



CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

**AVALIAÇÃO DA GERAÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS E EMPREGO DO BIOFERTILIZANTE NA
REMEDIÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR
HIDROCARBONETOS**

Munique Marder

Lajeado, novembro de 2015



Munique Marder

**AVALIAÇÃO DA GERAÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS E EMPREGO DO BIOFERTILIZANTE NA
REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR
HIDROCARBONETOS**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas do Centro Universitário UNIVATES, como parte dos requisitos para a obtenção do título de bacharela em Engenharia Ambiental.

Professora: Dra. Camille Granada

Lajeado, novembro de 2015

RESUMO

A utilização de combustíveis fósseis como fonte de energia pode gerar impactos ambientais tais como emissão de gases poluentes e contaminação de solos. Uma alternativa para minimização destes impactos é o aproveitamento do resíduo da biodigestão da matéria orgânica em ambiente anaeróbico, utilizado na produção de biogás. O uso desta tecnologia, além de gerar um gás com alto teor calorífico, produz um efluente estabilizado (biofertilizante) que, quando disposto em solos, tem o potencial de incrementar os nutrientes, tornando-os mais ricos e com maior desenvolvimento da comunidade microbiana. Em áreas onde estão localizados postos de gasolina, vazamentos de derivados de petróleo causam a contaminação dos solos, sendo necessário um tratamento que vise à redução das quantidades de poluentes e evite que esta contaminação escoe para os lençóis freáticos. A técnica de biorremediação pode ser uma alternativa eficiente e de baixo custo para o tratamento destes solos. Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial dos resíduos de uma indústria alimentícia e frigorífico de suínos e aves na geração de biogás e utilizar o biofertilizante obtido pelo processo de biodigestão anaeróbia na biorremediação de solos contaminados com gasolina. Os resíduos agroindustriais submetidos à digestão anaeróbia geraram aproximadamente 13L de biogás, dentre este volume, aproximadamente 10L foi de metano (CH_4). As análises físico-químicas do biofertilizante mostraram redução dos sólidos totais (ST), demanda biológica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), carbono (C) e nitrogênio (N), confirmando que houve degradação da matéria orgânica pelos microrganismos. No experimento de biorremediação os tratamentos de solo contaminado (SC) e solo contaminado mais biofertilizante (SCB) apresentaram redução significativa dos hidrocarbonetos, todos variando de 80 a 100% de remoção. Ao longo do experimento, foi verificado que a detecção dos hidrocarbonetos em SCB foi menor que SC, fato que possivelmente ocorreu pela adição de matéria orgânica que auxilia na retenção dos hidrocarbonetos no solo. Com a análise dos dados apresentados, pode-se concluir que os resíduos da indústria alimentícia e frigorífico são bons produtores de biogás quando dispostos em ambiente anaeróbico e que o aumento de matéria orgânica em solos contaminados aumenta a retenção dos hidrocarbonetos neste ambiente e não influencia na velocidade de degradação dos mesmos.

Palavras-chave: Substratos. Energia renovável. Biorremediação. Hidrocarbonetos.

ABSTRACT

The use of fossil fuel as a source of energy can generate environmental impacts such as emission of pollutant gases and soil contamination. An alternative to minimize from these impacts is the use of waste from the biodigestion of organic material in anaerobic environment, used in the biogas production. The use of this technology, besides generating gas with a high calorific content, produces a stabilized effluent (biofertilizer) that, when arranged on soils, has the potential to increase the nutrients, making them richer and with a greater development of the microbial community. In areas where gas stations are located, leaks of petroleum products cause soil contamination, which needs a treatment aiming the reduction of the amounts of pollutants, and avoiding the contamination from flowing to the groundwater. The technique of bioremediation can be an efficient alternative and with a low cost for the treatment of these soils. Thus, this study aimed to assess the potential of the waste from a food industry and swine and poultry slaughterhouse in biogas generation and use bio-fertilizer obtained by the process of anaerobic biodigestion in bioremediation of soils contaminated by gasoline. The agro-industrial waste subjected to anaerobic digestion generated approximately 13L of biogas, from this volume, approximately 10L was of methane (CH₄). The physicochemical analyses of the biofertilizer showed a reduction of total solids (TS), biochemical oxygen demand (BOD), chemical oxygen demand (COD), carbon (C), and nitrogen (N), sustaining that there was degradation of organic material by the microorganisms. In the experiment of bioremediation, the treatments of contaminated soil (CS) and contaminated soil plus bio-fertilizer (CSB) showed a significant reduction of hydrocarbons, all of them varying from 80 to 100% of removal. Throughout the experiment, it was found that the detection of hydrocarbons in contaminated soil plus bio-fertilizer was lower than in contaminated soil, fact that probably occurred due to addition of organic material that helps in the retention of hydrocarbons in the soil. With the analysis of the presented data, we can conclude that the waste of food industry and slaughterhouse are good biogas producers when they are in anaerobic environment, and that the increase of organic material in contaminated soils increases the retention of hydrocarbons in this environment and it doesn't influence on the speed of their degradation.

KEYWORDS: Substrate. Renewable energy. Bioremediation. Hydrocarbons.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e força para superar os desafios.

Aos meus pais Vanderlei e Valquiria por terem deixado seus sonhos de lado para conquistar o meu, pelo amor, carinho, paciência e apoio em todos os momentos difíceis.

Ao meu namorado Luciano Haas que me acompanhou, ajudou, motivou e teve muita paciência durante a realização deste trabalho.

A minha orientadora Prof. Dra. Camille Granada, pelo auxílio, dedicação, conhecimento, disponibilidade de tempo, carinho e principalmente pela paciência nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. Odorico Konrad pela disponibilidade do laboratório para realização do experimento de geração de biogás, pelo aprendizado durante o período de bolsista no Laboratório de Biorreatores e amizade conquistado ao longo destes anos.

A Prof. Maria Cristina de Almeida Silva pelas dicas e informações na discussão dos resultados do trabalho de conclusão do curso.

Aos meus colegas do Laboratório de Biorreatores, que sempre estiveram dispostos a me ajudar e me apoiar, me aguentando nos momentos difíceis, especialmente a Camila Hasan e Marluce Lumi que me deram dicas na elaboração do trabalho.

A Prof. Dra. Christina Christina Venzke Simões de Lima pelas dicas e auxílio na elaboração do referencial teórico.

Ao Vinicius e à Martha que me auxiliaram durante as análises no TECNOVATES.

Aos meus amigos e familiares que tiveram paciência e entenderam o meu afastamento durante este período.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química de alguns compostos de HPAs	28
Figura 2 - Esquema da ação dos microrganismos durante o processo de biorremediação.....	30
Figura 3 - Tratamentos utilizados no processo de biorremediação. Solo (A), Solo e com biofertilizante (B), Solo Contaminado (C), Solo Contaminado e com biofertilizante (D) e todos os tratamento juntos (E).	40
Figura 4 - Geração de biogás durante o experimento de digestão anaeróbia	43
Figura 5 - Análise de ST, SV e SF (A), DBO (B), DQO (C) e C (D) e N (E) no início e fim do experimento. As médias foram comparadas pelo teste t de Student com nível de siginificância $p < 0,05$ (*), 0,01(**) e 0,001(***)	44
Figura 6 - Remoção dos hidrocarbonetos nos tratamentos (A) Solo Contaminado - SC e (B) Solo Contaminado e com Biofertilizante - SCB durante o período de experimentação	48
Figura 7 - Comparação dos hidrocarbonetos dos dois tratamentos (SC e SCB) no início (A) e fim (B) do experimento.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros para prevenção e investigação de algumas substâncias químicas estabelecidas pelo CONAMA	25
Tabela 2 - Critério de classificação de líquidos inflamáveis	26
Tabela 3 - Fórmula molecular e estrutura química dos compostos BTEX.....	27
Tabela 4 - Análises químicas do solo do município de Charqueadas e do húmífero	34
Tabela 5 - Caracterização do solo utilizado no experimento de biorremediação	46
Tabela 6 - Interpretação de teores de argila e de matéria orgânica e CTC a pH _{7,0} do solo	46
Tabela 7 - Interpretação dos teores de micronutrientes no solo	47
Tabela 8 - Hidrocarbonetos identificados por GC-MS no Solo Contaminado (SC) e no Solo Contaminado e com Biofertilizante (SCB) selecionados para este trabalho.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL	Microlitro
μm	Micrometro
B	Boro
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno e Xileno
C	Carbono
Ca	Cálcio
CH_4	Gás Metano
Cl	Cloro
CO	Monóxido de carbono
CO_2	Dióxido de carbono
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTC	Capacidade de troca iônica
Cu	Cobre
Cmolc	centimol de carga
dm^3	Decímetro cúbico
Da	Daltons
DBO_5	Demanda Biológica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPE	Empresa Nacional de Pesquisa Energética
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes

eV	Elétron volt
Fe	Ferro
FEPAGRO	Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária
FISPQ	Ficha de Informação de Segurança do Produto Químico
g	Gramas
H	Hidrogênio
H ₂	Gás hidrogênio
H ₂ O	Água
H ₂ S	Gás Sulfídrico
He	Hélio
HPAs	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HTP	Hidrocarbonetos totais de petróleo
IARC	Agência Internacional de Pesquisa de Câncer
K	Potássio
kg	Quilograma
kPa	Quilopascal
kWh	Quilowatt-hora
L	Litros
m z ⁻¹	Relação massa molecular e número atômico
m	Metros
m ³	Metros cúbicos
Mg	Magnésio
mg	Miligramas
min	Minutos
mm	Milímetros
mL	Mililitros
Mn	Manganês
MJ	Megajoule
Mo	Molibdênio
MO	Matéria Orgânica
N	Nitrogênio
N ₂	Gás Nitrogênio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NH ₃	Gás amônia

NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
O ₂	Gás oxigênio
O ₃	Trióxido de enxofre
°C	Graus Celsius
OD	Oxigênio dissolvido
P	Fósforo
pH	Potencia hidrogeniônico
PTFE	Politetrafluoretileno
RS	Rio Grande do Sul
S	Enxofre
SASC's	Sistemas de Abastecimentos Subterrâneos de Combustíveis
SF	Sólidos fixos
SO ₂	Dióxido de enxofre
SO ₃	Trióxido de enxofre
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis
UPL	Unidade produtora de leitões
VRQs	Valores de referência de qualidade
WTW	Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.2. Objetivos.....	14
1.2.1. Geral	14
1.2.2. Específicos	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1. Matriz Energética e Elétrica brasileira	15
2.1.1. Energias Renováveis.....	16
2.1.1.1. Biomassa	16
2.1.1.2. Biogás.....	18
2.1.1.3. Biofertilizante.....	19
2.1.1.4. Aplicação em solo	20
2.2. Dinâmica do solo.....	21
2.2.1. Microrganismos no solo	22
2.2.2. Contaminação dos solos por compostos orgânicos	23
2.2.3. Características dos contaminantes - Gasolina	26
2.2.4. Alternativas de tratamento de solos contaminados	29
2.2.5. Biorremediação	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1. Geração de biogás.....	36
3.1.2. Caracterização do efluente de pós-digestão anaeróbia (Biofertilizante)	37
3.2. Experimento de biorremediação	38

3.2.1. Coleta do solo	39
3.2.2. Caracterização do solo	39
3.2.3. Elaboração dos tratamentos	39
3.2.4. Identificação dos compostos hidrocarbonetos de gasolina	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1. Geração de biogás.....	42
4.2. Caracterização do solo	46
4.3. Identificação dos compostos hidrocarbonetos de gasolina	47
5 CONCLUSÕES.....	51
5.1. Sugestões para os próximos trabalhos	51
REFERÊNCIA.....	53

1 INTRODUÇÃO

Os impactos causados ao meio ambiente são preocupantes para o mundo, e o consumo altamente dependente de combustíveis fósseis é uma problemática cada vez mais discutido (GUERRA, 2014). Uma alternativa para reduzir esta dependência é o uso de energias renováveis (denominadas energias do futuro) que não geram tantos impactos e sua aplicabilidade vem crescendo (GOLDEMBERG, 2012).

Fontes renováveis de energia recebem cada vez mais atenção como substitutos dos combustíveis fósseis, porém, a implementação de energias “limpas” no mercado depende basicamente de sua competitividade e, a utilização de resíduos agroindustriais, pode ser uma alternativa para redução de custos, aumentando assim, a atratividade desta para o mercado (MOTA et al., 2009; KOLESÁROVÁ et al., 2009). Os subprodutos de origem agroindustrial podem trazer este tipo de benefício, pois quando tratado em biodigestores, a biomassa proveniente de dejetos de animais e resíduos industriais, domésticos/urbanos, convertem parte da matéria orgânica em uma mistura de gases com potencial energético, além de se obter como resíduo final um biofertilizante (REIS, 2010). Os biofertilizantes podem ser aplicados em solos agrícolas para o enriquecimento da microbiota, no entanto, pouco se sabe sobre os benefícios que este poderia trazer por meio do seu emprego em áreas com solos contaminados.

A contaminação do solo é causada pela introdução de químicos ou alteração do ambiente do solo pela ação do homem. Essas substâncias químicas levam à poluição do solo e, direta ou indiretamente, à poluição da água e do ar. Entre esses químicos, os mais comuns

são os hidrocarbonetos de petróleo, metais pesados (como o chumbo, cádmio, mercúrio, cromo e arsênio), pesticidas e solventes.

Sabe-se que o combustível fóssil, conhecido como petróleo (líquido formado naturalmente com variável composição) é uma mistura complexa de hidrocarbonetos, que apresenta uma composição baseada em hidrogênio (H)-C, assim como quantidades de enxofre (S), nitrogênio (N), metais e alguns outros elementos. As principais vias de contaminação do solo e da água por subprodutos de petróleo são: vazamento de tanques subterrâneos, disposição inadequada de resíduos e derrames acidentais. Estas contaminações ocorrem frequentemente em áreas reservadas a postos de gasolina e indústrias (NADIM et al., 2000). Altas concentrações destes contaminantes no solo podem resultar em uma série de consequências negativas para a cadeia alimentar, atingindo os vários ecossistemas e, conseqüentemente, o homem (RODRIGUES; DUARTE, 2003).

Contudo, uma alternativa para o tratamento dos solos contaminados por compostos poluentes derivados do petróleo é a degradação destes contaminantes por microrganismos nativos do solo ou inoculados. A inoculação de microrganismos para a degradação de hidrocarbonetos do petróleo no ambiente pode ser um método de tratamento econômico, eficiente, versátil e ambientalmente correto. A aplicação de fertilizantes aumenta a disponibilidade de nutrientes, particularmente C, N e fósforo (P), o que facilita a biodegradação e torna o método extremamente promissor e de grande potencial na pesquisa (AGARRY; OWABOR; YUSUF, 2010).

O lodo resultante da digestão anaeróbia (biofertilizante) é rico em matéria orgânica e nutrientes como C, P, N e o potássio (K) (SCHIEVANO; D'IMPORZANO; ADANI, 2009). A inoculação deste biofertilizante no solo pode estimular a comunidade microbiana a degradar compostos poluentes como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX) e HPAs, por meio da técnica de biorremediação. Nesse sentido, o presente estudo buscou avaliar se a mistura de resíduos de uma indústria, frigorífico de suínos e aves e dejetos suíno, possui potencial de geração de biogás, e se o efluente de pós-digestão anaeróbia (biofertilizante) é capaz de estimular a microbiota nativa dos solos e acelerar a biodegradação de hidrocarbonetos de gasolina, por meio da técnica de biorremediação.

1.2. Objetivos

1.2.1. Geral

Avaliar se os resíduos agroindustriais possuem potencial para geração de biogás e se o efluente de pós-digestão anaeróbia (biofertilizante) é capaz de acelerar a biodegradação de hidrocarbonetos em solos contaminados com gasolina.

1.2.2. Específicos

- Avaliar a geração de biogás de mistura de resíduos de uma indústria, frigorífico de suínos e aves e dejetos suíno;
- Avaliar o potencial hidrogeniônico (pH), C, N, DBO, DQO, ST, sólidos voláteis (SV) e sólidos fixos (SF) do biofertilizante resultante do processo de digestão anaeróbia, no início e ao final do experimento;
- Caracterizar o solo utilizado no experimento de biorremediação quanto a quantidade de argila, matéria orgânica (MO), pH, Capacidade de Troca Catiônica (CTC a pH_{7,0}) e micronutrientes como Boro (B), Zinco (Zn), Manganês (Mn) e Cobre (Cu)
- Avaliar se a adição do biofertilizante ao solo contaminado com gasolina acelera a biodegradação dos hidrocarbonetos presente na gasolina;

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Matriz Energética e Elétrica brasileira

O Brasil é um grande produtor de energia primária, mas esta produção não atende totalmente a demanda necessária no país, necessitando de fontes importadas. A produção de energia primária no Brasil é bastante diversificada em termos de fontes renováveis e não renováveis, no entanto, o consumo interno ainda é altamente dependente de combustíveis fósseis (GUERRA, 2014).

Segundo o Balanço Energético Nacional (BEN) divulgado pela Empresa Nacional de Pesquisa Energética (EPE), no ano de 2014, a oferta de energias renováveis na Matriz Energética Brasileira foi de 39,4% e não renováveis de 60,6%. Deste modo, percebe-se que as energias não renováveis apresentam a maior participação na Matriz Energética Brasileira, onde 39,4% correspondem ao petróleo e derivados. Isso demonstra que o consumo de combustíveis fósseis ainda é elevado, e uma alternativa de redução deste percentual é o aproveitamento de fontes de energias renováveis (BRASIL, 2015).

De acordo com Goldemberg (2012), no século XX, as principais bases energéticas para o desenvolvimento tecnológico mundial foram o carvão, o petróleo e o gás, mas os impactos causados por estas fontes de energia ainda são representativos para o ambiente, como exaustão das reservas, problemas geopolíticos e poluição. Com isso, as energias renováveis são denominadas energias do futuro, devido ao seu baixo impacto ambiental e seu crescente desenvolvimento.

2.1.1. Energias Renováveis

O Brasil é um país com grande potencial de geração de energia. Sua diversidade climática favorece a utilização de fontes renováveis, melhorando a participação destas na Matriz Energética Brasileira. Com isso, o desenvolvimento de tecnologias e incentivos para a utilização das energias renováveis, juntamente com as ações de eficiência energética, vão destacar o Brasil como gerador de energia limpa mais eficiente, tornando o país, em um futuro próximo, um dos menores geradores de C a nível mundial (GUERRA, 2014).

Fontes renováveis de energia recebem cada vez mais atenção como substitutos dos combustíveis fósseis, uma vez que sua queima não emite óxidos de enxofre (dióxido de enxofre - SO₂ e trióxido de enxofre - O₃), que prejudicam a qualidade do ar, além de ser responsáveis pela chamada chuva ácida (MOTA et al., 2009). No entanto, a implementação de energias renováveis no mercado depende principalmente de tornar essas fontes mais competitivas. Uma opção para reduzir os custos dos biocombustíveis é utilizar-se de subprodutos (resíduos resultantes de processos de fabricação) como potencial fonte de biomassa visando ao aproveitamento energético, ao invés de tratá-los como resíduos de produção (KOLESÁROVÁ et al., 2011).

A elevada quantidade de resíduos agroindustriais gerados também é uma preocupação a ser considerada, devido aos grandes volumes de material e ao seu alto custo de destinação final. Alguns destes materiais podem ser tratados gerando algum tipo de benefício, como a biomassa, que quando inserida em biodigestores anaeróbicos, é decomposta por microrganismos, que geram como subprodutos uma mistura de gases com potencial energético e um biofertilizante (REIS, 2010).

2.1.1.1. Biomassa

A biomassa é composta por materiais ricos em C como: restos de madeira, plantas, alimentos, excrementos de animais, esgotos domésticos, efluentes industriais, e vários outros elementos que podem ser degradados em matéria orgânica por processos biológicos. Quando degradados por microrganismos anaeróbios, o produto da fermentação e das reações químicas pode ser um biogás com boa capacidade energética. (OLIVEIRA, 2011).

Os resíduos de abatedouros, por exemplo, possuem elevadas concentrações de sangue, gorduras, excremento, assim como substâncias contidas no trato digestivo dos animais. Estes resíduos apresentam alta carga orgânica, o que propicia a digestão anaeróbia eficiente com bom potencial de geração de biogás e produção de biofertilizante (OLIVEIRA, 2009).

Conforme Chernicharo (2007), o processo de digestão anaeróbia depende de quatro grupos de microrganismos, as bactérias hidrolíticas, acidogênicas, acetogênicas e metanogênicas, estas, participam das quatro fases a seguir:

- a) A primeira fase é a hidrólise de materiais particulados complexos (gorduras, carboidratos, proteínas), em compostos orgânicos mais simples, ou seja, cadeias mais simples (CORTEZ, 2011).
- b) Os compostos mais simples, oriundos da fase de hidrólise, são submetidos a oxidação biológica, sendo convertidos em compostos como ácidos orgânicos, álcoois e cetonas (CORTEZ, 2011). A etapa acidogênica só será limitante do processo se o material a ser degradado não for facilmente hidrolisável, esta ocorre a partir de bactérias acidogênicas (CHERNICHARO, 2007).
- c) A terceira fase é a oxidação de compostos orgânicos intermediários como butirato e proprianato em substrato apropriado por microrganismos metanogênicos tendo como produto o acetato, H e dióxido de carbono (CO_2). Esta fase ocorre a partir das bactérias acetogênicas (CHERNICHARO, 2007).
- d) Na última fase, os microrganismos metanogênicos convertem ácidos em CH_4 , CO_2 e ácidos orgânicos, ou reduzem o CO_2 para formar CH_4 . Esta etapa é considerada a controladora da velocidade do processo anaeróbio (CORTEZ, 2011).

Assim, a digestão da biomassa por microrganismos anaeróbios é uma alternativa promissora para o tratamento de resíduos agrícolas e industriais, uma vez que evita a destinação inadequada destes resíduos e permite a geração de energia (MARTÍN; SILES; MARTÍN, 2012).

2.1.1.2. Biogás

Conforme Hosseini (2014), o biogás é uma mistura de gases, oriunda da digestão anaeróbia de matéria orgânica, constituído por CH₄, CO₂ e pequena quantidade de outros gases como nitrogênio (N₂), gás sulfídrico (H₂S), monóxido de carbono (CO), gás amônia (NH₃), gás hidrogênio (H₂), gás oxigênio (O₂), vapor de água (H₂O) e, ocasionalmente, siloxanos.

Andreoli, Ferreira e Chernicharo (2003) informam que o CH₄ é o gás de maior concentração no biogás e quanto maior o seu teor maior será seu poder calorífico. Este composto contribui para o efeito estufa mais intensamente que o CO₂ e sua queima para geração de energia reduz seu impacto ambiental. Contudo a utilização de biogás como fonte de energia acaba se tornando uma vantagem, uma vez que este é um gás combustível produzido basicamente de forma natural (mangues e pântanos) e por degradação de matéria orgânica.

Segundo Karlsson et al. (2014) para que a digestão anaeróbia dos materiais orgânicos seja eficiente e para que ocorra uma boa geração de biogás, é necessário controlar alguns fatores importantes para o melhor desenvolvimento microbiano, como por exemplo: ST e SV, temperatura, pH, relação C:N, agitação e tipo de substrato, sendo que todos esses fatores podem afetar a composição do biogás produzido pelos microrganismos. Cortez et al. (2011) relataram que a temperatura ideal para a digestão anaeróbia deve estar entre 20°C a 40°C, com maior eficiência a 35°C. Para proporcionar um meio adequado ao desenvolvimento dos microrganismos, também é importante controlar o pH do substrato, que inicialmente deve estar entre 6 e 8, sendo o ideal de 7 a 7,2 (CORTEZ et al., 2011).

Por ser inflamável, o biogás oferece condições para duas situações possíveis de aproveitamento, a queima direta para produção de calor (cocção, aquecimento ambiental, etc.) e à conversão de biogás em eletricidade. Assim, os biodigestores são uma alternativa econômica de tratamento de resíduos agroindustriais, que além de gerar um gás com potencial energético, produz um subproduto que pode ser utilizado como adubo (COELHO, 2013).

Zadinelo et al. (2013) realizaram um estudo da caracterização físico-química de um efluente pré-tratado de abatedouro de aves da região Oeste do Paraná com a finalidade de estimar o potencial de geração de biogás. A partir da análise da DQO da entrada do efluente no biodigestor, foi realizada uma estimativa da geração de biogás. Na análise de entrada do

efluente foi encontrado 2.285 mg/L de DQO, e o percentual de CH₄ estimado para o estudo foi 70%, logo a geração de biogás foi de 7.129 m³ de biogás/dia. Com isso se verificou que a biodigestão anaeróbia é uma boa alternativa de tratamento de efluentes oriundos de abatedouros, tendo como principais vantagens a oferta de uma fonte de energia (biogás) e o tratamento do efluente a partir da redução da matéria orgânica, odores desagradáveis e patógenos.

Konrad et al. (2009) avaliaram a produção de biogás e o percentual de CH₄ a partir de dejetos suínos e lodo de estação de tratamento de efluentes (ETE), por meio da digestão anaeróbia. No estudo foram avaliadas diferentes amostras de substrato, a amostra com somente dejetos suínos gerou 1069 mL de biogás, onde o percentual de metano não ultrapassou 45%, o lodo de estação de tratamento de efluente gerou 44.200 mL de biogás, onde o percentual de CH₄ se manteve acima de 50%. Na avaliação da mistura com 75% de dejetos suínos e 25% de lodo se verificou uma geração de 12.700 mL de biogás, onde o percentual de CH₄ foi superior a 40%. Na mistura de dejetos suínos (50%) e lodo (50%) a geração de biogás foi de 22.500 mL, onde o percentual de CH₄ se manteve acima dos 40%. Desse modo, verificou-se que a amostra composta por somente lodo foi a que mais gerou biogás e apresentou maior percentual de CH₄ e a amostra com somente dejetos suínos apresentou a menor geração de biogás e percentual de CH₄ baixo.

2.1.1.3. Biofertilizante

Os biofertilizantes líquidos são adquiridos por fermentação de materiais orgânicos, que ocorrem de forma aeróbia ou anaeróbia, apresentando composição complexa e variável, dependendo do material utilizado. O biofertilizante contém em sua composição macro e micro elementos necessários para o desenvolvimento vegetal. Quando aplicado corretamente no solo, o biofertilizante aumenta a carga de nutrientes, acelera o desenvolvimento dos microrganismos, pode apresentar efeito fito-hormonal, fungicida, bacteriológico, nematicida, acaricida e de repelência contra insetos, agindo como protetor natural dos cultivos, evitando doenças, pragas e minimizando os impactos ao meio ambiente (SILVA et al., 2007).

No Brasil, a Lei nº 6.894 de 16 de dezembro de 1980, estabelece padrões de inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, todos estes, designados a agricultura. Segundo esta lei para produção ou

comercialização deste tipo de produto é necessário o registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Conforme destacado no Art 3º, os estimulantes ou biofertilizantes são caracterizados como “produto que contenha princípio ativo apto a melhorar, direta ou indiretamente, o desenvolvimento das plantas” (BRASIL, 2013).

Segundo Silva et al. (2012), o tratamento de esgotos domésticos e dejetos suínos em biodigestores apresentam eficiente remoção de DBO₅, DQO e coliformes, e o efluente tratado possui características de fertilizante, devido a presença de elementos solúveis que são nutrientes para as plantas, como nitrogênio amoniacal e fósforo. Quando o efluente tratado ainda apresenta elevada carga orgânica, indica que este possui característica de material biodegradável, portanto, quando o material recalcitrante é aplicado em solo, controla propriedades do solo como capacidade de troca catiônica (CTC), absorção de água, acidez, entre outros.

Assim, devido seus teores de C, N, P, K e micronutrientes (B, Ferro (Fe), Zn, Mn, Cloro (Cl) e Cu), e sua capacidade de favorecer o desenvolvimento de plantas, o efluente de pós-digestão anaeróbia é caracterizado como biofertilizante. No entanto, para a sua aplicação em solo agrícola, é necessário que o produto seja mantido na incubação até sua estabilização. Assim, o composto orgânico apresentará características de fácil degradação, evitando a prevenção ou atraso na germinação das sementes, a morte da planta ou reduções acentuadas no crescimento (ALBURQUERQUE et al., 2012).

2.1.1.4. Aplicação em solo

Os biofertilizantes podem ser obtidos por meio dos resíduos animais, vegetais e agroindustriais não existindo procedimento específico para a sua formação, podendo ser empregados diretamente no solo, ou aplicados via irrigação ou pulverização sobre as plantas (BARROS; LIBERALINO, 2008). A aplicação de biofertilizante em solo agrícola resulta em maior capacidade de imobilização de nutrientes, tais como o N, o que provavelmente contribui para garantir uma quantidade suficiente durante o período de cultivo até as seguintes épocas (ABUBAKER, 2012).

Quando aplicados no solo, os biofertilizantes melhoram a fertilidade e aumentam a comunidade microbiana (OWAMAH et al., 2014). Segundo Yun, et al. (2000) o elevado pH e calor metabólico gerado por microrganismos em biodigestores pode destruir uma grande

quantidade de agentes patogênicos, reduzindo o risco de contaminação. De acordo com Oliveira (2009), geralmente o pH dos biofertilizantes, após o processo de digestão anaeróbia, é levemente alcalino e fica na faixa de 7,0 a 8,0, possibilitando um melhor crescimento de microrganismos, restabelecendo a vida do solo e equilibrando o pH.

Segundo Ernani (2003) outro fator importante para o desenvolvimento microbiano no solo é a relação C:N, que deve ser aproximadamente 10 a 12:1. Portanto, é importante ressaltar que aproximadamente dois terços do C orgânico se perde na forma de CO₂ durante o processo de decomposição, sendo assim um material que possuía relação C:N de 30:1 passará a ter, no final do processo, relação de 10:1, satisfazendo as necessidades de C e N dos microrganismos.

2.2. Dinâmica do solo

O solo é classificado como sistema, pois apresenta um conjunto de elementos interconectados, que podem ser abertos (pois ocorre troca de energia e massa) e dinâmicos (devido às modificações contínuas), buscando um equilíbrio. Cada região apresenta características diferenciadas de solos devido aos fatores que influenciam na sua formação, como as variações climáticas, os sistemas de drenagem, a idade do solo ou tempo de decomposição, a ação dos organismos vivos, as rochas de origem, inclinação do terreno e condições topográficas (CALIJURI E CUNHA, 2013).

Segundo EMBRAPA (2006), o solo é formado por materiais minerais e orgânicos, que estão presentes na maior fração do manto superficial da Terra, e incidem paralelamente, organizando-se em camadas e, ou, horizontes que se diferenciam do material de origem inicial. Com o passar do tempo, as diferentes camadas do solo são formadas pela decomposição dos materiais minerais e orgânicos, que dependem das variáveis climáticas (chuva, vento e temperatura) e da atividade dos organismos vivos (fungos, líquens, bactérias, o próprio homem), modificando suas características.

Portanto, quando um solo é exposto a um contaminante é importante caracterizar sua textura, pois o percentual de argila, matéria orgânica e areia presente podem interferir nas decisões do tratamento a ser realizado, visto que em solo argiloso há maior retenção do contaminante e, em solo arenoso, o contaminante infiltra facilmente podendo atingir os

lençóis freáticos (FOGAÇA et al., 2014). Os solos são formados de partículas coloidais onde os cátions são retidos, e podem ser substituídos por outros cátions (EMBRAPA, 2010).

Logo, a capacidade de um solo adsorver compostos está relacionada ao número total de cátions trocáveis que ele pode reter. Dessa forma, a capacidade da argila adsorver elementos químicos e trocá-los por outros, é designada de CTC. Esta, é designada como a soma dos elementos de carga positiva, tais como Ca, Mg, K, Sódio (Na), hidrogênio (H) e Alumínio (Al), que são adsorvidos pelas cargas negativas da argila. Então, quanto maior o valor de CTC de um solo, mais cátions ele pode reter. (RAMIRO, 2012).

Segundo estudo realizado por Ramiro (2012), as adições de adubo orgânico (resíduos de aves poedeiras) e calcário em solo contaminado aumentam as concentrações de macronutrientes (P, K, Ca, Mg e S), micronutrientes (Zn e B) e matéria orgânica, o que favorece a proliferação e o aumento da diversidade bacteriana no solo, contribuindo na metabolização dos compostos presentes. No entanto, ainda neste mesmo trabalho, as concentrações de Zn, Cu, B e S no solo foram 66 vezes mais elevados do que é determinado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), o que poderia causar a minimização ou inibição da atividade microbiológica.

2.2.1. Microrganismos no solo

O solo é composto por partículas minerais, raízes de plantas, populações de organismos macro e microscópicos vivos com metabolismo ativo ou dormente, e matéria orgânica em vários estágios de decomposição. Subdivididos em três fases, a sólida (argila, areia, cascalhos, calhaus, matacões), que representa 45% do seu volume total, a líquida (água com materiais dissolvidos) e gasosa (gases atmosféricos em diferentes proporções), que representa 50%, e 5% são compostos por matéria orgânica (incluindo os organismos vivos). Destes, 0,5% são microrganismos que podem estar mortos ou em dormência, dependendo da disponibilidade de nutrientes necessários para seu metabolismo, principalmente substratos orgânicos, e ambientes físico-químicos favoráveis (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O processo microbiano nos solos tem como função reciclar a maior parte das moléculas da biosfera, por ciclos biogeoquímicos, onde realizam o controle da vida na Terra. Durante este processo muitos fatores ambientais influenciam na capacidade de biodegradação de uma molécula, como os de natureza física (temperatura e luz), química (composição

química da matriz ambiental, pH, umidade, teor de oxigênio dissolvido (OD), potencial redox do meio e a composição e estrutura química dos poluentes) e biológica (população microbiana capaz de metabolizar a molécula original e seus produtos de degradação) (GAYLARDE, BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Ramiro (2012) avaliou o potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos e verificou que principalmente nas fases inicial e intermediária do tratamento as bactérias exercem sua função metabólica, decompondo preferencialmente compostos de baixo peso molecular, como os hidrocarbonetos de cadeias simples, e compostos de fácil degradação, enquanto que os fungos e os actinomicetos (bactéria) exercem maior atividade metabólica na última etapa do tratamento, período de maior reserva de substratos facilmente assimiláveis e predominância de compostos complexos de alto peso molecular.

Segundo Oliveira e Alves (2013), os microrganismos que apresentam capacidade de degradação de compostos orgânicos de origem petrolífera são fungos e bactérias, principalmente, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Pseudomonas* spp., *Sphingomonas* spp., *Mycobacterium* spp., *Microbacterium* spp. e *Gordonia* spp.. Esta informação mostrou que, a biodegradação dos compostos orgânicos do petróleo em ambientes naturais ou em laboratório, não pode ocorrer na presença de uma única espécie microbiana, uma vez que na maioria das vezes o microrganismo tem capacidade de degradar sozinho todos os compostos presentes em ambientes contaminados com petróleo, onde há diferentes tipos de hidrocarbonetos.

2.2.2. Contaminação dos solos por compostos orgânicos

O combustível fóssil, conhecido como petróleo (líquido formado naturalmente com variável composição e complexidade) é uma mistura complexa de hidrocarbonetos, que na maioria das vezes, é encontrado abaixo da superfície da terra, de onde é extraído por perfurações. Sua composição é rica em H e C, com algumas quantidades de S, N e O. Portanto, quando encontrados em elevadas concentrações no ambiente (solo e água), os derivados de petróleo podem causar efeitos negativos na cadeia alimentar, atingindo os vários ecossistemas e o homem (RODRIGUES; DUARTE, 2003). A principal via de contaminação do solo e água por combustíveis fósseis são: vazamentos de tanques subterrâneos (que são

utilizados por postos de gasolina e indústrias) que armazena o combustível de maneira inadequada causando derrames acidentais (NADIM et al., 2000).

Sabe-se que a elevada ocorrência de vazamentos em Sistemas de Abastecimentos Subterrâneos de Combustíveis (SASC's) gera uma série de preocupações devido aos impactos causados, que podem ser pela contaminação superficial provocada por constantes e consecutivos escoamentos junto a bombas e bocais, podendo ser sucedido em tanques e tubulações subterrâneas. A percepção desta situação normalmente ocorre após o seu surgimento em galerias de esgotos, em redes de drenagem de águas pluviais, no subsolo de edifícios, em túneis e poços de abastecimento de água (SOUZA; FLOR, 2013).

Segundo Machado et al. (2013), no Brasil, infelizmente, não há padrões e normas específicas para a qualidade do solo em relação as atividades petrolíferas, apenas é conhecida a Resolução 420/2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que estabelece a prevenção da contaminação do subsolo e das águas subterrâneas por substâncias químicas, o que não privilegia o solo como objeto principal. O solo tornou-se recurso natural no início da década de 80, quando foi exigido seu uso racional, na década seguinte houve a preocupação com a quantidade de agrotóxicos usados no solo, posteriormente, a preocupação foi em relação ao tratamento do solo vinculado a gestão das águas. No entanto, o desenvolvimento da legislação estacionou no processo de erosão e aumentou a lista de impactos ambientais, principalmente, causados pela indústria petrolífera, que podem comprometer a qualidade solo.

A Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009 do CONAMA, alterada pela Resolução CONAMA nº460/2013 apresenta valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas em solos agrícola, residencial e industrial (TABELA 1), e diretrizes para o gerenciamento ambiental das áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. O objetivo da resolução é proteger o solo de forma preventiva, garantindo a conservação da sua funcionalidade, visando a restauração ou recuperação de sua qualidade de forma compatível com os usos previstos.

Tabela 1 - Parâmetros para prevenção e investigação de algumas substâncias químicas estabelecidas pelo CONAMA

Contaminante	CAS n°	Solo (mg.kg ⁻¹ de peso seco)				
		Referência de qualidade	Prevenção	Investigação		
				Agrícola	Residencial	Industrial
Alumínio	7429-90-5	E	-	-	-	-
Boro	7440-42-8	E	-	-	-	-
Cobre	7440-50-8	E	60	200	400	600
Cromo	7440-47-3	E	75	150	300	400
Ferro	7439-89-6	E	-	-	-	-
Manganês	7439-96-5	E	-	-	-	-
Níquel	7440-02-0	E	30	70	100	130
Nitrato	797-55-08	E	-	-	-	-
Zinco	7440-66-6	E	300	450	1.000	2.000
Benzeno	71-43-2	na	0,03	0,06	0,08	0,15
Etilbenzeno	100-41-4	na	6,2	35	40	95
Tolueno	108-88-3	na	0,14	30	30	75
Xilenos	1330-20-7	na	0,13	25	30	70
Antraceno	07-12-20	na	0,039	-	-	-
Naftaleno	91-20-3	na	0,12	30	60	90

Fonte: Adaptada CONAMA (2009). E = a ser definido pelo Estado; na = não se aplica para substâncias orgânicas.

A preocupação com os solos contaminados com poluentes orgânicos e metais pesados, que causam risco à saúde humana e meio ambiente, têm chamado a atenção dos órgãos ambientais. Muitos métodos foram desenvolvidos para minimizar estes riscos, ao longo dos últimos anos. No entanto, a técnica de redução da contaminação por procedimentos biológicos, ainda não é muito empregada, todavia, a biotecnologia vem colaborando na busca de microrganismos degradadores de longas cadeias de carbono que apresentam potencial na recuperação de áreas contaminadas (SOUZA; FLOR, 2013).

2.2.3. Características dos contaminantes - Gasolina

O consumo excessivo de hidrocarbonetos e seus derivados é consequência do acelerado crescimento populacional, aumento na urbanização e na industrialização. Logo, a comercialização dos derivados de hidrocarbonetos é uma problemática de logística para o mundo. Nesse contexto, os postos de gasolina, buscando adequar-se às legislações ambientais, estão tentando estabelecer práticas comerciais de forma sustentável, prevenindo vazamentos e reduzindo os impactos no meio ambiente. (LORENZETE, 2010).

Segundo a Ficha de Informação de Segurança do Produto Químico - FISPQ (2014), a gasolina comum é caracterizada como um líquido inflamável de Categoria 2 (TABELA 2), e apresenta aspecto límpido e amarelado, com odor forte e característico, com ponto de ebulição inicial e faixa de temperatura de ebulição maior que 35°C, ponto de fulgor menor que - 43°C e é 100% volátil.

Tabela 2 - Critério de classificação de líquidos inflamáveis

Categoria	Critério
1	Ponto de fulgor < 23 °C e ponto de ebulição ≤ 35 °C
2	Ponto de fulgor < 23 °C e ponto de ebulição > 35 °C
3	Ponto de fulgor ≥ 23 °C e ≤ 60 °C
4	Ponto de fulgor > 60 °C e ≤ 93 °C

Fonte: ABNT (2009).


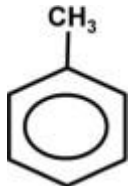
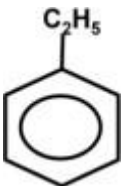
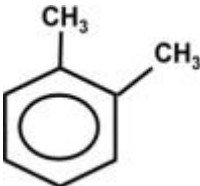
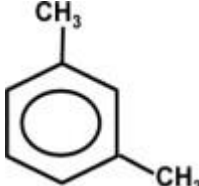
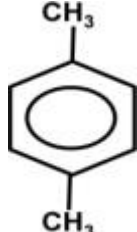
Segundo Oliveira (2001), os principais hidrocarbonetos aromáticos encontrados na gasolina são o BTEX. Estes compostos causam preocupações tanto ao meio ambiente como ao ser humano devido ao seu teor de toxicidade, que atua como depressor do sistema nervoso central (WATTS et al., 2000). De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa de Câncer (IARC), órgão da Organização Mundial da Saúde, o benzeno se enquadra no Grupo I, ou seja, apresenta características cancerígenas, podendo causar leucemia em seres humanos. Diante disso é de extrema importância controlar esses contaminantes em situações de disposição (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

A gasolina quando entra em contato com o solo pode alcançar as galerias e instalações subterrâneas próximas, como subsolos, garagens e cisternas, causando contaminações, explosões e incêndios. Diante disso, a contaminação de solos por gasolina é crítica devido à facilidade de escoamento dos contaminantes ao lençol freático, que prejudicam a população

por meio da ingestão de água contaminada e causam risco ao meio ambiente (JÚNIOR; PASQUALETTO, 2008).

Os BTEX e os HPAs, presentes na gasolina, podem ser degradados por microrganismos do solo em condições aeróbias. Dentre os BTEX (TABELA 3), o composto que apresenta maior afinidade de biodegradação é o Tolueno, devido a presença do grupo substituinte no anel, que proporciona um caminho alternativo de ataque na cadeia lateral ou oxidação do anel aromático. O processo requer OD tanto na ativação do anel e quebra do núcleo aromático, como na recepção de elétrons para a completa degradação por bactérias, fungos ou algas (EL-NAAS; ACIO; TELIB, 2014).

Tabela 3 - Fórmula molecular e estrutura química dos compostos BTEX

Composto	Benzeno	Tolueno	Etilbenzeno	o-Xileno	m-xileno	p-Xileno
Fórmula molecular	C_6H_6	C_7H_8	C_8H_{10}	C_8H_{10}	C_8H_{10}	C_8H_{10}
Estrutura química						

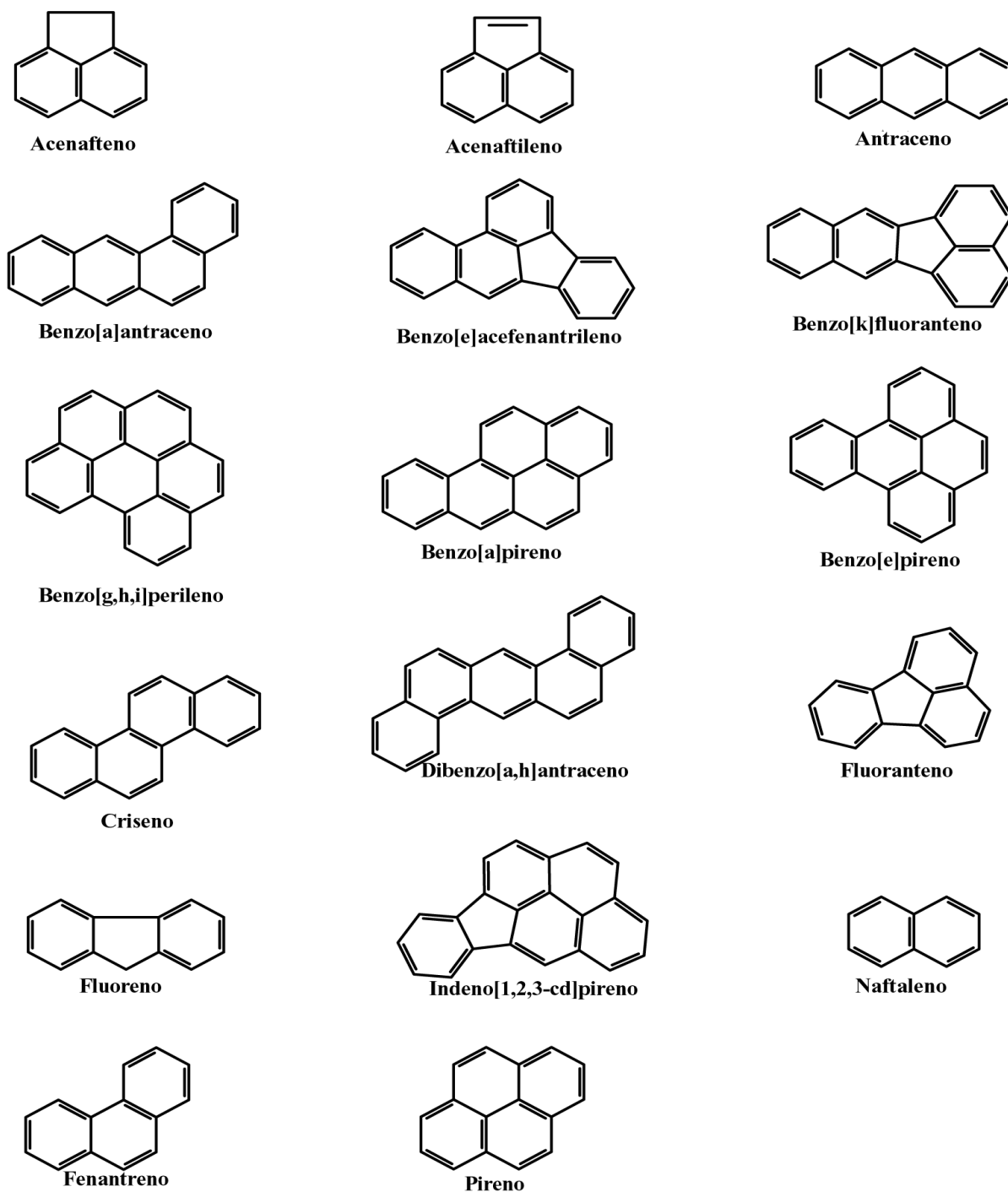
Fonte: El-naas; Acio e Telib (2014).

Segundo Słomińska, Król e Namieśnik (2012), os microrganismos degradam as longas cadeias de C dos contaminantes orgânicos como BTEX, satisfazendo suas necessidades de C e energia, garantindo sua atividade biológica. Logo, a presença de micronutrientes e macronutrientes são de extrema importância para um desenvolvimento microbiano satisfatório. A degradação do BTEX por bactérias aeróbias é baseada na oxidação do anel aromático pela oxigenase (mono e di), formando um catecol que é dividido em vários metabolitos por 2,3-dioxigenase. Esta via metabólica é formada a partir de oxidação progressiva da cadeia lateral de alquilo do anel aromático para produzir os ácidos carboxílicos. Em seguida os ácidos carboxílicos e os catecóis são consumidos pelo ciclo de Krebs por clivagem do anel aromático (MAZZEO et al., 2013).

Além dos BTEX, outros compostos presentes nos derivados de petróleo merecem atenção, como os HPAs, os hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP), que apresentam características de toxicidade, mobilidade e persistência no meio ambiente, assim como os

compostos orgânicos voláteis totais, que representam o total de emissões gasosas (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010). Os HPAs são compostos que contém um ou mais anel aromático em sua composição (FIGURA 1). Estes são caracterizados como poluentes orgânicos de elevada persistência ambiental, de elevados potenciais carcinogênicos e ou/ mutagênicos, que necessitam de ativação prévia de enzimas (COSTA, 2001).

Figura 1 - Estrutura química de alguns compostos de HPAs



Em geral, compostos aromáticos formados por um, dois ou três anéis conectados são transformados rapidamente e muitas vezes mineralizados completamente, já os aromáticos que apresentam quatro ou mais anéis conectados, possuem elevado peso molecular, e são transformadas lentamente, devido à limitada biodisponibilidade. Por isso, devido a sua estrutura química complexa, as elevadas quantidades de HPAs no solo, podem ser tóxicos ao entrarem em contato dos humanos e animais (PEPPER; GERBA; GENTRY, 2015). Desse modo, os microrganismos somente vão utilizar os HPAs como fonte de C e energia quando estes apresentarem enzimas que transformam as moléculas complexas em intermediários semelhantes das suas rotas catabólicas. A via metabólica mais pesquisada nos microrganismos é a aeróbia, realizada por bactérias, fungos lignolíticos e pelos fungos não-lignolíticos (JACQUES et al., 2007).

A preocupação em minimizar a quantidade de HPAs no solo vem sendo discutida ao longo do tempo. Portanto a adição de matéria orgânica nos solos contaminados pode ser uma alternativa viável no tratamento dos solos, uma vez que esta estimula o crescimento microbiano e o processo de biorremediação (TEJADA et al., 2007).

2.2.4. Alternativas de tratamento de solos contaminados

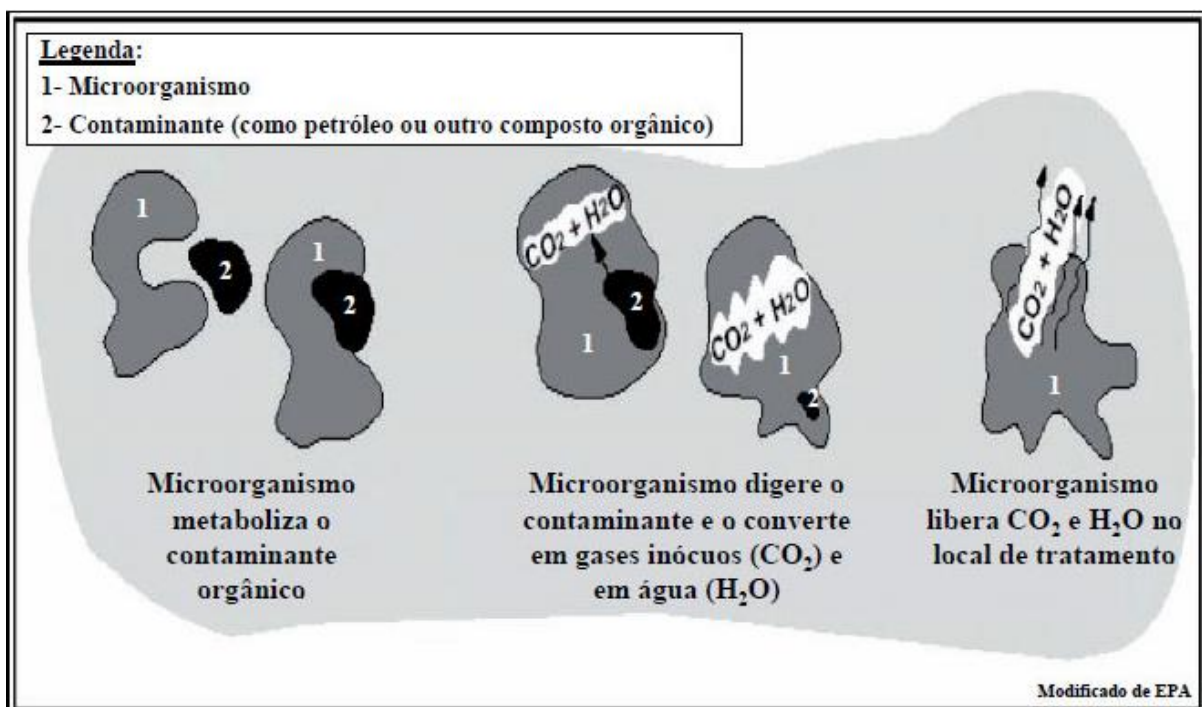
Segundo a Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009, alterada pela resolução do CONAMA nº 460/2013, que estabelece os critérios e Valores de Referência de Qualidade (VRQs) quanto à presença de substâncias químicas e recomenda que nas áreas contaminadas com substâncias químicas que causam risco a saúde humana, os órgãos competentes devem realizar ações específicas para proteção da população exposta. Segundo a resolução, os procedimentos realizados para o estabelecimento de VRQs, é identificar o tipo de solo, avaliar os parâmetros de caracterização do solo, como C orgânico, pH em água, CTC e teores de argila, silte, areia e de óxidos de alumínio, Fe e Mn, e interpretar os VRQs de cada substância encontrada, e a partir destes decidir o melhor tratamento. Uma das alternativas indicadas de tratamento dos solos contaminados é a remediação, que consiste no emprego de técnicas, visando remoção, contenção ou redução das concentrações de contaminantes. (BRASIL, 2015).

Há várias formas de remediar os solos contaminados, como *in situ* (no local onde houve a contaminação) ou *ex situ* (remoção do solo contaminado para posterior remediação),

entre os métodos inclui-se a remoção e redistribuição de solos, a injeção de ar na zona saturada (*air sparging*), a extração de vapores, atenuação natural monitorada, as barreiras reativas e a biorremediação (CETESB, 2001). No processo *ex situ* o material removido pode ser tratado com sistema aberto ou fechado, empregando microrganismos na degradação do contaminante. A técnica pode ser realizada em células ou em áreas abertas para a dispersão de nutrientes e microrganismos, além da aeração do sistema, este processo terá gastos com escavação, remoção do material contaminado e análises químicas periódicas, para assegurar a eficiência do método. No processo *in situ* o custo será menor, pois não envolve a escavação e a remoção do material contaminante. Neste processo se cria um ambiente propício ao crescimento e desenvolvimento de microrganismos capazes de degradar o contaminante no local (MESQUITA, 2004).

A contaminação do ambiente com derivados de petróleo possibilita a ocorrência de problemas à saúde humana e de animais. Diante disso, a busca por técnicas que possam eliminar o contaminante do ambiente, minimizando a exposição e absorção do mesmo pelos organismos dos mamíferos, vem sendo discutida pelos órgãos ambientais. Logo, uma alternativa de remoção dos derivados de petróleo do solo, é a biorremediação, técnica na qual os microrganismos irão degradá-los em substâncias inertes como CO_2 e água, conforme Figura 2 (JACQUES, et al., 2007).

Figura 2 - Esquema da ação dos microrganismos durante o processo de biorremediação



Fonte: Andrade; Augusto e Jardim (2010).

2.2.5. Biorremediação

A biorremediação é uma alternativa de tratamento de solos que consiste na degradação dos contaminantes orgânicos por um processo biológico que envolve a atuação de microrganismos (bactérias, fungos e protozoários) nativos do solo. Os microrganismos podem obter energia (alimento) pela degradação de poluentes tóxicos (longas cadeias carbônicas) em substâncias como CO₂, água, sais minerais e gases (CH₄ e sulfeto). A biodegradação de poluentes tóxicos por bactérias pode ser favorecida pelo controle de pH (na faixa de 6,5 a 8) (OLLIVIER; MAGOT, 2005), da umidade (MPHEKGO; CLOETE, 2004) e da temperatura (20-40°C). Dentre os compostos biodegradáveis incluem-se os hidrocarbonetos derivados do petróleo, os conservantes de madeira, os solventes halogenados e os pesticidas, que podem ser utilizados pelos microrganismos como fonte de carbono (CETESB, 2001).

A composição da fase sólida do solo determina seu poder de absorção de HPAs. Portanto, acredita-se que em solos com diferentes conteúdos de matéria orgânica e composições mineralógicas poderão ter diferentes biodisponibilidade desses compostos aos microrganismos do solo, podendo auxiliar no processo de biorremediação (JACQUES, 2007).

A eficiência da biorremediação vai depender dos impactos causados pela intemperização (ação de fenômenos físico, químico e biológico que ocorre na superfície da terra) realizada desde o momento em que o contaminante entrou em contato com o solo. Assim, as ações deste processo reduzirão os contaminantes por volatilização de compostos mais leves, ou pela lixiviação, afetando o tipo de contaminante que está no solo e a disponibilidade deste para o ataque microbiano. O peso molecular do composto orgânico e a razão de hidrocarbonetos saturados e aromáticos presentes nos contaminantes podem interferir na magnitude da degradação microbiana, diante disso muitas vezes é necessário utilizar diferentes técnicas de biorremediação (ANDRADE, 2009).

Diversos autores realizaram estudos sobre a biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos. Sayara et al. (2011), avaliaram a redução de HPAs por aplicação de bioaugmentação com o fungo *Trametes versicolor* e bioestimulação utilizando adubo da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos e vegetais como co-substratos orgânicos para remoção de HPAs, durante 30 dias de experimentação, foi verificado que a aplicação do fungo não foi capaz de melhorar a degradação de HPAs. No entanto, a bioestimulação apresentou uma redução de 89% do total HPAs, valor elevado quando comparado com o controle (sem

qualquer substrato) que reduziu 29,5% de HPAs. LABUD; GARCIA; HERNANDES (2007) avaliaram o efeito da contaminação de solos por hidrocarbonetos nas populações microbianas em solos arenosos e argilosos. No estudo foi observado que os efeitos tóxicos da contaminação por hidrocarbonetos foram maiores em solos arenosos. Em ambos os solos, argiloso e arenoso, o petróleo bruto e o óleo diesel aumentaram a respiração microbiana, e a gasolina apresentou pequeno efeito nesse parâmetro. Logo, a gasolina foi a que apresentou maior efeito inibidor sobre a atividade da hidrolase que está envolvida nos ciclos de N, P e C em ambos os solos.

A biorremediação *in situ*, no Brasil, é uma técnica pouco utilizada e que ainda está na fase de teoria, embora exista uma perspectiva de progresso. As principais vantagens de utilizar esta técnica no Brasil são os fatores ambientais (como teores de umidade e oxigênio), e a disponibilidade de nutrientes no solo, que são favoráveis à eficiência de degradação dos compostos tóxicos e recalcitrantes no solo. Além disso, é uma técnica que apresenta ótima relação custo-benefício (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010). Entre as principais técnicas de biorremediação destacam-se as de biorremediação passiva, *landfarming* e bioestimulação, pois apresentam menor custo que outras técnicas como bioventilação, e a Biorremediação *ex situ* (ROCHAS; ALVES, 2013).

No processo de biorremediação passiva ou intrínseca a eliminação do contaminante presente no solo ocorre de forma natural, por processos físicos, químicos e biológicos, como diluição, volatilização, sorção e biodegradação. Geralmente, ocorre lentamente, exigindo controle do local em longo prazo, buscando a proteção da saúde humana e ambiental (FOGH, 2008). Esta técnica, uma das mais utilizadas, não necessita acréscimo de nutrientes ou adequação de qualquer condição natural (CARNEIRO; GARIGLIO, 2010).

A técnica de *landfarming* é utilizada em solos que apresentam contaminação subsuperficial, onde se faz necessário à remoção e tratamento *ex situ*. Neste processo os poluentes são misturados na camada superficial do solo, em uma área previamente preparada, visando remover a concentração dos contaminantes no solo pela ação dos microrganismos (PAULA et al., 2006).

A bioestimulação é uma técnica de introdução de nutrientes bioestimulantes com finalidade de aumentar a quantidade de microrganismos nativos presentes no solo (GAN; LAU; NG, 2009). Neste caso, em locais contaminados com hidrocarbonetos, os principais

nutrientes inorgânicos, como N e P, presentes no solo são consumidos. Logo, a suplementação de nutrientes em suas formas orgânicas ou inorgânicas é necessária para a degradação (BENTO et al., 2005).

Agamuthu, Tan e Fauziah (2013) avaliaram a biorremediação de solo contaminados por hidrocarbonetos utilizando lodos de esgoto e esterco bovino, no estudo verificaram que após 98 dias de tratamento com material orgânico a biodegradação do óleo no solo foi maior do que o tratamento do controle inicial. No tratamento com aplicação de esterco bovino apresentou 94% de biodegradação e no de lodo de esgoto foi de 82%, valores elevados comparados com o controle, que apresentou 56%. Segundo os autores, isso pode ter ocorrido devido à presença de nutrientes no solo devido a aplicação de matéria orgânica, que melhorou a capacidade de degradação dos microrganismos. As taxas de biodegradação das duas matérias orgânicas diferiram devido às diferenças no conteúdo de nutrientes, principalmente de N disponível e P. Logo, a bioestimulação, por ambas matérias orgânicas aceleraram a biodegradação do contaminante no solo.

Zilio et al. (2012) avaliaram a biorremediação de benzeno, tolueno e xileno em solo arenoso e a percolação destes compostos usando biossurfactantes produzidos por *Corynebacterium aquaticum* e um receptor final de elétrons, no estudo verificou-se que o xileno permaneceu por maior período na superfície contaminada, isso pode ter ocorrido devido ao seu maior ponto de fusão (13,3 °C), ponto de ebulição (144 °C) e viscosidade de 6,475 cp a 20 °C em relação aos outros contaminantes, benzeno e tolueno. Referente à percolação, os contaminantes utilizados no derrame simulado não ofereceram risco para uma profundidade de 0,40 m no reator utilizado. Também, os contaminantes benzeno, tolueno e xileno não foram detectados nas amostras recolhidas pelo processo de lixiviação natural decorrente de chuvas coletadas no final do reator, o que indicou que não houve contaminação no lençol freático, situado a 2m de profundidade.

Ferreira, Rosa e Aguiar (2012) mostraram que o diesel e a gasolina comum são os poluentes mais prejudiciais ao crescimento das cianobactérias quando comparado ao naftaleno puro. Isso pode estar associado à composição de hidrocarbonetos de cada um dos combustíveis analisados. Portanto, a maior toxicidade do diesel e da gasolina comum pode estar associada à grande diversidade de hidrocarbonetos presentes em sua composição, já que o naftaleno puro apresenta apenas um tipo de hidrocarboneto. Logo, as taxas de crescimento das espécies *Gloeotrichia natans* e *Phormidium bohneri* podem ser influenciadas pelos efeitos

de diferentes concentrações dos derivados de petróleo, o período de exposição e o tipo de contaminante. De acordo com os autores, a cianobactéria *G. natans* apresenta alta sensibilidade aos hidrocarbonetos (alifáticos, mono ou poliaromáticos) que compõem os contaminantes testados, logo esta pode ser utilizada como bioindicador da presença dos mesmos. Já a *P. bohneri*, não apresentou inibição no crescimento, isso sugere que esta espécie possui potencialidade para estudos de biorremediação, lembrando que seu desenvolvimento ocorre em efluentes lácteos que foram submetidos ao tratamento anaeróbio.

Leite, Cunha e Bizani (2011) realizaram um estudo comparativo dos solos de 14 municípios do Rio Grande do Sul com um solo húmífero específico para processos de biorremediação, onde visaram avaliar se um solo natural poderia substituir o solo húmífero, que apresenta valor elevado, tornando o custo total de um tratamento como esse inviável. Assim a utilização de um solo não sintetizado, obtido na natureza sem custo adicional seria ideal para aplicar em projetos. Portanto, após a caracterização dos solos verificou-se que o município de Charqueadas apresentava um solo com características semelhantes do húmífero (TABELA 4), indicando que o solo do município de Charqueadas pode ser utilizado processos de biorremediação substituindo solos com custo elevados, como o solo húmífero.

Tabela 4 - Análises químicas do solo do município de Charqueadas e do húmífero

	Charqueadas	Húmífero
pH	7,4	6,2
CTC	19,2	19,3
P (mg/dm ³)	456,7	567,2
K (mg/dm ³)	435	1302
Argila (%)	9	13
MO (%)	8,8	7,8
Al (cmol/dm ³)	0,0	0,0
Ca (mg/dm ³)	14,8	10,4
Mg (mg/dm ³)	1,3	4,9

Fonte: LEITE; CUNHA e BIZANI (2011).

Spinelli (2005) realizou um ensaio de biorremediação, toxicidade e lesão celular em solo contaminado artificialmente com hidrocarbonetos (gasolina e diesel) adicionando biofertilizante mineral e lodo de agroindústria. No estudo verificou-se que materiais orgânicos melhoram as características gerais dos solos tratados, e ao mesmo tempo retém o contaminante (gasolina) por um período maior de tempo. Também se observou que os

microrganismos influenciam no processo de biorremediação, reduzindo os hidrocarbonetos nas primeiras 24 horas de experimentação. Outro fator importante analisado foi a interferência da pluviometria na percolação de contaminantes no solo. Assim, quando não há regime pluviométrico estabelecido, as concentrações dos contaminantes reduzem em um período menor de tempo, já nos períodos com pluviometria, a biorremediação se torna mais difícil e as concentrações superficiais de contaminantes diminuem lentamente. No teste de toxicidade e lesão celular verificou-se que em ambientes contaminados por gasolina, ocorrem alterações importantes no metabolismo dos animais, devido a isso o autor sugere que populações expostas a hidrocarbonetos realizem exames de rotina.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Geração de biogás

O experimento para avaliar a geração de biogás de uma mistura de lodos, sangue e dejetos suínos, coletados em Estação de Tratamento de Efluente (ETE) de um frigorífico de suínos e aves, uma indústria de laticínios e em uma Unidade Produtora de Leitões (UPL), foi realizado no Laboratório de Biorreatores do Centro Universitário UNIVATES.

A mistura utilizada no experimento foi composta por 30% de inóculo (lodo pós-digestão anaeróbia) e os outros 70% de uma mistura de lodos e dejetos suíno composta por:

- 4% de sangue suíno;
- 13% de lodo flotado da ETE do frigorífico de suínos;
- 5,75% de lodo flotado da ETE de uma indústria de laticínios;
- 5,75% de lodo ativado da ETE de uma indústria de laticínios
- 5,50% de sangue de aves;
- 16% de lodo ativado e flotado da ETE do frigorífico de aves;
- 50% de dejetos suíno de uma Unidade produtora de leitões (UPL).

O experimento foi feito em triplicatas, utilizando reatores de vidro com capacidade para 1L. A estes reatores, foi adicionado 0,6 L da mistura descrita acima, que foram mantidos por 40 dias em uma incubadora bacteriológica adaptada, a uma temperatura média de 37°C conectado a um sistema automatizado de medição de biogás. A quantificação do biogás

foi feita pelo deslocamento do fluido, que registra a passagem do biogás pelo sistema por meio de circuito eletrônico. Este sistema utiliza a equação combinada dos gases ideais, que prediz que a relação entre temperatura, pressão e volume de um gás é constante. Diariamente, foi avaliado o percentual de CH₄ no biogás usando um sensor específico, denominado Advanced Gasmitter, produzido pela empresa PRONOVA Analysentechnik GmbH & Co.

3.1.2. Caracterização do efluente de pós-digestão anaeróbia (Biofertilizante)

O efluente obtido após o experimento de digestão anaeróbia foi analisado no Laboratório de Biorreatores da UNIVATES. Os parâmetros avaliados foram: pH, DBO₅, DQO, C, Nitrogênio de Kjeldahl Total (NTK), sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e sólidos fixos (SF).

A determinação do pH foi feita com um pHmetro, da marca DIGIMED modelo DM – 20 (DIGIMED, 2009). A DBO₅ foi feita pelo equipamento *Oxitop* (marca *Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH* (WTW) modelo *Oxitop IS 6*) utilizado a norma estabelecida pela DIN 38409 que acompanha o equipamento. Esta metodologia mede a pressão de um sistema fechado, onde os microrganismos presentes na amostra consomem o oxigênio e geram CO₂. O CO₂ é absorvido por Hidróxido de sódio (NaOH), criando uma pressão negativa, que é lida como um valor medido em mg L⁻¹ (WTW, 2008). Os frascos foram mantidos em incubadora a 20°C, por um período de cinco dias.

As análises de ST, SV e SF, foram realizadas pela metodologia descrita por AOAC (1995). Na análise de ST foram utilizados cadinhos de porcelana previamente calcinados e pesados em balança analítica da marca SHIMADZU, modelo AW220 com precisão de 0,0001g. Após a pesagem dos cadinhos, 20 mL de amostra foram adicionadas ao mesmo e incubados em estufa Digital Time microprocessada da marca SP LABOR, modelo SP-400, para secagem (SPLABOR, 2009). Os cadinhos foram mantidos na estufa durante 24 horas, a temperatura de 105°C. Após o término desse período, as amostras foram inseridas em um dessecador, onde após atingirem a temperatura constante foram pesadas, obtendo-se assim, o valor do peso do material seco (AOAC, 1995). Na determinação dos SF, o material seco foi inserido no forno do tipo mufla microprocessado, marca SP LABOR modelo SP-1200 a temperatura de 550°C durante oito horas. Logo após, os cadinhos com a amostra foram

mantidos em dessecador e pesados na balança analítica, obtendo-se o peso das cinzas. Assim, a parte da amostra volatilizada durante este processo, foi caracterizada de SV (AOAC, 1995).

A DQO foi analisada pela metodologia descrita por Clesceri et al. (2005), que utiliza o método de refluxo aberto, que causará a possível oxidação das substâncias orgânicas e/ou inorgânicas pelo dicromato de potássio em meio ácido. No procedimento utilizou-se o equipamento Banho Ultratermostatizado, modelo SL-152/10, da marca Solab, destinado para climatização do condensador Bateria de Sebelin, modelo Q388-268, da marca QUIMIS (SOLAB, 2008).

Para a determinação da quantidade de carbono ligado organicamente, utilizou-se o método de oxidação, que converte do carbono orgânico em CO₂. A quantificação foi feita por titulação com sulfato ferro amoniacal, conforme metodologia descrita por Clesceri et al. (2005). O equipamento utilizado nesta análise foi a chapa aquecedora da marca QUIMIS modelo Q-313AM (QUIMIS, 2008).

A determinação do NTK foi realizada pela metodologia descrita por Clesceri et al. (2005). Na análise foi utilizado um bloco digestor de oito provas, da marca Marconi, modelo MA-850, (MARCONI, 2012) e um destilador de nitrogênio marca Tecnal modelo TE – 0363 (TECNAL, 2012).

As análises estatísticas foram feitas com objetivo de comparar as características físico-químicas do efluente no início e no final do experimento de produção de biogás. Todas as avaliações foram feitas em triplicatas, e as médias foram comparadas pelo Teste t de Student ($p < 0,05$).

3.2. Experimento de biorremediação

O processo de biodigestão anaeróbia para obtenção do biogás gera um efluente (biofertilizante) rico em matéria orgânica, que foi a matéria prima utilizada no tratamento de solos contaminados com gasolina.

O experimento de biorremediação realizou-se inicialmente no Laboratório de Microbiologia do Tecnovates, localizado no município de Lajeado – RS e em seguida, foi destinado à casa de vegetação, onde foram mantidos por um período de 35 dias.

3.2.1. Coleta do solo

O solo utilizado nos experimentos foi coletado em um terreno no município de Arroio do Meio, localizado nas coordenadas 29°23'57"S e 51°56'20"O, onde a principal utilização do solo é para o cultivo de milho.

3.2.2. Caracterização do solo

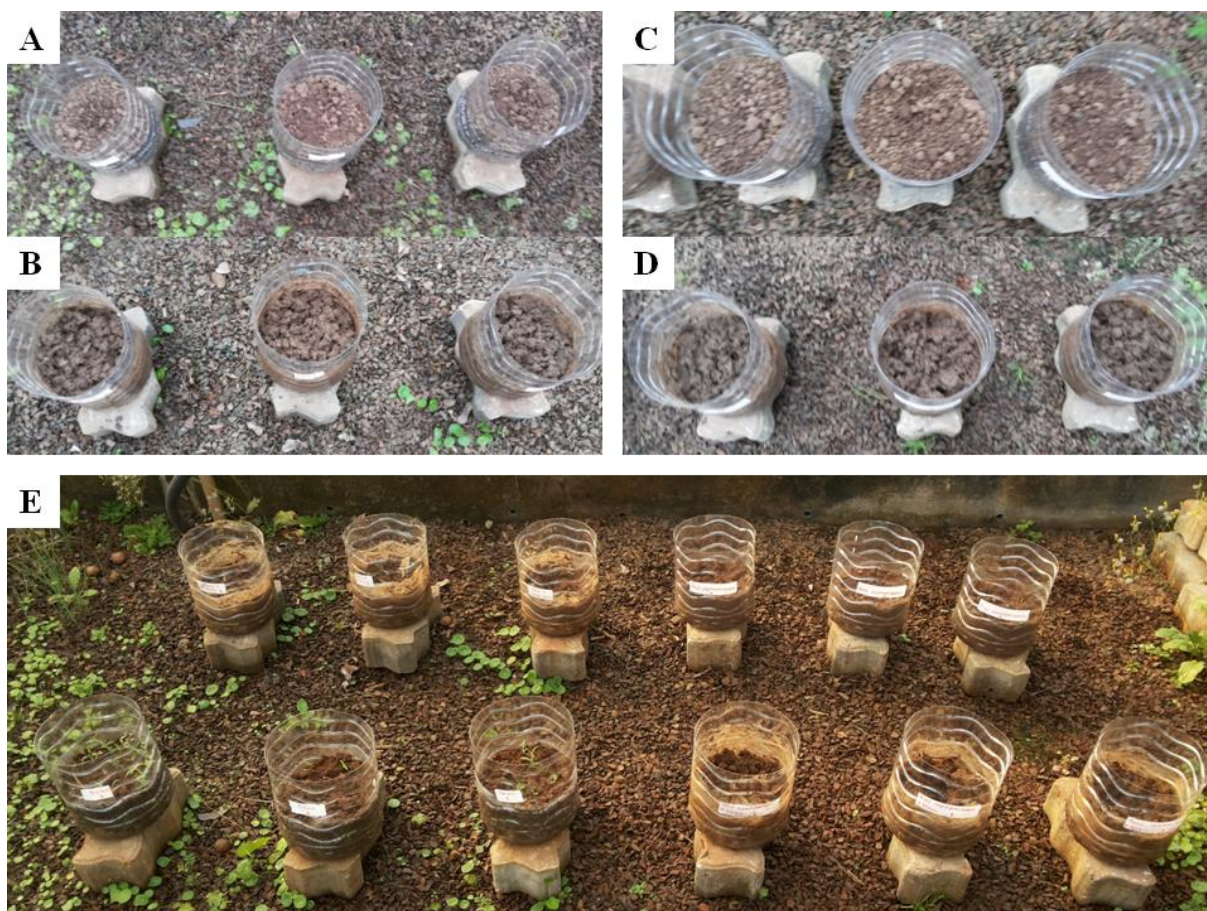
As análises físico-químicas do solo utilizado no experimento foram feitas pelo Laboratório da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), localizado no município de Porto Alegre-RS. As análises básicas realizadas foram Argila, MO, pH, CTC a pH_{7,0} e micronutrientes como Boro (B), Zinco (Zn), Manganês (Mn) e Cobre (Cu) pela metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

3.2.3. Elaboração dos tratamentos

Dois quilogramas de solo foram acondicionados em recipientes plásticos destinados aos tratamentos de biorremediação (FIGURA 3). Todos os tratamentos foram realizados em triplicatas e caracterizados da seguinte maneira:

- 1 - dois quilogramas de solo (S);
- 2 - dois quilogramas de solo + 200mL biofertilizante (SB);
- 3 - dois quilogramas de solo + 100mL de gasolina (SC);
- 4 - dois quilogramas de solo + 100mL de gasolina + 200mL de biofertilizante (SCB);

Figura 3 - Tratamentos utilizados no processo de biorremediação. Solo (A), Solo e com biofertilizante (B), Solo Contaminado (C), Solo Contaminado e com biofertilizante (D) e todos os tratamento juntos (E).



3.2.4. Identificação dos compostos hidrocarbonetos de gasolina

Os recipientes foram mantidos em casa de vegetação, por um período de 35 dias. Durante o experimento, a cada sete dias foram coletadas amostras de 5g de solo de cada tratamento, que foram homogeneizadas e adicionadas em frasco de 20 mL próprios para o sistema *headspace* do cromatógrafo gasoso em espectrometria de massa. Estes frascos foram lacrados com tampas contendo septo de Politetrafluoretileno (PTFE)/silicone azul e submetidos à análise no Cromatógrafo Gasoso por Espectrometria de Massa (GC-MS) modelo QP2010 Ultra da marca Shimadzu. Este equipado possui uma coluna capilar de sílica fundida de baixa polaridade com fase ligada 5% difenil e 95% dimetilpolissiloxano RTx-5MS de (Restek, 30m de comprimento x 0.25 mm *d.i.*, 0.25 μm de espessura de filme). Os frascos das amostras foram colocados no amostrador automático tipo *headspace* AOC 5000 e aquecidos a 50°C na incubadora para o pré-condicionamento durante 5 min. Após atingir o

equilíbrio, uma seringa de 2,5 mL (também aquecida a 50°C) coleta uma alíquota gasosa e injeta 100 µL no modo split (1:20). As condições de análise foram: velocidade linear de 1 mL/min com gás de arraste Hélio (He); pressão na coluna de 53,5 kPa; temperatura do injetor de 240 °C e temperatura do forno de 50 a 290 °C, com velocidade de aquecimento de 10 °C/min. O espectrômetro de massa foi utilizado no modo de ionização eletrônica a 70 eV, com varredura de m/z de 35 a 600 Da, em uma frequência de 2,94 scan/s. A fonte de íons foi mantida a 260 °C e a interfase a 280°C.

Os dados obtidos foram processados utilizando o software GCMS Postrun Analysis. A identificação dos compostos foi baseada na biblioteca NIST11 e NIST11s por comparação dos espectros de massa descrito por Mc Lafferty e Stauffer (1994).

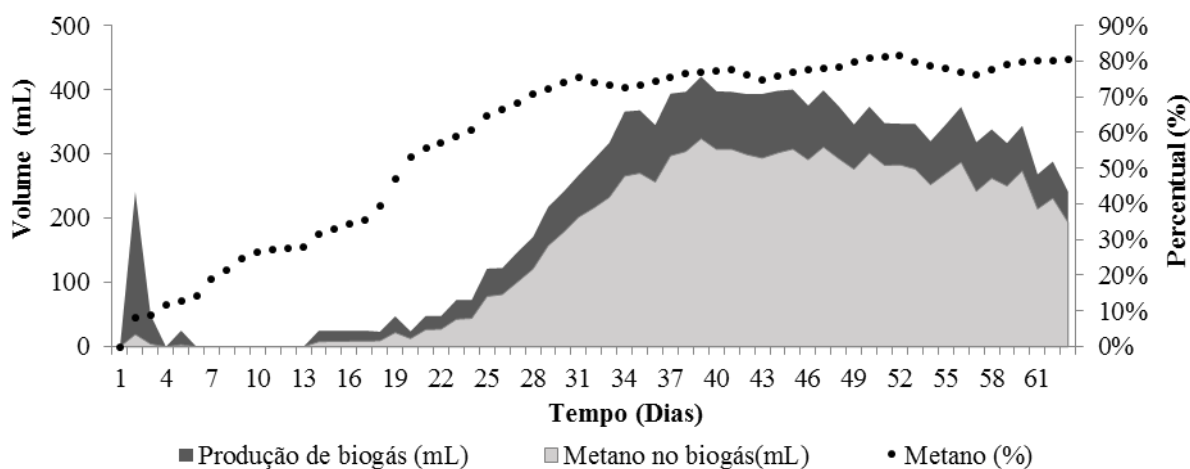
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Geração de biogás

A geração de resíduos com alta carga orgânica nas indústrias frigoríficas e alimentícias tem causado preocupação aos órgãos ambientais, pois sua destinação inadequada pode causar uma série de impactos ambientais. A digestão anaeróbia destes resíduos orgânicos é uma alternativa de tratamento viável, pois além do tratamento, é possível obter o biogás, que pode ser utilizado como fonte de energia, e o biofertilizante, como adubo (OLIVEIRA, 2009). A geração de biogás por digestão anaeróbia dos resíduos de uma indústria alimentícia, dos frigoríficos de aves e suínos e os dejetos de suínos de uma UPL foi avaliada por um período de 63 dias. O critério utilizado para finalização do experimento foi definido de acordo com a redução na geração de biogás. Quando a média diária permaneceu por pelo menos três dias abaixo de 3% do total acumulado, o experimento foi finalizado.

De acordo com a Figura 4, percebe-se que a geração de biogás foi baixa durante os primeiros 20 dias de incubação. Segundo Kispergher (2013) nos primeiros momentos da incubação dos substratos no biodigestor ocorre uma pequena geração de biogás devido à adaptação dos microrganismos ao novo meio e nutrientes. Já El-Mashad et al. (2004) observaram que a elevada concentração de amônia no efluente dificulta o processo de hidrólise, reduzindo a produção enzimática, inibindo a produção de biogás.

Figura 4 - Geração de biogás durante o experimento de digestão anaeróbia



Os substratos submetidos à digestão anaeróbia geraram em média 13.380 mL de biogás no período de 63 dias. Neste volume, aproximadamente 9.938 mL foram de CH₄, o que representa 74,26% do total produzido, sendo este, o principal gás de interesse energético. A Figura 4 mostra que do 6º ao 13º dia não há picos da geração de biogás, mas há percentual de CH₄. Isso ocorre porque o sistema utilizado para quantificar o biogás mede no mínimo um volume de 40 mL, portanto, a geração de biogás abaixo deste volume não é quantificada pelo sistema, mas ela existe e nessa pequena geração há percentual de CH₄, por isso da presença de CH₄ e ausência de biogás. Deublein et al. (2011) referenciam valores de poder calorífico entre 18,0 a 30,0 MJ/Nm³ para biogás produzido a partir de resíduos agroindustriais. Segundo Kaltschimitt et al. (2009) o CH₄ puro, à temperatura de 0°C e pressão a 101,325kPa, apresenta um poder calorífico de cerca de 35,6 MJ/Nm³. Desta forma, quanto maior o teor de CH₄ presente no biogás, maior será seu poder calorífico (KOCH, 2014).

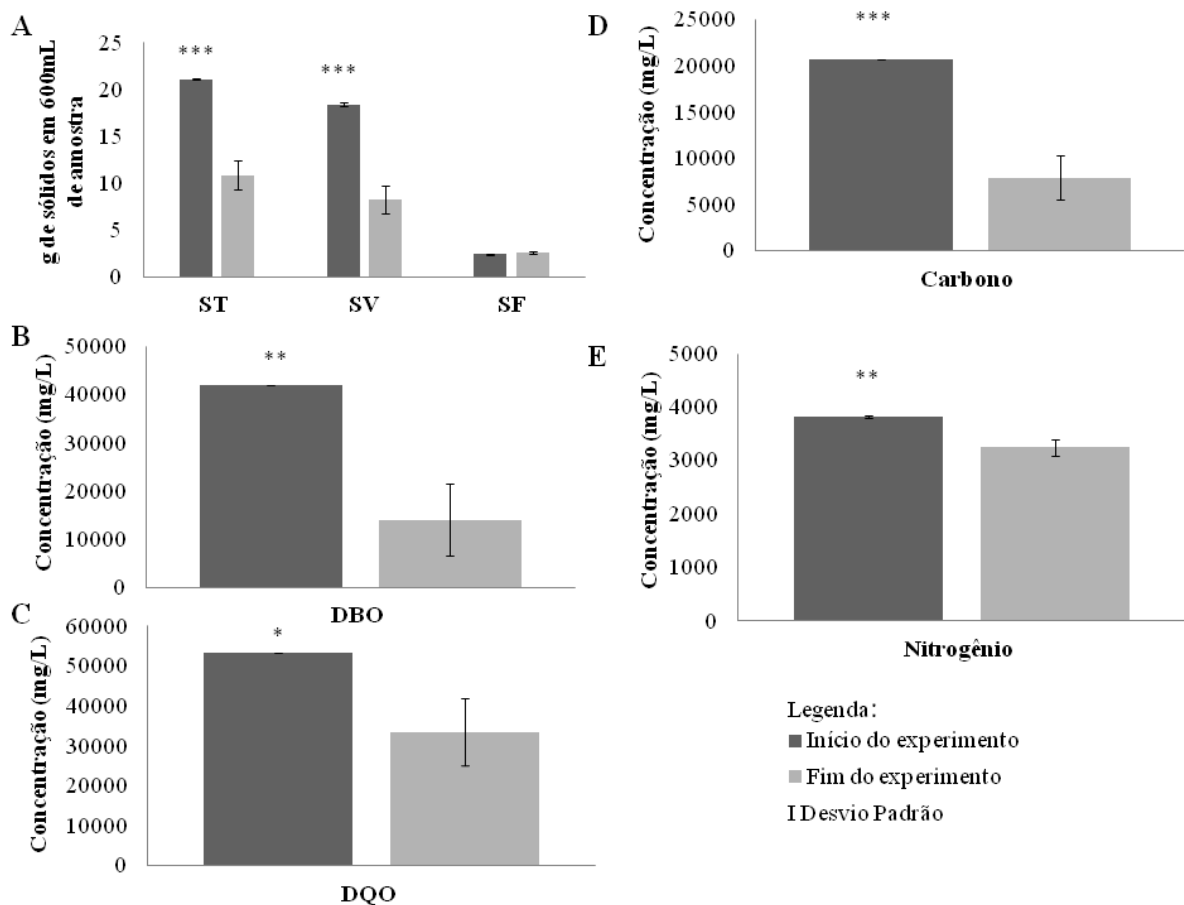
De acordo com Santos (2009), um metro cúbico (1m³) de biogás equivale energeticamente a: 1,5 m³ de gás de cozinha; 0,52 a 0,6 litros de gasolina; 0,9 litros de álcool; 1,43 kWh de eletricidade ou 2,7 kg de lenha (madeira queimada). Tendo como referência a quantidade de CH₄ obtida neste experimento, extrapolando os dados obtidos para reatores de 3600 m³, o volume de biogás produzido atenderia boa parte da demanda requerida pela indústria responsável pelos resíduos avaliados. A relação obtida foi a seguinte: 0,6 L de biomassa (0,0006 m³) geraram 13,38 L (0,01338 m³) de biogás, então 3600 m³ de biomassa pode produzir 80.280 m³ de biogás. Esta quantidade, multiplicada por 1,43 kWh de eletricidade, por exemplo, produziria o equivalente a 114.800,4 kWh, suficientes para suprir aproximadamente 12,7% do consumo energético mensal de uma das unidades da indústria,

além de reduzir cargas orgânicas do material e conseqüentemente impactos ambientais da sua disposição em solo agrícola.

O pH é um dos fatores limitante para a ótima operação de um biodigestor. Os valores de pH obtidos no início e fim do experimento foram 7,24 e 7,57 respectivamente. Nota-se que após o processo de digestão anaeróbia o pH apresentou um pequeno aumento, mas permaneceu na faixa ideal, estando na faixa entre 6,0 e 8,0, sendo considerada ótima entre 7,0 e 7,2 (Oliveira, 2012). Kisperguer (2013) verificou que o pH entre 7,8 e 8,2 foi favorável para o crescimento de microrganismos metanogênicos, chegando ao ápice da produção de CH_4 .

Na Figura 5 verifica-se o comportamento dos Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis (SV), Sólidos Fixos (SF), Demanda Biológica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Carbono (C) e Nitrogênio (N) no início e fim do experimento.

Figura 5 - Análise de ST, SV e SF (A), DBO (B), DQO (C) e C (D) e N (E) no início e fim do experimento. As médias foram comparadas pelo teste t de Student com nível de significância $p < 0,05$ (*), 0,01(**) e 0,001(***)



Os ST presentes na amostra referem-se à parcela sólida de interesse no processo de digestão anaeróbia, sendo divididos em SV (matéria orgânica) e SF (matéria inorgânica).

Quanto maior o teor de SV em uma amostra maior a disponibilidade de matéria orgânica a ser degradada. Os valores médios de ST, SV e SF no início do experimento foram de 21,00, 18,59 e 2,41 g em 600 mL respectivamente, e no fim do experimento foram de 10,89, 8,31 e 2,58 g em 600 mL respectivamente (FIGURA 5A). As análises indicaram remoções de 48,40% nos ST e 54,86% nos SV, os SF aumentaram de 7,05%. Isso indica que o biofertilizante ainda apresentava material com potencial de volatilização para ser transformado em biogás.

A DBO é um parâmetro utilizado para avaliar a tratabilidade biológica de um efluente, quanto maior o valor da DBO, maior as chances de se obter sucesso em tratamentos biológicos para o mesmo. Por outro lado, a recalcitrância desta mesma carga orgânica pode ser avaliada pela DQO, que representa a quantidade de oxigênio necessária para estabilizar quimicamente a matéria orgânica carbonácea (JARDIM; CANELA, 2004). Assim, para um mesmo efluente, a relação DQO/DBO expressa o tipo de oxidação (química ou biológica) que será efetiva na degradação da carga orgânica presente. Os valores médios de DQO e DBO₅ que o substrato apresentou no início do experimento foram de aproximadamente 53.423 mg L⁻¹ (FIGURA 5C) e 42.027 mg L⁻¹ (FIGURA 5B), respectivamente, estes valores geram a relação DQO/DBO inicial de 1,27. Jardim e Canela (2004) afirmam que a relação DQO/DBO inferior a 2,5 indica que o efluente é facilmente biodegradável, indicando o alto potencial de biodegradação do efluente estudado. Ao final do processo de digestão anaeróbia os valores médios de DQO e DBO₅ foram de aproximadamente 33.489 mg L⁻¹ e 14.000 mg L⁻¹, respectivamente, aumentando a relação DQO/DBO para 2,39. Este aumento observado é típico de efluentes ao final de tratamentos biológicos pela redução da fração biodegradável no mesmo (VON SPERLING, 2011). Os valores médios de remoção obtidos para estes dois parâmetros foram de 16,4% para a DQO e 65,7% para a DBO₅.

O C e o N são os nutrientes necessários para o desenvolvimento das bactérias (VON SPERLING, 2011). Neste estudo os valores de C encontrados no início e fim do experimento foram de 20.673 e 7.933 mg L⁻¹ (FIGURA 5D), respectivamente. Destaca-se que o percentual de remoção de C foi muito alto, aproximadamente 61,62%. Esta alta remoção pode ser atribuída à composição do biogás, com alto percentual de CH₄. O NTK refere-se à combinação da amônia e do nitrogênio orgânico, os valores médios encontrados no início e fim do experimento foram 3.820 e 3.242 mg L⁻¹ (FIGURA 5E) respectivamente, obtendo-se uma remoção de 15,15%. Rodrigues et al. (2014) relataram que o sistema de tratamento anaeróbio apresenta baixa eficiência na remoção de NTK.

Rao e Singh. (2004) descreveram que a relação C:N ótima para os crescimento de microrganismos é de aproximadamente 20-30:1, e para que o resíduo seja considerado estabilizado de 10-13:1. Portanto, observou-se que a relação C:N inicial e final do experimento apresentou valores abaixo do recomendado, de 5,4 e 1,18 respectivamente.

4.2. Caracterização do solo

A Tabela 5 mostra as características físico-químicas do solo utilizado no experimento de biorremediação.

Tabela 5 - Caracterização do solo utilizado no experimento de biorremediação

Arg (%)	MO (%)	pH	CTC $pH_{7,0}$ (cmolc/dm ³)	B (mg/L)	Zn (mg/L)	Cu (mg/L)	Mn (mg/L)
30	2,2	5,4	23,1	1,1	17,2	1,5	16,1

De acordo com os dados de interpretação dos teores de argila e matéria orgânica, e CTC $pH_{7,0}$ do Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (2014), o solo é enquadrado na Classe 3, apresentando baixo teor de matéria orgânica e alta faixa de CTC $pH_{7,0}$, conforme Tabela 6.

Tabela 6 - Interpretação de teores de argila e de matéria orgânica e CTC a $pH_{7,0}$ do solo

Argila		Matéria Orgânica		CTC $pH_{7,0}$	
Faixa %	Classe	Faixa %	Interpretação	Faixa Cmol _c /dm ³	Interpretação
≤ 20	4	≤ 2,5	Baixo	≤ 5,0	Baixo
21 - 40	3	2,6 - 5,0	Médio	5,1-15,0	Médio
41- 60	2	> 5,0	Alto	> 15,0	Alto
> 60	1	-	-	-	-

Fonte: Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (2004).

Segundo Leite, Cunha e Bizani (2011) a CTC do solo depende do pH, MO e argila do solo, assim, quanto maior os valores destes parâmetros, maior a CTC e maior a disponibilidade de cátions. Se a CTC é baixa, a reação de troca de íons no solo é insatisfatória, pois há deficiência de cargas negativas para reter os cátions disponíveis. Ramos, Mendonça Filho e Polivanov (2007), verificaram que valores altos de CTC estão

correlacionados aos valores mais elevados de MO, e avaliando estas informações com o tratamento de biorremediação, verificaram que a adsorção dos contaminantes é diretamente relacionada à matéria orgânica presente no solo.

Os teores de micronutrientes encontrados no solo utilizado para o experimento também foram comparados com os valores de interpretação do Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (2004), que conforme Tabela 7, o solo apresenta altos teores de micronutrientes, como Cu, Zn, B e Mn.

Tabela 7 - Interpretação dos teores de micronutrientes no solo

Interpretação	Cobre	Zinco	Boro	Manganês	Ferro
	----- mg/dm ³ -----				g/dm ³
Baixo	< 0,2	< 0,2	< 0,1	< 2,5	-
Médio	0,2 – 0,4	0,2 – 0,5	0,1 – 0,3	2,5 – 5,0	-
Alto	> 0,4	> 0,5	> 0,3	> 5,0	> 5,0

Fonte: Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (2004).

4.3. Identificação dos compostos hidrocarbonetos de gasolina

A contaminação de solos por hidrocarbonetos derivados de combustíveis como gasolina é um problema ambiental que vem crescendo excessivamente devido ao elevado desenvolvimento industrial e consumo de derivados de petróleo (MACHADO et al., 2013). Os HPAs quando disponíveis no ambiente são absorvidos no organismo dos seres humanos e animais, onde reagem com o DNA e podem provocar câncer no pulmão, intestino, fígado, pâncreas e pele (NETTO et al., 2000). Portanto, a recuperação de ambientes contaminados com estes compostos é de grande importância para minimizar os possíveis impactos ambientais.

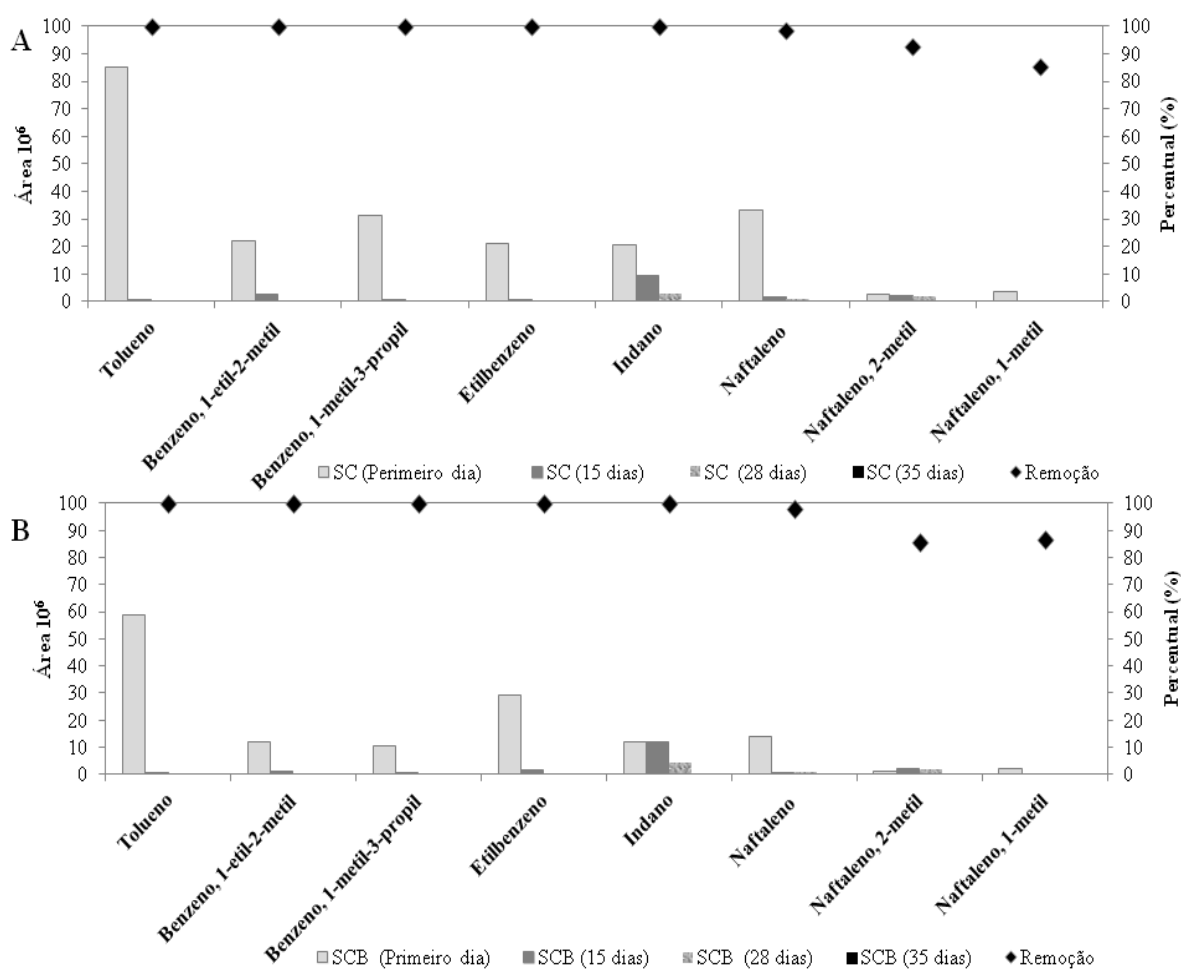
O experimento foi mantido durante 35 dias, onde foi avaliado os tratamentos: Solo (S), Solo com biofertilizante (SB), Solo contaminado (SC) e Solo contaminado e com biofertilizante (SCB). Nos tratamentos S e SB não foram identificados hidrocarbonetos de gasolina. Nos tratamentos SC e SCB foram identificados 20 compostos diferentes de hidrocarbonetos, no entanto para este estudo foram escolhidos os oito hidrocarbonetos de evidência (TABELA 8).

Tabela 8 - Hidrocarbonetos identificados por GC-MS no Solo Contaminado (SC) e no Solo Contaminado e com Biofertilizante (SCB) selecionados para este trabalho

Compostos	Fórmula molecular
Tolueno	C_7H_8
Benzeno, 1-etil-2-metil	C_9H_{12}
Benzeno, 1-metil-3-propil	$C_{10}H_{14}$
Etilbenzeno	C_8H_{10}
Indano	C_9H_{10}
Naftaleno	$C_{10}H_8$
Naftaleno, 2-metil	$C_{11}H_{10}$
Naftaleno, 1-metil	$C_{11}H_{10}$

Após o período avaliado verificou-se que nos tratamentos SC (FIGURA 6A) e SCB (FIGURA 6B), os compostos Tolueno; Benzeno, 1-etil-2-metil; Benzeno, 1-metil-3-propil; Etilbenzeno e Indano apresentaram 100% de remoção, o Naftaleno apresentou remoção de 99% no SC e 98% no SCB, o Naftaleno, 2-metil apresentou remoção de 93% no SC e 90% no SCB e o Naftaleno, 1-metil a remoção foi de 85% no SC e 87% no SCB.

Figura 6 - Remoção dos hidrocarbonetos nos tratamentos (A) Solo Contaminado - SC e (B) Solo Contaminado e com Biofertilizante - SCB durante o período de experimentação



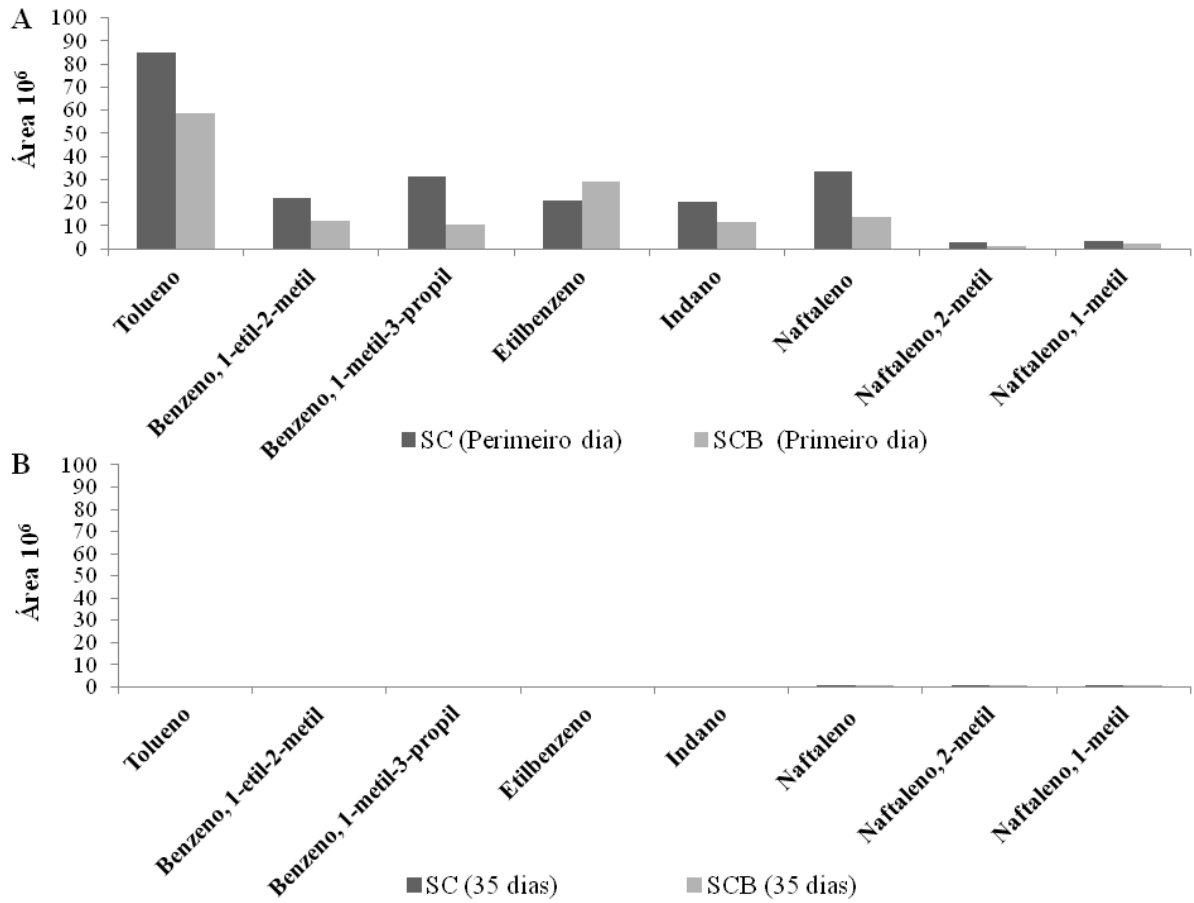
Os dados obtidos no experimento demonstram que não houve diferença significativa na remoção dos compostos nos dois tratamentos avaliados, a atenuação natural (SC) e a adição do biofertilizante (SCB). Spinelli (2005) avaliou a remoção de HPAs em três diferentes tratamentos, *landfarming* (87%), bioestimulação (89%) e bioestimulação mais bioaumento (87%), e também constatou que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados.

A diferença observada no tamanho dos picos dos tratamentos SC e SCB ocorridas desde o início do experimento (FIGURA 7A e B) pode ser atribuída à adição de matéria orgânica neste solo. Segundo Pereira, Gomes e Soriano (2009) a presença de matéria orgânica afeta o comportamento de hidrocarbonetos no solo uma vez que possui elevada afinidade com estes compostos. Conte et al. (2001) verificaram que o teor de matéria orgânica no solo nativo e de ácidos húmicos pode controlar a retenção de HPAs. Portanto, o aumento do teor de matéria orgânica no solo pode reduzir a mobilidade e a capacidade de detecção dos HPAs, por cromatografia gasosa.

De acordo com D'Agostinho e Flues (2006) os HPAs são compostos hidrofóbicos de baixa solubilidade em água e, portanto, tendem a se ligar à matéria orgânica do solo, limitando sua disponibilidade. Então, pelo processo de sorção, os contaminantes são “aprisionados”, e quando fortemente sorvidos, podem ficar pouco disponíveis aos microrganismos, dificultando sua biodegradação (ALEXANDER, 2000). Logo, os hidrocarbonetos sorvidos terão sua migração retardada pela matéria orgânica presente no solo (SAARI, 2009).

A Figura 7B mostra que os hidrocarbonetos aromáticos como Tolueno; Benzeno, 1-etil-2-metil; Benzeno, 1-metil-3-propil; Etilbenzeno e Indano no fim do experimento não estavam mais presentes e os compostos com anéis policíclicos aromáticos como Naftaleno; Naftaleno, 2-metil e o Naftaleno, 1-metil ainda estavam presente, isso pode ter ocorrido devido a complexidade dos compostos. De acordo com Mazzuco (2004) os BTEX, comparados com os HPAs, são compostos menos hidrofóbicos e possuem taxa de dissolução maior, podendo, chegar a pontos receptores com mais facilidade, assim os BTEX são degradados preferencialmente em relação aos HPAs.

Figura 7 - Comparação dos hidrocarbonetos dos dois tratamentos (SC e SCB) no início (A) e fim (B) do experimento.



Samanta, Bhushan e Jain (2001) mostraram que na presença de compostos complexos e simples no ambiente, os microrganismos preferem utilizar as fontes de carbono mais simples. Portanto, a presença de fontes de carbono simples pode diminuir significativamente a eficiência de um microrganismo em relação a compostos complexos. Assim, se um microrganismo tem dificuldade de usar compostos simples, torna-se totalmente dependente de compostos complexos, aumentando a eficiência de degradação dos mesmos.

5 CONCLUSÕES

O estudo mostrou que os resíduos agroindústrias tem potencial para geração de biogás de qualidade para o aproveitamento energético. Ao mesmo tempo em que se produz energia limpa e renovável, reduz-se a carga orgânica dos substratos, gerando um biofertilizante, que ao ser disposto em solo, resulta em um menor impacto no ambiente.

No experimento de Biorremediação, conclui-se que a adição de matéria orgânica no solo contaminado aumenta a retenção dos hidrocarbonetos, tornando os contaminantes pouco disponíveis e dificultando o arraste destes compostos para outro ambiente, como os lençóis freáticos. Também foi observado que a adição do biofertilizante no solo contaminado não aumentou a velocidade/eficiência da biodegradação.

5.1. Sugestões para os próximos trabalhos

- Analisar metais pesados na caracterização do biofertilizante;
- Utilizar diferentes tipos de combustíveis como agentes contaminantes do solo, como por exemplo, óleos;
- Aplicar diferentes percentuais de biofertilizante em um solo contaminado para verificar qual o melhor percentual de adição de matéria orgânica processo de Biorremediação.

- Realizar análise de hidrocarbonetos do percolado, se houver, durante o período de incubação;
- Monitorar temperatura, pH e umidade do solo durante o período de tratamento para avaliar a ação dos microrganismos;
- Avaliar os compostos de acordo com a concentração de padrão;
- Monitorar parâmetros como óleos e graxas e metais pesados;

REFERÊNCIA

ABUBAKER, J.; RISBERG, K.; PELL, M. Biogas residues as fertilisers – Effects on wheat growth and soil microbial activities. **Applied Energy**. Journal Elsevier, Upssala, Sweden, 2012.p. 126-134.

AGAMATHU, P.; TAN, Y. S.; FAUZIAH, S. H. Bioremediation of Hydrocarbon Contaminated Soil Using Selected Organic Wastes. **Procedia Environmental Sciences**. v. 18. Journal Elsevier, Malaysia, 2013. p. 694-702.

AGARRY, S.E.; OWABOR, C. N.; YUSUF. R. O. Bioremediation of soil artificially contaminated with petroleum hydrocarbon oil mixtures: evaluation of the Use of animal manure and chemical fertilizer. **Bioremediation journal**. v. 14. n.4. 2010. p.189-19.

ALBURQUERQUE, J. A. et al. Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. **Biomass and Bioenergy**. Journal Elsevier, Valencia, Spain, 2012.p. 181-189.

ALEXANDER, M. Aging, Bioavailability, and Overestimation of Risk from Environmental Pollutants. **Environmental Science and Technology**. v. 34. 2000. p. 4259-4265.

ANDRADE, B. G. N. Biorremediação de solos contaminados por óleo diesel com o uso da microbiota nativa. **Trabalho de conclusão de curso**. Graduação em Biotecnologia. UEZO. 2009.

ANDRADE, J. de A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, Isabel C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**. v. 35. n. 3. São Paulo, 2010.p. 17-43.

ANDREOLI C. V.; FERREIRA A. C.; CHERNICHARO C. A. Secagem e Higienização de Lodos com Aproveitamento do Biogás. In: CASSINI, S. T., 2003. Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás. Rio de Janeiro: **ABES, RiMa**, 2003. p. 196.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. 6. ed. Arlington: AOAC International, 1995. p. 1025.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 147525-2: Produtos químicos — **Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente Parte 2: Sistema de classificação de perigo**. Rio de Janeiro: ABNT, 2009.

BARROS, L. E. O.; LIBERALINO F., J. Composto orgânico sólido e em suspensão na cultura do feijão mungo-verde (*Vigna radiata*, wilkzeck). **Revista Verde**. v.3. n 1. 2008. p. 14-122.

BENTO F M. et al. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuate ion, biostimulation and bioaugmentation. **Bioresour Technology**. v. 96. 2005. P. 1049-1055.

BRASIL, Presidência da Republica: Casa Civil. **Lei 6.894, de dezembro de 1980**. 2013. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/1980-1988/L6894.htm>. Acesso em: abril de 2015.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Balanco Energético Nacional. Relatório Síntese**. Brasília, DF, 2015. Ano base: 2014. p. 61. Disponível em: <https://ben.epe.gov.br/downloads/S%C3%ADntese%20do%20Relat%C3%B3rio%20Final_2015_Web.pdf>. Acesso em: 07 out. 2015.

BRASIL. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009, **Alterada pela Resolução CONAMA nº 460/2013 (altera o prazo do art. 8º, e acrescenta novo parágrafo)**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res09/res42009.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2015.

CALIJURI, M. do C.; CUNHA, D. G. F. Engenharia Ambiental: Conceitos, Tecnologias e Gestão. 1ed. **Campus**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.p. 789.

CARNEIRO, D. de A.; GARIGLIO, L. P. A biorremediação como ferramenta para a descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos. **Revista Tecer**. v. 3. n 4. Belo Horizonte, 2010.

CHERNICHARO, C.A.L. de. Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico de águas residuárias. **Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais**. 2.ed. Belo Horizonte, 2007. p. 379.

CLESCERI, L. S. et al. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington: American Public Health Association, 19. ed. 2005.

COELHO, S. T.; GOLDEMBERG, J. Energy access: Lessons learned in Brazil and perspectives for replication in other developing countries. **Energy Policy**. v. 61.São Paulo, SP: Journal Elsevier, 2013. p. 1088-1096.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. Manual de Gerenciamento de Áreas Contaminadas. **Investigação para remediação**. São Paulo, 2001. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/Capitulo_X.pdf>. Acesso em: 02 maio de 2015.

CONTE, P. et al. Increased retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils induced by soil treatment with humic substances. **Environmental Pollution**. v. 112. 2001. p. 27-31.

CORTEZ, L. A. B. et al. **Biomassa para energia**. Biodigestão de efluentes. cap.15. São Paulo: Editora da Unicamp, 2011. p. 734.

COSTA, A. F. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos: determinação de 1-hidroxipireno urinário. **Dissertação de Mestrado**. Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, 2001. p. 80.

D'AGOSTINHO, A.; FLUES, M. Determinação do coeficiente de distribuição (Kd) de benzo(a)pireno em solo por isotermas de sorção. **Quím. Nova [online]**. n.4. v. 29. 2006. p. 657-661.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources**. Weinheim: Wiley, 2011. p. 550.

DIGIMED- Instrumentação Analítica. **Manual de Instruções**. Medidor de pH, voltagem e temperatura. São Paulo. 2009. CD ROM.

EL-MASHAD, H. M. et al. Effect to Temperature and Temperature Fluctuation on Thermophilic Anaerobic Digestion of Cattle Manure. **Bioresource Technology**. v.95. 2004. p. 191-201.

EL-NAAS, M. H.; ACIO, J. A.; TELIB, A. E. El. Aerobic biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. Emirados Árabes Unidos: Elsevier, 2014. p. 1104-1122.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2 ed. Brasília, 2006. p. 306.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para regiões tropicais**. 1 ed. Campinas, 2010. p. 26.

ERNANI, P. R. **Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para a macieira**. Lages, 2003. p. 76.

FERREIRA, A. A. E.; ROSA, R. M.; AGUIAR, R. Sensibilidade e tolerância de cianobactérias de solos, submetidas à ação de hidrocarbonetos de petróleo. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 10. n. 1. Porto Alegre, 2012. p. 107-113.

FICHA DE INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA DO PRODUTO QUÍMICO-FISPQ. **Gasolina Comum – BR0051**. v.5. Rio de Janeiro, 2014. p. 14.

FOGAÇA, L. B. V. Comportamento da percolação de poluentes hidrocarbonetos em função de textura do solo. **V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Belo Horizonte, 2014. p. 10.

FOGHT, J. Anaerobic Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons: Pathways and Prospects. **Journal of Molecular and Microbiology and Biotechnology**. Canada, 2008. p. 93-120.

GAN S.; LAU, E.V.; NG H. K. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Journal Hazard Materials**. v.172. 2009. p. 532-549.

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

GOLDEMBERG, J.; PALETTA, F. C. Energias renováveis. 1 ed. **Série Energia e Sustentabilidade**. São Paulo, SP: Blucher, 2012. p.110.

GUERRA, J. B. S. O. de A., et al. Future scenarios and trends in energy generation in brazil: supply and demand and mitigation forecasts. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. Florianópolis, SC: Journal Elsevier, 2014. p. 1-14.

HOSSEINI, S. E.; WAHID, M. A. Development of biogas combustion in combined heat and power generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. Malaysia: Journal Elsevier, 2014.p.868-875.

JACQUES, R. J. S., et al. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**. v. 37. nº4. Santa Maria, 2007. p. 1192-1201.

JARDIM, W. F.; CANELA, M. C. **Fundamentos da oxidação química no tratamento de efluentes e remediação de solos**. UNICAMP. Campinas, 2004.

JÚNIOR, J. J.; PASQUALETTO, A.. **Contaminação ambiental movida por postos retalhistas de combustíveis**. Universidade Católica de Goiás. Goiás, 2008. Disponível em: <http://www.pucgoias.edu.br/ucg/prope/cpgss/ArquivosUpload/36/file/CONTAMINA%C3%87%C3%83O%20AMBIENTAL%20POR__.pdf>. Acesso em: 11 maio de 2015.p. 25.

KALTSCHIMITT, M.; HARTMANN, H. **Energie aus Biomasse**. Springer Verlag. Berlin, 2009.

KARLSSON, T. et al. **Manual básico de biogás**. Lajeado: Ed. da Univates, 2014.

KISPERGHER, E. M. Digestão anaeróbia de efluentes da indústria de alimentos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Curitiba, 2013.p. 99.

KOCH, F. F. Avaliação da viabilidade técnica quanto a obtenção de biometano através da purificação de biogás em meio aquoso: um estudo de caso do projeto Consórcio Verde Brasil. **Dissertação (Mestrado) – Curso de Ambiente e Desenvolvimento, Centro Universitário UNIVATES**, Lajeado, 2014.

KOLESÁROVÁ, N. et al. Utilization of Biodiesel By-Products for Biogas Production. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. v. 2011.p.16.

KONRAD, O. et al. Quantificação da produção de biogás e determinação do percentual de metano a partir de dejetos suínos e lodo de estação de tratamento de efluentes (ETE). **Revista destaques acadêmicos**. v. 1. n. 4. Lajeado, 2009. p. 59-65.

LABUD, V.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, T. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. **Chemosphere**. v. 66. Spain, 2007. p. 1863-1871.

LEITE D. C.; CUNHA A. C. B. da; BIZANI D. Análise de macro e micronutrientes em um estudo comparativo de solo húmífero para processos de biorremediação. **Revista de Ciências Ambientais**. v.5, n.2. Canoas, 2011. p. 93-102.

LORENZETE, D. B. A gestão de resíduos em posto de combustível. **Seminário de Administração XIII SEMEAD**. Universidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2010.

MACHADO, C. J. S. et al. Legislação ambiental e degradação ambiental do solo pela atividade petrolífera no Brasil. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**. 2013. v. 28. p. 41-55.

MANUAL DE ADUBAÇÃO E DE CALAGEM PARA OS ESTADOS DO RIO GRANDE DO SUL E DE SANTA CATARINA. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. ed.10. Porto Alegre, 2004.

MARCONI. Equipamentos e calibração para laboratórios. **Manual de Instruções**. Bloco Digestor MA – 850. São Paulo. 2012. p. 5.

MARTÍN, M. A.; SILES, J. A.; MARTÍN, A.. Anaerobic Co-digestion of Agro-Industrial Wastes. In: LITONJUA, R.; CVETKOVSKI, I. Biogas: Production, Consumption and Applications. **Nova Science Publishers**. New York, 2012. p.117-140.

MAZZEO, et al. Application of micronucleus test and comet assay to evaluate BTEX biodegradation. **Journal Chemosphere**. São Paulo: Elsevier, 2013. P. 1030-1036.

MAZZUCO, L. M. Atenuação natural de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados com óleo diesel. **Dissertação (Mestrado) – Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina**. Florianópolis, 2004. p. 86.

MC LAFFERTY F.W.; STAUFFER D.B. Wiley Registry of Mass Spectral Data. **Mass Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM**. 6 ed. 1994.

MESQUITA, A. C. Uso das técnicas de oxidação química e biodegradação na remoção de alguns compostos recalcitrantes. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2004.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras-MG, 2006. p. 730.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A. da; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química nova**. v. 32. n. 3. São Paulo, 2009. p. 639-648. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n3/a08v32n3.pdf>>. Acesso em: out. 2013.

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

NADIM, F. et al. Detection and remediation of soil and aquifer systems contaminated with petroleum products: an overview. v. 26. **Journal of Petroleum Science and Engineering**. Estados Unidos: Elsevier, 2000.p. 169-178.

NATIONAL INSTITUTE OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. Polynuclear aromatic hydrocarbons by HPLC: method 5506. **NIOSH manual of analytical methods (NMAM)**. 3 ed. 1998.p. 4-9.

NETTO A. D. P. et al. Evaluation of human contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) and their nitrated derivatives (NHPAS): a review of methodology. **Química Nova**. São Paulo,2000. v.23. n.6. p.765-773.

OLIVEIRA, F.J.S. **Biorremediação de solo arenoso contaminado por óleo cru**. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro, 2001.

OLIVEIRA, M. M. Estudo da inclusão de compartimentos em biodigestores modelo canadense. **Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria**. Santa Maria, 2012.p. 33.

OLIVEIRA, R. D. Geração de energia elétrica a partir do biogás produzido pela fermentação anaeróbia de dejetos em abatedouro e as possibilidades no mercado de carbono. **Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Curso de Engenharia Elétrica com ênfase em Sistemas de Energia e Automação, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo**. São Carlos, 2009.

OLIVEIRA, R. M.; ALVES, F. Diversidade microbiana utilizada na biorremediação de solos contaminados por petróleo e derivados. **Tese (Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas)** – Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, Belo Horizonte, 2013. p. 16.

OLIVEIRA, S. V. W. B. de, et al. Generation of bioenergy and biofertilizer on a sustainable rural property. **Biomass and Bioenergy**. Journal Elsevier, Ribeirão Preto, SP, 2011. p. 2608–2618.

OLLIVIER, B., MAGOT, M. **Petroleum Microbiology**. Washington D.C., USA, ASM Press. 2005.

OWAMAH, H. et al. Fertilizer and sanitary quality of digestate biofertilizer from the co-digestion of food waste and human excreta. **Waste Management**. v. 34. Nigeria, 2014. p. 747-752.

PAULA, A.M., SOARES, C.R.F.S., SIQUEIRA, J.O. Biomassa, atividade microbiana e fungos micorrízicos em solo de landfarming de resíduos petroquímicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 10. n. 2. 2006. p. 448-455.

PEPPER, I. L.; GERBA, C. P.; GENTRY, T. J. **Environmental microbiology**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier: Academic Press, 2015.

PEREIRA JR., N.; GOMES, E. de B.; SORIANO, A. U. **Biodegradação de hidrocarbonetos**. Séries em biotecnologia. v. 3. Rio de Janeiro, 2009. p.76.

QUIMIS- Aparelhos Científicos Ltda. Chapa aquecedora retangular. **Manual de Instruções**. São Paulo. 2008. p. 9.

RAMIRO, P. B. Análise do potencial microbiano de uma biopilha na Biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental)** – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2012.

RAMOS, D. G. B.; MENDONÇA FILHO, J. G.; POLIVANOV, H. Distribuição de contaminantes orgânicos e metais pesados em solos e sua relação com a matéria orgânica. **Geochimica Brasiliensis**. p. 21. n. 3. p. Rio de Janeiro, 2007. p. 282 – 303.

RAO, M. S.; SINGH, S. P. Bioenergy conversion studies of organic fraction of MSW: kinetic studies and gas yield–organic loading relationships for process optimization. **Bioresource Technology**. v. 95, n. 2, 2004. p. 173-185.

REIS, L. B. dos; FADIGAS, E. A. A.; CARVALHO, C. E. Energia, Recursos Naturais e a Prática do Desenvolvimento Sustentável. 1. ed. **Coleção Ambiental**. Barueri, SP: Manole, 2010. p. 415.

ROCHAS, C. A.; ALVES, F.. Avaliação dos principais micro-organismos e técnicas utilizados na biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Acervo da Iniciação Científica**. nº 2. Belo Horizonte – MG. 2013. p. 13.

RODRIGUES, L. dos S. et al. Avaliação de reator anaeróbico de manta de lodo no tratamento de efluentes de frigorífico. **Nova Odessa**. Belo Horizonte, 2014. v.71. n.4. p.365-370.

RODRIGUES, S.; DUARTE, A. C. Poluição do solo: revisão generalista dos principais problemas. In: CASTRO, A.; DUARTE, A.; SANTOS, T. **O ambiente e a saúde**. Lisboa, 2003. p. 136-176.

SAARI, E. Towards minimizing measurement uncertainty in total petroleum hydrocarbon determination by GC-FID. **Acta Univ. Oul. A**. v. 544. 2009.

SAMANTA, S. K.; BHUSHAN, B.; JAIN, R. K. Efficiency of naphthalene and salicylate degradation by a recombinant *Pseudomonas putida* mutant strain defective in glucose metabolism. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 2001. v. 55. p. 627-631.

SANTOS, A. F. da S. Estudo de viabilidade de aplicação do biogás no ambiente urbano. **Trabalho de Conclusão do MBA em Administração Organizações**. FUNDACE. Ribeirão Preto, 2009.

SAYARA, T. et al. Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: Influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 65. Spain, 2011. p. 859-865.

SCHIEVANO, A.; D'IMPORZANO, G.; ADANI, F.. Substituting energy crops with organic wastes and agro-industrial residues for biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. Journal Elsevier, Milan, Italy, 2009. p. 2537-2541.

SILVA W. T. da et al. Avaliação físico-química de efluente gerado em biodigestor anaeróbico para fins de avaliação de eficiência e aplicação como fertilizante agrícola. **Quim. Nova**. v. 35. n.1. São Paulo, 2012. p. 35-40.

SILVA, A. F.; et al. Preparo e uso de biofertilizantes líquidos. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007. **Comunicado técnico**. Petrolina, 2007. p. 4.

SŁOMIŃSKA, M.; KRÓL, S.; NAMIEŚNIK, J. Removal of BTEX compounds from waste gases: destruction and recovery techniques. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. v. 43. Poland, 2012. p. 1417–1445.

SOLAB. Equipamentos para Laboratórios. **Manual do Usuário**. Banho Ultratermostatizado SL-152/10. São Paulo. 2008.

SOUZA, A. T. C. de; FLOR, R. V. Postos de revenda de combustíveis: qualificação das atividades e a bioremediação na reparação dos passivos ambientais. **Revista Eletrônica de Petróleo e Gás**. n.2. Natal, 2013. p. 47-54.

SPINELLI, L. F. de. Biorremediação, toxicidade e lesão celular em derrames de gasolina. **Tese de doutorado**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005. p. 2018.

SPLABOR- **Equipamentos para laboratório**. Estufa digital time microprocessada para esterilização e secagem. Manual do usuário. São Paulo. 2009. p. 6.

SPLABOR- **Equipamentos para laboratório**. Forno Mufla Digital Microprocessado. Manual do usuário. São Paulo. 2009.

TECNAL- Equipamentos para Laboratórios Ltda. **Manual de Instruções**. Destilador de Nitrogênio/ Proteína TE - 0363. São Paulo. 2012. CD ROM.

TEDESCO J. M., et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1995.

TEJADA M. et al. Application of different organic amendments in a gasoline contaminated soil: Effect on soil microbial properties. **Bioresource Technology**. v. 99. Spain: Elsevier, 2007. p. 2872-2880.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Belo Horizonte, 2011.

WATTS, R. J. et al. A foundation for the risk-based treatment of gasoline-contaminated soils using modified Fenton's reactions. **Journal of Hazardous Materials**. v. 76 . USA, 2000. p.73-89.

WTW. Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH. Manometrische BSB-Meßgeräte. **Manual de Instruções**. Germany, 2008. p. 23.

YUN, Y. S. et al. Treatment of food wastes using slurry-phase decomposition. **Bioresource Technology**. v. 73. South Korea, 2000. p. 21-27.

ZADINELO, I. V. et al. Potencial da produção de biogás a partir de efluente pré- tratado de abatedouro de aves da região Oeste do Paraná. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**. v. 2. Paraná, 2013. p. 61-71.

ZILIO, R. L. et al. Biorremediação de solo arenoso contaminado por derrame simulado com benzeno, tolueno e xileno. **Biochemistry and Biotechnology Reports**. v.1. n.2. 2012. p. 39-47.