

TORTA DE FILTRO DE CANA-DE-AÇÚCAR E NPK NA
BIORREMEDIAÇÃO EM SOLOS CONTAMINADOS COM ÓLEO
DIESEL

FERNANDO REYNEL FUNDORA TELLECHEA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
NOVEMBRO – 2015

TORTA DE FILTRO DE CANA-DE-AÇÚCAR E NPK NA
BIORREMEDIAÇÃO EM SOLOS CONTAMINADOS COM ÓLEO
DIESEL

FERNANDO REYNEL FUNDORA TELLECHEA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de doutor em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Marco Antonio Martins
Coorientador: Prof. Alexsandro Araujo da Silva

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
NOVEMBRO – 2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 211/2015

Tellechea, Fernando Reynel Fundora

Torta de filtro de cana-de-açúcar e NPK na biorremediação em solos contaminados com óleo diesel / Fernando Reynel Fundora Tellechea. – 2015.

76 f. : il.

Orientador: Marco Antonio Martins

Tese (Doutorado - Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2015.

Bibliografia: f. 62 – 71.

1. Petróleo 2. Respiração microbiana 3. Torta de filtro de cana de açúcar 4. Microcosmos 5. Reatores de cerâmica I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 631.46

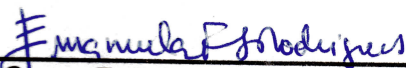
TORTA DE FILTRO DE CANA-DE-AÇÚCAR E NPK NA
BIORREMEDIAÇÃO EM SOLOS CONTAMINADOS COM ÓLEO
DIESEL

FERNANDO REYNEL FUNDORA TELLECHEA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de doutor em Produção Vegetal.

Aprovado em: 11 de Novembro de 2015.

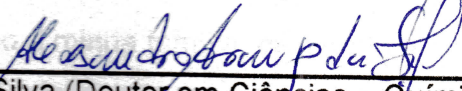
Comissão Examinadora:




Profa. Emanuela Forestieri da Gama-Robrigues (PhD., Ciência do Solo) – UENF



Profa. Meire Leis Leal Martins (PhD., Microbiologia e Biotecnologia) – UENF



Prof. Alexandre Araújo da Silva (Doutor em Ciências – Química) - UERJ



Prof. Marco Antonio Martins (PhD., Microbiologia do Solo) - UENF

“Y si es interesante la geografía, porque es el escenario donde vive el hombre, el hombre tiene que ser necesariamente más interesante todavía que la propia naturaleza donde vive.”

Fidel Castro

“Quando curamos a terra, curamos a nós mesmos”

David Orr

Dedico este trabalho à minha família, pela compreensão do tempo em que estive ausente e também à minha mãe (*in memoriam*), pessoa muito importante da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A meus irmãos, sobrinhos, tias, primos (as), pelo carinho e pela compreensão nos momentos em que precisei estar ausente;

Aos meus cunhados e a família de cada um deles, Sergio e Francisco, por toda ajuda em minha caminhada para conseguir realizar meus sonhos;

Ao Professor Marco Antônio pela orientação, ajuda, oportunidade e confiança em desenvolver todos os trabalhos durante o meu Mestrado e Doutorado;

Ao Professor Alexsandro Araujo da Silva pela coorientação durante a execução das análises e dos resultados cromatográficos deste trabalho;

À técnica Andréia pela ajuda durante os experimentos, pelo companheirismo e pela linda amizade. Aos demais técnicos de Laboratórios: Kátia, Vanilda, Ederaldo e Acácio, minha gratidão pela ajuda durante as análises. Ao funcionário de apoio de campo Sr. Zélio pela ajuda na coleta do solo e pelo apoio durante o experimento;

Aos companheiros de Laboratório de Microbiologia do Solo da UENF, Rafael, Wagner, Vanessa, Sumaya, Letícia, Élide e Gustavo (*in memoriam*) pela ajuda durante a execução dos experimentos e durante a preparação de aulas práticas de Microbiologia Agrícola. Em especial à minha amiga: Késsia, pela sua grande participação em meu mestrado e doutorado, assim como a Heloisa por seu companheirismo e ajuda no aprimoramento da escrita, que foram imprescindíveis para a concretização deste trabalho;

Aos amigos da Central Analítica Fernanda Coutinho - Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) - Prof^a Monica, técnicas do laboratório e Jeremias pela ajuda na análise cromatográfica;

A Usina COAGRO, (Cooperativa Agroindustrial do Estado do Rio de Janeiro LTDA) pelo fornecimento da torta de filtro;

Aos técnicos do INEA pelo fornecimento e pela ajuda com o solo contaminado;

Aos professores das disciplinas de Microbiologia de solos, Estatísticas, Matéria Orgânica, Mineralogia e Química de Superfície do Solo, Fisiologia do Desenvolvimento e Relações Hídricas, Nutrição Mineral de Plantas, Física do Solo, pelos conhecimentos transmitidos;

A Alcimar e família pela convivência durante estes anos de doutorado;

A todos, amigas e amigos que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração deste trabalho e agradável convívio;

E, por fim, minha maior gratidão vai para a minha esposa Martha, aos meus filhos, netinho e nora, pelo apoio de sempre, apesar do sofrimento com a minha ausência por todos estes anos.

OBRIGADO!

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Petróleo: origem e composição	4
2.2. Óleo diesel composição obtenção	5
2.3. Biorremediação	7
2.4. Tecnologias de biorremediação	9
2.5. Compostagem	14
2.6. Cana-de-açúcar e torta de filtro	15
2.7. Microrganismos e fatores que limitam a biodegradação	17
3. TRABALHOS.....	20
3.1. Biorremediação “ex situ” de um solo tropical contaminado por derramamento de óleo diesel	20
RESUMO.....	20
ABSTRACT.....	22
INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÃO.....	33

LITERATURA CITADA.....	34
3.2. Biorremediação de solo contaminado com óleo diesel em reatores de cerâmica	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	41
INTRODUÇÃO.....	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	43
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	60
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
APÊNDICE.....	72

RESUMO

FERNANDO REYNEL FUNDORA TELLECHEA., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Outubro de 2015. Torta de filtro de cana-de-açúcar na biorremediação em solos contaminados com óleo diesel. Orientador: Marco Antonio Martins. Coorientador: Prof. Alexsandro Araujo da Silva.

O petróleo é a principal fonte de energia utilizada atualmente, e como consequência, a liberação de hidrocarbonetos no ambiente é crescente, devido à forte industrialização e o desenvolvimento econômico dos países. Diante desse cenário, o diesel, derivado do petróleo, tem sido um agente de contaminação frequentemente relatado, e a sua biorremediação tem se mostrado uma alternativa viável para remediar áreas contaminadas mediante uso de agentes biológicos. No Setor de Microbiologia do Solo (LSOL/UENF), em parceria com a Central Analítica Fernanda Coutinho - Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), foram realizados dois experimentos objetivando avaliar os efeitos da torta de filtro, derivada do processo de filtração do caldo da cana-de-açúcar, em conjunto com nutrientes NPK para o processo de biorremediação de um solo contaminado por óleo diesel proveniente de um derramamento do combustível ocorrido na BR 101, trecho Rio - Campos. O experimento I foi realizado em microcosmos, utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. Para a variável liberação de CO₂ (respiração microbiana do solo) utilizou-se o esquema fatorial 5x4, sendo 5

tratamentos: solo sem contaminação (T1); solo contaminado com óleo diesel; (T2); solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro (T3); solo contaminado com óleo diesel mais NPK (T4); e, solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro e NPK (T5); e, 4 períodos de avaliação da somatória de CO₂ acumulado: 1, 60, 120 e 180 dias após coleta do solo, com 3 repetições. Entretanto, para as variáveis carbono orgânico total (COT) e dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) remanescente no solo, utilizou-se o esquema fatorial 5x2, sendo os mesmos tratamentos acima e 2 períodos de avaliação: 1 e 180 dias após início do experimento, com 3 repetições. Após 180 dias de condução experimental em laboratório, foram analisadas as variáveis: liberação de CO₂, carbono orgânico total (COT) e os hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) remanescentes no solo.

O experimento II foi realizado em reatores de cerâmica em casa de vegetação, utilizando-se o esquema fatorial 5x4, sendo 5 tratamentos: (T1); (T2); (T3); (T4); e (T5); 4 períodos de avaliação: 1, 60, 120 e 180 dias após coleta do solo, com 4 repetições. O experimento foi avaliado sob duas condições: com e sem aeração forçada. No experimento II foram analisadas as seguintes variáveis: Unidades Formadoras de Colônias (UFC), Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K) e Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP) remanescente no solo.

No experimento I foi observado que a adição de torta de filtro e adubação com NPK influenciaram significativamente as variáveis analisadas. Nos tratamentos com a presença de torta de filtro a liberação de CO₂ foi significativamente maior quando comparada aos demais tratamentos. Observou-se que aos 180 dias ocorreu uma remoção significativa de HTP do solo, onde foram obtidos valores percentuais de remoção de 61, 95, 75 e 88% para os tratamentos T2, T3, T4 e T5, respectivamente. No experimento II, observou-se que a torta de filtro e adubação com NPK influenciaram significativamente as variáveis pH do solo, COT, N, P e K. Aos 180 dias foi observado que a aeração aumentou a remoção de HTP do solo. Nos biorreatores com aeração observou-se uma remoção de 51,4; 88,2; 63,5; 96,3%, respectivamente, para os tratamentos de atenuação natural (T2), bioaumento (T3) bioestímulo (T4) e combinação bioestímulo/bioaumento (T5), quando comparados ao período inicial do experimento. Por outro lado, nos biorreatores sem aeração

forçada foram obtidos valores percentuais de remoção de 59,9; 82,1; 74,1 e 86,9%. Os resultados evidenciaram que a torta de filtro, bem como, o uso de biorreatores com aeração forçada potencializou o aumento da atividade microbiana, e, portanto, contribuiu para o aumento da biodegradação do óleo diesel.

ABSTRACT

Oil is the main source of energy currently used, and consequently, the release of hydrocarbons into the environment is growing due to strong industrialization and economic development of countries. In this scenario, the diesel derived from petroleum, has been a frequently reported contamination agent, and its bioremediation has proven to be a viable alternative to remediate contaminated areas through the use of biological agents. In Soil Microbiology Department (LSOL / UENF), in partnership with Analytical Center Fernanda Coutinho - Chemistry Institute of the Universidade do Rio de Janeiro (UERJ), two experiments were conducted to evaluate the effects of filter cake, derived the filtration process the juice of sugarcane, together with NPK nutrients for bioremediation process for a soil contaminated by diesel oil from a spill of fuel occurred in the BR 101, Rio - Campos stretch. The first experiment was carried out in microcosm, using the completely randomized design. For variable release of CO₂ (microbial soil respiration) used the 5x4 factorial design, with five treatments: soil without contamination (T1); soil contaminated with diesel oil; (T2); soil contaminated with diesel oil plus filter cake (T3); soil contaminated with diesel fuel plus NPK (T4); and soil contaminated with plus pie diesel oil filter and NPK (T5); and 4 periods of evaluation of CO₂ accumulated sum: 1, 60, 120 and 180 days after the soil sampling, with 3 replications. However, for total organic carbon variables (TOC) and total petroleum hydrocarbons (HTP) remaining on the ground, we used the factorial scheme 5x2, with the same treatments above and two evaluation periods: 1 and 180 days after the beginning of the experiment with 3 repetitions. After 180 days of trial conduction in laboratory variables were analyzed: release of CO₂, total organic carbon (TOC) and total petroleum hydrocarbons (HTP) remaining in the soil.

The second experiment was carried out in ceramic reactors in a greenhouse, using the 5x4 factorial scheme, with five treatments: (T1); (T2); (T3); (T4); and (T5); 4 evaluation periods: 1, 60, 120 and 180 days after the soil sampling, with four repetitions. The experiment was evaluated under two conditions: with and without forced aeration. In the second experiment the following variables were analyzed: Forming Colonies Units (UFC), Total Organic Carbon (TOC), nitrogen (N), phosphorus (P), Potassium (K) and Oil Total Oil (HTP) remaining in the soil. In the first experiment it was observed that the addition of filter cake and NPK

fertilization significantly influenced the analyzed variables. In the treatments with the presence of filter cake the release of CO₂ was significantly higher compared to the other treatments. It was observed that after 180 days there was a significant removal of soil HTP, where values were obtained percentage removal of 61, 95, 75 and 88% for treatments T2, T3, T4 and T5, respectively. In the second experiment, it was observed that the filter cake and NPK fertilization significantly influenced the variable soil pH, TOC, N, P and K. At 180 days was observed that the aeration increased the removal of soil HTP. In bioreactors with sandblasting observed a removal of 51.4; 88.2; 63.5; 96.3% respectively for the natural attenuation treatments (T2), bioaugmentation (T3) biostimulation (T4) and combination biostimulation / bioaugmentation (T5) compared to the initial period of the experiment. On the other hand, in the bioreactors without forced aeration values were obtained 59.9 percent removal; 82.1; 74.1 and 86.9%. The results showed that the filter cake, as well as the use of bioreactors with forced aeration potentiated the increased microbial activity, and therefore contributed to the increased diesel oil biodegradation.

1. INTRODUÇÃO

As indústrias petrolíferas são reconhecidas mundialmente pelo grande potencial de contaminação de solo, água, ar, e uma série de impactos ambientais decorrentes das atividades da mesma. Estas indústrias são responsáveis pela geração de quantidades significativas de resíduos sólidos ao longo da cadeia produtiva (exploração, produção, transporte, processamento e distribuição) (ANP, 2015).

Os impactos ambientais envolvendo petróleo e derivados são principalmente devido a vazamentos acidentais e a derrames em tanques de armazenagem e bombas (Calijuru et al., 2013).

Dentre os derivados do petróleo, o óleo diesel é o produto mais abundante obtido a partir do refino do petróleo bruto. (ANP, 2015). Sua composição apresenta, basicamente, hidrocarbonetos (compostos orgânicos que contêm átomos de carbono e hidrogênio) e, em baixas concentrações, enxofre, nitrogênio e oxigênio. É um produto inflamável, com nível médio de toxicidade, pouco volátil, sem material em suspensão, límpido, com cheiro forte e característico (Gad, 2005).

O Brasil produziu 2,469 milhões de barris de petróleo por dia em janeiro de 2015, totalizando, aproximadamente, o recorde de 3.077 milhões de barris de óleo equivalente por dia (boe/d). Dentre todos os estados brasileiros produtores, o Rio de Janeiro concentra a maior parte da produção (77,1%), produzindo o valor estimado de 1.663.942 barris de petróleo por dia (bbl/d) e 1.890.006 boe/d (ANP, 2015).

Diante da crescente contaminação de solo através do petróleo e seus derivados tornaram-se um foco de pesquisa relevante (Reginatto et al., 2011; Aguiar et al., 2012; Leal et al., 2012), tendo em vista que grandes quantidades de solo e da água têm sido contaminadas com hidrocarbonetos totais de petróleo (TPHs), incluindo o óleo diesel e produtos petroquímicos, representando uma ameaça para os ecossistemas aquáticos e terrestres (Almeida et al., 2013; Ugochukwu et al., 2013; Jagtap et al., 2014). Em decorrência do aumento do número de eventos de vazamento descontrolados ou ilegais de petróleo e seus derivados, muitos países atentam para a necessidade de desenvolverem tecnologias e medidas de intervenção e remediação de solos e águas contaminadas. Estas tecnologias estão baseadas em processos biológicos, físicos e químicos, a fim de reduzir a contaminação a um nível seguro e aceitável (Khan et al., 2004). Existe uma busca por tecnologias ambientais de custo acessíveis, de fácil operação e de riscos reduzidos (Marques, 2007). A escolha pela tecnologia a ser aplicada consiste na ação custo/benefício, o que muitas vezes avalia a biorremediação como uma tecnologia viável, por apresentar valor de tratamento inferior aos físico-químicos já existentes (Trinidade, 2002).

A biorremediação técnica é ecologicamente aceitável para mitigar a contaminação de solos de forma segura e justificável, acelerando de forma natural a degradação de compostos orgânicos, em especial os hidrocarbonetos do petróleo, resultando ao final CO₂ e água (Trindade, 2005, Molina- Barahona, 2004; Nakagawa e Andréa, 2006; Silva, 2010; Chagas-Spinelli, et al., 2012).

As principais técnicas de tratamentos biológicos (*landfarming*, compostagem, biopilhas e biorreatores). Podem ser realizados *in-situ*, ou seja, no próprio sítio contaminado (com ou sem remoção do solo) ou *ex-situ*, onde o solo é removido, tratado em estações de tratamento apropriadas e repostado no local de origem ou em outro local previamente definido, dependendo de algumas condições ambientais como, temperatura, presença de oxigênio e nutrientes, e pH (Coelho, 2005). As combinações de resíduos agroindustriais e fertilizantes orgânicos com os macronutrientes nitrogênio e fósforo ativam a flora microbiana autóctone dos solos (Eweis et al. 1999; Sempre et al., 2001; Torres et al., 2011).

O nitrogênio é essencial na biossíntese de proteínas e ácidos nucleicos pelos microrganismos. O fósforo é um componente vital dos ácidos nucleicos, dos fosfolípidios que compõem as membranas celulares e também desempenha um papel central no processo de transferência de energia dentro da célula. Tonini et al, (2010). De esta maneira, o uso de nutrientes ricos em nitrogênio e fósforo pode acelerar ou estimular a biodegradação de óleo diesel.

Na safra 2014/2015 da região Centro-Sul do Brasil aponta para uma moagem de 571,34 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, produzindo aproximadamente 171,4 milhões de toneladas de torta de filtro. (ÚNICA, 2015).

Santos et al., (2012) apresentam a torta de filtro de cana-de-açúcar, um subproduto do processamento da indústria açucareira, constituída de uma mistura de bagaço moído e lodo da decantação, proveniente do processo de clarificação do caldo produzida na proporção de 20 a 40 quilos por tonelada de cana, apresentando, em média, 75% de umidade, utilizada como alternativa para manutenção da fertilidade do solo, capaz de aumentar a disponibilidade de nitrogênio, fósforo e cálcio, a capacidade de troca catiônica (CTC), diminuir os teores de Al trocável do solo, promove a redução da densidade aparente do solo e o aumento da porosidade total do solo; aumenta a atividade microbológica e adição de novos microrganismos, diversificando a flora e a microflora do solo e pode aumentar a capacidade de reter maiores quantidades de água. Mas, este subproduto oriundo da fabricação de álcool e açúcar pode ser uma fonte poluidora se usada de forma inadequada, Schneider et al. (2012). Por todas estas características é que se utilizou a torta de filtro como um estruturante neste trabalho.

Foi realizada uma etapa de investigação preliminar de caracterização do solo sem contaminação e contaminado, assim como da torta de filtro de cana-de-açúcar. Os experimentos de biodegradação envolveram duas etapas: ensaios em microcosmos e em reatores de cerâmica.

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho avaliou o potencial da utilização da torta de filtro de cana-de-açúcar e NPK no processo de biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, em microcosmos e reatores pilotos, na presença ou ausência de aeração forçada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Petróleo: Origem e Composição

Ao longo da história da Terra, grande quantidade de organismos animais e vegetais foi, lentamente, se depositando no fundo dos lagos e mares. Pela ação do calor e da pressão, provocada pelo seguido empilhamento das camadas geológicas, estes depósitos orgânicos foram transformados, face às reações termoquímicas, em petróleo (óleo cru e gás). A utilização mais intensa do petróleo começou por volta de 1847, quando um comerciante de Pittsburg (Pensilvânia, EUA) começou a engarrafá-lo e vendê-lo como lubrificante (Rizzo *et al.*, 2006).

O petróleo bruto possui em sua composição uma cadeia de hidrocarbonetos, cujas frações leves formam os gases e as frações pesadas do óleo cru. Por isto, o petróleo é definido como uma mistura complexa de hidrocarbonetos sólidos, líquidos e gasosos (Rizzo *et al.*, 2006).

A maior parte é constituída por alcanos e hidrocarbonetos aromáticos, e em pequena quantidade por compostos orgânicos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio, assim como baixas concentrações de compostos orgânicos metálicos, principalmente níquel e vanádio (Fetter 1993; Pedrozo *et al.*, 2002). A composição global do petróleo de acordo com (Zílio e Pinto, 2002) pode ser definida pelo teor de:

- hidrocarbonetos saturados, que compreendem alcanos de cadeia normal e ramificados (parafínicos) e cicloalcanos (naftênicos);

- hidrocarbonetos aromáticos, que incluem moléculas aromáticas puras, cicloalcanoaromáticos, (naftenoaromáticos) e, usualmente, compostos cíclicos de enxofre;
- resinas e asfaltenos, que são componentes policíclicos, de alto peso molecular, compreendendo átomos de nitrogênio, enxofre e oxigênio.

O petróleo é uma fonte energética que causa um dos maiores impactos ao longo de todo o seu ciclo, que vai desde a extração até o consumo final (como as emissões dos veículos e as atividades industriais) (Galdino et al., 2004).

A alta proporção de carbono e hidrogênio existente no petróleo mostra que os hidrocarbonetos podem variar de 50 – 98% de sua composição, sendo os seus principais constituintes (Galdino et al., 2004).

2.2. Óleo diesel composição/ obtenção

O óleo diesel é um combustível fóssil, derivado do petróleo, muito utilizado para movimentar máquinas de grande porte. O óleo diesel é o combustível mais usado no Brasil, provém da destilação do petróleo, e utilizado para gerar energia e movimentar motores de combustão interna e ignição por compressão (motores do ciclo diesel), tais como: trator, caminhão, automóveis de passeio, furgões, ônibus, caminhões, pequenas embarcações marítimas, locomotivas, navios, etc. (ANP, 2014).

Formado basicamente por hidrocarbonetos (compostos químicos constituídos por átomos de hidrogênio e carbono), também possui em sua composição uma pequena quantidade de oxigênio, nitrogênio e enxofre. O diesel é um líquido amarelado e viscoso, límpido, pouco volátil, de cheiro forte e marcante e com nível de toxicidade mediano (DEMEC, 2013). O diesel é um combustível mais “pesado” que a gasolina e sendo formado por cadeias carbônicas de 6 a 30 átomos, essas características também conferem menor volatilidade e menor solubilidade em água.

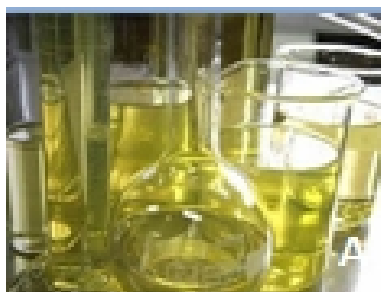


Figura 1. (A) óleo diesel normal S50 ou S 10; e (B) óleo diesel colorante vermelho (S500).

O óleo diesel S50, amarelo claro, não pode ter corante algum. É o combustível com o menor teor de enxofre comercializado atualmente no Brasil. Possui, no máximo, 50 mg kg^{-1} de enxofre. (Figura 1 A). Por outro lado, o óleo diesel S500, com coloração avermelhada, tem teor de enxofre máximo de 500 mg/kg . (Figura 1B).

O óleo diesel extra-aditivado contém aditivos com objetivo de manter limpo o sistema de alimentação de combustível, reduzir o desgaste dos bicos injetores, proporcionar maior proteção anticorrosiva a todo o sistema de alimentação, além de aumentar a vida útil do motor (ANP 2014).

O óleo diesel de referência é produzido, especialmente, para as companhias montadoras de veículos a diesel, que o utilizam como padrão para a homologação, ensaios de consumo, desempenho e teste de emissão.

O óleo diesel tipo "Metropolitano", como o próprio nome indica, é utilizado nas regiões com as maiores frotas em circulação, em geral nas capitais que requerem maior controle das emissões (ANP 2014).

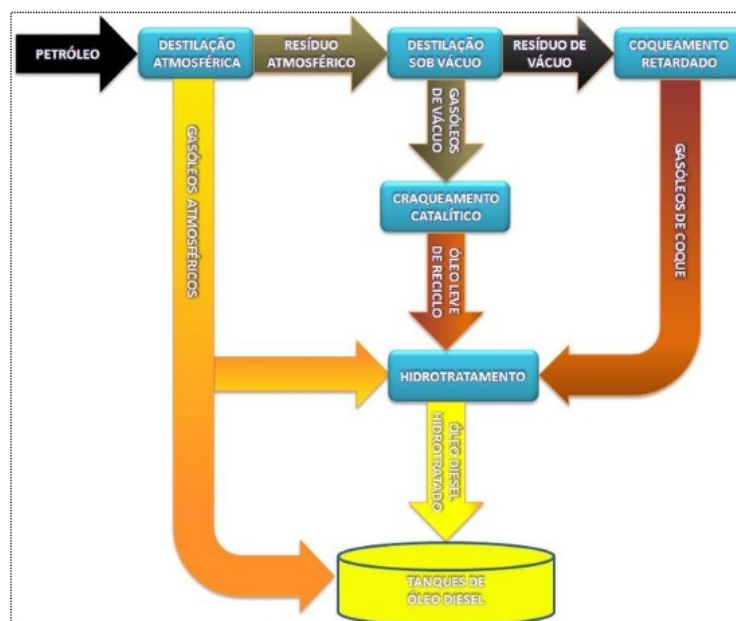


Figura 2. Esquema de refinação para produção de óleo diesel (Alves, 2006).

Na (Figura 2) é mostrado esquema genérico do processo de produção do óleo diesel. A partir do refino do petróleo obtém-se, pelos processos de destilação

atmosférica, craqueamento catalítico fluido às frações denominadas de gasóleos, básicas para a produção de óleo diesel (Alves, 2006). Para eliminação de contaminantes (compostos de enxofre e nitrogênio, principalmente) partes dos gasóleos é tratada quimicamente com hidrogênio no processo denominado hidrotratamento.

A produção de óleo diesel é feita a partir do refino do petróleo, pelo processo inicial de destilação fracionada, à temperatura entre 260°C e 340°C. (ANP, 2013).

O óleo diesel pode ser classificado de acordo com sua aplicação sendo elas:

- Extra Diesel Aditivado;
- De referência (também chamado diesel padrão);
- Tipo "Metropolitano" (máximo de 0,05% de enxofre);
- Tipo "Interior" (máximo 0,2% de enxofre).

De acordo com Mariano, (2008), a maior fração do óleo diesel não é caracterizada por que a maioria dos componentes não pode ser resolvida e eles aparecem nos cromatogramas como "picos", que é chamado de "*unresolved complex mixture* (UCM) ou Mistura Complexa não Resolvida (MCNR)", a qual presumidamente inclui alcanos cíclicos e ramificados e produtos de transformações polares. Os hidrocarbonetos resolvidos de petróleo são chamados de (TRH) sigla que advém de "*total resolvable hydrocarbons*" e o TPH é a soma do TRH e UCM. Os TRH são hidrocarbonetos não degradados, e eles aparecem como picos nos cromatogramas.

2.3. Biorremediação

Existem várias tecnologias utilizadas na remediação de ambientes contaminados com hidrocarbonetos (Tabela 1). No entanto, dentre as novas estratégias para conter o impacto ambiental causado por acidentes e derrames de combustíveis, a biorremediação desponta como a menos agressiva e mais adequada para a manutenção do equilíbrio ecológico (Leahy e Colwell, 1990; Wang, et al., 2012; Chagas-Spinelli, et al., 2012).

A biorremediação é uma técnica de despoluição de ambientes contaminados baseada na aceleração do processo natural de biodegradação de determinadas substâncias no meio ambiente. O processo depende de algumas condições

ambientais como, temperatura, presença de oxigênio e nutrientes, e pH (Coelho, 2005).

Em decorrência dos crescentes casos de contaminação do solo e águas subterrâneas é necessário buscar alternativas para minimizar os impactos causados pelo agente contaminante. Estas são tecnologias remediadoras que envolvem processos físicos, químicos e biológicos, de modo a atuar na retenção, imobilização, remoção ou destruição destes contaminantes (Khan et al., 2004; Costa, 2011). Essas tecnologias têm sido estudadas e discutidas por vários autores na literatura.

A técnica de biorremediação começou a ser mais utilizada com a finalidade de tratar solos e águas subterrâneas, por se tratar de uma tecnologia inovadora, viável e eficaz na remediação de ambientes contaminados com compostos orgânicos de difícil degradação (Oliveira *et al.*, 2007). Ela pode ser considerada uma tecnologia atrativa por conduzir a biotransformação parcial ou completa de muitos contaminantes orgânicos à biomassa microbiana e ao produto final inoculado estável (Haritash e Kaushik, 2009; Tonini *et al.*, 2010). A mesma tem sido considerada ambientalmente mais segura, menos onerosa e agressiva, e mais adequada para manter o equilíbrio ecológico quando comparada aos processos de tratamentos físico-químicos (Semple et al., 2001., Gaylarde *et al.*, 2005).

Tabela 1. Técnicas empregadas na remediação em solos contaminados com hidrocarbonetos.

Métodos	Técnicas
Químico - Físico	Co-processamento
	De sorção térmica
	Extração por solvente
	Solidificação
Biológico	Atenuação natural
	Bioestímulo
	Bioaumento
	Biopilhas
	Biorreatores
	Compostagem
	Landfarming
Fitorremediação	

Fonte: Van Hamme et al. (2003).

A biorremediação, técnica de limpeza usa microrganismos ou processos microbianos para reduzir a concentração e/ou a toxicidade de determinados poluentes acelerando o processo de biodegradação (Atlas, 1981). Portanto, pode-se considerar que a biorremediação é a otimização da biodegradação, sendo que esta aceleração pode ser de três principais tipos:

- Bioestímulo (adição de fertilizantes);
- Bioaumento (introdução de microrganismos);
- Biorremediação intrínseca (atenuação natural monitorada).

A utilização da técnica de biorremediação foi descoberta através de pesquisas que investigavam a degradação de hidrocarbonetos no ambiente natural, nas quais foram identificados alguns microrganismos capazes de usar tais hidrocarbonetos como fonte de carbono e energia (Zobell, 1946; Atlas, 1981). Entretanto, somente após a análise dos fatores bióticos e abióticos envolvidos no processo de biodegradação, a técnica passou a ser aplicada na limpeza de ambientes contaminados por petróleo e seus derivados (Lindstrom et al., 1991).

2.4 Tecnologias de biorremediação

As técnicas de biorremediação podem ser classificadas segundo o tratamento e a fase utilizada. De acordo com o local de tratamento, as técnicas de biorremediação são denominadas *in situ* e *ex situ*. Essas técnicas devem levar em conta os poluentes, o custo dos processos e, principalmente, a concentração final do contaminante, o término do tratamento, que deve ser como aceitável para o tipo de resíduo e para o uso futuro da área.

A biorremediação *in situ* é uma técnica que visa tratar o solo no local da contaminação utilizando-se de tecnologias que vão desde a introdução de oxigênio e nutrientes até a adição de organismos selecionados para cada tipo de contaminante.

Neste caso não há remoção de material contaminado evitando custos e distúrbios ambientais associados com o movimento de solos e águas. Os produtos finais de uma biorremediação efetiva são água e gás carbônico, que não apresentam toxicidade para os organismos vivos.

De acordo com parâmetros como origem dos microrganismos, adição ou não de nutrientes, a biorremediação *in situ* pode ser realizada através de três processos: biorremediação intrínseca, bioestímulo ou bioaumento (Atlas, 1997).

Em se tratando da biorremediação *ex situ* de solos contaminados por atividades petrolíferas existem várias técnicas de biorremediação: landfarming, biopilhas e diferentes tipos de biorreatores (Berger, 2005; Coelho, 2005). Os processos de biorremediação *ex situ* podem ser realizados com unidades móveis no local de descontaminação (on-site) ou em estações fixas de tratamento (off-site). Estas técnicas produzem resultados mais rápidos, são mais fáceis de controlar e apresentam uma maior versatilidade para o tratamento de grande número de contaminantes e tipos de solo. Todavia, requerem a remoção do solo contaminado antes da biorremediação acontecer, o que impreterivelmente eleva o custo do tratamento (Abbras, 2003).

As biopilhas são conhecidas como biocélulas ou pilhas compostas, sendo usadas para reduzir as concentrações de constituintes do petróleo em solos escavados, através do uso da biodegradação. Esta tecnologia envolve o empilhamento de camadas de solo e a estimulação da atividade microbiana do solo pela aeração e/ou adição de minerais, nutrientes e umidade (Jorgensen, et al., 2003).

A utilização do oxigênio tem como objetivo estimular o crescimento e a reprodução das bactérias aeróbicas que degradam os constituintes do petróleo. As biopilhas são aeradas forçando-se o ar a se mover por meio da injeção ou extração através de tubos perfurados colocados por toda a pilha.

Muitos contaminantes orgânicos têm sido reduzidos com a utilização de biorremediação através das biopilhas (Jorgensen et al., 2003). Esta tecnologia tem demonstrado funcionar com sucesso especialmente para os hidrocarbonetos petrolíferos, hidrocarbonetos poliaromáticos (HPA) e cloretos.

Landfarming é uma tecnologia de superfície de remediação do solo, onde o solo contaminado é escavado em camadas finas e espalhado sobre a superfície do terreno onde ocorre a estimulação da atividade microbiana aeróbica por intermédio da aeração e/ou adição de minerais, nutrientes e umidade (Azevedo, 2006). Esta técnica é empregada com elevada eficiência no tratamento de rejeitos industriais,

especialmente na indústria petroquímica. O rejeito é misturado ao solo por aração e dragagem e as condições físico-químicas do solo (água, aeração e nutrientes) são monitoradas para maximizar a atividade heterotrófica.

Esta foi a primeira técnica *ex situ* aplicada em grande escala e surgiu nos EUA. O processo pode ser aplicado com grande sucesso quando o material é contaminado com substâncias de fácil degradação aeróbica (Berger, 2005). Entretanto, a quantidade de resíduo a ser aplicada é determinada pelo índice de toxicidade, e desde que uma taxa desejável de atividade da camada reativa do solo esteja sendo mantida, o teor de metais só é controlado porque ele próprio pode interferir nesta atividade (Dal Forno, 2006).

Os biorreatores têm como diferencial o tratamento em um espaço confinado, o reator. A sua aplicação apresenta como maior vantagem o fácil controle de degradação biológica que permite um tratamento rápido e eficaz. As concentrações de oxigênio e de nutrientes, o teor de água, a temperatura e o pH são monitorados *in situ* e podem ser regulados de forma eficiente.

Basicamente diferenciam-se dois tipos de reatores: biorreatores do tipo a seco e biorreatores do tipo suspensão (slurry bioreactors) (Berger, 2005). Este último baseia-se na principal tecnologia eletrônica utilizada no processo de biodegradação: aeróbio (oxigênio molecular), anóxica (nitrito e de alguns metais cátions), anaeróbio (sulfatos-redutores, metanogênicos, fermentação), ou misto ou combinado de elétrons (González et al., 2008).

Nesta técnica, nutrientes e outros aditivos, tais como agentes neutralizantes, surfactantes, dispersantes, e co-metabólitos podem ser oferecidos para melhorar características e taxas de degradação microbiana. Microrganismos nativos podem ser utilizados ou acrescentados no biorreator ou podem ser adicionados continuamente para manter níveis adequados de biomassa.

O mecanismo fundamental do tratamento em biorreatores é a degradação natural por populações endógenas bioestimuladas e/ou microrganismos adicionados (bioaumento). Os biorreatores normalmente apresentam eficácia na remediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo (óleo, gasolina, diesel), sendo frequentemente utilizados na degradação de compostos altamente recalcitrantes tais como organoclorados e HPA (Lalli e Russel, 1996; Lima, 2004; Silva, 2010).

A remediação natural é um processo que se baseia em fatores naturais para remoção ou contenção de contaminantes. Este processo vem ganhando maior aceitação em locais contaminados por derramamentos de derivados de petróleo. Esta forma de aplicação refere-se aos processos físicos, químicos e biológicos que facilitam o processo de remediação de maneira global (Mariano, 2006).

Neste tipo de atenuação não é utilizada nenhuma ação de tratamento, ela está baseada basicamente no monitoramento do deslocamento. Dados obtidos em pesquisas de campo comprovam que a atenuação natural limita o deslocamento dos contaminantes e, portanto, diminui a contaminação ao meio ambiente (Corseuil e Marins, 1998).

A biodegradação se baseia na capacidade dos microrganismos autóctones degradarem contaminantes que eventualmente tenham sido derramados em subsuperfície sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação (Mariano, 2006).

Quando se trata dos hidrocarbonetos ocorre essencialmente uma reação de oxirredução, onde este é oxidado e um aceptor de elétrons é reduzido. Há vários compostos que podem agir como aceptores de elétrons, tais como o oxigênio (O_2), nitrato (NO_3^-), óxidos de ferro [$Fe(OH)_3$], sulfato (SO_4^{2-}), água (H_2O) e dióxido de carbono (CO_2).

A seguinte sequência de preferência de utilização desses aceptores foi observada por Corseuil e Alvarez (1996): oxigênio > nitrato > óxidos de ferro > sulfato > água.

A bioventilação é uma tecnologia que aumenta a biodegradação natural dos hidrocarbonetos de petróleo mediante o fornecimento de oxigênio aos microrganismos presentes no solo. Utiliza baixa vazão de ar, suficiente apenas para manter a atividade microbiana. Na maioria dos casos, o oxigênio é suprido pela injeção direta de ar na água e no solo contaminado, onde ocorre também a biodegradação dos compostos orgânicos voláteis que se movem lentamente através do solo biologicamente ativado (Azevedo, 2006).

Esta técnica tem um histórico em tratamento de degradação aeróbica de contaminantes, como os combustíveis. Na bioventilação aeróbica, solos contaminados com baixas concentrações de oxigênio são tratados através do

fornecimento de oxigênio para facilitar a biodegradação microbiana aeróbia. O oxigênio é normalmente introduzido pela injeção de ar em poços que empurram o ar do subsolo (EPA, 2006). Além disso, são utilizados, principalmente, para tratar a biodegradação aeróbia de contaminantes, como os compostos orgânicos voláteis e hidrocarbonetos.

O bioaumento ocorre pela adição de microrganismos específicos em regiões impactadas e adaptados em laboratório às condições ambientais. Ao usar essa técnica, faz-se a avaliação dos microrganismos presentes no ambiente, identificando-se os degradadores de óleo. Em seguida, através de biorreatores estimula-se em laboratório o crescimento microbiano das espécies de interesse e, posteriormente, injeta-se o “pool” de microrganismos no local contaminado com o objetivo de aumentar a população microbiana, responsável pela degradação do óleo (Rosa, 2003). Entretanto, a aplicação do método na descontaminação de ambientes costeiros não se mostrou suficientemente eficaz, devido à atuação de processos intempéricos, correntes marinhas, ventos, ondas, chuvas e competições microbianas, que influenciam diretamente na utilização dessa técnica (Atlas, 1981).

A adição de culturas mistas de microrganismos autóctones tem como objetivo aumentar a taxa e/ou a extensão da biodegradação, pois, normalmente, a população autóctone não está adaptada, e nem é capaz de degradar toda a gama de substratos presentes em uma mistura complexa como o petróleo (Souza, 2003). Culturas mistas são produzidas com microrganismos coletados de regiões contaminadas, mas para isso têm-se alguns critérios para a escolha destes microrganismos como a habilidade de degradar a maioria dos componentes do petróleo, boa estabilidade genética, elevado grau de atividade enzimática, capacidade de competir com os microrganismos autóctones, manutenção da viabilidade das células durante a estocagem, ausência de patogenicidade e crescimento rápido no meio ambiente natural. Após o isolamento, os microrganismos são bioaumentados em laboratório e estocados (Hoff, 1993; Souza, 2003).

O bioestímulo é a aceleração da reprodução microbiana e de suas atividades metabólicas, pela adição de oxigênio, água e nutrientes ao meio ambiente contaminado (Rosa, 2003). No bioestímulo de populações de microrganismos

autóctones com o objetivo de aumentar as taxas de biodegradação é frequentemente empregada em projetos de biorremediação (Atlas, 1997).

Para se utilizar o processo de bioestimulação, deve-se demonstrar que existe no local contaminado uma população natural de microrganismos capazes de biodegradar os contaminantes presentes e que as condições ambientais são insuficientes para se obter altas taxas de atividade microbiológica dessa população (Mariano, 2006).

Durante o bioestímulo existem fatores limitantes, como nutrientes e aceptores de elétrons, que estimulam o metabolismo e a velocidade de crescimento dos degradadores, o que acelera as taxas de biodegradação em condições ambientais favoráveis. A adição de nutrientes em ambientes contaminados permite a degradação mais rápida e eficaz dos hidrocarbonetos por parte dos microrganismos nativos (Vallejo et al., 2005).

2.5. Compostagem

O termo compostagem está associado ao processo de tratamento dos resíduos orgânicos, sejam eles de origem urbana, industrial, agrícola e/ou florestal. De acordo com Pereira Neto (1996), a compostagem é definida como um processo aeróbio controlado, desenvolvido por uma população diversificada de microrganismos, efetuada em duas fases distintas: a primeira quando ocorrem as reações bioquímicas mais intensas, predominantemente termofílicas; a segunda, ou fase de maturação, quando ocorre o processo de humificação. A compostagem é o processo de decomposição e estabilização biológica dos substratos orgânicos, onde ocorre o processo de oxidação biológica através do qual os microrganismos decompõem os compostos constituintes dos materiais liberando dióxido de carbono e vapor de água. Apesar de ser considerada um processo aeróbio, a compostagem é também referida como um processo biológico de decomposição aeróbia e anaeróbia, sendo realizada em sua quase totalidade por processos aeróbios (Kiehl, 1998).

No processo de compostagem a energia produzida pelos microrganismos promove um incremento de temperaturas. Quando essas se encontram superiores a 40°C começam a predominar os microrganismos termofílicos, responsáveis pela

decomposição acelerada da matéria orgânica. Nessa fase as temperaturas ultrapassam os 55°C, promovendo a eliminação dos microrganismos patogênicos para os humanos ou para as plantas. Acima dos 65 °C a maioria dos microrganismos será eliminada, incluindo aqueles que são responsáveis pela decomposição, necessitando assim, controlar a temperatura com umidade e aeração, mantendo em níveis desejados (Pereira Neto 1987).

De forma genérica, os materiais vegetais frescos e verdes tendem a ser mais ricos em nitrogênio do que os materiais secos e acastanhados. Nota-se que o verde resulta da clorofila que tem nitrogênio, enquanto que o castanho resulta da ausência de clorofila. No caso das folhas, a senescência (em que se verifica o amarelecimento das folhas devido à degradação da clorofila) está associada à remobilização do nitrogênio das folhas para outras partes da planta.

Os materiais utilizados para a compostagem podem ser divididos em duas classes: a dos materiais ricos em carbono e a dos ricos em nitrogênio.

Entre os primeiros pode considerar os materiais lenhosos como a casca, as folhas e os galhos de árvores, as aparas de madeira, as podas dos jardins, as palhas e os fenos, e o papel. Entre os últimos incluem-se as folhas verdes, estrumes animais, urinas, solo, restos de vegetais hortícolas, ervas, etc. também pode citar os resíduos da agroindústria de processamento de produtos de origem vegetal (frutas, oleaginosas, fibrosas, madeiras, etc.) e origem animal (laticínios, avicultura de corte, aquicultura, etc.) apresentam em suas composições diferentes constituintes, que abrem muitas oportunidades de agregação de valor pela aplicação do conceito de biorrefinaria.

2.6. Cana-de-açúcar e torta de filtro

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, voltada para a produção de açúcar, etanol e derivados. Na safra 2014/15 a área cultivada com cana-de-açúcar que foi colhida e destinada à atividade sucroalcooleira é de 9.004,5 mil hectares, distribuídas em todos os estados produtores, com uma produção total de cana-de-açúcar moída de 634,8 milhões de toneladas, a produção de açúcar foi de 35,56 milhões de toneladas e etanol de 28,66 bilhões de litros.

Gerando aproximadamente 19,04 milhões de toneladas de torta de filtro (CONAB, 2015).

A torta de filtro é composta por uma mistura de bagaço moído e lodo da decantação provenientes do processo de clarificação do açúcar ou filtração do caldo extraído das moendas e apresenta elevado teor de umidade (75%), matéria orgânica, macro e micronutrientes (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química aproximada de 100 gramas de torta de filtro.

NUTRIENTE	Nunes Junior (2008)	Santos et al. (2010)
C %	44,5 - 49,1	33,09
Matéria Orgânica g Kg⁻¹	77 - 85	57,25
N %	1,1 - 1,4	1
P g Kg⁻¹	10,4 - 25,5	3,3
K g Kg⁻¹	3,0 - 9,6	4,6
Mg g Kg⁻¹	1,5 - 5,6	2,5
S g Kg⁻¹	2,70 - 2,96	7,2
Ca g Kg⁻¹	40,7 - 54,6	9,1
Bm mg Kg⁻¹	40 - 80	124
Zn mg Kg⁻¹	150 - 200	282
FE mg Kg⁻¹	80 - 120	233
C/N	40,3 - 35,07	33

A composição da torta de filtro varia de acordo com diversos fatores: variedade de cana, tipo de solo, maturação da cana, processo de clarificação do caldo e outros.

No processamento da cana-de-açúcar são produzidos, para cada tonelada de cana moída, cerca de 30 kg de torta de filtro, 240 kg de bagaço de cana (Dematê, 1992).

Muitos dos subprodutos da cana-de-açúcar não são desperdiçados. O bagaço é utilizado para a produção de energia, enquanto que a vinhaça (rica em potássio) e a torta de filtro são utilizadas como fertilizantes nas próprias plantações de cana. (Vitti, 2006; Santos et al., 2012).

Entre os efeitos da torta de filtro sobre as propriedades químicas do solo, o aumento sobre disponibilidade de nitrogênio, fósforo e cálcio, a CTC e a diminuição nos teores de Al trocável, merecem destaque (Nunes Júnior, 2008; Santos et al., 2012; Barros et al., 2014).

Em trabalhos de (Eweis et al. 1999, Semple et al. 2001) a mistura de torta de filtro com os macronutrientes nitrogênio y fósforo, melhora a aeração, porosidade e ativa a flora microbiana nativa nos solos.

2.7. Microrganismos e fatores que limitam a biodegradação

São considerados como prova potencial para o monitoramento de hidrocarbonetos de solo contaminado a atividade respiratória do solo, a biomassa / contagem de microrganismos e bioluminescência microbiana (Van Beelen e Doelman, 1997). As contagens microbianas em geral, diminuem depois que o solo está contaminado, mas podem ser maiores se não for um processo de biodegradação do contaminante. A atividade respiratória tem sido principalmente utilizada para controlar a remoção de pesticidas, mas a remoção de hidrocarbonetos não pode ser representativa, porque o processo biológico pode ser devido à decomposição de outros compostos orgânicos presentes no solo. Esta atividade é medida, normalmente, através da respirometria por titulação do CO₂ gerada durante a respiração microbiana (Dawson et al., 2007; Terekhova, 2010). (Wang et al., 2010) trabalhando com solo tratado termicamente, contaminados com hidrocarbonetos, onde aplicou-se vários testes toxicológicos para avaliar o sucesso do seu tratamento, observaram que as concentrações residuais de 600 mg kg⁻¹ podem diminuir a respiração microbiana.

As variáveis ambientais podem afetar o processo de biodegradação em diferentes níveis, de forma a influenciar o crescimento e a atividade microbiana, além das propriedades físicas e químicas dos poluentes (Moreira e Siqueira, 2006). Dentre estas se destacam: a estrutura química e concentração do poluente, as condições ambientais e substrato, como pH, umidade, nutriente, teor de oxigênio dissolvido e potencial redox.

O solo contaminado normalmente é deficiente em nutrientes necessários ao crescimento e à manutenção dos microrganismos. O balanceamento dos principais macronutrientes (carbono, nitrogênio e fósforo) é primordial ao crescimento celular. Enquanto o N é constituinte de proteínas, ácidos nucleicos e componentes da parede celular, o P ocorre na forma de fosfatos inorgânicos e interfere, sobretudo, na geração de energia (adenosina trifosfato – ATP), da qual dependem para realizar as

sínteses celulares (Cunha, 2008). Diferentes relações C:N:P são sugeridas, entretanto, as mais utilizadas são 100:10:1 (Riser-Roberts, 1998). Tal relação foi deduzida a partir da decomposição, que é de 50% de C, 14% de N e 3% de P da massa seca, que resulta em uma relação de C:N:P de 50:14:3, expressa em miligramas (mg). Com a incorporação de 40% de C na biomassa, uma relação teórica seria 120:14:3 em mg ou 100:10 em molar (Moreira e Sequeira, 2006). A disponibilidade de oxigênio no solo depende das taxas de consumo realizadas pelos microrganismos, do tipo de solo, da saturação e da presença de outros aceptores que podem ser utilizados concomitantemente ao oxigênio (Leahy e Colwell, 1990). As reações biodegradativas também podem ocorrer em ambientes anóxicos e com subcondições anaeróbicas, permitindo que a redução e possível degradação ocorram tendo nitrato, sulfato e dióxido de carbono como aceptores de elétrons. Compostos como os hidrocarbonetos clorados, BTEX, o naftaleno e o acenaftaleno, também são degradados na ausência do oxigênio (Rosato, 1997; Oudit, 1998).

A biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo ocorre devido à reação de oxirredução, onde o hidrocarboneto é oxidado (doador de elétrons) e um aceptor de elétrons é reduzido. Vários compostos podem atuar como aceptores de elétrons, tais como oxigênio, nitratos, óxidos de ferro, sulfatos, água e dióxidos de carbono, sendo esta a sequência preferencial de utilização. Geralmente, a velocidade de oxidação dos hidrocarbonetos é mais elevada para os aceptores de elétrons com potencial de oxidação mais elevado (Corseuil e Alvarez, 1996).

A temperatura é um fator de extrema importância na promoção da atividade metabólica microbiana, pois pode influenciar tanto nas reações fisiológicas das células quanto nas características físico-químicas do ambiente (volume de solo potencial de oxirredução, pressão, tensão superficial, estrutura da água). A taxa de degradação enzimática e o metabolismo microbiano, de forma empírica, têm seus valores duplicados a cada aumento de até 10⁰C, a partir da qual se verifica efeito inibitório para a maioria dos micro-organismos. Em temperaturas elevadas, as proteínas microbianas podem ser irreversivelmente danificadas, provocando interrupções das funções da célula. Ressalta-se que os microrganismos termófilos capazes de suportar altas temperaturas estão presentes em quantidades inferiores quando comparados aos mesófilos, os quais atuam em temperatura ambiente

(Millioli, 2009). Segundo (Miroslav et al., 1996) a faixa de 30 a 40°C é considerada ideal na biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo.

Os microrganismos degradadores devem estar presentes em número suficiente para serem capazes de metabolizar os hidrocarbonetos e os produtos intermediários da degradação (Wise et al., 2003). Quando o contaminante encontra-se em altas concentrações no solo, a atividade microbiana pode ser inibida devido aos efeitos tóxicos sobre os microrganismos.

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

3. TRABALHOS

3.1. BIORREMEDIAÇÃO “EX SITU” DE UM SOLO TROPICAL CONTAMINADO POR DERRAMAMENTO DE ÓLEO DIESEL⁽¹⁾

Fernando Reynel Fundora Tellechea⁽²⁾; Marco Antônio Martins⁽³⁾; Alexsandro Araujo da Silva⁽⁴⁾;
Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues⁽⁵⁾; Meire Lelis Leal Martins⁽⁶⁾

RESUMO

O petróleo é reconhecido mundialmente pelo seu grande potencial de contaminação do solo, da água e do ar. Dentre seus derivados, o óleo diesel é o produto mais abundante obtido a partir do refino do petróleo bruto. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial da utilização da torta de filtro de cana-de-açúcar e da adubação com NPK na biorremediação de um solo contaminado com óleo diesel. O solo utilizado foi coletado, no mesmo dia, em uma área onde ocorreu um derramamento de óleo diesel, após um acidente com um caminhão tanque no transporte do produto. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. Para a variável liberação de CO₂ (respiração microbiana do solo) utilizou-se o esquema fatorial 5x4, sendo 5 tratamentos: solo sem contaminação (T1); solo contaminado com óleo diesel; (T2); solo contaminado com óleo diesel

mais torta de filtro (T3); solo contaminado com óleo diesel mais NPK (T4); e, solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro e NPK (T5); e, 4 períodos de avaliação da somatória de CO₂ acumulado: 1, 60, 120 e 180 dias após coleta do solo, com 3 repetições. Entretanto, para as variáveis carbono orgânico total (COT) e dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) remanescente no solo, utilizou-se o esquema fatorial 5x2, sendo os mesmos tratamentos acima e 2 períodos de avaliação: 1 e 180 após início do experimento, com 3 repetições. A adição de torta de filtro e adubação com NPK influenciaram significativamente as variáveis analisadas. Nos tratamentos com a presença de torta de filtro (T3 e T5) a liberação de CO₂ foi significativamente maior quando comparada aos demais tratamentos. Observou-se que aos 180 dias ocorreu uma remoção significativa de HTP do solo, onde foram obtidos valores percentuais de remoção de 61,95, 70,08, 68,18 e 75,88 para os tratamentos T2, T3, T4 e T5, respectivamente, quando comparados ao período inicial (tratamento T1). Os resultados demonstraram que a presença da torta de filtro aumentou significativamente a atividade microbiana, e, portanto, contribuiu para o aumento da biodegradação do óleo diesel.

Palavras-chave: petróleo, respiração microbiana, torta de filtro de cana-de-açúcar.

(1) Parte da tese do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

(2) Doutorando em Produção Vegetal, UENF/LSOL. Av. Alberto Lamego, 2.000. CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ). fundotell@gmail.com.

(3) Professor Titular, UENF/LSOL. Av. Alberto Lamego, 2.000. CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ); marco@uenf.br.

(4) Professor Adjunto IV, UERJ/IQ/Central Analítica Fernanda Coutinho. Rua São Francisco Xavier, 524, Maracanã. CEP 20550.900 Rio de Janeiro (RJ). alexandro.silva@uerj.br.

(5) Professora Associada, UENF/LSOL. Av. Alberto Lamego, 2.000. CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ). emanuela@uenf.br.

(6) Professora Associada, UENF/LTA. Av. Alberto Lamego, 2.000. CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ). meire@uenf.br.

EX SITU BIOREMEDIATION OF TROPICAL SOIL CONTAMINATED AFTER A DIESEL FUEL LEAK

ABSTRACT

This study evaluated the use of sugarcane filter cake and NPK fertilization in the bioremediation of a soil contaminated with diesel fuel using a completely randomized design. Five treatments (uncontaminated soil, T1; soil contaminated with diesel T2; soil contaminated with diesel and treated with 15% (wt) filter cake, T3; soil contaminated with diesel and treated with NPK fertilizer, T4; and soil contaminated with diesel and treated with 15% (wt) filter cake and NK fertilizer, T5) and four evaluation periods (1, 60, 120, and 180 days after the beginning of the experiment) were used according to a 4 x 5 factorial design to analyze CO₂ release. The variables total organic carbon (TOC) and total petroleum hydrocarbons (TPH) remaining in the soil were analyzed using a 5 x 2 factorial design, with the same treatments described above and two evaluation periods (1 and 180 days after the beginning of the experiment). In T3 and T5, CO₂ release was significantly higher, compared to the other treatments. Significant TPH removal was observed on day 180, when percent removal values were 61.95, 70.08, 68.18, and 75.88 in treatments T2, T3, T4, and T5, respectively, compared to the initial value (T1).

INTRODUÇÃO

As indústrias petrolíferas são responsáveis pela geração de quantidades significativas de resíduos sólidos ao longo da cadeia produtiva (exploração, produção, transporte, processamento e distribuição). Consequentemente, são reconhecidas mundialmente pelo grande potencial de contaminação de solo, água, ar, e pelos impactos ambientais decorrentes das suas atividades produtivas. Dentre os derivados do petróleo, o óleo diesel é o produto mais abundante obtido a partir do refino do petróleo bruto (ANP, 2015). Sua composição apresenta, basicamente, hidrocarbonetos (compostos orgânicos que contêm átomos de carbono e hidrogênio) e, em baixas concentrações, enxofre, nitrogênio e oxigênio. É um produto inflamável, com nível médio de toxicidade, pouco volátil, sem material em suspensão, límpido, com cheiro forte e característico (Gad, 2005).

O Brasil produziu 2,469 milhões de barris de petróleo por dia em janeiro de 2015, totalizando, aproximadamente, o recorde de 3.077 milhões de barris de óleo equivalente por dia (boe/d). Dentre todos os estados brasileiros produtores, o Rio de Janeiro concentra a maior parte da produção (77,1%), produzindo o valor estimado de 1.663.942 barris de petróleo por dia (bbl/d) e 1.890.006 boe/d (ANP, 2015).

O transporte de derivados do petróleo, gasolina e óleo diesel, é realizado no país principalmente por meio rodoviário. Dessa forma, é comum a ocorrência de acidentes ao longo das rodovias com caminhões tanques, que provocam desastres ambientais que geralmente contaminam o solo e mananciais de água. Também é comum ocorrer vazamentos em tanques de combustíveis de postos localizados nos perímetros urbanos, causando contaminações do solo e redes de esgotos e cursos de água. Diante da crescente contaminação de grandes quantidades de solo e de água com hidrocarbonetos totais de petróleo (TPHs), incluindo o óleo diesel e produtos petroquímicos é crescente o interesse em estudos nesta área (Reginatto, et al., 2011; Aguiar et al., 2012; Leal et al., 2012), uma vez que representam uma ameaça para os ecossistemas aquáticos e terrestres (Almeida et al., 2013., Ugochukwu et al., 2013., Jagtap et al., 2014).

Em decorrência do aumento do número de acidentes ambientais ocorridos pelas contaminações de petróleo e seus derivados, muitos países atentam para a necessidade de desenvolver tecnologias e medidas de intervenção e remediação para áreas contaminadas. Estas tecnologias estão baseadas em processos biológicos, físicos e químicos e visam reduzir a contaminação a um nível seguro e aceitável. Tecnologias capazes de remediar solos impactados por hidrocarbonetos derivados do petróleo de uma forma ambientalmente responsável e de baixo custo têm sido constantemente buscadas pelas empresas. A biorremediação é uma técnica ecologicamente aceitável para mitigar a contaminação de solos de forma segura e justificável, acelerando de forma natural a degradação de compostos orgânicos, em especial os hidrocarbonetos do petróleo, resultando ao final CO₂ e água (Trindade, 2005; Molina-Barahona, 2004; Almeida et al., 2010). Todavia, a sua aplicação na recuperação de solos contaminados por petróleo e seus derivados no Brasil ainda é um grande desafio.

A combinação de compostos orgânicos e fertilizantes com os macronutrientes nitrogênio e fósforo ativa a flora microbiana autóctone dos solos (Eweis et al. 1999, Sempre et al., 2001, Torres et al., 2011). O nitrogênio é essencial na biossíntese de proteínas e ácidos nucleicos pelos microrganismos. O fósforo é um componente vital dos ácidos nucleicos, dos fosfolípidios que compõem as membranas celulares e também desempenha um papel central no processo de transferência de energia dentro da célula (Tonini et al., 2010). O uso de nutrientes ricos em nitrogênio e fósforo pode contribuir para acelerar ou estimular a biodegradação de óleo diesel (Almeida et al., 2010; Lladó, et al., 2012), tendo em vista a relação C:N e C:P do óleo diesel ser elevada. De acordo com Bento et al. (2005), a relação C:N:P ideal de nutrientes para que ocorra a biodegradação de combustíveis é de 70:5:1.

A torta de filtro é um subproduto produzido durante o processamento da cana-de-açúcar. É composta por uma mistura de bagaço moído e lodo da decantação, ambos provenientes do processo de clarificação do açúcar ou filtração do caldo extraído das moendas. Ela apresenta elevado teor de umidade (75%), matéria orgânica, fósforo, cálcio, magnésio e nitrogênio, aumentando a atividade microbológica além da adição de novos micro-organismos, diversificando a flora e a microflora do solo (Santos et al., 2012). É um subproduto produzido em grandes quantidades na região

Norte Fluminense que também pode gerar problemas ambientais. Este subproduto oriundo da fabricação de álcool e açúcar pode ser uma fonte poluidora se usado de forma inadequada, podendo causar danos ambientais graves contaminando águas e solos (Schneider, et al 2012). Por outro lado, a sua utilização como bioestimulante pode acelerar a dinâmica do processo de biorremediação.

O presente estudo tem como objetivo avaliar o potencial da utilização da torta de filtro de cana-de-açúcar e da adubação com NPK na biorremediação de um solo contaminado com óleo diesel.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) (Latitude= 21° 19' 23"; Longitude = 41° 10' 40" W; Altitude= 14 m), em Campos dos Goytacazes – RJ.

As análises foram realizadas no Setor de Microbiologia do Solo da UENF e na Central Analítica Fernanda Coutinho - Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

O solo utilizado, classificado como podzólico vermelho escuro, foi coletado em uma área de aproximadamente 800m² às margens na BR-101, no Km 88, em Ibitioca, Campos dos Goytacazes - RJ, onde ocorreu um vazamento de pelo menos 30 mil litros de diesel proveniente de um acidente com um caminhão tanque Scania bi-trem.

A coleta foi realizada no mesmo dia em que ocorreu vazamento do produto a uma profundidade de 0-20 cm. Também foram coletadas amostras do solo não contaminadas próxima à área do acidente. O tratamento das amostras coletadas foi realizado de acordo com os procedimentos adotados por Melo e Azevedo (2008). As amostras foram trazidas para o laboratório de Microbiologia do Solo/UENF e secas em temperatura ambiente por um período de 7 dias. Após este período as amostras de solo foram peneiradas em malha de 2,0 mm. A seguir, as amostras foram armazenadas em câmara fria a 4°C por 10 dias, quando então, foi determinada a

composição química do solo e o número total de bactérias (Tabela 1). O pH e os teores de C, MO, P e K, Ca e Mg no solo foram determinados conforme a metodologia descrita no Manual de Métodos de Análises de Solo (EMBRAPA, 1997). A contagem de bactérias heterotróficas foi realizada em placas contendo o ágar padrão para contagem (PCA, Plate Count Agar) e foram expressas em unidades formadoras de colônia por grama de solo (UFC g⁻¹). Este meio de cultura é extremamente rico em nutrientes com pH em torno de 7,0, não é seletivo e é indicado para o crescimento de bactérias aeróbias mesófilas.

A torta de filtro de cana-de-açúcar foi proveniente da usina COAGRO, (Cooperativa Agroindustrial do Estado do Rio de Janeiro LTDA) da safra 2013. A composição química e o número total de bactérias presentes neste subproduto são mostrados na Tabela 2.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. Para a variável liberação de CO₂ (respiração microbiana do solo) utilizou-se o esquema fatorial 5x4, sendo 5 tratamentos: solo sem contaminação (T1); solo contaminado com óleo diesel; (T2); solo contaminado com óleo diesel mais 15% (p/p) torta de filtro, (T3); solo contaminado com óleo diesel mais NPK (T4); e, solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro (15%, p/p) e NPK (T5); e, 4 períodos de avaliação de emissão de CO₂: 1, 60, 120 e 180 dias após início do experimento, com 3 repetições. No entanto, para as variáveis carbono orgânico total (COT) e dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) remanescente no solo, utilizou-se o esquema fatorial 5x2, sendo os mesmos tratamentos acima e 2 períodos de avaliação: 1 e 180 após coleta do solo, com 3 repetições.

Tabela 1. Características químicas e microbiológicas do solo utilizado no experimento.

Parâmetros	pH	C	M.O.	P	K	Ca	Mg	UFC g kg ⁻¹
	H ₂ O	mg kg ⁻¹						
Solo contaminado	5,7	25,3	43,62	5	54,6	624	180	2,6 X 10 ⁶
Solo sem contaminação	5,3	9,8	16,90	1	35,1	660	129,6	4,0 X 10 ⁴

*pH em água; P e K extrator Mehlich; Ca, Mg extrator KCl 1molL⁻¹; M.O.= matéria orgânica; UFC= unidades formadoras de colônia.

Tabela 2. Características químicas e microbiológicas da torta filtro de cana-de-açúcar.

	pH	C	M.O	N	P	K	Ca	Mg	B	Zn	Cu	Fe	UFC kg solo ⁻¹
		%			mg kg ⁻¹				mg kg ⁻¹				
Torta de filtro	8,4	23,8	41,3	1,2	7	3,6	18,7	2,6	44,6	8,4	40,5	129	1,2 x 10 ⁹

*pH em água; P e K extrator Mehlich 1; Ca e Mg extrator KCl 1molL⁻¹; M.O.= matéria orgânica; B, Zn e Fe extrator ácido nítrico 0,5%; UFC= unidades formadoras de colônia.

Para o tratamento com NPK realizou-se o ajuste de nutrientes através da relação C:N:P:K (100:10:1:1), de acordo com os resultados obtidos da análise de solo contaminado (Pereira e Lemos, 2006). Desta forma, foram adicionados 1,07 g vaso⁻¹ de nitrato de amônia (NH₄NO₃), como fonte de nitrogênio e 2,87 g vaso⁻¹ de fosfato de potássio dibásico (K₂HPO₄) como fonte de fósforo e potássio.

Determinação da emissão microbiana de CO₂ do solo

A emissão microbiana de CO₂ do solo foi determinada pela adaptação do método de respirometria de Bartha e Pramer (1965), que tem como base a correlação direta entre a produção de CO₂ e a degradação da matéria orgânica presente no solo por meio dos microrganismos. Esta correlação pode fornecer informações sobre o potencial de biodegradabilidade de hidrocarbonetos (Mariano et al., 2008).

Um tubo de ensaio de fundo plano de 25 mL, contendo 10 mL de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ foi colocado em erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 cm³ de solo com umidade corrigida a 60% da capacidade de campo. Em seguida o erlenmeyer foi vedado com rolha (Figura 1). A quantificação da liberação de CO₂ foi feita por titulometria (Araújo et al., 2001), HCl (0,5 mol L⁻¹), 2,0 mL BaCl₂ 10%, fenolftaleína 1% como indicador (Stotzky, 1965). Paralelamente, fez-se o mesmo procedimento, exceto que o solo não foi colocado nos erlenmeyers (Tratamento controle).

Durante os primeiros 60 dias, a partir da instalação do experimento, as titulações foram realizadas diariamente. Após esse período as titulações foram feitas semanalmente, devido ao fato de que as variações nas emissões diárias de CO₂, nos diferentes tratamentos, foram pequenas. A produção de CO₂ em cada período (1, 60 e 120 e 180 dias) foi calculada através da somatória acumulada a partir do início do experimento. Também foi calculada a produção diária de CO₂, que foi obtida pela

relação entre a somatória acumulada de CO_2 a partir do início do experimento e os períodos avaliados: 1, 60, 120 e 180 dias. Ressalta-se que um novo frasco contendo os 10 mL de NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) era colocado sempre que se fazia a titulação. Isto permitiu dar continuidade à incubação, evitando sempre a saturação da base com CO_2 . As soluções de NaOH 1 mol L^{-1} e HCL $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foram padronizadas diariamente. Durante a titulação o frasco permaneceu aberto por aproximadamente 5 minutos para a renovação do oxigênio do sistema.

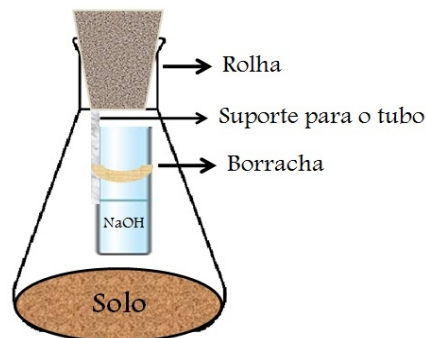


Figura 1: Biorreator utilizado como respirômetro.

Determinação do carbono total do solo

O carbono total (CT) do solo foi determinado por combustão seca em um sistema analisador elementar automatizado Perkin-Elmer Series II 2400 CHNS/O Analyzer.

Determinação dos hidrocarbonetos totais de petróleo do solo

Os hidrocarbonetos presentes no solo durante o processo de biorremediação foram extraídos por método de extração contínua em aparelho tipo Soxhlet, com hexano como solvente, por um período de 4h (Koh, 1983).

Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas (CGAR-EM), utilizando um cromatógrafo gasoso 456-GC (Bruker Daltonics Inc.) acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolar Scion MS-TQ (Bruker Daltonics Inc.).

As análises foram realizadas utilizando as seguintes condições: coluna BR-5MS (30m x 0.25mm x 0,25 μm); modo de injeção Split 1:20; temperatura do injetor 280 $^{\circ}\text{C}$; gás de arraste He; fluxo constante de 1.0 mL/min; temperatura inicial de 80 $^{\circ}\text{C}$ (2 min), seguida por uma taxa de aumento a 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 270 $^{\circ}\text{C}$ e após até 300 $^{\circ}\text{C}$ a

10 °C/min, permanecendo por 25 min.; fonte de íons a 230 °C e 70 eV; linha de transferência a 250 °C; e faixa de massas de 40-500 Da.

A identificação e a quantificação dos compostos foram realizadas através do software MS Workstation (MSWS 8 System Control, Bruker Daltonics Inc.) e comparação com análise de diesel padrão Petrobrás. O cálculo de área foi obtido através da soma da integração de todos os picos na faixa cromatográfica de 4.00 – 50.00min, condizente com a faixa de avaliação do óleo diesel.

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias foi realizada por meio do Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Para os dados referentes às avaliações de CO₂ realizadas em 1, 60, 120 e 180 dias de incubação foram ajustadas equações de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade microbiana avaliada pela liberação diária de CO₂ foi maior nos tratamentos nos quais a torta de filtro estava presente (T3 e T5) e reduziu com tempo de incubação (Figura 2). Contudo, observou-se que nos demais tratamentos a liberação diária de CO₂ permaneceu praticamente constante ao longo do período de incubação. Ao final do período de incubação (180 dias) observou-se que a liberação diária de CO₂ entre os tratamentos foi semelhante. A produção acumulada de CO₂ durante o período de incubação foi também significativamente maior nos tratamentos nos quais a torta de filtro estava presente (Figura 3).

Diversos estudos têm demonstrado que a aplicação de nutrientes e compostos orgânicos acelera o processo de biodegradação natural do substrato pela comunidade microbiana, aumentando consequentemente a liberação de CO₂ (Ciannella, 2010; Silva, 2011; Drielle et al., 2012; Andrighetti et al., 2014).

Nos primeiros 20 dias, foram produzidos entre 49 a 73% do total de CO₂ acumulado para todos os respirômetros. Nesse período, provavelmente, os microrganismos consumiram mais rapidamente aqueles compostos que são mais lábeis, restando, portanto, os que são mais recalcitrantes, consumidos posteriormente de forma mais lenta (Mariano et al., 2008).

Estudos demonstram que grande parte do CO₂ produzido durante a biodegradação de óleo diesel em um solo poluído ocorre nos primeiros 15 dias e que após esse período há diminuição na produção desse gás (Margesin et al. 2000; Almeida et al., 2013; Pinhatia et al., 2014). Este comportamento pode estar relacionado com a capacidade que os microrganismos possuem para degradar uma ampla diversidade de substâncias orgânicas, sendo que muitos deles conseguem assimilar hidrocarbonetos como fonte de carbono e/ou energia (Leita et al., 1995). López et al. (2008) e Marin et al. (2005) também observaram em seus estudos que as emissões de CO₂ diminuiriam gradualmente enquanto que as frações de hidrocarbonetos mais leves desapareceram, permanecendo apenas as frações mais recalcitrantes.

Segundo Leita et al. (1995) e Masakorala et al. (2014), a atividade microbiana avaliada por meio da produção de CO₂ pode ser maior em solos contaminados como consequência do maior consumo de energia dos microrganismos para garantir a sua sobrevivência. No presente trabalho, o T2 apresentou maior quantidade de CO₂ acumulado em relação ao solo T1. A menor atividade microbiana no tratamento T1 pode estar associada ao baixo nível de carbono apresentado na análise de solo sem contaminação.

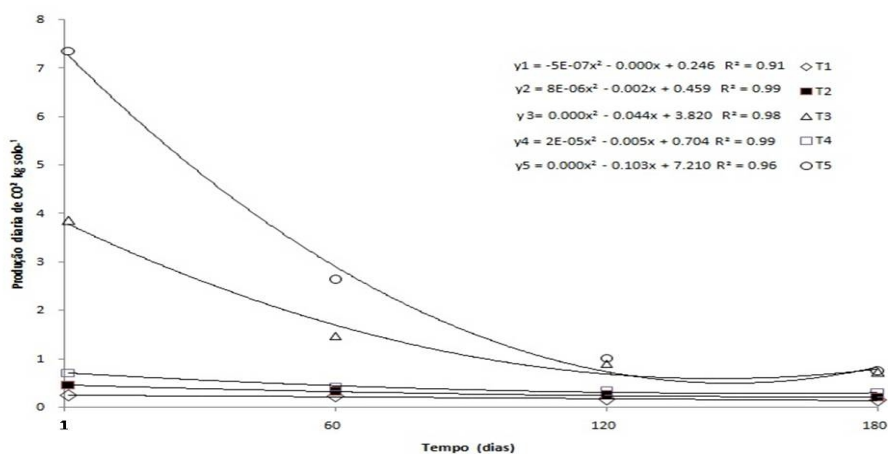


Figura 2 . Produção diária de CO₂ em função dos tratamentos, de 1 e 180 dias após início do experimento; T1 solo sem contaminação; T2 solo contaminado com óleo diesel; T3 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro; T4 solo contaminado com óleo diesel mais NPK; T5 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro e NPK.

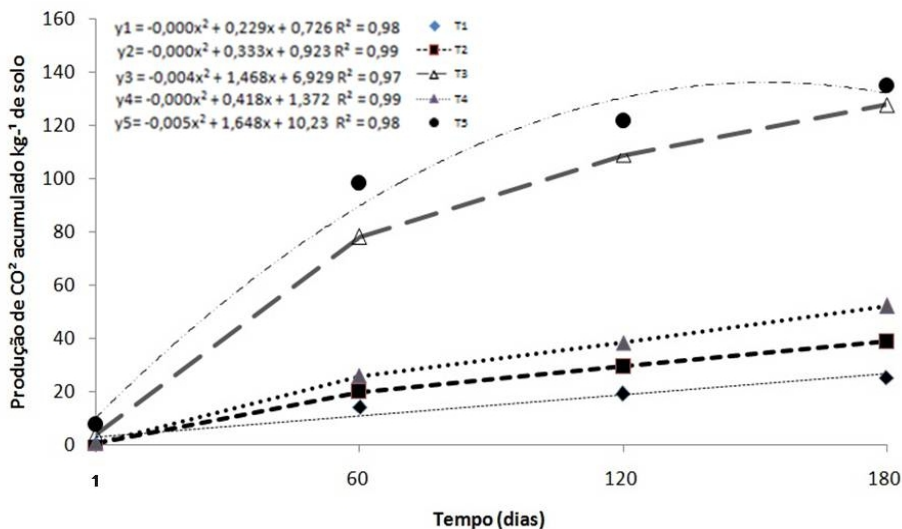


Figura 3. Produção acumulada de CO₂ durante o período de incubação, em função dos tratamentos, de 1 e 180 dias após início do experimento; T1 solo sem contaminação; T2 solo contaminado com óleo diesel; T3 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro; T4 solo contaminado com óleo diesel mais NPK; T5 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro e NPK.

A torta de filtro nos tratamentos T3 e T5, no tempo de 1 dia, promoveu um aumento de 1,2 e 1,3 vezes no teor de COT em relação ao T2 (Tabela 3). Este aumento pode estar relacionado ao carbono presente na torta de filtro (Tabela 2). A quantificação do COT tem sido um parâmetro muito utilizado para se avaliar a eficiência do processo de biodegradação (Ciannella 2011; Bastida et al., 2012). A adição de matéria orgânica aumenta a capacidade de troca catiônica, a capacidade de retenção de água do solo, proporcionando um meio satisfatório para a atividade microbiana (Masciandaro et al., 2013).

De maneira semelhante, Masakorala et al. (2014) trabalhando com doses de composto orgânico, e Diosis et al. (2010) estudando solos contaminados com óleo diesel e óleo mineral, observaram aumento na atividade microbiana, bem como na quantidade de carbono orgânico total quando estes são aplicados ao solo.

Tabela 3. Carbono orgânico total (%) em solos, em função dos tratamentos, de um e 180 dias após início do experimento.

Tratamentos	Carbono orgânico total (%)	
	1 dia	180 dias
T1	2,18 D a	1,69 D b
T2	2,89 C a	2,73 C b
T3	3,54 B a	3,05 B b
T4	2,90 C a	2,72 C b
T5	3,89 A a	3,31 A b

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas dentro do sistema de aeração, não diferem entre si segundo o Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). T1 solo sem contaminação; T2 solo contaminado com óleo diesel; T3 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro; T4 solo contaminado com óleo diesel mais NPK; T5 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro e NPK.

Houve diferença significativa em todos os tratamentos entre os valores do tempo inicial quando comparados com os valores do tempo final de incubação (Tabela 3). Verificou-se uma redução no COT em todos os tratamentos ao final dos 180 dias, quando comparado ao período de 1 dia. Não houve diferença significativa entre T2 e T4, apresentando 5,5% e 6% de redução de COT, respectivamente. Nos tratamentos T3 e T5 que continham torta de filtro, houve redução de aproximadamente 14,0% de COT ao final da incubação. Resultados semelhantes foram encontrados por Almeida (2011), que trabalhando com óleo lubrificante, também verificou uma diminuição do COT aos 68 dias de biorremediação, comparado com os valores do tempo inicial.

Todos os tratamentos, aos 180 dias, apresentaram reduções nos valores de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) quando comparados com o tempo inicial (Tabela 4). Entretanto, os maiores valores foram observados nos tratamentos T3 e T5, onde ocorreu um percentual de biorremediação de 70% e 73%, respectivamente. Portanto, observa-se que a torta de filtro de cana-de-açúcar potencializou a biodegradação de HTP. Estes resultados podem ser devido à maior atividade da microbiota da torta de filtro (bioaugmentação), avaliada pela produção de CO_2 (Figuras 2 e 3).

A aplicação de matéria orgânica aumenta a quantidade de nutrientes e a densidade microbiana no solo (bioestímulo-bioaumento), podendo ser útil na aceleração e degradação de poluentes, visto que os micro-organismos são os

agentes primários na degradação de contaminantes orgânicos no solo (Masciandaro et al., 2013).

Torres (2011) utilizando torta de filtro e bagaço de cana-de-açúcar com adição de N e P, na proporção 100:10:1, , encontrou valores de 60% para o bagaço e 51% para a torta de filtro, na remoção de HTP de um solo contaminado por petróleo.

Silva-Castro et al. (2013) realizaram um estudo sobre a remediação de solos contaminados com óleo diesel utilizando o reagente químico Fenton e uma adubação com NPK. Como resultado, os autores verificaram que o tratamento Fenton + NPK foi capaz de aumentar a remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP).

Da mesma forma, Liado et al. (2012) estudaram a remediação de solos contaminados com óleo diesel, porém, utilizando a técnica de bioestimulação (adição de nutrientes) e bioaumento (adição de micro-organismos). Os autores observaram que após 200 dias os tratamentos alcançaram entre 30% e 50% de biodegradação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP).

Tabela 4. Hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP), em função dos tratamentos, de 1 e 180 dias após início do experimento.

Tratamentos	Período de Incubação (dias)		Biodegradação HTP ¹ (%)
	1 dia	180 dias	
T1	0,0E+00 C a	0,0E+00 C a	0,00
T2	1,8E+09 AB a	7,0E+08 A b	62
T3	1,5E+09 B a	4,5E+08 B b	70
T4	1,4E+09 B a	4,6E+08 B b	68
T5	2,0E+09 A a	5,5E+08 A b	73

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). T1 solo sem contaminação; T2 solo contaminado com óleo diesel; T3 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro; T4 solo contaminado com óleo diesel mais NPK; T5 solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro e NPK. ¹Calculado pela diferença entre os valores do tempo 180 e 1 dia, dentro do mesmo tratamento.

CONCLUSÕES

A utilização da torta de filtro de cana-de-açúcar associada ou não com adição de NPK é uma ferramenta fundamental para descontaminação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos, pois potencializou o processo de biorremediação do solo contaminado com óleo diesel, devido ao fato de ter

proporcionado aumento da atividade microbiana bioaumento e, conseqüentemente, promover a remoção dos hidrocarbonetos totais de petróleo do solo.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa ao primeiro autor e a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo suporte financeiro.

LITERATURA CITADA

- Almeida, M.F.B. (2011) Avaliação de diferentes estratégias de biorremediação de solo argiloso contaminado por óleo em biorreator de fase semi-sólida Teses de mestrado, programa de pós-graduação em química, da UERJ área de concentração Química Ambiental 108p.
- Almeida, N.C.D., Tomasella, T.R., Silvio Kinjo G.S., Franceschi, D.A.D. (2013) Study of stillage biodegradation by respirometry in sandy and clay soils. *African Journal of Agricultural Research* 8:4506-4513.
- Andrighetti, M.S., Nachtigal, G.R., Queiroz, S.C.N., Ferracini, V.L., Ayub, M.A.S. (2014) Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo (Impresso)* 38:643-1653.
- A.N.P (2015) Agência Nacional de Petróleo e Gás. <http://www.anp.gov.br/> Accessed 5 June 2015.
- Araújo, W.L., Maccheroni, Junior, W., Aguilar-Vildoso, C.I., Barroso, P.A.V., Saridakis, H.O., Azevedo, J.L. (2001) Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. *Canadian Journal of Microbiology*, v.47, p.229-236.
- Bartha, R.; Pramer, D. (1965) Features of flask and method for measurement of the persistence and biological effects of pesticides in soil. *Soil Sci.*, v.100, n.1, p.68-70.

- Batista, A.P.S. (2012) Degradação de antibióticos sulfonamidas por processo fotofenton: identificação dos intermediários. Tese obtenção do título de doutora em Química. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química 85p.
- Bento, F.M., Camargo, F.A.O., Okeke, B., Frankenberger, W.T. (2005) Comparative bioremediation of soil by natural attenuation, bioestimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology* 96:1049-1055.
- Chagas-Spinelli A.C.O., Kato, M.T., de Lima, E.S., Gavazza, S. (2012) Bioremediation of a tropical clay soil contaminated with diesel oil. *Journal of Environmental Management* 113:510-516.
- Ciannella, R.C. (2010) Avaliação de diferentes estratégias de biorremediação no tratamento de solo contaminado por óleo diesel B5. Dissertation, UERJ.
- Diosis, M.Q., Hernández, T.F., Izquierdo, C.G. (2003) Influencia de la contaminación de suelos con hidrocarburos sobre su calidad bioquímica. *Edafología* 10:21-31.
- Drielle, S.P., Gomes, R.C., Semêdo, L.T.A.S. (2012) Potencial das Actinobactérias na Biodegradação de Hidrocarbonetos. *Revista Eletrônica TECCEN Vassouras* 5:71-96.
- EMBRAPA, (1997) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de análises de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS). 2 ed. rev. atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CNPS, 212p.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P., Shroeder, E.D. (1999) *Princípios de Biorrecuperação*. McGraw Hill, Madrid.
- Gad, G. (2005) A parthenogenetic, simplified adult in the life cycle of *Pliciloricus pedicularis* sp n (Loricifera) from the deep sea of the Angola Basin (Atlantic). *Org Divers Evol* 5 S1:77–103.
- Jagtap, S.S., Woo, S.M., Kim, T.S., Dhiman, S.S., Kim, D., Lee, J.K. (2014) fitorremediação e sacarificação do solo contaminado com óleo diesel a biomassa resultante *Combustível*, 116 , 292-298 2014.
- Koh T.S, (1983) Ultrasonic preparation of fat-free biological-materials for Elemental analysis. *Anal Chem* 55:1814-1815.
- Leita, L, Nobili, M de, Muhlbachova, G, Mondini, C, Machiol, L, Zerbi, G. (1995) Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass during laboratory incubation *Biology and Fertility of Soil*, 19:103-108p.

- Lladó, S., Solanas, A.M., de Lapuente, J., Borràs, M., Viñas, M. (2012) A diversified approach to evaluate biostimulation and bioaugmentation strategies for heavy-oil-contaminated soil *Science of the Total Environment*, 435-436:262-269p.
- López, M.E.M., Garcia, F.E., Gómez, B.C., Vazquez, R.R., Castañeda, G.S., Cortés, J.B. (2008) Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation–bioaugmentation with filamentous fungi *IntBiodeteriorBiodegrad*, 61 p151–16.
- Mariano, A.P., Bonotto, D.M., Angelis, D.F., Piróllo M.P.S., Contiero, J. (2008) Biodegradability of commercial and weathered diesel oils *Brazilian Journal of Microbiology*, n39, p133-142.
- Marín, J.A., Hernandez, T., Garcia, C. (2005) Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: influence on soil microbial activity *Environ Res*, 98. p185–195.
- Masakorala, K., Yao, J., Chandankere, R., Liu, H., L.I., W.A. (2014) Combined approach of physicochemical and biological methods for the characterization of petroleum hydrocarbon-contaminated soil *Environ Sci Pollut Res*, 21:454– 463.
- Masciandaro, G., Macci, C., Peruzzi, E., Ceccanti, B., Doni, S. (2013) Organic matter-microorganism-plant in soil bioremediation: a synergic approach *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, Vol12(4), p 399-419.
- Mazzuco, L.M. (2004) Atenuação natural de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados com óleo diesel Dissertação apresentada ao Programa de Pósgraduação em Química, da Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do título de Mestre em Química, 98p.
- Melo, I.S., Azevedo, J.L. (2008) Estratégias de isolamento de microrganismos envolvidos na degradação de xenobióticos In: MELO, I S de, 2ed revamp Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p199-216.
- Molina-Barahona, L., Rodríguez-Vázquez, R., Hernandez_Velasco, M., Verga-Jaquín, C., Zapata-Pérez, O., Mendoza-Cantú, A., Albores, A. (2004) Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues *Applied Soil Ecology*, 27, n 2. p165-175.

- Pereira, L.T.C.; Lemos, J.L.S. (2006) Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por *Aspergillus Niger* e *Penicillium Corylophilum*. Série Anais da XII JIC. Centro de Tecnologia Mineral CETEM.
- Pinhatia, F.R., Aguila, E.M., Tôrres, A.R., Sousa, M.P., Santiago, V.M.J., Silva, J.T., Margaret, Paschoalin, F. (2014) Avaliação da eficiência de degradação de hidrocarbonetos aromáticos por bactérias provenientes de estação de tratamento de efluente de refinaria de petróleo Quim Nova, Vol 37, No 8, 1269-1274p.
- Reginatto, C., Colla, L.M., Thomé, A. (2011) Biorremediação de resíduos oleosos em solos *Revista CIATEC – UPF*, vol3 (2), p19-31.
- Santos, D.H., Tiritan, C.S., Foloni, J.S.S. (2012) Efeito residual da adubação fosfatada e torta de filtro na brotação de soqueiras de cana-de-açúcar *Revista Agrarian Dourados*, 5, n15, p1-6.
- Schneider, C.F., Schulz, D.G., Lima, P.R., Júnior, A.C.G. (2012) Formas de gestão e aplicação de resíduos da cana-de-açúcar visando redução de impactos ambientais *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, (Mossoró – RN), 7, n 5, p 08-17, dezembro de (Edição Especial).
- Semple, K.T., Reid, B.J., Fermor, T.R. (2001) Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants *EnvironPollut* 12: p 269-283.
- Silva, G. (2011) Bioestímulo e Bioaumento na Remediação de Solo Contaminado com Óleo Lubrificante Usado- *Escala Piloto* Dissertação (Mestre em Engenharia Química) Centro de Tecnologia e Ciências Instituto de Química Universidade do Estado de Rio Janeiro. P 143.
- Silva-Castro, G.A., Rodelas, B., Perucha, C., Laguna, J., González-López, J., Calvo, C. 2013) Bioremediation of diesel-polluted soil using biostimulation as post-treatment after oxidation with Fenton-like reagents: assay in a pilot plant *The Science of the total environment*, 15, Vol445-446, p 347-55.
- Stotzky, G. (1965) Microbial respiration In: BLACK, CA, ed *Methods of soil analysis* Madison, American Society of Agronomy, 2 p1550-1570.
- Tonini, R.M.C.W., Rezende, C.E., Grativo, A.D. (2010) Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: revisão *OecolAust*, 14(4): 1027-1035.

- Torres, R.G., Leal, E.R., Martínez-Toledo, Á., Ramos-Morales, F.R., Cruz-Sanchez JS., Cuevas-Díaz, M.C. (2011) Uso de cachaza y bagazo de caña de azúcar en la remoción de hidrocarburos em suelo contaminado RevInt Contam Ambie 27 (1) 31-39.
- Trindade, P.V.O., Sobral, L.G., Rizzo, A.C.L., Leite, S.G.F., Soriano, A.U., (2005) Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study Chemosphere, Rio de Janeiro, 58, n4, p 515 – 522.
- Ugochukwu S.C, Uche, A.I., Ifeanyi O. (2013) Preliminary phytochemical screening of different solvent extracts of stem bark and roots of *Dennetiatripetala* G Baker Asian Journal of Plant Science and Research 3(3):10-13.

3. 2. BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL EM REATORES DE CERÂMICA ⁽¹⁾

Fernando Reynel Fundora Tellechea⁽²⁾; Marco Antonio Martins⁽³⁾; Alexsandro Araujo da Silva⁽⁴⁾; Késsia Barreto Lima⁽⁵⁾; Andreia Francisca Riter Netto⁽⁶⁾; Heloisa Cintra Alves Pinto⁽⁷⁾

RESUMO

Desde a extração do petróleo até seu processamento, transporte e armazenagem dos derivados é crescente a preocupação com a possibilidade de contaminação do meio ambiente. Diante desse cenário, a biorremediação tem se mostrado uma alternativa para remediar áreas mediante uso de processos biológicos que se baseiam na utilização de organismos (bactérias, fungos, vegetais e resíduos orgânicos) para reduzir ou eliminar estes compostos que apresentam riscos à saúde humana. O solo utilizado foi coletado, no mesmo dia, em uma área onde ocorreu um derramamento de óleo diesel, após um acidente com um caminhão tanque no transporte do produto. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, utilizando-se o esquema fatorial 5x4, sendo 5 tratamentos: solo sem contaminação (T1); solo contaminado com óleo diesel; (T2); solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro (T3); solo contaminado com óleo diesel mais NPK (T4); e, solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro e NPK (T5); 4 períodos de avaliação 1, 60, 120 e 180 dias após coleta do solo , com 4 repetições. O experimento também foi avaliado sob duas condições de aeração: com ou sem

aeração forçada. A unidade experimental foi composta por vasos de cerâmica com 2 kg de substrato. As variáveis analisadas foram: unidades formadoras de colônias (UFC), carbono orgânico total (COT), Nitrogênio (N), Fosforo (P) e potássio (K), e dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) remanescente no solo. A adição de torta de filtro e a adubação com NPK influenciaram significativamente as variáveis COT, N, P e K, nos tratamentos (T3 e T5), sendo maior quando comparada aos demais tratamentos. Observou-se que aos 180 dias ocorreu uma remoção significativa de HTP do solo, onde foram obtidos valores percentuais de remoção de 59,9, 82,1, 74,1 e 86,9 para os biorreatores sem aeração forçada e 51,4, 88,2, 63,5, 96,3 em biorreatores com aeração forçada, para os tratamentos T2, T3, T4 e T5, respectivamente, quando comparados ao período inicial. Os resultados evidenciaram que a presença da torta de filtro com e sem aeração forçada aumentou significativamente a atividade microbiana, e, portanto, contribuiu para o aumento da biodegradação do óleo diesel. Os reatores de cerâmica com aeração forçada funcionaram de maneira satisfatória simulando biopilhas estáticas.

(1) Parte da tese do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

(2) Doutorando em Produção Vegetal, UENF/LSOL. Av. Alberto Lamego, 2.000. CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ). fundotell@gmail.com.

(3) Professor Titular, UENF/LSOL. Av. Alberto Lamego, 2.000. CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ); marco@uenf.br.

(4) Adjunto IV, UERJ/IQ/Central Analítica Fernanda Coutinho. Rua São Francisco Xavier, 524, Maracanã. CEP 20550.900 Rio de Janeiro (RJ). alexandro.silva@uerj.br

(5) Doutora, Laboratório de Solos, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias - UENF. Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia. CEP 28013-602, Campos dos Goytacazes (RJ). E-mail: kblima@hotmail.com;

(6) Bióloga, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF/LSOL, Brasil. E-mail: afrancis@uenf.br

(7) Mestranda em Produção Vegetal, UENF/LSOL, Brasil. E-mail: cintra.florestal@gmail.com

BIODEGRADATION THE SOIL CONTAMINATED DIESEL OIL IN CERAMIC REACTORS

ABSTRACT

Since the oil extraction to processing, transportation and storage of oil products is growing concern about the possibility of environmental contamination. Given this scenario, bioremediation has proven to be an alternative to remedy areas through the use of biological processes that rely on the use of organisms (bacteria, fungi, plants and organic waste) to reduce or eliminate these compounds that pose hazards to human health. The soil was collected on the same day, in an area where there was a diesel oil spill after an accident with a tank truck transportation of the product. We used the completely randomized design, using a factorial 5x4x, 5 treatments: soil without contamination (T1); soil contaminated with diesel oil; (T2); soil contaminated with diesel oil plus filter cake (T3); soil contaminated with diesel fuel plus NPK (T4); and soil contaminated with plus pie diesel oil filter and NPK (T5); 4 evaluation periods 1, 60, 120 and 180 days after the soil sampling, with 4 replications. The experiment was also evaluated in two aeration conditions: with or without forced aeration. The experimental unit consisted of ceramic vessels with 2 kg of substrate. The variables analyzed were: colony forming units (CFU), total organic carbon (TOC), nitrogen (N), Phosphorus (P) and potassium (K), and total petroleum hydrocarbons (HTP) remaining in the soil. The addition of filter cake and NPK fertilization significantly influenced the COT variables, N, P and K in treatments (T3 and T5), which is higher compared to the other treatments. It was observed that after 180 days there was a significant removal of soil HTP, where values were obtained percentage removal 59.9, 82.1, 74.1 and 86.9 for forced aeration bioreactors without and 51.4, 88.2, 63.5, 96.3 in bioreactors with sandblasting, for treatments T2, T3, T4 and T5, respectively, when compared to the initial period. The results showed that the presence of the filter cake with and without forced aeration significantly increased microbial activity, and therefore contributed to the increased diesel oil biodegradation. Ceramic reactors with forced aeration functioned satisfactorily simulating static biopile.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda no Brasil e no mundo por petróleo e seus derivados associada aos efeitos ambientais de seu uso, principalmente nas atividades de extração, transporte e refinamento, têm contribuído para a contaminação do solo em todo o planeta (Brito, et al., 2010). No Brasil, há graves problemas de contaminação do solo por derramamentos de óleo diesel com ocorrências cada vez mais frequentes, afetando áreas de interesse agrônomo e florestal (Lima, 2014).

Segundo a empresa Petróleo Brasileiro S. A. – PETROBRAS (2015), o óleo diesel é o principal produto petroquímico comercializado no mercado brasileiro, utilizado no transporte de cargas e de passageiros, em embarcações, na indústria, na geração de energia, nas máquinas para construção civil, nas máquinas agrícolas e locomotivas.

No intuito de manter o equilíbrio ecológico, a remediação de ambientes contaminados com hidrocarbonetos com agentes biológicos insere-se como uma técnica considerada eficaz, segura e menos onerosa quando comparada aos tratamentos físicos e químicos tradicionalmente utilizados (Gaylarde et al., 2005; Deon, et al., 2012). A biorremediação começou a ser aplicada em solos contaminados com óleo diesel a fim de degradar estes compostos, recuperando solos e águas subterrâneas (Oliveira et al., 2007).

Para um bom desenvolvimento metabólico dos micro-organismos são necessários diversos fatores bióticos e abióticos que podem ser controlados com o auxílio de biorreatores. Nesse sentido, alguns autores enfatizam o emprego de biorreatores como alternativa interessante e promissória para o tratamento de solos

contaminados, especialmente os de natureza argilosa (Seabra 2005; Rizzo et al., 2006). Os biorreatores são sistemas fechados que podem assumir vários tipos de configurações, facilitam um maior contato dos micro-organismos com os contaminantes, nutrientes e oxigênio durante períodos mais curtos, facilitando a aclimatização da microbiota assim como o seu desenvolvimento (Cerqueira, et al., 2011). Além disso, são frequentemente utilizados na degradação de compostos altamente recalcitrantes como os organoclorados e os HTP (Chagas-Spinelli, et al., 2012).

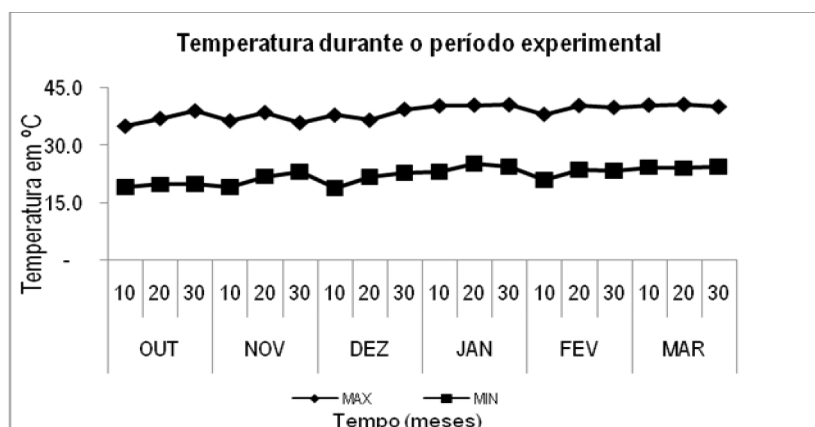
A fim de aumentar a biodegradação do óleo diesel no solo, algumas estratégias têm sido adotadas, como a utilização de fertilizantes e estruturantes que fornecem nutrientes para os micro-organismos, que por sua vez utilizam os hidrocarbonetos como fonte de carbono, degradando-os. Além de melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos, as combinações de estruturantes e fertilizantes NPK ativam a flora nativa no solo (Jorgensen, Puustinen e Suortti 2000; Torres et al., 2011).

Nesse contexto, a torta de filtro, subproduto da indústria açucareira, se bem aproveitada, pode ser considerada como estruturante capaz de melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos (Zerega 1993). Entretanto, este subproduto é ainda pouco utilizado, na maioria das vezes pela escassez de informações relativas ao seu comportamento em solos contaminados. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da torta de filtro e dos fertilizantes NPK na biorremediação de um solo contaminado com óleo diesel em reatores de cerâmica.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na casa de vegetação no Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) (Latitude= 21° 19' 23"; Longitude = 41° 10' 40" W; Altitude= 14 m), em Campos dos Goytacazes – RJ. A temperatura na casa de vegetação. A Figura 1 mostra a variação de temperatura durante a condução do experimento.

Figura 1. Temperatura durante o período experimental em casa vegetação.



Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial 5 x 4, sendo 5 tratamentos: solo sem contaminação (T1); solo contaminado com óleo diesel; (T2); solo contaminado com óleo diesel mais torta de filtro (T3); solo contaminado com óleo diesel NPK (T4); e, solo contaminado com óleo diesel torta de filtro e NPK (T5) em 4 períodos de incubação: 0, 60, 120 e 180 dias, com 4 repetições. O experimento também foi avaliado sob 2 sistemas de aeração: com ou sem aeração forçada.

O solo utilizado foi podzólico vermelho escuro, coletado em uma área de arredor de 800 m² dedicada a cultivo de pastos, onde ocorreu um vazamento de pelo menos 30 mil litros de diesel proveniente de um acidente de um caminhão Scania bi trem, na BR-101, no trecho do Km 88, em Ibitioca, em Campos dos Goytacazes- RJ, Brasil.

A coleta foi realizada após o vazamento a uma profundidade de 0-20 cm, em local contaminado e não contaminado. As amostras foram distribuídas sobre bancadas, permanecendo por uma semana em temperatura ambiente para secagem, e após este período foram peneiradas em malha de 2,0 mm.

Depois de peneirado, o solo foi acondicionado e armazenado em câmara fria a 4°C por 10 dias até montagem do experimento. Nas amostras foram realizadas análises químicas, biológicas dos solos contaminados e não contaminados referente ao período inicial do experimento (Tabela 1).

Tabela 1. Características físico - químicas e microbiológicas do solo no período inicial do experimento.

Referência	pH	C	M.O	P	K	Ca	Mg	UFC g solo ⁻¹
	H ₂ O	mg kg ⁻¹						
Solo contaminado	5,7	25,3	43,62	5	54,6	624	180	2,6 X 10 ⁶
Solo sem contaminação	5,3	9,8	16,90	1	35,1	660	129,6	4,0 X 10 ⁴

*pH em água; P- K extrator Mehlich 1; Ca, Mg extrator – KCl – 1molL⁻¹; M.O.= matéria orgânica; UFC= unidades formadoras de colônia.

A torta de filtro de cana-de-açúcar proveniente da usina COAGRO, (Cooperativa Agroindustrial do Estado do Rio de Janeiro Ltda) da safra 2013 e suas características químicas e microbiológicas estão na (Tabela 2).

Tabela 2. Características químicas e microbiológicas da torta de filtro de cana-de-açúcar.

Torta de filtro	pH	C	M.O	N	P	K	Ca	M	B	Zn	Cu	Fe	UFC g solo ⁻¹
	%			g kg ⁻¹				Mg kg ⁻¹					
	8,4	23,8	41,3	1,2	7	3,6	18,7	2,6	44,6	8,4	40,5	129	

*pH em água; P- K extrator Mehlich 1; Ca, Mg extrator – KCl – 1molL⁻¹; M.O.= matéria orgânica; B; Zn; Fe digestão Ácido nítrico peridrol estrato Ácido nítrico 0,5% - UFC (unidades formadoras de colônia).

A unidade experimental foi composta por vaso de barro contendo 2 kg de solo. Adicionou-se 15% (peso/peso) da torta de filtro nos tratamentos T3 e T5. A temperatura do solo presente nos vasos nesse mesmo período também foi determinada e observou-se que os tratamentos contendo torta de filtro (T3 e T5) apresentaram-se com maiores valores de temperatura média com exatos 23,9 °C. No geral constatou-se um padrão de aumento e decréscimo de temperatura do solo dos vasos, na faixa de 23,6 a 23,9 °C, compatível com a oscilação de temperatura registrada dentro da casa de vegetação.

Para o tratamento T4 e T5 com aplicação de NPK realizou-se o ajuste de nutrientes através da relação C:N:P (100:10:1:1), de acordo com os resultados obtidos da análise de solo contaminado, utilizando como fonte de nitrogênio o nitrato de amônia (NH₄NO₃), que adicionou-se 1,07g vaso⁻¹; e fosfato de potássio dibásico (K₂HPO₄) como fonte de fósforo e potássio aplicando 2,87g vaso⁻¹, (Pereira e Lemos 2006)

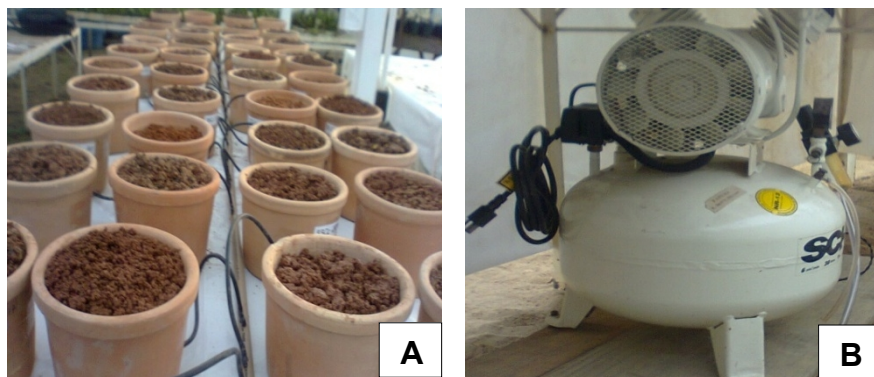


Figura 2. Reatores de bancada (A); compressor utilizado no experimento (B).

As análises foram realizadas no setor de microbiologia de solos da UENF Laboratório de Solos (LSOL/CCTA) pelo setor de Microbiologia do Solo (UENF) e na Central Analítica Fernanda Coutinho - Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Quantificação microbiana heterotrófica total

A quantificação da população heterotrófica total foi realizada através do método de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). O método consiste na extração e deposição de uma suspensão de solo em placas de Petri, com meio ágar-nutriente (bactéria) e Meio de Martin para (fungos), inoculação em estufa de cultura e posterior contagem do número de colônias formadas.

Pesou-se 10g de solo, colocados em Erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina (0,85%) esterilizada. Após a extração procedeu à diluição seriada até a diluição 10^{-6} . Pipetou-se 0,1 mL das diluições 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} para as placas com o meio ágar-nutriente, para bactéria e as diluições 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} com meio Martin para fungo. As placas incubaram a 28°C , por 48 e 72 horas para bactérias e fungos respectivamente, após o período de incubação contaram as colônias nas placas.

Equação para o cálculo do número de microrganismos/grama de solo.

N° de microrganismos/g de solo = $[\text{N}^{\circ} \text{ colônias} \times (1/\text{diluição}) \times (1/\text{alíquota})] / \text{massa do solo seco}$.

Determinação do pH do solo

Para determinação do pH do solo em água, foram realizados ensaios baseados na metodologia utilizada pela EMPRAPA (1999). Em um becker com capacidade para 50 mL, foram adicionados 10 g de solo e 25 mL de água destilada.

A mistura foi homogeneizada durante 30 minutos com auxílio de agitador magnético revestido de teflon. Após o período de repouso, para separação das fases, o decantado foi transferido para um becker com capacidade para 25 mL e o pH foi determinado em pHmetro (HI2221 pHorp meter NAHNA), previamente ajustado com soluções tampão padronizadas de pH = 4,00 e pH = 7,00.

Determinação do Carbono Total e Nitrogênio total

O carbono total (CT) e o nitrogênio (N) do solo foram determinados por combustão seca em um sistema analisador elementar automatizado Perkin-Elmer Series II 2400 CHNS/O Analyzer.

Determinação do fósforo e potássio

Após digestão nitroperclórica foram determinados colorimetricamente o P, pelo método azul de molibdato por espectrofotometria e o K através da espectrofotometria de emissão de chama.

Determinação dos hidrocarbonetos totais de petróleo do solo

Os hidrocarbonetos presentes no solo durante o processo de biorremediação foram extraídos por método de extração contínua em aparelho tipo Soxhlet, com hexano como solvente, por um período de 4h segundo a American Public Health Association (APHA, 2000).

Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas (CGAR-EM), utilizando um cromatógrafo gasoso 456-GC (Bruker Daltonics Inc.) acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolar Scion MS-TQ (Bruker Daltonics Inc.).

As análises foram realizadas utilizando as seguintes condições: coluna BR-5MS (30m x 0.25mm x 0,25µm); modo de injeção Split 1:20; temperatura do injetor 280°C; gás de arraste He; fluxo constante de 1.0 mL/min; temperatura inicial de 80 °C (2 min), seguida por uma taxa de aumento a 4 °C/min até 270 °C e após até 300 °C a

10 °C/min, permanecendo por 25 min.; fonte de íons a 230 °C e 70 eV; linha de transferência a 250 °C; e faixa de massas de 40-500 Da.

A identificação e a quantificação dos compostos foram realizadas através do software MS Workstation (MSWS 8 System Control, Bruker Daltonics Inc.) e comparação com análise de diesel padrão Petrobrás. O cálculo de área foi obtido através da soma da integração de todos os picos na faixa cromatográfica de 4.00 – 50.00min, condizente com a faixa de avaliação do óleo diesel.

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias foi realizada por meio do Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Os dados referentes às avaliações realizadas em 1, 60, 120 e 180 dias de incubação foram submetidos à regressão polinomial para o ajuste das equações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No tratamento com solo contaminado com diesel (T2), observou-se que a quantidade de unidades formadoras de colônias de bactérias (UFC) foi afetada no primeiro dia de experimento, apresentando $1,5 \times 10^5$ UFC (Tabela 3). Provavelmente esta quantidade reduzida de micro-organismos é decorrente do efeito tóxico do óleo diesel (Martins, 2005). Bento (2005) estudando a degradação dos hidrocarbonetos concluiu que dependendo da toxicidade do contaminante e da microbiota presente, o crescimento microbiano nos primeiros dias pode ser inibido. Entretanto, a adição da torta de filtro no solo contaminado com óleo diesel (T3), fez com que a população microbiana se apresentasse maior do que os outros tratamentos no tempo inicial com aeração. Isso pode estar associado ao grande número de micro-organismos presentes na torta de filtro com valor de $5,9 \times 10^8$ UFC (Tabela 2).

Tabela 3. Número de unidades formadoras de colônias de bactérias (UFCx1000) em diferentes métodos de descontaminação de óleo diesel em solos incubados sem aeração em reatores de cerâmica.

TRAT	Período de incubação (dias)							
	Com Aeração				Sem Aeração			
	1	60	120	180	1	60	120	180
T1	31,67 B a	17,07 B a	10,98 C b	6,39 B b	13,79 C a	12,60 C a	7,51 B a	8,35 B a
T2	15,01 C b	47,03 A a	47,03 A a	40,54 A a	40,95 A a	33,39 B a	26,37 A a	24,68 A a
T3	62,58 A a	42,69 A b	23,69 B c	24,20 A c	58,89 A a	41,79 A a	38,92 A b	27,05 A b
T4	41,42 B a	43,09 A a	37,56 A a	27,77 A a	30,23 B a	36,58 A a	39,65 A a	40,73 A a
T5	43,55 B a	48,38 A a	42,32 A a	24,21 B b	41,77 A a	52,25 A a	43,39 A a	41,80 A a
CV (%):	26,61							

(*) Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si segundo o teste de Tukey ($P \leq 0,05$, $n=4$). T1 - solo sem contaminação, T2 - solo contaminado com diesel; T3 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro; T4 - solo contaminado com diesel mais NPK; T5 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro e NPK.

Por outro lado, nesse mesmo tratamento (T3) quando comparado o tempo inicial e final, com e sem aeração, observa-se que houve decréscimo no número de micro-organismos de 38% nos tempos com aeração e 45% nos tempos sem aeração. Esse decréscimo também foi observado em diversos estudos com solos contaminados com petróleo, provavelmente por relacionar-se com a diminuição da capacidade que determinados microrganismos possuem em degradar o contaminante (Molina-Barahona et al., 2004; Silva 2011; Pereira, 2012; De Sousa et al., 2013).

Nos períodos de 60 dias com aeração, 120 e 180 dias sem aeração, os tratamentos com solo contaminado não apresentaram diferença significativa. Isso pode ter ocorrido devido ao consumo rápido dos compostos que são mais lábeis por parte dos micro-organismos (tempo inicial), restando, portanto, os que são mais resistentes à degradação, que foram consumidos posteriormente de forma mais lenta (120 e 180 dias). Possivelmente, esse consumo ocorreu nos tratamentos com aeração de maneira mais rápida devido à presença de atividade microbiana acelerada que degradou o poluente através de uma melhor oxigenação do ambiente.

De modo geral, o crescimento da população microbiana nos primeiros dias de tratamento deve-se à maior disponibilidade de nutrientes nesse período (Espírito Santo, 2004; Trindade, 2002).

No tempo inicial, os tratamentos com solo contaminado T2 e T4 apresentaram aumento de 43% e 45% no teor de carbono, respectivamente, quando comparados ao tratamento com solo controle (T1), sem diferença significativa entre eles (Tabela 4). No entanto, os maiores incrementos no teor de carbono ocorreram nos tratamentos com adição de torta de filtro quando comparados ao tratamento com solo controle (T1). O tratamento T3 apresentou aumento de 52% no teor de carbono e o tratamento T5 apresentou aumento de 57%, sem diferença significativa entre eles. Esse aumento pode ser atribuído ao maior teor de carbono intrínseco à torta de filtro. Os solos possuem naturalmente uma grande quantidade de micro-organismos, tais como bactérias, fungos e protozoários. Estes micro-organismos precisam de uma fonte de carbono, nitrogênio e fósforo para a manutenção das funções metabólicas necessárias para o seu desenvolvimento (Moreira e Siqueira, 2006). Nesse sentido, a aplicação de doses significativas de compostos orgânicos aumenta a atividade microbiana, assim como a quantidade de carbono orgânico total e carbono solúvel em água (Taccari, et al., 2012).

Tabela 4. Carbono orgânico total (%) em diferentes métodos de descontaminação de óleo diesel em solos incubados sem aeração em reatores de cerâmica.

TRAT	Período de incubação (dias)							
	Com Aeração				Sem Aeração			
	1	60	120	180	1	60	120	180
T1	1,59 C a	1,35 C a	1,67 C a	1,52 C a	1,57 C a	1,34 D b	1,23 C b	1,28 D b
T2	2,83 B a	2,78 B a	2,78 B a	2,56 B b	2,90 B a	2,82 C a	3,01 B a	2,64 C b
T3	3,38 A b	3,88 A a	3,35 A b	2,82 B c	3,36 A b	3,99 A a	3,51 A b	3,05 A c
T4	2,93 B a	2,72 B a	2,66 B a	2,56 B b	2,93 B a	2,99 C a	2,94 B a	2,67 B b
T5	3,72 A a	3,66 A a	3,53 A a	3,14 A b	3,58 A a	3,41 B a	3,27 B a	3,03 A b
CV (%):	6,69							

(*) Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si segundo o teste de Tukey ($P \leq 0,05$, $n=4$). T1 - solo sem contaminação, T2 - solo contaminado com diesel; T3 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro; T4 - solo contaminado com diesel mais NPK; T5 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro e NPK.

Ciannella (2010) avaliou diferentes estratégias de biorremediação no tratamento de solo contaminado por diesel e observou que, após contaminação e introdução dos agentes estimulantes (nutriente e inoculo), houve um aumento médio no teor de carbono orgânico total (COT) em relação ao solo controle. Seguindo esse mesmo padrão, de acordo com a (Tabela 4).

Ainda de acordo com a (Tabela 4) ao final do período de incubação, os teores de carbono orgânico nos tratamentos com aeração reduziram 4,0%, 10%, 17,0%, 13% e 16%, e na ausência da aeração os mesmos teores reduziram 25%, 9%, 9%, 9% e 15%, para os tratamentos de T1 a T5, respectivamente. Essa redução pode ser atribuída ao consumo da fonte de carbono mais facilmente assimilável (Espírito Santo, 2004; Trindade, 2002).

O nitrogênio (N) é um nutriente essencial aos micro-organismos para formação de proteínas e ácidos nucleicos (Rosato, 1997), apesar disso, durante todo o período de incubação, nas condições com e sem aeração, todos os tratamentos apresentaram redução significativa de nitrogênio (Tabela 5). Teoricamente, durante a biodegradação os micro-organismos consomem cerca de 150 mg de nitrogênio (N) e 30 mg de fósforo (P) para converter 1 g de hidrocarboneto para a biomassa microbiana (Rosemberg et al., 1993).

Tabela 5. Nitrogênio (mg kg^{-1}) em diferentes métodos de descontaminação de óleo diesel em solos incubados em reatores de cerâmica.

TRAT	Período de incubação (dias)							
	Com Aeração				Sem Aeração			
	1	60	120	180	1	60	120	180
T1	7,10 A a	3,40 B b	3,20 B b	1,90 B c	5,40 A a	3,10 B b	2,90 B b	2,20 B b
T2	7,10 A a	4,00 A b	2,90 B b	2,20 A c	5,90 A a	3,50 A b	3,20 A b	2,80 A b
T3	7,00 A a	4,90 A b	4,10 A b	2,60 A c	6,30 A a	4,40 A b	3,90 A b	3,30 A b
T4	7,10 A a	4,30 A b	3,80 A b	2,70 A c	6,30 A a	3,90 A b	3,60 A b	3,10 A b
T5	7,50 A a	5,00 A b	4,30 A b	3,00 A c	6,70 A a	4,50 A b	4,10 A b	3,80 A b
CV (%):	12,06							

(*) Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si segundo o teste de Tukey ($P \leq 0,05$, $n=4$). T1 - solo sem contaminação, T2 - solo contaminado com diesel; T3 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro; T4 - solo contaminado com diesel mais NPK; T5 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro e NPK.

Embora o óleo diesel seja uma fonte de carbono para os microrganismos, o mesmo não fornece outros nutrientes como nitrogênio e fósforo, que também são necessários. A falta destes nutrientes pode afetar severamente a taxa de degradação biológica (Reis, 2009; Jacques et al., 2007;). Além disso, os micro-organismos exigem maiores quantidades de nutrientes conforme há incremento no teor de carbono orgânico no solo (Díaz, et al., 2013). Provavelmente, por esse

motivo, no tempo inicial, os tratamentos T1 a T5 não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 5).

A (Tabela 6) apresenta os resultados dos percentuais de P no solo. Observa-se que as médias de fósforo nos tratamentos com torta de filtro foram maiores do que T2 (sem torta de filtro), esse fato pode ser explicado pelo P presente na mesma. Também foi observado que aos 180 dias de condução experimental, o tratamento com NPK e torta de filtro (T5) em presença ou não de aeração forçada apresentou teores significativamente superiores.

Tabela 6. Fósforo (mg kg^{-1}) em diferentes métodos de descontaminação de óleo diesel em solos incubados em reatores de cerâmica.

TRAT	Período de incubação (dias)							
	Com Aeração				Sem Aeração			
	1	60	120	180	1	60	120	180
T1	1,70 E a	1,40 D a	1,20 D b	8,50 E c	2,0, E a	1,30 E b	1,20 E b	8,00 D c
T2	6,90 D a	5,30 C b	5,50 C b	5,00 D b	6,70 D a	6,30 D a	5,80 D b	4,90 C b
T3	120,5 C a	90,5 B b	75,3 B c	72,5 B c	122,0 C a	114,0 B a	105,5 B a	57,5 B b
T4	156,2 B a	92,5 B b	88,0 B b	62,5 C c	150,0 B a	88,0 C b	74,5 C b	54,0 B b
T5	221,0 A a	105,5 A b	103,0 A b	98,0 A b	223,0 A a	211,0 A a	184,0 A b	124,0 A c
CV (%):	12,84							

(*) Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si segundo o teste de Tukey ($P \leq 0,05$, $n=4$). T1 - solo sem contaminação, T2 - solo contaminado com diesel; T3 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro; T4 - solo contaminado com diesel mais NPK; T5 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro e NPK.

A disponibilidade de N e P é de extrema importância durante o processo de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e seus derivados no solo. Segundo Rosemberg et al., (1993), durante a biodegradação são consumidos cerca de 150 mg de N e 30 mg de P pelos microrganismos, para converter 1 g de hidrocarboneto para a biomassa microbiana. O que pode explicar que para todos os tratamentos observou-se diferenças significativas aos 180 dias quando comparados com o primeiro dia. O solo contaminado apresentou valores significativamente maiores quando comparados com os solos não contaminados durante todo o tempo de incubação.

Os dados referentes ao pH do solo encontram-se na (Tabela 7). Assim como temperatura, carbono, nitrogênio e fósforo, o pH do solo é um fator limitante para os microrganismos e um importante parâmetro de monitoramento (Jacques et al., 2007). Segundo Andrade et al. (2010), para que os microrganismos tenham atividade máxima os valores ideais de pH no solo encontram-se entre 6,5 e 8,5, nesse sentido, os valores de pH do solo encontrados no presente estudo (Tabela 7) encontram-se dentro da faixa considerada ótima.

Observa-se também que nos tratamentos T3 e T5 houve aumento significativo nos valores de pH para solo com e sem aeração, possivelmente decorrentes da adição de torta de filtro que possui pH de 8,4 (Tabela 2).

Tabela 7. pH em diferentes métodos de descontaminação de óleo diesel em solos incubados em reatores de cerâmica.

TRAT	Período de incubação (dias)							
	Com Aeração				Sem Aeração			
	1	60	120	180	1	60	120	180
T1	6,54 C a	6,28 B b	6,98 A a	7,01 A a	6,56 C b	6,28 A c	6,93 A a	6,01 B d
T2	6,84 B a	6,23 B b	6,83 B a	6,93 A a	6,86 B a	6,21 A b	6,80 A a	6,93 A a
T3	7,20 A a	7,14 A a	7,04 A b	7,03 A b	7,20 A a	7,12 A b	7,03 A b	7,03 A b
T4	6,80 B a	6,31 B b	6,95 A a	6,03 B b	6,70 B a	6,28 A c	6,95 A a	6,53 B b
T5	7,49 A a	7,26 A a	6,99 A a	7,14 A a	7,47 A a	7,23 A a	6,99 A a	7,14 A a
CV (%):	1,10							

(*) Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si segundo o teste de Tukey ($P \leq 0,05$, $n=4$). T1 - solo sem contaminação, T2 - solo contaminado com diesel; T3 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro; T4 - solo contaminado com diesel mais NPK; T5 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro e NPK.

Observou que as melhores condições de remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo foram obtidas no T5 (Torta de filtro e NPK) com ou sem aeração forçada de 96,3 e 86,9 %, respectivamente, seguida por uma remoção de 88,2 e 82,1% para T3 (Torta de filtro) com e sem aeração forçada, respectivamente (Tabela 8). Tais resultados representam uma remoção maior que T2 controle (atenuação natural) de 50,8 e 59,9%, indicando que a utilização torta de filtro aumentou a biodegradação do óleo diesel.

Tabela 8. Hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP), em função dos tratamentos, durante o período de incubação após início do experimento.

	Período de incubação (dias)											
	1		60		120		180		%			
	Com Aeração				Remoção		Com Aeração				Remoção	
T1	0.00E+00	0.00E+00	00.00E+00	00.00E+00			0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00		
T2	3.84E+08	3.13E+08	1.51E+08	1.89E+08	50.8		7.85E+08	5.34E+08	2.06E+08	3.15E+08	59.9	
T3	5.13E+08	2.45E+08	5.60E+07	6.08E+07	88.2		8.57E+08	5.34E+08	1.64E+08	1.53E+08	82.1	
T4	4.87E+08	3.15E+08	2.10E+08	1.80E+08	63.1		7.61E+08	2.10E+08	1.49E+08	1.97E+08	74.1	
T5	6.03E+08	2.63E+08	7.52E+07	2.20E+07	96.3		8.23E+08	2.35E+08	1.16E+08	1.08E+08	86.9	

T1 - solo sem contaminação, T2 - solo contaminado com diesel; T3 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro; T4 - solo contaminado com diesel mais NPK; T5 - solo contaminado com diesel mais torta de filtro e NPK.

Jorgensen *et al.* (2000), estudaram a interferência da adição de pedaços de madeira, dois inóculos microbianos misturados e correção de nutrientes no tratamento de um solo contaminado por óleo lubrificante e óleo diesel. Após os 5 meses de teste, a remoção do contaminante nas pilhas com óleo lubrificante foi de 70%, e com óleo diesel uma remoção de 71% foi observada.

Outro estudo que verificou a eficiência da adição de agentes estruturantes a um solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo foi desenvolvido por Moraes (2005). Cinco biopilhas foram construídas contendo solo contaminado por borra de óleo para avaliar a adição de inóculo isolado do próprio local contaminado, a adição de fertilizante para plantas e adição da palha de arroz como agente estruturante. Os resultados após 350 dias demonstraram uma redução da quantidade de resíduo de 67% na biopilha controle, na faixa de 70% nas biopilhas sem adição de palha de arroz e 80 % nas biopilhas com palha de arroz. As biopilhas contendo palha de arroz demonstraram degradação mais rápida do resíduo, principalmente nos dois primeiros meses deste estudo, provavelmente devido ao estímulo da microbiota natural.

Os resíduos vegetais e agroindustriais podem apresentar outros efeitos além da remoção de HTP, como a retenção de HTP, que pode ocorrer por adsorção e/ ou absorção de óleo. Isso ocorre porque a lignina, que é um biopolímero presente nos vegetais, apresenta a capacidade de absorver poluentes orgânicos como os hidrocarbonetos do petróleo Shahsavari *et al.* (2013), o que pode exercer um grande

efeito benéfico, evitando o aumento da contaminação de solos e águas, e consequentemente impedindo que a contaminação chegue aos lençóis freáticos.

CONCLUSÕES

A utilização da torta de filtro de cana-de-açúcar associada ou não com adição de NPK é uma ferramenta fundamental para descontaminação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos, pois potencializou o processo de biorremediação do solo contaminado com óleo diesel, devido ao fato de ter proporcionado aumento da atividade microbiana (bioaugmentação), e, consequentemente, promover a remoção dos hidrocarbonetos totais de petróleo do solo.

Os experimentos em reatores de cerâmica foram uma ferramenta fundamental para avaliar a melhor estratégia de biorremediação a ser adotada.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa ao primeiro autor e a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American public health Association - Apha. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. ed. Washington: APHA, 2000
- Andrade, J.A., Augusto, F., Jardim, I.C.S.F. (2010). Biorremediação de Solos contaminados por Petróleo e seus derivados. *Eclética Química*, Marília, v. 35, n. 3, p. 17-43. 2010.
- Bento, F.M.; Camargo, F.A.O., Okeke, B.C., Frankenberger, W.T. (2005) Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, v. 96, n. 9, p. 1049-1055, June.

- Brito, G.C.B., Souza, D.B.S., Vasconcelos, F.C.W., Braga, L.C. (2010). The importance of microorganism bioprospection in areas contaminated by products derived from oil. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente* n.3, p. 291-310.
- Cerqueira, V.S., Hollenbach, E.B., Maboni, F., Vainstein, M.H., Camargo, F.A.O., Peralba, M.C.R., Bento, F.M. (2011). Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures *Bioresource Technology* v.102 p. 11003–11010.
- Chagas-Spinelli, A.C.O., Kato, M.T., Lima, E.S., Gavazza, S. (2012). Bioremediation of a tropical clay soil contaminated with diesel oil. *Journal of Environmental Management* p.1-7.
- Ciannella, R.C. (2010). Avaliação de diferentes estratégias de biorremediação no tratamento de solo contaminado por óleo diesel B5. Dissertação Mestrado em Química—Área de concentração: Química Ambiental. Programa de pós-Graduação em Química. UERJ. 184 p.
- DE Souza, R.B., Maziviero, T.G., Christofolletti, C.A., Pinheiro, T.G., Fontanetti, C.S. (2013). Soil Contamination with Heavy Metals and Petroleum Derivates: Impact on Edaphic Fauna and Remediation Strategie. *Soil Processes and Current Trends in Quality Assessment*. <http://dx.doi.org/10.5772/52868>.
- Deon, M.C., Rossi A., Magro, C., Reinehr, C.O., Colla, L.M. (2012). Biorremediação de solos contaminados com resíduos oleosos através de bioaugmentação atenuação natural. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina*, v. 33, n. 1, p. 73-82, jan./jun.
- Díaz, M.A.D., Trasancos, L.R., Sanchez, J.A., Palmer, S.M., Silva, R.R., Hernández, D. H., Rodriguez, C. L. (2013). Evaluación a escala de banco de materiales absorbentes para recogida de hidrocarburos en suelos. iv congreso cubano de petroleo y gas. protección medioambiental en la industria petrolera. Memorias en CD-Rom, La Habana, 1 al 5 de abril.
- EMBRAPA. (1999). Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Brasília: Embrapa-SPI, 412.

- EMPRAPA (1997). Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuaria Centro nacional de pesquisa de solo. Manual de métodos de analisis química para avaliação de fertilidade do solo. 1 ed Rio Janeiro. 42p.
- Espirito Santo, A.A. (2004). Influência da poluição atmosférica e variáveis ambientais na flutuação de bioindicadores de solo no entorno de uma metalúrgica de cobre na Bahia. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento – Instituto de Biologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.
- Gaylarde, C.C., Bellinaso, M.L., Manfio, G.P. (2005). Biorremediação Biotecnologia ciência & Desenvolvimento, ano 8, n. 34, p, 36-43. Jan /jan.
- Gerhardt, E., Huang, X.D., Glick, B.R., Greenberg, B.M. (2009). Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. 176:20–30,
- Jacques R.J.S., Bento F. M.A.Z.I., Flávio., Camargo A.O. (2007). Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Ciências Rural vol.37 no.4 Santa Maria July/Aug.
- Jorgensen, K.S., Puustinen, J., Suortti, A.M. (2000) Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. Environmental Pollution, Barking, v. 107, n. 2, p. 245-254.
- Lima, B.K. (2014). Microrganismos, gramíneas e nutrientes minerais na degradação de petróleo e óleo diesel no solo. Tese (Doutora em Produção Vegetal), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. RJ173p.
- Lopes, A., Piedade, M.T.F. (2010) O período da contaminação com petróleo influencia a rebrota de *Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchcock em solo de várzea da Amazônia Central? *Biota Neotropica*, Campinas, v. 10, n. 4, p. 143-148.
- Martins, V.G. 2005. Produção de biossurfactante por fermentação em estado sólido e sua utilização em biorremediação. Dissertação de mestrado. Curso de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG, p . 156.

- Molina-Barahona, L., Rodríguez-Vázquez, R., Hernandez Velasco, M., Verga-Jaquín, C, Zapata-Pérez, O., Mendoza-Cantú, A., Albores, A. (2004). Dieselrenewal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. *Applied Soil Ecology*, v. 27, n 2, p, 165-175.
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (2006). *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2 ed Lavras UFLA, 729p.
- Oliveira, D.S., Baisch, P.R.M., Machado, M.I. (2007). Degradação de petróleo em ambientes estuarino da lagoa dos patos através de um derrame induzido. In: Congresso Brasileiro de Pesquisa de Desenvolvimento em Petróleo e Gas. 4 Campinas Sp. Anais PDPETRO.
- Marins, P.D. (2002). Estudo da biorremediação de solo impactado por petróleo Teses (Mestrado em Tecnologia Ambiental) Instituto Alberto Luiz Coimbra UFRJ. R/J 114p.
- Pereira B.R. (2012). Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC.. 140p.
- PETROBRAS 2010 Bunker. Produtos e Serviços. Disponível em: [HTTP://www2.petrobras.com.br/produtos_servicos/port/produtos](http://www2.petrobras.com.br/produtos_servicos/port/produtos). Acesso em: 11de fevereiro de 2015.
- Reis, E.A. (2009). Produção de cápsulas de liberação controlada para fins de biorremediação de ambientes contaminados por hidrocarbonetos do petróleo. Dissertação (Mestre em Ciências) – Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2009.
- Rizzo, A.C.L.; Leite, S.G.F.; Soriano, A. U.; Santos, R. L. C.; Sobral, L. G. S. (2006). Biorremediação de solos contaminados por petróleos: ênfase no uso de biorreatores. Rio de Janeiro: CETEM/MCT. 76p. (Tecnología Ambiental. 37)

- Rosato, Y.B. (1997). Biodegradação de petróleo. In: Melo. I. S. Azevedo. J. L. (eds), *Microbiologia Ambiental*, p. 307, Jaguariúna, Embrapa – CNPMA.
- Rosenberg, E., Legmann, R., Kushmaro, A., Taube, R., Adler, E., Ron, E.Z. (1993). Petroleum bioremediation—a multiphase problema. In *Microorganisms to Combat Pollution. Springer Netherlands*, 213-226.
- Seabra P.N.C. (2005). Aplicação de biopilhas na biorremediação de solos argilosos contaminados por petróleo 167p Tese doutorado em Ciências em Engenharia Química. Instituto Luiz Coimbra (COPPE) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Chagas-Spinelli, A.C.O., Kato, M.T., LIMA, E.S., GAVAZZA, S. Bioremediation of a tropical clay soil contaminated with diesel oil. *Journal of Environmental Management* p.1-7, 2012.
- Shahsavari, E., Adetutu, E.M., Anderson, P.A. Ball, A.S. (2013). Plant residues - A low cost, effective bioremediation treatment for petrogenic hydrocarbon-contaminated soil. *Science of the Total Environment*, v.443, p. 766–774.
- Silva, Edmilson Pinto, (2004). Avaliação preliminary do potencial de aplicação da tecnologia de biopilhas para a biorremediação do solo de Guamaré-RN. 106 f Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal. Rio Grande do Norte.
- Silva, G. (2011). Bioestímulo e Bioaumento na Remediação de Solo Contaminado com Óleo Lubrificante Usado- *Escala Piloto*. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) Centro de Tecnologia e Ciências. Instituto de Química. Universidade do Estado de Rio Janeiro. P 143.
- Silva, Graciane. (2010). Bioestímulo e Bioaumento na Remediação de Solo Contaminado com Óleo Lubrificante Usado- *Escala Piloto*. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) Centro de Tecnologia e Ciências. Instituto de Química. Universidade do Estado de Rio Janeiro. 143p.
- Silva, Leonardo Jordão (2009). Processo de Landfarming para tratamento de resíduos oleosos tese Mestrado em Processamento. *Gestão e Meio Ambiente na*

Industria do Petróleo e Gás Natural. Escola de química Universidade Federal do Rio de Janeiro 91p.

- Taccari, M., Milanovic, V., Comitini, F., Casucci, C., Ciani, M. (2012). Effects of biostimulation and bioaugmentation on diesel removal and bacterial Community. *Internacional Biodeterioration & Biodegradation* n.66, p.39–46.
- Torres, R.G., Leal, E.R., Martínez-Toledo, Á., Ramos-Morales, F.R., Cruz-Sanchez, J.S. Cuevas-Díaz, M.C. (2011). Uso de cachaza y bagazo de caña de azúcar en la remoción de hidrocarburos en suelo contaminado. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27 (1) 31-39.
- Trinidade, P.V. (2002). Avaliação das técnicas de bioaugmentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solos contaminados por Hidrocarbonetos de petróleo. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química. Universidade Federal de Rio de Janeiro.RJ.
- Zérega M.L. (1993). Manejo y uso agronómico de la cachaza en suelos cañameleros. *Caña de azúcar.* 11, 71-92.

4. RESUMO E CONCLUSÕES.

Os experimentos foram realizados no Setor de Microbiologia do Solo em casa de vegetação, no Laboratório de Solos da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil, em parceria com a Central Analítica Fernanda Coutinho - Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). O objetivo do experimento foi avaliar o potencial da utilização da torta de filtro de cana-de-açúcar e da adubação com NPK na biorremediação de um solo contaminado com óleo diesel proveniente de um acidente na BR 101. Em microcosmos, após 180 dias de condução experimental em laboratório, foram analisados variáveis, liberação de CO₂, carbono orgânico total (COT) e hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) remanescente no solo. Em reatores de cerâmica em casa de vegetação, na presença e ausência de aeração forçada, foram avaliados Unidades Formadoras de Colônias (UFC), Carbono

Orgânico Total (COT), Nitrogênio (N), Fósforo (P) e Potássio (K), e Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP) remanescente no solo.

Diante dos resultados obtidos conclui-se que:

- A presença da torta de filtro para os dois experimentos aumentou significativamente a atividade microbiana, e, portanto, contribuiu para o aumento da biodegradação do óleo diesel;
- A respiração do solo medida pela evolução de CO₂ aumentou no solo contaminado comparado ao controle, provavelmente decorrente da maior disponibilidade de fonte de carbono para os micro-organismos;
- Os experimentos de respirometria em respirômetros de Bartha adaptado e reatores de cerâmica foram uma ferramenta fundamental para avaliar a melhor estratégia de biorremediação a ser adotada;
- As estratégias bioestimulo associada a bioaumento e estruturante (torta de filtro) na presença ou não de aeração forçada, apresentam-se promissoras na remoção de hidrocarbonetos em solos contaminados com óleo diesel.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas de biorremediação constituem uma boa alternativa na descontaminação de ambientes poluídos por petróleo e seus derivados, apresentando, na maioria das vezes, baixo custo de implementação e menor risco ambiental do que as técnicas de limpeza que envolvem processos físicos e químicos. Este processo pode ser auxiliado por técnicas como bioestímulo, introdução de nutrientes através da correlação C:N:P e o bioaumento, que, relacionado com o incremento da população microbiana, pode ser aplicado por meio da adição de micro-organismos indígenas, extraídos e proliferados externamente ao solo de onde foram obtidos. A biorremediação, também pode ser favorecida pela adição de material estruturante, correção de pH, umidade, aeração, entre outros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, M.Z.M. A (2003). Biorremediação como ferramenta para a minimização de problemas ambientais. Monografia (Especialização em Gerenciamento Ambiental) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 56p.
- ANP. Agencia Nacional de Petroleo e Gás. <http://www.anp.gov.br/>. Acesso. 05/05/2015
- Aguiar, R.C; Lopes, B.C; Barbosa, M.V.D. (2012). Fitorremediação de Solos Contaminados por Petróleo. Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas.
- Almeida, M.F.B. (2011) Avaliação de diferentes estratégias de biorremediação de solo argiloso contaminado por óleo em biorreator de fase semi-sólida. Teses de mestrado, programa de pós-graduação em química, da UERJ área de concentração Química Ambiental. 108p.
- Almeida, N.C.D., Tomasella, T.R., Silvio; Kinjo G.S., Franceschi D.A.D. (2013). Study of stillage biodegradation by respirometry in sandy and clay soils. African Journal of Agricultural Research, v. 8, p. 4506-4513.
- Atlas, R.M. (1981) Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. Microbiol. Rev., v. 45. n.1. p.180-208.
- Atlas, R.M. (1997) Applicability of bioremediation to eastern European pollution problems. In: Training Workshop of ics-unido on "Soil Environmental Assesment and Bioremediation Technologies".
- Alves, M.V., Rocha, M.I., Zotin, F.M.Z., Pinto, R.R.C. (2006). Estabilidade e Filtrabilidade do Óleo Diesel. Boletim Técnico da Petrobrás (Online), v. 49, p. 65-71.
- Azevedo, V.L.C. (2006). Tecnologias para remediação de solos Contaminados por derivados de petróleo. Estudo de caso: as tecnologias da biopilha e Dessorção térmica para remediação de solos Contaminados por óleo combustível. Monografia (Especialização em gerenciamento e Tecnologias Ambientais no

- Processo Produtivo) – Universidade Federal da Bahia, Bahia, Salvador, Departamento de Engenharia Ambiental. 49p.
- Barros P.C.S., Costa A.R., Silva P.C., Costa R.A. (2014) Torta de filtro como biofertilizante para produção de mudas de tomate industrial em diferentes substratos. *Revista Verde (Mossoró – RN)*, v. 9, n. 1, p. 265 - 270, Jan – Mar.
- Berger, T M. (2005). Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos totais de petróleo: enfoque na aplicação do processo Terraferm. Tese (Doutorado em Ecologia)– Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 86p.
- Calijuru, M.C., Cunha, D.G.F. (2013) Engenharia Ambiental: conceitos, tecnologia e gestão. Rio de Janeiro, Elsevier.
- Coelho, M.F. (2005). Estudo do uso de fertilizante npk imobilizado na Biorremediação de derrames de petróleo no mar Simulação em laboratório. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Exploração e Produção de Petróleo) – Macaé/RJ, Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense. 36p.
- Corseuil, H.X., Alvarez, P.J.J. (1996) Natural bioremediation perspective for BTXcontaminated groundwater in Brazil: effect of ethanol. *Wat. Sci. Tech.* v. 34. p.311-318.
- Corseuil, H.X., Marins, M.D.M. (1998). Efeitos causados pela mistura de gasolina e álcool em contaminações de águas subterrâneas. *Boletim Técnico Petrobrás.* v.41. p.133-138.
- Conab: Companhia Nacional de Abastecimento (CCNA) (2015). Publicação integrante do Observatório Agrícola Acomp. safra bras. cana-de-açúcar, v. 1 – Safra 2014/15, n.4. Quarto Levantamento, Brasília, p. 1-29, abr. 2015. Disponível também em: <<http://www.conab.gov.br>>
- Cunha, C.D., Leite, S.G.F., Rosado, A.S., Rosário, M, (2008) Biorremediação de água subterrânea contaminada com gasolina e análise molecular da comunidade bacteriana presente. Rio de Janeiro: CETEM/MCT. 45p. *Tecnologia Ambiental*, 47).

- Dal Forno, R.G. (2006). Avaliação da poluição do solo por derivados de petróleo e sua remediação. Pós Graduação em Ciência do Solo, (Mestrado em Ciência do Solo) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- Dawson J.J.C., Godsiffe E.J., Thompson I.P., Terceira Ralebitso -T.K., Killham K.S., Paton G.I. (2007): "A aplicação de indicadores biológicos para avaliar que a recuperação de hidrocarbonetos impactado solos" *Soil Biology & Biochemistry*. 39,164-177.
- De Souza, R.B., Maziviero, T.G., Christofolletti, C.A., Pinheiro, T.G., Fontanetti, C.S. (2013) Soil Contamination with Heavy Metals and Petroleum Derivates: Impact on Edaphic Fauna and Remediation Strategie. *Soil Processes and Current Trends in Quality Assessment*. <http://dx.doi.org/10.5772/52868>.
- DEMEC (2013) Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais. Disponível em:
<<http://www.demec.ufmg.br/disciplinas/ema003/liquidos/diesel/especifici.htm>>.
Acessado em 08/04/2013].
- Dematê, J.L.I. (1992). Uso Agronômico de Resíduos x Fertilizantes na Cultura da Cana-de-açúcar. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 20, Piracicaba. Resumos. Piracicaba: Fundação Cargill, p. 213-252.
- Eweis J.B., Ergas S.J., Chang, D.P., Shroeder, E.D. (1999). Princípios de Biorrecuperação. McGraw Hill. Madrid, 327p.
- EPA: Environmental Protection agency, United States. 2006. Method 8260C: Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry(GC/MS), Disponível em:
<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/new-meth.htm>. Acesso em junho de 2013.
- Fetter. C.W. (1993). Contaminant Hidrogeology. New York: Macmillan. Galdino, C.A.B., Santos, E.M.dos, Pinheiro, J.I. (2004) Marques Júnior, S. Passivo ambiental: revisão teórica de custos na indústria do petróleo. *Revista Produção*, 14:54-63.

- Gad, G. (2005). A parthenogenetic, simplified adult in the life cycle of *Pliciloricus pedicularis* sp. n. (Loricifera) from the deep sea of the Angola Basin (Atlantic). *Org. Divers. Evol.*, 5 S1, 77–103.
- Gaylarde, C C., Bellinaso, M.L., Manfio, G.P. (2005). Biorremediação Biotecnologia ciência & Desenvolvimento, ano 8, n. 34, p, 36-43. Jan /jan.
- González, I.V. R., Fava, F., Poggi-Varaldo, H.M. (2008) A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments. *Microbial Cell Factories* 7:5 doi:10.1186/1475-2859-7-5.
- Haitash, A.K., Kaushik, C.P. (2009) Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review, *J. Hazard. Mater.* 169:1- 15.
- Hoff, R.Z. (1993). Bioremediation: an overview of its development and use for oil spill cleanup, *Marine Pollution Bulletin.* v. 26. p.476-481.
- Jagtap, S.S., Woo, S.M., Kim, T.S., Dhiman, S.S., Kim, D & Lee, J. K. (2014). Fitorremediação e sacarificação do solo contaminado com óleo diesel a biomassa resultante. *Combustível*, 116, 292-298.
- Jorgensen, K.S., Puustinen, J., Suorti, A.M. (2003). Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting biopiles. *Environmental Pollution.* v. 107, p.245-254.
- Khan, F.I., Husain, T., Hejazii, R. (2004). An Overview and Analysis of Site Remediation Technologies. *Jornal of Environmental Management*, v. 71, p.95-122.
- Kieh, E. J. (1981). Preparo do composto na fazenda. *Casa da Agricultura*, Campinas: v.3, n.3, p.6-9.
- Kiehl, E.J. (1998). *Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto.* Piracicaba.
- Lalli, C., Russel, M. (1996). Soil and water bioremediation using bioreactors. Disponível em: [ewr, cee, vt, edu/environmental/teach/gwprimer/bior.html](http://ewr.cee.vt.edu/environmental/teach/gwprimer/bior.html). Acesso em 24 Set. 2014.
- Leahy, J.G., Colwell, R.R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the Environment. *Microbiological Reviews*, v, 54, n.3, p. 305-315.

- Lindstrom, J.E., Prince, R.C., Clark, R.C., Grossman, J.C., Yeager, T.R., Braddock, J. F., Brown, E.J. (1991). Microbial populations and hydrocarbon biodegradation potentials in fertilized shoreline sediments affected by the T/V Exxon Valdez oil spill. *Appli. Env. Micro*, v.57. p.2514-2522.
- Lima, C.A. (2004). Quantificação do decréscimo do associado à biorremediação de um solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo, 2004. f, dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos)-Escola Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Leal, M.G., Moura, M.C.P., Silva, A.V. (2012). Cogeração de energia através do tratamento de solos contaminados com hidrocarbonetos. *e-xacta*, Belo Horizonte, v. 5, n. 1, p. 133-158. Editora UniBH. Disponível em: www.unibh.br/revistas/exacta/
- Marques, M. (2007). Fitorremediação de solos multi-contaminados por HPAs e metais pesados a partir de óleo lubrificante usado. Projeto aprovado pelo Edital Universal CNPq No 15/2007, Processo 475644/2007 no âmbito de Programa de Pesquisa Científica. Tecnologia e Inovação MCT/CNPq.
- Mariano, A.P., Bonotto, D.M., angelis, D.F., Pirôllo M.P.S., Contiero, J. (2008). Biodegradability of commercial and weathered diesel oils. *Brazilian Journal of Microbiology*, n.39, p.133-142.
- Mariano, A.P. (2006). Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel. Tese (Doutorado em Geociências e Meio Ambiente), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 162p.
- Millioli, V.S. (2009). Avaliação da potencialidade da utilização de surfactantes na biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo. Tese (doutorado em processamento, Gestão e Médio Ambiente na Indústria do Petróleo e Gás Natural) escola de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 200p.
- Miroslav, N., Hoakova, D. (1996). Mixture of microorganismos, its use for biodegradation of hydrocarbons, as well as process for its application. Patent Number: US 5575998.

- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (2006). Microbiologia e Bioquímica do Solo. 2 ed Lavras UFLA, 729p.
- Molina-Barahona, L., Rodríguez-Vázquez, R., Hernandez_Velasco, M., Verga-Jaquín, C., Zapata-Pérez, O., Mendoza-Cantú, A., Albores, A. (2004) Dieselrenewal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. *Applied Soil Ecology*, v. 27, n 2. p165-175.
- Nakagawa, L.E., Andréa, M.M. (2006). Efeito de alterações nas Características do Solo sobre a Degradação de Hexaclorobenzeno. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, V.30, p.575-582.
- Nunes Junio, D. (2008). Torta de Filtro: de residuo a produto nobre. *Revista Ideas News*, Ribeirão preto- SP, v.8 n.92,p 22-30.
- Oliveira, D.S., Baisch, P.R.M., Machado, M.I. (2007). Degradação de petróleo em ambientes estuarino da lagoa dos patos através de um derrame induzido. In: Congresso Brasileiro de Pesquisa de Desenvolvimento em Petróleo e Gas. 4 Campinas Sp. Anais PDPETRO.
- Oudot, J., Merlin, F.X., Pinvidic, P. (1998). Weathering rates of oil Component in a bioremediation experimnet in Estuarine sediments, *Mar. Environ. Res.* 45, 113-125p.
- Pedrozo, M.F.N., Barbosa, E, M., Corseul, H.X., Shneider, M. R., Linnhares, M. M. (2002). Eco toxicologia e avaliação de risco do petróleo. Salvador: Centro de Recursos Ambientais, 246p. (Caderno de Referencia Ambiental, 42).
- Pereira B.R. (2012). Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC. 140p.
- Pereira Neto, J.T. (1996) Manual de Compostagem. Belo Horizonte – UNICEF – 56 p.

- PETROBRAS (2010). Bunker. Produtos e Serviços. Disponível em: [HTTP://www2.petrobras.com.br/produtos_servicos/port/produtos](http://www2.petrobras.com.br/produtos_servicos/port/produtos). Acesso em: 11 de fevereiro de 2015.
- Reginatto, C., Colla, L.M. (2011). Thomé, A. Biorremediação de resíduos oleosos em solos. *Revista CIATEC – UPF*, vol.3 (2), p.p.19-31.
- Riser-Roberts, E. (1998). Remediation of petroleum contaminated soils: biological. Physical, and chemical processes.
- Rizzo, A.C.L., Leite, S.G.F., Soriano, A.U., Santos, R.L.C., Sobral, L.G.S. (2006). Biorremediação de solos contaminados por petróleo: ênfase no uso de biorreatores. Rio de Janeiro: CETEM/MCT. 76p. (Tecnologia Ambiental. 37).
- Rosa, R. (2003). Excursão de Campo à Bacia do Recôncavo com a Universidade Federal da Bahia (UFBA); Roteiro de Campo. PETROBRÁS – UN-BA/ATEX/GL, Salvador.
- Rosato, Y.B. (1997). Biodegradação de petróleo. In: Melo. I. S. Azevedo. J. L. (eds), *Microbiologia Ambiental*, p. 307, Jaguariúna, Embrapa – CNPMA.
- Santos, D.H., Tiritan, C.S., Foloni, J.S.S. (2012). Efeito residual da adubação fosfatada e torta de filtro na brotação de soqueiras de cana-de-açúcar. *Revista Agrarian*. Dourados, v.5, n.15, p.1-6.
- Semple K.T., Reid B.J., Fermor T.R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollut.* 12: p269-283.
- Silva, g. (2011). Bioestímulo e Bioaumento na Remediação de Solo Contaminado com Óleo Lubrificante Usado- *Escala Piloto*. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) Centro de Tecnologia e Ciências. Instituto de Química. Universidade do Estado de Rio Janeiro.. P 143.
- Silva, G. (2010). Biopile to treat oil-contaminated soils: Brazilian Experience. In: Linnaeus ECO-TECH'10, Kalmar. Conference on Natural Sciences and Environmental Technologies for Waste and Wastewater Treatment, Remediation,

- Emissions Related to Climate, Environmental and Economic Effects. Kalmar: Linnaeus EcoTech'10. v. 1. p. 1-15.
- Souza, E.S. (2003). Desenvolvimento de métodos de biorremediação aplicados a derrames de petróleo em água do mar- Testes laboratoriais. Tese de Doutorado em Engenharia de Reservatório e de Exploração de Petróleo, Universidade Estadual do Norte Fluminense/ Centro de Ciências e Tecnologia/UENF, RJ. 297p.
- Terekhova V.A. (2011). "Soil Bioassay: problems and approaches" *Eurasian Soil Science* 44, 2, 173–179.
- Tonini, R.M.C.W., Rezende C.E., Grativo, A.D. (2010) Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: revisão. *Oecol. Aust.*, 14(4): 1027-1035.
- Torres, R.G., Leal, E.R., Martínez-Toledo, A., Ramos-Morales, F.R., Cruz-Sanchez, J. S., Cuevas-Díaz, M. C. (2011). Uso de cachaza y bagazo de caña de azúcar en la remoción de hidrocarburos en suelo contaminado. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27 (1) 31-39.
- Trinidade, P.V. (2002). Avaliação das técnicas de bioaumentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solos contaminados por Hidrocarbonetos de petróleo. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química. Universidade Federal de Rio de Janeiro.RJ.
- Trindade, P.V.O., Sobral, L.G., Rizzo, A.C.L., Leite, S.G.F., Soriano, A.U. (2005) Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study. *Chemosphere*, Rio de Janeiro, v. 58, n.4, p. 515 – 522.
- Santos, D.H., Tiritan, C.S., Foloni, J.S.S. (2012). Efeito residual da adubação fosfatada e torta de filtro na brotação de soqueiras de cana-de-açúcar. *Revista Agrarian*. Dourados, v.5, n.15, p.1-6.
- Schneider, C.F., Schulz, D.G., Lima, P R., Júnior, A.C.G. (2012). Formas de gestão e aplicação de resíduos da cana-de-açúcar visando redução de impactos ambientais. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, (Mossoró – RN), v. 7, n. 5, p. 08-17, dezembro de (Edição Especial).

- Ugochukwu, S.C., Uche, A.I.; Ifeanyi, O. (2013). Preliminary phytochemical screening of different solvent extracts of stem bark and roots of *Dennetiatripetala*. G. Baker. *Asian Journal of Plant Science and Research* 3(3):10-13.
- UNICA: <http://www.unicadata.com.br/> acesso 24/06/2015. Departamento de Economia e Estatísticas.
- Vallejo, V., Salgado, L., Roldan, F. (2005). Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. Bioestimulación process during the biodegradation of THH in oil contaminated soil. *Rev. colomb. Biotecnol.* v.8, p.67-78.
- Van Beelen, P., Doelman, P. (1997). "Significado e aplicação de testes de toxicidade microbianos na avaliação dos riscos ecotoxicológicos de contaminantes no solo e sedimentos." *Chemosphere* 34, 455-499.
- Vitti, G.C., Oliveira, D.B. de., Quintino, T.A. (2006). Micronutrientes na cultura da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. et al. (Org.). *Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba: CP 2. p. 121-138.
- Zílio, E.L., Pinto, U.B. (2002). Identificação e distribuição dos principais grupos de compostos presentes nos petróleos brasileiros. *Boletim Técnico da PETROBRAS*, Rio de Janeiro, 45:21-25.
- Zobell, C.E. (1946). Action of microorganisms on hydrocarbons. *Bacteriological Reviews*, Baltimore, v. 10, n. 1-2, p. 1-49.
- Wang, J.X., Zhang, L., Zhou, Y.L. (2010). O tratamento indicadores biológicos capazes de avaliar a eficiência térmica da mistura de hidrocarbonetos do solo contaminado. *Chemosphere* 80, 837-844.
- Wang, S., Nomura, N., Nakajima, T., Uchiyama, H (2012). Case study of the relationship between fungi and bacteria associated with high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, n.113, p.624–630.
- Wise, D.L., Trantolo, D.J., Cichon, E.J., Inyang, H.I. (2000). Stottmeister, U. *Remediation Engineering of contaminated Soils*, CRC Press, 996p.

www.ics.trieste.it/documents/chemistry/remediation/publications/Soil1997/.%5C10_Atlas.pdf. Acesso em: Junho de 2013.

APÊNDICE

Tabela 1. Análise da variância das características químicas e biológicas do solo com diferentes tratamentos contaminados com diesel, com e sem aeração forçada, avaliadas no primeiro, 60, 120 e 180 dias de incubação em reatores de cerâmica.

FV	GL	N (%)		C (%)		H (%)		P (mg kg ⁻¹)		K (mg kg ⁻¹)		PH		NMP	
		QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F
Trat. (T)	4	0,7060	25,72**	18,2354	520,38**	0,1634	10,63**	17329,75	144,75**	186670,3	913,39**	0,6588	115,72**	423827,9	46,27**
Aeração (A)	1	0,1155	0,41 ^{ns}	0,8418	2,40 ^{ns}	0,1296	0,84 ^{ns}	294,25	2,5**	352,08	1,72**	0,6956	1,22 ^{ns}	2710,85	0,29 ^{ns}
Aval. (E)	1	0,8941	325,83**	0,9482	27,06**	6,5099	423,40**	7708,75	64,25**	803,60	3,93**	6,9769	1225,40**	116187,8	12,68**
Int. (TxA)	4	0,8959	0,31 ^{ns}	0,9537	2,72**	0,7877	2,52**	237,50	1,98**	265,67	1,3**	0,8978	0,15 ^{ns}	21509,1	2,34 ^{ns}
Int. (TxE)	4	0,2120	0,77 ^{ns}	0,3317	9,46**	0,1790	1,16 ^{ns}	1587,00	13,3**	714,98	3,50**	0,4363	76,65**	45157,17	4,93**
Resíduo	45	0,2744		0,3504		0,1537		120,25		204,37		0,5693		9159,67	
C.V.(%)=			1,10		6,69		12,76		12,84		11,84		1,10		28,61

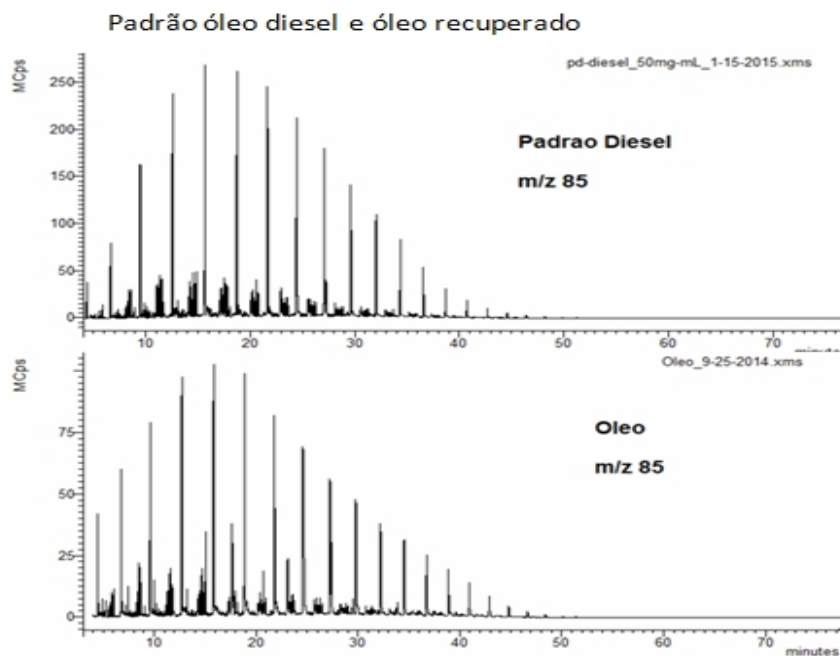
**Efeito significativo e ^{ns} Não significativo segundo o Teste F (P<0,05).

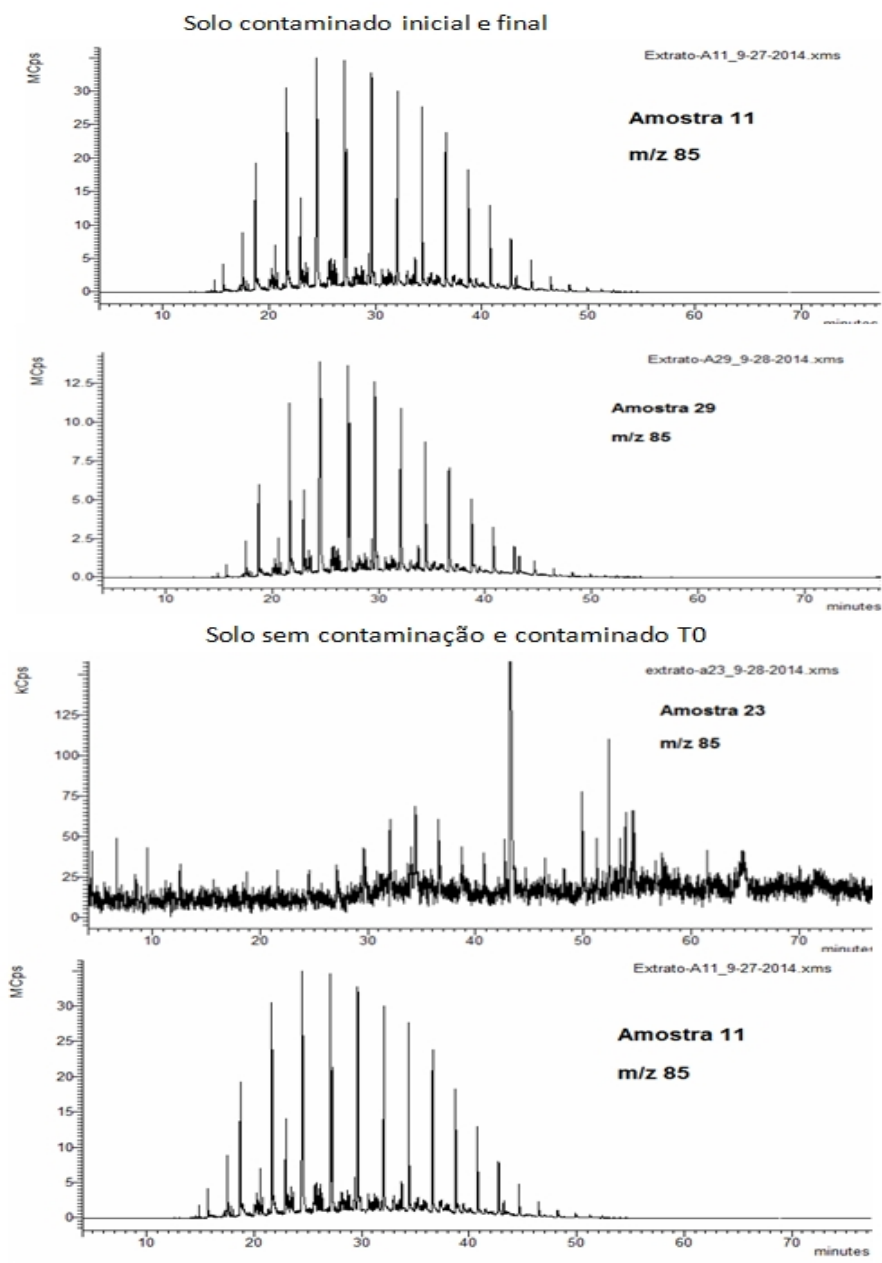
Tabela 2. Análise da variância das características químicas e biológicas do solo com diferentes tratamentos contaminados com diesel, com e sem aeração por agitação, avaliadas no primeiro e 180 dias de incubação em microcosmos.

FV	GL	N (%)		C (%)		H (%)		P (mg kg ⁻¹)		K (mg kg ⁻¹)		PH		NMP	
		QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F
Trat. (T)	4	0,0437	20,15**	5,0759	537,86**	0,0264	10,23**	69319,00	578,9**	933351,30	5480,33**	0,8923	0,68**	1285702	830,30**
Aeração (A)	1	0,0777	35,85**	0,0163	1,71**	0,0614	23,72**	1177,49	9,83**	1760,42	10,34**	5,8219	44,70**	123798	7,99**
Aval. (E)	1	0,4824	222,42**	1,7992	190,64**	0,4968	191,78**	30835,73	257,52**	4018,02	23,59**	4,0508	31,10**	4454641	2876,00**
Int. (TxA)	4	0,0006	0,29 ^{ns}	0,0127	1,35**	0,0105	4,09**	950,28	7,94**	1328,37	7,80**	0,0059	0,04 ^{ns}	129241	8,34**
Int. (TxE)	4	0,0018	0,86 ^{ns}	0,0961	10,19**	0,0379	14,63**	6348,26	53,02**	3574,89	20,99**	0,0410	0,32 ^{ns}	8950377	578,01**
Resíduo	45	0,0021		0,0094		0,0026		119,74		170,30		0,1302		15484	
C.V.(%)=			6,21		3,34		10,32		16,11		4,45		5,56		2,94

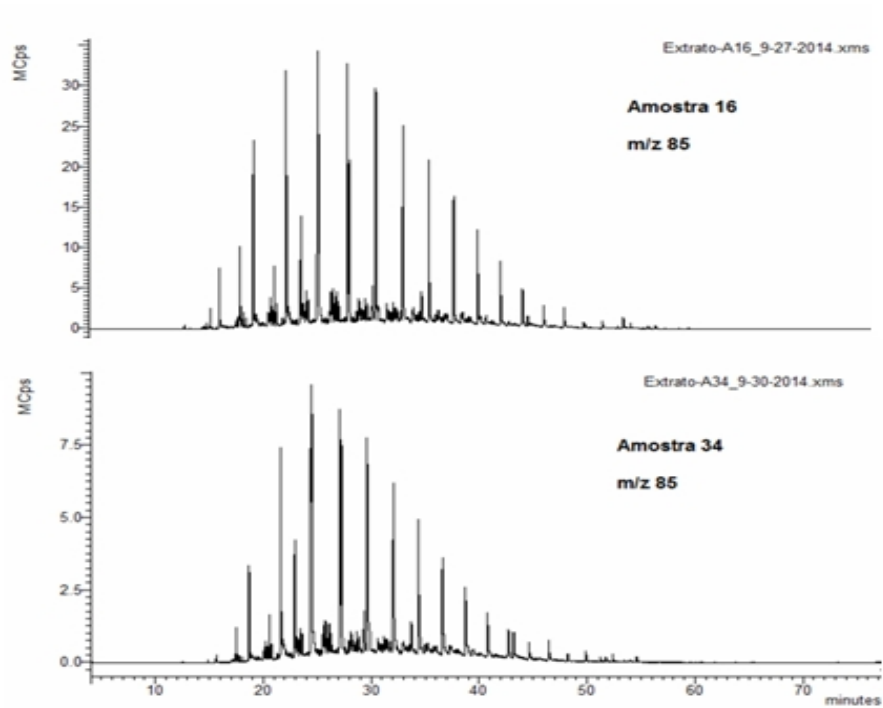
**Efeito significativo segundo o Teste F (P<0,05).

PERFIS CROMATOCRÁFICOS DO TEMPO INICIAL E FINAL

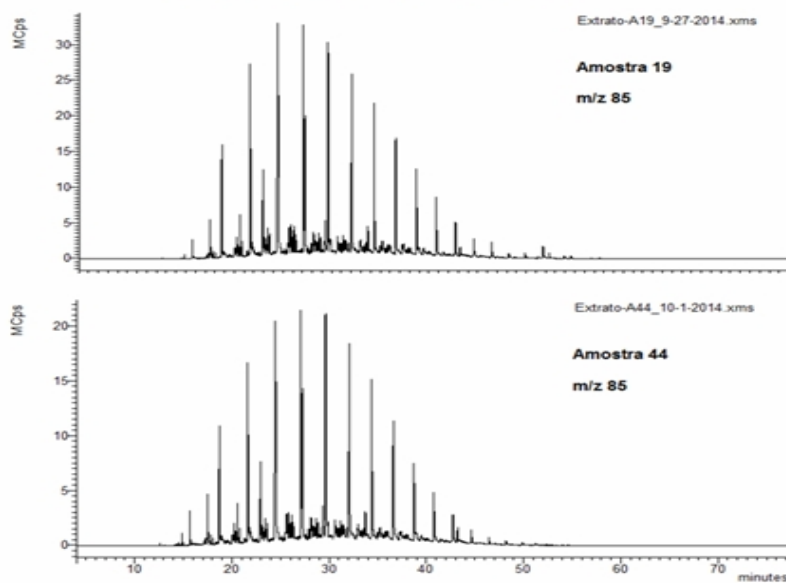




Solo contaminado trota de filtro T0 e Tfinal



Solo contaminado NPK T0 e Tfinal



Solo contaminado torta de filtro NPK T0 e T final

