



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR  
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AMBIENTAL  
CÂMPUS DE POMBAL- PB**

**TÉCNICAS DE BIORREMEDIAÇÃO EM PEQUENA ESCALA DE SOLO  
CONTAMINADO COM RESÍDUO OLEOSO VEGETAL**

**KELIANE DE OLIVEIRA E SILVA**

**POMBAL – PB**

**2016**

KELIANE DE OLIVEIRA E SILVA

**TÉCNICAS DE BIORREMEDIAÇÃO EM PEQUENA ESCALA DE SOLO  
CONTAMINADO COM RESÍDUO OLEOSO VEGETAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientador(es):

Prof. Dr. CAMILO ALLYSON SIMÕES DE FARIAS

Prof. Dr. JOSÉ CLEIDIMÁRIO ARAÚJO LEITE

POMBAL – PB

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

S586t Silva, Keliane de Oliveira e.  
Técnicas de biorremediação em pequena escala de solo contaminado com resíduo oleoso vegetal / Keliane de Oliveira e Silva. – Pombal, 2016.  
78f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental)  
– Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e  
Tecnologia Agroalimentar.

"Orientação: Prof. Dr. Camilo Allyson S. de Farias, Prof. Dr. José  
Cleidimário A. Leite".

1. Resíduos Sólidos. 2. Solos Contaminados - Biorremediação. 3.  
Resíduos Oleosos Vegetais. I. Farias, Camilo Allyson S. de. II. Leite, José  
Cleidimário A. III. Título.

CDU 628.312.1(043)

KELIANE DE OLIVEIRA E SILVA

**TÉCNICAS DE BIORREMEDIAÇÃO EM PEQUENA ESCALA DE SOLO  
CONTAMINADO COM RESÍDUO OLEOSO VEGETAL**

Aprovado em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ .

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.Dr. Camilo Allyson Simões de Farias  
(Orientador – CCTA/UFCG/Câmpus de Pombal-PB)

---

Prof. Dr. José Cleidimário Araújo Leite  
(Co-Orientador – CCTA/UFCG/Câmpus de Pombal-PB)

---

Profa. Dra. Adriana Silva Lima  
(Examinadora Interna – CCTA/UFCG/Câmpus de Pombal-PB)

---

Ms.Flaubert Queiroga de Sousa  
(Examinador Externo – Universidade Federal da Paraíba)

Este trabalho é dedicado a todas as mães que superam desafios todos os dias para buscar o melhor para seus filhos. Em especial, à minha heroína, Maria Goreth, por quem tenho um amor incondicional.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus em suas diferentes manifestações;

À minha família, pelo apoio, confiança e amor a mim depositados, em especial às minhas tias Augusta e Aurea por apostarem no meu futuro e acreditarem no meu potencial;

Ao Prof. Dr. Camilo Allyson Simões de Farias, pela orientação, incentivo e imensurável contribuição para a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. José Cleidimário Araújo Leite, pelos ensinamentos e pelo exemplo de ética e profissionalismo;

À Profa. Dra. Adriana Silva Lima pelo atendimento e disponibilidade, estando sempre disposta a ajudar;

A todos os técnicos que me ajudaram durante o trabalho, especialmente à Emanuel, Francisco e Tiago, pelos inúmeros ensinamentos e contribuições;

Ao meu namorado, Vinicius, e parentes, por terem me adotado como parte da família. Obrigada pelo amor, apoio e paciência nos momentos difíceis;

Às minhas queridas amigas Mikaele e Isabel, irmãs que quero levar pra vida toda. Obrigada por estarem sempre ao meu lado e por serem pessoas maravilhosas;

Aos meus queridos amigos, Thiago Lourenço e Nadiane Vieira, que apesar da distância, estão sempre presentes;

Às minhas mais novas amigas, em especial à Sayonara e Aretha pela contribuição no trabalho. Devo muito a vocês;

Aos meus colegas de curso, funcionários e professores do CCTA, pela amistosa convivência;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

O crescimento populacional trouxe consequências para o ambiente, provocando um aumento significativo na poluição. O descarte inadequado de resíduos perigosos, tais como os oleosos vegetais, por ser um resíduo de alto grau de contaminação, tem se destacado e preocupado a comunidade científica, fazendo com que se desenvolvam técnicas para remediar áreas contaminadas. E dentre as técnicas conhecidas, a biorremediação destaca-se por ser uma tecnologia que utiliza a biota para remediar áreas. Em vista disso, objetivou-se biorremediar solos contaminados com óleo vegetal residual, comparando-se diferentes técnicas de biorremediação e analisando-se a eficiência do tratamento em condições de solo e clima do semiárido paraibano. Para tal, compararam-se as técnicas de atenuação natural (ATN), bioestimulação com (BCN) e sem (BSN) a adição de nutrientes. O tratamento com a adição de nutrientes foi enriquecido com ureia e superfosfato simples, como fontes de nitrogênio (N) e fósforo (P). A proporção inicial utilizada para carbono (C), nitrogênio e fósforo foi de 100:10:1. As análises para o monitoramento foram: umidade, condutividade elétrica, sólidos voláteis, C:N, respirometria e óleos e graxas. Após seis dias do início do experimento, o tratamento com adição de nutrientes apresentou estruturas filamentosas macroscópicas que foram identificadas como fungos *Aspergillus niger*. Os tratamentos atenuação natural obteve uma taxa de remoção de óleo de 69,37%, enquanto que os tratamentos BSN e BCN atingiram um nível de remoção de óleo de 90,18% e 95,66% respectivamente. Os tratamentos adotados mostraram-se eficazes na remediação de solos contaminados com resíduos oleosos vegetais sob o clima e solo do ambiente semiárido escolhido neste estudo.

**Palavras-chave:** Bioestimulação; Poluição; Resíduo perigoso.

## ABSTRACT

Population growth brought consequences for the environment, causing a significant increase in pollution. Improper disposal of hazardous wastes such as vegetable oils, due to their high degree of pollution, has concerned the scientific community. This situation has enabled the development of techniques to remediate contaminated areas. Among the known techniques, bioremediation stands out for being a technology that uses the biota to remedy contaminated areas. In view of that, this study aims at verifying the bioremediation of soils contaminated with vegetable oil wastes considering different techniques under and the soil and climate conditions of a semiarid land located in Paraíba State, Brazil. In order to carry this out, we compared the following techniques: natural attenuation (ATN), and biostimulation with (BCN) and without (BSN) the addition of nutrients. The treatment with the addition of nutrients was supplemented with urea and superphosphate, as sources of nitrogen (N) and phosphorus (P). The initial rate used for carbon, nitrogen and phosphorus was 100:10:1. The monitoring analyses carried out were: moisture rate, electrical conductivity, volatile solids, C/N ratio, respirometry, and oils and greases. After six days of experiment, the treatment with additional nutrients presented macroscopic filamentous structures, which were identified as *Aspergillus niger*. The natural attenuation provided a 69.37% oil removal rate, while BSN and NCB treatments reached 90.18% and 95.66%, respectively. The treatments were effective for the remediation of contaminated soils with vegetable oil wastes under the soil and climate condition of the semiarid environment chosen for this study.

**Keywords:** Biostimulation; Pollution; Hazardous waste.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	10
<b>LISTA DE TABELAS</b>	Erro! Indicador não definido.
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	13
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	14
1.2 OBJETIVO	16
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	Erro! Indicador não definido.
2.1. CONTEXTUALIZAÇÃO GERAL DA PROBLEMÁTICA AMBIENTAL	17
2.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE RESÍDUOS SÓLIDOS	18
<b>2.2.1 Resíduos Sólidos: conceito e classificação</b>	18
2.3 ASPECTOS AMBIENTAIS DOS RESÍDUOS OLEOSOS	19
<b>2.3.1 Óleo Vegetal: características gerais e principais impactos</b>	20
<b>2.3.2 Logística Reversa Aplicada à Resíduos Oleosos</b>	21
2.4 MÉTODOS DE TRATAMENTO PARA OS RESÍDUOS SÓLIDOS OLEOSOS	22
2.5 REMEDIAÇÃO	23
<b>2.5.1 Tipos de Remediação</b>	24
<b>2.5.2 Biorremediação</b>	25
2.6 FATORES INTERVENIENTES NO PROCESSO DE BIODEGRADAÇÃO	28
<b>2.6.1 Aeração e Umidade</b>	28
<b>2.6.2 Nutrientes</b>	29
<b>2.6.3 Potencial Hidrogeniônico (pH)</b>	30
<b>2.6.4 Temperatura</b>	30
2.7 SOLO	35
<b>2.7.1 Componentes do Solo</b>	36
<b>2.7.2 Microrganismos do Solo</b>	37
• Bactérias	38
• Fungos	39
• Actinomicetos	40
• Consórcios microbianos	40
<b>3 METODOLOGIA</b>	41
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO UTILIZADO	41

3.1.1	Local de Coleta do Solo _____	41
3.3	CONDICIONAMENTO DO EXPERIMENTO _____	51
3.4	PARÂMETROS DE MONITORAMENTO DA MISTURA _____	52
3.4.1	Condutividade Elétrica _____	52
3.4.2	Umidade _____	52
3.4.3	Concentração de Óleos e Graxas _____	53
3.4.4	Avaliação da atividade microbiana _____	54
3.4.5	Concentrações de Carbono e Nitrogênio _____	56
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA _____	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO _____	57
4.1	DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO SOLO _____	57
4.2	PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS _____	64
4.2.1	Ocorrência de <i>Aspergillus niger</i> _____	64
4.2.2	Respirometria _____	65
4.3	PORCENTAGEM DE DEGRADAÇÃO DE ÓLEO TOTAL _____	67
5	CONCLUSÕES E SUGESTÕES _____	70
6	SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS _____	71
	REFERÊNCIAS _____	72

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema geral das etapas para definição e implementação de um processo de biorremediação. _____	27
Figura 2. Local de coleta do solo. _____	41
Figura 3. (a) Adição da amostra de solo ao equipamento de análise granulométrica e (b) agitação de peneiras. _____	42
Figura 4. (a) Pesagem das amostras para serem diluídas (b) Amostras dissolvidas e (c) Leitura do ph em phmetro digital. _____	43
Figura 5. (a) Balão Volumétrico com solo seco (b) Balão volumétrico com álcool etílico. ____	44
Figura 6. Cadinhos com amostra de solo pós mufla. _____	45
Figura 7. (a) Balança determinadora de Umidade e (b) Balança após o processo de secagem _____	46
Figura 8. (a) Agitador de erlenmeyes e (b) Leitura do condutivímetro. _____	47
Figura 9. Aspecto do resíduo utilizado _____	48
Figura 10. Balão volumétrico de 50 ml com o resíduo oleoso para a determinação da densidade. _____	49
Figura 11. a) Medida de Ureia e Superfosfato adicionadas em cada repetição e (b) Adição de Nitrogênio e Fósforo ao solo _____	52
Figura 12. (a) Aparelho Soxhlet (b) Tubos coletores com óleo extraído _____	53
Figura 13. (a) Lupa utilizada na visualização das estruturas e (b) Microscópio utilizado para a visualização dos microrganismos. _____	54
Figura 14. (a) Recipientes com o material para análise de respirometria e (b) Tubos fechados para o tempo de incubação (c) Titulação da amostra de Hidróxido de Sódio. ____	55
Figura 15. Volume de água utilizada em casa tratamento ao longo do processo. _____	59
Figura 16. Comportamento da condutividade elétrica nos tratamentos em função do período de remediação. _____	60
Figura 17. (a) Comportamento do Carbono após o processo de biorremediação e (b) Comportamento do Nitrogênio após o processo de biorremediação. _____	60
Figura 18. Variação de Sólidos voláteis (%) ao longo do tempo a partir do 10º dia de tratamento. _____	63
Figura 19. (a) Estruturas esbranquiçadas observadas macroscopicamente (b) Visão das estruturas esbranquiçadas por lupa (c) Visão dos esporos do fungo <i>Aspergillus flavus</i> . ____	64

Figura 20. (a) Visão macroscópica do fungo <i>Aspergillus niger</i> (b) Visão dos esporos de <i>Aspergillus niger</i> por lupa (c) Visão microscópica do esporo do <i>Aspergillus niger</i> ._____	65
Figura 21. Carbono liberado ao longo do tempo de tratamento. _____	66
Figura 22. Produção de carbono acumulada ao longo do processo de biorremediação.____	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Vantagens e desvantagens da tecnologia de <i>Bioventing</i> . _____	32
Tabela 2. Parâmetros utilizados para caracterização do resíduo oleoso. _____	48
Tabela 3. Parâmetros físicos do solo estudado. _____	57
Tabela 4. Valores dos parâmetros químicos do solo estudado. _____	58
Tabela 5. Teste de médias para Carbono. _____	61
Tabela 6. Taxas de remoção de óleo (%) dos tratamentos após 20 dias do processo de biorremediação. _____	67
Tabela 7. Resultado do teste de médias para a remoção de óleo _____	68

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

ATN: Atenuação Natural

BCN: Bioestimulação Com Nutrientes

BSN: Bioestimulação Sem Nutrientes

CCTA: Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar

CE: Condutividade Elétrica

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente

CRA: Capacidade de Retenção de Água

DIC: Delineamento Inteiramente Casualizado

DP: Densidade de Partículas

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária

IFPB: Instituto Federal da Paraíba

LABRES: Laboratório de Resíduos Sólidos

OG: Óleos e Graxas

PNRS: Política Nacional de Resíduos Sólidos

SVE: Extração de vapores do solo

UFCG: Universidade Federal de Campina Grande

## 1. INTRODUÇÃO

O nosso planeta vem sofrendo significantes alterações causadas pelo crescimento populacional e conseqüente aumento do consumo de recursos naturais. Com isso, o aumento desordenado de resíduos produzidos causa prejuízos à saúde da população e ao próprio meio, seja urbano e/ou rural. A degradação do meio ambiente atribuída à disposição indevida de resíduos sólidos tem causado grande preocupação à comunidade científica e à população. Na atualidade, é possível observar que há uma maior conscientização, uma busca por mitigar esses impactos e dispor adequadamente os resíduos, ou seja, de forma que afete o mínimo possível a qualidade do meio ambiente (THODE FILHO et al., 2015; KRENCZYNSKI, 2000).

Como consequência da pressão popular, tecnologias voltadas para o tratamento dos resíduos, sobretudo os perigosos, têm sido desenvolvidas. Entre estas tecnologias, estão os processos biológicos. Existem diversas alternativas para tentar minimizar problemas de contaminação ambiental com este tipo de biotecnologia, como por exemplo, o uso de técnicas de biorremediação.

A biorremediação é uma tecnologia em que organismos vivos (microrganismos ou plantas) são utilizados para remover ou reduzir contaminantes no ambiente (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005). Os resíduos oleosos estão entre os contaminantes mais perigosos, pelo seu alto grau de poluição e por não possuir uma legislação específica que regulamente a coleta e o tratamento destes resíduos (RODRIGUES JÚNIOR; MELLO; BARBOSA, 2013). É possível evidenciar ainda mais esta necessidade, quando, no Brasil, são descartados nove bilhões de litros de óleo de fritura por ano, mas apenas 2,5% de todo esse óleo é reciclado (SANTOS, 2009).

A inexistência de regulamentação favorece que o descarte de óleos aconteça de acordo com a escolha do usuário, resultando no despejo em pias e vasos sanitários, que, por fim, atingem os sistemas de esgotos. Deste modo, é possível dizer que o Brasil está legalmente atrasado com relação à gestão destes resíduos, se comparados a países como Alemanha, Holanda, Estados Unidos, França e

Japão, que possuem leis que estabelecem a maneira apropriada de descarte (RODRIGUES JÚNIOR; MELLO; BARBOSA, 2013).

Outro motivo que pode agravar ainda mais esse problema é o aumento do consumo de óleos, principalmente o vegetal, como consequência de sua praticidade, por constituir uma das formas mais rápidas de preparo de alimentos (GOMES et al., 2013). Apesar do aumento no consumo industrial, é na alimentação que cerca de 80% dos óleos são consumidos (NUNES, 2007).

O crescimento do consumo, a sua menor vida útil e os impactos significativos causados pelos óleos vegetais evidenciam a problemática relacionada com estes resíduos. Logo, deveriam ser obrigatoriamente recolhidos e destinados de forma adequada, com o objetivo de minimizar os possíveis efeitos negativos.

Caso o resíduo oleoso seja recolhido, é possível apontar destinações adequadas, como a produção de biodiesel, tintas, óleos para engrenagens, sabão, detergentes, entre outros (WILDNER e HILLIG, 2012). No entanto, se o destino não for o recolhimento, o óleo vegetal pode comprometer o funcionamento das estações de tratamento de esgoto, se lançado na rede pública. Caso sejam jogados no solo, os óleos podem degradar a vegetação e os microrganismos e podem atingir o lençol freático (GOMES et al., 2013).

Neste sentido, é preciso diversificar as alternativas de tratamento destes resíduos, de forma que sejam eficazes e financeiramente atrativas. A atividade biológica, por exemplo, pode ser considerada, pois representa a maioria dos processos de transformação de contaminantes orgânicos no solo, embora mecanismos físicos e químicos possam proporcionar significativos avanços para alguns compostos (REGINATTO; COLLA; THOMÉ, 2012).

Entre as principais vantagens do emprego de processos biológicos, está o seu baixo custo quando comparado aos processos convencionais, pois é conduzido com baixo consumo de energia e causa poucas mudanças nas características físicas, químicas e biológicas do local onde são aplicados (SILVA, 2009). Contudo, alguns requisitos operacionais devem ser rigorosamente obedecidos de modo a se obter significativas taxas de biodegradação (ABNT, 1997).

Desta forma, a biorremediação de óleo vegetal residual pode ser considerada como uma alternativa, útil para quando não houver a prevenção apropriada e o

resíduo entrar em contato com o ambiente. Neste contexto, o presente trabalho visa avaliar e técnicas de biorremediação na biodegradação de solo contaminado com óleo vegetal em experimento de pequena escala realizado em um ambiente semiárido.

## 1.2 OBJETIVO

Aplicar técnicas de biorremediação em pequena escala para o tratamento de solos contaminados com resíduos oleosos de origem vegetal no semiárido paraibano.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. CONTEXTUALIZAÇÃO GERAL DA PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

Após a segunda metade do século XX, a humanidade começou a se preocupar com o planeta onde vive. Problemas ambientais como o aquecimento global e os buracos na camada de ozônio evidenciaram os prejuízos que os seres humanos têm causado no meio ambiente, aumentando o interesse da sociedade sobre a questão da geração e destinação final dos resíduos. Na primeira década do século XXI, essa questão tem sido enfrentada com urgência (HEMPE; NOGUEIRA, 2012).

Ainda segundo Hempe e Nogueira (2012), os resíduos sólidos urbanos são a consequência do crescimento populacional e do consumo. Quanto ao consumo, o período do homem no planeta pode ser dividido em duas épocas: A primeira época, durante o aparecimento do homem até a revolução agropastoril, onde a grande maioria dos resíduos produzidos eram de origem alimentar, e a segunda época que foi iniciada com a revolução industrial, onde criou-se a necessidade de produzir muito e rápido. Esse enorme aumento de produtividade só é possível em função da utilização de equipamentos mecânicos, da energia a vapor e, posteriormente, da eletricidade.

Com a produção mais eficiente, os produtos baratearam, estimulando o consumo, e criando muitas consequências. O crescimento do consumo estimulou o êxodo rural e o crescimento desordenado das cidades, agravando à problemática da poluição ambiental (HEMPE; NOGUEIRA, 2012).

Segundo a Política Nacional de Meio Ambiente (Lei n.º 6.938/81), a poluição ambiental é entendida como:

“a degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente:

- a) prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população;
- b) criem condições adversas às atividades sociais e econômicas;
- c) afetem desfavoravelmente a biota;
- d) afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente; e
- e) lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos.”

Por causa do aumento da poluição, a concentração de substâncias prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana alcançaram níveis elevados,

trazendo prejuízos a população e tornando o meio ambiente um assunto de interesse público, em países desenvolvidos e em desenvolvimento (OLIVEIRA, 2005). Desta forma, estes problemas acabam dando evidência à preocupação com o meio ambiente, ou seja, “a circunvizinhança em que uma organização opera e executa suas funções operacionais, incluindo ar, água, solo, recursos naturais, flora, fauna, seres humanos e suas inter-relações” (ABNT, 2004 p. 04).

## 2.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE RESÍDUOS SÓLIDOS

### 2.2.1 Resíduos Sólidos: conceito e classificação

Atualmente, o aumento da geração de resíduos sólidos é um dos problemas mais graves enfrentados em nosso planeta, uma vez que a mesma é incompatível com a capacidade de depuração do meio ambiente (SALLES, 2010).

O termo resíduo tem origem do latim *residuo* e significa resto (OLIVEIRA, 2005). O resíduo sólido é conceituado, de acordo com a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), como:

Material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade, a cuja destinação final se procede, se propõe proceder ou se está obrigado a proceder, nos estados sólido ou semissólido, bem como gases contidos em recipientes e **líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d'água**, ou exijam para isso soluções técnica ou economicamente inviáveis em face da melhor tecnologia disponível (PNRS, 2010 grifo do autor);

Para que possam ser gerenciados adequadamente, os resíduos sólidos podem ser classificados, segundo a NBR 10.004/2004 (ABNT, 2004), de acordo com os riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública, como:

- Resíduos Classe I - Perigosos;
- Resíduos Classe II – Não perigosos;
- Resíduos Classe II A – Não perigosos e Não inertes.
- Resíduos Classe II B – Não perigosos e Inertes.

Os resíduos de Classe I apresentam periculosidade, podendo possuir as características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade.

Já os resíduos de Classe II são os não perigosos e constituídos pelos resíduos de restaurantes (restos de alimentos), sucatas de metais ferrosos e não ferrosos, resíduos de papel e papelão, resíduos de plástico polimerizado, resíduos de borracha, resíduo de madeira, resíduo de materiais têxteis, resíduos de minerais não-metálicos, areia de fundição, bagaço de cana e outros resíduos não perigosos (ABNT, 1987).

Os resíduos classificados como Classe IIA ou não perigosos e não inertes podem ter propriedades tais como biodegradabilidade, combustibilidade ou solubilidade em água (ABNT, 1987).

Por fim, os resíduos classificados como Classe II B ou não perigosos e inertes são, ainda de acordo com a NBR 10004 (1987), aqueles:

“resíduos que, quando amostrados de uma forma representativa, não tiverem nenhum de seus constituintes solubilizados a concentrações superiores aos padrões de potabilidade de água, excetuando-se aspecto, cor, turbidez, dureza e sabor.”

Desta forma, pode-se dizer que a maior preocupação está relacionada à disposição final dos chamados resíduos perigosos, não excluindo a importância da disposição final dos resíduos sólidos classificados como não perigosos, pois também geram problemas ambientais quando são dispostos de forma inadequada. Os resíduos perigosos são substâncias que implicam um risco ao ambiente, e principalmente aos seres vivos, e desta forma devem ter uma destinação final monitorada (OLIVEIRA, 2005).

### 2.3 ASPECTOS AMBIENTAIS DOS RESÍDUOS OLEOSOS

O potencial poluidor e contaminador de muitos dos resíduos perigosos é o que mais preocupa, pois são os que mais prejudicam o meio ambiente e a vida das pessoas. Dentre estes resíduos, os resíduos oleosos vegetais são apontados por alguns ambientalistas como uma das substâncias mais poluidoras do mundo, sendo considerada de potente grau de poluição (SALLES, 2010).

### **2.3.1 Óleo Vegetal: características gerais e principais impactos**

O óleo vegetal é proveniente das sementes de plantas oleaginosas. Os dois principais óleos vegetais processados e usados na indústria alimentícia são o óleo de soja e o óleo de palma. O óleo de soja é o mais utilizado no mundo. Sua cor é levemente amarelada, límpida, com odor e sabor suave característico. Apresenta alto teor de ácido linoléico (ômega 6), além de ácido oléico (ômega 9) e ácido linolênico (ômega 3). A sua composição molecular é formada pela união de glicerol e ácidos graxos insaturados chamados de triglicerídeos (SALLES, 2010).

Durante o processo de fritura, o óleo passa por mudanças químicas e físicas, fazendo com que tenha perdas nutricionais. Na fritura, há um maior contato entre o óleo, a água e o ar, iniciando o processo de degradação. O aquecimento prolongado leva a polimerização dos triacilgliceróis, aumentando a viscosidade do óleo e seu índice de acidez (SANTOS et al., 2009).

Os óleos são substâncias hidrofóbicas (insolúveis em água), porém são solúveis em solventes orgânicos. A característica de imiscibilidade e de possuir menos densidade que a água, faz com que, quando lançados em mananciais, eles emerjam na superfície. As películas oleosas que se formam na superfície podem reduzir, ou até mesmo acabar com a tensão superficial da água, além de delimitar a passagem da luz e do oxigênio na água, comprometendo a vida do ecossistema local (WILDNER; HILLIG, 2012)

Quando descartado na rede coletora de esgoto, os resíduos oleaginosos podem encrostar nas paredes dos tubos, agregando-se com outros resíduos no encanamento e formando um bloco rígido de difícil desobstrução, causando prejuízos (NASCIMENTO, 2010). Além disso, caso seja descartado pela rede de esgoto, aumenta o grau de poluição da água residuária, aumentando em até 45% os custos de tratamento (THODE FILHO et al., 2015).

Segundo Wildner e Hillig (2012), o óleo de cozinha pode emitir grandes concentrações de metano durante a sua decomposição, gás que é um dos grandes causadores do efeito estufa. O óleo que desce pelo ralo acaba chegando ao oceano pelas redes de esgoto. Quando entra em contato com a água do mar, o resíduo reage com o meio, fazendo com que se emita carbono.

Segundo Nogueira e Beber (2009 *apud* WILDNER; HILLIG 2012, p.6), se diretamente lançado ao solo, o óleo ocupa os espaços que seriam da água e do ar, provocando a impermeabilização. Como consequência, a biota presente é impedida de absorver nutrientes e acaba morrendo; as sementes não conseguem germinar; e o solo fica infértil.

Além deste tipo de descarte, muitas pessoas utilizam o lixo comum como destino para o óleo vegetal, que acaba indo para lixões ou aterros sanitários. Geralmente o lixo destinado para o aterro é compactado, e se o aterro não possuir uma proteção contra infiltrações, o óleo acaba contaminando o solo e o lençol freático (WILDNER; HILLIG, 2012).

### **2.3.2 Logística Reversa Aplicada à Resíduos Oleosos**

Segundo Nascimento (2010), “a logística trata-se de todos os processos que controlam, planejam e operacionalizam o fluxo de materiais e informações do ponto de origem até o consumidor final, de forma eficiente e econômica.” Logo, um sistema logístico bem planejado pode tornar a empresa mais competitiva no mercado, já que um de seus principais benefícios é a redução de custos.

As empresas utilizam com mais frequência em sua gestão a logística “direta”, onde o fluxo de materiais segue da aquisição da matéria-prima até o produto final chegar as mãos do consumidor. Porém, também existe a gestão do fluxo reverso, que é a logística em termos de canais reversos, que significa as operações relacionadas com a reutilização de produtos e materiais (SANTOS, 2009).

Desta forma, a logística reversa acaba sendo umas das soluções encontradas pelas empresas para reduzir e eliminar o impacto ambiental decorrente dos resíduos de produção, tornando-a uma importante ferramenta no gerenciamento dos resíduos sólidos (SOUZA; CAMARGO, 2005).

Apesar do óleo vegetal residual também ser considerado um resíduo perigoso, tal como os óleos lubrificantes, apenas estes últimos são obrigados por lei a serem recolhidos no processo de logística reversa, como é demonstrado na Resolução CONAMA nº 362, de 23 de junho de 2005, que dispõe sobre o

recolhimento, coleta e destinação final de óleo lubrificante usado ou contaminado. Esta resolução, em seu art 1º, diz que:

“Todo óleo lubrificante usado ou contaminado deverá ser recolhido, coletado e ter destinação final, de modo que não afete negativamente o meio ambiente e propicie a máxima recuperação dos constituintes neles contidos”.

Logo, é possível apontar uma lacuna relacionada a resíduos oleosos residuais, por não terem uma destinação final regulamentada em todo o território brasileiro.

Retornar o resíduo oleoso de fritura ao ciclo produtivo ao invés de ser lançado ao meio ambiente, além de ser ecologicamente correto, ainda beneficia economicamente os contribuintes brasileiros, pois, o preço oneroso para tratar a água contaminada com estes resíduos (cada litro de óleo vegetal é suficiente para contaminar vinte e cinco mil litros de água) é repassado em forma de imposto para a população (SANTOS, 2009).

Desta forma, a logística reversa pode ser uma solução para resíduos oleosos vegetais quando coletado, pois é uma forma preventiva para que estes não entrem em contato com a natureza, impactando-a.

De acordo com Santos (2009), o ciclo reverso utilizado por algumas empresas brasileiras é feito a partir da coleta do resíduo pelo consumidor, sendo armazenados em ecopontos (pontos de coleta de material reciclável), onde havendo uma quantidade razoável, a empresa é avisada, e ocorre a coleta. O recolhimento pode ser feito semanalmente, quinzenalmente ou até mensalmente.

## 2.4 MÉTODOS DE TRATAMENTO PARA OS RESÍDUOS SÓLIDOS OLEOSOS

É possível apontar uma grande variedade de processos físico-químicos e biológicos utilizados no tratamento de resíduos oleosos, como extração de vapores do solo (SVE), recuperação de produto livre, bioventilação, extração com solventes, incineração, torres de aeração, adsorção em carvão ativado, biorreatores, biorremediação “ex-situ” e “in-situ”, entre outros. Estes processos têm sido usados para remover contaminantes orgânicos de águas e solos (MENEGETTI, 2007).

Um dos métodos de tratamento para resíduos como os óleos vegetais é a utilização destes para a produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel, como mostrado no trabalho de Costa Neto et al. (2000). Estes autores produziram biocombustível através da transesterificação do óleo de soja proveniente de frituras, que foi utilizado no sistema de transporte coletivo de Curitiba obtendo resultados promissores, todavia, é necessário avaliar as consequências mecânicas que este biodiesel pode trazer, apontando assim a real eficiência e viabilidade deste combustível alternativo. Um dos pontos negativos do biodiesel é um preço de mercado superior ao diesel convencional, contudo, sendo o processo otimizado, a produção de biodiesel pode ser feita a um custo competitivo em relação ao preço comercial de óleo diesel (COSTA NETO et al., 2000).

O Biodiesel é um combustível não-tóxico, renovável e biodegradável (DUARTE, 2012). Dentre as vantagens do biodiesel do óleo residual em relações aos convencionais no ponto de vista ecológico, está na não emissão de compostos de enxofre, responsáveis pela chuva ácida. Além disto, são mais rapidamente degradados no meio ambiente por não possuir compostos aromáticos (SILVA, T., 2011).

Além da produção de biodiesel e a biorremediação, outro processo de tratamento que tem sido aplicado a este tipo de resíduo é a produção de sabão, processo em que o óleo passa a ter a capacidade de quebrar a molécula de gordura, deixando-a solúvel em água. Trata-se de um tratamento bastante viável, no entanto, pouco aplicado (WILDNER e HILLIG, 2012).

## 2.5 REMEDIAÇÃO

“Remediar”, segundo Accioly e Siqueira (2000), é “o ato de atenuar com remédio, reparar/corriger, ou minorar/atenuar uma situação indesejada, enquanto remédio é algo que combate, faz correção, soluciona, cura ou alivia um mal”. As técnicas de remediação são, por meio da engenharia, direcionadas a aumentar a sua eficiência em extração dos contaminantes, sendo elas baseadas em processos físicos, químicos e biológicos.

É possível citar como remediação físico-química o tratamento fotoquímico utilizado para tratar o chorume, como mostrado em Pacheco e Zamora (2004). Outro exemplo é a SVE, utilizado para remediar solos contaminados com compostos orgânicos voláteis, como os Btex (substâncias derivadas do petróleo, como a gasolina), como explicam Andrade, Augusto e Jardim (2010).

### 2.5.1 Tipos de Remediação

A remediação pode ser aplicada no próprio local poluído, sendo assim caracterizada como *in situ*; ou pode ser feita por meio da remoção do substrato, conhecida como remediação *ex situ*, onde o processo ocorre em instalações apropriadas (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000; MENEGHETTI, 2007).

- *In Situ*

A remediação "*in situ*" é o tratamento mais usado e estudado para o controle e descontaminação de aquíferos e solos contendo compostos orgânicos. Mesmo estando limitada por diversas dificuldades, este processo de remediação, que permite que o tratamento ocorra no próprio local, é um dos mais viáveis economicamente, pois reduz-se custos de remoção e transporte, não há contato de pessoas com o contaminante; quase nenhum resíduo é formado; e requer poucos equipamentos e mãos de obra (MENEGHETTI, 2007).

- *Ex situ*

Segundo Pereira e Freitas (2012), este tipo de remediação ocorre quando se tem a necessidade da retirada do solo do local de origem para ser tratado em um outro local pelo risco de contaminar pessoas ou o ambiente próximo. E também quando se faz necessária a utilização de técnicas como compostagem, biorreatores e outros, para que haja sua remoção.

## 2.5.2 Biorremediação

A remediação biológica, ou biorremediação, pode ser dividida em:

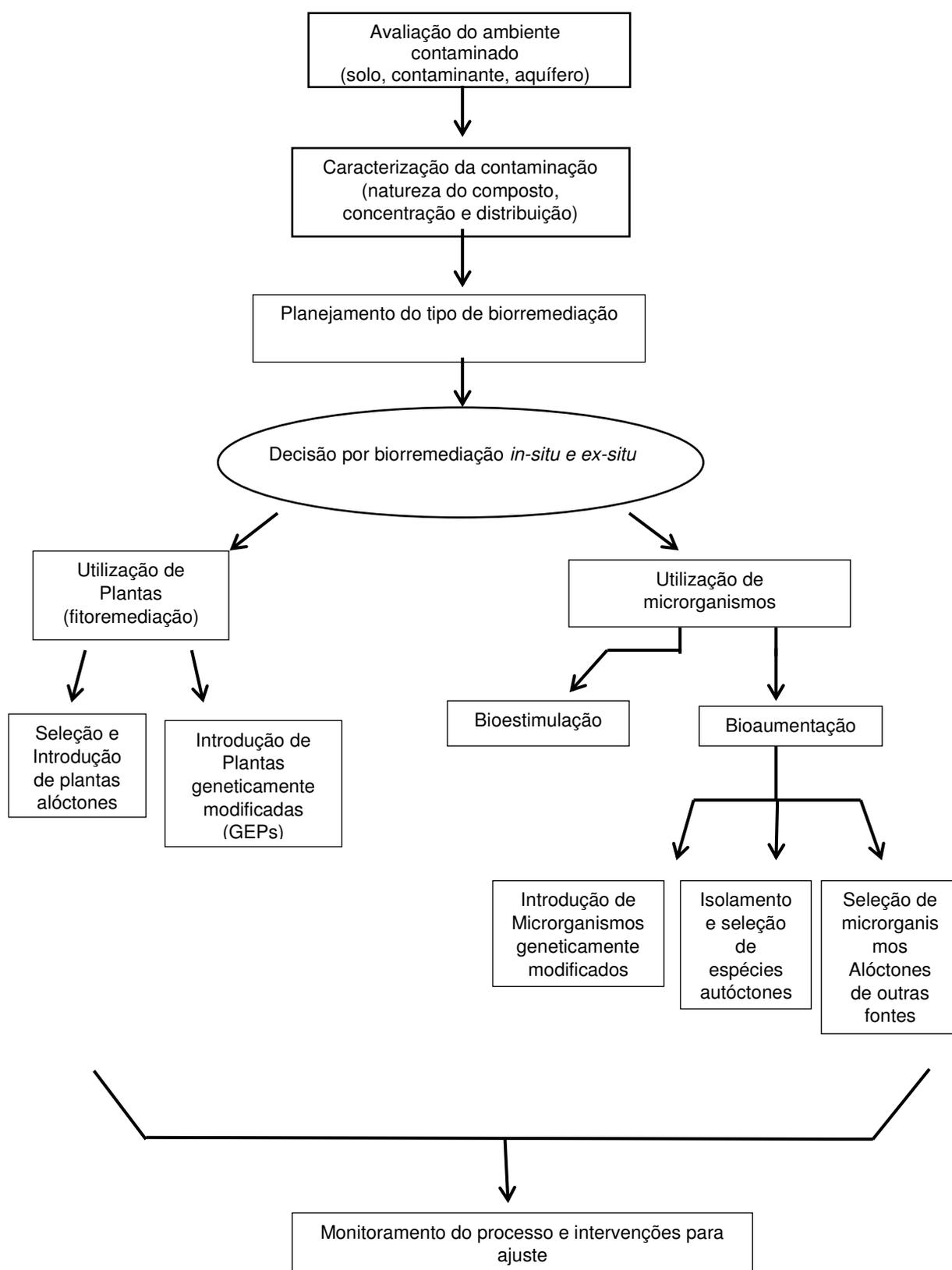
- Fitorremediação, que consiste na utilização de plantas específicas no intuito de se amenizar ou até mesmo despoluir totalmente áreas contaminadas (COUTINHO; BARBOSA, 2007). Coutinho e Barbosa (2007) demonstraram casos de neutralização de contaminantes com o auxílio de espécies vegetais de eucalipto, além de outros casos que se utilizou as espécies de *M. aterrinam*, *C.enziformis*, entre outros;
- Biorremediação microbiológica, onde os microrganismos são responsáveis pelo tratamento do contaminante. O maior potencial desta forma de biorremediação é no tratamento de contaminantes orgânicos biodegradáveis (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

Desta forma, pode-se dizer que este tipo de tratamento de solo contaminado consiste na transformação de compostos orgânicos simples ou complexos em formas sem riscos de contaminação (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000). Já segundo Meneghetti (2007), a biorremediação é um processo que usa microrganismos para o tratamento de contaminantes do solo, transformando-os em químicos orgânicos. Este mesmo autor também afirma que a biorremediação pode ser considerada como uma forma de preservar e controlar a poluição, baseando o processo de degradação microbiana e as reações químicas com processos de engenharia, a fim de que os contaminantes não ofereçam mais riscos ao ambiente.

É possível apontar inúmeras variações de tratamentos envolvendo a biodegradação, sendo aplicadas em diferentes tipos de ambientes contaminados, a maioria das estratégias se aplica aos tratamentos de superfície, enquanto algumas são específicas para solos e água subterrânea, que é o caso da bioventilação. As tecnologias de biorremediação aumentam o crescimento da população microbiana (bactérias aeróbicas ou anaeróbicas, fungos, actinomicetos e protozoários) e criam condições ótimas para promover a maior taxa de degradação possível (MENEGETTI, 2007). Ainda segundo Meneghetti (2007), para a escolha mais apropriada da técnica de biorremediação, é importante considerar as características do local contaminado, do tipo de contaminante, da natureza e propriedade do

poluente e do uso final do meio. Além disso, é preciso monitorar os parâmetros que possam limitar a biorremediação, como a umidade, aeração, temperatura, concentração de contaminantes, substratos e nutrientes. Na Figura 1 mostra-se as etapas para a implementação de um processo de biorremediação.

Figura 1. Esquema geral das etapas para definição e implementação de um processo de biorremediação.



Fonte: Adaptado de Gaylarde et al. (2005).

## 2.6 FATORES INTERVENIENTES NO PROCESSO DE BIODEGRADAÇÃO

A biodegradação pode ser afetada pelas condições ambientais de diversas maneiras, em dois diferentes níveis: influenciando o crescimento e a atividade microbiana e afetando as propriedades físicas e químicas dos poluentes. Logo, a otimização destas condições é uma etapa fundamental para o desenvolvimento de qualquer tecnologia adotada com este princípio de biodegradação de solos contaminados (RIZZO et al, 2007). Dentre estes fatores, pode-se citar a aeração, pH, umidade, temperatura e a concentração de poluentes (MENEGHETTI, 2007).

### 2.6.1 Aeração e Umidade

A aeração tem como objetivo suprir o ambiente com oxigênio, estimulando o crescimento de microrganismos aeróbios e viabilizando a biodegradação dos poluentes (SILVA, 2009). Logo, a presença de oxigênio é fundamental para a biodegradação efetiva de óleos (MENEGUETTI, 2007).

Segundo Cardoso (1992), a aeração e a umidade estão inversamente relacionadas, pelo movimento e substituição do ar e da água. Moreira e Siqueira (2002) explicam que gases e água competem pelo espaço poroso do solo. Desta forma, quando ele está parcialmente ou totalmente preenchido por água, a disponibilidade por gases para os microrganismos é menor.

As alterações na constituição do ar no solo governam o crescimento e atividade dos microrganismos, pois o CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> são necessários ao crescimento.

Meneguetti (2007) explica que do ponto de vista microbiológico, um solo bem arejado é o que possui a atividade de oxigenação máxima. Contudo, é pouco provável que a aeração do solo satisfaça toda a biota, devido a dificuldade de movimentação gasosa nos pequenos poros, baixa difusão de oxigênio em meio líquido e microambientes em que os microrganismos estão situados.

Segundo Brady (1989), a presença ou não de oxigênio dita a natureza dos processos de decomposição e a intensidade com que eles ocorrem. Quando há disponibilidade de oxigênio em forma de gás, desenvolvem-se microrganismos aeróbios. Quando não há disponibilidade de O<sub>2</sub> sobre a forma de gás, assumem os

microrganismos anaeróbios, que possuem uma decomposição muito mais lenta e produzem um produto diferente de decomposição comparada a que utiliza o oxigênio.

Nem todos os microrganismos necessitam a mesma quantidade de oxigênio e umidade. As bactérias por exemplo, necessitam de uma umidade elevada do ar no solo, que deve estar por volta de 98%, e que ocorre com uma umidade entre 50 e 75% da capacidade de retenção de água do solo. Já os fungos e principalmente os actinomicetos podem crescer e se desenvolver em solos bem mais secos (MENEGETTI, 2007).

### **2.6.2 Nutrientes**

Os microrganismos são os organismos vivos mais versáteis e diversificados em suas exigências nutricionais. Apesar de alguns se assemelharem aos organismos superiores nas suas necessidades de compostos orgânicos complexos, outros podem crescer com algumas poucas substâncias inorgânicas para sua nutrição (PELCZAR JR et al., 2009).

Para o processo de degradação, alguns nutrientes como o potássio, nitrogênio e fósforo são importantes para a atividade microbiana. A adição de nutrientes é feita para ter uma proporção ótima de carbono, nitrogênio e fósforo indicadas à biodegradação. É importante evitar a adição descontrolada destes nutrientes, para que não haja desequilíbrio ambiental causado pela eutrofização do local (SILVA, 2009).

Segundo Pelczar Jr. et al. (2009), o carbono é um dos elementos químicos mais necessários para o crescimento microbiano. Em geral, os compostos orgânicos são aqueles que contêm carbono, enquanto os compostos inorgânicos não contêm. Ele ainda é considerado por Tortora et al. (2007) essencial para a síntese de todos os compostos orgânicos necessários para a viabilidade celular, sendo considerado um elemento estrutural básico para os seres vivos.

Já o nitrogênio, que também é necessário para os microrganismos, é utilizado principalmente para sintetizar os grupamentos aminas, que estão presentes nos aminoácidos das proteínas. Muitas bactérias obtêm esse nutriente por meio da decomposição de matéria orgânica protéica, algumas delas através de íons amônia

(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e outras através de nitratos (TORTORA et al., 2007). Tortora et al. (2007) ainda explica que o fósforo é outro nutriente essencial, pois é importante para a síntese dos ácidos nucleicos e para os fosfolipídios, componentes da membrana celular.

### **2.6.3 Potencial Hidrogeniônico (pH)**

Uma substância pode ser ácida ou alcalina, depende da concentração de íons de hidrogênio. Esta é uma característica crítica para alguns microrganismos, pois geralmente, eles toleram somente uma certa variação desse parâmetro. A maioria das bactérias melhor se multiplicam em ambientes com pH variando entre 6,5 e 7,5. No entanto, existem bactérias que são capazes de se reproduzir em faixas mais amplas de pH. Já os fungos filamentosos e leveduras podem se reproduzir em variações ainda maiores de pH quando comparadas com as bactérias, porém seus valores considerados ótimos ficam entre pH = 5 e pH = 6. (PELCZAR JR. et al., 2009; TORTORA et al., 2007). No caso da biorremediação, a biodegradação é mais efetiva com o pH próximo da neutralidade (ROCHA; ALVES, 2013).

### **2.6.4 Temperatura**

A temperatura influencia muito na bioremediação. Afinal, os processos de crescimento de microrganismos são dependentes de reações químicas que são afetadas pela temperatura. Este aspecto físico pode afetar tanto a taxa de crescimento, como o tipo de reprodução (PELCZAR JR. et al, 2009). Além disto, este parâmetro têm efeito nas características físicas (solubilidade, sorção, volatilização) dos contaminantes presentes no solo (REGINATTO; COLLA; THOMÉ, 2012).

Segundo Pelczar Jr. et al. (2009), os microrganismos podem ser divididos em três grupos de acordo com a variação de temperatura na qual crescem melhor: psicrófilos, mesófilos e termófilos.

Os psicrófilos são microrganismos que crescem em baixas temperaturas (de 15 a 20°C). Existem bactérias, fungos, algas e protozoários que são classificados assim, e são encontrados em águas frias e solos (tais como os oceanos e regiões

polares). Dentre as bactérias, muitos psicrófilos são membros do gênero *Pseudomonas*, *Flavobacterium* e *Alcaligenes*. Os mesófilos são os que se multiplicam em temperaturas moderadas (20 a 40°C). São exemplos destes microrganismos as bactérias saprófitas, os fungos, as algas e os protozoários, pois crescem no limite mínimo de variação desta temperatura. Já os termófilos são os microrganismos que crescem em altas temperaturas (40 a 85°C), podem ser encontrados em áreas vulcânicas, em mistura de fertilizante e em nascentes quentes (PELCZAR JR. et al., 2009).

### **2.6.5 Tecnologias de biorremediação**

- *Atenuação natural*

Chamada de biorremediação intrínseca, ou também biorremediação passiva, é uma técnica que consiste em não intervir no local impactado, deixando os fenômenos naturais atuarem como agentes de remediação como explica Vidali (2001). O processo de atenuação natural do composto orgânicos é sujeito ao processo de intemperização natural, onde, não só os processos biológicos estão envolvidos, mas também, processos físicos e químicos são responsáveis pela redução da concentração de poluente no solo. Dentre estes processos, podemos citar a “lixiviação” que consiste no arraste vertical que ocorre pela infiltração da água, de partículas, dissolvidas ou em suspensão, da superfície do solo para as camadas mais profundas e a “volatilização” (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

Baptista e Rizzo (2004) explicam que este tipo de tratamento pode ocorrer de forma contínua, pois devido ao processo de adaptação natural da microbiota nativa, os microrganismos passam a utilizar o composto orgânico poluente como fonte de carbono, ocasionando assim uma redução da sua concentração ao longo do tempo. Este tipo de tratamento pode durar meses ou até anos, o que pode tornar necessária sua remoção e encaminhamento para o tratamento *ex situ* (apud SILVA, 2009).

- *Bioestimulação*

De acordo com Gaylarde et al (2005), a bioestimulação pode ser considerada a introdução de nutrientes (como Nitrogênio e Fósforo) ou surfactantes que estimulem as atividades microbianas ou a biodisponibilidade do poluente. Já segundo Andrade, Augusto e Jardim (2010), a bioestimulação ou Atenuação Natural Acelerada é uma opção de biorremediação que tem como objetivo instigar o crescimento microbiano nativo. Ou seja, a ideia fundamental é condicionar o local contaminado de forma a acelerar o processo de atenuação natural.

Para que haja a estimulação, é necessário promover alterações ambientais tais como: aerar o solo, monitorar e corrigir a umidade e pH, e adicionar nutrientes (TOMASSONI et al., 2014).

- *Bioventing*

A bioaeração ou bioventing é uma técnica que caracteriza-se pela adição de oxigênio no solo com o objetivo de estimular o crescimento dos microrganismos naturais e/ou introduzidos pela bioaugmentação (MENEGETTI, 2007).

Segundo EPA (2012), a bioventilação é o processo de biodegradação na zona não saturada realizada através da injeção de ar como fonte de oxigênio, permitindo o incremento da atividade aeróbica nativa, que utilizam o oxigênio e consomem os resíduos, produzindo substâncias não tóxicas como água e dióxido de carbono (apud ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

Tabela 1. Vantagens e desvantagens da tecnologia de *Bioventing*.

<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Baixo custo	Eficiente apenas em solos com alta permeabilidade
Trata grandes volumes de solo	Caracterização detalhada da área a ser tratada e do contaminante
	Mais eficiente para hidrocarbonetos

**Fonte:** Adaptado de SPILBORGHS (1997).

Segundo Meneghetti (2007), para o processo, utiliza-se baixas vazões de ar, suficientes apenas para manter a atividade microbiana. Na maioria dos casos, o oxigênio é fornecido pela injeção direta de ar no solo contaminado, onde ocorre também a biodegradação de compostos orgânicos voláteis, que se movem lentamente através do solo biologicamente ativado. Este autor ainda considera esta tecnologia promissora por estimular a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo no solo, por ser uma técnica de baixo custo e por necessitar de uso de poucos equipamentos e técnicos. No entanto, apresentam dificuldades na aplicação em solos argilosos.

- *Bioaugmentação*

Segundo Meneghetti (2007), a bioaugmentação envolve a inoculação no solo de microrganismos selecionados para a degradação de contaminantes específicos. Em geral, a bioaugmentação é mais apropriada para tratamentos de contaminantes muito recalcitrantes, em contaminações recentes e onde se pretende aplicar a degradação acelerada (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Spilborghs (1997) diz que a bioaugmentação é um processo de biorremediação que utiliza microrganismos não indígenas (alóctones) com o objetivo de acelerar ou estimular a degradação através da estimulação do crescimento microbiano. Este processo é considerado principalmente quando é identificada uma insuficiência de microrganismos indígenas (autóctones) para o tratamento do resíduo perigoso em questão.

Para que esta técnica tenha sucesso, os microrganismos necessários devem possuir: a capacidade de degradar a maioria dos contaminantes; estabilidade genética; alto nível de atividade enzimática e ter capacidade de competir com a população intrínseca do solo (BISOGNIN, 2012).

Segundo EPA (2004 apud Andrade, Augusto e Jardim, 2010), estes microrganismos não indígenas podem persistir e até reproduzirem por um tempo, participando ou não de interações e de transformações ecológicas.

- *Landfarming*

O método de *landfarming* consiste na disposição dos resíduos oleosos diretamente no solo, onde permanecem em processos de degradação biológica realizada pelos microrganismos presentes (OLIVEIRA, 2005). De acordo com a NBR n.º 13.894/1997 (ABNT, 1997), *landfarming* é conceituado como “método de tratamento onde o substrato orgânico de um resíduo é degradado biologicamente na camada superior do solo”.

Desta forma, pode-se assumir que *landfarming* é um processo de biorremediação, em que os microrganismos presentes no solo são responsáveis pela degradação ou inativação dos contaminantes por meio de técnicas previamente estabelecidas de manejo e gestão do solo. Estas técnicas incluem: aeração do solo, umidificação, adição de nutrientes e, em alguns casos, bioaugmentação com microrganismos previamente selecionados (SILVA, 2009).

O tratamento por “*Landfarming*” tem relativo sucesso em dissipar compostos de petróleo. O processo de degradação destes compostos no solo apresenta duas fases distintas: a primeira é rápida, e nela, a taxa de degradação é máxima, com grande atividade microbiana na fração mais lábil dos hidrocarbonetos (alifáticos e aromáticos de baixo peso molecular). Já a segunda fase é lenta, pois há frações remanescentes (estruturalmente mais complexos e recalcitrantes), tornando o processo mais demorado (NAKATANI, 2007).

- *Compostagem*

A compostagem “é um processo biológico aeróbico utilizado no tratamento e na estabilização de resíduos orgânicos para a produção de húmus” (PEREIRA NETO, 2007). Ainda segundo este autor, o processo é executado por uma diversificada população microbiana, que apresenta fases como a degradação ativa e a maturação ou cura. Durante a degradação ativa, a temperatura deve ser controlada a valores termofílicos, na faixa de 45 a 65°C. Na fase da maturação ou cura, quando ocorre a humificação da matéria orgânica, o processo deve permanecer na faixa mesofílica, ou seja, menor que 45°C.

A compostagem é considerada de baixo custo, pois envolve processos simplificados. Ela pode ser realizada em pátios, onde os materiais a serem tratados, denominados “massa de compostagem”, são depositos em montes de forma cônica ou prismática, dependendo da quantidade de material (PEREIRA NETO, 2007).

Este autor ainda explica que é necessário o controle de fatores que afetam o processo de compostagem, tais como: umidade, oxigenação, temperatura, concentração de nutrientes, tamanho das partículas e pH. Logo, é possível perceber que esses parâmetros apresentam limites, uma imposição técnica e operacional do processo.

- *Fitorremediação*

Para que as plantas tenham uma boa capacidade de absorção, é necessário possuir características como: sistema radicular profundo, acelerada taxa de crescimento, fácil colheita e que apresentem resistência ao poluente. Por isso, a fitorremediação possui limitações para o tratamento de solos contaminados, por serem, muitas vezes, tóxicos às plantas e dificultar a seleção de plantas resistentes e fitorremediadoras (COUTINHO e BARBOSA, 2007).

Segundo Nakatani (2007), a contribuição de plantas para a remediação varia em função da espécie vegetal, do clima, das propriedades do solo e das características do contaminante, afetando a microbiota e os processos bioquímicos de forma diferenciada. Este autor ainda frisa sobre a importância de se estudar como as espécies de plantas influenciam as características microbióticas do solo, tendo em vista que a degradação microbiana representa o principal mecanismo de degradação de poluentes.

## 2.7 SOLO

O solo é formado a partir do material de origem que sofre influência do clima, organismos e topografia, que atuaram durante longos períodos de tempo. Desta forma, as diferentes condições ambientais criam uma grande variabilidade de tipos de solos, com diferentes profundidades, cores, estrutura, textura, consistência, teores de nutrientes, acidez, matéria orgânica, entre outros (MEURER, 2012).

O conceito de solo, diz Meurer (2012), depende do nível de conhecimento sobre o mesmo. Sendo assim, pode-se dizer que o conceito de solo depende de quem, da atividade e do conhecimento de quem o analisa. Este autor considera solos como corpos naturais, com características próprias que foram desenvolvidas durante a sua formação, condicionado por fatores ambientais e que possuem características físicas, químicas e mineralógicas relacionadas a forma como foi originado. Entretanto, de tantas definições, este autor considera o conceito de Beck et al. (2000, apud Meurer, 2012) o mais adequado e abrangente na atualidade:

“Solo: corpo natural da superfície terrestre, constituído de materiais minerais e orgânicos resultantes das interações dos fatores de formação (clima, organismos vivos, material de origem e relevo), através do tempo, contendo matéria viva e em parte modificado pela ação humana, capaz de sustentar plantas, de reter água, de armazenar e transportar resíduos e suportar edificações”.

Já a ABNT (NBR 6502) define solo como “material proveniente da decomposição das rochas pela ação de agentes físicos ou químicos, podendo ou não ter matéria orgânica”, ou simplesmente, produto da decomposição e desintegração da rocha pela ação de agentes atmosféricos.

### **2.7.1 Componentes do Solo**

O solo é formado pelas fases sólida, líquida e gasosa. A proporções destas fases varia de um solo para outro e, mesmo dentro do mesmo solo, pode variar de horizonte para horizonte. A fase sólida é constituída por minerais e matéria orgânica e ocupa cerca de 50% do volume de solo (MEURER, 2012)

- Material orgânico

Segundo a Embrapa (1997), material orgânico “é aquele constituído por materiais originários de resíduos vegetais em diferentes estágios de decomposição, fragmentos de carvão finamente divididos, substâncias húmicas, biomassa meso e microbiana, e outros compostos orgânicos naturalmente presentes no solo, os quais podem estar associados a material mineral em proporções variáveis”.

Muitas características do solo, são determinadas ou afetadas pela presença/ausência de matéria orgânica. A existência de matéria orgânica humificada

indica a ação de agentes biológicos que habitam o solo, pois as transformações bioquímicas decorrentes de suas atividades são importantes para a reciclagem de nutrientes e para a manutenção da qualidade ambiental (MEURER, 2012).

- **Material Mineral**

Material mineral é aquele formado, principalmente, por compostos inorgânicos, em diferentes estágios de intemperismo. O material do solo é considerado material mineral quando não satisfizer o requisito exigido para material orgânico (EMBRAPA, 1997). Na fase sólida mineral, as partículas possuem formas e tamanhos variáveis, sendo estas classificadas de acordo com seu diâmetro em frações granulométricas (MEURER, 2012).

Meurer (2012) diz ainda que geralmente os solos são constituídos por misturas de minerais, podendo haver predominância de um deles, como por exemplo, os Latossolos, que são compostos principalmente pelo mineral caulinita e óxidos de ferro.

## **2.7.2 Microrganismos do Solo**

O solo, segundo Meneghetti (2007) tem a maior concentração de microrganismos na camada 0-20cm de profundidade, pois é onde há a maior concentração de matéria orgânica, causada pela deposição do material vegetal. Logo, solos sem cobertura vegetal possuem menos matéria orgânica, resultando em uma comunidade microbiana menor e menos diversificada. As condições onde o solo está inserido afetam diretamente o número e a diversidade de organismos nele encontrados. As bactérias, por exemplo, apresentam quantidades que podem variar de 100 mil a 100 milhões por grama de solo (MEURER, 2012).

A microbiota apresenta um grande potencial biotecnológico, pois ela pode atuar de diversas formas nos processos de biorremediação, seja degradando diretamente, seja por biossorção ou por causa da produção de compostos que contribuem para a diminuição e/ou tratamento dos resíduos (POLONIO et al., 2014).

O solo possui uma comunidade microbiana diversificada, que gradualmente vai se adaptando às fontes de carbono e energia disponíveis, sejam compostos

facilmente metabolizáveis ou compostos orgânicos complexos. No entanto, em situações onde existem poluentes persistentes, pode ser necessário a utilização de microrganismos geneticamente modificados, de modo a conseguir uma otimização da degradação (MENEHETTI, 2007). Os autores TRÖGL *et al.* (2012) apud Polônio *et al.* (2014) exemplificam o uso destes tipos de microrganismos e citam a bactéria *Pseudomonas fluorescens* HK44, que foi o primeiro organismo geneticamente modificado aprovado para testes em campo visando a avaliação do seu potencial biorremediador, por possuir um plasmídeo que codifica uma enzima que degrada o naftaleno.

O processo de biorremediação microbiana possui a participação de uma variedade de microrganismos, dentre estes, destacam-se as bactérias, os fungos e os actinomicetos (PEREIRA NETO, 2007).

- Bactérias

As bactérias são microrganismos unicelulares, com uma estrutura procariótica, que em grego significa pré-núcleo. São responsáveis pela quebra inicial da matéria orgânica (PEREIRA NETO, 2007). Segundo Colla *et al.* (2008), as bactérias destacam-se em relação aos fungos e leveduras, por decorrência da sua maior velocidade de crescimento em condições favoráveis.

Os gêneros de bactérias como *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Nocardia* apresentam potencial metabólico e são utilizados nos processos de bioremediação (Tomassoni *et al.*, 2014).

Resíduos como os hidrocarbonetos de petróleo são possíveis de degradar com o uso de gêneros bacterianos tais como: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia* e *Pseudomonas ssp.* Já o gênero *Vibrio spp.*, degrada hidrocarbonetos exclusivamente em ambientes marinhos (WEBER; SANTOS, 2013).

- Fungos

São seres obrigatoriamente aeróbios, eucarióticos e heterotróficos (utilizam matéria orgânica sintetizada de outros organismos como fonte de energia). Podem ser unicelulares e multicelulares. Preferem meios ácidos, mesmo desenvolvendo atividades em meio alcalino. Os mais típicos são os bolores, que formam massa visível (micélio), compostos por fungos filamentosos, que se ramificam e se expandem. São bastante eficientes na faixa termofílica e na degradação de compostos carbonáceos (PEREIRA NETO, 2007).

Existem diversas espécies de fungo utilizadas em processos de biodegradação de resíduos sólidos. Figueredo et al. (2008) citam algumas, dentre elas, *Aspergillus sp*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, além de outros gêneros. Os fungos filamentosos e as leveduras possuem um grande potencial de degradação de hidrocarbonetos, pesticidas, compostos organoclorados, inclusive plásticos, como é o caso de fungos dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* (POLÔNIO et al. 2014).

Colla et al. (2008) isolaram fungos de gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* que apresentaram elevada capacidade de crescimento em meios contendo 50 ppm de atrazine, indicando a possibilidade desses fungos serem usados em outros estudos de biorremediação em solos contaminados com pesticidas triazínicos. Araújo e Lemos (2002), em seus estudos, isolaram 70 colônias de fungos e, dentre elas, 60 tinham potencial biodegradador de hidrocarboneto de petróleo. Os fungos foram agrupados em quatro gêneros fúngicos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* e *Fusarium*) subdivididos nas seguintes espécies: *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium corylophilum*, *Paecilomyces variotti*, *Paecilomyces niveus* e *Fusarium sp*. Experimentos realizados por Silva e Espósito (2004) apud Lima et al. (2011) concluíram que alguns fungos degradam com mais facilidade os compostos saturados, destruindo com menor eficiência a fração aromática.

Os lipídios podem ser utilizados como fonte de energia e carbono, logo, os fungos também podem utilizá-los como tal, apesar de preferir açúcares simples, como os monossacarídeos (especialmente a glicose). Quando os lipídios,

principalmente os triglicerídeos, são utilizados como fonte de energia, estes compostos são hidrolisados por lipases liberando glicerol e três ácidos graxos. O glicerol, após fosfolizado e oxidado, forma 3-fosfogliceraldeído e ácidos graxos, podendo entrar no processo glicolítico. Já os ácidos graxos, necessitam de uma posterior degradação para serem utilizados (PUTZKE; PUTZKE, 2002).

- Actinomicetos

Com a habilidade para se reproduzirem em ambientes com pouca umidade e altas temperaturas, estes microrganismos com características de fungos e bactérias desempenham um papel importante na decomposição de substâncias que as bactérias e fungos normalmente não conseguem. Suas colônias são visíveis a olho nu, em razão da sua cor esbranquiçada (PEREIRA NETO, 2007).

Nakatani et al. (2008) isolaram *Streptomyces sp.*, oriundo de um solo de “*Landfarming*” de resíduos petroquímicos, que foram capazes de crescer em meio de cultura contendo antraceno como única fonte de carbono.

- Consórcios microbianos

Segundo Leonel et al. (2010 apud Tomassoni et al. 2014), outra alternativa viável para o uso de microrganismos para biorremediar é o consórcio de microrganismos. Desta forma, quando um grupo de microrganismos não possuem características para degradar completamente determinado composto, poderão transformá-la em uma substância degradável para outro microrganismo.

Como por exemplo, os fungos, que seu metabolismo geralmente resulta numa degradação incompleta que necessita da associação de bactérias para alcançar a completa oxidação do petróleo (WEBER e SANTOS, 2013).

### 3 METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), na cidade de Pombal - PB. O município de Pombal-PB situa-se na região oeste do estado da Paraíba, Mesorregião do Sertão Paraibano e Microrregião de Sousa. A vegetação é composta principalmente por Caatinga Hiperxerófila com trechos de Floresta Caducifólia e o clima é do tipo Tropical Semiárido, com chuvas de verão que se iniciam em novembro e terminam em abril (CPRM, 2006).

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO UTILIZADO

##### 3.1.1 Local de Coleta do Solo

O solo foi coletado no CCTA/UFCG, Câmpus de Pombal, em uma área não antropizada, próximo a um riacho local. O solo pertencia a uma área de altitude de 192 metros em relação ao nível do mar, estando localizada nas coordenadas geográficas 37°48'11" O e 6°47'15" S.

O solo utilizado não apresentava histórico de contaminação e estava localizado em uma região onde há plantações experimentais próximas (Figura 2).

Figura 2. Local de coleta do solo.



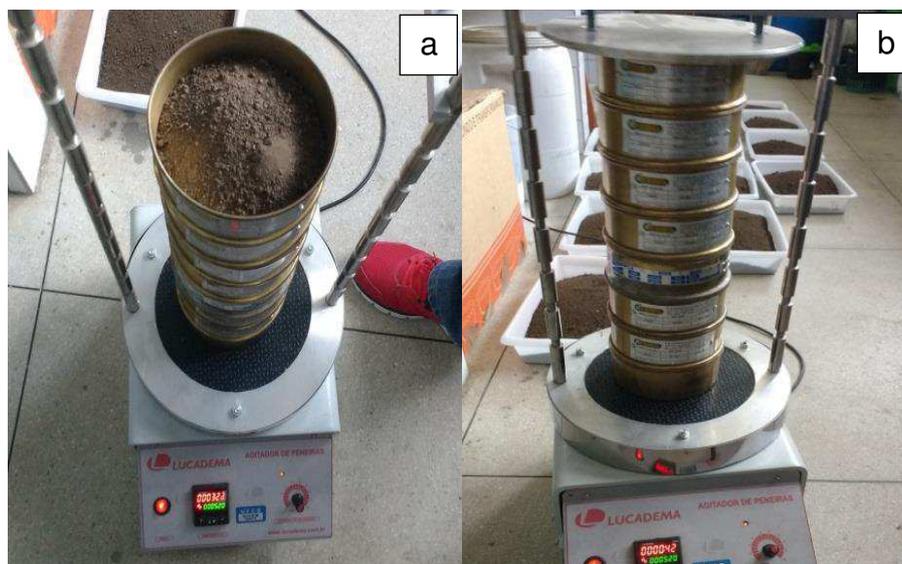
Fonte: Google Earth® (2016)

A amostra foi coletada utilizando uma pá e foram retirados cerca de vinte centímetros de profundidade do solo superficial no local escolhido. Após a coleta, o solo foi enviado para o pátio do Laboratório de Resíduos Sólidos (LABRES) no CCTA/UFCG. Em seguida, o solo foi peneirado com uma peneira de abertura de 10mm para retirada de pedregulhos e torrões. Então, a amostra foi enviada para o Laboratório de Análises de Solos e Nutrição de Plantas do CCTA/UFCG, onde foram conduzidas análises de carbono, nitrogênio e fósforo. As outras análises de caracterização físico-química do resíduo e do solo foram feitas no LABRES.

### 3.1.2 Granulometria

Para a análise granulométrica, foi feito um ensaio de peneiramento (ABNT NBR 6502/1995). Utilizaram-se 250 gramas de solo, que foram previamente secos na estufa por 24 horas a 105°C, com o objetivo de eliminar a umidade. A amostra foi colocada em peneiras e depois agitada no agitador de peneiras (marca Lucadema) por 30 minutos na velocidade máxima do equipamento (como mostra na Figura 3).

Figura 3. (a) Adição da amostra de solo ao equipamento de análise granulométrica e (b) agitação de peneiras.



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

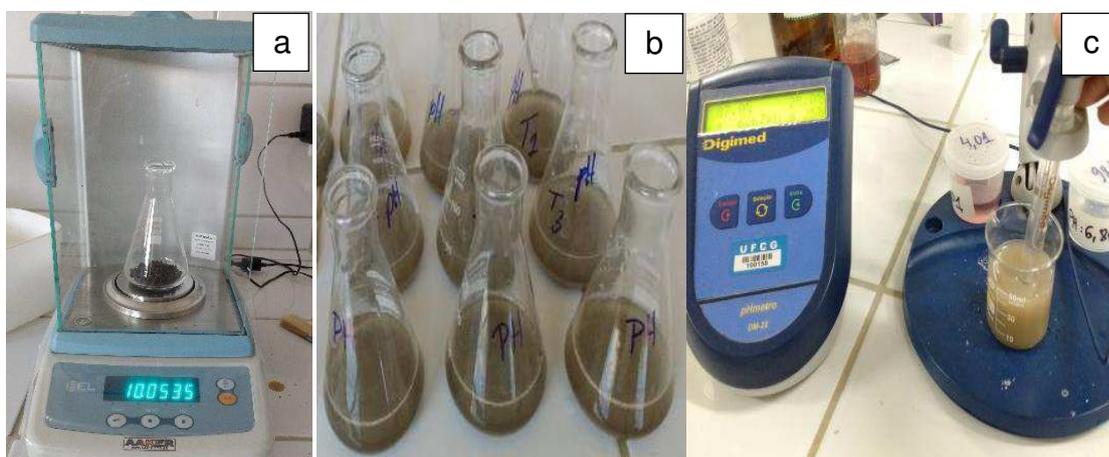
Após a devida separação das partículas, o conteúdo de cada peneira foi pesado e anotaram-se os valores. Este ensaio permite a classificação das partículas de diâmetro maior que 0,075 mm.

### 3.1.3 Potencial hidrogeniônico (pH)

A análise do pH do solo coletado foi feita utilizando a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária (EMBRAPA, 2009). Foram pesados 10g de amostra de solo e transferidos para um *erlenmeyer* de 125ml (Figura 4a) em triplicata e diluídos em 50 ml de água deionizada (Figura 4b) com o auxílio de um agitador de *erlenmeyes*.

Depois de agitadas por cinco minutos a uma velocidade de 230 RPM, as amostras ficaram em repouso por 30 minutos. O pH foi então determinado pela leitura em um peagâmetro digital (Figura 4c), previamente ajustado com soluções tampão padronizadas de pH = 4,00 e pH = 7,00.

Figura 4. (a) Pesagem das amostras para serem diluídas (b) Amostras dissolvidas e (c) Leitura do ph em phmetro digital.



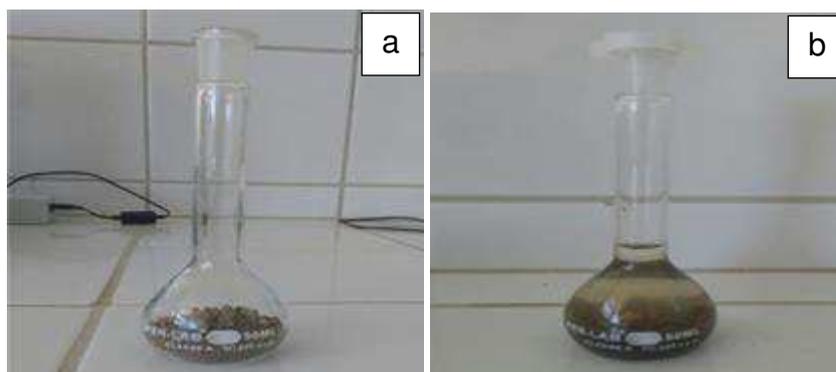
Fonte: Arquivo pessoal (2016)

### 3.1.4 Densidade

Para a análise de densidade de partículas, foi utilizada a metodologia da EMBRAPA (1997). Inicialmente, foram pesados 20g de solo e colocados na estufa para secar a 105°C, com o objetivo de se obter o peso da amostra seca. A amostra

foi transferida para um balão volumétrico de 50ml (Figura 5a). Então, foi adicionado álcool etílico até completar o volume do balão (Figura 5b), agitando bem para a eliminação completa de bolhas. Anotou-se o volume gasto.

Figura 5. (a) Balão Volumétrico com solo seco (b) Balão volumétrico com álcool etílico.



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

A cálculo foi feito utilizando a Equação (I):

$$\text{Densidade de Partículas (g/cm}^3\text{)} = \frac{a}{50 - b} \quad (I)$$

Em que:

$a$  = peso da amostra seca a 105°C;

$b$  = volume de álcool gasto.

### 3.1.5 Sólidos Voláteis

Para a análise de solos voláteis, o solo foi pesado (5g) em recipiente cerâmico. Logo após a pesagem, o conjunto foi levado à estufa a 105°C, por um período de vinte e quatro horas. Após este período, resfriou-se os conjuntos em dessecador contendo sílica gel ativada e então, determinou-se o peso do solo seco. Então, as amostras foram colocadas na mufla por quatro horas, esfriou-se novamente no dessecador até atingir a temperatura ambiente (Figura 6). Depois, pesou-se os valores e comparou-se antes e depois do procedimento.

O conteúdo de sólidos voláteis foi calculado pela relação da perda de massa inicial com a massa final da amostra, multiplicando-se por 100 para se obter o resultado em porcentagem. As determinações de massa foram executadas em balança semianalítica.

Figura 6. Cadinhos com amostra de solo pós mufla.



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

### 3.1.6 Capacidade de retenção de água (CRA)

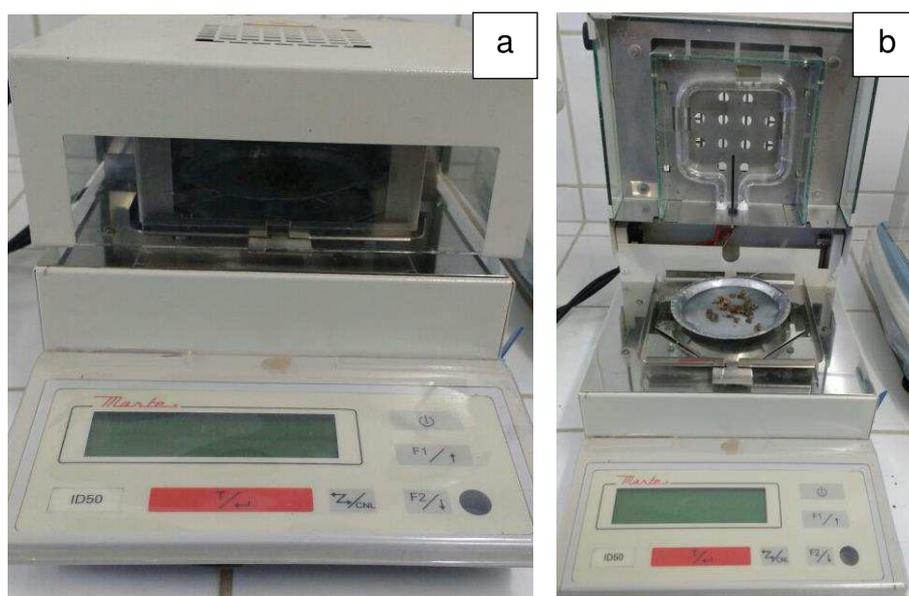
Os ensaios de CRA do solo foram realizados em triplicata. Transferiu-se uma amostra de dois gramas de solo para um funil de vidro de 5 cm de diâmetro e 5 cm de profundidade, previamente coberto com papel de filtro qualitativo. Compactou-se o conteúdo e transferiu-se o referido funil para um béquer de capacidade de 500 mL. A seguir, adicionou-se água ao béquer de forma que o nível da mesma atingisse um limite pouco acima do nível do papel de filtro. Esperou-se o umedecimento da amostra. O sistema ficou em repouso por meia hora. Então, o funil foi retirado do béquer e esperou-se meia hora para o escoamento da água. Em seguida, transferiu-se o solo para um béquer de capacidade de 50 mL, previamente tarado para a pesagem em balança semi analítica. O conjunto foi colocado em uma estufa a 105°C, por um período de vinte e quatro horas. Após este tempo, o conjunto foi resfriado em um dessecador contendo sílica gel ativada, até que a temperatura ambiente fosse alcançada. Pesou-se o conjunto e determinou-se o conteúdo de umidade (capacidade de retenção de água pelo solo), relacionando a perda de

massa inicial com a massa final da amostra e multiplicando por 100 para obter o resultado em porcentagem.

### 3.1.7 Umidade

As análises de umidade do solo foram realizadas utilizando uma balança determinadora de umidade (Figura 7a) da marca Marte (modelo ID50). Este equipamento determina a umidade a partir da massa seca que fica após um processo de secagem com energia infravermelha (Figura 7b). O aparelho emite o resultado automaticamente, tendo como mecanismo o cálculo da porcentagem de umidade baseada na diferença de peso da amostra antes e depois da secagem.

Figura 7. (a) Balança determinadora de Umidade e (b) Balança após o processo de secagem



Fonte: Arquivo Pessoal (2016)

### 3.1.8 Relação C:N:P

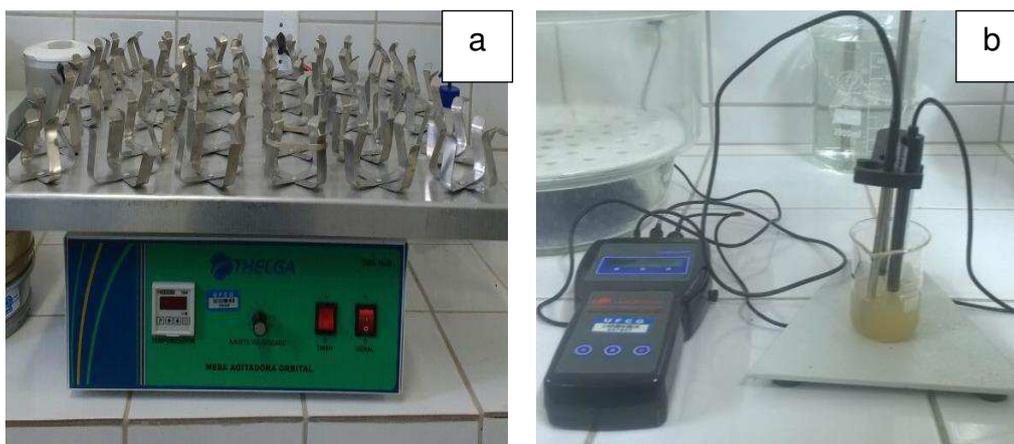
A análise para a concentração de Carbono, Nitrogênio e Fósforo foram feitas pelo Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas do CCTA/UFMG, campus de Pombal. A análise de Carbono foi feita pelo método de “digestão úmida Walkley-Black”, a de Nitrogênio foi feita por “digestão sulfúrica seguida de destilação semi

micro Kjeldahl method” e o Fósforo foi determinado por extrator Mehlich. Todas estas técnicas estão descritas no manual da EMBRAPA (1997).

### 3.1.9 Condutividade elétrica (CE)

Para a análise de condutividade elétrica do solo foi utilizada a metodologia da EMBRAPA (2009). Foram pesados 5g de solo, que posteriormente foram dissolvidos em 50 ml de água deionizada com o auxílio de um agitador de erlenmeyes (Figura 8a). A agitação durou 30 segundos a uma velocidade de 230 rpm. Após a agitação, esperou-se por 30 minutos para que houvesse a decantação das partículas. O processo foi repetido cinco vezes. Posteriormente foi feita a leitura com um condutímetro de bancada (Figura 8b).

Figura 8. (a) Agitador de erlenmeyes e (b) Leitura do condutímetro.



Fonte: Arquivo Pessoal (2016)

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO OLEOSO

O resíduo oleoso vegetal utilizado foi proveniente da residência universitária feminina da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Câmpus de Pombal. Foram coletados 11 litros de resíduos para a realização do experimento, incluindo a sua caracterização. Abaixo, é possível observar o aspecto do resíduo oleoso vegetal coletado (Figura 9), e logo depois, os parâmetros definidos para a caracterização do mesmo (Tabela 2).

Figura 9. Aspecto do resíduo utilizado



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

Tabela 2. Parâmetros utilizados para caracterização do resíduo oleoso.

<b>Parâmetros</b>	<b>Resíduo</b>	<b>Unidade</b>
Densidade	0,91	g/ml
Umidade	1,66	%
Sólidos Fixos	0,06	%
Acidez	3,29	%

### 3.2.1 Densidade

Para a determinação da densidade do resíduo oleoso, foi necessário um balão volumétrico de 50 ml, que teve seu volume completado com óleo, e em seguida pesou-se a amostra, estando a balança previamente tarada com o peso do balão, como é possível observar na Figura 10.

Figura 10. Balão volumétrico de 50 ml com o resíduo oleoso para a determinação da densidade.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Para o cálculo, foi utilizada a Equação (II):

$$D = P/V$$

(II)

Em que:

$D$  = densidade;

$P$  = Peso do resíduo;

$V$  = Volume do resíduo.

### 3.2.2 Umidade

Para a análise da umidade presente no resíduo, foi utilizada a metodologia da EMBRAPA (1979). Para tal, a amostra foi colocada em recipiente cerâmico (cadinho) de peso conhecido, pesada e depois colocada na estufa a 105°C por 24 horas. Após a secagem, a amostra foi resfriada em dessecador com sílica gel ativa, e a massa seca foi determinada na mesma balança. A umidade foi calculada como peso constante da diferença entre massa úmida e a massa seca e o resultado foi expresso em percentual utilizando a Equação (III). O ensaio foi conduzido em triplicata, e a pesagem feita em balança semi-analítica.

$$U = \left( \frac{M_i - M_f}{M_f} \right) \times 100$$

(III)

Em que:

$U$  = Umidade;

$M_i$  = Massa inicial da amostra;

$M_f$  = Massa final da amostra, após a secagem.

### 3.2.3 Sólidos voláteis

Para a análise de solos voláteis, o óleo foi pesado (5g), após a pesagem, o conjunto (recipiente + amostra) foi levado à estufa a 105°C, por um período de vinte e quatro horas. Após este período, resfriou-se os conjuntos em dessecador contendo sílica gel ativada e então, determinou-se o peso da amostra sem umidade. Logo após, as amostras foram colocadas na mufla por 3 horas. Então, resfriou-se novamente no dessecador até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, pesou-se os valores e comparou-se antes e depois do procedimento.

O conteúdo de sólidos voláteis foi calculado pela relação da perda de massa inicial com a massa final da amostra, multiplicando-se por 100 para se obter o resultado em porcentagem. As determinações de massa foram executadas em balança semi-analítica.

### 3.2.4 Acidez titulável

O pH do óleo residual foi medido utilizando-se o método de titulação. Para calcular o índice de acidez do resíduo, a análise foi feita em triplicata. O procedimento de titulação de índice de acidez consiste em utilizar uma solução de 0,01M de NaOH para titular o ácido graxo livre na amostra, sendo cada amostra de 5g de óleo dissolvida em 50ml de álcool etílico. Após a homogeneização, adicionou-se o indicador fenolftaleína e se procedeu a titulação até o ponto de viragem.

O cálculo da acidez é determinado pela Equação (IV):

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{[V \cdot N \cdot f \cdot 100]}{p}$$

(IV)

Em que:

$V$  = volume de hidróxido gasto;

$f$  = fator de correção da solução de hidróxido;

$\rho$  = g ou ml da amostra utilizado.

### 3.3 CONDICIONAMENTO DO EXPERIMENTO

O experimento durou 20 dias e teve início no dia 06 de abril de 2016, com três tratamentos e cinco repetições. Cada amostra foi constituída de 5 quilogramas de solo em uma bandeja (dimensões: 0,4m × 0,25m × 0,08m) e 250g de resíduos oleosos. A pesagem do solo foi baseada na sua massa úmida, que estava com a umidade em 7,5%, resultando em uma concentração de 5,03% de óleo em relação ao peso do solo. Foi utilizado o esquema DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado) para a análise estatística.

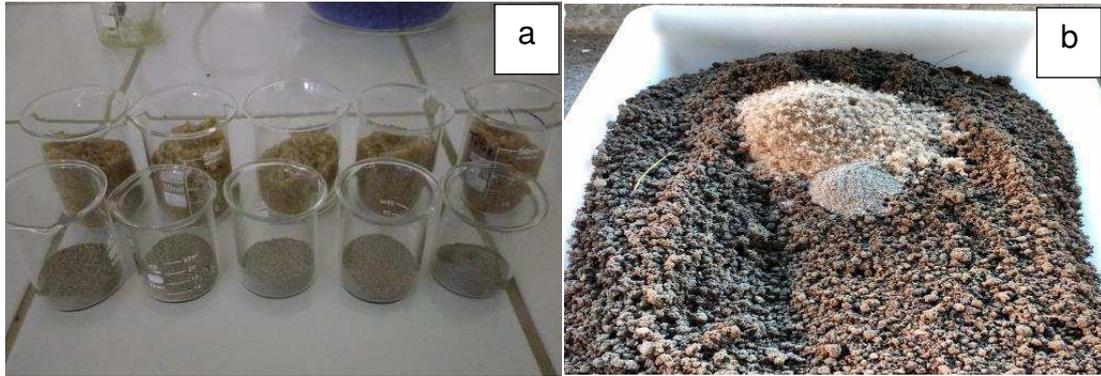
No primeiro tratamento foi utilizada a técnica de atenuação natural (ATN), ou seja, não foram adicionados nenhum nutriente, nem houve aeração ou correção de umidade. No segundo tratamento foi utilizada a técnica de bioestimulação com adição de nutrientes (BCN), onde foi corrigida a relação C:N:P (Figura 10a), correção da umidade e aeração frequente (a cada três dias). E no terceiro tratamento foi utilizada a técnica de bioestimulação sem adição de nutrientes (BSN), com correção de umidade e aeração frequente.

A quantidade de nutrientes necessários geralmente depende da quantidade de carbono disponível no solo. A relação típica Carbono: Nitrogênio: Fósforo necessária para a biodegradação está na faixa de 100:10:1 a 100:1:0,5; dependendo dos constituintes específicos e dos microrganismos envolvidos nos processos de biodegradação (EPA, 1994).

A concentração de carbono foi determinada a partir da soma das quantidades de carbono no solo (13%) e no resíduo, baseado na sua composição química e concentração. O resultado indicou a quantidade de Nitrogênio e Fósforo necessário para a faixa de biodegradação ótima. A relação inicial escolhida para este trabalho foi de 100:10:1. As fontes utilizadas de nitrogênio e fósforo foram os fertilizantes

comerciais ureia e superfosfato simples. As quantidades de nutrientes necessários foram calculadas e pesadas, como mostra a Figura 11.

Figura 11. a) Medida de Ureia e Superfosfato adicionadas em cada repetição e (b) Adição de Nitrogênio e Fósforo ao solo



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

### 3.4 PARÂMETROS DE MONITORAMENTO DA MISTURA

Durante o processo de tratamento, foram monitorados os parâmetros: umidade, condutividade elétrica, sólidos voláteis, carbono e nitrogênio, concentração de óleos e graxas e respirometria.

#### 3.4.1 Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica foi medida durante os dias de tratamento 0, 10 e 20. A análise ocorreu conforme a metodologia da Embrapa (2009), como descrito anteriormente no tópico 4.1.1.8.

#### 3.4.2 Umidade

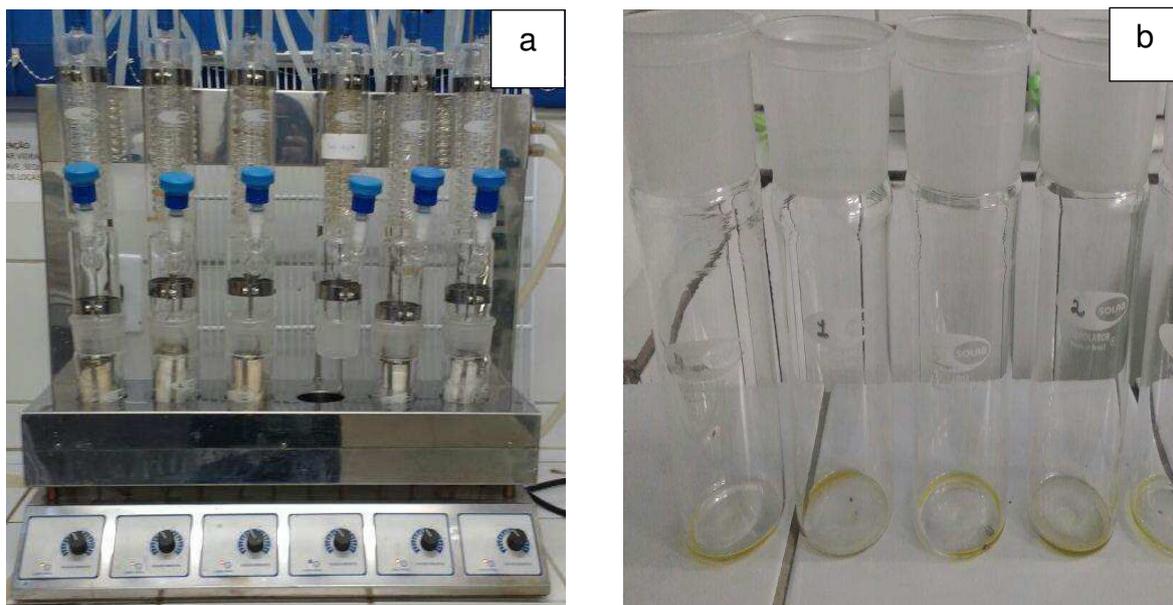
A umidade foi medida a cada três dias para que houvesse a correção de umidade, que foi mantida em 7% com relação ao peso total do solo, o que equivale a 30% da Capacidade de Retenção de Água (CRA). A análise ocorreu conforme a metodologia descrita no item 4.1.1.6.

### 3.4.3 Concentração de Óleos e Graxas

A concentração de óleos e graxas (OG) do solo contaminado durante o processo de biorremediação foi feita por extração em um aparelho de Soxhlet (Figura 12a) do Laboratório de Análise de Alimentos do CCTA/UFCG, Câmpus de Pombal - PB.

A análise se fundamenta na quantificação gravimétrica do produto extraído com solvente (hexano). Primeiro, a amostra de solo contaminado foi seca em estufa a 105°C por 24 horas, depois pesada (10g) e enrolada em algodão e em papel de filtro, para depois ser colocada no aparelho. Depois de todo o processo que durou seis horas, e após a evaporação de todo o hexano, foi possível observar os tubos coletores com óleo (Figura 12b).

Figura 12. (a) Aparelho Soxhlet (b) Tubos coletores com óleo extraído



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

Para o cálculo do percentual de remoção de OG foi utilizada a Equação (V).

$$\%ROG = \left(1 - \left(\frac{C_f}{C_i}\right)\right) \times 100 \quad (V)$$

Em que:

$M_{\text{óleo}}$  = massa do óleo presente nos tubos;

$M_{amostra}$  = massa da amostra de solo contaminado;

$C_f$  = concentração final de OG;

$C_i$  = concentração inicial de OG.

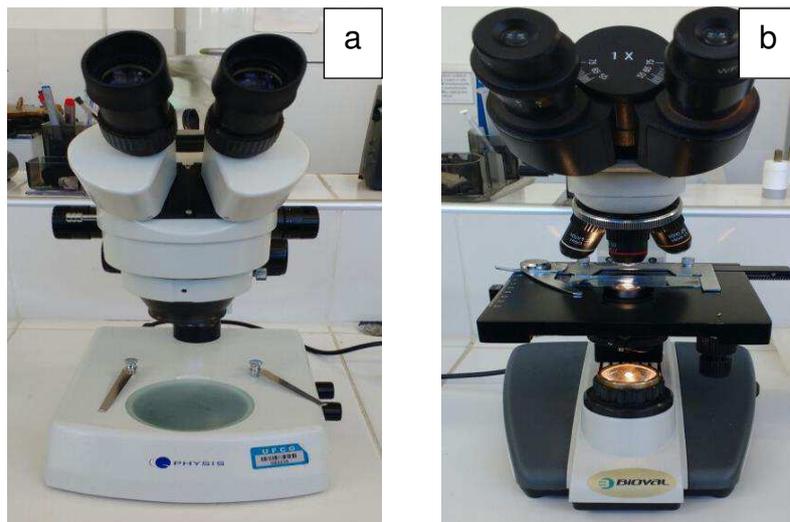
### 3.4.4 Avaliação da atividade microbiana

A análise da atividade microbiana foi realizada por meio de duas etapas: observação *in loco* e respirometria.

#### a) Observações *in-loco*

Foi possível observar o comportamento dos microrganismos a partir da visualização macroscópica das estruturas filamentosas presentes no Tratamento 2 (BCN). A visualização microscópica das estruturas foi feita com o auxílio de uma lupa (Figura 13a) e um microscópio (Figura 13b) do Laboratório de Fitopatologia do CCTA. A identificação da espécie de fungo foi possível ao observar características macroestruturais e microscópicas das colônias, utilizando chaves taxonômicas específicas para o grupo de fungo (BARNETT; HUNTER, 1988).

Figura 13. (a) Lupa utilizada na visualização das estruturas e (b) Microscópio utilizado para a visualização dos microrganismos.



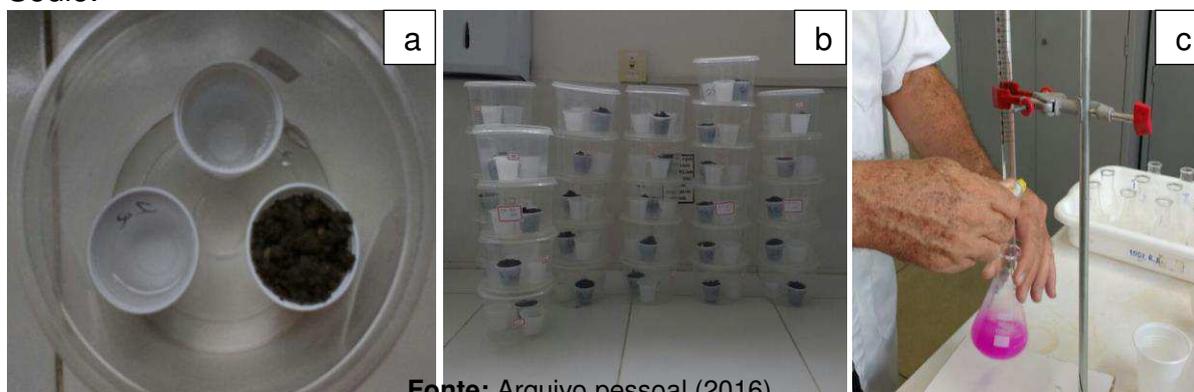
Fonte: Arquivo pessoal (2016).

## b) Respirometria

A análise de respirometria é um indicador de atividade biológica que visa determinar a quantidade de carbono gerado pelos microrganismos durante a degradação da matéria orgânica, a partir do metabolismo microbiano. A metodologia utilizada está descrita em Mendonça e Matos (2005).

Esta análise foi feita nos dias de tratamento 0, 10 e 20. As amostras foram congeladas nos dias específicos e descongeladas para a análise. Foram pesados 50g de solo e colocados em recipientes de plástico com 30ml de água destilada e 30 ml de hidróxido de sódio, ambos em recipientes de plástico, como mostra a Figura 14a. O recipiente maior foi tampado (Figura 14b) e colocado em um local sem luz para o tempo de incubação. Após 72 horas, as amostras de hidróxido de sódio foram preparadas para a titulação (Figura 14c).

Figura 14. (a) Recipientes com o material para análise de respirometria e (b) Tubos fechados para o tempo de incubação (c) Titulação da amostra de Hidróxido de Sódio.



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

Para a preparação das amostras de hidróxido de sódio, primeiramente, foram pipetadas 10 ml e transferidos para um erlenmeyer com 10 ml de Cloreto de bário (0,05mol/L). Depois, foram adicionadas três gotas da solução indicadora de fenoftaleína (1%). Após as amostras prontas, foram tituladas com Ácido Clorídrico diluído em água destilada (0,25 mol L<sup>-1</sup>). O ponto de viragem passa de violeta para incolor.

Após as análises, a equação (VII) foi utilizada para o cálculo da produção de carbono:

$$C - CO_2(mg) = (B - V) \times M \times 6 \times (v_1/v_2) \quad (VII)$$

Onde:

B= Volume do HCL no branco (mL)

M= concentração real do HCL (mol L<sup>-1</sup>)

6 = massa atômica do carbono (12) dividido pelo número de mols de CO<sub>2</sub> que reagem como o NaOH (2)

V<sub>1</sub> = volume total de NaOH usado na captura do CO<sub>2</sub> (mL)

V<sub>2</sub> = volume de NaOH usado na titulação (mL)

### 3.4.5 Concentrações de Carbono e Nitrogênio

As análises destes compostos foram feitas no início e no final do experimento, utilizando a metodologia da Embrapa (1997) descrita no item 4.1.1.7 deste trabalho, visando analisar as alterações nas concentrações destes durante o processo de tratamento. O ensaio com a amostra do tempo final de tratamento foi feito pelo Instituto Federal da Paraíba (IFPB), Câmpus de Sousa, no Laboratório de Análises de Solo e Água.

## 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística empregando o teste de Tukey (comparação entre médias) a um nível de confiança de 95%, utilizando o programa Assistat versão 7.7.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO SOLO

As características físicas do solo utilizado encontram-se na Tabela 3. De acordo com estes resultados, o solo utilizado no estudo é característico do semiárido, por ser um solo arenoso (mais de 70% é constituída de areia). Ismael e Leite (2012) classificam o solo da área em questão como franco arenoso, com porcentagem de areia em torno de 80%, enquanto que neste trabalho, a porcentagem de areia foi de 61,5% e de pedregulho fino de 37,2%, fazendo com que a porcentagem de silte e argila se resuma a 1,3% baseado na classificação da NBR 6502/1995 (ABNT).

A densidade das partículas ( $D_p$ ) do solo estudado ficou em torno de 2,89  $g/cm^3$ . Este parâmetro é a relação entre a quantidade de massa de solo seco por unidade de volume de sólido do solo, logo, não inclui a porosidade do solo e não varia com o manejo do solo. Em solos que predominam minerais, os valores de  $D_p$  ficam em torno de 2,65  $g/cm^3$ , o que pode ser alterado pela matéria orgânica (diminuindo a densidade) ou óxidos de Fe e Al (aumentando a densidade) (REINERT; REICHERT, 2006).

O valor de densidade de partículas em torno de 2,89, ficou um pouco acima do observado por Ismael e Leite (2012), que fizeram um diagnóstico da área. Os valores encontrados por estes autores foram de 2,57 na área natural do Campus, logo, o valor encontrado neste trabalho foi coerente.

Tabela 3. Parâmetros físicos do solo estudado.

Parâmetros	Resultado	Unidade
Umidade	7,30	%
Densidade de partículas	2,89	$g/cm^3$
<b>Composição do Solo</b>		
Pedregulho fino	37,21	%
Areia Grossa	33,73	%
Areia Média	22,26	%
Areia Fina	5,46	%
Silte e Argila	1,3	%
<b>CRA</b>	<b>23,60</b>	<b>%</b>

O solo apresentou um diâmetro médio de partícula considerado satisfatório para assegurar uma boa concentração de oxigênio, pois os solos arenosos têm ótima aeração e permeabilidade devidos aos grãos maiores (REINERT; REICHERT, 2006). Logo, uma maior macroporosidade permitirá uma passagem maior de água, ar e nutrientes entre eles. Este solo possui características como a rápida perda de umidade, comparada aos solos denominados como argilosos. Apesar de plantas e bactérias viverem em dificuldade em solos arenosos devido à pouca umidade, os microrganismos como fungos e actinomicetos conseguem se desenvolver bem neles (REINERT; REICHERT, 2006).

Com relação a umidade, em geral, estudos indicam como faixa ideal para biodegradação um valor que varie entre 40 e 80% da sua CRA (EPA, 1994), embora outros autores, como Mphekgo e Cloete (2004), destaquem valores entre 20% a 80% de umidade em relação a CRA.

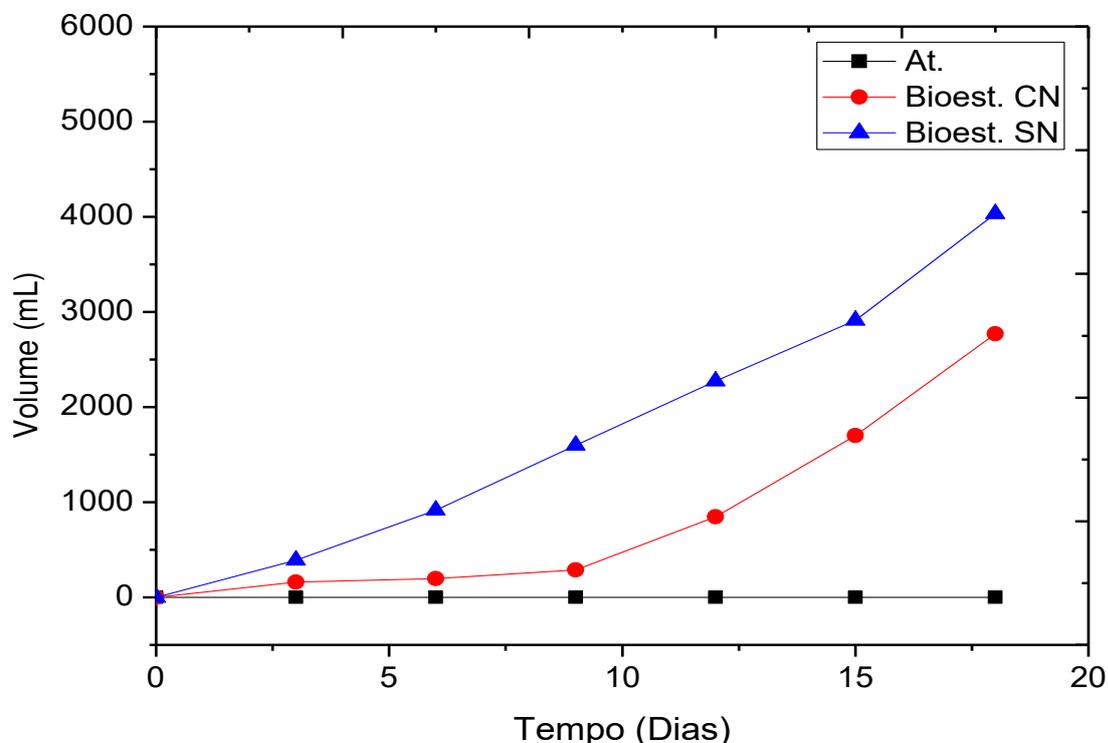
De acordo com os dados da Tabela 4, percebe-se que o solo utilizado é considerado ligeiramente ácido, por possuir PH 6,02. Ismael e Leite (2012) ao fazer o diagnóstico da área em questão obtiveram um valor de pH igual a 5,8, confirmando a pouca acidez que ele possui.

Tabela 4. Valores dos parâmetros químicos do solo estudado.

<b>Parâmetros</b>	<b>Resultado</b>	<b>Unidade</b>
pH	6,02	Adimensional
Sólidos Voláteis	3,75	%
Carbono	130,00	g/kg
Nitrogênio	0,85	g/kg
Fósforo	0,28	g/kg
Condutividade Elétrica	0,01	dS/m

Durante todo o processo de descontaminação, cada repetição dos tratamentos onde houve bioestimulação necessitou de uma quantidade específica de água para alcançar a umidade a 7%, tornando a demanda por água diferente em cada tratamento. A Figura 15 representa o consumo acumulado de água em cada tratamento durante o processo de biorremediação.

Figura 15. Volume de água utilizada em casa tratamento ao longo do processo.

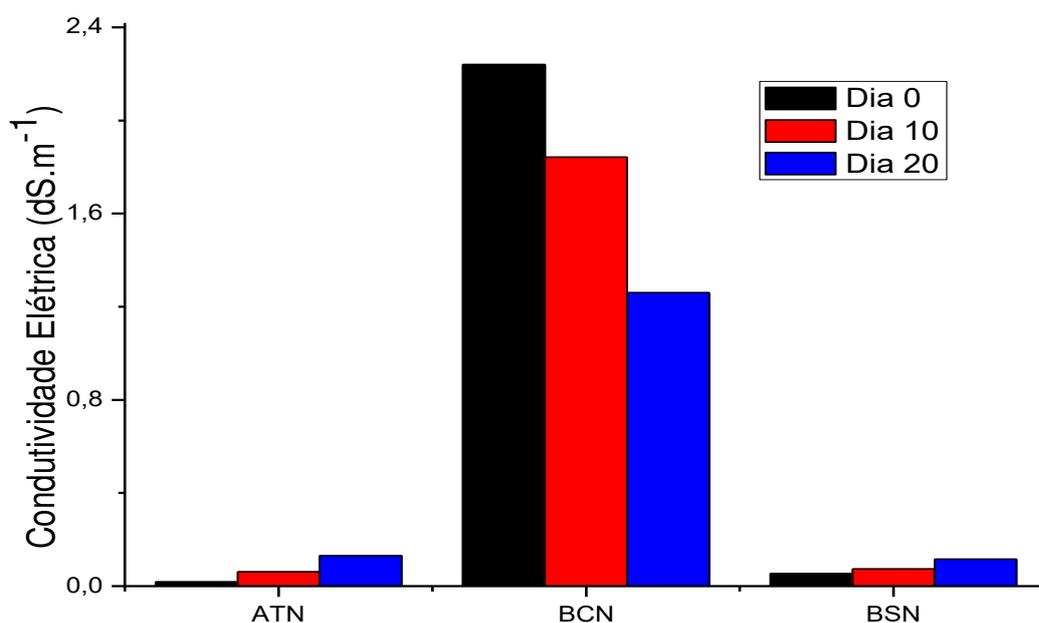


O comportamento dos tratamentos quanto a necessidade de água durante o processo de biorremediação apontou que o tratamento BSN possuiu a maior necessidade de água, enquanto que o tratamento BCN se manteve com um volume menor, apesar de ter tido uma maior atividade microbiana. No tratamento BCN, o óleo provavelmente foi degradado por fungos, que necessitam de menos água e possuem vantagens em ambientes secos em relação às bactérias (MENEGETTI, 2007). Já no tratamento ATN, como não houve correção de umidade durante o período de análise, o fornecimento de água foi igual a zero.

A condutividade elétrica encontrada no solo utilizado para o tratamento neste trabalho foi de 0,013 dS/m, um valor considerado ótimo, já que não é considerado salino<sup>1</sup>. Após a adição de nutrientes químicos, o valor da CE no tratamento BCN se eleva para 2,25 dS/m em média, estando ainda abaixo do valor para ser considerado salino.

Silva (2004), ao trabalhar com biorremediação em solo arenoso, utilizou um solo com condutividade elétrica de ou 4,02 dS/m e considerou o resultado obtido como excelente, considerando que este valor possui um baixo teor salino. A Figura 16 representa o comportamento da condutividade elétrica ao longo do processo de biorremediação.

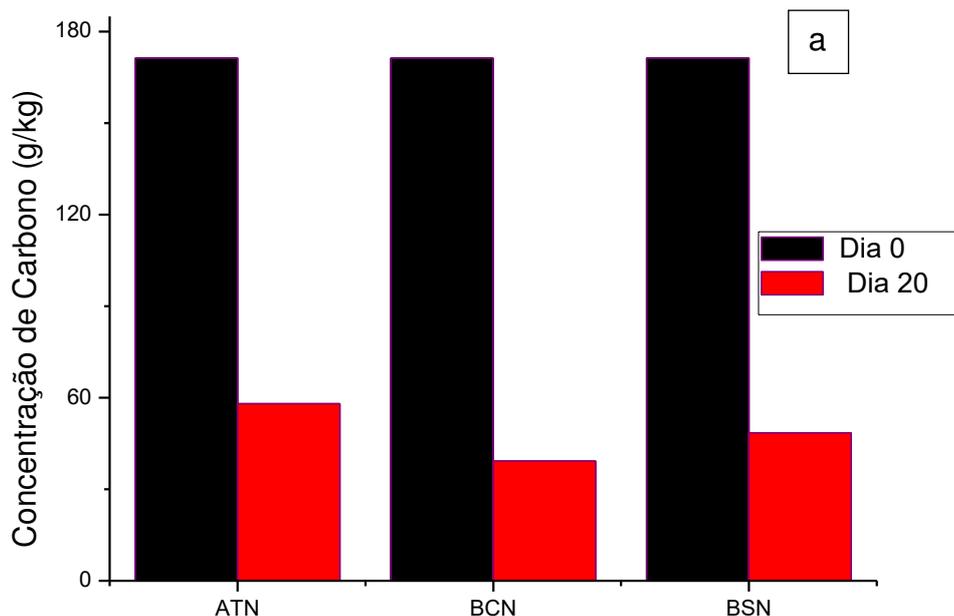
Figura 16. Comportamento da condutividade elétrica nos tratamentos em função do período de remediação.



Analisando a Figura 16, é possível perceber que o tratamento em que houve adição de nutrientes obteve um valor de CE superior aos demais, implicando que o aumento da concentração destes nutrientes está diretamente relacionado com o aumento da condutividade elétrica. O decréscimo da condutividade ao longo do tempo é justificado pela diminuição dos íons presentes na solução do solo, consequência da utilização destes nutrientes por parte dos microrganismos.

Os elementos Carbono e Nitrogênio tiveram os seguintes comportamentos (Figura 17):

Figura 17. (a) Comportamento do Carbono após o processo de biorremediação e (b) Comportamento do Nitrogênio após o processo de biorremediação.

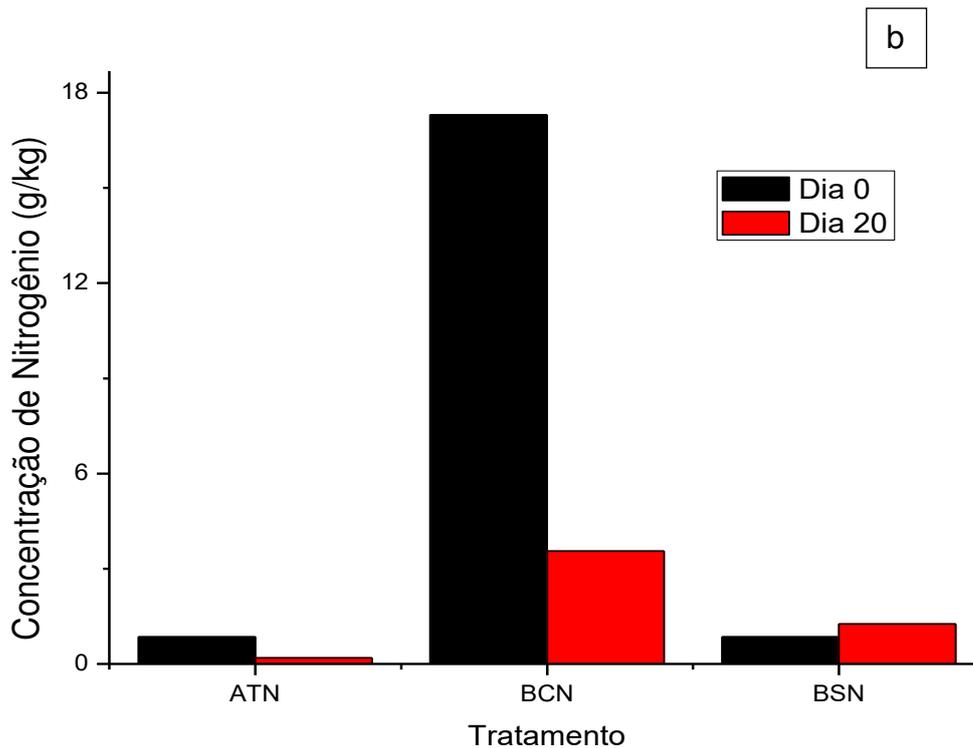


A redução da concentração de Carbono ao longo do tratamento já era esperada, pois os microrganismos utilizam o carbono presente no solo, seja pelo consumo da matéria orgânica própria do solo, ou pelo consumo do óleo, que é composto principalmente por este elemento. Ao aplicar o teste de tukey, foi obtido como resultado que os valores de redução de carbono não diferenciaram significativamente entre os tratamentos BCN e BSN, no entanto, estes diferem significativamente do tratamento ATN. A análise foi feita a nível de 5% de confiança.

Tabela 5. Teste de médias para Carbono.

Tratamento	Médias de Tratamento	Resultados do teste*
<b>Atenuação Natural</b>	58,04	A
<b>Bioestimulação CN</b>	35,51	B
<b>Bioestimulação SN</b>	45,79	B

\*As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si

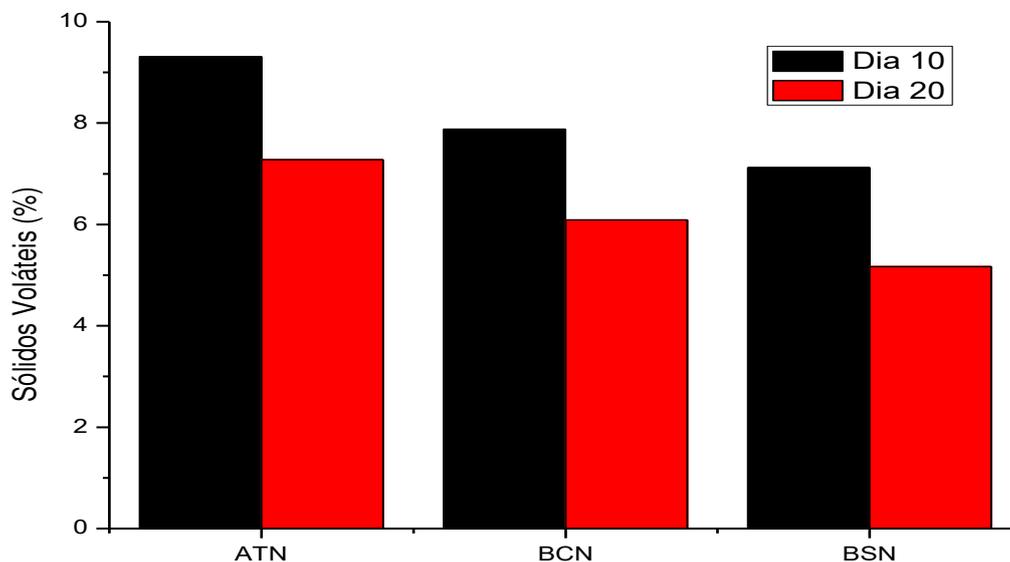


A concentração de nitrogênio nos tratamentos ATN e BCN diminuíram, enquanto que no tratamento BSN aumentou levemente. Apesar de não esperar este comportamento, é possível justificar esta perda de nitrogênio caso este nutriente tenha se volatilizado. Segundo Mattos Jr. et al. (2002), a uréia é um dos fertilizantes nitrogenados que tem a eficiência agrônômica reduzida em virtude de perder nitrogênio facilmente pela volatilização da amônia ( $\text{NH}_3$ ). Mesmo em solos ácidos, onde a maioria dos fertilizantes tem menos perda de nitrogênio por volatilização, a uréia é uma exceção. Este autor ainda cita que a perda de nitrogênio é ainda maior em solos arenosos (MATTOS JR., et al. (2002).

A concentração de Nitrogênio no tratamento BCN teve um leve aumento ao longo do processo, podendo ser justificada pelo fato de que a concentração de Nitrogênio é em função da massa seca. Se esta diminui mais do que a quantidade absoluta de nitrogênio, haverá esta diferença, conseqüentemente, aumentando a concentração do mesmo.

Outro parâmetro que teve o comportamento esperado foi o de Sólidos Voláteis, que diminuiu ao longo do processo, como mostra a figura 18.

Figura 18. Variação de Sólidos voláteis (%) ao longo do tempo a partir do 10º dia de tratamento.



A redução na concentração dos sólidos voláteis, também é um resultado esperado, pois este parâmetro representa a quantidade de Carbono presente. Os sólidos que volatilizam são compostos orgânicos, logo, com presença de carbono. A análise estatística utilizando o teste de Tukey apontou que os tratamentos ATN e BCN não diferiram, e que os tratamento BCN e BSN também não diferiram estatisticamente, porém, houve diferença significativa entre os tratamento ATN e BSN.

No final do processo, o tratamento BCN apresentou uma quantidade de sólidos voláteis maior que o tratamento BSN, podendo ser justificada pela maior biomassa presente, consequência da grande quantidade de fungos que surgiram neste tratamento.

## 4.2 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

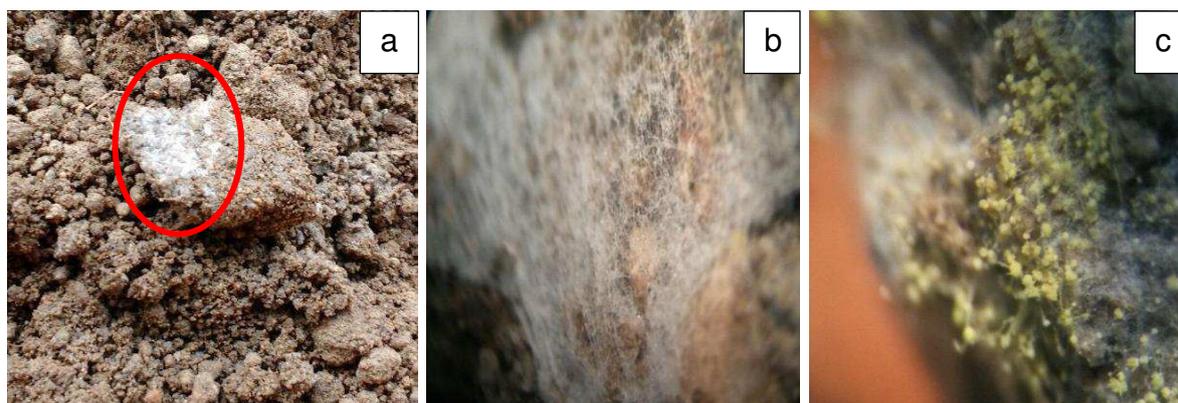
### 4.2.1 Ocorrência de *Aspergillus niger*

Durante o processo de tratamento deste estudo, duas espécies do gênero *Aspergillus* surgiram e foram identificadas, são elas: *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*, com predominância de *A. niger* durante a maior parte do tratamento.

As espécies de *Aspergillus* são considerados pela literatura eficientes degradadores de óleos, pois estes microrganismos são capazes de utilizar óleos como fonte de energia e carbono. Logo, um ambiente com pouca umidade e enriquecido com nutrientes, além de possuir uma fonte de carbono, é um ambiente perfeito para que eles se reproduzam.

Após 3 dias de processo, o tratamento que utilizou a técnica de Bioestimulação CN apresentou estruturas filamentosas esbranquiçadas, como representadas na Figura 19a e 19b. Após 6 dias de tratamento, esporos de fungos começaram a aparecer, e foram identificadas como a espécie *Aspergillus flavus* (Figura 19c), espécie de fungo natural do solo.

Figura 19. (a) Estruturas esbranquiçadas observadas macroscopicamente (b) Visão das estruturas esbranquiçadas por lupa (c) Visão dos esporos do fungo *Aspergillus flavus*.

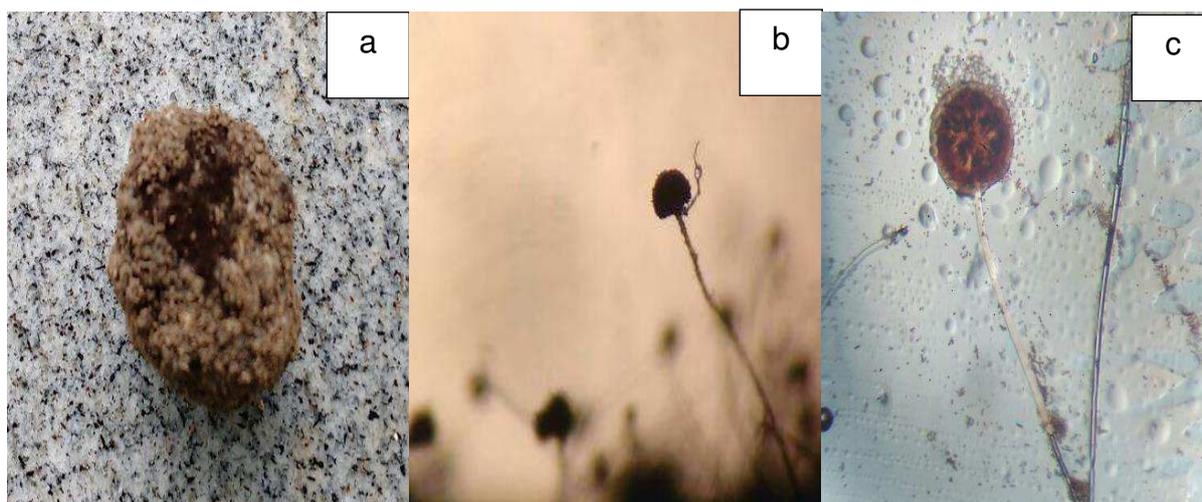


Fonte: Arquivo pessoal (2016)

Após 9 dias de tratamento, observou-se uma mudança no pigmento dos fungos, deixando a cor esbranquiçada e tornando-se em tons de marrom a preto

(Figura 20a), característicos da espécie *Aspergillus niger*. A caracterização da espécie foi possível ao observar microscopicamente os esporos característicos destes fungos (Figuras 20b e 20c).

Figura 20. (a) Visão macroscópica do fungo *Aspergillus niger* (b) Visão dos esporos de *Aspergillus niger* por lupa (c) Visão microscópica do esporo do *Aspergillus niger*.



Fonte: Arquivo pessoal (2016)

Os fungos do gênero *Aspergillus* têm sido muito estudados como potenciais biodegradadores de resíduos oleosos. Reginatto et al. (2011) analisaram a biorremediação do solo contaminado com óleo de soja por meio da atenuação natural e bioaugmentação por *Aspergillus fumigatus*, com excelentes taxas de remoção do contaminante. Lira (2014) trabalhou com esse gênero de fungo para biorremediar óleo diesel e apresentou espécies que apresentaram os melhores índices de remoção do resíduo.

#### 4.2.2 Respirometria

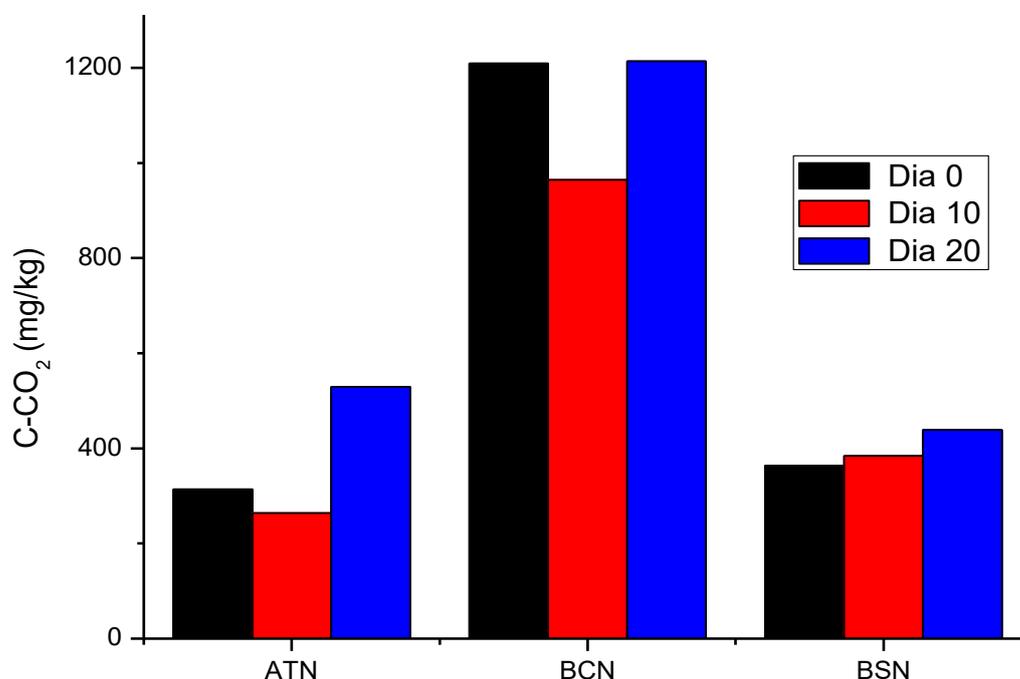
As Figuras 21 e 22 mostram, respectivamente, a produção diária e acumulada de CO<sub>2</sub> ao longo de 20 dias para os diferentes experimentos de biorremediação.

A Figura 21 mostra que a maior produção de gás carbônico ocorreu no terceiro dia de processo para o tratamento BCN, apresentando o valor máximo de 1214 mg/kg de solo. O tratamento BSN obteve a sua maior produção de gás no dia

20, com uma produção de 529 mg/kg e o tratamento ATN obteve a sua maior produção de gás também no dia 20, porém, com um valor de 439 mg/kg de solo.

Lapa (2014) ao trabalhar com a descontaminação de solo contaminado com borra-oleosa, utilizou técnicas de biorremediação, dentre elas: Bioestimulação (BE), Bioaugmentação (BA) e Bioestimulação seguida de bioaugmentação (BEA). Em seu trabalho, este autor teve como resultado máximo para a produção de gás diária, valores como 150,5mg/kg para o tratamento BEA, 145mg/kg para o tratamento BA e 146mg/kg para o tratamento de BE.

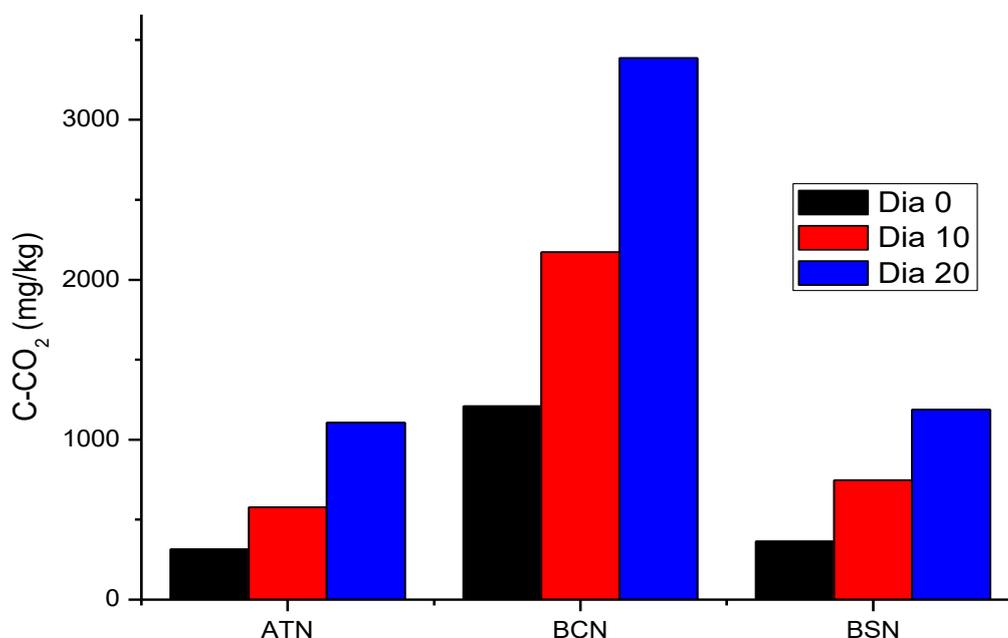
Figura 21. Carbono liberado ao longo do tempo de tratamento.



A Figura 22 apresenta a quantificação da produção acumulada de gás carbônico nos dias 0, 10 e 20 ao longo do processo para os diferentes tratamentos de biorremediação. Observa-se que os tratamentos ATN e BSN tiveram um comportamento semelhante, possuindo quase a mesma produção acumulada após 20 dias de tratamento: 1017 e 1277mg/kg solo, respectivamente. Thode Filho et al. (2015), ao trabalharem com biorremediação de óleo de soja durante 60 dias, utilizando a técnica de atenuação natural, constataram que a maior produção de C-CO<sub>2</sub> aconteceu após 30 dias de tratamento. Este comportamento é semelhante aos tratamentos ATN e BSN do presente trabalho, tendo em vista que as suas

produções de gás tiveram o maior valor no tempo de vinte dias e tendendo a aumentar com o tempo.

Figura 22. Produção de carbono acumulada ao longo do processo de biorremediação.



#### 4.3 PORCENTAGEM DE DEGRADAÇÃO DE ÓLEO TOTAL

Com o decorrer dos tratamentos, foi possível observar que o tratamento utilizando a técnica BCN obteve a maior taxa de remoção de óleo se comparadas as outras técnicas, como é descrita pela Tabela 5.

Tabela 6. Taxas de remoção de óleo (%) dos tratamentos após 20 dias do processo de biorremediação.

	<b>Remoção de Óleos e Graxas (%)</b>
Atenuação Natural	69,37%
Bioestimulação C.N	95,66%
Bioestimulação S.N	90,55%

No entanto, a análise estatística utilizando o teste de Tukey (tabela 7) comprovou que os tratamentos BCN e BSN não tiveram diferença significativa. Porém, houve diferença significativa entre o tratamento ATN e os demais. A análise foi feita por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de confiança.

Tabela 7. Resultado do teste de médias para a remoção de óleo

Tratamento	Médias de Tratamento	Resultados do teste*
<b>Atenuação Natural</b>	69,368	B
<b>Bioestimulação CN</b>	95,669	A
<b>Bioestimulação SN</b>	90,549	A

\*As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si

Thode Filho et al. (2015) analisaram a técnica de atenuação natural em solos contaminados com óleo vegetal utilizando testes *in vitro* durante 60 dias. Os autores obtiveram uma redução na concentração de 49,45%.

Deon et al. (2012) também trabalharam com biorremediação de resíduos oleosos, comparando técnicas em três tipos de resíduos: óleo diesel, óleo vegetal e óleo lubrificante. O estudo destes autores apontaram que o óleo vegetal (soja) foi o resíduo mais facilmente removido do solo, independente da técnica utilizada e apresentou os seguintes resultados: para a técnica de atenuação natural, obtiveram uma remoção de 49,45%; enquanto que para a técnica de bioaugmentação, utilizando dois tipos de isolados, obtiveram como resultado 87,81% e 73,91% de remoção de óleos e graxas. O processo de biorremediação foi aplicado por 21 dias.

Logo, pode-se dizer que o presente trabalho, realizado sob condições semiáridas, foi eficiente na remoção de óleos utilizando a técnica de atenuação natural, tendo em vista que obteve uma remoção de 69,37%. As demais técnicas, bioestimulação com adição de nutrientes e bioestimulação sem adição de nutrientes, obtiveram sucesso para o tratamento de resíduos oleosos vegetais, pois possuem as maiores taxas de remoção dentro das faixas citadas na literatura (incluindo trabalhos onde houve aplicação da bioaugmentação) para um curto período de tratamento (20 dias).

No entanto, deve-se levar em consideração que os autores citados utilizaram uma concentração inicial de 10% em relação ao volume do solo, podendo estes resultados estarem relacionados com uma concentração alta de contaminante, que

pode dificultar a atividade microbiana. Oliveira e Araújo (2011) aplicaram a técnica de bioaumentação com a bactéria *Bacillus subtilis* para o tratamento de solo contaminado com óleo vegetal em diferentes concentrações do poluente. Estes autores concluíram que os solos que continham maior concentração de óleo apresentavam menor atividade enzimática, mesmo os inoculados com as bactérias.

Apesar da análise estatística comprovar que não houve diferença significativa entre os tratamentos BCN e BSN, a remoção de óleos e graxas do primeiro tratamento foi a maior encontrada dentre os trabalhos pesquisados para a realização deste estudo. É possível que esta taxa de remoção seja resultado do trabalho dos fungos *Aspergillus niger*, indicando que a adição de nutrientes foi essencial para o desenvolvimento destes microrganismos.

## **5 CONCLUSÕES**

As técnicas de bioremediação utilizadas neste trabalho foram efetivas para descontaminar o solo com resíduo oleoso vegetal. O tratamento de bioestimulação com adição de nutrientes destacou-se por apresentar a maior taxa de remoção quando comparadas com as outras técnicas, apesar de não diferir estatisticamente do tratamento sem a adição de nutrientes.

O solo estudado, as características locais e o controle dos parâmetros intervenientes (aeração, umidade e correção de nutrientes) certamente influenciaram no desenvolvimento adequado dos processos de biodegradação.

## **6 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS**

Este estudo pode ser considerado um trabalho indicador para que se possa aperfeiçoar essas técnicas, principalmente em condições de solo e clima da área estudada. É necessário um estudo mais aprofundado destes fungos para que seja possível apontar de forma mais precisa quais as principais espécies de microrganismos capazes de biodegradar estes óleos e que estejam presentes na microbiota dos solos do semiárido paraibano.

Por fim, acredita-se que os resultados são promissores, recomendando-se a investigação de estudos que considerem outras proporções de óleos e maiores tempos de monitoramento.

## REFERÊNCIAS

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

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

ARAÚJO, F.S.M.; LEMOS, J.L.S. Isolamento e identificação de fungos degradadores de petróleo. In: Jornada de iniciação científica, centro de tecnologia mineral, 10 – CETEM/MCT. 2002, Rio de Janeiro. **Resumo expandido**. Rio de Janeiro, 2002. p. 2-8.

ASSISTAT Versão 7.7 beta (2016) – Disponível em :<<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 01 mar. 2016.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. NBR13894. Tratamento do Solo (*Landfarming*). Rio de Janeiro, 10p. 1997.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. NBR 10004. Resíduos Sólidos – Classificação, Rio de Janeiro, 71p.1987.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. NBR 6502. Análise. Granulométrico – Rochas e Solos, Rio de Janeiro, 18p. 1995.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. ISO 14.001:2004. Sistema de gestão ambiental: requisitos com orientações para uso, Rio de Janeiro. 27p. 2004.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Ed. 4. St. Paul: APS Press, 1998.

BERNARDO, S. **Manual de irrigação**. 6ed. Viçosa; Universidade Federal de Viçosa, 1995.

BISOGNIN, R.P. **Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos**. 2012. 140f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2012.

BRADY, N. C.; BUCKMAN, H. O. **Natureza e propriedade dos solos**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1994.

BRASIL, Lei Nº 12.305 de 02 de agosto de 2010 - Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS).

BRASIL, Resolução CONAMA nº362, de 23 de junho de 2005.

CARDOSO, E. J. B. N; TSAI, S. M; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 360p,1992.

CERQUEIRA, V. S. **Biorremediação de borra oleosa proveniente de indústria petroquímica em microcosmos**. 2011.196p. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

COSTA NETO, P.R; ROSSI, L. F. S; ZAGONEL, G.F; RAMOS, L.P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v. 23, n.4, p.531-537, 2000.

COUTINHO, H. D; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: considerações gerais e características de utilização. **Silva Lusitana**.v. 15, n. 1, p. 103- 117, 2007.

COLLA, L. M; PRIMAZ, A.L; LIMA, M; BERTOLIN T. E; COSTA, J. A. V. Isolamento e Seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.3, p. 809–813, 2008.

CPRM: Serviço Geológico do Brasil. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea: diagnóstico do município de Pombal**. Recife: CPRM/PRODEEM, 2005, 23p.

DEON, M. C; ROSSI, A; MAGRO C. D; REINEHR, C.O; COLLA, L. M; Biorremediação de solos contaminados com resíduos oleosos através de bioaugmentação e atenuação natural. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 33, n. 1, p. 73–82, 2012.

DUARTE, M. W. **Identificação de actinomicetos isolados de solo impactado com resíduos petroquímicos e seleção de potenciais degradadores de misturas de diesel e biodiesel**.109f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2 ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212p.

EMPRESA BRASILEIRA AGROPECUARIA- EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed., Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2009, 627 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 1 ed. Rio de Janeiro, 1979.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA (EUA). **Ex-situ bioremediation technology for treatment of dinoseb-contaminated soils – innovative technology evaluation report**. EPA/540/R-94/508, September. 1994.

FIGUEIREDO, M. V.B. **Microrganismos e agrobiodiversidade: O novo desafio para a agricultura.** Guaíba: Agrolivros, 568 p. 2008.

GAYLARDE, C. C; BELLINASSO, M. L; MANFIO, G. P. Biorremediação: Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência; Desenvolvimento**, n.34, p36-43, 2005.

GOMES, A. P. CHAVES, T. F; BARBOSA, J. N; BARBOSA, E. A. **A Questão do Descarte de Óleos e Gorduras Vegetais Hidrogenadas Residuais em Indústrias Alimentícias.** In: Encontro Nacional de Engenharia de Produção,33, 2013, Salvador. Anais... ABEPRO, 2013.

HEMPE, C.; NOGUEIRA, J. O. C. a Educação Ambiental E Os Resíduos Sólidos Urbanos. **Revista Eletrônico em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 5, n. 5, p. 682–695, 2012.

ISMAEL, F. C. M; LEITE, J. C. A. **Diagnóstico da erosão do solo na área do campus universitário da UFCG em Pombal – PB.** Projeto PIVIC. Pombal: PB, 2012, 18p.

KRENCZYNSKI, M. C. **Avaliação da biorremediação do solo contaminado com resíduos oleosos através do fracionamento da matéria orgânica.** 80p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de solos da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

KITZINGER W. G. C. M; JERÔNIMO C.E.M, Dimensionamento de um *Landfarming* para Tratamento de Borras Oleosas Utilizando Critérios de um Reator Batelada. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental.** v. 18, n.3, p.1273-1285, 2014.

LAPA, Mariel Penha. **Avaliação Ecotoxicológica de Solos Impactados com Borra Oleosa Submetidos a Diferentes Tratamentos de Biorremediação.** 62f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

LIMA, D.F.; OLIVEIRA, O.M.C.; CRUZ, M.J.M. Utilização dos fungos na biorremediação de substratos contaminados por petróleo: Estado da arte. **Cadernos de Geociências.** v.8, n.2, p. 113-121, 2011.

LIRA, D. D. **Caracterização de aspergillus sp . quanto a capacidade de degradação de óleo diesel.** 59f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

MATTOS JR. D; CANTARELLA H; QUAGGIO J. A. Perdas por volatilização do nitrogênio fertilizante aplicado em pomares de citros. **Laranja.** v.23, n.1, p.263-270, 2002.

MENDONÇA E. S; MATOS E. S. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises.**

Viçosa: UFV; 2005. 107 p.

MENEGHETTI, L. R. R. **Bioremediação Na Descontaminação De Solo Residual De Basalto Contaminado**. 113p. Dissertação (Mestre em Engenharia) – Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2007.

MEURER, E. J. **Fundamentos de Química do Solo**. 5. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2012. 275 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Ed. UFLA, 2002.

MPHEKGO, P. M., CLOETE, T.E., 2004, "Bioremediation of petroleum hydrocarbons through landfarming: Are simplicity and cost-effectiveness the only advantages?", *Environmental Science & Bio/Technology*, n. 3, p. 349-360, 2004.

MUTECA, F. L. L. **Biorremediação de solo contaminado com óleo cru proveniente de Angola**. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

NASCIMENTO, A. C. M.; NASCIMENTO, R. M.; CAETANO, R. **A logística reversa do óleo de fritura usado como solução para problemas ambientais**. Disponível em: <<http://www.rumosustentavel.com.br/a-logistica-reversa-do-oleo-de-fritura-usado-como-solucao-para-problemas-ambientais/>>. Acesso em: 15, maio 2016.

NAKATANI, A. S. **Microbiota Rizosférica e Micorriza Arbuscular em Solo de "Landfarming" de Resíduos Petroquímicos**. 86f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Programa de Pós- Graduação em Microbiologia Agrícola Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2007.

NUNES, S. P. Produção e consumo de óleos vegetais no Brasil. **Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais**, Jun., 2007. Disponível em <<http://www.deser.org.br>> Acesso em: 26, fev. 2015.

OLIVEIRA, A. C. C. DE; ARAÚJO, F. F. DE. Biorremediação de solo contaminado por óleo vegetal utilizando a bioaugmentação com bacillus subtilis. **Colloquium Exactarum**, v. 03, n. 01, p. 22–27, 2011.

OLIVEIRA, G. A. G. **Gerenciamento de Resíduos Sólidos Industriais: Um Estudo para a Área Mineira da Bacia do Médio São Francisco**. 2005. 120f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PACHECO, J. R.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Integração de processos físico-químicos e oxidativos avançados para remediação de percolado de aterro sanitário (chorume). **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 9, n. 4, p. 306-311, 2004.

PELCZAR JR., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e**

**aplicações**. v. 1. 2a Ed. Pearson Makron Books. 1997.

PEREIRA NETO, J. T. **Manual de compostagem**: processo de baixo custo. Viçosa – MG: UFV, 2007.

PEREIRA, A.R.B; FREITAS, D. A.F. Uso de Microrganismos para a biorremediação de ambientes compactados. **Revista eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. V.6, n.6, p975-1006, 2012.

POLONIO, J. C.; POLLI, A. D.; BULLA, L. M. C.; ROSSETO, P.; SANTOS, C. M.; RHODEN, S. A. Biorremediation potential of microorganisms: Survey of industrial and municipal treatable waste in Maringá-PR. **Biochemistry and biotechnology reports**, v. 3, n2, p. 31–45, 2014.

PUTZKE, J. ; PUTZKE, M.T.L. **Os reinos dos fungos**, ed. 1 v. 2, p. 637-639, 2002.

REGINATTO, C.; KORF, E. P.; THOMÉ, A.; COLLA, L. M.; **Biorremediação de solo contaminado com óleo de soja através de atenuação natural e bioaugmentação por *Aspergillus fumigatus***. In: Simpósio Nacional de Bioprocessos, 18, 2011, Caxias do Sul. Anais...INAFERM, 2011.

REGINATTO, C.; COLLA, L. M.; THOMÉ, A. Biorremediação de resíduos oleosos em solos. **Revista CIATEC-UPF**, v. 3, n. 2, p. 19–31, 2012.

REINERT, D. J.; REICHERT, J. M. Coluna de areia para medir a retenção de água no solo: protótipos e teste. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1930- 1935, 2006.

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

ROCHA, C.A.; ALVES, F. **Avaliação dos principais micro-organismos e técnicas utilizados na biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados**. 2013. 13f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, 2013.

RODRIGUES JÚNIOR, J. O.; MELLO, A. J. O.; BARBOSA, M. A. G. **Gestão de Resíduos Oleosos no âmbito brasileiro: Corroboração Jurídica**. In: Congresso Internacional de Direito Ambiental e Ecológica Política, 2, 2013, Santa Maria. Anais... UFSM, 2013. p.2.

SALLES, F.S. F. **Impacto Ambiental Causado pelo Óleo Vegetal**. 2010. 36f. Dissertação (Mestrado em Gestão Ambiental) – Instituto A Vez do Mestre Universidade Candido Mendes, Rio de Janeiro.

SANTOS, R. S. **Gerenciamento de Resíduos: coleta de óleo comestível**. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Tecnologia em logística.

Faculdade de Tecnologia da Zona Leste, São Paulo, 2009.

SANTOS A.G.; LOREGIAN, H. B; SOARES, J.; BRASIL, A.N.; NUNES, D.L. **Alterações Ocorridas no Óleo de Cozinha Durante o Processo de Fritura**. In: Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 6, 2009, Montes Claros, Anais... ENERBIO, 2009.

SILVA, E. P. **Avaliação Preliminar do Potencial de Aplicação da Tecnologia de Biopilhas para a Biorremediação do Solo de Guamaré-RN**. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

SILVA, L. J. **Processo de Landfarming para Tratamento de Resíduos Oleosos**. 2009. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SILVA, T. A. R. **Biodiesel de óleo residual: produção através da transesterificação por metanólise e etanolise básica, caracterização físico-química e otimização das condições reacionais**. 151f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Uberlândia, Uberlândia, 2011.

SOUZA, A. E.; CAMARGO, I. C. **Gestão De Resíduos Na Portobello s / a Sob a Ótica Da Logística Reversa**. In: Seminário Latino- Iberoamericano de Gestão Tecnológica, 11, 2005, Salvador. Anais... ALTEC, 2005.

SPILBORGHS, M.C.F; **Biorremediação de aquífero contaminado com hidrocarboneto**. 162f. 1997. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

THODE-FILHO, S; SILVA, E. R; MATTOS, U. A. O. **Gestão de Resíduos Pós-Consumo: Avaliação do Processo de Consumo e Descarte do Óleo Vegetal Residual com Pessoas Físicas no Município do Duque de Caxias-RJ**. In: Seminário Nacional de Resíduos Sólidos, 11, 2014, Duque de Caxias. Anais...ABES, 2014.

THODE FILHO, S; ALMEIDA, T.M; PAIXÃO, C. P. S; MARQUES, M. R. C; SILVA, E. R. Biorremediação Passiva: Um Estudo Preliminar Sobre O Óleo Vegetal De Soja. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 2, p. 401–404, 2015.

TOMASSONI, F; SANTOS, R. F; SANTOS, F. S; CARPINSKI, M; SILVEIRA, L. Técnica de biorremediação do solo. **Acta Iguazy, Cascavel**, v.3, n. 3, p. 46–56, out. 2014.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. ed. 8. Porto Alegre: Artmed, 2005.

VIDALI, M. “Bioremediation. An overview,” *Pure and Applied Chemistry*, v. 73, n. 7, p 1163–1172, 2001.

WEBER, B. D.; SANTOS, A. A. Utilização da biorremediação como ferramenta para o controle da degradação ambiental causada pelo petróleo e seus derivados. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v.10, n.1, p. 114–133, 2013.

WILDNER L. B. A; HILLIG, C. Reciclagem de Óleo Comestível e Fabricação de Sabão como Instrumento de Educação Ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. V.5, nº5, p. 813 - 824, 2012. Disponível em <<http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/reget/>> Acessado em: 25, fev. 2015.