60 cm de profundidade; ^{*2} Controle positivo= solo comercial próprio para cultivo de plantas; ^{*3} Controles abióticos= solo contaminado adicionado do biocida azida de sódio.

Comparativamente, o solo contaminado apenas com óleo diesel (B0) apresentou maior germinação de sementes e maior crescimento das plantas de tomate para as amostras retiradas tanto da superfície quanto na mistura das camadas de maior

profundidade (40 e 60 cm). No caso do solo contaminado com óleo diesel B4, somente as amostras superficiais do solo (20 cm) propiciaram germinação e crescimento. Logo, na possível remoção de hidrocarbonetos para o solo contaminado com diesel/biodiesel, os compostos resultantes do processo de biodegradação não atingiram o mesmo grau de decomposição da ocorrida no solo contaminado com diesel; daí, a maior toxicidade. A causa disto pode ser a baixa disponibilidade de nutrientes no solo.

5 | CONCLUSÕES

A atenuação natural (AN) do solo, artificialmente contaminado com óleo diesel puro (B0), resultou em crescente degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) ao longo de 60 dias, quando foi determinada uma remoção de cerca de 30%; embora as condições nutricionais e ambientais fossem desfavoráveis à atividade microbiana;

Comparativamente, o crescimento de bactérias heterotróficas totais (BHT) foi maior no solo contaminado com B0, enquanto que no solo contaminado com óleo diesel comercial B4 houve um aumento de BHC, o que sugere que a presença do biodiesel favorece a atividade microbiana;

A avaliação da toxicidade dos solos contaminados com B0 e B4, após atenuação natural, por meio de ensaios de fitotoxicidade com sementes de tomate, revelou a presença de compostos tóxicos, sendo o solo contaminado com B4 o mais tóxico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAM, G.; DUNCAN, H. J. Influence of diesel fuel on growth of selected plant species. (1999) **Environmental Geochemistry and Health**, v. 21, p. 353-357.
- ALVAREZ, V. *et al* (1999) Uso de gesso agrícola. In: RIBEIRO, A.C.; ALVAREZ, V.; GUIMARÃES, P.T.G. **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**, 5ª aproximação, RIBEIRO, A.C.; ALVAREZ, V.; GUIMARÃES, P.T.G., 359p.
- ARCHER, J.R. & SMITH, P.D. (1972) The relation between bulk density, available water capacity, and air capacity of soils. **J. Soil Sci.**, vol. 23, pp. 475-480.
- BAPTISTA, S. J. (2007) **Avaliação do emprego de biossurfactante na biorremediação de solos contaminados com óleo diesel**. Tese de D.Sc., EQ/UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, 141p.
- BARTLETT, R.J., JAMES, B.R. (1993) Redox chemistry of soil. **Advances in Agronomy**, New York, v. 50, p. 151-208.
- BENTO, F.M., CAMARGO, F.A.O., OKEKE, B.C., FRANKENBERGER, W.T. (2005) Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1049-1055.
- BONAVENTURA, C.; JOHNSON, F. M. (1997) Healthy environments for healthy people: Bioremediation today and tomorrow. **Environmental Health Perspectives**, 105: 5 – 20.
- BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, LOTUFO, J. G.; BARROS, M. T. L. DE; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. Introdução à Engenharia Ambiental. Prentice Hall, São Paulo, 305 p, 2002.
- BRASIL (1981) **Lei Federal** n. 6.939, de 31 de agosto de 1981. Define a política nacional do meio ambiente.
- BRASIL (2005) **Lei Federal** n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira, 2005.

- BRITTON, G. e C.P. GERBA. (1984). **Groundwater pollution microbiology**. John Wiley and Sons, New York.
- BRUNKEM, G.S.; SZARFAC, S.C. (1999) Ferro: metabolismo, excesso, toxicidade e recomendações. **Cadernos de Nutrição**, 18:23-34.
- CAMARGO, F.A.O., SANTOS, G.A., ROSSIELLO, R.O.P., *et al.* (1993) Produção de ácidos orgânicos voláteis pela planta de arroz sob condições anaeróbias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 337-342.
- CAMARGO, F.A.O.; SANTOS, G.A.; ZONTA, E. (1999) Alterações eletroquímicas em solos inundados, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 171-180.
- CARDOSO, L.C.S. (2004) - Logística do petróleo: transporte e armazenamento. Rio de Janeiro: **Interciência**, 192p.
- CETEM - **Centro de Tecnologia Mineral**. IT 2008-005-00: Guia rápido para uso do analisador de TOG/HTP por infravermelho, infracal, em amostras de solo. Instrução de trabalho, 2008.
- CETEM - **Centro de Tecnologia Mineral**. IT 2008-006-00: Determinação da Capacidade de Retenção de Água em Amostras de Solo. Instrução de trabalho, 2008.
- CETEM - **Centro de Tecnologia Mineral**. IT 2008-007-00: Método de determinação da densidade bulk em amostras de solo. Instrução de trabalho, 2008.
- CETEM - **Centro de Tecnologia Mineral**. IT 2008-008-00: Método de determinação da densidade de partículas em amostras de solo. Instrução de trabalho, 2008.
- CETEM - **Centro de Tecnologia Mineral**. IT 2008-009-00: Determinação da porosidade em amostras de solo. Instrução de trabalho, 2008.
- CETEM - **Centro de Tecnologia Mineral**. IT 2008-011-00: Método de determinação de pH em amostras de solo utilizando o medidor de pH modelo NA 2000 Analion. Instrução de trabalho, 2008.

- CETESB (2010) - **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental**. Secretaria do Estado do Meio Ambiente. São Paulo. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>, pesquisado em Janeiro 2010.
- CHAPELLE, F.H. (2000) **Ground-water microbiology and geochemistry**. Ed. New York, John Wiley and Sons *apud* MARTINS, A.; DINARDI, A.L.; FORMAGI, V.M.; LOPES, T.A.; BARROS, R.M.; CONEGLIAN, C.M.R.; BRITO, N.N.; SOBRINHO, G.D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. (2003) Biorremediação. III **Fórum de Estudos Contábeis**, Faculdades Integradas Claretianas, Rio Claro, SP.
- CRAFTS, A.S., REIBER, H. G. (1948). **Herbicidal properties of oils**. *Hilgardia* v. 20(19), p. 77-153, *apud* ADAM, G.; DUNCAN, H. J. (2002). Influence of diesel fuel on seed germination. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 363-370.
- DEMELLO, JARED A.; CARMICHAEL, CATHARINE A.; PEACOCK, EMILY E.; NELSON, ROBERT K.; AREY, SAMUEL J.; REDDY, CHRISTOPHER M. (2007). **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, pp. 894-904.
- DIAS, A. E. X. O. (2000) Biorremediação de áreas afetadas por resíduos sólidos tóxicos. In: SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA, R. M. (Org.) **Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 142 p.
- DRAGUN, J. 1998. **The soil chemistry of hazardous materials**. Massachusetts: Amherst Scientific Publishers Ed., 830 p.
- EPA. (2001) Innovative technology verification report field measurement technologies for TPH in soil. **Horiba instruments incorporated – OCMA-350 oil content analyzer**. Washington D.C., EPA/600/R-01/089.
- FERREIRA, M.M., DIAS JR., M.S. (2001) **Física do solo**. Lavras: UFLA/FAEPE. 117p.
- FOLLIS, P.A. (1994) An Investigation into the biodegradability of soy diesel under various environmental conditions. Masters Thesis. **School of Natural and Environmental Sciences**, Dusquesne University. 58p.

- FONSECA, M. R. M. (1992) **Química: química orgânica**. São Paulo: FTD, 368 *apud* OLIVEIRA, S.D. (2008b). **Avaliação das técnicas de bioaumento fúngico e bioestímulo em processos de biorremediação utilizando solo contaminado por petróleo**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Escola de Química/UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, 140p.
- FOTH., H. D., (1990) **Fundamentals of soil science**, 8th ed. John Wiley & Sons, ISBN 0-471-52279-1
- GOMES, N.M. (2005) **Variabilidade espacial de atributos físico-hídricos do solo da sub-bacia hidrográfica do Ribeirão Marcela na região do Alto Rio Grande, MG**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras. 124p.
- IWAMOTO, T.; NASU, M. (2001) Current Bioremediation Practice and Perspective. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 92, nº 1, p.1-8.
- HUTZINGER, O. & VERCAMP, W. (1981). **Microbial degradation of Xenobiotics and Recalcitrant Compounds**. London: Academic press.
- JARAMILLO, I. R. (1996) **Fundamentos teóricos-práticos de temas selectos de la ciencia del suelo**. Universidade Autónoma Metropolitana, México.
- KIEHL, JE. (1979) **Manual de edafologia: relações solo-planta**. São Paulo, Editora Agrônômica Ceres, 264p.
- KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J., RAMOS, L. P. (2006). **Manual do Biodiesel**. Ed. Edgard Blücher, 340p.
- LEITE, W.C.A. (1995) **Resíduos sólidos urbanos: contribuição para gerenciamento**. In: TAUKTOMISIELO, S.M. et al. (Orgs) **Análise Ambiental: estratégias e ações**. São Paulo: T. A. Queiroz Editora Ltda.
- LEAHY, J. G., COLWELL, R. R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. **Microbiological Reviews**, v.54 (3), p.305-315.

- LEMOS, R.C. & SANTOS, R.D. (1984) Manual de descrição e coleta de solo no campo. Campinas, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 46p.
- MAKAREVICIENE, V.; JANULIS, P. (2003) Environmental Effect of Rapeseed Oil Ethyl Ester. **Renewable Energy**, v.28, pp. 2395-2403.
- MENEGHETTI, L. R. R. (2007) **Bioremediação na descontaminação de solo residual de basalto contaminado com óleo diesel e biodiesel**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) Faculdade de Engenharia e Arquitetura, UPF, Passo Fundo, RS, 112p.
- MOLLEA, C.; BOSCO, F. & RUGGERI, B. (2005) Fungal biodegradation of naphthalene: microcosms studies. **Chemosphere**, Jul.60(5):636-43.
- MOREIRA, F.M.S., SIQUEIRA, J.O. (2006) Microbiologia e bioquímica do solo. 2ª Ed. Lavras: UFLA/FAEPE, 729p.
- MUDGE, S.M.; PEREIRA, G. (1999). Stimulating the Biodegradation of Crude Oil with Biodiesel Preliminary Results. **Spill Science & Technology Bulletin**, Vol. 5, No. 5/6, pp. 353-355.
- MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N. Natural attenuation of contaminated soils. **Environment International**, v.30, p. 587– 601, (2004).
- NEWMAN, A. (1993) Growing your own diesel fuel. **Environmental Science Technology** 27, 427.
- NYER, E.K. (1998) In: Groundwater and soil remediation: practical methods and strategies. Ann Arbor Press, Michigan *apud*
- ROSADO, A. (2005) **Microbiologia e Biorremediação de Petróleo e Derivados**. Rio de Janeiro: Núcleo de Ciências Ambientais/UFRJ, 62 p.
- OLIVEIRA I.P. de, Cunha R., R. Santos, S. M. dos, Faria, C. D. de e Cunha, G. F. da (2000) Efeito da correção da fertilidade do solo no desenvolvimento da *brachiaria brizantha* cv. marandu em latossolo com diferentes históricos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 30(1): 57-64, jan./jun. 2000 .
- OLIVEIRA, S.D. (2008b) **Avaliação das técnicas de bioaumento fúngico e bioestímulo em processos de biorremediação**

utilizando solo contaminado por petróleo. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Escola de Química/UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, 140p.

- OWSIANIAK, MI.; CHRZANOWSKI, Ł.; SZULC, A.; STANIEWSKI, J.; OLSZANOWSKI, A.; OLEJNIK-SCHMIDT, A. K.; HEIPIEPER H. J. (2009) Biodegradation of diesel/biodiesel blends by a consortium of hydrocarbon degraders: Effect of the type of blend and the addition of biosurfactants. **Bioresource Technology** 100 p. 1497-1500.
- PEDRON, F. de A.; DALMOLIN, R. S. D.; AZEVEDO, A. C. et al. (2004) Solos Urbanos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, 1647-1653,.
- PRADO, H. (1995) **Solos tropicais - potencialidade, limitações, manejo e capacidade de uso.** Piracicaba, 166p.
- PONNAMPERUMA, F.N. (1972) The chemical of submerged soil. *Advances in agronomy*, v.24, p.29-96.
- RIBEIRO, A. C. (2009) **Potencial da *acacia holocericea* e da *mimosa caesalpiniiifolia* em fitorremediar solo tropical contaminado com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.** Tese de Doutorado Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, XI, 200 p.
- RODRIGUES, S.; DUARTE, A. C. (2003) Poluição do solo: revisão generalista dos principais problemas. In: CASTRO, A., DUARTE, A., SANTOS, T. (Ed.). **O Ambiente e a Saúde.** Lisboa, Instituto Piaget, pp. 136-176.
- SCOW, K.M., HICKS, K.A. (2005) Natural attenuation and enhanced bioremediation of organic contaminants in groundwater. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p.1-8.
- SEABRA, P.N.C. (1997) **Uso de tensoativos na mobilização e biodegradação de óleo diesel em solos impactados.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro.
- SILVA, L.F. da (1996) **Solos Tropicais. Aspectos pedológicos, ecológicos e de manejo.** Ed. Terra Brasilis, 137p.

SORIANO, A. U. (2001) RT 08/2001 CETEM/MCT: Tratamento de solos argilosos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. Relatório de Atividades Apresentado ao CNPq, Processo no 300479/99-9, Área – Engenharia Química. *apud* RIZZO, A.C.L. (2008). **Desenvolvimento de biorreator não convencional para o tratamento de solos contaminados por petróleo.** Tese (doutorado) – UFRJ/ Escola de Química/Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Rio de Janeiro, 188 p

TELHADO, M.C.S.C.L., (2009). **Avaliação da biodisponibilidade de contaminante orgânico em solo.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Escola de Química/UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, 115p.

THOMAS, J.E., TRIGGIA, A.A., CORREIA, C.A., VEROITTI FILHO, C., XAVIER, J.A.D., MACHADO, J.C.V., SOUZA FILHO, J.E., PAULA, J.L., DE ROSSI, N.C.M., PITOMBO, N.E.S., GOUVEIA, P.C.V.M., CARVALHO, R.S., BARRAGAN, R.V. (2001) Fundamentos de engenharia de **petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência/PETROBRAS, 271p.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – (USEPA) (1999.). Directive 9200.4-17P: **Use of Monitored Natural Attenuation at Superfund, RCRA Corrective Action, and Underground Storage Tank Sites.** Disponível em: <<http://www.epa.gov/oust/directiv/d9200417.pdf>>. Acesso em julho de 2010.

VECCHIOLI, G.L.; DEL PANNO, M.T.; PAINCEIRA, M.T. (1990) Use of selected autochthonous soil bacteria to enhance degradation of hydrocarbons in soil. **Environmental Pollution**, vol. 67 , pp. 249-258.

VIEIRA, T.M.; SILVA, E.P.; ANTONIOSI FILHO, N.R.; VIEIRA, J.D.G. (2006) Determinação e quantificação da degradação bacteriana de biodiesel de óleo de palma. **I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel.** Brasília/DF. www.camara.sp.gov.br, acessado em Maio de 2010.

SITES acessados:

www.diariodocomercio.com.br, acessado em fevereiro de 2010.

www.biodiesel.gov.br, acessado em março de 2010.

SÉRIES CETEM

As Séries Monográficas do CETEM são o principal material de divulgação da produção científica realizada no Centro. Até o final do ano de 2010, já foram publicados, eletronicamente e/ou impressos em papel, cerca de 200 títulos, distribuídos entre as seis séries atualmente em circulação: Rochas e Minerais Industriais (SRMI), Tecnologia Mineral (STM), Tecnologia Ambiental (STA), Estudos e Documentos (SED), Gestão e Planejamento Ambiental (SGPA) e Inovação e Qualidade (SIQ). A Série Iniciação Científica consiste numa publicação eletrônica anual.

A lista das publicações poderá ser consultada em nossa homepage. As obras estão disponíveis em texto completo para download. Visite-nos em <http://www.cetem.gov.br/series>.

Últimos números da Série Tecnologia Ambiental

STA-57 - **Resíduos de origem eletrônica.** Fábio Henrique Silva dos Santos e Carlos Eduardo Gomes de Souza, 2010.

STA-56 - **Avaliação da biodisponibilidade de contaminantes orgânicos em solo contaminado.** Maria Clara S. C. L. Telhado, Selma Gomes Ferreira Leite, Andréa Camardella de Lima Rizzo, Danielle Reichwald e Cláudia D. da Cunha, 2010.

STA-55 - **Utilização de resíduos oriundos do corte de rochas ornamentais na correção da acidez e adubação de solos tropicais.** Ramires Ventura Machado, Roberto Carlos da C. Ribeiro, Felipe Vaz Andrade, Renato Ribeiro Passos e Luiz Felipe Mesquita, 2009.

STA-54 - **Aplicação de resíduos de mármore na produção de cosméticos.** Carolina Nascimento de Oliveira, Roberto Carlos da Conceição Ribeiro e Joedy Patrícia Cruz Queiroz, 2010.

INFORMAÇÕES GERAIS

CETEM – Centro de Tecnologia Mineral
Avenida Pedro Calmon, 900 – Cidade Universitária
21941-908 – Rio de Janeiro – RJ
Geral: (21) 3867-7222
Biblioteca: (21) 3865-7218 ou 3865-7233
Telefax: (21) 2260-2837
E-mail: biblioteca@cetem.gov.br
Homepage: <http://www.cetem.gov.br>

NOVAS PUBLICAÇÕES

Se você se interessar por um número maior de exemplares ou outro título de uma das nossas publicações, entre em contato com a nossa biblioteca no endereço acima.

Solicita-se permuta.

We ask for interchange.