



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS

LAEDSON ENEAS CAVALCANTE

**APLICAÇÃO DA ADSORÇÃO UTILIZANDO CASCA DA PALMA
FORRAGEIRA (*Opuntia ficus*) COMO ADSORVENTE NA
DESCONTAMINAÇÃO DE CORPOS D'ÁGUA E DA TÉCNICA DE
BIOPILHAS PARA O SOLO, CONTAMINADOS COM GASOLINA**

SUMÉ – PB

2018

LAEDSON ENEAS CAVALCANTE

**APLICAÇÃO DA ADSORÇÃO UTILIZANDO CASCA DA PALMA
FORRAGEIRA (*Opuntia ficus*) COMO ADSORVENTE NA
DESCONTAMINAÇÃO DE CORPOS D'ÁGUA E DA TÉCNICA DE
BIOPILHAS PARA O SOLO, CONTAMINADOS COM GASOLINA**

**Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Engenharia de
Biotecnologia e Bioprocessos, do Centro de
Desenvolvimento Sustentável do Semiárido
da Universidade Federal de Campina
Grande, em cumprimento às exigências
para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Biotecnologia e
Bioprocessos.**

Orientadora: Professora Dra. Lenilde Mérgia Ribeiro Lima.

SUMÉ – PB

2018

C376a Cavalcante, Laedson Eneas .

Aplicação da adsorção utilizando casca de palma forrageira (*Opuntia ficus*) com adsorvente na descontaminação de corpos d'água e da técnica de biopilhas para o solo, contaminados com gasolina. / Laedson Eneas Cavalcante. - Sumé - PB: [s.n], 2018.

70 f.

Orientadora: Professora Dra. Lenilde Mérgia Ribeiro Lima.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Processo de adsorção. 2. Biopilha. 3. Palma forrageira. 4. Remoção de hidrocarbonetos. 5. Contaminação do solo - gasolina I. Título.

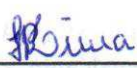

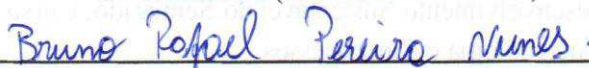
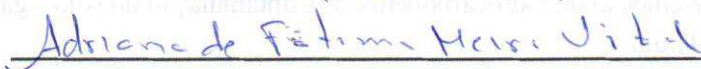
CDU: 662.66(043.1)

LAEDSON ENEAS CAVALCANTE

**APLICAÇÃO DA ADSORÇÃO UTILIZANDO CASCA DA PALMA FORRAGEIRA
(*Opuntia ficus*) COMO ADSORVENTE NA DESCONTAMINAÇÃO DE CORPOS
D'ÁGUA E DA TÉCNICA DE BIOPILHAS PARA O SOLO, CONTAMINADOS COM
GASOLINA**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

BANCA EXAMINADORA:

 _____ Prof. Dra. Lenilde Mérgia Ribeiro Lima Orientadora (UAEB/CDSA/UFCG)	Nota (10,0)
 _____ Prof. Dra. Glauciane Danusa Coelho Co-Orientadora (UATEC/CDSA/UFCG)	Nota (10,0)
 _____ Prof. Dr. Bruno Rafael Pereira Nunes Examinador (UAEB/CDSA/UFCG)	Nota (10,0)
 _____ Prof. Dra. Adriana de Fátima Meira Vital Examinadora (UATEC/CDSA/UFCG)	Nota (10,0)

Nota Final (Média)

Nota (10,0)

Aprovado em: 21 de Março de 2018.

Primeiramente, a **Deus**, meu Senhor e meu Guia.

Aos meus pais, **Martinho** e **Sônia**, por todo apoio e incentivo durante o período de graduação, acreditando e investindo no meu potencial.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me privilegiado com o dom da vida, me abençoando, protegendo, dando forças e coragem para enfrentar todas as dificuldades proporcionadas pela vida e ao longo do curso. Sei que nele posso confiar em todos os momentos.

Aos meus amados pais, Martinho e Sônia pelo amor, carinho, incentivo e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, não medindo esforços para que eu concluísse essa etapa. Vocês são minha base, sem vocês nada seria possível!

Aos meus queridos irmãos, Lavosier, Laerte, Lamark e Lamartine (*in memoriam*) pelo companheirismo, incentivo, apoio e carinho de sempre. Amo vocês!

Aos meus avós maternos Otacílio e Terezinha, e meus avós paternos, Eneas (*in memoriam*) e Landelina (*in memoriam*), por todo apoio e torcida pelo sucesso em minha vida acadêmica.

Aos meus tios, tias e primos por todas as palavras de incentivo durante todo o curso.

A toda minha família por todo suporte e apoio nos momentos difíceis, estando sempre dispostos a ajudar no que precisasse em qualquer momento. Sem o apoio de cada um de vocês não teria alcançado esse sonho!!

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Lenilde Mérgia Ribeiro Lima, pela oportunidade, confiança, carinho e privilégio de poder participar do seu grupo de pesquisa e pelo apoio nas orientações durante o PIBIC e o Trabalho de Conclusão de Curso, estando sempre à disposição. Meu muito obrigado!

À minha querida co-orientadora, Profa. Dra. Glauciane Danusa Coelho pelo apoio, carinho, paciência e contribuição para o desenvolvimento dos experimentos laboratoriais, fundamentais para realização desse trabalho. Meu muito obrigado por tudo!

A todos os professores que contribuíram durante toda a graduação, em especial a Jean, Glauciane, Ana Verônica, Franklin, Alex, Fabiana, Normanda, Vanderlan, Michelle, Ana Mary, Ranoel, Aldre, Janduy, Rafael, Eloy, Tatiana, Mérgia, Ilza, Hugo, Bruno, por todo conhecimento transmitido durante todo o curso.

Ao professor Dr. Ranoel Gonçalves, pela disponibilização das palmas para os estudos de adsorção e à professora Dra. Adriana Vital, coordenadora do Laboratório de Solos – LASOL, pela disponibilização do espaço para realização dos experimentos a professora Alecsandra Viera por conceder o solo e esterco para realização de parte do experimento e ao técnico do Laboratório de Solos, Danilson pelo auxílio na execução dos experimentos.

Aos técnicos do CDSA, em especial, Adriano, Norma, Simone, Osvaldo e Danilson.

Aos avaliadores da banca, à professora Dra. Adriana de Fátima Meira Vital e professor Dr. Bruno Rafael Pereira Nunes.

Aos meus colegas e amigos de curso e de classe por todos os momentos juntos no decorrer desses anos, compartilhando conhecimentos, trocando experiências e por todas as diversões ao longo

desses anos, em especial a William, Daniel, João Socorro, Sendy, Anderson, Roselândia, Izabela Campos, Denis, Felipe Ravelly, Caio, Lucas Wagner, Bernadete, Jéssyca Deyse, Laura, Catarina.

Às minhas amigas/irmãs/aperreios Bernadete e Luana pelo companheirismo, incentivo, brincadeiras, amizade e pelos bons momentos compartilhados juntos durante essa jornada.

Aos meus amigos, Daniel, William, Daiany, Luana, Bernadete, Joaquim, João Paulo, Arlene e Roberto, pelos momentos vivenciados juntos na “república de Parari”.

A todos os meus amigos de Parari e Sumé, que sempre estiveram presentes em minha vida. Obrigado pelo carinho, amizade e risadas.

Aos amigos da equipe de Adsorção (Edigleiga, Joanny, Jayane, Rebeca e Camila) pela ajuda no desenvolvimento das pesquisas.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia (Marcos Antonio, Kamila Sotero, Carol Freitas, Alice Pinheiro e Caio Azevedo) pelo apoio do começo ao fim, muito obrigado!

A todos os funcionários do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA), pelo auxílio e atenção, em especial Zé Tiano, Cristiano, João, Novinha e Sueli. Meu muito obrigado!!

Ao Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) e à Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) pela oportunidade da formação superior e ao Programa de Iniciação Científica PIBIC.

A todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para realização desse trabalho.

“Nenhuma grande vitória é possível sem que tenha sido precedida de pequenas vitórias sobre nós mesmos. ”

(L. M. LEONOV)

RESUMO

O meio ambiente vem sofrendo com problemas que afetam os recursos hídricos e os solos, comprometendo sua qualidade. Existem inúmeros fatores que contribuem para a poluição ambiental, dentre eles se destacam as indústrias petrolíferas, que são consideradas mundialmente como um dos setores que mais proporciona a contaminação do meio ambiente. Ao longo do seu processo de produção, essas indústrias são responsáveis por gerar enormes quantidades de resíduos sólidos, prejudicando diretamente a sobrevivência de vida no planeta. Pensando nisso, o trabalho teve como objetivo utilizar a casca da palma forrageira, espécie típica do semiárido nordestino, como adsorvente, e o sistema de biopilhas para remoção de contaminantes hidrocarbonados (gasolina), presentes em águas de descarte e para recuperação de áreas contaminadas pelo mesmo poluente. Para desenvolver os testes de adsorção, preparou-se uma dispersão gasolina/água simulando o efluente contaminado, utilizando como adsorvente a casca da palma forrageira na forma particulada, realizando as análises de cinética e equilíbrio de adsorção em uma escala de 5 a 60 minutos. Já para o desenvolvimento das biopilhas utilizou-se solo argiloso, esterco, palma sem casca, casca de ovos e microrganismos eficientes e adicionou-se gasolina para simular a área contaminada, avaliando o potencial das biopilhas na recuperação da área poluída durante 89 dias, monitorando a temperatura, umidade, pH, além de realizar análises como Unidades Formadoras de Colônias, determinação da casca da palma forrageira como adsorvente conseguiu reduzir uma concentração máxima de poluente de $7,04 \text{ g.g}^{-1}$ no tempo de 60 minutos. A temperatura, umidade e pH das biopilhas se mantiveram dentro das condições ideais de metabolização dos microrganismos, variando entre 28 e 39°C, 10,77% e 24,05%, 6,4 e 7,73 respectivamente, além de promover a formação de UFC e biossurfactantes. O teste colorimétrico por meio da biodegradação do indicador DCPIP e o teste de ecotoxicidade utilizando sementes de feijão (*Vigna unguiculata*) presença de biossurfactante, biodegradação utilizando o indicador DCPIP e testes de ecotoxicidade por meio de teste de germinação. As análises de cinética e equilíbrio mostram que a) e alface (*Lactuca sativa*), a partir do índice de germinação, obtiveram resultados satisfatórios, indicando possibilidades de recuperação do solo. Com isso, nas condições em que a pesquisa foi realizada foi possível concluir que o método de adsorção utilizando a casca da palma forrageira como adsorvente e a biorremediação por meio do sistema de Biopilhas apresentaram resultados que comprovam a eficiência na redução da gasolina na água e no solo.

PALAVRAS-CHAVE: Adsorção. Biopilhas. Remoção de hidrocarbonetos.

ABSTRACT

Environment has been suffering from problems that affect water resources and soils, compromising their quality. There are many factors that contribute to environmental pollution, among them petroleum industries, which are considered worldwide as one of the sectors that provides most contamination of environment. Throughout their production process, these industries are responsible for generating huge amounts of solid waste, directly damaging survival of life on the planet. The objective of this work was to use bark of cactus pear forage, a typical species of northeastern semi-arid region, as an adsorbent, and biopill system for removal of hydrogen carbonate contaminants (gasoline) present in wastewater and for recovery of contaminated areas by same pollutant. To develop adsorption tests, a gas/water dispersion was prepared to simulate contaminated effluent, using as adsorbent bark of cactus pear forage in the particulate form, performing kinetic and adsorption equilibrium analyzes on a scale of 5 to 60 minutes. For development of biopiles, it was used clay soil, manure, shelled palm, eggshell and efficient microorganisms and gasoline was added to simulate contaminated area, evaluating potential of biopiles in the recovery of polluted area during 89 days, monitoring temperature, humidity, pH, besides performing analyzes such as Colony Forming Units, determination of presence of biosurfactant, biodegradation using DCPIP indicator and ecotoxicity tests. Kinetic and equilibrium analyzes show that cactus pear forage bark as adsorbent was able to reduce a maximum pollutant concentration of 7.04 g.g⁻¹ in 60 minute time. Temperature, humidity and pH of biopiles remained within ideal conditions of metabolization of microorganisms, varying between 28 and 39 °C, 10.77% and 24.05%, 6.4 and 7.73, respectively, besides promoting formation of CFUs and biosurfactants. Colorimetric test using biodegradation of DCPIP indicator and ecotoxicity test using bean (*Vigna unguiculata*) seeds and lettuce (*Lactuca sativa*) from germination index, obtained satisfactory results, evidencing soil recovery. Thus, adsorption method using cactus pear forage bark as adsorbent and bioremediation through Biopilhas system presented results that demonstrate efficiency in the reduction of gasoline in water and soil.

Keywords: Adsorption. Biopiles. Remotion of hydrocarbons.

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Equação do modelo de Langmuir.....	23
Equação 2 - Índice de emulsificação (IE).....	46
Equação 3 - Índice de germinação de sementes.	49
Equação 4 - Porcentagem de sementes germinadas	49
Equação 5 - Porcentagem de crescimento do eixo hipocótilo radícula	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das Biopilhas.	44
Tabela 2 - Concentrações dos compostos.	44
Tabela 3 - Preparo do meio de BDA.	44
Tabela 4 - Composição de sais no preparo de 1,0 L do meio Bushnell-Haas.....	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Palma forrageira do tipo gigante.....	22
Figura 2 - Palma forrageira do tipo redonda ou orelha de onça	25
Figura 3- Palma forrageira do tipo redonda ou orelha de onça	26
Figura 4 - Palma forrageira (<i>Nopalea cochinillifera</i>) do tipo miúda ou doce	26
Figura 5 - Esquema da ação dos microrganismos durante o processo de biorremediação.....	30
Figura 6 - Município de Sumé, Paraíba, Brasil.	38
Figura 7 - Banco de germoplasma de palma forrageira, localizada na UFCG, Câmpus de Sumé.....	37
Figura 8 - Casca da palma forrageira obtida para realização da secagem.....	39
Figura 9 - Biomassa após período de secagem a céu aberto	40
Figura 10 - Cominuição da biomassa para forma de pó por meio do moinho de facas	40
Figura 11 - Biomassa da casca da palma particulada	41
Figura 12 - Frascos erlenmeyer contendo a mistura água/gasolina e biomassa na mesa agitadora, sob agitação a 130 rpm e temperatura constante	42
Figura 13 - Montagem das biopilhas.	44
Figura 14 - Diluição em série do líquido metabólico	46
Figura 15 - Curva cinética de adsorção de gasolina utilizando a casca da palma forrageira como biomassa.	51
Figura 16 - Curva de equilíbrio de adsorção obtida por meio do modelo de Langmuir de gasolina utilizando a casca da palma forrageira como biomassa.	52
Figura 17 - Variação da temperatura no processo de biopilhas.....	53
Figura 18- Valores da umidade verificados no sexto dia (6°) do processo e do octogésimo nono (89°) dia.....	55
Figura 19 - Valores de pH verificados no sexto dia (6°) do processo e do octogésimo nono (89°) dia.....	56
Figura 20 - Resultados dos testes d (IE) e (E) realizados para verificar a produção de biossurfactantes..	57
Figura 21 - Biodegradação da gasolina utilizando DCPIP no início do processo.....	58
Figura 22 - Biodegradação da gasolina utilizando DCPIP no final do processo.....	58
Figura 23 - Germinação relativa das sementes de feijão.	60
Figura 24 - Germinação relativa das sementes de alface.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ATP	Adenosina Trifosfato
Atm	Atmosfera
B.O.D	Biochemical Oxygen Demand
BH	Bushnell-Haas
BTEX	Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno
C	Carbono
°C	Grau Celsius
CDSA	Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido
cm	Centímetro
CO	Monóxido de carbono
CO ₂	Dióxido de Carbono
DCPIP	2,6-Diclorofenol Indofenol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
g	Gramma
H	Hidrogênio
h	Hora
ha	Hectare
He	Altura da emulsão
HPAs	Hidrocarbonetos Aromáticos Polinucleares
Ht	Altura total do líquido
H ₂ O	Água
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IE	Índice de emulsificação
kg	Quilograma
km ²	Quilômetro quadrado
m	Metro
min	Minuto
MJ	Megajoule
mL	Mililitro
mm	Milímetro

nm	Nanômetro
OD	Oxigênio Dissolvido
O ₂	Gás Oxigênio
N°	Número
NOS	Nitrogênio, enxofre e oxigênio
PB	Paraíba
pH	Potencial Hidrogeniônico
RDX	Ciclotrimetilenotrinitramina
rpm	Rotação por minuto
TNT	Trinitrotolueno
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 POLUIÇÃO	17
3.1.1 Hidrocarbonetos	17
3.2 POLUIÇÃO DAS ÁGUAS	19
3.2.1 Adsorção	20
3.2.1.1 Isotermas de Adsorção	22
3.2.1.2 Palma forrageira (<i>Opuntia fícus</i>)	25
3.3 POLUIÇÃO DO SOLO	27
3.3.1 Biorremediação	29
3.3.1.1 Biopilhas	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 CONTAMINANTE	38
4.2 PREPARAÇÃO DA BIOMASSA	38
4.3 CINÉTICA DE ADSORÇÃO	41
4.4 EQUILÍBRIO NA ADSORÇÃO	42
4.5 FORMAÇÃO DAS BIOPILHAS	43
4.5.1 Coletas	44
4.5.2 Obtenção do Líquido Metabólico e Contagem de Microrganismos	45
4.5.2.1 Determinação da Umidade	45
4.5.2.2 Determinação do pH	45
4.5.2.3 Determinação da Produção de Biossurfactante	46
4.5.2.4 Biodegradação do Contaminante Utilizando a Técnica Colorimétrica ...	46
4.5.3 Preparação dos Meios de Cultura	47
4.5.4 Preparação do Meio de Batata, Dextrose e Ágar (BDA)	47
4.5.5 Preparação do Meio Bushnell-Haas Adaptado (BH)	48
4.6 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES	48
4.6.1 Solução DCPIP	48
4.6.2 Teste de Ecotoxicidade	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1 CINÉTICA DE ADSORÇÃO	50
5.2 EQUILÍBRIO DA ADSORÇÃO	51
5.3 VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NOS TESTES DE DEGRADAÇÃO .	52
5.4 CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA (UFC)	53
5.5 VARIAÇÃO DE UMIDADE DURANTE OS TESTES DE DEGRADAÇÃO	54
5.6 AFERIÇÃO DO pH	55
5.7 DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA DE BIOSSURFACTANTE	56
5.8 BIODEGRADAÇÃO UTILIZANDO DCPIP	57
5.9 TESTE DE ECOTOXICIDADE	58
6 CONCLUSÕES	61
7 PERSPECTIVAS PARA PRÓXIMOS TRABALHOS	62
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, o meio ambiente vem sofrendo com grandes problemas que afetam sua qualidade, tanto com a poluição das reservas de água para bem de uso comum de todos, quanto a dos solos, que perdem a fertilidade, comprometendo sua capacidade produtiva. Estes problemas são causados por inúmeras situações, tais como a forma de utilização dos recursos naturais, a deficiência na preservação e monitoramento por parte da falta de conscientização por parte da aplicabilidade das leis ambientais e da sociedade em preservar e utilizar de forma sustentável os recursos naturais, colocando em risco a sobrevivência do meio ambiente e, conseqüentemente, prejudicando diretamente a qualidade de vida de todos os seres (PORTO, 2014).

Existem inúmeros fatores que contribuem para a poluição ambiental. Dentre estes, destacam-se as indústrias petrolíferas, que são consideradas mundialmente como um dos setores que mais proporciona a contaminação do meio ambiente. Ao longo do seu processo de produção estas indústrias são responsáveis por gerar enormes quantidades de resíduos sólidos, prejudicando diretamente a sobrevivência de vida no planeta (ANP, 2017). Do mesmo modo acontece com os efluentes produzidos pelas refinarias, visto que apresentam em sua composição compostos químicos tais como fenóis, hidrocarbonetos poliaromáticos e metais pesados, que são consideradas substâncias tóxicas ao meio ambiente, aos seres vivos e aos organismos marinhos, além de apresentar grande capacidade carcinogênica (CECHINEL, 2013).

Segundo Ahmaruzzaman (2011), um dos principais objetivos que vem se buscando nos dias atuais é a retirada de forma eficaz de compostos que influenciam a contaminação das águas residuais. Existem algumas técnicas que vêm sendo utilizadas com essa finalidade, tais como a precipitação, seguida de coagulação ou filtração por membrana. Porém, estes métodos acabam se tornando inviáveis devido ao acúmulo de grandes quantidades de lamas e baixa eficiência na remoção de metais, além de serem métodos de alto custo (Hsu, 2009; Ahmaruzzaman, 2011). Atualmente, a adsorção é um dos métodos que apresentam maior eficiência na remoção de contaminantes do meio aquoso (ÖZACAR *et al.*, 2008).

A aplicação do método de adsorção utilizando biomassas como adsorvente é uma estratégia que desempenha um grande avanço econômico para o tratamento de efluentes contaminados por substâncias tóxicas, inclusive os contaminados por hidrocarbonetos. A adsorção é uma técnica de separação de enorme utilidade na indústria química, petroquímica e

bioquímica (MOREIRA *et al.*, 2000).

No caso do solo, quando o mesmo é afetado com substâncias químicas ou pela alteração das condições ambientais pela ação humana, causa a poluição de forma direta ou indireta, além de comprometer a qualidade da água e do ar. Dentre estes compostos químicos, os que apresentam maior risco são principalmente os hidrocarbonetos de petróleo e seus derivados. A presença destes contaminantes em grandes concentrações no solo ocasionam diversos problemas para a cadeia alimentar, comprometendo o ecossistema (RODRIGUES; DUARTE, 2003).

Pensando nisso, com o decorrer dos anos, várias técnicas físicas, químicas e biológicas, vêm sendo desenvolvidas com o propósito de remover ou remediar a concentração dos compostos tóxicos presentes nas áreas contaminadas por petróleo e seus derivados. Uma das técnicas que vem sendo mais utilizada é a técnica de biorremediação. Esta técnica é um método biológico que consiste na utilização de microrganismos tais como bactérias e fungos, promovendo a biodegradação dos contaminantes tóxicos ao meio ambiente em substâncias menos poluentes, tornando-se um método economicamente viável e promissor para a recuperação de solos contaminados por petróleo e seus derivados (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

Dentre as técnicas de biorremediação, existe o sistema de biopilhas que é uma tecnologia que vem se apresentando como uma opção viável de tratamento biológico em relação aos demais métodos para remoção de contaminantes tóxicos. Esta tecnologia consiste na formação de células ou pilhas de solo contaminado, de forma a estimular a atividade microbiana aeróbia dos microrganismos presentes no sistema, por meio da aeração e do controle das condições ambientais para o melhor desempenho metabólico dos microrganismos, tendo em vista que os microrganismos degradam os hidrocarbonetos presentes no solo, diminuindo as concentrações de poluentes presentes (BITTAR, 2017).

Dessa forma, a técnica de adsorção e utilizando a casca da palma forrageira como adsorvente se torna uma alternativa viável para região semiárida na remoção de hidrocarbonetos e a técnica de biopilhas no tratamento de solos contaminados por vários poluentes em principalmente os derivados do petróleo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar a casca da palma forrageira (*Opuntia fícus*), espécie típica do semiárido nordestino, como adsorvente para remoção de contaminantes hidrogenocarbonados (gasolina), presentes em águas de descarte, e o sistema de biopilhas para recuperação de áreas contaminadas pelo mesmo poluente.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar a biomassa palma forrageira na forma particulada.
- Obter as curvas cinéticas para a caracterização da dinâmica da adsorção da gasolina com a casca da palma.
- Estudar o poder adsortivo da casca da palma quando colocada em contato com a gasolina, por meio das isothermas obtidas pela análise de equilíbrio.
- Empregar os resíduos da palma sem casca restante do processo de adsorção no processo de biopilhas para diminuição da toxicidade da gasolina.
- Avaliar a participação dos biossurfactantes na diminuição da toxicidade da gasolina.
- Analisar a ecotoxicidade do composto gerado nos processos de biopilhas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 POLUIÇÃO

A sociedade moderna enfrenta sérias dificuldades devido a diversos fatores. Dois problemas relacionados, que podem ser facilmente identificados, são de crucial importância para o futuro da humanidade: o esgotamento dos combustíveis fósseis e a degradação do meio ambiente. Estes problemas estão relacionados porque uma das principais fontes de poluição ambiental é o uso indiscriminado de combustíveis fósseis para produzir energia (GONZALEZ, 2000).

Poluição é definida pela Lei n. 6.938/81, art. 3º, III, in verbis, como “a degradação da qualidade ambiental resultante de atividade que direta ou indiretamente: prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; afetem desfavoravelmente a biota; afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente; lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos” (MEIO AMBIENTE, 2018).

As fontes de poluição podem ser diversas, dentre as quais podemos destacar os esgotos, resíduos sólidos, resíduos e emissões industriais, lixo radioativo, agrotóxicos, extração e tratamento de minerais, veículos automotores, derramamento de efluentes, etc. Dependendo do elemento atingido, a poluição poderá ser denominada de atmosférica, sonora, visual, radioativa, hídrica, do solo, dentre outras. A partir da década de 1980, a complexa relação entre as atividades humanas e o meio ambiente tornou-se uma das maiores preocupações, de âmbito global, com importantes repercussões políticas, legais e econômicas, envolvendo a sociedade como um todo (POLIDO, 2018).

Com isso, inúmeras pesquisas têm se voltado para o desenvolvimento de técnicas de descontaminação do meio ambiente. Duas grandes preocupações relativas à poluição do meio ambiente referem-se à contaminação da água e do solo.

3.1.1 Hidrocarbonetos

Os hidrocarbonetos saturados, compostos de C e H unidos por ligações simples, incluem os alcanos normais, os isoalcanos e os cicloalcanos. A maior parte dos alcanos normais presentes no petróleo possui até 40 átomos de carbono. Os hidrocarbonetos aromáticos são compostos que apresentam o anel aromático e ocorrem sempre no estado

líquido. Podem apresentar mais de um anel aromático, como os naftalenos (2 anéis) e os fenantrenos (3 anéis). O tolueno, com apenas um núcleo benzênico, é o composto aromático mais comum no petróleo, seguido pelo xileno e o benzeno. Já os não-hidrocarbonetos são compostos por outros elementos químicos, além do C e H, que são denominados de heteroátomos (nitrogênio, enxofre e oxigênio (NOS)) e apresentam a ocorrência de metais, especialmente o níquel e vanádio, que são associados à matéria orgânica em compostos designados de organometálicos (GEOLOGIA, 2017).

O petróleo é constituído por uma combinação complexa de hidrocarbonetos saturados, hidrocarbonetos aromáticos e por quantidades variáveis de não-hidrocarbonetos. Estudos indicam que existem cerca de 350 hidrocarbonetos presentes na composição química do petróleo, sendo 200 compostos de enxofre, além de diversos compostos não-hidrocarbonetos. Basicamente, o petróleo é composto principalmente por carbono (80 a 90% em peso), hidrogênio (10 a 15%), enxofre (até 5%), oxigênio (até 4%), nitrogênio (até 2%) e traços de outros compostos químicos (níquel e vanádio, por exemplo) (GEOLOGIA..., 2017).

Os hidrocarbonetos existentes no petróleo possuem uma denominação básica decorrente da formulação estrutural dos átomos de carbono (C) e hidrogênio (H) que os compõem, e são responsáveis por causar grandes danos quando entram em contato com o ambiente aquático (ALEIXO; TACHIBANA; CASAGRANDE, 2007).

Alguns dos hidrocarbonetos que mais colaboram para a poluição de corpos aquíferos e dos solos são aqueles que constituem a gasolina utilizada como combustível automotivo. Para biodegradar esses compostos é preciso que os microrganismos envolvidos funcionem nas melhores condições possíveis, onde isso depende muito do controle de alguns fatores ambientais.

Gasolina

A gasolina é um hidrocarboneto originado a partir do petróleo. É uma substância líquida, inflamável e volátil, composta por uma mistura de substâncias química com mais de 400 hidrocarbonetos alifáticos. Em outras palavras, é formada em maior quantidade principalmente por cadeias constituídas por carbonos e hidrogênios e também pode conter em menor quantidade outros compostos como o enxofre e nitrogênio (PETROBRAS, 2017).

Um dos fatores que promove a forma de distribuição dos compostos orgânicos ao meio ambiente é a solubilidade, tendo em vista que as substâncias que apresentam maior

solubilidade apresentam maior facilidade de serem transportados pela água e, conseqüentemente, maior probabilidade de serem biodegradadas. A gasolina possui alguns aditivos polares em sua composição que permite uma maior interação com a água. Uma estratégia utilizada para prever a solubilidade de uma determinada substância em contato com a água é o coeficiente de partição octanol/água, que possibilita estimar a quantidade de poluente a ser adsorvido pelo solo e, no caso da combinação do solo com a matéria orgânica, é possível estimar a quantidade de poluente extraída da área contaminada (JORGE, 1999).

Por ser um composto de fácil escoamento, a gasolina tem a capacidade de alcançar longas distâncias quando entra em contato com o solo, podendo atingir regiões próximas como cisternas, garagens, o subsolo e o lençol freático, ocasionando uma série de problemas para a sociedade e o meio ambiente devido à ingestão de água contaminada e o aumento de toxicidade, além de causar explosões e incêndios (JÚNIOR; PASQUALETTO, 2008).

3.2 POLUIÇÃO DAS ÁGUAS

Há algumas décadas a poluição das águas não era considerada como um problema real para a população brasileira. Afinal, sempre foi do conhecimento de todos que o país possuía extensos rios banhando seu território. Na maior parte das regiões do Brasil a água era jorrada em abundância em grande parte das cidades, com exceção da região Nordeste, onde a estiagem sempre foi considerada um problema natural que há muitos anos aflige os habitantes e ocasiona a migração das populações locais para outras regiões com maiores capacidades pluviométricas (FREITAS; PASSOS, 2001).

O Decreto n. 73.030/73, art. 13, § 1º, estabelece que 'poluição da água é qualquer alteração de suas propriedades físicas, químicas ou biológicas, que possa importar em prejuízo à saúde, à segurança e ao bem-estar das populações, causar dano à flora e à fauna, ou comprometer o seu uso para fins sociais e econômicos (MEIO AMBIENTE, 2018).

A poluição hídrica é o resultado da inserção de resíduos no corpo d'água, que pode ser no formato de matéria ou energia, que ocasione alterações na qualidade, provocando danos aos seres vivos e ao meio ambiente, que dependem desse recurso para sobreviver, além de promover mutações nas características físico-químicas (SILVA, 2010).

A partir da década de 1970, quando iniciou o desenvolvimento industrial no Brasil, começaram a surgir os primeiros problemas em relação à poluição hídrica. A poluição dos rios se tornou motivo de revolta por parte da população, mas ao mesmo tempo tornou-se motivo de aceitação, devido à implantação de diversos tipos de indústrias, com a conseqüente

geração de inúmeros empregos. Com isso, por meio da legislação desenvolvida, buscavam os Promotores Públicos reduzir a ação poluidora por meio de ações criminais, estabelecidas no art. 271 do Código Penal (corrupção ou poluição de água potável). Porém não existia a Lei da Ação Pública e a Constituição em vigência era a de 1967 que decretava que se a água não fosse potável não haveria delito. Contudo, as ações penais se deparavam com dificuldades devido à controvérsia em relação à potabilidade da água (FREITAS; PASSOS, 2001).

Recentemente, os resíduos líquidos, originados pelos processos industriais, eram descartados em rios e corpos d'água sem antes receber o tratamento apropriado buscando a diminuição de carga poluidora. O descarte realizado de forma incorreta dos resíduos poluídos causa danos de grande relevância aos ecossistemas, impedindo a capacidade de autorregulação e renovação (SILVA, 2010).

As águas subterrâneas vêm se tornando uma das principais alternativas no combate à escassez de água em todo o país, principalmente na região Nordeste, que apresenta baixos índices pluviométricos durante o ano (Carvalho, 1986). Um dos principais fatores que vêm causando a contaminação dos aquíferos é a infiltração de gasolina oriunda de postos de gasolina, que pode ocorrer de diversas formas, tais como por vazamento de reservatórios ou por descarte junto às águas pluviais. Estas ações vêm causando a poluição das águas e do meio ambiente de modo que, se acontecerem infiltrações de combustível nas águas, o subsolo, conseqüentemente, também ficará contaminado (FREITAS; PASSOS, 2001).

O solo contaminado traz conseqüências ambientais, sanitárias, econômicas, sociais e políticas catastróficas que poderão limitar ou até inviabilizar a sua utilização futura, alterando as suas propriedades físico-químicas, geomorfológicas, biológicas e quando existem grandes alterações na utilização do solo e na sua gestão, atinge-se uma situação em que as suas aptidões produtivas, hidrológicas e ecológicas se perdem. A crescente contaminação de solos e água subterrânea por hidrocarbonetos derivados de petróleo tem sido destaque nas últimas décadas, principalmente em função da frequência com que os episódios de contaminação são verificados e da gravidade com que o meio ambiente é afetado (SANCHEZ, 2004).

3.2.1 Adsorção

A técnica de adsorção foi desenvolvida desde meados do século XVIII. No ano de 1773, C. W. Scheele identificou que substâncias com características porosas tinham a capacidade de adsorver vapores. Desde então, vários estudos foram desenvolvidos em

sistemas compostos por sólidos e gases (SILVA, 2005).

A adsorção é um método de separação e purificação que possui enorme aplicabilidade industrial, principalmente nos setores químicos, petroquímicos e bioquímicos. A partir do descobrimento e da comercialização de novos materiais adsorventes, essa técnica passou a ser utilizada para separação de substâncias (RUTHVEN, 1984). Esse método tornou uma alternativa de grande utilidade principalmente para a retirada de poluentes presentes em efluentes líquidos, com o propósito de recuperar compostos de grande valor agregado que acabam sendo diluídos em correntes industriais (SCHEER *et al.*, 2002).

O processo de adsorção tem a finalidade de separar uma substância de interesse existente em uma fase, que esteja acompanhada pelo seu acúmulo ou pela concentração de outra substância localizada em outra superfície (GOLIN, 2007).

A adsorção acontece quando uma molécula de soluto se encontra em uma solução, e se concentra na superfície de um sólido por meio de ações de forças de superfícies não balanceadas, o que só acontece quando uma superfície entra em contato com uma solução (MOREIRA, 2010).

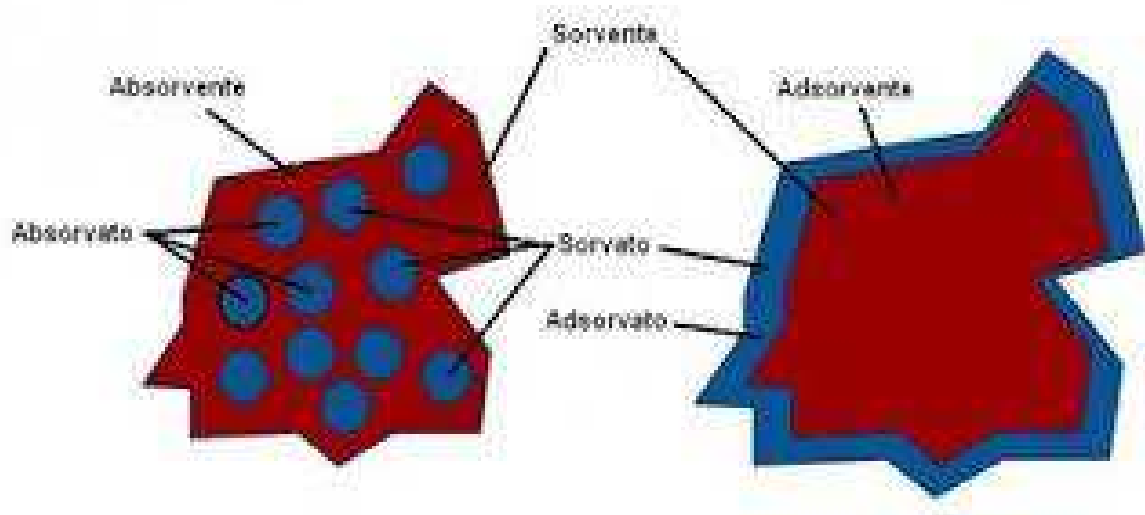
A utilização de uma biomassa como adsorvente vem se tornando um excelente método para realizar a adsorção, por ser uma alternativa de fácil obtenção, de baixo custo e se mostrar eficaz no tratamento de diversos tipos de efluentes que estejam poluídos. Atualmente, o uso de biomassas alternativas está ganhando grande espaço no mercado, principalmente para retirar a presença de metais pesados existentes em efluentes industriais, como também no tratamento de efluentes contaminados com compostos orgânicos oriundos do petróleo (CARVALHO, 2014).

O processo de adsorção pode ocorrer de duas formas: adsorção química e adsorção física. No processo de adsorção física existe uma interação de van der Waals entre o adsorbato e o adsorvente. Esse fenômeno ocorre porque estas interações são de longo alcance, porém fracas, e a energia desprendida quando uma partícula é adsorvida fisicamente é da mesma ordem de grandeza que a entalpia de condensação (ATKINS, 1994). No processo de adsorção química, as moléculas ou átomos se ligam à superfície do adsorvente por meio de ligações químicas, com a tendência de se situarem em sítios que possibilitem um elevado número de coordenação com o substrato (MOREIRA, 2010).

A técnica de adsorção se tornou uma alternativa de grande uso no tratamento de efluentes residuais. Isso ocorre principalmente porque os processos de adsorção têm a capacidade de remover cor, odor e sabor no tratamento e purificação de águas, óleos,

efluentes de processos, dentre outros setores industriais (CECHINEL, 2013). Os métodos de separação que utilizam a adsorção possuem uma vasta atuação na área industrial, principalmente nas refinarias de petróleo e na indústria petroquímica, sendo que os processos se baseiam nos princípios físicos e químicos (RUTHVEN, 1984).

Figura 1- Modelo do processo de adsorção.



Fonte: www.sites.google.com, 2018.

3.2.1.1 Isotermas de Adsorção

Com relação a uma composição líquida, as isotermas de adsorção se comportam por meio da curva de concentração do soluto na fase sólida, em relação à curva da concentração do soluto na fase fluida, em uma determinada temperatura. As isotermas possuem um papel muito importante no processo de adsorção pois compõem a fase inicial da parte experimental, estabelecendo qual tipo de biomassa possui maior potencial para determinado efluente contaminado, tendo em vista que esse potencial pode variar de acordo com o adsorvente e o contaminante (FERNANDES, 2005).

De uma forma geral, as isotermas de adsorção são formadas por uma curva com variáveis constantes como o pH e a temperatura, empregada para avaliar o processo adsorptivo por meio da retenção de uma substância contaminante nos poros da biomassa utilizada. Existem vários modelos que podem ser usados para analisar esse potencial, sendo o modelo de Langmuir um dos mais utilizados devido à grande eficiência e alto desempenho (FOO; HAMEED, 2010).

Modelo de Langmuir

Vários modelos matemáticos foram desenvolvidos com a finalidade de obter os melhores valores das isotermas de adsorção, dentre todos os modelos um dos mais utilizados é o modelo de Langmuir, desenvolvido no ano de 1918, quando Langmuir ilustrou a teoria que afirmava que a adsorção acontecia sobre uma superfície simples, ilimitada, constante e não porosa (PORPINO, 2009). Este modelo é fundamentado na suposição da circulação das moléculas adsorvidas pela superfície do adsorvente, em que quanto maior for o número de moléculas adsorvidas, maior será a uniformidade e distribuição, promovendo a formação de uma monocamada capaz de recobrir toda a superfície.

A preferência pelo uso deste modelo dá-se devido à capacidade de prever o maior potencial possível de adsorção do material em uso e a habilidade de apresentar o melhor desempenho dos dados experimentais. A aplicação do modelo de Langmuir apresenta algumas pressuposições, tais como: existência de um número definitivo de sítios; os sítios possuem energia equivalente e não ocorre a interação entre as moléculas adsorvidas; o processo de adsorção ocorre em uma monocamada e cada sítio tem a capacidade de suportar unicamente uma molécula adsorvida.

Baseada nessas hipóteses, foi desenvolvida a Equação 1:

$$\frac{q}{q_s} = \frac{bC}{1+bC} \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

$\frac{q}{q_s}$ - Taxa de adsorção.

q_s - Capacidade máxima de adsorção

b- Parâmetro da equação de Langmuir

C- Concentração do adsorbato na fase líquida

Esse modelo é considerado de alta eficiência na representatividade das curvas isotermas dos processos de adsorção, tendo em vista a grande interatividade entre a superfície do adsorvente e do soluto para um único elemento, avaliando uma quantidade fixa de sítios no sólido, que possuem mesmo valor energético (LIMA, 2010).

Devido ao aumento da aplicação do processo de adsorção para o tratamento de águas

contaminadas por metais pesados, hidrocarbonetos e outros tipos de compostos orgânicos, vários tipos de biomassas vêm sendo testadas com o propósito de aumentar a eficiência, a diversidade e a redução de custos do processo. Pensando nisso, a região semiárida do nordeste brasileiro possui em seu território inúmeros tipos de espécies vegetais que vêm sendo avaliadas para a utilização nos processos de adsorção, funcionando como biomassas que apresentam capacidade de adsorção dos poluentes existentes nos corpos d'água, dentre essas a palma forrageira.

3.2.1.2 Palma forrageira (*Opuntia fícus*)

A palma forrageira (*Opuntia fícus*) é uma cultura de origem Mexicana, sendo cultivada em todos os lugares do mundo, mas, principalmente, nos continentes da América do Sul, na África, e na Europa (SOUZA *et al.*, 2008).

A introdução no Brasil aconteceu por volta do final do século XVIII (SIMÕES *et al.*, 2005). Apenas no começo do século XX a palma foi utilizada como uma planta forrageira, o que na década dos anos 1990 se intensificou, devido aos longos períodos de estiagem que atingiam a região Nordeste do país (ALBUQUERQUE, 2000; SIMÕES *et al.*, 2005).

A palma forrageira (*Opuntia fícus*) é uma das plantas que apresentam uma grande adaptação às condições ecológicas das regiões áridas e semiáridas do planeta, como na região semiárida do Nordeste brasileiro, e teve uma grande facilidade de cultivo devido à composição fisiológica ser resistente a estes tipos de região (TEIXEIRA *et al.*, 1999). Essa espécie pertence à divisão dos Embryophyta, com uma subdivisão em: angiospermea, pertencente à classe dicotyledoneae, à subclasse archiclamideae, da ordem Opuntiales e família das Cactáceas (SILVA; SANTOS, 2006). Na região Nordeste do país basicamente são cultivadas duas espécies: a *Opuntia fícus-indica* Mill e *Nopalea cochenilifera* (FARIAS *et al.*, 2005).

A cultivar de palma forrageira mais semeada no Nordeste é a gigante (*Opuntia fícus-indica*), apresentada na Figura 2, conhecida também como graúda, azeda ou santa, apresentando porte ereto, caule pouco ramificado, raquetes grandes com peso de até 1 kg e comprimento de 50 cm (SILVA; SANTOS, 2006). É uma cultivar que apresenta resistência à seca e a ataques da cochonilha de escamas (FARIAS *et al.*, 2005), além de ser muito produtiva, porém é suscetível a ataques da cochonilha do carmim (NEVES *et al.*, 2010; VASCONCELOS *et al.*, 2009).

Figura 2 - Palma forrageira do tipo gigante.



FONTE: www.revistagloborural.globo.com, 2015.

O tipo redonda ou orelha de onça, Figura 3, possui folhas que podem atingir até 1,8 kg (SILVA; SANTOS, 2006), apresentando resistência a períodos de estiagem, porém também é suscetível à cochonilha do carmim (NEVES et al., 2010; VASCONCELOS et al., 2009)

Figura 3 - Palma forrageira do tipo redonda ou orelha de onça.



FONTE: www.ruralcentro.uol.com.br, 2016.

A espécie miúda ou doce (*Nopalea cochinillifera*), Figura 4, é uma cultivar de menor tamanho e caule ramificado, porém é mais nutritiva por conter maiores quantidades de matéria seca e carboidratos (SILVA; SANTOS, 2006). É um tipo resistente a períodos de escassez de água e apresenta resistência à cochonilha do carmim (NEVES et al., 2010; VASCONCELOS et al., 2009).

Figura 4 - Palma forrageira (*Nopalea cochinillifera*) do tipo miúda ou doce.



FONTE: www.milkpoint.com.br, 2015.

Segundo Lopes, Santos, Vasconcelos (2012) a região Nordeste do Brasil encontra-se a área de maior cultivo de Palma forrageira do mundo, estimada em 600.000 ha. Com isso, torna-se uma opção de plantio totalmente adaptada às condições climáticas e ambientais da região, tendo em vista ser uma cultura que possui um mecanismo fisiológico favorável à prática da adsorção, no tratamento de águas contaminadas por poluentes, sendo de grande importância para a região, por ser uma localidade que sofre grandes problemas hídricos, tornando-se uma alternativa com bom desempenho e baixo custo (CHIACCHIO; MESQUITA; SANTOS, 2006).

Uma vez que o processo de adsorção usando biomassas como adsorvente vem sendo uma alternativa potencialmente atrativa e econômica para o tratamento de diversos tipos de efluentes. O efeito de diversas biomassas vem sendo estudado no tratamento de efluentes contendo compostos orgânicos, como é o caso dos efluentes contaminados com derivados do petróleo (RIBEIRO et al, 2003; LIMA et al, 2010).

3.3 POLUIÇÃO DO SOLO

A preocupação com a degradação do solo também vem crescendo nos últimos tempos, uma vez que a contaminação gerada pelas atividades desenvolvidas pelo homem tem comprometido o estado natural do solo, intensificando os processos de erosão, aumentando a desertificação e comprometendo a segurança alimentar e nutricional. Conforme estabelece o Decreto n. 28.687/82, art. 72, poluição do solo e do subsolo consiste na deposição, disposição,

descarga, infiltração, acumulação, injeção ou enterramento no solo ou no subsolo de substâncias ou produtos poluentes, em estado sólido, líquido ou gasoso. A degradação do solo pode dar-se por: desertificação, utilização de tecnologias inadequadas, falta de práticas de conservação de água no solo, destruição da cobertura vegetal. Já a contaminação dos solos dá-se principalmente por resíduos sólidos e líquidos, águas contaminadas, efluentes sólidos e líquidos, efluentes provenientes de atividades agrícolas (AMBIENTE BRASIL, 2018).

O solo é um recurso natural, que tem grande importância para o ecossistema e para os ciclos naturais, tendo em vista que é a base para a sobrevivência dos seres vivos, uma vez que tem como principal função a manutenção da vida para pessoas, do *habitat* para as plantas, animais, e os demais seres vivos, proteção dos recursos hídricos subterrâneos, preservação de minerais e das matérias-primas; produção de alimentos, além da manutenção do ciclo da água e dos nutrientes necessários para o desenvolvimento da vida do planeta (HORN; SMUCKER, 2005).

O solo é composto basicamente por água, ar, matéria orgânica, diversos tipos de minerais, microrganismos como fungos, bactérias e protozoários, plantas, invertebrados e outros seres vivos. Existem diferentes tipos de solo, que se diferenciam devido aos fatores que influenciam na sua formação, tais como o material que é originado, que pode ser de origem rochosa ou sedimento argiloso, o relevo, o clima, a vegetação presente no solo, a concentração de matéria orgânica disponível, a temperatura, a precipitação de chuvas, os fatores antrópicos causados pela técnica de manejo e o tempo (PRIMAVESI, 2002).

Um dos grandes problemas que vem afetando o ecossistema é a poluição e contaminação do solo causada por inúmeros fatores, gerando grandes danos devido à exploração e ocupação de forma descontrolada do mesmo, que interferem diretamente na sua qualidade. De acordo com a Lei 3.858, art. 3, “a poluição do solo e do subsolo consiste na deposição, disposição, descarga, infiltração, acumulação, injeção ou enterramento no solo ou no subsolo de substâncias ou produtos poluentes, em estado sólido, líquido ou gasoso”. Dentre esses diversos problemas, a contaminação causada por derramamento de hidrocarbonetos derivados do petróleo vem sendo alvo de preocupação do ponto de vista ambientalista, uma vez que, conforme a Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças dos Estados Unidos (ATSDR, 1999), os derramamentos de petróleo e seus derivados nos solos interferem diretamente na prospecção de vida dos seres vivos, compostos e nutrientes presentes, causando redução na biota local causando enormes problemas por longos períodos de tempo ao meio ambiente devido ao empobrecimento e poluição do solo. Essa

contaminação por hidrocarbonetos derivados do petróleo pode acontecer de diversas formas (derramamentos, acidentes durante o transporte, rompimentos de dutos, dentre outras possibilidades), induzindo diretamente a mudanças das propriedades físicas, químicas, geomorfológicas e biológicas causando a poluição do local afetado, trazendo graves consequências com a possibilidade de inviabilizar sua utilização (BENTO, 2005).

A atividade microbiana nos solos tem um papel fundamental de biodegradar um grande número de substâncias derivadas da biosfera, por meio dos ciclos biogeoquímicos, que realizam o controle de vida terrestre. Vários fatores ambientais influenciam diretamente na eficiência do processo de biodegradação: fatores de natureza física (temperatura e luz), química (composição química da matriz ambiental, pH, umidade, teor de oxigênio dissolvido (OD), composição e estrutura química dos poluentes e o potencial redox do meio) e biológica (população microbiana capaz de metabolizar a molécula original e seus produtos de degradação) (GAYLARDE, BELLINASO; MANFIO, 2005).

Com isso, surge a necessidade de buscar novas técnicas com capacidade e eficiência de recuperar áreas degradadas e/ou contaminadas por hidrocarbonetos do petróleo. Dentre estas técnicas pode-se destacar a biopilha, que é um método de biorremediação que vem surgindo como uma excelente alternativa para o tratamento dessas áreas.

3.3.1 Biorremediação

A biorremediação é um conjunto de métodos biológicos de tratamento de áreas contaminadas por diversos tipos de poluentes tais como agrotóxicos, corantes, polímeros, metais pesados e especialmente hidrocarbonetos derivados do petróleo. Este processo é realizado por meio da ação de organismos vivos que possuem a capacidade de reduzir, transformar ou biodegradar os compostos tóxicos, diminuindo as concentrações no solo, recuperando ou remediando a área contaminada (LEO *et al.*, 2014).

Os métodos de biorremediação utilizam microrganismos como fungos e bactérias, plantas ou produtos biológicos, como alguns tipos de enzima e componentes celulares, com a intenção de promover biodegradação dos poluentes, convertendo-os em gás carbônico e água ao término do processo (DIAS, 2000). Segundo Oliveira e Alves (2013), existem vários microrganismos com potencial de degradar poluentes orgânicos originados a partir do petróleo, principalmente os *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Sphingomonas spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Microbacterium spp.* e *Gordonia spp.*

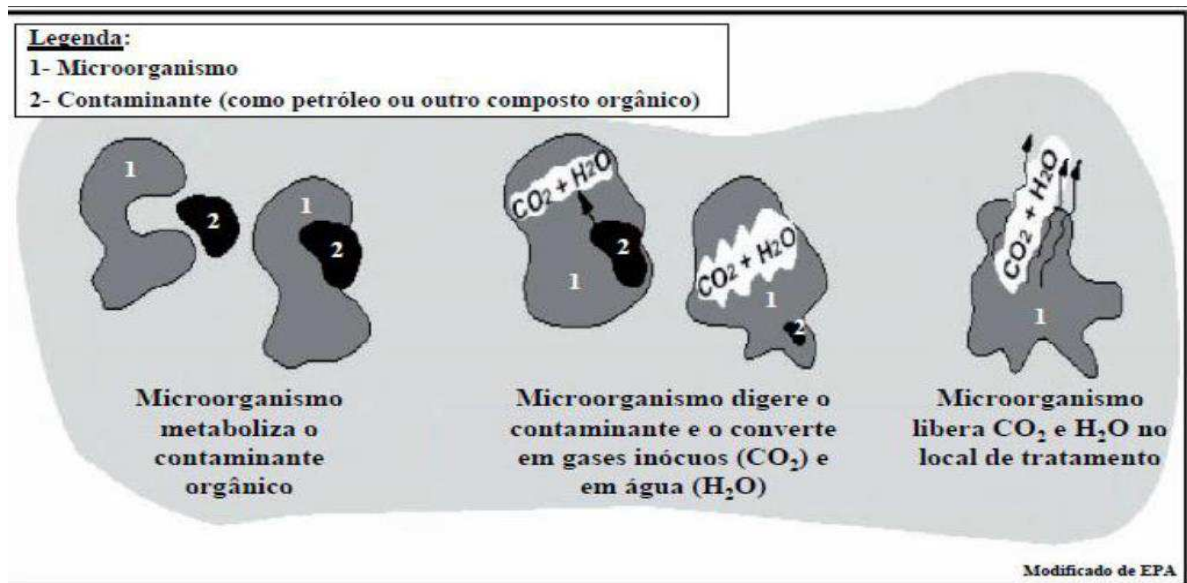
Devido ao aumento da poluição dos solos causado pela contaminação com hidrocarbonetos, as técnicas de biorremediação surgem como uma alternativa viável para a descontaminação destas áreas devido ao fato de ser um método simples, de fácil manutenção, que pode ser utilizado em grandes áreas, causando poucos danos ao meio ambiente, de baixo custo e apresentando resultados satisfatórios na remoção dos poluentes presentes (BENTO, 2005).

Na utilização do tratamento biológico de solos contaminados por hidrocarbonetos derivados do petróleo, as bactérias são os seres mais utilizados pois essa classe de microrganismos tem grande capacidade de utilizar as cadeias de carbono, que constituem o petróleo e seus derivados como fonte de carbono e energia alternativa para se alimentar e, conseqüentemente, degradar estes compostos tóxicos visto que esta atividade microbiana consiste na formação de cadeias menores que serão digeridas como material celular, em seguida biotransformados em gás carbônico e água ou mineralizados em substâncias com menor concentração de hidrocarbonetos que não irão causar danos ao meio ambiente e aos seres vivos (SANTOS *et al.*, 2007).

A utilização das técnicas de biorremediação vem sendo avaliada desde a década de 1940 como uma alternativa de biodegradação de compostos orgânicos, devido à grande diversidade de microrganismos existentes com alta capacidade de desenvolver a degradação e diminuição da concentração desses poluentes. Desde então, com o aumento da descoberta desses microrganismos e com a comprovação da eficiência no tratamento das áreas contaminadas, a utilização das técnicas de biorremediação vem ganhando cada vez mais espaço no cenário mundial, tornando-se um método de grande viabilidade principalmente no tratamento de áreas contaminadas por derivados da indústria petrolífera (MESQUITA, 2004).

Estudos têm confirmado que por meio das técnicas de biorremediação, tanto aeróbias quanto anaeróbias, inúmeros compostos químicos são capazes de serem degradados, dentre os mais conhecidos estão os hidrocarbonetos poliaromáticos (antracenos, benzopirenos, creosoto), PCB's (aroclor) e cianida, ésteres e cetonas (propanona, metil-etil-cetona), hidrocarbonetos aromáticos (benzeno, tolueno), solventes clorados (tricloroeteno e tetracloroeteno) e hidrocarbonetos de petróleo (óleos combustíveis) (JUWARKAR: SINGH; MUDHOO, 2010).

Figura 5 - Esquema da ação dos microrganismos durante o processo de biorremediação.



Fonte: ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM (2010).

Tipos de Biorremediação

As estratégias de biorremediação são divididas em duas categorias: técnicas *in situ*, em que a aplicação e o tratamento são realizados no próprio local contaminado e as técnicas *ex situ*, nas quais as técnicas são aplicadas fora do local de origem da contaminação. Ambas as técnicas têm a capacidade de acelerar a atividade por meio da adição de nutrientes que estimulam a ação da população microbiana presente no próprio local contaminado, por meio da bioestimulação dos microrganismos presentes, acelerando a biodegradação dos poluentes contidos na área contaminada. Esse processo também pode ser acelerado com a adição de microrganismos presentes na área contaminada ou por seres produzidos em laboratório causando a (bioaumentação) da população microbiana para atingir resultados mais rápidos. A bioestimulação pode ser feita com a adição de vários suplementos como adição de substâncias que funcionem como fontes de carbono, adição de hidrocarbonetos, sais, enzimas extracelulares, alguns tipos de surfactante que funcionem diminuindo a tensão superficial da substância a ser degradada, aceptores de elétrons como oxigênio, nitrato, sulfato e dióxido de carbono.

Torna-se necessário corrigir algumas variáveis que interferem diretamente na atividade microbiana, tais como umidade e pH para, com isso, possibilitar a aceleração do processo de biodegradação do poluente. Já a bioaumentação, além da adição de microrganismos, também pode acontecer com a presença de compostos que promovam o aumento da população

microbiana presente na área a ser descontaminada, fazendo com que haja aumento da atividade metabólica dos microrganismos (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Cada tipo de estratégia de biorremediação tem uma finalidade específica, e a utilização depende da aplicação, pois cada técnica possui características distintas. Para escolher qual técnica utilizar é preciso levar em consideração uma série de fatores: concentração do contaminante; condições físicas, químicas e biológicas do local contaminado; conhecimento do tempo necessário para a degradação ou a remoção do composto orgânico (LEO *et al.*, 2014).

Os microrganismos são os principais responsáveis por realizar os tratamentos biológicos, pois são capazes de degradar os compostos tóxicos, principalmente os derivados do petróleo, em substâncias inofensivas ao meio ambiente, tais como CO₂ e H₂O, reduzindo o grau de toxicidade do ambiente e o risco à saúde dos seres vivos (JACQUES *et al.*, 2007).

O bom desempenho das técnicas de biorremediação depende de vários fatores como a caracterização do tipo de solo contaminado, a conjuntura geológica da área (profundidade, temperatura, saturação) e o tipo de poluente presente. Além dessas características, devem-se levar em consideração as condições climáticas, as propriedades físicas, químicas e microbiológicas dos solos, que também podem interferir na eficiência do processo. Cada tipo de solo apresenta características distintas, interferindo diretamente no tipo de técnica a ser utilizada (LEO *et al.*, 2014).

Dentre as técnicas de biorremediação de solos contaminados por derivados do petróleo, o sistema de biopilhas se apresenta como um método eficiente, com capacidade de biodegradar esses poluentes, reduzindo seus efeitos no meio ambiente e recuperando as áreas contaminadas.

3.3.1.1 Biopilhas

O sistema de biopilhas ou biocélulas é um método de biorremediação classificado como uma técnica de tratamento *ex situ*, aplicada no tratamento e recuperação de áreas contaminadas por diversos tipos de poluentes, em especial por hidrocarbonetos derivados do petróleo. Esta técnica baseia-se no empilhamento de solos contaminados, com o propósito de promover o aumento da atividade microbiana aeróbia dos microrganismos presentes no sistema, possibilitando uma ação mais rápida de biodegradabilidade do contaminante por meio da aeração do sistema para liberação de oxigênio para os microrganismos, adição de nutrientes como fonte de carbono e nitrogênio e a correção da umidade para favorecer as

melhores condições da atividade microbiana (SILVA, 2004).

As biopilhas possuem características semelhantes à técnica de compostagem, apresentando basicamente os mesmos princípios, porém aplicações diferentes. Na compostagem, o composto orgânico é biodegradado e convertido em húmus e em outros produtos que não causem danos ao meio ambiente como sais minerais, dióxido de carbono e água, sendo empregado nas últimas décadas na descontaminação de resíduos orgânicos, tais como esterco de animais, biossólidos e resíduos urbanos orgânicos, voltando-se mais para produção de adubos com possibilidade de utilização no setor agrícola (SEABRA, 2005).

De acordo com Seabra (2005), no sistema de compostagem, seu funcionamento é feito colocando os resíduos orgânicos em leiras ou pilhas, e são submetidas à aeração mecânica para a produção de oxigênio da composteira e adição de materiais estruturantes no sistema, tais como pequenos pedaços de madeira, resíduos de agricultura, resto de podas de árvores para melhorar a textura, para não ocorrer a compactação do solo e possibilitar a entrada de oxigênio e água na leira. Com o passar dos anos, essa técnica também passou a ser utilizada como uma alternativa na remediação e recuperação de solos contaminados por outros poluentes tais como os hidrocarbonetos derivados do petróleo, pesticidas e explosivos (TNT, RDX), apresentando resultados satisfatórios.

Já a denominação do termo biopilha teve início no começo dos anos 1990, quando se começou a realizar a mistura dos solos contaminados pelos produtos orgânicos originados das indústrias com material estruturante e produtos como fontes de nutrientes, buscando acelerar a atividade microbiana e proporcionar a biodegradação das substâncias poluentes de forma controlada (SEABRA, 2005).

Devido a esta semelhança de funcionamento, muitos autores tratam as duas técnicas como sinônimos, porém quando o sistema é submetido a uma aeração de forma periódica e apresenta elevada concentração de matéria orgânica a ser estabilizada, gerando temperaturas termofílicas (entre 50° e 60°C), é considerada compostagem (SEABRA, 2005). Quando a concentração do poluente é reduzida devido à biodegradabilidade, ocasionada pelo controle da umidade, temperatura, adição de nutrientes, pH e oxigênio, estimulando o aumento da atividade degradadora por parte dos microrganismos presentes no solo contaminado, é considerado o sistema de biopilhas (DOD, 1994; OFFICE OF UNDERGROUND STORAGE TANKS, 1995). Outra característica das biopilhas é que geralmente o solo a ser descontaminado é coberto com mantas impermeáveis para evitar a lixiviação do contaminante para a área livre de poluentes, evitando a poluição do solo e das águas subterrâneas e

minimizando a liberação de poluentes voláteis, além de proteger o solo do vento e das chuvas. As biopilhas vêm se destacando na recuperação de locais contaminados por materiais orgânicos, principalmente na metabolização de hidrocarbonetos originados do petróleo (SILVA, 2004).

O solo necessita da presença de aproximadamente onze macro e micronutrientes em concentrações, formas e relações apropriadas para garantir um bom desempenho no crescimento microbiano. São eles: nitrogênio, fósforo, potássio, sódio, enxofre, cálcio, magnésio, manganês, zinco e cobre (SILVEIRA, 2016). Com isso, forma-se uma relação de proporcionalidade, ou seja, quando ocorre o aumento do suprimento de carbono no solo é preciso incrementar essas fontes de nutrientes para que aconteça o crescimento microbiano de forma eficaz. A adição de macro e micronutrientes depende da fertilidade do solo pois, quando este já apresenta quantidades adequadas para suprir essa demanda, não é necessário o incremento; porém, quando o meio não apresentar as concentrações necessárias para realizar o metabolismo celular dos microrganismos envolvidos na biodegradação, é preciso adicionar ao sistema quantidades controladas (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

De acordo com Mariano (2006) e Lima (2010), os macronutrientes têm a finalidade de sintetizar os componentes celulares, tais como o nitrogênio para os aminoácidos e enzimas, o fósforo para o ATP e o DNA. Já os micronutrientes são utilizados para realizar atividades enzimáticas como, por exemplo, o cálcio, que tem a finalidade de estabilizar a parede celular, o enxofre utilizado por algumas proteínas e coenzimas e o magnésio para promover a estabilização dos ribossomos. Lima (2010) ainda cita que, além desses macro e micronutrientes, o ferro é outro componente importante para os microrganismos, pois oferece suporte em diversas atividades celulares, ajudando a aumentar o processo de degradação dos poluentes.

Fatores Ambientais que Afetam a Biodegradação dos Hidrocarbonetos

Existem alguns fatores que são fundamentais para a eficiência da atividade microbiana na biodegradação dos hidrocarbonetos, que podem ser divididos em fatores físicos (umidade, temperatura e pH) e químicos (oxigênio e nutrientes) (SILVEIRA, 2016).

1) Umidade

Para um bom desempenho, os microrganismos necessitam de fonte de energia, e a maioria deles retiram os nutrientes presentes na água. Com isso, a presença de água no solo é um componente essencial para o crescimento microbiano, tendo em vista que sua composição é cerca de 80 a 90% de água, favorecendo uma maior atividade de metabolização dos compostos tóxicos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). A umidade do solo funciona como um método de transportar os nutrientes e o oxigênio para os microrganismos, podendo ser empregada em três formas diferentes: livre (movendo-se no solo e transportando o oxigênio), hidroscópica (quando ocorre a interação com a superfície da matriz do solo) e capilar (presente nos poros da matriz do solo quando o mesmo não apresenta saturação). Em relação aos solos argilosos, eles se caracterizam por reterem umidade comparada com os solos arenosos, semelhante aos solos que apresentam maior teor de matéria orgânica, possibilitando maior atividade microbiana (SILVEIRA, 2016).

O solo deve ter uma umidade controlada para não interferir negativamente no crescimento e atividade dos microrganismos, pois se o solo estiver encharcado, irá reduzir a disponibilidade de oxigênio, prejudicando o processo de metabolização aeróbica, tendo em vista que os microrganismos não conseguem metabolizar os compostos orgânicos presentes no solo se não estiverem nas condições favoráveis de crescimento (ASPRAY, 2008).

De acordo com Silveira (2016), para conseguir uma boa atividade microbiana, é preciso deixar os microrganismos funcionarem nas melhores condições possíveis. Nesse caso, os solos devem ser úmidos, e não molhados, ou seja, o solo deve estar em uma faixa ideal de umidade, geralmente entre 40 e 85 % da capacidade de retenção de água (capacidade de campo) do solo ou de aproximadamente 12 a 30% em peso, favorecendo um maior desempenho microbiano.

2) Temperatura

A atividade microbiana está diretamente relacionada à temperatura a está submetida. Cada tipo de microrganismo funciona em uma temperatura ótima de crescimento, com isso, atingindo uma maior eficiência de metabolização, pois se as bactérias e fungos não estiverem no ambiente com a temperatura ideal, terão a atividade reduzida, retardando o processo de biodegradação. Se os microrganismos estiverem em uma temperatura acima da média, acontecerá a desnaturação das células, proporcionando a morte celular, e se a estiverem em um ambiente com a temperatura abaixo da ideal, ocorrerá o retardamento da multiplicação celular, influenciando a velocidade de metabolização (PEDROTI, 2007).

Com isso, os microrganismos são classificados em três classes de acordo com a faixa ideal de temperatura: psicrófilos (crescem em baixas temperaturas), mesófilos (crescem em temperaturas moderadas) e termófilos (crescem em altas temperaturas). A grande parte das bactérias se multiplica em uma faixa limitada de temperatura, de modo que geralmente há uma diferença de 30°C entre a temperatura máxima e a mínima de crescimento microbiano (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

A temperatura do solo varia conforme a temperatura do ambiente, afetando durante determinados períodos o crescimento microbiano, influenciando na biodegradação dos compostos orgânicos. Os microrganismos têm a capacidade de dobrar as atividades de degradação com o aumento a cada 10°C de temperatura, até alcançar valores inibitórios em torno de 40 a 50°C (BISOGNIN, 2012). A atividade microbiana de grande parte dos microrganismos capazes de biodegradar os hidrocarbonetos do petróleo e seus derivados também diminui a temperaturas superiores a 45°C. Com isso, geralmente os microrganismos pertencentes à classe dos mesófilos são os utilizados no processo de biodegradação de hidrocarbonetos presentes no solo (SILVEIRA, 2016).

3) pH

Outro fator que interfere diretamente a atividade dos microrganismos é o pH que, por ser uma variável química, compromete a ação dos íons H⁺ na permeabilidade celular e na atividade enzimática (SILVEIRA, 2016).

Cada tipo de solo possui um pH diferente, podendo variar de 2,5 a 11,0, estabelecendo se o mesmo é um solo ácido ou alcalino (PEREIRA JUNIOR; GOMES; SORIANO, 2009). Com a contaminação por algum tipo de poluente orgânico, esse valor pode variar alterando as características, causando desequilíbrio no ecossistema. Segundo Nascimento (2013), a faixa ideal de pH para o crescimento da grande parte dos microrganismos capazes de biodegradar hidrocarbonetos por meio do processo de biorremediação (incluindo a técnica de biopilhas) deve estar entre 6,0 e 8,0, sendo que o ideal é pH neutro em torno de 7,0, visto que valores extremos de acidez e alcalinidade podem inibir a atividade, retardando o processo.

Os solos que estiverem com pH fora da faixa ideal precisam ser ajustados durante o processo da biopilha. Esse ajuste pode ser feito com a adição de soluções tamponantes básicas ou ácidas durante o processo de biodegradação para estabilizar o pH e não interferir na eficiência do processo (SILVA, 2004).

4) Oxigênio

A biodegradação dos poluentes orgânicos é metabolizada por meio da fermentação provocada pela atividade microbiana e respiração realizada pela aeração do sistema. A técnica de biopilhas, por ser um processo aeróbico, necessita de oxigênio para seu funcionamento. Por isso, a aeração do sistema é indispensável para gerar oxigênio e permitir a proliferação microbiana (SILVEIRA, 2016).

De acordo com Mesquita (2004), quando o meio é solo, o oxigênio está presente nos vazios dos poros. O solo pode vir a ficar deficiente de oxigênio, ou anóxico, devido às dificuldades de difusão do gás, quando os poros são preenchidos por água, ou se o mesmo sofrer algum tipo de compactação, sendo necessário, em geral, um mínimo de 10% de ar na matriz do solo para manter a atividade aeróbia.

Geralmente, sob condições aeróbicas, a biorremediação ocorre mais facilmente. Regiões próximas à superfície do solo têm demonstrado maior taxa de biodegradação, enquanto que em regiões mais profundas verifica-se que estas taxas diminuem (PEREIRA JUNIOR; GOMES; SORIANO, 2009). Andrade, Augusto e Jardim (2010) explicam que a biorremediação aeróbica requer um meio oxidante. O oxigênio atua como receptor de elétrons e os contaminantes são utilizados pelos microrganismos como fontes de carbono (doador de elétrons), necessárias para manter as funções metabólicas, incluindo o crescimento e a reprodução.

5) Nutrientes

Para acontecer o crescimento microbiano é preciso o auxílio de nutrientes capazes de promover o desenvolvimento de todos os constituintes dos microrganismos presentes. O carbono é um dos que apresentam maior importância para esse crescimento, pois metade do peso seco das células bacterianas é composta de carbono, tornando-se uma das principais fontes de nutrientes para os fungos e as bactérias (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Segundo Silveira (2016), devido à elevada concentração de carbono e hidrogênio nas cadeias que constituem a formação do petróleo e seus derivados, os hidrocarbonetos são os principais compostos responsáveis pela origem desses compostos orgânicos. Além dos hidrocarbonetos, existem outros elementos, em menor porcentagem, que compõe a estrutura do petróleo, dentre estes o nitrogênio, o enxofre e o oxigênio. Dessa forma, os microrganismos utilizam o petróleo e seus derivados como fonte de carbono e de energia,

tendo em vista a alta concentração de carbono na cadeia desses compostos. Além disso, os solos contaminados por hidrocarbonetos geralmente possuem uma grande quantidade de substratos que favorece o crescimento e aumento da atividade microbiana, facilitando a biodegradação dos compostos orgânicos em substâncias que não agredem os solos e o meio ambiente, facilitando a degradação desses compostos (TONINI; REZENDE; GRATIVOL, 2011).

3.4 TESTE DE ECOTOXICIDADE

As técnicas biológicas representam as metodologias mais adequadas para identificar os riscos do poluente sobre o meio ambiente. Os principais bioindicadores utilizados são as hortaliças, como o repolho, a cebola, o tomate, o pepino, a cevada e alface. Estes são utilizados em testes de germinação e crescimento das raízes, pois essas espécies possuem uma boa sensibilidade na indicação qualitativa de presença de substâncias tóxicas ou inibidores biológicos e além de possuírem baixo custo (LOPES, 2014).

A germinação de sementes e o crescimento de plantas são os parâmetros mais utilizados para avaliar fitotoxicidade de um composto. *Lactuca sativa L.* (alface) e *Vigna unguiculata* (feijão) são modelos comumente utilizados para avaliar toxicidade de efluentes urbanos e industriais, medindo-se o percentual de germinação e o alongamento radicular (FARRÉ; BARCELÓ, 2003).

O crescimento radicular tem se destacado entre os parâmetros com grande sensibilidade a um agente fitotóxico (FUENTES et al., 2004) e é afetado por condições ambientais, como pH, temperatura, salinidade e presença de metais (CAMARGO; FERREIRA FILHO; SALOMON, 2004). Contudo, é importante compreender que, embora as plantas forneçam evidências dos efeitos tóxicos de efluentes e sedimentos contaminados, sua resposta também poder ser afetada por condições como a disponibilidade de nutrientes (CZERNIAWSKA-KUSZA; KUSZA, 2011).

Dessa forma, o composto gerado após o tratamento com as biopilhas foi avaliado quanto à capacidade de permitir a germinação das sementes, tendo em vista que o teste de ecotoxicidade mede os efeitos de diferentes concentrações de uma amostra em indivíduos de uma determinada espécie.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CONTAMINANTE

O contaminante orgânico utilizado foi a gasolina, adquirida nos postos de combustíveis do município de Sumé-PB, situado no Cariri Paraibano, preparando uma dispersão gasolina/água para simular o efluente contaminado. Como adsorvente foi utilizada a casca da palma forrageira na forma particulada.

Figura 6 - Município de Sumé, Paraíba, Brasil.



FONTE: Prefeitura Municipal de Sumé, 2013.

4.2 PREPARAÇÃO DA BIOMASSA

A metodologia utilizada foi baseada no procedimento realizado por LIMA *et al.* (2014), que utilizou o mandacaru (*Cereus jamacarina*) na forma particulada para remoção da mistura gasolina/óleo diesel por meio do processo de adsorção.

Para a obtenção da biomassa a partir da casca da palma na forma particulada, foram coletadas as “raquetes” de palma em um plantio da Universidade Federal de Campina Grande (Figura 7), Câmpus de Sumé, cedida pelo professor Dr. Ranoel José de Souza Gonçalves.

Figura 7 - Banco de germoplasma de palma forrageira, localizada na UFCG, Câmpus de Sumé.



FONTE: Próprio autor, 2017.

Foram coletadas 06 raquetes de palma do tipo redonda, sendo retiradas as cascas para obter a biomassa, conforme mostra a Figura 8.

Figura 8 - Casca da palma forrageira obtida para realização da secagem.



FONTE: Próprio autor, 2017.

Após a retirada das cascas, o material foi deixado exposto ao ar livre para secagem (Figura 9), permanecendo por um período de duas semanas expostas a céu aberto.

Figura 9 - Biomassa após período de secagem a céu aberto.



FONTE: Próprio autor, 2017.

Posteriormente, houve a preparação da biomassa da casca da palma na forma particulada, a qual foi realizada por meio da cominuição para forma de pó (Figura 10), a partir da palma obtida “in natura”, com o auxílio do moinho de facas.

Figura 10 - Cominuição da biomassa para forma de pó por meio do moinho de facas.



FONTE: Próprio autor, 2017.

A seguir, a biomassa foi peneirada, obtendo partículas com diâmetro na faixa de 1 a 2 mm (Figura 11).

Figura 11 - Biomassa da casca da palma particulada.



FONTE: Próprio autor, 2017.

4.3 CINÉTICA DE ADSORÇÃO

Para a realização dos experimentos de obtenção das curvas cinéticas, foram utilizados 12 frascos erlenmeyer com capacidade para 100 mL. Em cada frasco foram adicionados 40 mL de água e 12 mL do poluente (gasolina). Em seguida, foram colocados sob agitação por meio da mesa agitadora (Figura 9), com rotação de 130 rpm, em intervalos de 5 minutos, com variação de tempo de 5 a 60 minutos, sendo adicionados 1,2g da casca de palma particulada, peneirada e seca. Ao término de cada tempo de agitação, as amostras foram submetidas à filtração, para remoção da biomassa. Com isso, a casca da palma particulada ficava retida na peneira e a mistura líquida escoava em um béquer. A seguir, foi observada a coloração e o total de água adsorvida em cada amostra foi quantificado com o auxílio de uma proveta. Ao final dos experimentos, a massa do adsorvente foi aferida.

Figura 12 - Frascos erlenmeyer contendo a mistura água/gasolina e biomassa na mesa agitadora, sob agitação a 130 rpm e temperatura constante.



FONTE: Próprio autor, 2017.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata nos Laboratórios de Química e de Solos (cedido pela Profa. Dra. Adriana Meira Vital), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Câmpus de Sumé.

4.4 EQUILÍBRIO NA ADSORÇÃO

Na realização do experimento para obter as isotermas de adsorção da mistura formada por gasolina/água/biomassa também utilizou-se a mesa agitadora, funcionando nas mesmas condições operacionais da etapa de obtenção das curvas de cinética, na qual foram adicionados 12 frascos erlenmeyers contendo em cada frasco uma quantidade fixa de 1,2g da biomassa e uma quantidade variável de água e de gasolina, sendo a concentração da gasolina de 5 a 60%, de modo a atingir um volume total do composto de 52 mL. Após o preparo da solução contaminada os erlenmeyers foram colocados na mesa agitadora, sendo em cada frasco adicionadas a água e a gasolina, nas concentrações estabelecidas. Cada frasco contendo a mistura do poluente e a biomassa permaneceu sob agitação por um tempo de 60 minutos. Após este período, foi realizada a filtração da mistura heterogênea gasolina/água/biomassa, possibilitando realizar a análise volumétrica do poluente adsorvido pela biomassa (casca da palma) utilizando provetas de 100 mL.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata nos Laboratórios de Química e

de Solos (cedido pela Profa. Dra. Adriana Meira Vital), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Câmpus de Sumé.

4.5 FORMAÇÃO DAS BIOPILHAS

As biopilhas foram montadas em baldes de plástico com capacidade de 10L, (Figura 13), cobertos com sacolas plásticas para evitar a evaporação do contaminante, tendo em vista que a gasolina é um hidrocarboneto volátil. As biopilhas foram mantidas na área experimental, no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (UFCG- CDSA), Campús Sumé-PB.

Figura 13 - Montagem das Biopilhas.



Fonte: Próprio autor, 2017.

Os sistemas de biopilhas foram montadas alternando-se as camadas constituído por solo argiloso, esterco bovino e material estruturante (palma forrageira sem casca), adquiridos na reserva da UFCG, Câmpus de Sumé PB, além de cascas de ovos, Tabela 1.

Tabela 1 - Composição das Biopilhas.

Biopilhas	Composição
T1	Solo/Esterco/Casca de Ovos/Palma sem Casca
T2	Solo/Esterco/Gasolina/Casca de Ovos/Palma sem Casca
T3	Solo/Esterco/Gasolina/Microrganismos eficientes/Casca de Ovos/Palma sem Casca
T4	Solo/Gasolina/Casca de Ovos/Palma sem Casca

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

As quantidades dos compostos utilizados estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentrações dos compostos.

Compostos	Concentrações
Solo	3,00Kg
Esterco	1,50Kg
Gasolina	225mL
Microrganismos eficientes	125mL
Casca de Ovos	0,10Kg
Palma sem Casca	0,360Kg

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

A temperatura das biopilhas foi monitorada a cada três dias, tendo sido verificada em cinco pontos diferentes dos baldes. Para a aeração do sistema foi realizado revolvimento manual no balde (com luvas) duas vezes por semana. A umidade do sistema foi mantida com regas semanais. Para a avaliação do ajuste da umidade fez-se o teste da mão e quando o composto foi levado para o laboratório a umidade foi aferida por meio do determinador de umidade.

4.5.1 Coletas

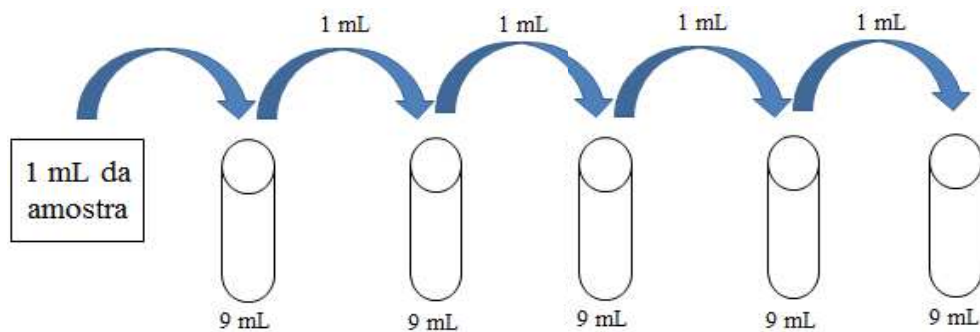
A primeira coleta foi realizada 06 dias depois da montagem das biopilhas e a segunda foi realizada no final do processo (89 dias). As amostras foram coletadas em cinco pontos diferentes nos baldes; em seguida, as porções foram misturadas e submetidas ao quarteamento.

4.5.2 Obtenção do Líquido Metabólico e Contagem de Microrganismos

Um grama (1g) do composto coletado foi diluído em 10 mL de água destilada esterilizada. A suspensão foi diluída em série até a concentração de 10^{-6} . Um (1) mL nas concentrações 10^{-4} e 10^{-5} , respectivamente, foi espalhado em placas de Petri contendo meio BDA com e sem a presença de antibiótico, com o propósito de avaliar o crescimento de fungos e outros microrganismos. As placas foram incubadas a 28°C por 5 dias, após os quais foi realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) com o auxílio do Contador de Colônias Eletrônico Digital LS6000. Os testes foram feitos em duplicatas.

O líquido metabólico sem diluição foi utilizado para a verificação do pH e para a determinação da ocorrência de biossurfactantes no sistema (Figura 14).

Figura 14 – Diluição em série do líquido metabólico.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

4.5.2.1 Determinação da Umidade

A umidade do composto foi aferida utilizando-se o determinador de umidade Moisture Analyzer Instruction Manual, da marca Shimadzu Corporation e modelo MOC63, com equipamento ajustado para 105°C durante 15 minutos.

4.5.2.2 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada no líquido metabólico por meio do medidor de pH digital da marca Instrumental modelo pH3600.

4.5.2.3 Determinação da Produção de Biossurfactante

O líquido metabólico sem diluição foi utilizado para a determinação da ocorrência de biossurfactantes. A produção de biossurfactante foi verificada por meio do índice de emulsificação (IE), seguindo o método descrito por Cooper e Paddock (1984). Para a observação do IE foram utilizados 2 mL de líquido metabólico e 1 mL de querosene. A mistura foi agitada por dois minutos com o auxílio do vórtex em temperatura ambiente (25 °C). Os testes foram realizados em duplicata e, após 2 minutos em repouso, a leitura foi realizada pela medição da altura da emulsão formada, conforme descrito por Barbosa, Gondim e Paz (2007). O cálculo do IE foi realizado por meio da Equação 2.

$$IE(\%) = \frac{H_e}{H_t} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Em que:

H_e - altura da emulsão e multiplicados por 100

H_t - altura total do líquido

Os tubos de ensaio contendo a emulsão foram mantidos em temperatura ambiente e após 24 horas foi verificada a estabilidade da emulsão formada.

A formação e estabilidade de emulsão também pode ser utilizada como parâmetro para observar a produção e eficiência dos biossurfactantes, sendo a emulsão formada quando uma fase líquida é dispersa em gotículas microscópicas em outra fase líquida, comprovando a capacidade dos biossurfactantes produzidos de emulsificar hidrocarbonetos (BEZERRA, 2012).

4.5.2.4 Biodegradação do Contaminante Utilizando a Técnica Colorimétrica

A biodegradação de hidrocarbonetos também pode ser verificada utilizando a técnica colorimétrica baseada no indicador redox 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP). Com a adição ao meio mineral (meio Bushnell-Haas adaptado (BH)) é possível avaliar a capacidade dos microrganismos em utilizar hidrocarbonetos como substrato e, consequentemente, a biodegradação, devido à mudança de coloração do DCPIP de azul, estado oxidado, para incolor, estado reduzido. A transformação de cor é ocasionada pela modificação na estrutura da molécula de DCPIP (BIDOIA; MONTAGNOLLI; LOPES, 2010). O átomo de nitrogênio no centro da molécula é o aceptor de elétrons, ocorrendo a mudança da ligação dupla entre nitrogênio e carbono para uma ligação simples. Com essa modificação de ligação, ocorre

mudança na estrutura da molécula do indicador. Com isso, a redução causa a mudança de cor de azul para incolor. Esta mudança de cor pode, portanto, ser usada em uma série de reações em que ocorram trocas de elétrons, como a biodegradação (MONTAGNOLLI, 2015).

Após a determinação do comprimento de onda foi adicionada uma amostra de 1g do composto de cada biopilha em tubos de ensaio contendo 10mL da solução, com o indicador adaptado e observadas suas respectivas absorbâncias e, em seguida, incubadas a 28°C, sendo verificadas diariamente para o acompanhamento dos resultados da absorbância durante 08 dias.

4.5.3 Preparação dos Meios de Cultura

Na preparação dos meios e na manutenção das culturas de microrganismos é importante observar as necessárias condições de assepsia, de modo a se evitarem contaminações com outros microrganismos (www3.uma.pt, 2018).

4.5.4 Preparação do Meio de Batata, Dextrose e Ágar (BDA)

As batatas foram cozidas em água destilada e em seguida foram filtradas em filtro de *nylon*. Ao caldo obtido acrescentou-se o ágar e a sacarose, seguindo-se com a esterilização em autoclave durante 20 minutos a 121°C e 1atm. Na Tabela 3 encontram-se as composições do meio de BDA.

Tabela 3 - Preparo do meio de BDA.

Composição	Quantidade
Batata	200g
Sacarose	20g
Ágar	20g
Água destilada (q.s.p.)	1000mL

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Após resfriamento, adicionaram-se cerca de 500mg de amoxicilina na concentração de 5mg (antibiótico) a fim de evitar o crescimento de bactérias. O meio foi vertido nas placas de Petri (cerca de 20 mL/placa), previamente esterilizadas e, após solidificação, foi utilizado para o plaqueamento.

4.5.5 Preparação do Meio Bushnell-Haas Adaptado (BH)

O meio mineral Bushnell-Haas (BH) foi preparado, em um erlenmeyer de 1.000 mL, pela dissolução dos sais com as devidas concentrações apresentados na Tabela 4 em 1,00 L de água destilada.

Tabela 4 - Composição de sais no preparo de 1,0 L do meio Bushnell-Haas.

Composto	Fórmula	Quantidade
Fosfato de potássio dibásico	K_2HPO_4	1,000 g
Fosfato de potássio monobásico	KH_2PO_4	1,000 g
Cloreto férrico	$FeCl_3$	0,500 g
Sulfato de magnésio	$MgSO_4$	0,200 g
Cloreto de cálcio	$CaCl_2$	0,020 g

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

4.6 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES

As soluções utilizadas nas análises experimentais foram preparadas conforme o procedimento descrito a seguir, utilizando os reagentes listados anteriormente.

4.6.1 Solução DCPIP

A solução do indicador redox 2,6-diclorofenol-indofenol (DCPIP) foi preparada na concentração de $1,00 \text{ g.L}^{-1}$. Com isso, foram dissolvidos 0,060g do indicador DCPIP em 60mL do meio salino BH adaptado fazendo a homogeneização da solução em um balão volumétrico de 100mL.

4.6.2 Teste de Germinação de Sementes

No teste da germinação foram utilizadas sementes de feijão e de alface. As sementes de feijão (*Vigna unguiculata*) foram adicionadas dentro das biopilhas, durante 3 dias tendo sido colocadas cinco sementes em cada balde. O teste com sementes de alface (*Lactuca sativa*) foi realizado em sementeiras durante 10 dias, sendo que cada célula recebeu 15 sementes. O controle da umidade foi realizado com regas diárias.

Ao final do período de germinação, as sementes germinadas foram contadas e tiveram o comprimento do eixo radicular medido, utilizando um paquímetro. O índice de germinação foi determinado segundo metodologia descrita por Tam e Tiquia (1994), em que o índice de germinação de sementes (Equação 3) é avaliado por meio da porcentagem de sementes germinadas (Equação 4) e pela porcentagem de crescimento do eixo hipocótilo radícula (Equação 5).

$$IG = \textit{sementes germinadas} (\%) * \textit{crescimento da raiz} (\%) \quad (\text{Equação 3})$$

$$\textit{Sementes germinadas}(\%) = \frac{\textit{germinação no teste}(\%)}{\textit{germinação no controle} (\%)} * 100 \quad (\text{Equação 4})$$

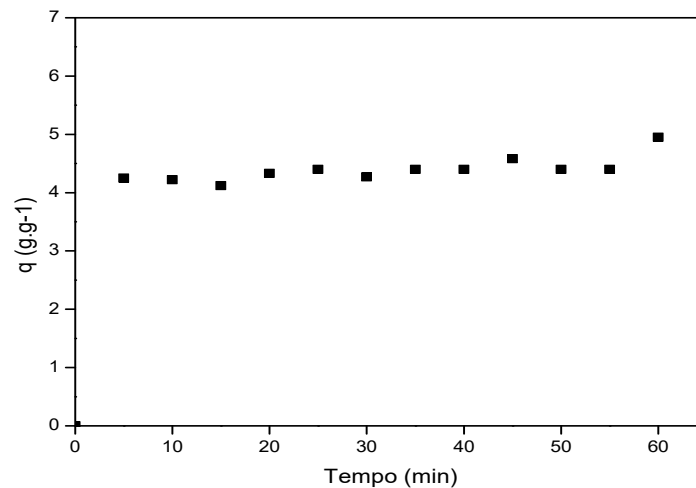
$$\textit{Crescimento das raízes}(\%) = \frac{\textit{Crescimento no teste}}{\textit{Crescimento no controle}} * 100 \quad (\text{Equação 5})$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CINÉTICA DE ADSORÇÃO

Baseado nos resultados obtidos ao término dos experimentos propostos, foi determinada a média das três repetições, possibilitando realizar a análise da cinética de adsorção a partir da construção da curva referente às quantidades de gasolina em gramas adsorvidas pela biomassa com relação à variação de tempo de contato, em minutos, com o contaminante em agitação (Figura 15).

Figura 15- Curva cinética de adsorção de gasolina utilizando a casca da palma forrageira como biomassa.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Avaliando a Figura 15, é possível identificar que a cinética de adsorção da gasolina por meio da biomassa formada a partir da casca da palma é rápida, tendo início a partir dos 05 minutos até os 60 minutos após a adição do adsorvente na solução, mantendo uma consistência na remoção do poluente.

Também pode ser observado que, de forma geral, houve uma boa redução da concentração do poluente na solução, mantendo-se sem muitas variações em relação ao tempo, apresentando o menor valor de concentração no tempo de 15 minutos com $4,125 \text{ g.g}^{-1}$ e maior concentração no tempo de 60 minutos, atingindo uma quantidade de remoção de $4,95 \text{ g.g}^{-1}$.

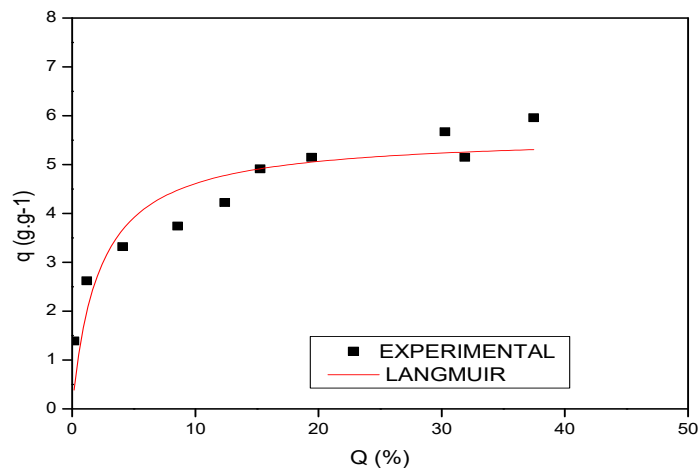
Com isso, pode-se destacar que utilizando a casca da palma forrageira como biomassa

com tempos a partir de 35 minutos é possível obter uma maior remoção da quantidade de gasolina presente na mistura.

5.2 EQUILÍBRIO DA ADSORÇÃO

Por meio dos resultados observados ao término dos experimentos, foi calculada a média das três repetições, possibilitando obter as isotermas de equilíbrio e construir a curva referente às quantidades em porcentagem de gasolina adsorvida pela biomassa com relação à concentração de contaminante em contato com a solução após a realização dos ensaios ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), aplicando-se o modelo de Langmuir (Figura 16).

Figura 16 - Curva de equilíbrio de adsorção obtida por meio do modelo de Langmuir de gasolina utilizando a casca da palma forrageira como biomassa.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Em relação aos resultados obtidos, pode-se afirmar que houve redução de quantidades consideráveis de gasolina no efluente, variando conforme o aumento da concentração do contaminante. Com a menor concentração de 0,16% foi reduzida uma quantidade de $1,39 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ de gasolina, e com a maior concentração (42,13%) foi possível atingir uma capacidade máxima de adsorção (q_s) de $7,04 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$.

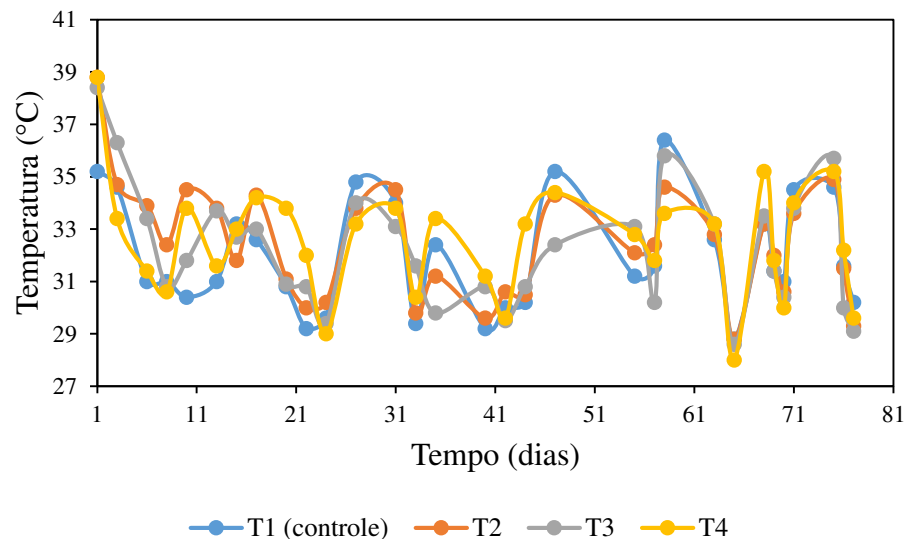
Portanto, pode-se afirmar que a utilização da casca da palma forrageira apresenta resultados satisfatórios na remoção de gasolina presente em água, tendo em vista que COSTA (2014), durante a realização de seus experimentos obteve $7,5 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ de gasolina adsorvidos, utilizando o mandacaru oriundo do estado do Rio Grande do Norte, e aproximadamente $6,0 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ por grama de biomassa, para o mandacaru oriundo do estado da Paraíba.

Pode-se observar, também, que a isoterma de Langmuir conseguiu ajustar-se aos pontos obtidos durante o experimento, com isso, possibilitando expor com maior eficiência a capacidade de adsorção de gasolina utilizando da casca de palma forrageira como adsorvente.

5.3 VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NOS TESTES DE DEGRADAÇÃO

As biopilhas contaminadas com gasolina duraram um período de 89 dias. A temperatura no processo de biopilha (Figura 17) variou entre 28°C e 39°C, obtendo os valores mais altos no início do processo e decaindo com o decorrer dos dias, variando entre 28°C e 35°.

Figura 17 - Variação da temperatura no processo de biopilhas.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Nos primeiros 05 dias foi observado que a temperatura nas biopilhas testes (tratamentos 2, 3 e 4) foi mais elevada que na biopilha controle. Nos dias seguintes, as temperaturas das biopilhas passaram a apresentar comportamento similar.

As maiores temperaturas foram registradas no início dos experimentos quando há intensa atividade microbiana, devido à degradação das frações de hidrocarbonetos facilmente biodegradáveis (JORGENSEN *et al.*, 2000).

De acordo com Gray *et al.* (2000), no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos derivados do petróleo em escala laboratorial, o aumento da temperatura de 21°C para 30°C ocasionou uma aceleração na remoção do poluente.

O sistema de biopilhas estudado apresentou uma faixa de temperatura ideal para promover a atividade de biodegradação da gasolina, pois segundo Millioli (2009) a faixa ideal de temperatura para a biodegradação de hidrocarbonetos está entre 30 a 40 °C. Silva (2004) relata que a atividade metabólica da maioria dos microrganismos envolvidos na biodegradação dos hidrocarbonetos do petróleo também diminui a temperaturas superiores a 45 °C.

5.4 CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA (UFC)

A contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), foi realizada após cinco dias de incubação apresentando os valores de UFCs obtidos a partir da diluição em série de 10^{-4} e 10^{-5} do líquido metabolito com e sem a presença de antibiótico de cada biopilha. A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos para contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias e de fungos, ao final de 89 dias. Verifica-se que em todos os tratamentos houve crescimento microbiano.

Tabela 5- Números das unidades formadoras de colônia (UFC) de bactérias ao final do processo de biopilhas.

Tratamento	UFC fúngicas	UFC bacterianas
1 (controle)	$3,7 \times 10^5$	$7,3 \times 10^5$
2	$2,7 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$
3	$8,0 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$
4	$3,5 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Podemos observar que tanto o teste 3 quanto o teste 4 tiveram uma produção maior de fungos e bactérias em relação ao controle, enquanto o teste 2 reduziu a formação de colônias comparado ao controle, possivelmente devido a presença dos microrganismos eficientes no teste 3 favorecendo o desenvolvimento da microbiota nativa e pela multiplicação dos microrganismos adicionados e no caso do teste 4 devido a bioestimulação dos microrganismos presentes no solo devido a adição de gasolina que serve como fonte de carbono para os microrganismos.

Isso indica que o poluente estudado foi utilizado pelos microrganismos como fonte de

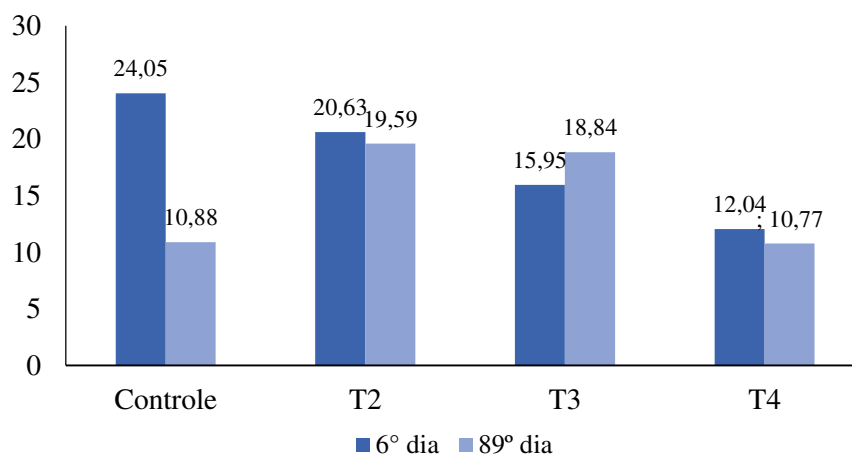
carbono, o que bioestimulou o crescimento microbiano. Comportamento semelhante foi relatado por Paiva (2017).

Segundo Mishra *et al.* (2001) quando a área contaminada não possui microrganismos capazes de degradar os constituintes do petróleo é necessário fazer a adição de microrganismos para realizar a biodegradação desses poluentes. Com isso, a biodegradação dos hidrocarbonetos pode ser aumentada se a biomassa microbiana conseguir sobreviver às condições do novo ambiente após competir com os microrganismos existentes no solo.

5.5 VARIAÇÃO DE UMIDADE DURANTE OS TESTES DE DEGRADAÇÃO

A umidade nas biopilhas variou entre 10,77% e 24,05%. O baixo teor de umidade se deve, provavelmente, devido ao fato dos testes terem sido conduzidos em ambiente aberto, reduzindo a umidade do sistema, devido a ação do ambiente. As biopilhas apresentaram uma redução maior de umidade no controle e reduzindo também nos testes, porém, com uma diferença menor exceto no teste 3 que apresentou um aumento de umidade no final do processo. (Figura 18).

Figura 18 - Valores da umidade verificados no sexto dia (6°) do processo e do octogésimo nono (89°) dia.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

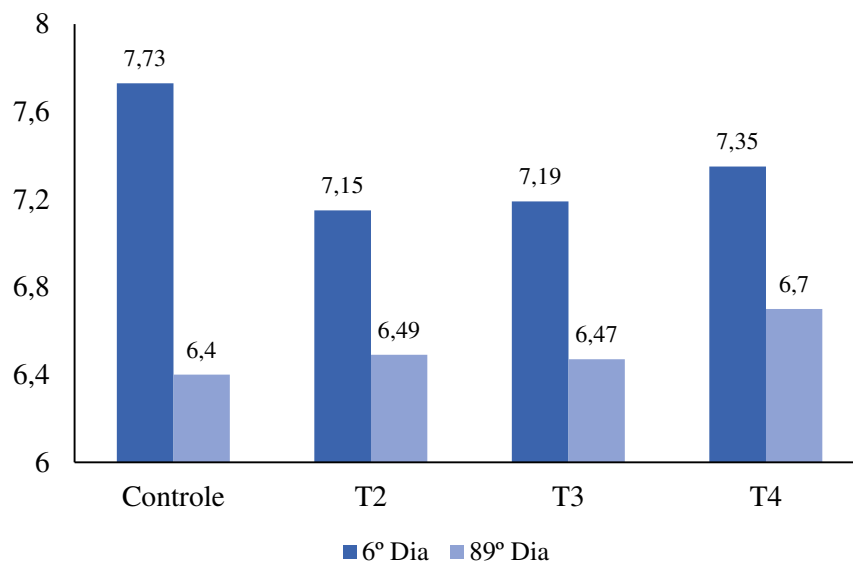
A umidade é um fator fundamental para alcançar um bom desempenho de biodegradação. O aumento da concentração de água no solo é inversamente proporcional à concentração de O₂ presente. Com isso, os solos que apresentam altas concentrações de umidade resultam negativamente na degradação dos hidrocarbonetos, por ser um processo

aeróbio, retardando o crescimento microbiano. Já as condições com escassez de água também afetam a biodegradação dos hidrocarbonetos por influenciar diretamente no metabolismo microbiano impedindo a ação dos microrganismos sobre essas moléculas, devido à falta de necessária para promover o desenvolvimento das atividades metabólicas (MORAIS, 2005).

5.6 AFERIÇÃO DO pH

As amostras retiradas das biopilhas contaminadas com gasolina foram diluídas para a aferição do pH. A Figura 19 apresenta o pH verificado no 6º dia e no final do processo (89º dia).

Figura 19 - Valores de pH verificados no sexto dia (6º) do processo e do octogésimo nono (89º) dia.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Durante os processos das biopilhas, os resultados do pH apresentaram no início um valor neutro e no final do processo apresentaram uma pequena queda em todos os testes inclusive no controle, tornando-se rapidamente ácido. Isso indica que durante ao período de degradação do poluente ocorreu a produção de compostos intermediários, possivelmente ácidos orgânicos (MORAIS, 2005).

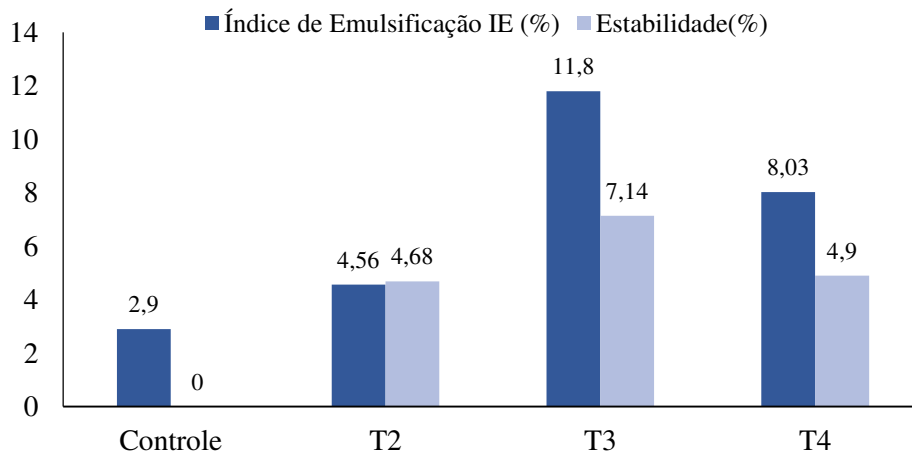
Pode-se afirmar que as biopilhas permaneceram entre uma faixa adequada de pH. Conforme Nascimento *et al.* (2013), a faixa de pH mais favorável para a maioria dos microrganismos envolvidos no processo de biorremediação, está situada 6,0 e 8,0, com o

valor ótimo em torno de 7,0, onde apresenta maior taxa de biodegradação e em ambientes de extrema acidez ou alcalinidade, ocorre a redução da atividade microbiana, podendo inibir o processo.

5.7 DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA DE BIOSSURFACTANTE

A presença de biossurfactante (Figura 20) nas biopilhas foram verificadas por meio do índice de emulsificação (IE) e a estabilidade da emulsão, após 24 horas, para determinar a capacidade do biossurfactante em formar emulsões.

Figura 20 - Resultados dos testes d (IE) e (E) realizados para verificar a produção de biossurfactantes.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

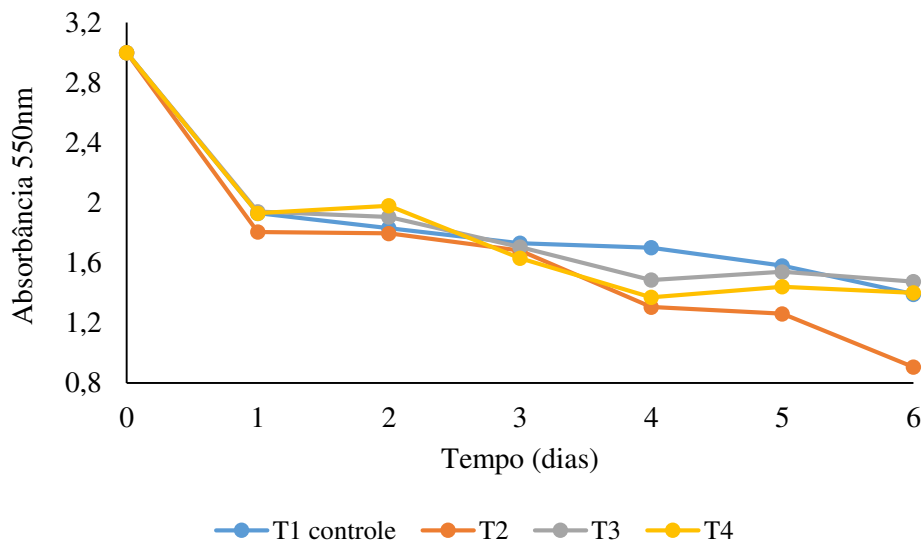
O tratamento controle apresentou o menor IE (2,9%), e não apresentou estabilidade após 24h. O baixo valor de IE pode ser atribuído à ausência do poluente nos sistemas de biopilhas. Segundo Singh *et al.* (2007), na maioria dos casos, os microrganismos capazes de produzir biossurfactantes são isolados a partir de ambientes contaminados por hidrocarbonetos de petróleo e seus derivados. Isto acontece porque, na natureza, os biossurfactantes exercem o papel fisiológico da biodisponibilidade de moléculas hidrofóbicas que estão envolvidas na sinalização celular e processos de diferenciação, facilitando o metabolismo dos hidrocarbonetos que são utilizados como fontes de carbono.

Os índices encontrados nas biopilhas não apresentaram grandes produções de biossurfactantes quando comparados com trabalhos observados na literatura. Segundo SANTANA (2012), que realizou produção de biossurfactante pela levedura *Candida lipolytica* (UPC 0988), utilizando Óleo de Pequi como fonte alternativa de carbono, e a CAVALCANTI (2014) que realizou a bioprospecção de biossurfactantes produzidos por fungos filamentosos da caatinga, os melhores Índices de Emulsificação ficaram entre 20 e 30 (%), que foram superiores ao IE apresentado neste trabalho.

5.8 BIODEGRADAÇÃO UTILIZANDO DCPIP

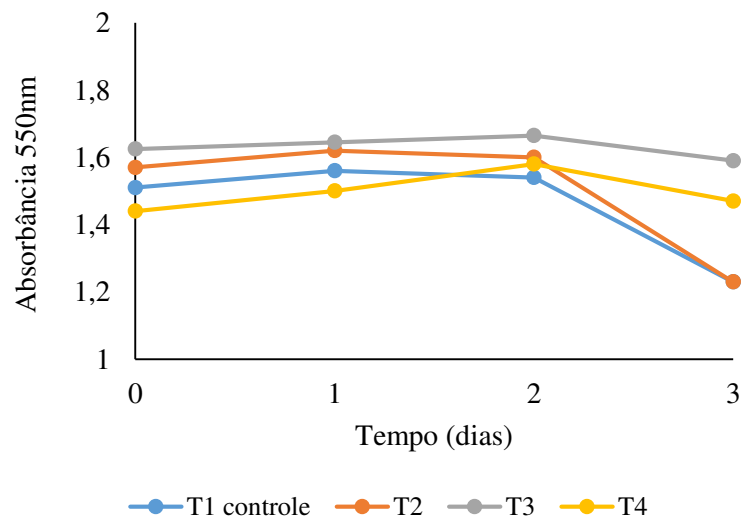
O método colorimétrico utilizando o indicador redox DCPIP possibilitou estimar a biodegradação pela leitura de absorbância no comprimento de onda de 550 nm, em função do tempo em dias. A diminuição na concentração de DCPIP em seu estado oxidado (DCPIPox) pode ser observado nas Figura 21 e 22, onde mostra a biodegradação da gasolina a partir do comprimento de onda no início e final do processo respectivamente.

Figura 21 - Biodegradação da gasolina utilizando DCPIP no início do processo.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Figura 22 - Biodegradação da gasolina utilizando DCPIP no final do processo.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Após o final do processo de biopilhas foi realizado novamente o teste de descoloração do indicador DCPIP, para avaliar o comportamento do composto após passar pelo tratamento de biorremediação. Na Figura 22 pode-se observar que no decorrer dos 3 dias de análise, todos os ensaios, inclusive o controle, apresentaram comportamentos semelhantes.

Conforme Bidoia *et al.* (2010), a biodegradação de hidrocarbonetos pode ser verificada utilizando a técnica colorimétrica utilizando o indicador redox 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP), pois com a adição ao meio de cultura possibilita avaliar a capacidade dos microrganismos em utilizar hidrocarbonetos como substrato e proporcionar a biodegradação pela alteração de cor do DCPIP de azul, estado oxidado, para uma coloração incolor, indicando estado reduzido.

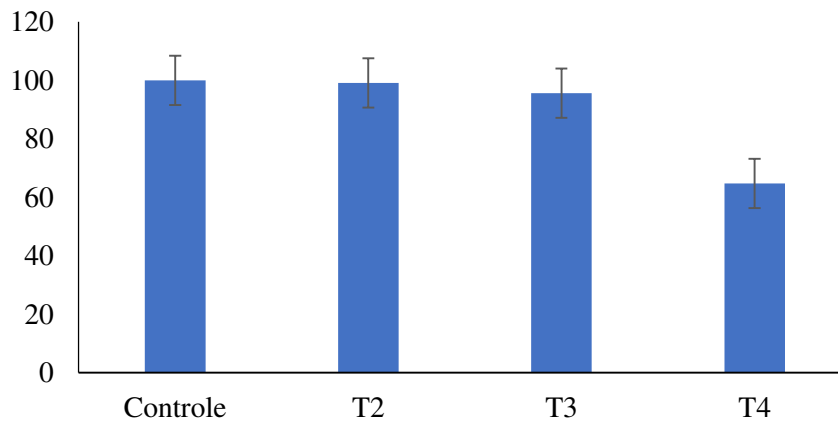
Comparando os dois resultados pode-se afirmar que houve redução do poluente no sistema, pois foi verificada redução da absorvância nos tratamentos utilizados. Já no teste realizado no final do processo não houve diferença acentuada da absorvância evidenciando a ausência do hidrocarboneto no sistema.

Mariano *et al.* (2008) realizaram um estudo com diferentes culturas bacterianas e consórcios microbianos na biodegradação de óleo diesel comercial e intemperizado, baseado na metodologia da descoloração de DCPIP e obtiveram resultados que comprovaram que o procedimento foi capaz de avaliar a ação metabólica dos diferentes microrganismos na degradação de hidrocarboneto e estabelecer a velocidade de biodegradação dos contaminantes.

5.9 TESTE DE ECOTOXICIDADE

Para avaliar a redução da toxicidade do solo contaminado com gasolina após diferentes tipos de tratamentos foram realizados ensaios ecotoxicológicos com dois organismos testes (*Vigna unguiculata* e *L. sativa*), para avaliar o índice de germinação. As Figuras 23 e 24 mostram os resultados obtidos ao final dos ensaios utilizando feijão e alface, respectivamente, considerando a germinação do controle como 100%.

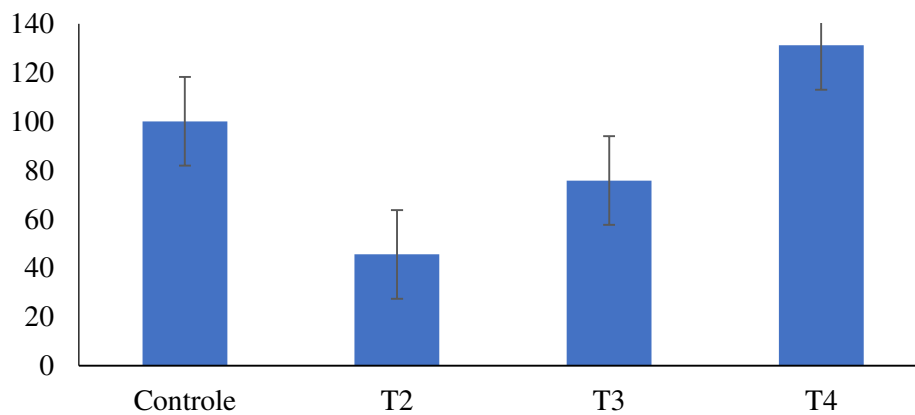
Figura 23 - Germinação relativa das sementes de feijão.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os testes realizados com sementes de alface (Figura 24) apresentaram IGs de 131%, 76% e 46% para os tratamentos 4, 3 e 2, respectivamente.

Figura 24 - Germinação relativa das sementes de alface.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Nos testes de germinação utilizando sementes de feijão verificou-se que os tratamentos 2 e 3 apresentaram índice de germinação (IG) de 99% e 96%, respectivamente, enquanto o tratamento 4 apresentou um índice de (65%). Os resultados dos IGs apontam que os tratamentos 2 e 3 geraram um solo tratado que possui potencial para cultivo da espécie inserida. Segundo Zucconi *et al.* (1981) IGs superiores a 85% indicam o desaparecimento da fitotoxicidade no composto.

Comparando seu desempenho, as sementes de alface apresentaram maior sensibilidade frente a fatores ambientais adversos, tendo em vista que a semente da alface é mais sensível

do que a semente de feijão. Segundo Cruz (2013), as sementes menores são mais sensíveis ao estresse ambiental, e sementes maiores como o feijão oferecem maior proteção quando expostas a um contaminante.

Dessa forma, o índice de germinação apresentado em ambos os ensaios indica que o tratamento do resíduo contendo gasolina em sistema de biopilha foi eficiente comparado com resultados de Paiva (2017) que apresentou índices de germinação da alface de 96,8%, no tratamento de compostos contaminados com óleo diesel indicando o desaparecimento da fitotoxicidade no composto. Os resultados dos bioensaios são satisfatórios, pois, conforme os resultados de Lopes (2014), onde a maioria dos tratamentos propostos apresentaram redução nos níveis de toxicidade de solo contaminado por óleo lubrificante, demonstrando a eficiência dos processos de biorremediação.

6 CONCLUSÕES

Levando em consideração os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A casca da palma forrageira como biomassa na remoção de gasolina em meio aquoso por meio do método de adsorção apresentou-se como uma alternativa viável, atingido resultados consideráveis na retirada do poluente, tanto nas análises de cinética quanto no equilíbrio. Podendo indicar possibilidades de uso por meio do estímulo a formação de plantios homogêneos ou rotacionados para contribuir com estratégias de uso nas atividades da pesquisa ao mesmo tempo em que contribuirá para fomentar a agricultura sustentável, agregando valor e renda a atividade.
- A presença da gasolina estimulou o crescimento microbiano no sistema de Biopilhas.
- O sistema de Biopilhas produziu uma pequena porcentagem de biossurfactante.
- O método colorimétrico utilizando o DCPIP, confirmou a biodegradação da gasolina.
- Os testes de ecotoxicidade utilizando sementes de feijão (*Vigna unguiculata*) alface (*Lactuca sativa*) indicaram que as biopilhas empregadas nesse trabalho foram capazes de reduzir a toxicidade da gasolina, possibilitando que o solo seja utilizado de forma segura sem causar danos ao meio ambiente.

7 PERSPECTIVAS PARA PRÓXIMOS TRABALHOS

- Utilização da palma forrageira como biomassa adsorvente de outros contaminantes orgânicos.
- Utilização de outras partes da planta como biomassa adsorvente.
- Estudo dos compostos gerados (Testes em cromatografo a gás).
- Realização de testes de citotoxicidade e genotoxicidade.

REFERÊNCIAS

- AHMARUZZAMAN, M. Industrial wastes as low-cost potential adsorbents for the treatment of wastewater laden with heavy metals. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 166, n. 1-2, p. 36-59, ago. 2011.
- ALBUQUERQUE, S. G. de. **Cultivo da palma forrageira no Sertão do São Francisco. Petrolina: Embrapa Semi-Árido**, 2000. 6 p. il.(Embrapa Semi-Árido. Comunicado técnico. Disponível em: <www.ainfo.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: Fevereiro de 2017.
- ALEIXO, L. A. G.; TACHIBANA, T.-I.; CASAGRANDE, D. **Poluição por óleo – Formas de introdução de petróleo e derivados no ambiente**, Integração, Abr./Mai./Jun., Ano XIII, n. 49, p. 159-166, 2007
- AMBIENTE BRASIL, Disponível em:<http://ambientes.ambientebrasil.com.br/agropecuario/artigo_agropecuario/dia_nacional_da_conservacao_do_solo.html>. Acesso em: Março de 2018.
- ANDRADE, J. de A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, Isabel C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**. v. 35. n. 3. São Paulo, p. 17-43, 2010.
- ANP, Agência Nacional de Petróleo e Gás. Disponível em: <www.anp.gov.br>, Acesso em: Novembro de 2017.
- ASPRAVY, T. Effect of nitrogen amendment on respiration and respiratory quotient (RQ) in three hydrocarbon contaminated soils of different type. **Chemosphere**, Oxford, v.72, n.6, p.947-995, 2008.
- ATKINS, P. W. **Physical Chemistry**. 5th ed., Oxford University Press: Oxford, 1994.
- CARVALHO, A. **Águas interiores, suas margens, ilhas e servidões**. São Paulo: Saraiva, 1986.
- BARBOSA, A. P. A.; GONDIM, A. L. N.; PAZ, M. C. F. **Remoção do corante preto pirazol por Pseudomonasaeruginosa**. In: II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa, 2007.
- BENTO, F. M. **Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation**. Bioresource Technology, n. 96, p. 1049-1055, 2005.
- BEZERRA, M. S. **Estudo da produção de biossurfactantes sintetizados por Pseudomonas aeruginosa AP029 – GVIIA utilizando manipueira como fonte de carbono**. 2012. 114 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.
- BIDOIA, E. D.; MONTAGNOLLI, R. N.; LOPES, P. R. M. **Microbial biodegradation potential of hydrocarbons evaluated by colorimetric technique: a case study**. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (Ed.), Current Research, Technology and Education Topics. In: Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Formatex Research Center: Espanha, v. 2, p. 1277-1288. 2010.
- BISOGNIN, R. P. **Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos**. 2012. 139 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2012.

- BITTAR, P. R. **A biorremediação através do uso de biopilhas**. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/informativo/outubro_2000/pagina05.html>, Acesso em 21 de Nov. 2017.
- CAMARGO, C. E. O.; FERREIRA FILHO, A. W. P.; SALOMON, M. V. Temperature and ph of the nutrient solution on wheat primary root growth. **Agricultural Science**, Cambridge, v. 61, n. 3, p. 313-318, 2004.
- CARVALHO, E. da S. **Reuso do mesocarpo de coco na remoção de contaminantes derivados de petróleo presentes em corpos d'água, utilizando sistema de adsorção em leito diferencial**. Trabalho de Conclusão em Química Industrial, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.
- CAVALCANTI, R. M. F. **Bioprospecção de biossurfactantes produzidos por fungos filamentosos da caatinga**. 63 pp. Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos – Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, 2014.
- CECHINEL A. P., M. **Aplicação de processo adsorptivo na remoção de chumbo de efluentes petroquímicos sintéticos**. Mestrado (Dissertação), Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.
- CHIACCHIO, F. P. B.; MESQUITA, A. S.; SANTOS, J. R. Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o semi-árido baiano. **Bahia Agrícola**, v.7, n.3, p.39-49, 2006. Disponível em: <www.seagri.ba.gov.br>. Acesso em: Outubro de 2013.
- COOPER, D. G.; PADDOCK, D. A. Production of a biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 47, n 1, p. 173-176, 1984.
- COSTA, K. J. B. **Utilização do Mandacaru (*Cereus jamacaru*) como biomassa adsorvente de gasolina presente em corpos d'água**. Monografia, UEPB, 2014.
- CRUZ, J. M. Phytotoxicity of soil contaminated with petroleum derivatives and biodiesel. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 8, n. 1, p.49-54, 2013.
- CZERNIAWSKA-KUSZA, I.; KUSZA, G. The potential of the Phytotoxkit microbiotest for hazard evaluation of sediments in eutrophic freshwater ecosystems. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 179, n. 1/4, p. 113-121, 2011.
- DESSORÇÃO TÉRMICA - SCIENTIA. Disponível em: <<https://sites.google.com/site/scientiaestpotentiaplus/dessorcao-termica>>. Acesso em: Março de 2018.
- DIAS, A. E. X. O. **Biorremediação de áreas afetadas por resíduos sólidos tóxicos**. In: SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA, R. M. (Org.) Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 2000.
- DOD ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY TRANSFER COMMITTEE, 1994, **Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide**. 2 ed. EPA/542/B 94/01.
- FARIAS, I.; SANTOS, D.C. dos; DUBEUX JÚNIOR, J.C.B. Estabelecimento e manejo da palma forrageira. In: MENEZES, R.S.C.; et al. (eds). **A palma no Nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Editora Universitária da UFPE, p. 81- 103, 2005.

- FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 22, n. 5, p. 299-310, 2003.
- FERNANDES, R. **Adsorventes Alternativos para Remoção de Fenol em Solução Aquosa**. Mestrado em Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis–SC, p. 78, 2005.
- FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, p.2-10. 2010.
- FREITAS, V.; PASSOS. **Sistema jurídico brasileiro de controle da poluição das águas subterrâneas**. Direito e Democracia, v. 2, n. 2, p. 257-273, 2001.
- FUENTES, A. et al. Phytotoxicity and heavy metals speciation of stabilized sewage sludges. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 108, n. 3, p. 161-169, 2004.
- GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO G. P. Biorremediação. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34, p. 36-43, jan./jun. 2005.
- GEOLOGIA DO PETRÓLEO, PGT - **Petroleum Geoscience Technology**, Disponível em: <www.pgt.com.br>. Acesso em: Maio de 2017.
- GOLIN, D. M. **Remoção de chumbo de meios líquidos através de adsorção utilizando carvão ativado de origem vegetal e resíduos vegetais**. Mestrado (Dissertação), Universidade Federal do Paraná, 2007.
- GONZALEZ, E. R. Eletrocatalise e poluição ambiental, **Química Nova**, 23(2), 2000.
- GRAY, M. R.; BANERJEE, D. K.; DUDAS, M. J.; PICKARD, M. A. Protocols to enhanced biodegradation of hydrocarbons contaminants in soil. **Bioremed. J.**, Philadelphia, v.4, n.4, p.249-257, 2000.
- HORN, R.; SMUCKER, A. A formação da estrutura e sua consequência para o gás e transporte de água em solos aráveis e florestais insaturados. **Solo e cultivo do solo Research**, Amsterdam, v. 82, n. 1, p.18, 2005.
- HSU, T-C. **Experimental assessment of adsorption of Cu²⁺ and Ni²⁺ from aqueous solution by oyster shell powder**. *Journal of Hazardous Materials*, v. 171, n. 1-3, p. 995–1000, 2009.
- JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**. v. 37. n°4. Santa Maria, p. 1192-1201, 2007.
- JORGE, C. **Solos contaminados com gasolina – possíveis soluções**, 1999.
- JÚNIOR, J. J.; PASQUALETTO, A.. **Contaminação ambiental movida por postos retalhistas de combustíveis**. Universidade Católica de Goiás. Goiás, 2008.
- JUWARKAR, A. A.; SINGH, S.K.; MUDHOO, A. A Comprehensive overview of elements in bioremediation. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 9, n. 3, p.215-288, Sept. 2010.
- LEO, P.; ALLI, R.; LINHARES, D.; SILVA, E.; MATSUBARA, R.; RODRIGUES, M.. **Processos biológicos: biorremediação**. In: S. Moraes, C. Teixeira and A. Maximiano, ed., Gerenciamento de áreas contaminadas, 1st ed. São Paulo: IPT e BNDES, pp.232-234, 2014.

- LIMA, D. F. **Biorremediação em sedimentos impactados por petróleo na Baía de Todos os Santos, Bahia:** Avaliação da degradação de hidrocarbonetos saturados. 2010. 231 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Geologia, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.
- LIMA, L. M. R.; ALSINA, O. L. S.; SILVA, V. L. M. M. **Avaliação da ampliação de escala na adsorção de gasolina em leito fixo com biomassa bagaço de cana-de-açúcar.** XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ2010) e 8 Encontro Brasileiro de Adsorção (EBA2010), Foz do Iguaçu – PR, 2010.
- LIMA, L. M. R.; COSTA, K. J. B.; OLIVEIRA, E. D. C.; OLIVEIRA, E. K. G.; SANTOS, T. C.; SILVA, V. L. M. M. **Utilização do mandacaru (*Cereus jamacaru*) como biomassa adsorvente de gasolina presente em corpos d'água,** X Encontro Brasileiro sobre Adsorção, Guarujá–SP, 2014.
- LOPES, E. B.; SANTOS, D. C.; VASCONCELOS, M. F. Cultivo da Palma forrageira. In: LOPES, E.D. (Org.) **Palma forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino,** João Pessoa: EMEPA, 2012. p. 21-60.
- LOPES, P. R. M. **Biorremediação de solo contaminado com óleo lubrificante pela aplicação de diferentes soluções de surfactante químico e biosurfactante 58 produzido por *Pseudomonas aeruginosa* LBI.** 185f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2014.
- MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel.** 2006. 147 f. Tese (Doutorado) - Curso de Geociências e Meio Ambiente, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.
- MARIANO, A. P.; BONOTTO, D. M.; ANGELIS, D. F.; PIRÔLLO, M. P. S.; CONTIERO, J. Biodegradability of commercial and weathered diesel oils. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 133-142, 2008.
- MEIO AMBIENTE NEWS. Disponível em:
<[http://www.meioambientenews.com.br/conteudo.ler.php?q\[1%7Cconteudo.idcategoria\]=42&id=46](http://www.meioambientenews.com.br/conteudo.ler.php?q[1%7Cconteudo.idcategoria]=42&id=46)>. Acesso em: Março de 2018.
- MENEZES, H. E. A.; BRITO, J. I. B.; SANTOS, C. A. C.; SILVA, L. L. **A relação entre a temperatura da superfície dos oceanos tropicais e a duração dos veranicos no Estado da Paraíba.** Revista Brasileira de Meteorologia, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, 152-161, 2008.
- MESQUITA, A. C. **Uso das técnicas de oxidação química e biodegradação na remoção de alguns compostos recalcitrantes.** 2004. 158 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências em Engenharia Civil, Pós-graduação de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.
- MISHRA, S.; JYOT, J.; KUHAD, R. C.; LAL, B. Evaluation of inoculum addition to stimulate *in situ* bioremediation of oily-sludge-contaminated soil. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.67, n.4, p.1675-1681, 2001.
- MONTAGNOLLI, R. N., LOPES, P. R. M., BIDOIA, E. D. Screening the toxicity and biodegradability of petroleum hydrocarbons by a rapid colorimetric method. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 68, p. 342-353, 2015.

- MORAIS, E. **Biodegradação de resíduos oleosos provenientes de refinaria de petróleo através do sistema de biopilhas**. Mestrado (Dissertação), Universidade Estadual Paulista, 2005.
- MOREIRA, D. R. **Desenvolvimento de adsorventes naturais para tratamento de efluentes de galvanoplastia**. Mestrado (Dissertação), Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2010.
- MOREIRA, R. F. P.; HUMBERTO, J. J., SOARES, J. L. **Isotermas de Adsorção de Corantes sobre Carvão Ativado**. II Encontro Brasileiro de Adsorção – II EBA, Florianópolis–SC, 85-91, 2000.
- NASCIMENTO, T. C. F. do. **Tratamento biológico de solo impactado por resíduos oleosos provenientes do refino de petróleo**. 2013. 140 f. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.
- NEVES, A. L. A.; PEREIRA, L. G. R.; SANTOS, R. D. dos; VOLTOLINI, T. V.; ARAÚJO, G. G. L. de; MORAES, S. A. de; ARAGÃO, A. S. L. de; COSTA, C. T. F. **Plantio e uso da palma forrageira na alimentação de bovinos no semiárido brasileiro**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2010. 7 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 62). Disponível em: <www.ainfo.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: Abril de 2017.
- OFFICE OF UNDERGROUND STORAGE TANKS, **How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tanks Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers**. EPA 510-B-95-007, 1995.
- OLIVEIRA, R. M.; ALVES, F. Diversidade microbiana utilizada na biorremediação de solos contaminados por petróleo e derivados. **Tese (Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas)** – Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, Belo Horizonte, 2013.
- ORANTAS, M. C. **Avaliação em microcosmo da degradação de borra oleosa no solo**. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
- ÖZACAR, M. SENGİL, I.A.; TÜRKMENLER, H. Equilibrium and kinetic data, and adsorption mechanism for adsorption of lead onto valonia tannin resin. **Chemical Engineering Journal**, v. 143, n. 1-3, p.32-42, set. 2008.
- PAIVA, I. D. A. M. Potencial do uso da compostagem como meio de diminuição da toxicidade de derivados do petróleo. Graduação (Monografia), Universidade Federal de Campina Grande, 2017.
- PEDROTI, G. I. **Ensaios de biodegradabilidade aeróbia de hidrocarbonetos derivados do petróleo em solos**. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.
- PEREIRA JUNIOR, N.; GOMES, E. de B.; SORIANO, A. U. **Biodegradação de hidrocarbonetos**. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009.
- PETROBRAS. **Mercado brasileiro é destaque de palestra no IBEF**, 2011. Disponível em: <<http://fatosedados.blogspotrobras.com.br/2011/09/14/barbassa-destaca-importancia-do-mercado-brasileiro-para-a-companhia/>>. Acesso em: Novembro de 2017.
- POLIDO, W. **Seguros para riscos ambientais 1**, Ambiente Legal, Disponível em: <<http://www.ambientelegal.com.br/seguros-para-riscos-ambientais1>>, Acesso em: Janeiro de 2018.

- PORPINO, K. K. P. **Biossorção de ferro (II) por casca de caranguejo *ucides cordatus***, Dissertação (Mestrado), 90p, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- PORTO, D. **Investigação da contaminação do solo e das águas subterrâneas por óleo combustível: estudo de caso em Riberão Preto (SP) - empresa Viação Garcia**. Graduação (Monografia), UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, 2014.
- PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo**. São Paulo: Nobel, 2002.
- RODRIGUES, S.; DUARTE, A. C. **Poluição do solo: revisão generalista dos principais problemas**. In: CASTRO, A.; DUARTE, A.; SANTOS, T. O ambiente e a saúde. Lisboa, p. 136-176, 2003.
- RIBEIRO, T. M. H. **Sorção de Petróleo na Biomassa Seca do Macrófito Aquático *Salvinia herzogii* dela sota**. 2003. Disponível em: <<http://www.lapes.ufrgs.br/teses>>. Acesso em: Março de 2018.
- RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption processes**. New York: J. Wiley, 1984.
- SÁNCHEZ, L. E. **Revitalização de áreas contaminadas**. In: COELHO, R.; MARKER, A.; MOERI, E. (Ed.). Remediação e revitalização de áreas contaminadas. São Paulo: Signus Editora, 2004. p. 79-90. 2004.
- SANTANA, W. J. **Produção de biossurfactante por candidalipolytica (ucp 0988) utilizando óleo de pequi como fonte alternativa de carbono**. 2012. 137 pg.. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.
- SANTOS, R. D. M., LEITE, S. G. F., SOBRAL, L. G. S. E RIZZO, A. C. D. L. **Remediação de solo contaminado por petróleo em biopilhas – escala piloto**. 4º PDPETRO, Anais, Campinas, SP: 2007.
- SCHEER, A. P.; MEIEN, O. F.; VASCO DE TOLEDO, E. C.; MACIEL, F. R.; WOLF, M. M. **A Adsorção de Misturas Líquidas e Seu Tratamento por Métodos Numéricos**. III Encontro Brasileiro de Adsorção - III EBA, Recife-PE, 2002.
- SEABRA, P. N. C. **Aplicação de biopilha na biorremediação de solos argilosos contaminados com petróleo**. Doutorado (Tese), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.
- SILVA, A. T. **Influência da temperatura na adsorção do corante azul de metileno utilizando serragem de *Pinus elliottii* como um adsorvente alternativo: um modelo para o tratamento de efluentes têxteis**. Graduação (Monografia), Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.
- SILVA, C.C.F. da; SANTOS, L.C. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 7, n. 10, p. 1-13, 2006. Disponível em: <www.veterinaria.org>. Acesso em: Agosto de 2016.
- SILVA, E. P. **Avaliação Preliminar do Potencial de Aplicação da Tecnologia de Biopilhas para a Biorremediação do Solo de Guamaré-RN**. Mestrado (Dissertação), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004.
- SILVA, R. P. **Remoção de metais pesados em efluentes sintéticos utilizando vermiculita como adsorvente**. Doutorado (Tese), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010.

- SILVEIRA, B. D. A. **Recuperação de solo contaminado com petróleo pela técnica da bioestimulação**. Mestrado (Dissertação), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2016.
- SIMÕES, D. A.; SANTOS, D. C. dos; DIAS, F. M. **Introdução da palma forrageira no Brasil**. IN: MENEZES, R. S. C.; SIMÕES, D. A.; SAMPAIO, E. V. S. B. (Ed.). In: A palma no Nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso, p. 13-26, Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2005.
- SINGH, A.; VAN HAMME, J.D.; WARD, O.P. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 99-121, 2007.
- SOBRINHO, H. B. S. **Utilização de resíduos industriais como substratos de baixo custo para produção de biossurfactantes por *Candida sphaerica***. 99 f. Mestrado (Dissertação), Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2007.
- SOUZA, L. S. B. de; MOURA, M. S. B. de; SILVA, T. G. F. da; SOARES, J. M.; CARMO, J. F. A. do; BRANDÃO, E. O. **Indicadores climáticos para o zoneamento agrícola da palma forrageira (*Opuntia sp.*)**. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 3, Petrolina. Anais, Petrolina: Embrapa SemiÁrido, Documentos, 210, p. 23-28, 2008.
- TAM, N. F. Y; TIQUIA, S. **Assessing toxicity of spent pig litter using a seed germination technique**. **Resources, Conservation and Recycling**, 11, 261-274, 1994.
- TEIXEIRA, J. C.; EVANGELISTA, A. R.; PEREZ, J. R. O.; TRINDADE, I. A. C. M.; MORON, I. R. Cinética da digestão ruminal da palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* (L.) Lyons- *Cactáceae*) em bovinos e caprinos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 1, p. 179- 186, 1999.
- TONINI, R. M. C. W.; REZENDE, C. E. de; GRATIVOL, A. D. Bacterial Biodegradation of Petroleum and Oil Compounds. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.78-87, GN1 Genesis Network. DOI: 10.5935/1984-6835.20110013, 2011.
- TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 10.ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2012.
- VASCONCELOS, A. G. V. de; LIRA, M. de A.; CAVALCANTI, V. L. B.; SANTOS, M. V. F. dos WILLADINO, L. Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmin (*Dactylopius sp*), **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 5, p. 827-831, 2009. Disponível em: <www.revista.sbz.org.br>. Acesso em: Março de 2017.
- ZUCCONI, F.; PERA, A.; FORTE, M. **Evaluating toxicity of immature compost**. *Biocycle*, March/ April: 54-57, 1981.
- <www.revistagloborural.globo.com>, Acesso em: Março de 2017.
- <www.ruralcentro.uol.com.br>, Acesso em: Março de 2017.
- <www.milkpoint.com.br>, Acesso em: Março de 2017.
- < www3.uma.pt, 2017>, Acesso em: Janeiro de 2018.