

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE AGRONOMIA**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
CIÊNCIA DO SOLO**

**DISSERTAÇÃO**

**Uso de Resíduo Orgânico da Produção de Biodiesel  
Direta da Semente na Atenuação dos Efeitos de  
Hidrocarbonetos de Petróleo no Solo**

**Fábio Cardoso de Freitas**

**2009**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
CIÊNCIA DO SOLO**

**USO DE RESÍDUO ORGÂNICO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL  
DIRETA DA SEMENTE NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DE  
HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO NO SOLO**

**FÁBIO CARDOSO DE FREITAS**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Everaldo Zonta**

*e Co-orientação do Professor*  
**Eduardo Lima**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2009

631.82  
F862u  
T

Freitas, Fábio Cardoso de, 1975-

Uso de resíduo orgânico da produção de biodiesel direta da semente na atenuação dos efeitos de hidrocarbonetos de petróleo no solo / Fábio Cardoso de Freitas – 2009.

97 f. : il.

Orientador: Everaldo Zonta.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia.

Bibliografia: f. 89-97

1. Solos – Poluição – Teses. 2. Resíduos orgânicos - Teses. 3. Biodiesel – Produção – Teses. 4. Hidrocarbonetos - Contaminação – Teses. 5. Petróleo - Teses. I. Zonta, Everaldo, 1970-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO**

**FÁBIO CARDOSO DE FREITAS**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 17/02/2009

---

Everaldo Zonta. Dr. UFRRJ  
(Orientador)

---

Raquel Capistrano Moreira. Dr<sup>a</sup>. CENPES/PETROBRAS

---

Juliana Lopes Martins. Dr<sup>a</sup>. UFRJ

---

Fábio Henrique Tavares de Oliveira. Dr. UFERSA

O homem come planta ou planta transformada.

A planta tem que se alimentar.

Portanto, somente alimentando a planta é possível alimentar o homem, vestir e fornecer-lhe energia alternativa para os fins que necessita.

(E. Malavolta)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico à  
Filipe Cardoso de Freitas.  
Eisntein tinha razão, Lipe, a imaginação é mais importante que o conhecimento.

## AGRADECIMENTO

Preciso agradecer:

A Deus que me permitiu chegar até aqui e que ao longo desta caminhada manteve junto a mim todos que amo e preciso, sempre!

Aos meus pais Freitas e Graça e ao meu irmão Filipe. Devo tudo a vocês.

De forma especial à garotinha Raquel pelo amor incondicional e confiança. Nenhuma outra suportaria tanto. Eu sei disso!

Aos meus avós pelo carinho e torcida.

Aos meus Tios e Tias pelo incentivo.

Ao meu orientador e professor Everaldo Zonta pela confiança acima de tudo, amizade e orientação. A convivência com sua família, mostrou que os ensinamentos vão muito além das salas e dos portões desta Universidade.

À Dr<sup>a</sup> Miliane e suas alunas, Ingrid e Lidiane pela enorme paciência e fundamental apoio.

Ao “camarada” Hugo José de Oliveira Zoffoli. Sua ajuda e idéias contribuíram muito para a conclusão deste trabalho. Sua amizade e companheirismo foram sempre a maior referência nas ocasiões mais difíceis.

Ao professor e co-orientador Eduardo Lima. É uma enorme satisfação poder chamá-lo também de amigo.

Ao amigo “verme” Gláucio por contribuir diretamente na minha satisfação em seguir o caminho da docência.

Aos estagiários (Graciene, Alison, Rafael, Rose e Sorriso), pela ajuda nas atividades, pela confiança, pelo aprendizado e pela amizade.

Aos colegas de turma, de trabalho, de sala, de dramas e de terras portenhas (Carla, Fabiano, Juliano, Patrik, Nivaldo, Mondino, Ademir, Rodolfo “Pastor”, Ingrid, Nathália, Celeste e Carlos).

Ao amigo Adriano pelo incentivo e convivência durante a Residência.

Ao professor Bacis pelo sarcasmo inteligente e convivência.

Ao professor Jorge Pimenta cujos bons papos sobre cultura e ética na graduação se perduraram em minha memória até a pós.

Aos laboratoristas e funcionários (Jair, Renato, Bruno, Irani, Ancelmo, Andréia, Manoel, Betinha, Moraes, Alexandre, Luciene, Roberto, Marquinho, Cristiane, Lorivall, Pedro e Jucélio), pela paciência, ajuda e inúmeros “galhos quebrados”.

Ao José Luis, amigo e grande incentivador na transmissão do conhecimento.

À Rosângela pelas previsões. Tomara que um dia elas se concretizem realmente.

Ao Seu Néilson e à Dona Rosa.

Aos meus primos e amigos de AFOA. Isso merece um encontro!

Aos membros da banca pela gentileza na aceitação do convite.

Ao CNPq pela bolsa de estudos. Sempre bancando sonhos e pesquisa científica de ponta neste país.

A Petrobras pela disponibilidade do material, logística e apoio financeiro.

A Faperj pelo apoio financeiro no desenvolvimento de novas pesquisas no meu Estado.

Ao CPGA-CS pelo apoio e confiança.

A UFRRJ por constituir para sempre um espaço de eterno saber e conhecimento em minha vida. Por entre seus campos e belos e imponentes prédios se desenvolveram as mais valiosas sementes que pude colher.

A todos que de alguma forma fizeram parte deste trabalho o meu muito obrigado!

## **BIOGRAFIA**

Fábio Cardoso de Freitas é natural da cidade do Rio de Janeiro - uma de suas paixões - tendo se graduado em Agronomia em maio de 2005 na UFRRJ (eterna ENA). Enquanto aluno, ainda nas salas de aula sempre acreditou que o Engenheiro Agrônomo deveria estar não só no campo, mas também, de forma prioritária nas grandes cidades contribuindo para a manutenção e preservação do ambiente urbano. Quando estagiou na Prefeitura Carioca na poda e remoção de árvores, percebeu que tinha razão em suas opiniões. Durante dois anos foi também estagiário na área de meio ambiente da Fábrica da Petroflex em Duque de Caxias, onde desenvolveu projetos de recuperação e educação ambiental no entorno da Baía de Guanabara. Foi na condição de Agrônomo residente do Departamento de Solos da UFRRJ durante 18 meses, que consolidou de vez sua vocação para o trabalho de recuperação ambiental, atuando principalmente em áreas afetadas pela exploração petrolífera nos Estados do Rio de Janeiro e do Paraná. Em março de 2007 ingressou no Mestrado do CPGA-CS da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

## RESUMO GERAL

FREITAS, Fábio Cardoso de. **Uso de resíduo orgânico da produção de biodiesel direta da semente na atenuação dos efeitos de hidrocarbonetos de petróleo no solo.** 2009. 97f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

Na busca por matrizes energéticas que possam minimizar o impacto ambiental causado no transporte, refino e distribuição de combustíveis fósseis, o biodiesel se destaca como uma alternativa economicamente viável e totalmente renovável frente ao petróleo. Com a regulamentação da Lei 11097 de 2005 o Brasil se consolidou no cenário mundial como um dos maiores produtores de biocombustíveis do planeta. Entretanto, a produção destes combustíveis verdes também gera resíduos que precisam de especial atenção não só por eventuais riscos quando do seu descarte de forma inadequada no ambiente, mas também por potencial uso na agricultura, como condicionador de solo, por exemplo. Assim, buscou-se neste estudo estimar o potencial de uso do resíduo orgânico oriundo do processo de produção de biodiesel direto da semente (torta de PDS) de *Ricinus communis* L. (mamoneira), em solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo, utilizando técnicas que aplicam métodos biológicos de remediação de áreas impactadas, e, também, como fertilizante orgânico na produção vegetal. A técnica da produção de biodiesel direta da semente foi desenvolvida pela Petrobras/Cenpes (detentora da patente) e pode ser utilizada para produzir biodiesel a partir de qualquer outra semente de oleaginosa e não apenas das de *Ricinus communis* L. Para tanto, o estudo se deu em fases distintas, apresentadas em três capítulos. Primeiramente foi feita a caracterização do resíduo segundo a ABNT/NBR 10.004:2004 e, para verificar seu potencial como fertilizante orgânico, teores de nutrientes foram determinados e comparados com a legislação pertinente no país. Todas as determinações foram feitas comparando o resíduo (torta de PDS) a uma torta de mamona procedente da forma convencional de obtenção de óleo (TMC). Depois foram realizados testes de laboratório com doses crescentes dos dois resíduos (tortas de PDS e TMC), para avaliar a taxa de mineralização, medida pela evolução de CO<sub>2</sub> em solo contaminado e não contaminado com óleo bruto (4%). Por último, foram feitos ensaios em casa de vegetação onde plantas de *Ricinus communis* L. (mamona) e *Helianthus annuus* L. (girassol) cresceram em substrato contaminado e não contaminado também com óleo bruto (4%), com seis doses crescentes de torta de PDS. A análise dos dados permitiu concluir que a torta de PDS é um resíduo de Classe II A (Não Perigoso e Não Inerte), segundo a NBR 10004:2004 e, de acordo com a legislação federal do MAPA (BR), como um fertilizante orgânico composto de Classe “B”. Além disto, verificou-se que o aumento das doses da torta de PDS estimulou a atividade microbiana, conduzindo ainda, no experimento com as oleaginosas, a um incremento linear no ganho de matéria seca da parte aérea e de raiz de ambas as plantas não submetidas ao contaminante. Também ocorreram mudanças na composição dos n-alcenos, tanto no experimento de laboratório como naquele conduzido em casa de vegetação. Assim os resultados permitiram concluir que a torta de PDS tem aplicabilidade nos processos de biorremediação e na ciclagem de nutrientes, devendo, entretanto, passar por ajustes no processo de produção para que sua utilização na agricultura e ou no meio ambiente não seja limitada pelos teores de Na, utilizados nesta nova rota de produção de biodiesel da Petrobras.

**Palavras-chave:** Biorremediação. Torta de mamona. Biocombustíveis.

## GENERAL ABSTRACT

FREITAS, Fábio Cardoso de. **Use of organic residue from the biodiesel production directly from the seed in the reduction of petroleum hydrocarbons effect in soil.** 2009. 97p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science) Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

In the search for energy resources that can minimize the environmental impact in the transportation, refining and distribution of fossil fuels, biodiesel is highlighted as an economically viable alternative and totally renewable if compared to petroleum. With the regulations of Law 11097, from 2005, Brazil became widely known as one of the planet largest producers of biofuels. However, the production of green fuels also generates waste that needs special attention, not only because of their risk when improperly discarded in the environment, but also for their potential use in agriculture as soil conditioner, for example. Thus, the aim of this study was to estimate the potential usage of the by-product (PDS cake) from the process of biodiesel production directly from the *Ricinus communis* L. seed in soil contaminated by petroleum hydrocarbons, through remediation technique of contaminated sites, and as an organic fertilizer on vegetal production as well. The production technique was developed and patented by the Brazilian company Petrobras and can be used not only for castor bean seeds, but also for any other oilseed. To accomplish the goals, the present study was held in different stages. First, the residue was characterized according to Brazilian regulation (ABNT/NBR 10.004:2004), and to compare its potential as organic fertilizer, the nutrients contents were quantified and compared to the limits in the country legislation. All the measurements in the residue (PDS cake) were compared to values from a castor bean cake from conventional oil extraction process. Later, laboratory tests with increasing doses of both residues (PDS cake and commercial castor bean cake) were carried out, to quantify the mineralization rate, measured by the CO<sub>2</sub> evolution in soil contaminated and uncontaminated by oil (4%). Also, preliminary tests were performed in a greenhouse, where *Ricinus communis* L. and *Helianthus annuus* L. plants grew in soil contaminated and uncontaminated by oil (4%), added of six increasing doses of PDS cake. The data analysis classified the residue as a Class B organic fertilizer compound, according to MAPA's federal Brazilian legislation. It was also verified that the increase of PDS cake doses stimulated the microbial activity, fostering in the oil plant experiment a linear increase of dry mass gain in stem, leaves and root in both plants non-submitted to contaminant. Plus, there was a change in the n-alkanes composition, in both laboratory and greenhouse tests. The results indicated that the PDS cake has applicability in the bioremediation processes and in nutrients cycling. However, the production process needs to be adjusted so that its application in the environment, as well as in the agriculture, would not be limited by the Na contents, used in this new biodiesel production route of Petrobrás.

**Key words:** Bioremediation. Castor bean cake. Biofuels.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema simplificado que demonstra a rota de produção de biodiesel via sementes – a produção direta, desenvolvida pela Petrobras/Cenpes, que é detentora da patente industrial. Figura cedida por ZONTA, 2008. ....
- Figura 2.** C mineralizado, estimado pela respiração microbiana em solos que receberam 10% (w/w) de torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana. TM: torta de mamona; EB: esterco bovino; BC: bagaço de cana. Fonte: SEVERINO et al. Revista de biologia e ciências da terra (5) 1, 2004. ....
- Figura 3.** A) Unidade Experimental de Biodiesel (UEB 2) e, B) resíduo produzido. ....
- Figura 4.** Local de coleta da camada superficial de um Planossolo localizado na UFRuralRJ. Foto cedida por Haim, 2008. ....
- Figura 5.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> em solo contaminado com óleo bruto (4%) ao final dos 23 dias de experimento. Torta de PDS, à esquerda (A) e torta de mamona comercial, à direita (B). Barras mostram o erro padrão. ....
- Figura 6.** Mineralização das tortas de mamona em solo contaminado com óleo bruto (4%), medida pela evolução de CO<sub>2</sub> sob diferentes doses (Mg ha<sup>-1</sup>) e avaliada durante 23 dias. Acima (A) tratamentos com torta de PDS, e abaixo (B) tratamentos com torta comercial. Barras mostram o erro padrão. ....
- Figura 7.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> ao longo dos 23 dias sob 6 doses crescentes (Mg ha<sup>-1</sup>), submetidos ao contaminante (óleo bruto 4%) Acima (A) tratamentos com adição de torta de PDS e abaixo (B), tratamentos com adição de torta comercial (TMC). Barras mostram o erro padrão. ....
- Figura 8.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> em solo não contaminado ao final dos 23 dias de experimento. Torta de PDS, à esquerda (A) e torta de mamona comercial, à direita (B). Barras mostram o erro padrão. ....
- Figura 9.** Mineralização das tortas de mamona em solo não contaminado, medida pela evolução de CO<sub>2</sub> sob diferentes doses (Mg ha<sup>-1</sup>) e avaliada durante 23 dias. Acima (A) tratamentos com torta de PDS, e abaixo (B) tratamentos com torta comercial. Barras mostram o erro padrão. ....
- Figura 10.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> ao longo dos 23 dias sob 6 doses crescentes (Mg ha<sup>-1</sup>), não submetidos ao contaminante. Acima (A) tratamentos com adição de torta de PDS e abaixo (B), tratamentos com adição de torta comercial. Barras mostram o erro padrão. ....
- Figura 11.** Curvas de determinação, por potenciometria, da influência da incubação de diferentes doses (Mg ha<sup>-1</sup>) da torta de PDS, acima (A) e da torta comercial (TMC), abaixo (B), em amostras de terra oriunda da camada superficial de um Planossolo, avaliadas durante 32 dias. Barras mostram o erro padrão. ....
- Figura 12.** Composição de n-alcenos nos substratos com doses crescentes de 0, 5, 10, 20, 40 e 80 Mg.ha-1 das tortas comercial (TMC) (A), e de PDS (B), aferidas 23 dias após a mineralização. ....
- Figura 13.** Vasos utilizados no experimento em casa de vegetação (vidros tipo âmbar) à esquerda (A), e detalhe da camada de cerca de 5 cm de óleo contaminante que se formou 15 dias antes do plantio sem percolar, à direita (B), para cultivo de girassol e mamoneira sob diferentes doses de torta de PDS. ....
- Figura 14.** Altura de plantas de mamona submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B). ....

- Figura 15.** Plantas de mamona cultivadas sob doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B), ao final de 60 dias de experimento em casa de vegetação.....
- Figura 16.** Peso de matéria seca e teores de N, P, K, Ca e Mg da parte aérea e peso seco de raiz de plantas de mamona submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (colunas em branco) e contaminado com óleo bruto a 4% (colunas em preto). Colunas com letras diferentes para uma mesma dose diferem entre si pelo teste de Duncan (5%). .....
- Figura 17.** Altura de plantas de girassol submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B). .....
- Figura 18.** Plantas de girassol cultivadas sob doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B), ao final de 60 dias de experimento em casa de vegetação. ....
- Figura 19.** Peso de matéria seca e teores de N, P, K, Ca e Mg da parte aérea e peso seco de raiz de plantas de girassol submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (colunas em branco) e contaminado com óleo bruto a 4% (colunas em preto). Colunas com letras diferentes para uma mesma dose diferem entre si pelo teste de Duncan (5%). .....
- Figura 20.** Alterações no pH do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).....
- Figura 21.** Alterações nos teores de H<sup>+</sup>Al do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).....
- Figura 22.** Alterações nos teores de Sódio em solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).....
- Figura 23.** Alterações nos teores de Cálcio do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).....
- Figura 24.** Alterações nos teores de Magnésio do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B) .....
- Figura 25.** Alterações nos teores de Fósforo do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B) .....
- Figura 26.** Alterações nos teores de Potássio do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B) .....
- Figura 27.** Composição de n-alcenos em solo com doses crescentes de torta de PDS de 0, 5, 10, 20, 40 e 80 t.ha<sup>-1</sup>, onde cresceram plantas de mamona. Acima, camada “A” e abaixo, camada “B” do solo.....
- Figura 28.** Composição de n-alcenos em solo com doses crescentes de torta de PDS de 0, 5, 10, 20, 40 e 80 t.ha<sup>-1</sup>, onde cresceram plantas de girassol. Acima, camada “A” e abaixo, camada “B” do solo.....

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Informações médias da produção de óleo vegetal e de tortas de oleaginosas com potencial para fabricação de biodiesel .....
- Tabela 2.** Teores de nutrientes N, P e K em diferentes tortas de oleaginosas. Valores em ( $\text{g.kg}^{-1}$ ).....
- Tabela 3.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Massa bruta, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma. ....
- Tabela 4.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Lixiviado – parâmetros inorgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma. ....
- Tabela 5.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Lixiviado – parâmetros orgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma. ....
- Tabela 6.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Lixiviado, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma. ....
- Tabela 7.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 - Solubilizado – parâmetros inorgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma. ....
- Tabela 8.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 - Solubilizado – parâmetros orgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma. ....
- Tabela 9.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Solubilizado - entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma. ....
- Tabela 10.** Teores totais de macronutrientes, carbono orgânico e relação C:N da torta de PDS e da torta de mamona comercial. ....
- Tabela 11.** Tratamentos utilizados no experimento de mineralização das tortas. ....
- Tabela 12.** Tratamentos utilizados na determinação de elevação do pH em função das doses de tortas - PDS e TMC.....
- Tabela 13.** Resultados da análise química dos solos utilizados, onde m-saturação por Al; n-saturação por Na. ....
- Tabela 14.** Análise granulométrica dos solos. ....
- Tabela 15.** Quantificação da população de micro-organismos em unidades formadoras de colônia (UFC) em função dose de aplicação das tortas de mamona, 23 dias após o experimento.....
- Tabela 16.** Composição de hidrocarbonetos de petróleo no solo contaminado com óleo bruto em que doses crescentes de torta de mamona comercial (TMC) e torta da produção direta de biodiesel (PDS) foram adicionadas e incubadas durante 23 dias.....
- Tabela 17.** Tratamentos utilizados no experimento em casa de vegetação. ....
- Tabela 18.** Composição de hidrocarbonetos de petróleo no solo contaminado com óleo bruto (4%) em que plantas de mamona cresceram sob diferentes doses da torta da produção direta de biodiesel (torta de PDS) ao final de 60 dias de experimento em casa de vegetação.....
- Tabela 19.** Contagem de actinomicetos, bactérias e fungos presentes nos substratos contaminados onde cresceram plantas de mamona (acima) e girassol (abaixo).....

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2	CAPÍTULO I – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA TORTA DE PDS EM COMPARAÇÃO A UMA TORTA DE MAMONA GERADA PELO PROCESSO CONVENCIONAL DE OBTENÇÃO DE ÓLEO .....	3
2.1	RESUMO .....	4
2.2	ABSTRACT .....	5
2.3	INTRODUÇÃO.....	6
2.4	REVISÃO DE LITERATURA .....	7
2.4.1	O programa nacional de biodiesel .....	9
2.4.2	O biodiesel e sua fabricação .....	10
2.4.3	A produção a partir de óleos vegetais.....	10
2.4.4	A produção a partir de sementes de oleaginosas - produção direta de biodiesel..	11
2.4.5	Resíduo orgânico da produção de biodiesel – as tortas de oleaginosas.....	11
2.5	MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.5.1	Coleta e preparo das amostras .....	15
2.5.2	Caracterização das amostras.....	15
2.6	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	17
2.7	CONCLUSÕES .....	25
3	CAPÍTULO II - MINERALIZAÇÃO DAS TORTAS, MEDIDA PELA EVOLUÇÃO DE CO <sub>2</sub> , EM AMBIENTE CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM ÓLEO BRUTO.....	26
3.1	RESUMO .....	27
3.2	ABSTRACT .....	28
3.3	INTRODUÇÃO.....	29
3.4	REVISÃO DE LITERATURA .....	30
3.4.1	Impactos ambientais causados por hidrocarbonetos de petróleo.....	30
3.4.2	Biorremediação de áreas impactadas por hidrocarbonetos de petróleo.....	30
3.4.3	A matéria orgânica e a atividade dos micro-organismos no solo .....	32
3.5	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.5.1	Coleta e preparo do solo .....	34
3.5.2	Tratamentos utilizados na mineralização das tortas de mamona.....	34
3.5.3	Condução da mineralização das tortas de mamona, medida pela evolução de CO <sub>2</sub> .....	35
3.5.4	Cálculo do CO <sub>2</sub> evoluído .....	36
3.5.5	Contagem do número mais provável de micro-organismos .....	36
3.5.6	Análises de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) .....	36
3.5.7	Incubação das tortas e tratamentos utilizados.....	36
3.6	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
3.6.1	Caracterização do solo.....	38
3.6.2	Mineralização das tortas, medida pela evolução de CO <sub>2</sub> em solo contaminado ..	39
3.6.3	Mineralização das tortas, medida pela evolução de CO <sub>2</sub> em solo não contaminado.....	43
3.6.4	Efeito das tortas no pH do solo.....	45
3.6.5	Contagem do número mais provável de micro-organismos (NMP) nos tratamentos contaminados.....	47
3.6.6	Análises cromatográficas de hidrocarbonetos totais de petróleo.....	48
3.7	CONCLUSÕES .....	51

4	CAPÍTULO III - USO DA TORTA DE PDS NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO NO SOLO E NO CRESCIMENTO DE OLEAGINOSAS .....	52
4.1	RESUMO .....	53
4.2	ABSTRACT .....	54
4.3	INTRODUÇÃO .....	55
4.4	REVISÃO DE LITERATURA .....	56
4.4.1	A contaminação por petróleo e seus efeitos no solo e nas plantas .....	56
4.4.2	A fitorremediação .....	56
4.4.3	Fitorremediação de solos contaminados por petróleo .....	58
4.4.4	Interações microbiológicas .....	59
4.5	MATERIAL E MÉTODOS .....	60
4.5.1	Tratamentos .....	60
4.5.2	Coleta e preparo do solo .....	61
4.5.3	Contaminação do solo e semeio das espécies .....	61
4.5.4	Coleta e análise das plantas .....	62
4.5.5	Análise do solo .....	62
4.5.6	Monitoramento de atenuação dos totais de hidrocarbonetos de petróleo .....	62
4.5.7	Avaliação da quantificação microbiana .....	63
4.6	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	64
4.6.1	Fenologia e absorção de nutrientes em plantas de mamona .....	64
4.6.2	Fenologia e absorção de nutrientes em plantas de girassol .....	68
4.6.3	Alterações nas relações nutricionais do solo .....	72
4.6.4	Monitoramento da atenuação de hidrocarbonetos totais de petróleo .....	80
4.6.5	Avaliação da quantificação microbiana .....	84
4.7	CONCLUSÕES .....	87
5	CONCLUSÕES GERAIS .....	88
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	89

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A torta de mamona proveniente da técnica de produção de biodiesel direto da semente (torta de PDS) é um resíduo orgânico gerado no processo físico-químico de fabricação de biodiesel, onde especificamente, para este estudo foram utilizadas sementes de *Ricinus communis* L (mamona). O processo foi desenvolvido pela Petrobras/Cenpes, que é detentora da patente industrial, e pode utilizar sementes de qualquer outra oleaginosa para fabricação de biodiesel.

Não havendo informação na literatura sobre este resíduo gerado, visto que esta rota de produção de biodiesel era inédita até então, faz-se necessária sua caracterização e demonstração do seu potencial de uso. Corroborando o comprometimento ambiental e o manejo atual no gerenciamento e reutilização de resíduos, definidos por diversos tratados, ratificados por diferentes nações do mundo, entre as quais o Brasil é também signatário.

Além disso, a disposição e/ou reutilização de resíduos orgânicos na agricultura encontra na legislação brasileira parâmetros bem definidos, que, de forma clara e concisa, preconizam o respeito e o compromisso com o meio ambiente e com a saúde do homem do campo. Há, portanto, diante de uma rota original na indústria a necessidade de se fazer considerações sobre a torta de PDS perante as leis que vigoram no país sobre uso e definição de fertilizantes orgânicos.

Investigar novos potenciais que tragam benefícios e fortaleçam os anseios de uma sociedade cada vez mais preocupada com o meio ambiente e com a geração de passivos ambientais, é adotar o que está preconizado na Agenda 21. E não é de outra forma, se não a investigação científica agrônômica, a causa e precursora de novas tecnologias de uso destes resíduos que visam maior produtividade no campo, com mais economia e sustentabilidade.

Desta forma, aliando a prática ambiental de gerenciamento de resíduos com a remediação de áreas degradadas, estabeleceram-se as hipóteses de que a torta de PDS tem aplicabilidade em processos que utilizam métodos biológicos para atenuar os efeitos dos hidrocarbonetos de petróleo. Além disto, a torta pode ser utilizada como fertilizante orgânico para a produção vegetal, inclusive de oleaginosas, ciclando assim, os nutrientes exportados por estas culturas das respectivas áreas de produção destinadas à fabricação de biodiesel. Para fins de biorremediação de áreas impactadas, a torta de PDS pode estimular a atividade da microbiota do solo, aumentando a sua capacidade de degradar hidrocarbonetos de petróleo por fornecer nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento e carbono prontamente disponível.

A confirmação de tais hipóteses atenderia tanto ao protocolo de Kyoto, bem como às recomendações da Agenda 21 e é com vistas a estas que o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece princípios para a gestão de resíduos e atendimento da Agenda 21 da seguinte forma hierarquizada: a não geração de resíduos; a minimização da geração; a reutilização; a reciclagem; o tratamento; e, a disposição final. Desta forma a opção do uso da torta de PDS, tanto para a produção de oleaginosas, bem como na remediação de áreas impactadas, estaria contemplando a reutilização do presente resíduo, além de atender aos "mecanismos flexíveis" (Comércio de Emissões de Carbono, o Mecanismo de Desenvolvimento Limpo e a Implementação Conjunta) do Protocolo de Kyoto. Por outro lado, se disposto sem estudos prévios no solo, pode apresentar resultados negativos previsíveis, como a contaminação com sais e metais, tornando-o improdutivo para agricultura.

Neste estudo o objetivo geral foi avaliar a viabilidade agronômica, técnica e ambiental de uso do resíduo orgânico proveniente do processo de produção direta de biodiesel de sementes de *Ricinus communis*, (torta de PDS).

Com base no objetivo geral, distintos ensaios experimentais foram realizados, de modo que a presente dissertação foi dividida em três capítulos, na seguinte ordem:

Capítulo I: Caracterização química da torta de PDS em comparação a uma torta de mamona gerada pelo processo convencional de obtenção de óleo.

Capítulo II: Mineralização das tortas, medida pela evolução de CO<sub>2</sub>, em ambiente contaminado e não contaminado com óleo bruto.

Capítulo III: Uso da torta de PDS na atenuação dos efeitos de hidrocarbonetos de petróleo no solo e no crescimento de oleaginosas.

## **CAPÍTULO I**

### **2 – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA TORTA DE PDS EM COMPARAÇÃO A UMA TORTA DE MAMONA GERADA PELO PROCESSO CONVENCIONAL DE OBTENÇÃO DE ÓLEO**

## 2.1 RESUMO

A disposição de resíduos no meio ambiente tem sido uma das preocupações da sociedade moderna, que busca através de mecanismos legais o desenvolvimento sustentável com a menor geração possível de resíduos. A caracterização destes passivos e suas possíveis formas de reutilização é uma exigência legal que traz consigo responsabilidades não só ambientais, mas também sociais e econômicas. Há diferentes tipos de resíduos e, dependendo da forma como são obtidos, podem trazer benefícios aos solos tropicais bastante intemperizados, comuns no Brasil, promovendo ciclagem de nutrientes na produção vegetal ou mesmo a elevação do pH, tornando terras antes impróprias ao cultivo, por conta da presença de alumínio tóxico, outra vez aptas às suas funções sociais básicas. Desta forma, a caracterização do resíduo orgânico proveniente do processo de produção de biodiesel direto da semente de *Ricinus communis* L. (torta de PDS) se torna importante pelo seu potencial uso como fertilizante orgânico para a produção vegetal. A técnica de fabricação direta de biodiesel foi desenvolvida pela Petrobras/Cenpes (detentora da patente industrial) e pode ser utilizada para produzir biodiesel não só a partir de sementes de mamona, mas também de qualquer outra semente oleaginosa. Objetivou-se neste capítulo caracterizar quimicamente este resíduo, comparando-o, para todas as análises propostas, a uma torta obtida pelo processo convencional de extração de óleo de mamona (TMC), óleo este que já é largamente utilizado na indústria química. Assim foi feita caracterização das amostras, em triplicata, baseada na legislação vigente no país para resíduos sólidos (ABNT/NBR 10.004:2004) e fertilizantes orgânicos (Ministério da Agricultura), bem como a comparação dos resultados obtidos com o texto da Convenção de Estocolmo. Quanto aos teores totais de nutrientes, foram feitas análises de acordo com o que foi postulado por TEDESCO et al. (1995). Os resultados indicaram que o resíduo orgânico tem aplicabilidade na agricultura, devendo, entretanto, passar por ajustes no processo de produção, principalmente no que diz respeito ao sódio (utilizado no processo como catalisador durante a transesterificação) para que sua disposição no solo ou utilização na produção vegetal não represente riscos ao meio ambiente.

**Palavras chave:** Biodiesel. Resíduos orgânicos. Fertilizantes.

## 2.2 ABSTRACT

The waste disposal in the environment has been one of the concerns of modern society, which aims through legal mechanisms sustainable development with the least possible waste generation. The characterization of such materials and their ways of re-use is a legal requirement that brings with it not only environmental but social responsibilities as well, since many of these residues can bring benefits to weathered tropical soils, common in Brazil, promoting cycling of nutrients in crop production or raising the pH, making land once considered unfit for cultivation, due to the presence of toxic aluminum, again suitable to their basic social functions. Thus, the characterization of organic residue from the production process of biodiesel directly from seeds (PDS cake) is important for its potential usage as organic fertilizer for crop production. The technique of direct production of biodiesel has been developed and copyrighted by Petrobras/Cenpes, and can be used not only to produce biodiesel from castor bean seeds, but also from any other oilseed. The objective of this chapter is to characterize this waste chemically, comparing it to the cake obtained by a conventional process for castor bean oil extraction, greatly used in the chemical industry. Therefore, characterization of the samples was done in triplicate, based on the legislation in the country to solid waste (ABNT/NBR 10.004:2004) and organic fertilizers (Ministry of Agriculture), and comparing the results to the Stockholm Convention text. As for the total levels of nutrients, the analysis was performed in accordance with what was postulated by Tedesco et al. (1995). Results indicated that the organic residue has applicability in agriculture, however, some adjustments are required in the production process, mainly with respect to sodium (used in the process as a catalyst for the transesterification) so that its disposal in the soil or use in crop production does not pose risks to the environment.

**Key words:** Biodiesel. Organic residues. Fertilizers.

## 2.3 INTRODUÇÃO

A crise ambiental pode ser descrita em três aspectos básicos: o crescimento populacional, a demanda de energia e de materiais e, conseqüentemente, a geração de resíduos. A poluição ambiental surge no momento em que o homem descobre o fogo e passa a ser capaz de impulsionar máquinas e realizar trabalho, o que o conduz a um enorme avanço tecnológico. Este desenvolvimento traz a necessidade de quantidades cada vez maiores de materiais e energia – para satisfazer a necessidade de desenvolvimento da humanidade – e isto, por sua vez, resulta em uma quantidade significativa de resíduos (BRAGA et al., 2005).

Há crescente tendência mundial voltada para a questão ambiental, a qual foi fortalecida pela assinatura de várias nações, de diferentes tratados que pregam política ambiental mais preocupada com a preservação dos recursos naturais da Terra.

Com o enfoque na legislação ambiental brasileira e especialmente na que trata de fertilizantes orgânicos, adotada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), este capítulo teve por objetivo caracterizar quimicamente o resíduo orgânico gerado na Unidade Experimental de produção de Biodiesel direto da semente (UEB2), localizada no Município de Guamaré – RN.

O resíduo utilizado (torta) foi gerado no ano de 2007, quando se empregou sementes de *Ricinus communis* L. para a fabricação de biodiesel a partir da nova rota de produção (processo desenvolvido pela Petrobras/Cenpes – detentora da patente industrial). Foi feita uma caracterização de acordo com a NBR 10004:2004 – Resíduos sólidos – Classificação e também a comparação da torta industrial com torta de mamona proveniente do processo tradicional de extração de óleo.

## 2.4 REVISÃO DE LITERATURA

Os humanos aprenderam ao longo dos tempos a utilizar diversas formas de energia que são encontradas na Terra, sendo este o fator principal para o desenvolvimento das civilizações, permitindo a fabricação de instrumentos e armas, além de proporcionar o cozimento de alimentos. A habilidade de obter e utilizar energia tem permitido que o homem ocupe áreas do planeta onde o clima é extremamente adverso, locomova-se de maneira cada vez mais rápida e mantenha um complexo sistema de civilização, empregando diferentes fontes energéticas em distintas regiões do globo terrestre (TAIOLI, 2003).

De acordo com MILLER (1985), a média diária de consumo de energia dos humanos primitivos quando ainda não se controlava o fogo era de 2.000 kilocalorias por dia. Os primeiros agricultores, usando o fogo para cozimento e aquecimento, e a tração animal para plantio, aumentaram esse consumo para 12.000 kilocalorias por dia. A partir da revolução industrial, no século XIX, a madeira foi empregada para movimentar máquinas e locomotivas, para converter minério em metais e fundir areia em vidro. Por volta de 1850, a média de consumo diário alcançou, em nações como a Inglaterra e os EUA, um valor próximo de 60.000 kcal/dia. A partir de então, as florestas primárias começaram a sofrer um processo rápido e intenso de destruição. Todavia, o grande salto em termos de consumo energético ainda estava para ocorrer com a perfuração do primeiro poço de petróleo em 1896. As descobertas envolvendo destilação e refino de petróleo em gasolina, óleo combustível e óleo diesel, levaram a humanidade a uma drástica mudança quanto ao consumo de energia primária. Em 1950, o petróleo tornou-se, nos Estados Unidos, a primeira fonte de energia primária e o gás natural (encontrado junto aos depósitos de petróleo), a terceira. Em 1983, essas duas fontes foram responsáveis pela produção de 53% da energia primária mundial. Dada a abundância de óleo e gás da década de 1950 ao início da década de 1980, o gasto mundial de energia triplicou e saltou para um consumo per capita mundial da ordem de 125.000 kcal/dia.

Vinte anos depois, a participação conjunta do petróleo e do gás natural, na matriz energética mundial era da ordem de 56,2% entretanto, o planeta começa a dar sinais claros de esgotamento e a busca por fontes renováveis tende a crescer, passando de 13,3% em 2003 para 14,1% em 2030 (ISTO É, 2006).

O Brasil ocupa uma posição privilegiada no cenário global para o aproveitamento de fontes alternativas de geração de energia, principalmente, no nordeste do país, onde o sol e os ventos constantes viabilizam projetos de energia solar e eólica. Por outro lado, no campo da biomassa, o país já se destaca na produção de etanol e de biodiesel, tendo potencial para aumentar ainda mais a participação destes combustíveis na matriz, sem que, venha comprometer a sua posição de um dos maiores produtores de alimento do mundo, visto que tem extensas áreas potencialmente cultiváveis.

Nas últimas décadas o país intensificou o desenvolvimento do setor industrial, erguendo um parque diversificado e dependente de energia, que em parte foi suprida pelas hidrelétricas. Estas foram responsáveis, em 2006, por 71% da geração elétrica. Se por um lado se trata de um sistema limpo de produção de energia, por outro a formação de represas tem um grande impacto ambiental.

Contudo, ao se considerar todas as fontes de energia consumidas no Brasil – não apenas a hidreletricidade – o petróleo e seus derivados ainda ocupam a liderança, com 38,7% do total da matriz energética, em 2006. A Empresa de Pesquisa Energética, do Ministério de Minas e Energia, identifica uma tendência de aumento nas fontes renováveis, em especial dos

derivados de cana. Entre 2005 e 2006, a produção de etanol subiu 10,8% e sua exportação cresceu 50% (BRASIL, 2008; ATLAS NATIONAL GEOGRAPHIC, 2008).

A liderança brasileira nas pesquisas e na produção do etanol – e agora do biodiesel – é reconhecida globalmente. Ademais, as dúvidas sobre a qualidade e o desempenho dessa energia renovável estão liquidadas desde o segundo semestre de 2006, quando duas instituições multilaterais reconhecidas, a Agência Internacional de Energia (AIE) e o Banco Mundial, publicaram os resultados de estudos multidisciplinares paralelos e independentes sobre a produção de agrocombustíveis no mundo. Ambas chegaram às mesmas conclusões: os agrocombustíveis, sobretudo o etanol da cana-de-açúcar, contribuem, comprovadamente, para reduzir as emissões de gases de efeito estufa, em particular o gás carbônico, principal causador do aquecimento na atmosfera terrestre. Em relação ao risco de desmatamento, o governo brasileiro argumenta que existem 90 milhões de hectares de terras aráveis que ainda não foram aproveitadas para a agricultura no país e, vistos de maneira isenta, os fatos favorecem a posição brasileira. A cana-de-açúcar, por exemplo, ocupa menos de 1% do território brasileiro, o equivalente a um terço das lavouras de soja. Em 1975, quando foi lançado o programa original de estímulo à produção de álcool, produziam-se no Brasil 50 milhões de toneladas de cana-de-açúcar em 1 milhão de hectares. Hoje, são 600 milhões de toneladas em 7 milhões de hectares, o que resulta em uma produtividade média de 85,7 t.ha<sup>-1</sup>. Em pouco mais de três décadas, a safra aumentou 12 vezes, e a área ocupada apenas sete vezes. Este aumento da produtividade se deve a investimentos em tecnologia (ÉPOCA, 2008).

De acordo com dados do IBGE, CEPEA/USP, FAO, CÉLERES, CIA – THE WORLD FACTBOOK - e ATLAS NATIONAL GEOGRAPHIC, em matéria publicada no O GLOBO (2008), especialistas afirmam que entre os anos de 1996 e 2006, o país aumentou a média anual da produção agrícola, que foi de 4,1%, enquanto o mundo cresceu apenas 0,8%. São 64 milhões de hectares plantados, entre cultivos anuais e perenes, além disso, possui entre 70 e 100 milhões de hectares que poderiam ser aproveitados para o cultivo agrícola. Esta conta não inclui a Amazônia, áreas de preservação do cerrado e da mata atlântica. O cerne da questão é que enquanto há países com até 6 cabeças de gado por hectare, aqui existe pouco mais de uma cabeça de gado por hectare, ou 206 milhões de animais. Ainda, conforme a reportagem de O GLOBO, basta ser mais produtivo na pecuária para abrir frente em toda a agricultura.

O Brasil é o maior produtor de combustível de origem vegetal. Além do combustível, 100% a base de etanol, o país adiciona 25% de etanol à gasolina. Os EUA têm 4 milhões de veículos rodando com a mistura de gasolina e álcool de milho (10% a 85% de álcool, dependendo do Estado). Em grande parte daquele país, o diesel é composto de 20% de biodiesel. Na Alemanha existem 1.800 postos que fornecem biodiesel feito com óleo de canola. Na França, o diesel contém 5% de biodiesel; na China, em algumas províncias, é obrigatória a adição de 10% de álcool à gasolina. Com o Programa Nacional de Biodiesel, a meta do governo é semelhante à traçada por vários países europeus: até 2008, o diesel vendido em todos os postos brasileiros deverá ter 2% de biodiesel, proporção a ser ampliada para 5% até 2013, conforme a Lei 11.097, de 2005 (CARVALHO, 2005). Recentemente, essa lei foi modificada, tornando obrigatório o uso de 3% de biodiesel na mistura com diesel em todo o Brasil a partir de primeiro de julho de 2008. Este agrocombustível ajuda a elevar o índice de cetano, melhorando o desempenho do motor e a lubrificidade da mistura. Atualmente, cerca de 3 mil ônibus circulam na cidade de São Paulo com motores adaptados para receber o B30 – diesel com adição de 30% de biodiesel. Do ponto de vista tecnológico, motores movidos apenas a biodiesel são perfeitamente possíveis (FONTES, 2008; PETROBRAS, 2008; BRASIL, 2008 apud ÉPOCA, 2008).

#### 2.4.1 O programa nacional de biodiesel

A discussão sobre a inserção do biodiesel na matriz energética nacional tem se intensificado no Brasil, principalmente, a partir de 2003. Além da justificativa ambiental para a substituição do óleo diesel, de origem fóssil, várias potenciais vantagens técnicas e socioeconômicas para esta alternativa energética têm sido estudadas (ALMEIDA et al., 2004).

As pesquisas desenvolvidas pela Petrobras abriram caminho para as rotas tecnológicas de produção de biodiesel a partir de vegetais típicos da flora brasileira, como a mamona e o dendê, testados em duas usinas experimentais, no Núcleo Experimental de Energias Renováveis, braço do Cenpes no Rio Grande do Norte (ÉPOCA, 2008). De acordo com FOSTER (2004), citado por ALMEIDA et al. (2004), o Governo Federal pretendia com o Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico do Biodiesel, reduzir o nível de desemprego e de distribuição de renda no país. Esta tendência em focar aspectos socioeconômicos foi observada na diretriz governamental que determinava que 40% da produção nacional de biodiesel deveriam ter como matéria prima a mamona (*Ricinus communis* L.), produzida com base na agricultura familiar, já que, segundo AMARAL (2007), o cultivo da mamona tem alto valor tanto econômico como social, e é produzida tradicionalmente em pequenas e médias propriedades, gerando emprego e renda em razão de suas inúmeras possibilidades de aplicação na área industrial, além da perspectiva de potencial energético na produção de biodiesel, tornando-se agronegócio bastante promissor no Brasil.

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma planta oleaginosa pertencente à família das Euforbiáceas, a mesma da mandioca, da seringueira e do pinhão manso, sendo a Índia, a China e o Brasil respectivamente, os maiores produtores mundiais. O principal produto da mamoneira é seu óleo, o qual possui propriedades químicas peculiares que o fazem único na natureza: trata-se do ácido graxo ricinoleico que tem larga predominância na composição do óleo (cerca de 90%) e possui uma hidroxila (OH), o que lhe confere propriedades como alta viscosidade, estabilidade física e química e solubilidade em álcool à baixa temperatura. O óleo da mamona tem centenas de aplicações dentro da indústria química, sendo uma matéria prima versátil com a qual se podem fazer diversas reações dando origem a produtos variados como fabricação de graxas e lubrificantes, tintas, vernizes, espumas e materiais plásticos para diversos fins. Derivados de óleo de mamona podem ser encontrados até em cosméticos e produtos alimentares. A mamona foi escolhida como uma das oleaginosas fornecedoras de matéria prima para fabricação de biodiesel no Brasil, uma vez que ela é praticamente a única oleaginosa bem adaptada e para qual se dispunha de tecnologia para cultivo na região semi-árida, possibilitando a inclusão social de milhares de pequenos produtores que estavam sem opções agrícolas rentáveis (EMBRAPA, 2006). De acordo com AZEVEDO & LIMA (2001), a mamona se constitui num considerável potencial para a economia do país e em alternativa viável para a região nordeste porque é uma planta de grande resistência a períodos de estiagem. Acrescenta-se a isso, o fato de seu óleo ser de grande resistência, versatilidade e de utilidade comparável apenas ao petróleo, sendo um produto renovável e de baixo custo. A produção de mamona, no Brasil, concentra-se na região Nordeste, destacando-se o Estado da Bahia como responsável por cerca de 90% do volume total. Na safra 2004/2005 o país produziu aproximadamente 210 mil toneladas.

Em 2004, a Petrobras assinou convênio com a Emater - RN para a compra da produção de 3 mil dos 10 mil hectares plantados de mamona no Estado. A companhia inaugurou em 2005 duas Unidades Experimentais de biodiesel de mamona em Guamaré (RN). Juntas, as unidades, que absorvem investimentos de R\$14 milhões, produzirão 2 mil litros por dia, podendo até triplicar o volume na fase comercial (VALOR ECONÔMICO, 2006). Para que se pudesse produzir 293 milhões de litros de biodiesel a partir de sementes de mamona, considerando condições otimistas de produtividade agrícola de 1,8 t ha<sup>-1</sup> e um rendimento industrial em óleo de 45%, seria necessária a ampliação da área nacional de cultivo para 360

mil ha<sup>-1</sup>, com investimentos agrícolas da ordem de R\$ 370 milhões. Na safra brasileira de 2003/2004 foram plantados 161 mil ha<sup>-1</sup> de mamona, resultando num déficit em área de no mínimo 55% para a safra 2004/2005, para atender exclusivamente as expectativas do Programa Brasileiro de Biodiesel, desconsiderando os outros mercados do óleo de mamona (ALMEIDA et al., 2004). Dados da CONAB apontam um aumento na área plantada de mamona nas safras 2007/2008 e 2008/2009 de 162,7 mil ha<sup>-1</sup> e 189,8 mil ha<sup>-1</sup> respectivamente (CONAB, 2008).

Apesar disso o programa lançado pelo Governo Federal para levar trabalho e renda às famílias de agricultores está muito rarefeito no Nordeste brasileiro. Ao invés do pinhão manso e da mamona, cerca de 70% do agrocombustível misturado obrigatoriamente ao diesel é processado a partir da soja, enquanto que a mamona - a planta priorizada pelo governo e símbolo do programa - é responsável por apenas 0,03% da oferta de biodiesel. Ainda assim o mercado é promissor, pois como a mistura de biodiesel vendida em postos de todo país chegou aos 3% a partir de julho de 2008 (o que é conhecido como B3), a demanda mensal será de 115 milhões de litros. A projeção de consumo interno para o ano é de 1,2 bilhão de litros. O andamento acelerado desse mercado faz com que especialistas calculem que a produção deverá bater os 2 bilhões de litros já em 2009 (ÉPOCA, 2008).

#### **2.4.2 O biodiesel e sua fabricação**

A fabricação de biodiesel se dá com a utilização do óleo vegetal em um processo chamado de transesterificação. A transesterificação de óleos vegetais é feita por meio de uma reação química com álcool (etílico ou metílico) e com a utilização de um catalisador, que normalmente é o hidróxido de sódio (soda cáustica). Como resultado, obtém-se aproximadamente 90% de biodiesel e 10% de glicerina. Portanto Biodiesel é um éster produzido na reação de transesterificação. É um combustível renovável, produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais e álcool, que pode ser metílico (realidade mundial) ou etílico - rota de produção em estudo no Brasil - (DENUCCI, 2007; YAMAOKA, 2008).

Outras matérias primas como a gordura animal e óleos de plantas como a soja, o algodão e o girassol, têm excelente potencial para fabricação de biodiesel. Transformar essas matérias primas em energia é buscar novas tecnologias e para isso duas frentes de pesquisa analisam a criação de novas rotas de produção: a que parte diretamente do óleo vegetal ou gordura animal e a que usa diretamente a produção via sementes (ÉPOCA, 2008).

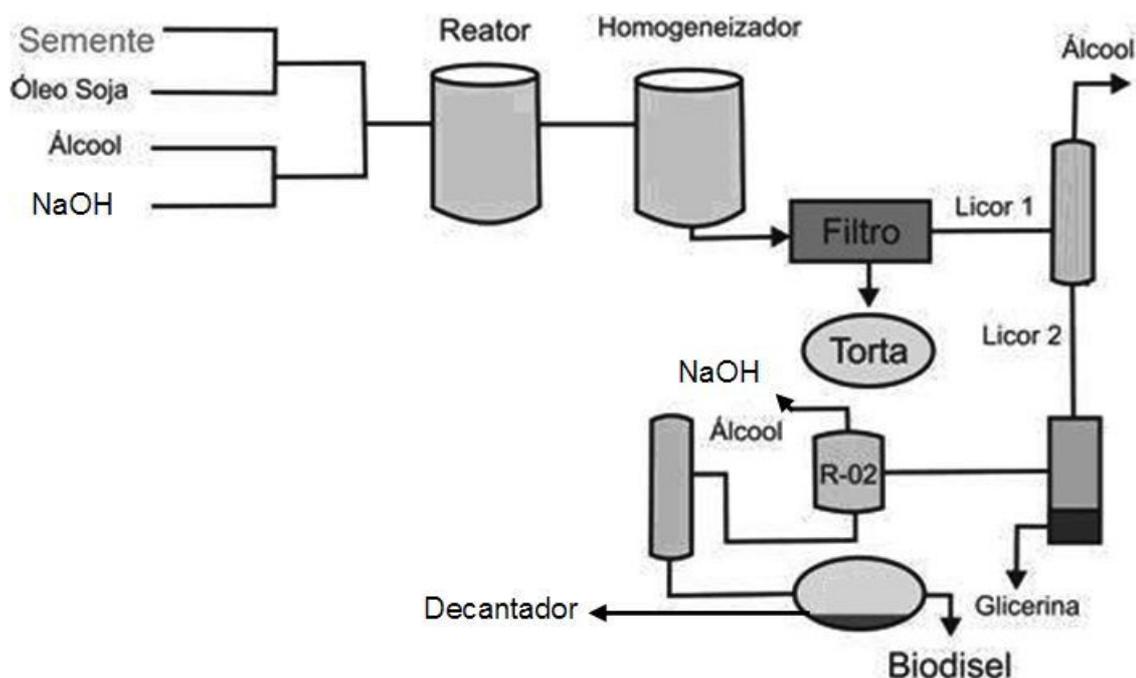
#### **2.4.3 A produção a partir de óleos vegetais**

Uma das rotas tecnológicas mais pesquisadas e difundidas para a produção de biodiesel utiliza como matéria prima o óleo vegetal já extraído da semente oleaginosa. Essa tecnologia já é totalmente dominada por diversos países, mas os trabalhos de pesquisa se empenham no seu aperfeiçoamento, rendimento e na adaptação às diversas matérias primas existentes, no caso do biodiesel de soja, por exemplo, pode-se obter 600 litros de biodiesel por hectare (VEJA, 2008).

No processo de extração industrial de óleo de mamona, a massa resultante é chamada de torta, que é obtida por prensagem a alta pressão ou prensagem + solvente, sendo um ótimo fertilizante, atuando como adubo orgânico de boa qualidade (BALIZA et al., 2004). É o resíduo da extração do óleo das sementes da mamona e trata-se de produto com elevado teor de proteínas, produzido na proporção aproximada de 1,2 toneladas para cada tonelada de óleo extraída, ou seja, corresponde a 55% do peso das sementes. Este valor pode variar de acordo com o teor de óleo da semente e do processo industrial de extração do óleo (AZEVEDO & LIMA, 2001).

#### 2.4.4 A produção a partir de sementes de oleaginosas - produção direta de biodiesel

A segunda rota tecnológica para fabricação de biodiesel que está sendo avaliada pela Petrobras, prevê a produção diretamente de sementes (de qualquer planta oleaginosa), sem a necessidade de extrair o óleo anteriormente, o que poderia diminuir os custos na cadeia de produção de biodiesel. Essa tecnologia ainda não está totalmente demonstrada, mas já foi patenteada pela empresa. Do resultado do processo da fabricação direta da semente é retirada a glicerina, que tem diversas aplicações industriais, e um resíduo chamado de torta (Figura 1) que ainda não tem sua aplicabilidade demonstrada (ÉPOCA, 2008).



**Figura 1.** Esquema simplificado que demonstra a rota de produção de biodiesel via sementes – a produção direta, desenvolvida pela Petrobras/Cenpes, que é detentora da patente industrial. Figura cedida por ZONTA, 2008.

#### 2.4.5 Resíduo orgânico da produção de biodiesel – as tortas de oleaginosas

Além da glicerina, a torta é também gerada no processo de fabricação de biodiesel. Ela é derivada da extração dos óleos vegetais de diferentes oleaginosas (Tabela 1 **Tabela 1**), e por conter altos teores de nutrientes (Tabela 2) pode se tornar um atraente produto para recuperação de solos esgotados e também servir ao setor de alimentação animal, que a utiliza como insumo nutricional (YAMAOKA, 2008). De acordo com NUNES (1991), usualmente as tortas de oleaginosas são mais ricas em extrato etéreo do que os respectivos farelos e podem ser obtidas (as tortas), por extração mecânica, tipo *expeller*, ou também por adição de solventes, como o hexano e o etanol.

O processo de descascamento e extração do óleo da mamoneira produz dois importantes resíduos: a casca do fruto e a torta. As cascas de mamona são geradas na propriedade rural, muitas vezes ao lado da plantação de mamona, enquanto a torta é gerada na indústria de extração do óleo, que geralmente está situada a grandes distâncias do plantio (LIMA et al., 2006). De acordo com SEVERINO et al. (2005), SEVERINO (2005) e SANTOS et al. (2001), para cada tonelada de semente de mamona processada, são gerados cerca de 620 kg de casca e 530 kg de torta de mamona. Como a produção brasileira de mamona foi de 210 mil toneladas em 2005, estima-se que tenham sido produzidas aproximadamente 130 mil toneladas de cascas e 111 mil toneladas de torta de mamona. Tradicionalmente, estes dois produtos têm sido utilizados como adubo orgânico. A torta tem

potencial para ser comercializada por conter, principalmente, altos teores de nitrogênio. As cascas devem ser reutilizadas no solo, com vistas à ciclagem dos nutrientes e com isso minimizar a exportação de nutrientes (LIMA et al., 2006).

**Tabela 1.** Informações médias da produção de óleo vegetal e de tortas de oleaginosas com potencial para fabricação de biodiesel.

<b>Espécie</b>	<b>Produtividade média de grão (kg.ha<sup>-1</sup>)</b>	<b>Teor médio de óleo (%)</b>	<b>Produtividade média de torta (kg.ha<sup>-1</sup>)</b>
Soja	3000	20	2413
Algodão	1300	19	1060
<b>Mamona</b>	<b>1800<sup>1</sup></b>	<b>48</b>	<b>900</b>
Girassol	1700	42	961
Amendoim	2500	48	1250
Canola/Colza	2000	43	1109
Nabo forrageiro	1000	36	630
Linhaça	1200	38	730
Cártamo	1200	35	770
Crambe	2000	30	835
Tungue	2000	35	1283
Pinhão Manso	3000	32	2022

Fonte: Adaptado de YAMAOKA, 2008.

**Tabela 2.** Teores (g.kg<sup>-1</sup>) de nutrientes N, P e K em diferentes tortas de oleaginosas.

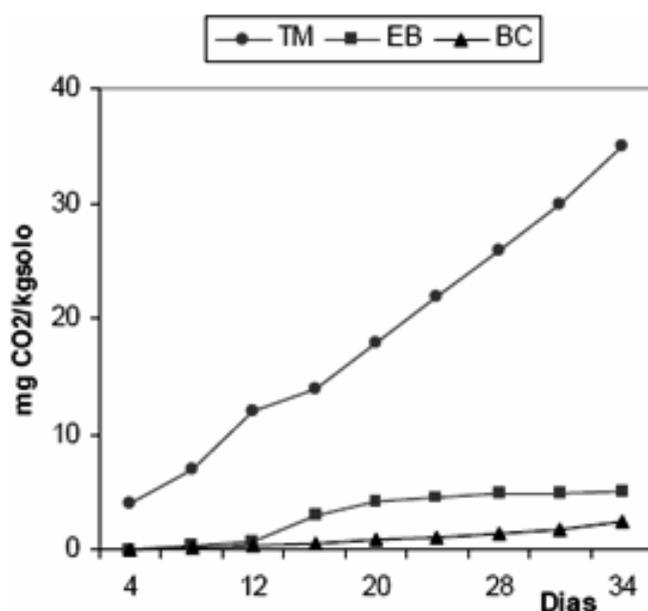
<b>Cultura</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>
<b>Mamona</b>	<b>46</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
Amendoim	65	8	12
Nabo forrageiro	59	32	15
Linhaça	51	25	14
Pinhão manso	34	8	13
Cártamo	35	5	7
Girassol	47	33	14

Fonte: COSTA, 2008

A torta de mamona é um importante co-produto da cadeia produtiva da mamona e a possibilidade de aumento na produção nacional de mamona faz crescer a necessidade de agregar-lhe maior valor, seja como adubo orgânico controlador de nematóides ou como alimento animal rico em proteína (SEVERINO, 2005). Seu alto teor de proteína a torna atraente como alternativa para alimentação animal, porém a presença de substâncias tóxicas de difícil eliminação tem inviabilizado essa alternativa. Devido à inexistência de um método seguro para sua desintoxicação, a torta tem sido utilizada predominantemente como adubo orgânico (SAVY FILHO & BANZATTO, 1983). Particularmente no que tange à torta de PDS, para uso na agricultura, os elevados teores de Na encontrados - o NaOH é utilizado no processo de produção de biodiesel nesta rota - podem ser limitantes (ZONTA et al., 2008).

<sup>1</sup> ZONTA et al. (2008) conseguiram em condições experimentais, a campo no RN, produção de aproximadamente 4000 kg há<sup>-1</sup> com a cultivar Energia.

SEVERINO et al. (2004) estudaram em solo arenoso a mineralização da torta de mamona através da técnica da respiração microbiana e a compararam com dois materiais frequentemente utilizados como adubo orgânico: esterco bovino e bagaço de cana. Os resultados observados pelos autores (Figura 2), indicaram que a velocidade da mineralização da torta de mamona adicionada ao solo, no período de 33 dias, foi 6 vezes maior que a do esterco bovino e 14 vezes mais rápida que a do bagaço de cana-de-açúcar. Esses resultados deveram-se provavelmente a menor relação C:N da torta de mamona, frente aos demais resíduos orgânicos (SEVERINO, 2005; EMBRAPA, 2006).



**Figura 2.** C mineralizado, estimado pela respiração microbiana em solos que receberam 10% (w/w) de torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana. TM: torta de mamona; EB: esterco bovino; BC: bagaço de cana. Fonte: SEVERINO et al. Revista de Biologia e Ciências da Terra (5) 1, 2004.

Nos últimos três anos o Brasil consumiu cerca de 21 mil toneladas anuais de fertilizantes solúveis. Ainda que seja uma média baixa, comparada com países desenvolvidos, parte poderia ser substituída ou complementada com fontes orgânicas disponíveis e resultantes do avanço das atividades humanas. Esse fato aliado à revolução em curso na agricultura, tem estimulado a procura por alternativas de adubação que façam uso de resíduos orgânicos de fácil acesso, ambientalmente e socialmente seguros. A regulamentação da produção orgânica do Ministério da Agricultura (MAPA) dá as bases para que se busquem essas alternativas. (TRINDADE & ACCIOLY, 2006).

Por outro lado, a ABNT/NBR 10004:2004 tem como objetivo classificar os resíduos sólidos quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública, para que possam ser gerenciados adequadamente, sendo definida como padrão para as condições do Brasil, e deve ser aplicada como diretriz para definir rotas de uso destes resíduos, da forma preconizada pelo MAPA. Esta necessidade é devida ao fato de que as normas vigentes para classificar os adubos orgânicos preconizados pelo MAPA, em parte, são incipientes, enquanto as da ABNT são mais abrangentes e mais restritivas.

Os métodos de análise de um resíduo e sua caracterização começam de forma prioritária em função da origem deste resíduo. A partir do seu histórico de produção esta caracterização pode ser química ou biológica. Itens da análise química dependem do histórico da amostra (COSCIONE, 2006).

Assim, pode-se preconizar que para todo e qualquer resíduo industrial ou proveniente da atividade agropecuária, com vistas à aplicação no solo, deve-se primeiramente fazer a devida classificação segundo a ABNT/NBR 10004:2004 e posteriormente a legislação pertinente do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), com vista a maior segurança ambiental. Por outro lado, por ser extremamente restritiva, os resultados na ABNT/NBR10004: 2004 devem ser analisados com parcimônia, pois caso contrário é provável que praticamente todos os resíduos de origem agrícola sofram restrições ao seu potencial uso no solo e na produção agrícola.

## 2.5 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.5.1 Coleta e preparo das amostras

Foi utilizado neste estudo resíduo gerado na Unidade Experimental de produção de Biodiesel - UEB2 - (Figura 3A), planta piloto da Petrobras para a produção deste agrocombustível, que utiliza a técnica da fabricação na qual o biodiesel é produzido diretamente de semente de oleaginosas. A rota de produção é nova e já está patenteada pela empresa. Esta Unidade de produção está localizada no município de Guamaré, no Estado do Rio Grande do Norte e a coleta do resíduo (Torta de PDS) se deu no ano de 2007, quando a fábrica utilizou no processo apenas sementes de *Ricinus communis* L. (mamoneira).

A amostra composta da torta de PDS foi obtida a partir de coletas diárias (15 dias) de volumes aproximados de 50L (Figura 3B). Essas amostras simples foram devidamente homogeneizadas e após o quarteamento, coletada a amostra composta. O restante do material foi pré-secado (à sombra) para fins de uso nas fases 2 e 3 deste estudo, correspondente aos capítulos II e III desta dissertação.

Para fins de comparação com o produto em questão, foi adquirida uma torta de mamona comercial (TMC), produzida a partir do processo convencional de obtenção de óleo e facilmente encontrada no comércio agrícola do Estado do Rio de Janeiro.



**Figura 3.** A) Unidade Experimental de Biodiesel (UEB 2) e, B) resíduo produzido.

### 2.5.2 Caracterização das amostras

As amostras das tortas foram caracterizadas em triplicata, segundo a Norma Técnica ABNT/NBR 10004:2004 (Resíduos sólidos – Classificação), estabelecida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). A caracterização foi feita no laboratório da Bioagri Soluções Ambientais, no Rio de Janeiro e usou como referência as metodologias baseadas na SW 846 (USEPA 1986, Test Method for Evaluating Solid Waste; Physical/Chemical

Methods, Washington, DC) e como referências a NBR 10005:2004 da ABNT – Ensaio de Lixiviação e a NBR 10006:2004 da ABNT – Ensaio de solubilização.

A fim de avaliar o potencial dos materiais como fertilizante orgânico, os mesmos foram quantificados quanto aos teores totais de nutrientes e comparados com a Instrução Normativa 23 (MAPA, 2005) e também com o texto da Convenção de Estocolmo.

As análises dos teores totais de nutrientes foram feitas no Laboratório de Solo e Planta do Departamento de Solos, Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os nutrientes foram determinados em extrato de digestão sulfúrica e quantificados por espectrofotometria de absorção atômica (A.A.) para Ca e Mg, e, de K por fotometria de chama. O teor de P foi determinado por colorimetria e a matéria orgânica estimada multiplicando-se o teor de carbono orgânico por 1,724. A determinação dos teores de N-total, foi feita de acordo com TEDESCO et al. (1995).

## 2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da caracterização dos resíduos propostos neste estudo (torta de PDS e TMC) é apresentado em tabelas que discriminam um conjunto de avaliações, definidas por análise de massa bruta (Tabela 3), ensaio de lixiviação – parâmetros inorgânicos (Tabela 4), ensaio de lixiviação – parâmetros orgânicos (Tabela 5), tempo e pH do lixiviado (Tabela 6), ensaio de solubilização – parâmetros inorgânicos (Tabela 7), ensaio de solubilização – parâmetros orgânicos (Tabela 8) e pH do solubilizado (Tabela 9), que permitem suas designações de acordo com os parâmetros estabelecidos pela ABNT/NBR 10004:2004.

Segundo a ABNT (2004), a classificação de resíduos sólidos envolve a identificação do processo de origem, seus constituintes e características, e a comparação dos constituintes com listagens de resíduos e substâncias cujo impacto à saúde e ao meio ambiente é conhecido. Assim são classificados como resíduos Classe I ou Perigosos os resíduos sólidos ou mistura destes que, em razão de suas características físico-químicas ou infecto-contagiosas, possam apresentar risco à saúde pública provocando ou contribuindo para aumento da mortalidade ou da incidência de doenças e/ou, ainda, mostrar efeitos adversos ao meio ambiente se dispostos ou manuseados de forma inadequada. As características que conferem periculosidade ao resíduo são: inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade.

Ainda de acordo com a ABNT, basta que o resíduo apresente uma das características citadas acima ou conste no anexo A ou B da ABNT/NBR 10004:2004 para ser considerado perigoso. O que não ocorre com nenhuma das duas tortas avaliadas (Tabela 3), já que os valores encontrados estão dentro dos limites estabelecidos para estas características e, também, as tortas não constam nos anexos A ou B da referida Norma. Pela natureza dos resíduos não há suspeita de patogenicidade, descartando-se a possibilidade de periculosidade por este parâmetro.

Contudo, para que não sejam classificados como resíduos perigosos devido a sua toxicidade é preciso que as tortas apresentem também valores abaixo do máximo permitido pela NBR 10004:2004 nos ensaios de lixiviação que são utilizados para determinar ou avaliar a estabilidade química dos resíduos tratados, quando em contato com soluções aquosas que podem ser encontradas em aterros, permitindo assim verificar o grau de imobilização dos contaminantes (CETESB, 1985).

A lixiviação, no texto da NBR 10005:2004, é definida como sendo o processo que determina a capacidade de transferência de substâncias orgânicas e inorgânicas presentes no resíduo sólido, por meio de dissolução no extrator. Quando excedido o limite de concentração no extrato da lixiviação, o resíduo é classificado como resíduo perigoso – anexo F da NBR 10004:2004 (ABNT, 2004). Em relação a estes ensaios, descritos na (Tabela 4) parâmetros inorgânicos, (Tabela 5) parâmetros orgânicos e (Tabela 6) tempo de lixiviação e pH do lixiviado para as tortas avaliadas, todos os valores se mostraram adequados aos limites estabelecidos para a caracterização quanto à toxicidade. Logo, os resíduos são classificados, pela norma ABNT/NBR 10004:2004, como Resíduos Classe II: Não Perigosos.

A avaliação do ensaio de lixiviação - parâmetros orgânicos (Tabela 5), para as tortas avaliadas, revelou que os resultados encontrados para Aldrin, Dieldrin, Clordano, DDT, Endrin, Hexaclorobenzeno, Toxafeno e Heptacloro estão de acordo com o texto da Convenção de Estocolmo. A Convenção de Estocolmo é um tratado internacional que tem o objetivo de proteger a saúde humana e o meio ambiente dos poluentes orgânicos persistentes e foi assinado em 2001 por representantes de mais de 120 países, dentre eles o Brasil, que aprovou através do Decreto Legislativo número 204, de maio de 2004 e do Decreto 5.472 de

junho de 2005, com força de Lei, o texto na íntegra sobre os Poluentes Orgânicos Persistentes (CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO, 2008; IPEN, 2008).

**Tabela 3.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Massa bruta, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma.

Parâmetros	Unidade	Torta de PDS	TMC	VMP NBR 10004:2004	% do valor limite em função do VMP da NBR 10004:2004**	
					PDS	TMC
Ponto de Fulgor	°C	>60	>60	60 (a,d)	<100	<100
pH (Suspensão 1:1)	-	8,6	5,6	2,0 - 12,5 (b)	-	-
Sulfeto (como H <sub>2</sub> S)	mg/kg	< 2*	< 2*	500 (c)	0,40	0,40
Porcentagem de Sólidos	% p/p	86,9	88,6	-	-	-
Cianeto (HCN)	mg/kg	< 0,2*	< 0,2*	250 (c)	0,08	0,08

\*menor que o Limite de detecção; VMP: Valores máximos permitidos pela NBR 10004:2004.

\*\*Valores acima de 100 limitam os Valores Máximos Permitidos pela NBR 10004:2004.

(a). Avaliação da inflamabilidade – Item “a” do tópico 4.2.1.1 da NBR 10004:2004

(b). Avaliação da corrosividade – Item “a” do tópico 4.2.1.2 da NBR 10004:2004

(c). Avaliação da reatividade – Item “e” do tópico 4.2.1.3 da NBR 10004:2004

(d). Valor máximo para resíduos líquidos

De acordo com a NBR 10004:2004 os Resíduos Classe II: Não Perigosos, são ainda divididos em duas classes distintas e esta classificação se baseia no teste de solubilização, no qual os resíduos são submetidos a um contato dinâmico e estático com água deionizada à temperatura ambiente, e a partir da análise de seus constituintes solubilizados, segue valores críticos definidos na respectiva Norma quanto a padrões de potabilidade da água, excetuando-se os aspectos cor, turbidez, dureza e sabor. A partir destes valores, são classificados então como Classe II A (Não Inertes) quando alguns de seus constituintes solubilizados ultrapassam os valores máximos estabelecidos e como Classe II B (Inertes) se todos os constituintes estiverem dentro dos limites adequados como descrito na norma (ABNT, 2004).

**Tabela 4.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Lixiviado – parâmetros inorgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma.

Parâmetros	Torta de PDS	TMC	VMP NBR 10004:2004	% do valor limite em função do VMP da NBR 10004:2004**	
	----- mg L <sup>-1</sup> -----			PDS	TMC
Arsênio	< 0,01*	< 0,01*	1,0	<1,0	<1,0
Bário	0,109	0,161	70,0	0,16	0,2
Cádmio	< 0,001*	< 0,001*	0,5	<0,2	<0,2
Chumbo	< 0,01*	< 0,01*	1,0	<1,0	<1,0
Cromo	< 0,01*	< 0,01*	5,0	<0,2	<0,2
Fluoreto	1,1	< 0,1*	150	0,7	<0,1
Mercúrio	< 0,00005*	< 0,00005*	0,1	<0,1	<0,1
Prata	< 0,005*	< 0,005*	5,0	<0,1	<0,1
Selênio	0,147	0,472	1,0	15,0	47,2

\*menor que o Limite de detecção; VMP: Valores máximos permitidos pela NBR 10004:2004.

\*\*Valores acima de 100 limitam os Valores Máximos Permitidos pela NBR 10004:2004.

Como se pode observar no resultado da caracterização da torta de PDS para o ensaio de solubilização – parâmetros inorgânicos (Tabela 7), os valores de índice de fenóis, manganês, selênio e sódio estão acima do limite máximo permitido pela NBR 10004:2004. Para a torta comercial, o mesmo ensaio mostrou que os valores de ferro, fluoreto, índice de fenóis e manganês também estavam acima daqueles preconizados pela norma, o que classifica tanto a torta de PDS como a TMC como Resíduos Classe II A (Não Inertes).

**Tabela 5.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Lixiviado – parâmetros orgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma.

Parâmetros	Torta de PDS	TMC	VMP NBR 10004:2004	% do valor limite em função do VMP da NBR 10004:2004**	
	----- mg L <sup>-1</sup> -----			PDS	TMC
1,1-Dicloroetano	< 0,001*	< 0,001*	3,0	<0,1	<0,0
1,2-Dicloroetano	< 0,001*	< 0,001*	1,0	<0,1	<0,1
1,4-Diclorobenzeno	< 0,001*	< 0,001*	7,5	<0,0	<0,0
2,4,5-T	< 0,001*	< 0,001*	0,2	<0,5	<0,5
2,4,5-TP	< 0,001*	< 0,001*	1,0	<0,1	<0,1
2,4,5-Triclorofenol	< 0,001*	< 0,001*	400	<0,0	<0,0
2,4,6-Triclorofenol	< 0,0005*	< 0,0005*	20,0	<0,0	<0,0
2,4-D	< 0,0005*	< 0,0005*	3,0	<0,0	<0,0
2,4-Dinitrotolueno	< 0,001*	< 0,001*	0,13	<0,8	<0,8
Aldrin e Dieldrin	< 3E-5*	< 3E-5*	0,003	<1,0	<1,0
Benzeno	< 0,001*	< 0,001*	0,5	<0,2	<0,2
Benzo(a)pireno	< 0,0003*	< 0,0003*	0,07	<0,4	<0,4
Clordano (isômeros)	< 0,0001*	< 0,0001*	0,02	<0,5	<0,5
Cloreto de Vinila	< 0,001*	< 0,001*	0,5	<0,2	<0,2
Clorobenzeno	< 0,001*	< 0,001*	100	<0,0	<0,0
Clorofórmio	0,005	0,011*	6,0	0,1	0,2
DDT (isômeros)	< 0,0005*	< 0,0005*	0,2	<0,3	<0,3
Endrin	< 0,0001*	< 0,0001*	0,06	<0,2	<0,2
Hexaclorobenzeno	< 0,0005*	< 0,0005*	0,1	<0,5	<0,5
Hexaclorobutadieno	< 0,001*	< 0,001*	0,5	<0,2	<0,2
Hexacloroetano	< 0,001*	< 0,001*	3,0	<0,0	<0,0
m-Cresol	< 0,001*	< 0,001*	200	<0,0	<0,0
Metoxicloro	< 0,0005*	< 0,0005*	2,0	<0,0	<0,0
Nitrobenzeno	< 0,001*	< 0,001*	2,0	<0,1	<0,1
o-Cresol	< 0,001*	< 0,001*	200	<0,0	<0,0
p-Cresol	< 0,001*	< 0,001*	200	<0,0	<0,0
Pentaclorofenol	< 0,0005*	< 0,0005*	0,9	<0,1	<0,1
Piridina	< 5*	< 5*	5,0	<100,0	<100,0
Tetracloroeto de Carbono	< 0,001*	< 0,001*	0,2	<0,5	<0,5
Tetracloroetano	< 0,001*	< 0,001*	4,0	<0,0	<0,0
Toxafeno	< 0,01*	< 0,01*	0,5	<2,0	<2,0
Tricloroetano	< 0,001*	< 0,001*	7,0	<0,0	<0,0
Heptacloro e Heptacloro Epóxido	< 2E-5*	< 2E-5*	0,003	<0,7	<0,7
Lindano (g-BHC)	< 0,001*	< 0,001*	0,2	<0,5	<0,5
Metiletilcetona	< 5*	< 5*	200	<2,5	<2,5

VMP: Valores máximos permitidos pela NBR 10004:2004; \*menor que o Limite de detecção;

\*\*Valores acima de 100 limitam os Valores Máximos Permitidos pela NBR 10004:2004.

**Tabela 6.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Lixiviado, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma.

<b>Parâmetros</b>	<b>Unidade</b>	<b>Torta de PDS</b>	<b>TMC</b>	<b>VMP NBR 10004:2004</b>
Tempo de Lixiviação	h	18	18	16 -20
Solução de Extração	-	1	1	-
pH Final do Lixiviado	-	5,31	5,31	-

VMP: Valores máximos permitidos pela NBR 10004:2004.

Os teores de Ferro e Manganês (Tabela 7) se apresentaram acima dos padrões estabelecidos, sendo estes maiores na TMC do que na torta de PDS. E, em relação a estes constituintes, o potencial de contaminação dos solos em função da aplicação deste resíduo é bastante pequena já que estes elementos se encontram de maneira geral abundantes nas condições naturais dos solos e são ainda, elementos essenciais ao desenvolvimento vegetal (MALAVOLTA, 1980). O risco de contaminação das águas, por sua vez, pode ser suprimido, se houver uma quantificação da dose máxima a ser aplicada sob as diferentes condições de solo e clima.

O índice de fenóis ultrapassou o valor máximo permitido para a NBR 10004:2004 para ambas as tortas, por cerca de 120 vezes maior para a torta de PDS e 280 vezes mais para a TMC (Tabela 7), entretanto esses números se devem provavelmente a quantidade de óleo que é inerente às tortas, pois de acordo com COSTA et al. (2004), que ao avaliarem a composição química da torta de mamona encontraram entre outros valores 8,13% de umidade e 13,10% de óleo. Isto não seria por sua vez limitante, visto os vegetais superiores sintetizam e acumulam uma grande diversidade de compostos fenólicos. Estes grupos de compostos secundários estão envolvidos em praticamente qualquer interação da planta com o ambiente abiótico. Fatores abióticos naturais como irradiação solar, luz UV, seca, nutrientes e estações do ano influenciam no metabolismo e na produção destes compostos (MOLE & WATERMAN 1988, GARTLAN et al., 1980, GLYPHIS & PUTTICK 1988).

Os valores de sódio (Tabela 7), também aparecem bem acima dos valores máximos estabelecidos pela NBR 10004:2004 para a torta de PDS. Esse elemento é empregado no processo de fabricação de biodiesel direto da semente, como catalisador durante a transesterificação, na forma de NaOH o que justifica os altos teores encontrados na torta de PDS em relação à torta comercial. ZONTA et al., (2008). Uma alternativa para redução destes teores pode ser a substituição do NaOH pelo KOH, conforme proposto por (ZONTA et al., 2008). Também os autores apontam para a possível lavagem do resíduo. Este procedimento, porém, resulta também na redução do K, que é um nutriente de grande importância para a agricultura brasileira, já que o país importa 96% deste elemento (MALAVOLTA 1980; ANDA, 2008).

**Tabela 7.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 - Solubilizado – parâmetros inorgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma.

Parâmetros	Torta de PDS	TMC	VMP NBR 10004:2004	% do valor limite em função do VMP da NBR 10004:2004**	
				PDS	TMC
				----- mg L <sup>-1</sup> -----	
Alumínio	0,1	0,127	0,2	50,0	64,0
Arsênio	< 0,01*	< 0,01*	0,01	<100,0	<100,0
Bário	0,044	0,144	0,7	6,0	21,0
Cádmio	< 0,001*	< 0,001*	0,005	<20,0	<20,0
Chumbo	< 0,01*	<0,001	0,01	<100,0	<10,0
Cianeto	0,041	< 0,025*	0,07	59,0	<36,0
Cloreto	23,1	89,9	250	9,0	36,0
Cobre	0,47	0,157	2	24,0	8,0
Cromo	< 0,01*	< 0,01*	0,05	<20,0	<20,0
Ferro	0,3	4,195	0,3	100,0	1398,0
Fluoreto	< 0,5*	3,146	1,5	<33,0	210,0
Índice de Fenóis	1,2	2,8	0,01	12000,0	28000,0
Manganês	0,259	1,556	0,1	259,0	1556,0
Mercúrio	< 0,0001*	< 0,00005*	0,001	<10,0	<5,0
Nitrato (como N)	< 0,5*	3,4	10	<5,0	<34,0
Prata	< 0,005*	< 0,005*	0,05	<10,0	<10,0
Selênio	0,035	0,001	0,01	350,0	10,0
Sódio	744,692	4,1	200	387,0	2,0
Sulfato	31,7	132	250	13,0	53,0
Surfactantes	0,12	< 0,1*	0,5	24,0	20,0
Zinco	0,738	0,369	5,0	15,0	7,0

VMP: Valores máximos permitidos pela NBR 10004:2004; \*menor que o Limite de detecção; \*\*Valores acima de 100 limitam os Valores Máximos Permitidos pela NBR 10004:2004.

Também, a Tabela 7 mostra altos teores de selênio encontrados na torta de PDS, que podem ser resultado da origem das sementes utilizadas no processo, pois de acordo com MALAVOLTA (1980), solos ricos em Se são encontrados em regiões áridas, e podem ser absorvidos pelas plantas neles cultivados e transferidos para os grãos. Ainda, de acordo com o mesmo autor, o Se na planta concentra-se particularmente nas regiões de crescimento e nas sementes, podendo atingir o nível de 1500 mg kg<sup>-1</sup>.

Os valores encontrados para os ensaios de solubilização, parâmetros orgânicos e pH do solubilizado (Tabela 8 e Tabela 9) respectivamente, se encontram dentro dos limites máximos permitidos para a NBR 10004:2004.

**Tabela 8.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 - Solubilizado – parâmetros orgânicos, entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma.

Parâmetros	Torta de PDS	TMC	VMP NBR 10004:2004	% do valor limite em função do VMP da NBR 10004:2004**	
	----- mg L <sup>-1</sup> -----			PDS	TMC
2,4,5-T	< 0,001*	< 0,001*	0,002	<50,0	<50,0
2,4,5-TP	< 0,001*	< 0,001*	0,03	<3,0	<3,0
2,4-D	< 0,0005*	< 0,0005*	0,03	<2,0	<2,0
Aldrin e Dieldrin	< 3E-5*	< 3E-5*	0,00003	<100,0	<100,0
Clordano (isômeros)	< 0,0001*	< 0,0001*	0,0002	<50,0	<50,0
DDT (isômeros)	< 0,0005*	< 0,0005*	0,002	<25,0	<25,0
Endrin	< 0,0001*	< 0,0001*	0,0006	<17,0	<17,0
Hexaclorobenzeno	< 0,0005*	< 0,0005*	0,001	<50,0	<50,0
Metoxicloro	< 0,0005*	< 0,0005*	0,02	<3,0	<3,0
Toxafeno	< 0,001*	< 0,0018	0,005	<20,0	<20,0
Heptacloro e Heptacloro Epóxido	< 2E-5*	< 2E-5*	0,00003	<67,0	<67,0
Lindano (g-BHC)	< 0,001*	< 0,001*	0,002	<50,0	<50,0

VMP: Valores máximos permitidos pela NBR 10004:2004; \*menor que o Limite de detecção;

\*\*Valores acima de 100 limitam os Valores Máximos Permitidos pela NBR 10004:2004.

**Tabela 9.** Resultado comparativo da análise NBR 10004:2004 – Solubilizado - entre a torta de PDS e a torta de mamona comercial em relação à percentagem da limitação dos Valores Máximos Permitidos para a norma.

Parâmetro	Torta de PDS	TMC	VMP NBR 10004:2004
pH Final do Solubilizado	8,53	6,28	-

VMP: Valores máximos permitidos pela NBR 10004:2004.

Na Tabela 10 são apresentados de forma comparativa, os resultados dos teores totais de macro nutrientes, carbono orgânico e relação C:N das duas tortas.

Com exceção dos valores encontrados para os teores de nitrogênio e potássio, que são quase o dobro na TMC, os resultados encontrados para os demais nutrientes, como Ca, Mg, P e, também o carbono orgânico, reforçam a analogia entre os materiais em relação aos seus potenciais como fertilizantes orgânicos. Apesar disso a desigualdade dos teores dos elementos encontrados entre as duas tortas avaliadas se deve provavelmente às diferentes etapas de processamento das mesmas e em parte à origem das sementes, ficando implícitas desde características genéticas até condições edafoclimáticas de cultivo das plantas.

Segundo EVANGELISTA et al. (2004), que ao avaliarem a composição química de tortas de mamona e amendoim obtidas por diferentes métodos de extração de óleo, descobriram que a torta de mamona extraída da cultivar AL Guarany 2002 apresentou qualidade superior às tortas de amendoim e mamona cultivar Nativa, em razão do alto teor de

PB (proteína bruta, em decorrência ao elevado teor de N) e matéria mineral. Incluindo macro e micro nutrientes.

**Tabela 10.** Teores totais de macronutrientes, carbono orgânico e relação C:N da torta de PDS e da torta de mamona comercial.

Identificação	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	P	K <sub>2</sub> O	K	Ca	Mg	C	C:N
	----- g kg <sup>-1</sup> -----								
<b>Torta PDS</b>	31,2	12,5	5,4	3,3	2,8	17,0	0,9	300,7	9,6
<b>TMC</b>	58,0	14,7	6,4	6,6	5,5	17,9	0,9	277,9	4,8

De acordo com RAIJ et al. (1996), que compararam a composição típica de vários materiais orgânicos de origem animal, vegetal e agroindustrial (base úmida), os resultados obtidos (Tabela 10), para a torta de PDS revelaram teores menores, porém aproximados quando comparados ao nitrogênio e ao cálcio, respectivamente (45 g.kg<sup>-1</sup> e 18 g.kg<sup>-1</sup>). Segundo KIEHL (1985), o nitrogênio é o nutriente primário que se apresenta em maior quantidade na composição química das tortas vegetais, cerca de 30 a 50 g.kg<sup>-1</sup>. Comparando os resultados encontrados no teor de nitrogênio para a torta de PDS e a torta comercial (31,2 g.kg<sup>-1</sup> e 58 g.kg<sup>-1</sup>) respectivamente, verificou-se que estes variam numa escala próxima àquela citada pelos autores, corroborando a semelhança das tortas avaliadas em relação aos materiais orgânicos de origem vegetal.

A Instrução Normativa (IN) número 23, de 31 de agosto de 2005 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que em seus seis anexos, entre outras regulamentações define e especifica os fertilizantes orgânicos no Brasil, diz que estes, são produtos de natureza fundamentalmente orgânica, obtido por processo físico, químico, físico-químico ou bioquímico, natural e/ou controlado, a partir de matérias-primas de origem industrial, urbana e/ou rural, vegetal ou animal, enriquecido ou não de nutrientes minerais, sendo classificados em simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura (MAPA, 2005).

Os resultados encontrados para as análises de teores de nutrientes da torta de PDS (Tabela 10) e a forma como é obtida (processo industrial de biodiesel direto da semente), encontram respaldo na Instrução Normativa 23, que diz ainda que fertilizante orgânico composto de Classe “B”, é aquele que em sua produção utiliza matéria-prima oriunda de processamento da atividade industrial ou da agroindústria, onde o sódio (Na<sup>+</sup>), metais pesados, elementos ou compostos orgânicos sintéticos potencialmente tóxicos são utilizados no processo (MAPA, 2005). Ainda de acordo com a mesma norma (IN 23) do MAPA os teores mínimos aceitáveis de N e de carbono orgânico para fertilizantes orgânicos compostos são respectivamente 10 g.kg<sup>-1</sup> e de 150 g.kg<sup>-1</sup>. Esses valores são amplamente superados pela torta de PDS, que obteve o triplo para N e o dobro para o carbono orgânico (Tabela 10).

A Instrução Normativa 23 do MAPA não aborda os limites e/ou concentrações máximas permitidas para o sódio. A IN 23 faz apenas menção aos valores de tolerância e de excessos para macronutrientes e micronutrientes nos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura.

Por outro lado a Instrução Normativa 27 (MAPA, 2006) trata dos limites, estabelecidos em cinco anexos, aos quais, fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem produzidos, importados ou comercializados, deverão atender. Entretanto, outra vez não há menção alguma em relação aos limites e concentrações do sódio para fertilizantes compostos de Classe B.

## 2.7 CONCLUSÕES

Com a avaliação dos dados é possível concluir que o resíduo orgânico gerado no processo de fabricação direto da semente de biodiesel (torta de PDS):

- ✓ Deve ser classificado como Resíduo Classe II A (Não Perigoso e Não Inerte), conforme a ABNT/NBR-10004:2004 – Resíduos Sólidos – Classificação.
- ✓ Encontra respaldo na legislação competente para utilização de fertilizantes orgânicos e vigente no Brasil, a IN 23 do MAPA.
- ✓ É um fertilizante orgânico composto de classe “B” de acordo com a IN 23 do MAPA.
- ✓ É semelhante quimicamente à torta de mamona comercial testada.
- ✓ Possui teores de Na que podem limitar as doses anuais de aplicação na agricultura.
- ✓ Requer mais estudos para identificar possíveis mecanismos de contaminação no processo de fabricação, ocorrido no ano de 2007, em relação ao selênio.

## **CAPÍTULO II**

### **3 MINERALIZAÇÃO DAS TORTAS, MEDIDA PELA EVOLUÇÃO DE CO<sub>2</sub>, EM AMBIENTE CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO COM ÓLEO BRUTO**

### 3.1 RESUMO

A torta de mamona proveniente do processo de produção de biodiesel direto da semente (torta de PDS) pode ser utilizada em processos de remediação de áreas impactadas pela exploração petrolífera, por estimular a atividade dos micro-organismos presentes no solo fornecendo nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento e aumentando a sua capacidade de degradar hidrocarbonetos de petróleo. Para tanto, foi proposto neste trabalho, um ensaio de respiração basal do solo, em laboratório, para medir a taxa de mineralização da torta de mamona, através da evolução de CO<sub>2</sub>, em comparação com outra torta obtida por processo convencional de extração de óleo da mamoneira. Além disto, foi feita a contagem do número mais provável de micro-organismos, bem como posterior análise dos totais de hidrocarbonetos de petróleo (HTP) presentes no solo, ao final do experimento. O ensaio se deu em ambiente controlado, com seis doses crescentes das tortas de PDS e Comercial (0, 10, 20, 40, 80 e 160 Mg. ha<sup>-1</sup>) com três repetições, em solo contaminado e não contaminado com óleo bruto (4%). Os resultados mostraram que ocorreu um aumento linear da respiração microbiana com o aumento das doses das tortas. As análises de HTP revelaram mudanças na composição final dos n-alcanos, principalmente nos tratamentos que receberam maior dose das tortas, indicando processo de degradação. A contagem de micro-organismos mostrou incremento destes com o aumento das doses até o tratamento que recebeu 40 Mg. ha<sup>-1</sup> das tortas. Tendo em vista o grande volume de resíduo orgânico industrial gerado no processo inédito - patenteado pela Petrobras/Cenpes - objetivou-se concomitantemente ao estudo já citado verificar também o efeito da incubação das diferentes tortas no pH do solo. As tortas foram incubadas em material de horizonte superficial de um Planossolo de textura arenosa, de ocorrência no Estado do Rio de Janeiro, em doses crescentes com três repetições e ao 1, 2, 4, 8, 16 e 32 dias, o pH foi determinado por potenciometria. Os resultados mostraram que a torta de PDS elevou mais o pH do solo do que a torta comercial (TMC).

**Palavras chave:** Bioestimulação. Contaminantes orgânicos. Hidrocarbonetos de petróleo.

### 3.2 ABSTRACT

The *Ricinus communis* L. cake originated from the process of biodiesel production directly from the seed can be used in remediation processes of sites contaminated by petroleum exploitation, since it stimulates the microorganisms' activities in soil by supplying essential nutrients to their development, and by increasing their petroleum hydrocarbons degradation capacity. It was held a preliminary laboratory test on soil basal respiration to quantify the mineralization rate of castor bean cake, measured by the CO<sub>2</sub> evolution, compared to other cake produced by a conventional extraction process of castor bean oil. The counting of the most probable microorganisms' number was performed, as well as later analysis of total petroleum hydrocarbons remaining in the soil after the experiment. Such test happened in a controlled environment in six increasing doses (0, 10, 20, 40, 80 e 160 Mg. ha<sup>-1</sup>) for each cake with three replicates, in soil contaminated and uncontaminated by oil (4%). Results showed a linear increase of the microbial respiration with increasing doses of castor bean cake. HTP analysis revealed changes in the n-alkanes final composition, especially in treatments that received greater cake doses, implying a degradation process. The microorganism counting indicated that their amount rose following the dose increase up to the treatment which received 40 Mg. ha<sup>-1</sup> of cakes. Due to the great amount of industrial organic residue generated in the new process – copyrighted by Petrobras/Cenpes – this work also aimed at verifying the incubation effect of the PDS cake on the soil pH. The cakes were incubated on material from a surface horizon of a sandy Fragiudult soil, from Rio de Janeiro State, in increasing doses with three replicates, and on the 0, 1, 2, 4, 8, 16 and 32 days, pH was determined by potentiometry. The results show that the PDS cake rose the soil pH more than the commercial one.

**Key words:** Biostimulation. Organic contaminants. Petroleum hydrocarbons.

### 3.3 INTRODUÇÃO

Com o eminente crescimento da população mundial, cada vez mais a preocupação com a qualidade ambiental ganha um novo cenário. A crescente destruição dos recursos naturais e a poluição são resultados inequívocos da ação do homem. As atividades industriais são por demais poluidoras e os resíduos gerados têm sempre três destinos: o ar atmosférico, as águas e os solos.

A matriz energética que alimenta o planeta ainda é o petróleo e atividades como o refino e transporte dos seus derivados são responsáveis por acidentes ambientais mundo afora. Ao mesmo tempo, a busca por novas fontes renováveis de energia, como a produção dos agrocombustíveis, por exemplo, geram também, importantes resíduos que precisam de especial atenção, tanto na reutilização na agricultura, como também na disposição final no ambiente. Aliar a recuperação de áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo com o gerenciamento de resíduos é tarefa ambientalmente possível, e, ao mesmo tempo desafiadora pelas inúmeras implicações que esses resíduos podem assumir, se não dispostos de forma correta no ambiente.

Os micro-organismos do solo têm importante participação na transformação e degradação de compostos orgânicos poluentes, inclusive as complexas cadeias de hidrocarbonetos que formam o petróleo. As variáveis que favorecem esses processos no solo são, entre outros, a temperatura, a quantidade de nutrientes disponíveis, a umidade e a disponibilidade de carbono prontamente metabolizável.

A bioestimulação, uma técnica *in situ* de biorremediação de áreas impactadas, é ambientalmente limpa, além de ser de baixo custo. Essa técnica consiste em impulsionar a atividade dos micro-organismos degradadores de poluentes com a adição de nutrientes orgânicos e inorgânicos no solo.

O objetivo deste trabalho foi verificar a taxa de mineralização, medida pela evolução de CO<sub>2</sub>, nas diferentes tortas de mamona (aquela resultante do processo de fabricação direta de biodiesel – torta de PDS e a que foi obtida por processos convencionais de extração de óleo - TMC), em ambientes contaminados e não contaminados com óleo bruto. Além disto, quantificar, ao final do processo, o número mais provável de micro-organismos e a mudança na composição dos n-alcenos. Paralelamente a esse experimento, foi avaliado também o efeito da incubação das tortas para verificar o seu efeito no pH do solo.

## 3.4 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.4.1 Impactos ambientais causados por hidrocarbonetos de petróleo

Embora a sociedade e os cientistas estejam conscientes da necessidade de mudança da matriz energética atual, prevê-se ainda que nos próximos 50 anos, o petróleo vai continuar sendo a realidade energética do planeta (GOLDEMBERG & VILLANUEVA, 2003). O petróleo é uma fonte de energia não renovável, de origem fóssil. Na forma bruta possui em sua composição uma cadeia de hidrocarbonetos, cujas frações leves formam os gases e as frações pesadas o óleo cru. A distribuição destes percentuais de hidrocarbonetos é que define os diversos tipos de petróleo existentes no mundo (BRAGA et al., 2005).

As refinarias e indústrias petroquímicas geram grande volume de resíduos. Entre estes, destacam-se a borra oleosa, que se acumula no fundo de sistemas de estocagem de óleo, como resíduo do craqueamento. Ainda, em regiões produtoras e/ou costeiras com instalações industriais ou relacionadas com a indústria petrolífera, são constantes os problemas ligados aos derrames de petróleo, comuns nos acidentes envolvendo a exploração, exploração, transporte e transferência de óleos crus ou de seus derivados (BEZERRA et al., 2003).

Em maio de 2002, a CETESB divulgou pela primeira vez a lista de áreas contaminadas, registrando 255 áreas contaminadas no Estado de São Paulo. O registro dessas áreas vem sendo constantemente atualizado e após 6 atualizações (outubro de 2003, novembro de 2004, maio de 2005, novembro de 2005, maio de 2006, novembro de 2006) o número de áreas contaminadas totalizou, em novembro de 2006, 1.822 observações, sendo a maior parte dessas áreas referente a postos de abastecimento de combustíveis (CETESB, 2007).

Em 1980, o congresso Americano estabeleceu o CERCLA (*Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act*) - também conhecido como Superfund - com o objetivo de localizar, investigar e remediar as áreas terrestres contaminadas com os resíduos mais perigosos nos EUA. Foram definidos 1.263 sítios contaminados, fazendo parte da Lista Nacional Prioritária - *National Priorities List/NPL* (USEPA, 2008). Segundo BERETTA et al. (2003), os compostos e substâncias presentes no petróleo e seus derivados, estão incluídos na lista de poluentes prioritários da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA). Nestes casos, as tecnologias de biorremediação foram aplicadas na remediação de mais de 10% dos sítios tratados no programa *Superfund*, de 1982 a 1995 (BETTS, 1998; SEABRA, 2001).

### 3.4.2 Biorremediação de áreas impactadas por hidrocarbonetos de petróleo

A biorremediação tem sido aplicada na limpeza de diversos ambientes aquáticos e terrestres, em aplicações inclusive de grande escala. O vazamento de cerca de 41 milhões de litros de óleo do Exxon Valdez, ocorrido no Alasca em 1989, estimulou o emprego intensivo de técnicas de biorremediação nas áreas costeiras contaminadas. A Exxon/Mobil gastou mais de 10 milhões de dólares em projetos conjuntos com a USEPA para medir impactos ambientais e aumentar a atividade microbiológica e a recuperação do ecossistema local (PRITCHARD & COSTA, 1991; SEABRA, 2001).

De acordo com HOLLIGER et al. (1997) citado por JACQUES et al. (2007), uma estratégia para eliminar os compostos de petróleo em solos contaminados é a biorremediação, que é, por definição, um processo que emprega micro-organismos com potencial fisiológico para remoção de poluentes no solo ou outros ambientes, e baseia-se em três aspectos principais: (i) a existência de micro-organismos com capacidade catabólica para degradar o contaminante; (ii) a disponibilidade do contaminante ao ataque microbiano ou enzimático e (iii) condições ambientais adequadas para o crescimento e atividade do agente

biorremediador. As técnicas de biorremediação podem ser realizadas no local do derrame (*in situ*) ou fora deste (*ex situ*), envolvendo inúmeros procedimentos, tais como: biorremediação passiva; bioventilação; “landfarming”; compostagem; bioestimulação e bioaumentação (DING et al., 2001; MOREIRA & SIQUEIRA, 2002; MOLINA-BARAHONA et al., 2004).

Em trabalhos que apresentam conceitos básicos e os diferentes métodos da biorremediação em áreas impactadas pela indústria de petróleo, SEABRA (1997; 2001) alertou sobre a necessidade de estabelecer protocolos de uso dessa estratégia, como os existentes nos EUA e em alguns países europeus, e propos algumas generalizações que podem ser feitas quanto à susceptibilidade dos hidrocarbonetos de petróleo ao ataque microbiano:

- a) Os hidrocarbonetos presentes em uma mistura complexa como o petróleo são, em sua maioria, biodegradados por culturas microbianas mistas, de maneira simultânea, mas a diferentes taxas. A taxa de biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo varia em função do desaparecimento de certos componentes e da mudança na biota;
- b) A presença de um dado hidrocarboneto em mistura como substrato, pode ter uma influência positiva (pelo processo de co-metabolização) ou negativa (pela sua toxicidade) na degradação dessa mistura;
- c) A utilização de alcanos C1-C4 é restrita a poucas espécies. Os alcanos na faixa de C5-C9 são tóxicos a muitos micro-organismos, devido ao seu efeito solvente, isto é, tendem a romper a estrutura da membrana lipídica dos micro-organismos. Os alcanos C10-C22, normalmente são facilmente metabolizados. Os alcanos com pesos moleculares superiores, do tipo graxas sólidas, não são facilmente biodegradados, por serem sólidos hidrófobos à temperatura fisiológica. Contudo, já foi observada uma lenta biodegradação em n-alcanos com mais de 44 átomos de carbono;
- d) Os iso-alcanos são menos prontamente utilizáveis comparando-se com os n-alcanos correspondentes. O radical metila pode retardar ou bloquear completamente a biodegradação;
- e) Alcenos (olefinas) tendem a ser mais tóxicos, ao menos em condições aeróbias, são menos facilmente degradáveis, comparando-se com os n-alcanos análogos;
- f) Os hidrocarbonetos monoaromáticos podem ser tóxicos, mas em baixas concentrações, diversos micro-organismos podem utilizá-los rapidamente. Poliaromáticos, contendo de 2 a 4 anéis, podem ser biodegradados a taxas que decrescem com o número de anéis aromáticos. Naftalenos, compostos com 2 anéis aromáticos, tendem a degradar mais lentamente que os compostos monoaromáticos. Contudo, trabalhos mostraram uma degradação mais rápida do naftaleno e metilnaftaleno, em relação ao benzeno e n-exadecano, em sedimentos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo. Em sedimentos contaminados com óleo cru, os monoaromáticos se degradam mais rápido que a fração de alcanos. A variação nos processos de degradação de hidrocarbonetos aromáticos pode ser atribuída ao tipo de combustível e a fatores ambientais presentes, já que a biodegradabilidade é quase sempre ligada a viabilidade dos micro-organismos. Poliaromáticos com 5 ou mais anéis são de biodegradação difícil e lenta.
- g) Os cicloalcanos de baixo peso molecular raramente servem como substrato, sendo degradados lentamente e em baixas concentrações. Os cicloalcanos altamente condensados são refratários;
- h) Os compostos heterocíclicos que contém nitrogênio, enxofre e/ou oxigênio, quando não muito condensados, podem sofrer degradação limitada. Asfaltenos altamente condensados são muito resistentes a biodegradação.

DURRANT (2001) conduziu experimento em que fungos lignolíticos foram crescidos em meio líquido (30 ml) contendo naftaleno (0,5%), antraceno (0,1), pireno (0,05%) ou benzo [a] pireno (0,05%), para medição da atividade enzimática e a degradação desses hidrocarbonetos aromáticos. O autor retirou amostras em intervalos de 3 dias até o décimo quinto dia e a cada 5 dias por mais 15 dias. Ao final do experimento concluiu que as linhagens utilizadas foram capazes de crescer e degradar os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, mesmo os mais complexos como pireno e benzo[a]pireno, sendo que a porcentagem de degradação e a produção de enzimas lignolíticas variaram de acordo com a linhagem, com o hidrocarboneto policíclico aromático (HPA) e com o dia de crescimento. As degradações máximas obtidas foram: naftaleno (50% no sexto dia); antraceno (45% décimo quinto dia); pireno (35% décimo quinto dia) e benzo [a] pireno (75% no terceiro e sexto dia).

De acordo com JACQUES et al. (2007), a biorremediação pode ser limitada se as condições do solo não forem favoráveis à sobrevivência e a atividade dos microorganismos degradadores. Em ambientes naturais, segundo ALEXANDER (1999) o nutriente que normalmente limita o crescimento desses microorganismos é o carbono (C). Diferentes autores, como CARMICHAEL & PFAENDER (1997), NAM et al. (1998) e LUEKING et al. (2000), citados por JACQUES et al. (2007) concluíram que existe relação linear positiva entre o conteúdo de C orgânico do solo e a capacidade de degradação sorção de HAPs. Em vista de que a composição da fase sólida do solo determina a sua capacidade e sorção de HAPs, é de se esperar que solos com diferentes conteúdos de matéria orgânica (MO) e composições mineralógicas apresentem diferentes capacidades de sorção e de biodisponibilidade desses compostos aos micro-organismos degradadores do solo.

### **3.4.3 A matéria orgânica e a atividade dos micro-organismos no solo**

O solo é um compartimento terrestre que apresenta grande dinamismo em seus constituintes e está intimamente ligado às características e aos processos que ocorrem na atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera. A fase sólida é constituída da fração mineral e orgânica. A fração orgânica corresponde à matéria orgânica do solo (MOS), constituída basicamente por C, H e O. Os elementos N, S e P, por sua vez, estão presentes em menor quantidade e em função do tipo de cadeia. O carbono compreende cerca de 58% da MOS, H 6%, O 33%, enquanto N, S e P contribuem com cerca de 3 % (SILVA & MENDONÇA, 2007). Em solos tropicais e subtropicais altamente intemperizados a matéria orgânica tem grande importância para o fornecimento de nutrientes às culturas, a retenção de cátions, a complexação de elementos tóxicos, a estabilidade da estrutura, a infiltração e retenção de água, a aeração, e a atividade da biomassa microbiana. Constituindo-se assim, um componente fundamental da capacidade produtiva e degradativa destes solos, se considerado este, como um dos meios de descarte desses resíduos (BAYER & MIELNICZUC, 1999).

Os processos e as reações que envolvem a matéria orgânica na química do solo são fundamentais para compreender a fertilidade e disponibilidade de nutrientes para as plantas e os processos que envolvem substâncias e compostos contaminantes ou poluentes do ambiente. A MOS interage não só com os minerais, como também com compostos orgânicos adicionados ao solo pela ação do homem, através da aplicação de herbicidas, inseticidas, fungicidas, rejeitos industriais e urbanos e dejetos de origem animal. Essas interações são importantes porque controlam a persistência destes no solo, a velocidade de degradação, a toxicidade e a disponibilidade para organismos vivos, além da mobilidade no solo e no ambiente (SILVA et al., 2006).

No solo, os compostos orgânicos podem ser adsorvidos, precipitados, degradados ou volatilizados. A matéria orgânica do solo, devido às suas características e grupos funcionais, atua como um tampão, um trocador de íons, um surfactante, um agente quelante, ou como um adsorvente geral (MEURER, 2006). A evolução da MOS compreende as transformações

ocorridas desde a incorporação da matéria orgânica fresca até a transformação de frações humificadas mais estáveis (huminas). Essas transformações foram separadas conceitualmente em dois processos básicos, a degradação ou mineralização e a humificação.

A mineralização da matéria orgânica constitui a fase de perdas ocorridas durante a decomposição dos compostos orgânicos em etapas distintas. Uma delas, denominada de mineralização primária, compreende a transformação de cerca de 70 a 80% da matéria orgânica em moléculas simples, como CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (CAMARGO et al., 1999). A incorporação ao solo de materiais orgânicos afeta a dinâmica populacional dos micro-organismos e também a disponibilidade de alguns nutrientes, em especial o nitrogênio. Materiais com alta concentração de carbono, mas pouco nitrogênio (alta relação C/N) geralmente são lentamente mineralizados e induzem deficiência de nitrogênio às plantas, pois os microorganismos absorvem grande parte do N disponível, o qual só volta a ser disponibilizado após a decomposição do material adicionado (MIELNICZUCK, 1999).

Por sua vez, os micro-organismos são os componentes mais numerosos da fração biológica do solo, participando dos ciclos do carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre, e contribuindo com os processos ligados à cadeia trófica, o que é intrínseco para a fertilidade do solo e a produtividade das culturas. Além disso, os micro-organismos têm sido considerados essenciais para a decomposição de xenobiontes no ambiente (SCHEUNERT, 1994).

A medição da atividade microbiológica através da respiração, fixação biológica do nitrogênio, mineralização de compostos orgânicos, atividade enzimática e biomassa microbiana são feitas por técnicas bem estabelecidas, sendo essas características utilizadas, entre outros fins, como indicadores sensíveis da poluição (BROOKES, 1995). O mesmo autor, afirma ainda que a contagem de micro-organismos no solo, apesar de ser vista com ressalvas, ajuda a entender os processos que nele ocorrem e pode servir como indicador do impacto de diferentes manejos empregados. Os micro-organismos são reconhecidos por sua habilidade em promover transformações bioquímicas dos nutrientes e por sua importância em prover os elementos nutritivos de interesse às plantas, principalmente N, P e S (PAUL e CLARK, 1989). Podem-se inferir essas transformações quantificando o número de micro-organismos ou a sua atividade (NANNIPIERI et al., 1978; VIEIRA & NAHAS, 1998).

De acordo com SILVA (2001), que avaliou a biodegradação acelerada de pesticidas, os micro-organismos exibem duas estratégias ecológicas para a assimilação do substrato ou metabolismo: a mineralização e o co-metabolismo. Na mineralização o substrato absorvido é quebrado em pequenas moléculas as quais são posteriormente metabolizadas em rotas que geram energia. Neste caso, a biomassa microbiana aumenta à custa do substrato. Ao contrário da mineralização, no co-metabolismo não há geração de energia.

As transformações microbianas, por conta das diferentes populações que ocorrem num ecossistema, assim como diferentes reações químicas, podem ser alteradas sempre que ocorrer algum tipo de modificação no ambiente. Considerando que o solo é um sistema complexo e dinâmico, pode-se postular que diferentes manejos podem significar várias disponibilidades de substrato e nutrientes, que em última instância vão determinar, favorecendo ou inibindo, o estabelecimento dos diferentes grupos microbianos (CARDOSO & FREITAS, 1992).

Os micro-organismos estão diretamente envolvidos nos ciclos dos nutrientes no solo e a quantificação de grupos importantes dá indicação de como os processos estão ocorrendo. Por exemplo, a amonificação ou degradação dos compostos nitrogenados orgânicos é o passo limitante da mineralização feita por uma grande diversidade de micro-organismos amonificantes (PAUL & CLARK, 1989; TSAI et al., 1992; ALEF, 1995).

Na Índia, principal país produtor de mamona do mundo, cerca de 85% da torta de mamona (obtido pelo processo tradicional) é utilizada como fertilizante orgânico (KONNUR & SUBBARAO, 2004; UDESHI, 2004). Segundo JONES (1974) citado por BON (1977), entre 75 e 100% do nitrogênio da torta de mamona foi nitrificado em três meses.

## 3.5 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.5.1 Coleta e preparo do solo

O substrato utilizado nos experimentos de laboratório (mineralização e incubação das tortas) é proveniente do horizonte superficial de um Planossolo (Figura 4), e foi coletado próximo ao setor de bovinocultura de leite, antiga rodovia RJ-SP, km 47 da UFRRJ no município de Seropédica, Rio de Janeiro, em profundidade de 0 a 20 cm, e do montante estocado foram recolhidas 3 sub-amostras, que após terem sido secas ao ar e à sombra, para obtenção de terra fina seca ao ar (TFSA), foram submetidas às análises químicas de rotina para fins de fertilidade e a determinação granulométrica, como descrita pela EMBRAPA/CNPS (1997).



**Figura 4.** Local de coleta da camada superficial de um Planossolo localizado na UFRRJ. Foto cedida por Haim, 2008.

### 3.5.2 Tratamentos utilizados na mineralização das tortas de mamona

O experimento com as tortas de mamona (PDS e TMC), para medição da evolução de CO<sub>2</sub>, determinação do número mais provável de micro-organismos (NMP) e alteração no pH do solo, foi conduzido no Laboratório de Solo e Planta do Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo os tratamentos dispostos sob um esquema fatorial 6 x 2 x 2 (seis doses crescentes de torta x dois tipos de torta x dois níveis de contaminação (contaminado e não contaminado com óleo bruto) repetidos 3 vezes, totalizando 72 unidades experimentais (Tabela 11).

O óleo bruto utilizado para contaminação das unidades experimentais foi obtido da amostra número 931486756 (ref. PETROBRAS) do poço de Carmópolis – SE, contendo 43,68% de compostos saturados; 15,18% de aromáticos e 21,08% de polares; teor de enxofre (0,44%); composição elementar: 86,2% de C; 12,3% de H, e <0,3% de nitrogênio.

**Tabela 11.** Tratamentos utilizados no experimento de mineralização das tortas.

<b>Nível de contaminação</b>	<b>Torta</b>	<b>Dose (Mg ha<sup>-1</sup>)</b>
Não contaminado (Sem óleo)	<b>Torta de PDS</b>	0
		10,0
		20,0
		40,0
		80,0
	160,0	
	<b>Torta Comercial (TMC)</b>	0
		10,0
		20,0
		40,0
80,0		
Contaminado (4% óleo)	<b>Torta de PDS</b>	160,0
		0
		10,0
		20,0
		40,0
	<b>Torta Comercial (TMC)</b>	80,0
		160,0
		0
		10,0
		20,0
<b>Torta Comercial (TMC)</b>	40,0	
	80,0	
	160,0	

### 3.5.3 Condução da mineralização das tortas de mamona, medida pela evolução de CO<sub>2</sub>

Utilizou-se para este experimento o método estático de evolução de CO<sub>2</sub> ou C mineralizável de CURL & RODRIGUEZ-KABANA (1972) e STOTZKY (1965) adaptado por MENDONÇA & MATOS (2005). Este método se baseia na captura do CO<sub>2</sub> emanado de uma amostra de solo, por uma solução de NaOH ou KOH e sua dosagem por titulação com HCl. Este tipo de determinação pode ser realizada no campo ou em laboratório. Quando realizado em laboratório, existe a possibilidade de se trabalhar com amostras indeformadas ou deformadas. Optou-se trabalhar com amostras de terra deformadas para melhor homogeneização das doses de tortas e a captura de CO<sub>2</sub> emanado foi feita com NaOH.

Para montagem de cada unidade experimental, pesou-se 100g do substrato (TFSA oriunda da camada superficial de um Planossolo) e as quantidades equivalentes às doses dos tratamentos propostos para o experimento (Tabela 11). Após serem homogeneizadas, estas quantidades foram acondicionadas em recipientes plásticos de 500 cm<sup>3</sup>, com fechamento hermético e ajuste da umidade para 80% da capacidade de campo. Imediatamente a isso, ocorreu a contaminação proposital com óleo bruto na proporção de 4% dos 100 g utilizados de terra nas unidades experimentais respectivas. A aplicação do óleo foi feita de forma homogênea na superfície do solo de forma que toda a circunferência fosse atingida e se deu com a ajuda de uma seringa de plástico com volume igual e conhecido de 10 ml, sem utilização da agulha para facilitar o escoamento uniforme do óleo quando o êmbolo fosse pressionado.

Adicionou-se em cada recipiente plástico de 500 cm<sup>3</sup>, um menor de capacidade igual e conhecida a 50 ml, contendo 30 ml de solução NaOH 0,5 mol.L<sup>-1</sup> para capturar o CO<sub>2</sub>

evoluído. Então, cada unidade experimental foi posta para incubação a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ao abrigo da luz em prateleiras limpas e secas.

Após 24 horas, retirou-se o frasco contendo NaOH, pipetou-se 10 ml da solução para erlenmayer de 125 mL, adicionou-se 10 mL de  $\text{BaCl}_2$   $0,05\text{ mol.L}^{-1}$  e 3 gotas de fenolftaleína e, então, se titulou com solução HCl  $0,25\text{ mol.L}^{-1}$ . Nesse momento, cada unidade experimental ficou aberta por aproximadamente 15 minutos para suprir o  $\text{O}_2$  requerido pelos micro-organismos. Em seguida um novo recipiente, contendo 30 ml de nova solução NaOH  $0,5\text{ mol.L}^{-1}$  era adicionado no interior da unidade experimental e esta então, fechada hermeticamente e devolvida ao local apropriado. Foram feitas leituras em 24, 48, 72, 168, 264, 360, 456 e 552 horas (1, 2, 3, 7, 11, 15, 19 e 23 dias).

### 3.5.4 Cálculo do $\text{CO}_2$ , evoluído

O  $\text{CO}_2$  é igual a C- $\text{CO}_2$  mg/100  $\text{cm}^3$  de solo, durante o intervalo de tempo utilizado no monitoramento da amostra e foi calculado utilizando a equação abaixo:

$$\text{C-CO}_2 \text{ (mg)} = (\text{B-V}) \times \text{M} \times 6 \times (\text{v1/v2})$$

Onde:

B = Volume do HCl no branco (mL)

V = volume de HCl gasto na amostra (mL)

M = molaridade do HCl ( $\text{mol.L}^{-1}$ )

6 = peso equivalente do carbono

v1 = volume total de NaOH usado na captura do  $\text{CO}_2$  (mL)

v2 = volume de NaOH usado na titulação (mL)

A quantidade total de C- $\text{CO}_2$  produzido é igual ao somatório dos valores obtidos durante cada amostragem.

### 3.5.5 Contagem do número mais provável de micro-organismos

O número mais provável de micro-organismos é uma técnica que tem por base a probabilidade estatística relacionada com a frequência da ocorrência de resultados positivos mais prováveis em função do número real de micro-organismos presentes. A metodologia utilizada seguiu o que foi postulado no manual da WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Water Quality: Guidelines, Standards and Health* (2001).

As análises foram feitas imediatamente após a coleta de solo nas unidades experimentais e se deu no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Veterinária da UFRRJ.

### 3.5.6 Análises de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP)

A determinação da concentração do total de hidrocarbonetos de petróleo foi realizada no laboratório da *Analytical Solutions*, no Rio de Janeiro, que utilizou como referência a técnica de cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a um espectrofotômetro de massa, de acordo com a metodologia EPA 8015B da Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA, 2005).

As coletas das amostras de solo nas unidades experimentais, ocorreram ao final do experimento de evolução de  $\text{CO}_2$ , quando foram coletadas 50 g de solo, acondicionadas em recipientes de vidro e imediatamente enviadas ao laboratório.

### 3.5.7 Incubação das tortas e tratamentos utilizados

Para que se pudesse avaliar o efeito das diferentes doses de tortas de mamona no pH de um solo ácido, foi feito, após a caracterização inicial da amostra de terra do Planossolo, um ensaio de incubação com amostras em triplicata, utilizando as duas tortas (PDS e TMC) em

doses crescentes como descrito na (Tabela 12). Foram utilizados potes plásticos de 200 ml e a umidade ajustada a 80% da capacidade de campo, de acordo com metodologia preconizada por ZONTA (2003). Os potes, fechados (não hermeticamente, para que se processassem as trocas gasosas) foram dispostos em prateleiras secas e limpas e mantidas ao abrigo da luz, e também ao 0, 1, 2, 4, 8, 16 e 32 dias, o pH foi determinado por potenciometria.

**Tabela 12.** Tratamentos utilizados na determinação de elevação do pH em função das doses de tortas - PDS e TMC.

TRATAMENTOS	Dose das tortas de PDS e TMC (Mg ha <sup>-1</sup> )
1	0 - Testemunha
2	2,5
3	5,0
4	7,50
5	10,0
6	20,0
7	40,0
8	80,0
9	160,0

A análise estatística dos dados foi feita utilizando erro padrão e comparação de médias.

### 3.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.6.1 Caracterização do solo

Nas tabelas abaixo são apresentadas características químicas e granulométricas do Planossolo em estudo. De acordo com os níveis de referências preconizados por ALMEIDA et al. (1988), as análises de terra (Tabela 13) mostraram que se trata de um solo que apresenta baixos teores de carbono orgânico, fósforo e potássio. O poder tampão estimado pelo valor T, também é considerado baixo.

A análise granulométrica aponta para um solo de textura arenosa, com 92% de areia (Tabela 14). Isto reforça a correta escolha deste como substrato. Tanto para realização dos experimentos de mineralização como em casa de vegetação (ver Capítulo III desta dissertação), já que ele receberá o óleo contaminante e vai provavelmente influenciar positivamente na biodisponibilidade do contaminante aos micro-organismos, pois em solos com características argilosas a grande fração de partículas finas presentes, intensifica a interação entre a matriz do solo e o contaminante, tirando-o da fase dissolvida e reduzindo a biodisponibilidade deste ao ataque microbiano (TRINDADE, 2002 e RAIMUNDO & RIZZO, 2003). Ademais parece ser também o substrato que menos influenciaria na avaliação da torta de PDS em relação ao seu uso como possível fertilizante orgânico e/ou condicionador do solo.

**Tabela 13.** Resultados da análise química dos solos utilizados, onde m-saturação por Al; n-saturação por Na.

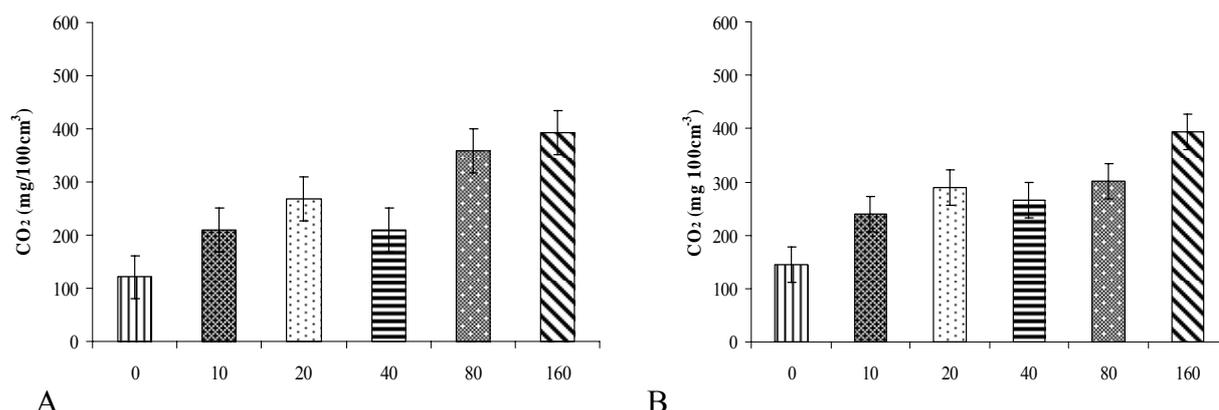
Solo	Na	Ca	Mg	H + Al	Al	S	T	V	m	n	pH	Corg	P	K
	-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----					-----%-----			1:2,5	%	--mg L--			
Planossolo Arenosa	0,02	1,2	0,3	2,5	0,50	1,59	4,09	39	24	0	5,5	1,02	3	30

**Tabela 14.** Análise granulométrica do solo.

Amostra	Argila Natural	Argila Total	Areia Total	Areia Fina	Silte
	-----g kg <sup>-1</sup> -----				
Planossolo T. Arenosa	30	70	920	210	10

### 3.6.2 Mineralização das tortas, medida pela evolução de CO<sub>2</sub> em solo contaminado

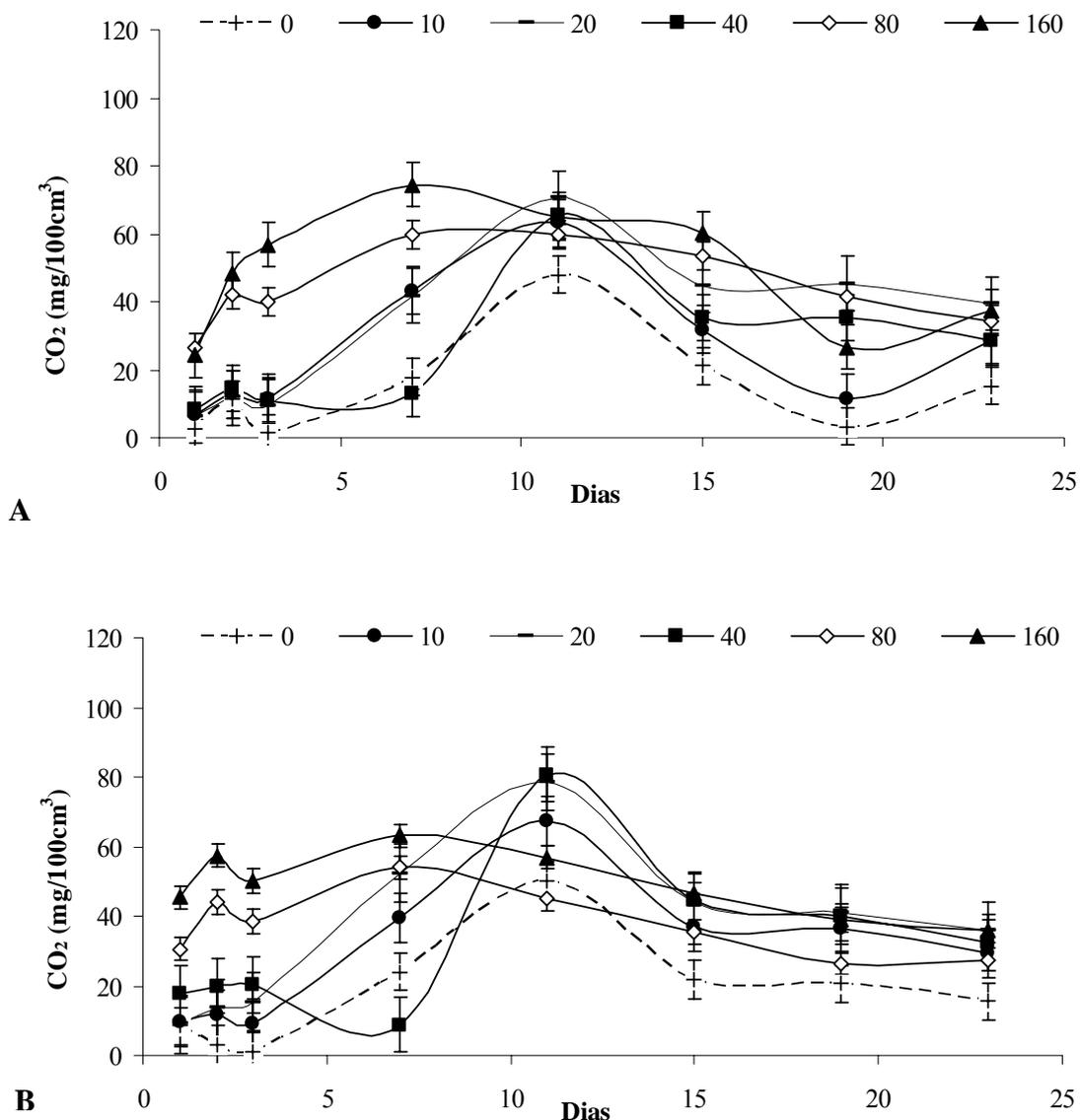
A comparação do total mineralizado entre as tortas de mamona em ambiente contaminado é mostrada na Figura 5 onde se pode observar que as diferentes tortas apresentaram taxas de mineralização semelhantes ao final dos 23 dias de experimento. Particularmente, os tratamentos 80 e 160 Mg. ha<sup>-1</sup>, na torta de PDS, foram significativamente diferentes dos demais (Figura 5A), enquanto que na torta comercial (TMC), o único tratamento que obteve diferença significativa em relação aos outros foi o que recebeu a maior dose de torta – 160 Mg ha<sup>-1</sup> (Figura 5B).



**Figura 5.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> em solo contaminado com óleo bruto (4%) ao final dos 23 dias de experimento. Torta de PDS, à esquerda (A) e torta de mamona comercial, à direita (B). Barras mostram o erro padrão.

A Figura 6 apresenta os valores absolutos de cada uma das oito leituras de evolução de CO<sub>2</sub> realizadas ao longo do experimento de mineralização para as tortas avaliadas. Dos tratamentos que receberam a torta de PDS (Figura 6 A), aquele com dose igual a 160 Mg ha<sup>-1</sup> foi o que apresentou o maior pico significativo de desprendimento de CO<sub>2</sub>, que se iniciou a partir do sétimo dia e se perdurou até o décimo segundo, quando se igualou ao tratamento que recebeu a dose de 20 Mg ha<sup>-1</sup>. Após o décimo segundo dia todos os tratamentos apresentaram diminuição no desprendimento de CO<sub>2</sub>. Comportamento semelhante correu com a torta comercial, onde, porém, no décimo quinto dia o desprendimento de CO<sub>2</sub> começou a declinar (B). Esses dados mostram, indiretamente, a atividade dos micro-organismos durante os 23 dias de condução do experimento.

Em termos de atividade de microorganismos do solo, vários autores afirmam ser de difícil exatidão os métodos que estudam o comportamento dos micro-organismos do solo, uma vez que a alta complexidade e variabilidade do ambiente a que são submetidos influenciaram o crescimento e desenvolvimento desses organismos. Segundo GRISI (1984) o primeiro problema com o qual o pesquisador se depara, quando precisa estimar a atividade microbiana é a escolha do método adequado. Entretanto LINHARES e SEABRA (1991), concluíram, em estudo para avaliar um método para aplicabilidade e taxa de aplicação de resíduo num solo em processo de biorremediação “*landfarming*”, que o método de desprendimento do dióxido de carbono (evolução de CO<sub>2</sub>) permite detectar as possíveis causas de uma baixa eficiência no processo de biodegradação. Além disto, podem-se verificar as condições que devem ser modificadas de modo a manter o sistema funcionando de maneira adequada além de determinar as taxas de aplicação adequadas de um resíduo em solo.



**Figura 6.** Mineralização das tortas de mamona em solo contaminado com óleo bruto (4%), medida pela evolução de CO<sub>2</sub> sob diferentes doses (Mg ha<sup>-1</sup>) e avaliada durante 23 dias. Acima (A) tratamentos com torta de PDS, e abaixo (B) tratamentos com torta comercial. Barras mostram o erro padrão.

A Figura 7 mostra a mineralização pelo CO<sub>2</sub> evoluído acumulado. Para ambas as tortas em ambiente contaminado com óleo bruto a 4% observa-se um aumento linear do CO<sub>2</sub> evoluído em função do tempo de incubação, e à medida que se aumentam as doses das tortas avaliadas. Na Figura 7A a adição de torta de PDS incrementou nos tratamentos com dose igual a 80 e 160 Mg ha<sup>-1</sup> o desprendimento de CO<sub>2</sub>, sendo estes diferentes em relação à testemunha e aos demais tratamentos. Na Figura 7B o tratamento que recebeu a maior dose de torta comercial (TMC, 160 Mg ha<sup>-1</sup>) foi o que apresentou o maior acúmulo de CO<sub>2</sub>.

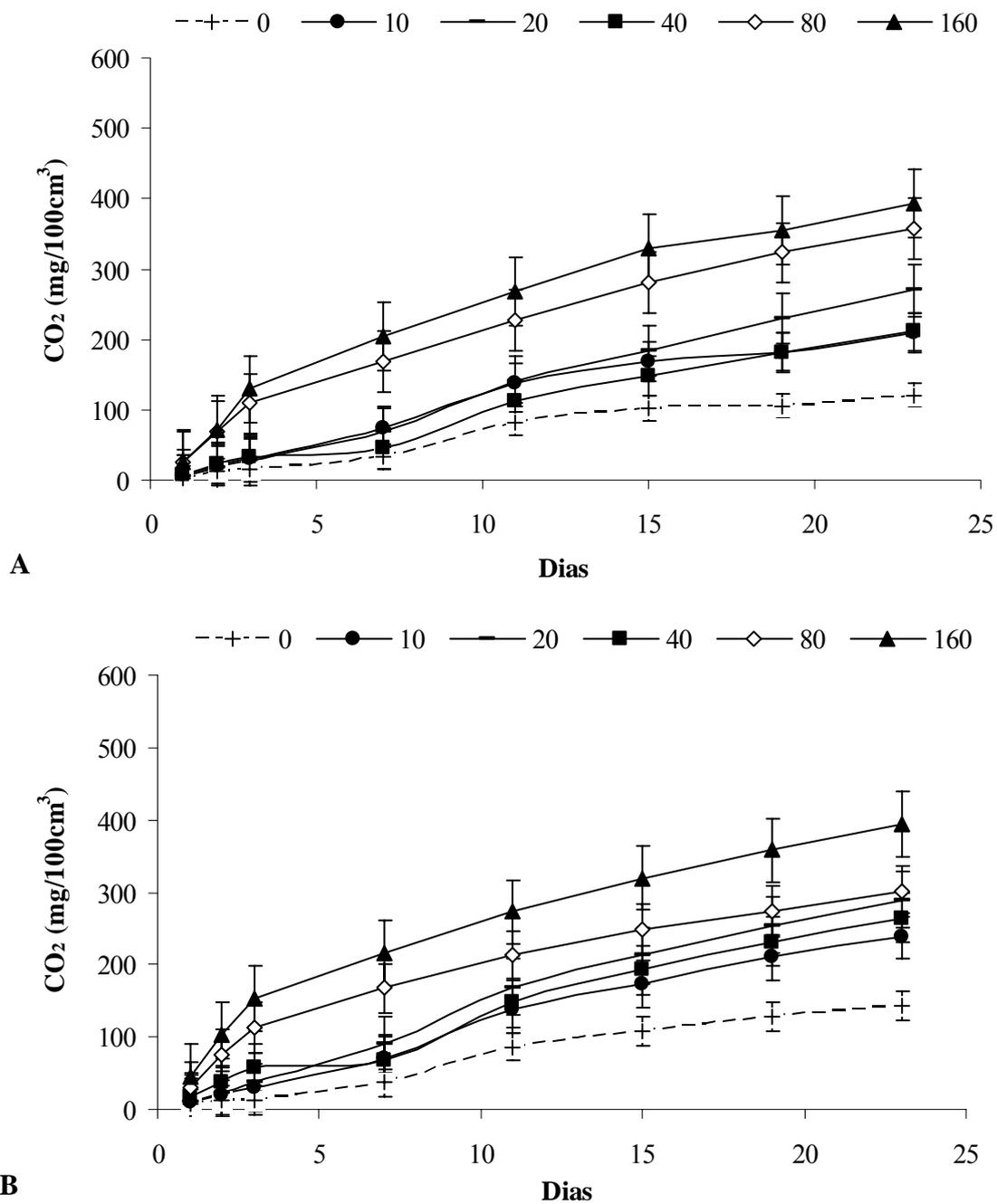
RAIMUNDO & RIZZO (2003), avaliando a biodisponibilidade de óleo cru em solo contaminado proveniente de Guararema (SP) para aferir a influência do processo de intemperização nas eficiências de biodegradação, empregaram, em meio líquido, 4 tratamentos distintos, a saber: 1. Meio inorgânico fortificado (48 ml) + extrato orgânico (2

ml); 2. Meio inorgânico fortificado com microbiota nativa extraída do solo (48 ml) + extrato orgânico (2 ml); 3. Meio inorgânico fortificado com microbiota nativa extraída do solo (46 ml) + extrato orgânico (2 ml) + inoculo do pool degradador (2 ml) e 3. Meio inorgânico fortificado (46 ml) + extrato orgânico (2 ml) + inoculo do pool degradador, verificando que até os primeiros 15 dias de teste, o comportamento para as 4 condições utilizadas foi semelhante, indicando a presença de um período inicial de adaptação do consórcio microbiano nativo do solo contaminado e/ou do consórcio degradador adicionado.

Entretanto, a partir do 15º dia a evolução de CO<sub>2</sub> foi maior nos tratamentos 2 e 3 (justamente aqueles que receberam a microbiota nativa) e em 30 dias de experimento, apenas a microbiota nativa já era capaz de degradar 45% do óleo contaminante (tratamento 2) enquanto que o consórcio microbiano inoculado (tratamento 4), só degradou 19% deste óleo. Entretanto ao final do experimento as autoras concluíram que a maior taxa de degradação ocorreu no tratamento 3.

O fato de o experimento ter sido conduzido em meio líquido não anula a comparação dos resultados obtidos na tabela 7, e ainda reforça a ação da torta de PDS na estimulação da atividade microbiana (já que não houve adição de nenhum consórcio microbiano). Além disto, os micro-organismos não foram extraídos de nenhum ambiente previamente contaminado, fato este que ocorreu no estudo citado, pois entre o derramamento de óleo e a coleta para o desenvolvimento das atividades experimentais aproximadamente 3 anos se passaram.

Por outro lado é importante destacar que a intemperização resulta na redução da concentração dos contaminantes no solo devido à volatilização das frações mais leves e/ou lixiviação dos compostos, afetando o tipo de contaminante que permanece no solo e a disponibilidade deste para os micro-organismos. Ademais, a natureza do contaminante presente no solo vai interferir na extensão da degradação microbiana, por ser esta uma função do peso molecular do composto orgânico e da razão de hidrocarbonetos saturados e aromáticos (RAIMUNDO & RIZZO, 2003).

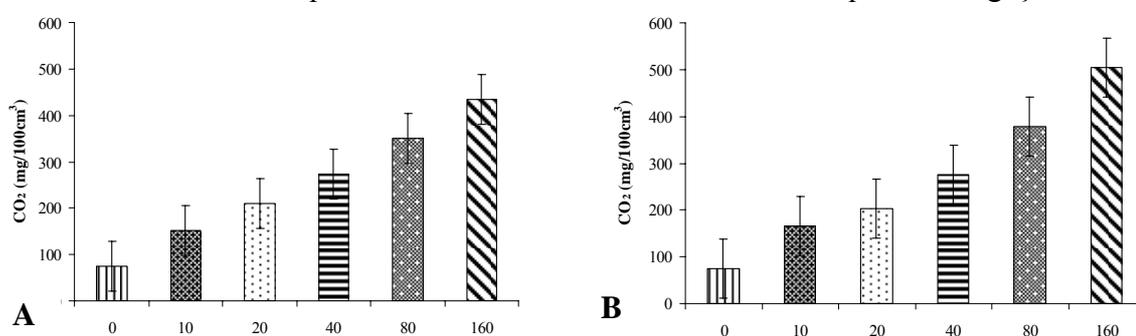


**Figura 7.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> ao longo dos 23 dias sob 6 doses crescentes (Mg ha<sup>-1</sup>), submetidos ao contaminante (óleo bruto 4%) Acima (A) tratamentos com adição de torta de PDS e abaixo (B), tratamentos com adição de torta comercial (TMC). Barras mostram o erro padrão.

### 3.6.3 Mineralização das tortas, medida pela evolução de CO<sub>2</sub> em solo não contaminado

Em ambiente não contaminado a avaliação da atividade microbiana para a torta comercial (TMC) revelou um comportamento semelhante quando comparado à torta de PDS. No total acumulado de CO<sub>2</sub> (Figura 8), ocorreu um aumento linear à medida que se aumentavam as doses de tortas adicionadas (Figura 8A e Figura 8B).

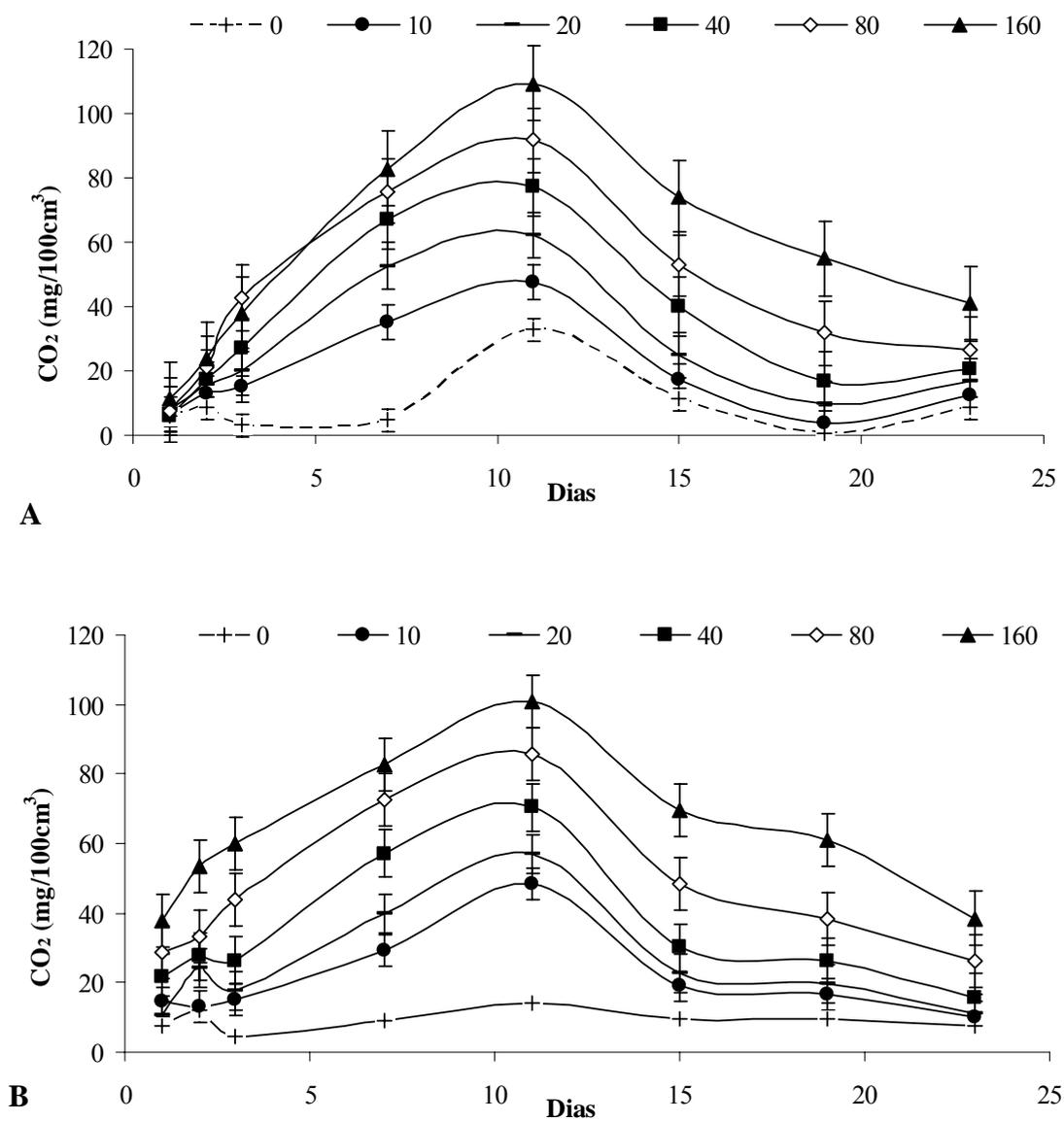
Esse resultado está de acordo com aqueles encontrados na literatura. Autores como SEVERINO et al. (2004), mostram um potencial aumento da atividade microbiana quando se adiciona material rico em C-orgânico ao solo, uma vez que este é utilizado pelos microorganismos como fonte de energia, o que promove aumento na atividade biológica e consequentemente liberação de CO<sub>2</sub>. Esses autores avaliaram a mineralização da torta de mamona em comparação com esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana, e verificaram que a quantidade de CO<sub>2</sub> mineralizado pela torta no período de 33 dias foi seis vezes maior que a do esterco bovino e 14 vezes maior que a do bagaço de cana.



**Figura 8.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> em solo não contaminado ao final dos 23 dias de experimento. Torta de PDS, à esquerda (A) e torta de mamona comercial, à direita (B). Barras mostram o erro padrão.

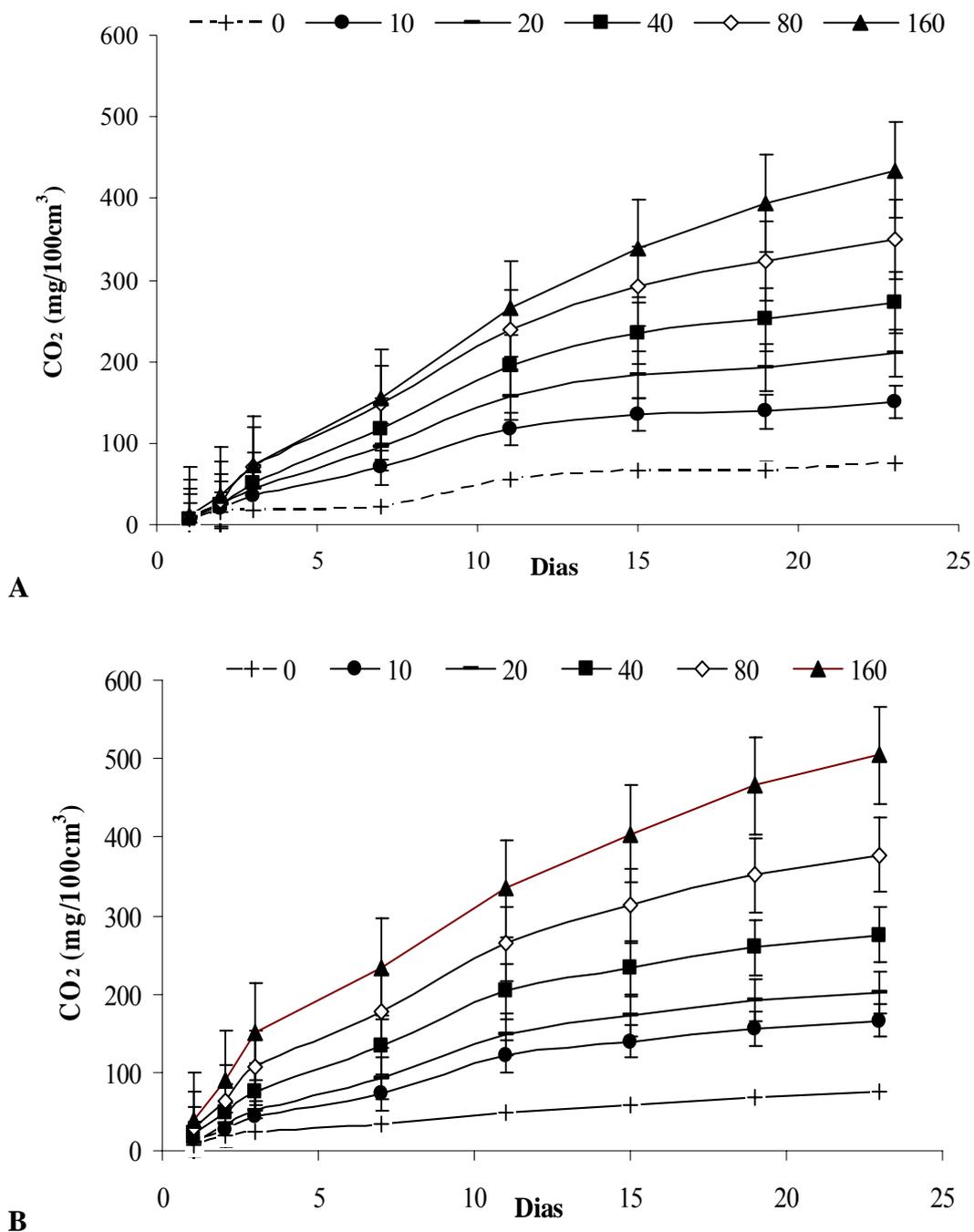
MIRANDA et al. (2006), testando diferentes doses de torta de mamona em substituição ao esterco de curral, visando diminuir os danos térmicos ao sistema radicular das plântulas de café, verificaram com medições de dois em dois dias durante uma semana, que o aumento da proporção da torta no substrato aumentava também a temperatura do mesmo. Os autores concluíram que a torta de mamona aquece o substrato em que está presente. Isso se deve, provavelmente ao fato da torta apresentar menor relação C:N, quando comparada a outros substratos (SEVERINO, 2005 e EMBRAPA, 2006), comumente utilizados na produção de mudas, estimulando a atividade microbiológica e disponibilizando C mineralizado de forma mais rápida que outros materiais orgânicos (SEVERINO et al., 2004).

Correlacionando o trabalho citado com a Figura 9, é factível perceber que a maior atividade microbiana e conseqüente liberação de CO<sub>2</sub>, ocorreram até os 12 dias após a incubação e que depois, mesmo paro o tratamento que continha a maior dose de ambas as tortas (160 Mg ha<sup>-1</sup>) uma acentuada diminuição na evolução de CO<sub>2</sub> ocorre. O que sugere menor atividade microbiana e conseqüentemente diminuição da temperatura do solo. Provavelmente neste momento, todo o C já havia sido mineralizado, deixando claro que em pouco tempo, aproximadamente duas semanas a torta de mamona pode mineralizar completamente e ser aproveitada como um excelente fertilizante orgânico, inclusive para mudas de cafeeiro.



**Figura 9.** Mineralização das tortas de mamona em solo não contaminado, medida pela evolução de CO<sub>2</sub> sob diferentes doses (Mg ha<sup>-1</sup>) e avaliada durante 23 dias. Acima (A) tratamentos com torta de PDS, e abaixo (B) tratamentos com torta comercial. Barras mostram o erro padrão.

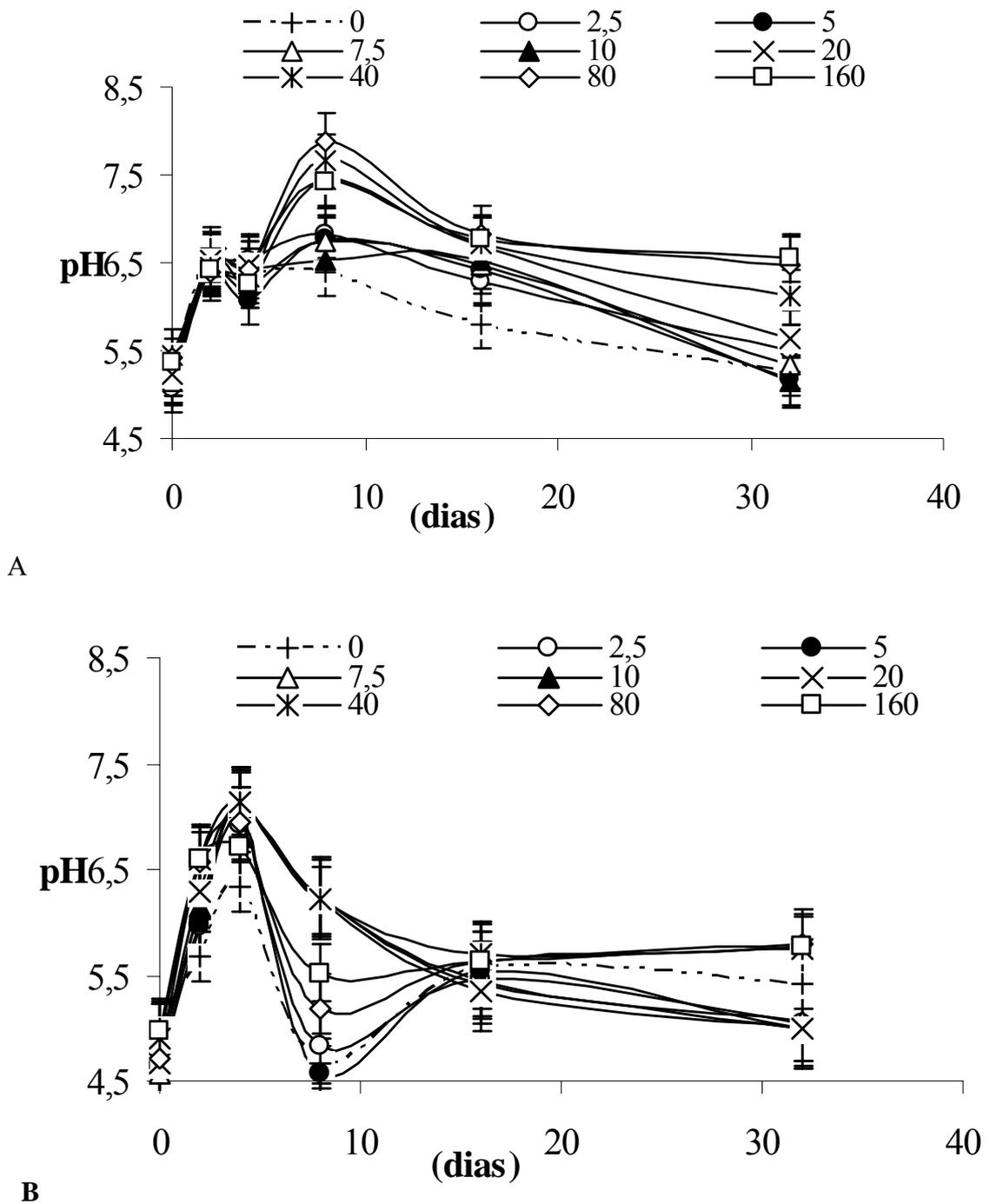
A Figura 10 mostra o CO<sub>2</sub> total evoluído durante o experimento de mineralização com as tortas em ambiente não contaminado. Mais uma vez, reverberando a simetria dos dois materiais testados nesse trabalho, as tortas mostraram comportamento semelhante, sendo a torta comercial (TMC, Figura 10B), aquela que apresentou diferenças claras na medida em que se aumentaram as quantidades de doses adicionadas ao solo.



**Figura 10.** Total mineralizado das tortas de mamona, medido pela evolução de CO<sub>2</sub> ao longo dos 23 dias sob 6 doses crescentes (Mg ha<sup>-1</sup>), não submetidos ao contaminante. Acima (A) tratamentos com adição de torta de PDS e abaixo (B), tratamentos com adição de torta comercial. Barras mostram o erro padrão.

### 3.6.4 Efeito das tortas no pH do solo

Na Figura 11 é mostrada a variação do pH na amostra de terra oriunda da camada superficial de um Planossolo de textura arenosa incubado de 0 a 32 dias com as duas tortas de mamona (PDS e comercial). Houve inicialmente, um aumento relativo com posterior queda e estabilização do pH até os 16 dias de incubação para os tratamentos que receberam as maiores doses de torta de PDS (160 Mg ha<sup>-1</sup> e 80 Mg ha<sup>-1</sup>).



**Figura 11.** Curvas de determinação, por potenciometria, da influência da incubação de diferentes doses ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) da torta de PDS, acima (A) e da torta comercial (TMC), abaixo (B), em amostras de terra oriunda da camada superficial de um Planossolo, avaliadas durante 32 dias. Barras mostram o erro padrão.

De acordo com MALAVOLTA (1985) a matéria orgânica no solo e/ou adicionada é fonte de vários elementos para a planta, especialmente N, S, P e B. Sua decomposição ou mineralização se dá graças à atividade de microorganismos. Embora o pH do solo influencie o tipo de micro-organismos predominante, a decomposição ocorre de forma mais rápida em solos de pH neutro. Como as reações de mineralização da matéria orgânica são quase todas

enzimáticas, o pH mais favorável para o desdobramento da matéria orgânica nativa ou adicionada ao solo deve coincidir com o ótimo para a atividade da enzima e para a sua estabilidade. O pH interfere diretamente na disponibilidade de elementos como N, S e B, cuja fonte principal é a matéria orgânica do solo. Para que estes nutrientes sejam liberados a MO deve ser decomposta ou mineralizada, processos que ocorrem por conta de micro-organismos, cuja atividade é inibida ou diminuída pela acidez excessiva (MALAVOLTA, 1980).

Voltando aos resultados encontrados (Figura 11A e Figura 11B), as maiores doses de torta de PDS (40, 80 e 160 Mg ha<sup>-1</sup>), promoveram um aumento superior e significativo no pH dos substratos que as conteve, determinando um pH na faixa de 6,6. Quando se compara o pH dos substratos que receberam as mesmas doses, mas com adição da outra torta (TMC) verifica-se que o pH só chegou a 5,9.

Pode-se inferir que no pH dos substratos que receberam torta de PDS vai haver maior disponibilidade de alguns nutrientes (macronutrientes principalmente), influenciando, portanto de forma direta a atividade microbiológica. Pois de acordo com MALAVOLTA (1980), a disponibilidade máxima de fósforo acontece quando o pH está ao redor de 6,5.

Em processos de biorremediação é necessário que o pH seja compatível com os micro-organismos. Bactérias se desenvolvem com um pH entre 5 e 9, enquanto que os fungos que degradam compostos complexos têm a sua faixa ótima em torno de 5 ou menos (SKLADANY & METTING, 1993; DAL FORNO, 2006).

### 3.6.5 Contagem do número mais provável de micro-organismos (NMP) nos tratamentos contaminados

Como observado na Tabela 15, a aplicação de torta de mamona ao solo estimulou o desenvolvimento da microbiota. Tendo a dose de 40 Mg ha<sup>-1</sup> promovido, nas duas tortas, o maior crescimento da população de micro-organismos. Com o aumento da dose em mais de 40 Mg ha<sup>-1</sup> ocorreu diminuição na população de micro-organismos em função provavelmente do alto teor de misturas complexas não resolvidas, em inglês (URM), formadas após o início do processo de degradação naqueles tratamentos que receberam maior dose das tortas. Isso pode ser observado na Tabela 16, onde o total de n-alcanos e misturas complexas são apresentados, bem como o total de HTP analisados ao final do experimento de mineralização.

**Tabela 15.** Quantificação da população de micro-organismos em unidades formadoras de colônia (UFC) em função dose de aplicação das tortas de mamona, 23 dias após o experimento.

Tratamento	TMC	Torta de PDS
	UFC.g <sup>-1</sup> de solo	
Testemunha	1,58 x 10 <sup>6</sup>	1,20 x 10 <sup>6</sup>
10 Mg.ha <sup>-1</sup>	6,13 x 10 <sup>8</sup>	1,20 x 10 <sup>7</sup>
20 Mg.ha <sup>-1</sup>	2,05 x 10 <sup>9</sup>	1,81 x 10 <sup>8</sup>
40 Mg.ha <sup>-1</sup>	5,88 x 10 <sup>10</sup>	6,01 x 10 <sup>10</sup>
80 Mg.ha <sup>-1</sup>	1,82 x 10 <sup>9</sup>	2,45 x 10 <sup>9</sup>
160 Mg.ha <sup>-1</sup>	1,85 x 10 <sup>8</sup>	2,72 x 10 <sup>6</sup>

Ainda em relação a essa queda na contagem dos micro-organismos apresentadas neste item SEABRA (1997) postulou generalizações que devem ser tomadas como base quando se descreve o ataque microbiano na degradação de hidrocarbonetos de petróleo e entre elas a de que os hidrocarbonetos presentes em uma mistura complexa como o petróleo, são em sua maioria, biodegradados por culturas microbianas mistas, de maneira simultânea, mas à

diferentes taxas e de que a taxa de biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo varia em função do desaparecimento de certos componentes e da mudança na biota, norteia melhor o entendimento e a análise dos dados encontrados.

Na maior dose de aplicação de torta de mamona ao solo (160 Mg. ha<sup>-1</sup>) percebe-se um efeito tóxico mais expressivo da torta de mamona proveniente do processo de produção de biodiesel direto da semente em relação à torta de mamona comercial, o que pode ser explicado pelos maiores teores de sódio encontrado na composição da torta de PDS, uma vez que este elemento está presente principalmente na forma de hidróxido de sódio, o que aumenta a salinidade do meio e inibe o desenvolvimento dos micro-organismos. Particularmente, no que tange à torta de PDS, para uso na agricultura, os elevados teores de Na encontrados - o NaOH é utilizado no processo de produção de biodiesel nesta rota - podem ser limitantes (ZONTA et al., 2008).

### **3.6.6 Análises cromatográficas de hidrocarbonetos totais de petróleo**

Na Tabela 16, pode-se verificar que tanto os n-alcenos quanto os hidrocarbonetos resolvidos de petróleo (HRP) diminuíram com a aplicação das diferentes tortas de mamona no solo, sugerindo que a aplicação deste material no solo pode estimular a atividade dos micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos de petróleo. A literatura mostra que outros autores chegaram à mesma conclusão quando adicionaram ao solo matérias potencialmente estimulantes da atividade microbiana, contendo principalmente nutrientes como N e C.

Avaliando a poluição do solo por derivados de petróleo e sua remediação, mensurada por experimentos de respirometria, utilizando como tratamentos peróxido de hidrogênio + inóculo e nitrato de potássio + inóculo, DAL FORNO (2006), concluiu que este último tratamento apresentou melhor biodegradação do contaminante. Esses resultados convergem com o encontrado neste trabalho (Tabela 16), tendo em vista que as tortas em estudo são fontes principalmente de N e K.

Os derivados de petróleo, como por exemplo o óleo diesel, são compostos de uma mistura complexa de alcanos normais, ramificados, cíclicos e compostos aromáticos, os quais não podem ser totalmente separados pela cromatografia gasosa. Assim sendo, apenas os alcanos normais (n-alcenos) e alguns hidrocarbonetos ramificados podem ser identificados separadamente. Perfis cromatográficos de um derivado de petróleo, geralmente apresentam uma resolução satisfatória para todos os n-alcenos e alguns outros alcanos isoprenóides, como o pristano (2, 6, 10,14-tetrametilpentadecano) e o fitano (2, 6, 10,14-tetrametil-hexadecano). Ainda assim, a maior fração do óleo bruto não é caracterizada, porque a maioria dos componentes não pode ser resolvida e estes aparecem nos cromatogramas como uma “lombada”, que é chamada de “mistura complexa não resolvida (UCM - em inglês)”, que presumivelmente inclui alcanos ramificados e cíclicos e subprodutos das transformações dos hidrocarbonetos (BREGNARD et al., 1996; GALLEGO et al., 2001; MARCHAL et al., 2003; MARIANO, 2006). A UCM foi significativa nas amostras analisadas e tendeu a aumentar com o aumento das doses das tortas.

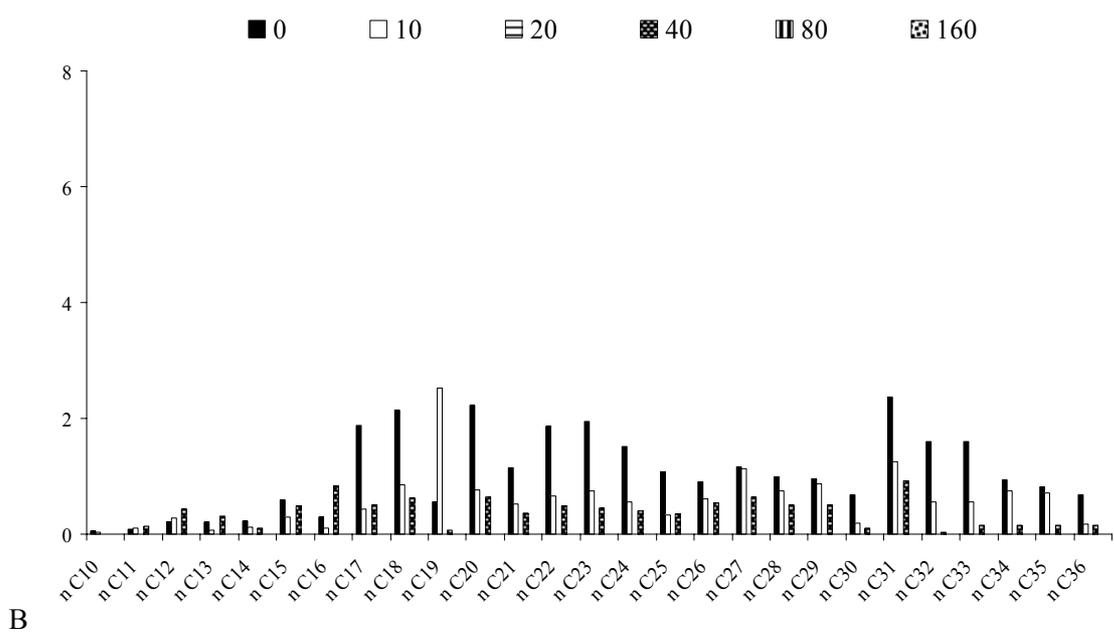
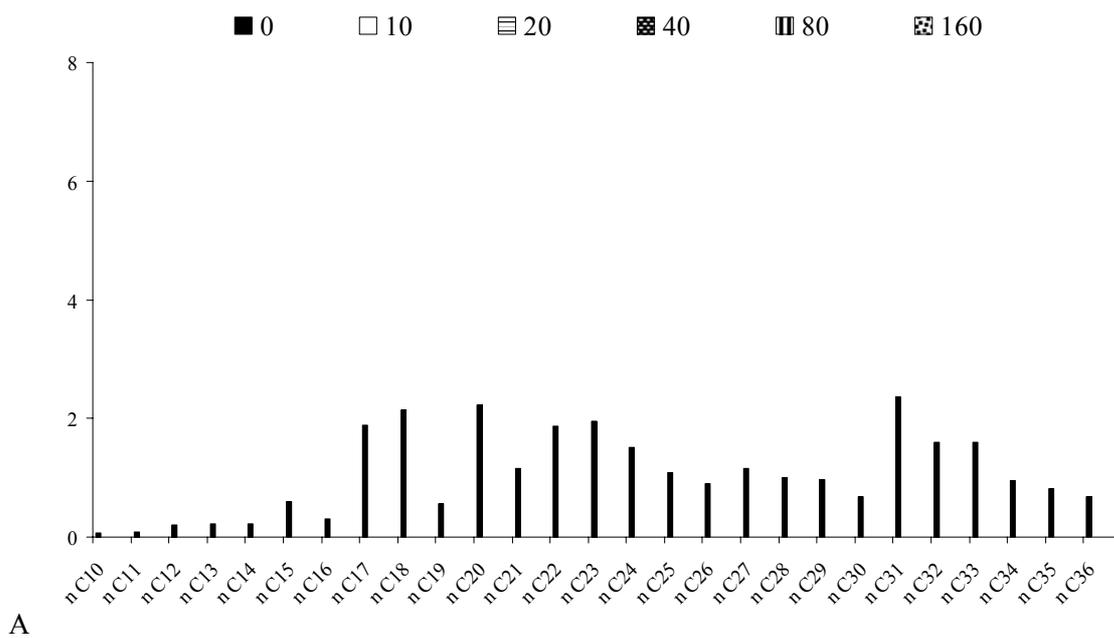
**Tabela 16.** Composição de hidrocarbonetos de petróleo no solo contaminado com óleo bruto em que doses crescentes de torta de mamona comercial (TMC) e torta da produção direta de biodiesel (PDS) foram adicionadas e incubadas durante 23 dias.

Hidrocarbonetos de petróleo (mg.kg <sup>-1</sup> )	----- Doses de torta de mamona (Mg.ha <sup>-1</sup> ) -----					
	0	10	20	40	80	160
	----- TMC -----					
n-alcanos	28,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HRP	150,67	52,30	26,85	20,26	12,98	19,86
UCM	1796,85	2454,92	2350,12	2377,59	2917,99	2890,72
HTP	1947,51	2507,21	2376,97	2397,85	2930,97	2910,58
	----- PDS -----					
n-alcanos	28,78	15,96	0,00	0,09	0,00	0,00
HRP	150,67	130,73	73,45	125,35	7,54	11,11
UCM	1796,85	2591,58	1698,46	1953,34	2585,56	3365,23
HTP	1947,51	2722,31	1771,91	2078,69	2593,10	3376,34

\*HRP: Hidrocarbonetos resolvidos de petróleo; UCM: Mistura Complexa não resolvida; HTP: Hidrocarbonetos totais de petróleo.

Os hidrocarbonetos resolvidos são chamados “hidrocarbonetos totais resolvidos” (HRP) e os “hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP)” são a soma dos HRP e da UCM. Os HRP são hidrocarbonetos não degradados e aparecem como picos nos cromatogramas. Na Tabela 16 é observável que ambas as tortas contribuíram para a redução dos HRP.

Micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos degradam alcanos ramificados e compostos isoprenóides em velocidades menores que os alcanos de cadeias lineares. Portanto, a razão de alcanos lineares em relação aos compostos altamente ramificados pode refletir a extensão de degradação do óleo diesel causada por micro-organismos. Nos resultados da cromatografia gasosa a “lombada” correspondente à UCM torna-se maior e os picos dos HRP diminuem devido à biodegradação (SEABRA, 1997; BALBA et al., 1998; MARIANO, 2006). Na Figura 12 é demonstrada a mudança na composição de n-alcanos que foram encontrados no solo contaminado com óleo bruto, após o experimento de mineralização onde diferentes doses de torta oriundas de processo distintos - torta de mamona comercial (TMC) e torta de mamona da produção direta de biodiesel (PDS). Verifica-se que a adição da torta de mamona contribuiu sensivelmente para a diminuição dos teores de alcanos normais do petróleo no solo. A mudança na composição dos n-alcanos, juntamente com os resultados encontrados na Tabela 16, indicam claramente que as cadeias de hidrocarbonetos foram quebradas pela atividade microbiana do solo, aumentada pela adição de material orgânico (tortas avaliadas).



**Figura 12.** Composição de n-alcenos nos substratos com doses crescentes de 0, 5, 10, 20, 40 e 80  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  das tortas comercial (TMC) (A), e de PDS (B), aferidas 23 dias após a mineralização.

### 3.7 CONCLUSÕES

A partir da avaliação dos dados é possível concluir que:

- ✓ A torta de PDS tem velocidade de mineralização semelhante à torta de mamona comercial (TMC) já largamente empregada na agricultura;
- ✓ Tanto a torta de PDS como a TCM podem ser utilizadas como estimulantes da atividade microbiológica do solo;
- ✓ Ambas as tortas promoveram aumento da atividade microbiológica resultando na mudança dos n-alcanos oriundos do óleo contaminante;
- ✓ As tortas de mamona (PDS e TMC) elevam o pH do solo, o que favorece a disponibilidade de nutrientes;
- ✓ A torta de PDS elevou o pH do solo a uma faixa ótima para os nutrientes primários, alcançando resultados melhores que a torta de mamona comercial;
- ✓ Os altos teores de Na encontrados na torta de PDS podem alterar/inibir a microbiota do solo; e
- ✓ Os teores de Na encontrados na torta de PDS podem limitar a adição desta em processos de bioestimulação da microbiota do solo.

## **CAPÍTULO III**

### **4 USO DA TORTA DE PDS NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO NO SOLO E NO CRESCIMENTO DE OLEAGINOSAS**

#### 4.1 RESUMO

A torta de mamona gerada no processo de produção de biodiesel direto da semente (torta de PDS) pode ter aplicabilidade em processos de remediação de áreas impactadas pela exploração petrolífera por estimular a microbiota do solo, aumentando a sua capacidade de degradar hidrocarbonetos de petróleo, fornecendo nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento. Concomitantemente, ela pode também disponibilizar elementos essenciais ao crescimento vegetal, além de promover relações sinérgicas entre as plantas e a diversificada microbiota presente no solo, acelerando o processo de biorremediação de contaminantes orgânicos. Para tanto, foi proposto neste trabalho um ensaio em casa de vegetação onde plantas de *Ricinus communis* L. (mamona) e *Helianthus annuus* L. (girassol) foram utilizadas como indicador a partir da avaliação do seu crescimento (altura e massa seca de parte aérea e raiz), e do acúmulo de macronutrientes na parte aérea, em substrato arenoso não contaminado e contaminado com óleo bruto (4%) sob diferentes doses da torta de PDS. Além disto, buscou-se também identificar o potencial destas espécies de plantas, com reconhecida aptidão para crescerem sob condições de clima tropical, em processos de remediação de solos contaminados por poluentes orgânicos. Também se avaliou o efeito da adição das doses crescentes da torta na fertilidade do solo nos dois ambientes testados (contaminado e não contaminado), através da avaliação de variáveis como o pH, H<sup>+</sup>Al, Na, Ca, Mg, P e K. Os resultados mostraram que as plantas de girassol obtiveram as melhores respostas em incremento de massa verde e acúmulo de macronutrientes nos dois níveis de contaminação. Ao final do experimento foi feita uma contagem dos micro-organismos e avaliadas as mudanças na composição dos n-alcanos nos substratos contaminados onde as plantas cresceram. As parcelas que continham girassol responderam pelas mudanças mais significativas na composição dos n-alcanos e, em se tratando da atividade microbiana o aumento das doses de torta de PDS não influenciaram na população de fungos em ambos os substratos onde cresceram as oleaginosas. Não ocorreram mudanças na classe de fertilidade do solo utilizado como substrato (horizonte A de Planossolo), onde cresceram plantas de girassol e mamona. Entretanto, a adição de torta manteve estável o pH do solo, mesmo durante o plantio, contribuindo para que os nutrientes se mantivessem prontamente disponíveis para as plantas ao longo do experimento.

**Palavras chave:** Fitorremediação. Espécies oleaginosas. Micro-organismos.

## 4.2 ABSTRACT

The castor bean cake generated in the production of biodiesel directly from seeds (PDS cake) may have application in procedures for remediation of contaminated sites by petroleum exploitation by stimulating soil microorganisms, increasing their ability to degrade petroleum hydrocarbons, providing essential nutrients to their development. Accordingly, it can also provide essential elements to plant growth, and promote synergistic relationships between plants and diverse microorganisms in the soil, accelerating the bioremediation process of organic contaminants. Thus, it was proposed in this study a preliminary test in a greenhouse where *Ricinus communis* L. (castor bean) and *Helianthus annuus* L. (sunflower) plants were used as indicator from their development assessment (height and dry weight of stem, leaves and root), and the accumulation of nutrients in stem and leaves, in sandy soil uncontaminated and contaminated with crude oil (4%) under different doses of the PDS cake. Moreover, it was also necessary to identify the potential of these species, with acknowledged ability to grow under tropical climate conditions, in processes of remediation of soils contaminated by organic pollutants. Also, it was evaluated the effect of addition of increasing doses cake in soil fertility in the two tested environments (contaminated and uncontaminated), by parameter evaluations such as pH, H + Al, Na, Ca, Mg, P and K contents. The results showed that sunflower plants achieved the best results in increase of green mass and accumulation of nutrients in the two levels of contamination. At the end of the experiment the microorganisms were quantified and the changes in the composition of n-alkanes in the contaminated substrates where the plants grew were evaluated. The parcels containing sunflower were responsible for the most significant changes in the n-alkanes composition and, in the case of microbial activity, the increased doses of PDS cake did not influence the fungi population in both soil where oilseeds grew. There were no changes in the class of soil fertility used as substrate (A horizon from a Fragiudult soil), where *Ricinus communis* L. and *Helianthus annuus* L. grew. However, the addition of cake kept the soil pH stable, even during planting, so that the nutrients were readily available for plants along the experiment period.

**Key words:** Phytoremediation. Oilseed species. Microorganisms.

### 4.3 INTRODUÇÃO

Mesmo com o incremento dos agrocombustíveis na matriz energética brasileira e mundial, o petróleo e seus derivados ainda ocupam lugar de destaque na fonte primária de energia e consumo do planeta. Suas atividades, em especial, a exploração, o refino e o transporte, ao mesmo tempo em que se tornaram imprescindíveis para o crescimento do país e da humanidade de uma maneira geral, são potencialmente poluidoras, além de contribuírem de forma direta e/ou indireta para o aumento do efeito estufa e, por conseguinte para o aquecimento global.

A busca por novas fontes energéticas tenta conciliar o desenvolvimento sustentável com a menor geração possível de resíduos, trazendo consigo desafios cada vez maiores para pesquisadores e cientistas que buscam alternativas não só viáveis economicamente, mas também eficientes quando o assunto em pauta é a recuperação ambiental.

Uma forma de minimizar o impacto causado por atividades industriais é a utilização de resíduos ou a sua correta disposição. Com a produção de biodiesel não é diferente e o que se busca é dar um destino mais nobre para as diferentes tortas de oleaginosas geradas quando da sua produção em larga escala.

Por outro lado, sabendo que a fitorremediação é um processo de biorremediação em que plantas são utilizadas para descontaminar áreas contaminadas por metais pesados e poluentes orgânicos, e que a interação dessas espécies vegetais com os micro-organismos do solo pode contribuir para uma degradação mais rápida e eficaz dos contaminantes, aliado ao fato de serem técnicas de baixo custo, onde a maior parte da energia gasta no processo é a solar, através da fotossíntese, pode-se preconizar que o uso desta interação em conjunto com resíduos, possa ser ecologicamente e economicamente viável.

A idéia de se utilizar um material que possa fornecer nutrientes essenciais ao desenvolvimento não só das plantas, mas também dessa microbiota - no presente caso a torta de PDS - se faz perfeitamente possível quando se caracteriza este material e se fazem escassos testes do seu real potencial de uso.

Este trabalho visa, portanto, dar uma contribuição nessa escala de testes e teve como objetivo verificar o efeito da contaminação causada por hidrocarbonetos de petróleo na microbiota do solo e no desenvolvimento de espécies oleaginosas submetidas à diferentes doses de torta de PDS. Além disso, procurou-se também avaliar o uso de plantas de mamona e girassol em processos de biorremediação de solos contaminados por derivados de petróleo.

## 4.4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.4.1 A contaminação por petróleo e seus efeitos no solo e nas plantas

O efeito dos hidrocarbonetos de petróleo na inibição do crescimento das plantas, particularmente no crescimento das raízes é relatado por inúmeros autores (CURRIER & PEOPLES, 1954; XU & JOHNSON, 1995). Além desse sintoma na produção da biomassa do sistema radicular, a mudança na estrutura morfológica das raízes de algumas espécies tem sido demonstrada, principalmente com a redução nos valores de comprimento e área específica (metros e m<sup>2</sup> grama<sup>-1</sup> de raízes), em consequência do aumento de diâmetro das raízes (engrossamento) (MERKL et al., 2005). Consequentemente haverá menor absorção de nutriente e menor crescimento da parte aérea (ZONTA et al., 2006).

As condições da umidade do solo, por sua vez, são alteradas sob a contaminação com óleo, devido a sua natureza hidrofóbica. A água em contato com o petróleo se espalha, e a deficiência de água pode ser uma consequência da poluição devida alterações na permeabilidade do solo (BRASIL, 2005).

A temperatura do solo também pode ser afetada consideravelmente no solo contaminado com óleo. Isto é devido a uma maior absorção de radiação solar, e consequentemente pode afetar o crescimento radicular com o aumento da temperatura do solo (BOWEN, 1991), principalmente nos trópicos onde as máximas temperaturas na superfície do solo atingem com frequência valores superiores a 40 ° C.

PETUKHOV et al. (2000), citado por MARANHÃO et al. (2006) relataram os efeitos tóxicos provocados pela contaminação do solo e da água em plantas de aveia (*Avena sativa* L.), centeio (*Secale cereale* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.). Segundo estes autores, ocorreram efeitos negativos na germinação de sementes e diminuição da biomassa total e do comprimento de raízes. Ainda de acordo com os mesmos autores essas plantas poderiam ser utilizadas como plantas testes para medir a toxicidade destes poluentes na água e no solo.

A remediação de áreas contaminadas é uma exigência legal e um compromisso social que precisam ser executados, criando demandas tecnológicas, oportunidades de pesquisa científica e possibilidades de negócios. Ela pode ser conseguida empregando-se inúmeras tecnologias que envolvem processos químicos ou físicos que são, em geral, tecnicamente difíceis e de custos elevados. Dentre as inúmeras tecnologias para remediação de solos contaminados, e, entre as que aplicam métodos biológicos, destacam-se a biorremediação e a fitorremediação, como opções para promover a desintoxicação do local ou a remoção de elementos contaminantes do solo (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). As técnicas físicas e químicas em geral são bastante onerosas e a indústria do petróleo tem procurado técnicas biológicas, com menor custo por unidade de área remediada e ecologicamente mais corretas (ANDRADE et al., 2007).

### 4.4.2 A fitorremediação

Além de a biomassa vegetal representar 99 % da biomassa viva do planeta terra e um valor 100 vezes superior a biomassa de microorganismos, as plantas estão envolvidas em numerosos processos que tem uma relação muito íntima com o destino dos resíduos químicos despejados no meio ambiente (NELESSEN & FLETCHER, 1993).

A utilização de plantas como agentes despoluidores (fitorremediação) tem despertado crescente interesse entre pesquisadores e técnicos que atuam na área ambiental. No Brasil sua utilização tem sido avaliada, inicialmente e principalmente, em solos contaminados com metais pesados (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). Porém, é uma tecnologia emergente com potencial para tratamento eficaz de uma larga escala de poluentes orgânicos e inorgânicos (ANDRADE et al., 2007).

Espécies de plantas podem ser selecionadas para extrair e assimilar ou extrair e quimicamente decompor os contaminantes. Muitos compostos químicos inorgânicos, considerados contaminantes ambientais, são, de fato, nutrientes vitais que podem ser absorvidos por meio do sistema de raízes das plantas para o seu crescimento e desenvolvimento. Metais podem ser absorvidos e bioacumulados nos tecidos das plantas (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000).

Testando plantas de mamona que tiveram seu desenvolvimento em hidroponia com a presença de Pb na solução nutritiva, ROMEIRO (2005), verificou um grande acúmulo de Pb nas raízes das plantas, demonstrando um alto nível de absorção e de acúmulo desse metal naquele órgão.

Por outro lado, o girassol, que é a quarta oleaginosa em produção de grãos no mundo (FAGUNDES et al., 2007), pode ter potencial para fitorremediação. De acordo com BOONYAPOOKANA et al. (2005), citado por ROMEIRO et al. (2007), estudando o potencial hiperacumulador para o Pb de girassol, tabaco e vetiver<sup>2</sup>, concluíram que as três plantas acumulam Pb nas folhas e nos caules, sendo a primeira a mais eficiente. GIORDANI et al. (2005), usando plantas de mamona, sorgo, espinafre, tomate, aveia, feijão e mostarda, na fitorremediação de um solo contaminado por níquel, verificaram que o espinafre e a mamona foram mais eficientes na remoção do níquel do solo.

Na Ucrânia, vem-se conseguindo extrair Césio e Estrôncio de pequenos lagos poluídos da região da usina nuclear de Chernobyl, desde 1996, com girassóis, cujas raízes retiram os radionuclídeos. Também já foram utilizadas plantas de mostarda indiana para descontaminação de chumbo do subsolo de uma fábrica, em New Jersey, EUA, as quais absorveram 75 % da pluma de contaminação (EPA, 1997).

O critério para a seleção de espécies para a fitorremediação deve levar em conta morfologia das raízes, principalmente com relação à densidade, comprimento, volume e grau de ramificação das raízes (GLICK, 2003). Mais precisamente, as aplicações da fitorremediação são específicas para cada caso, havendo condutas comuns. Devidamente adaptadas, algumas espécies vegetais podem extrair e assimilar ou extrair e quimicamente decompor várias substâncias presentes no solo. Metais pesados, como o chumbo e o mercúrio, são absorvidos e bioacumulados nos tecidos das plantas (PIECHALAK et al., 2002).

Compostos orgânicos, especialmente pesticidas, podem ser absorvidos e metabolizados pelas plantas, inclusive as árvores, de acordo com o exposto por NYER & PALMER (1997), sendo, porém escassos estes estudos.

Além disso, a região ao redor das raízes, a chamada rizosfera, é um ambiente propício para a proliferação de populações microbiológicas, naturais ou inoculadas, que incrementam a degradação de compostos orgânicos menos solúveis, como o ascarel (PCB) (EPA, 1997).

Assim, as tecnologias de fitorremediação podem ser desenvolvidas para diferentes aplicações na remediação do meio ambiente e são classificadas nos seguintes tipos: fitoextração, fitoestabilização, rizofiltração e fitodegradação.

A fitoextração ou fitoacumulação é a absorção do contaminante pelas raízes das plantas para o tronco e as folhas. Nesta situação, uma espécie ou uma combinação de espécies são selecionadas e plantadas em um sítio particular com base no tipo de metal presente e outras condições do sítio. Após algum tempo, depois que as plantas cresceram, elas podem ser colhidas e incineradas ou compostadas para o reciclo dos metais e compostos. Neste caso, metais como níquel, zinco e cobre, são bons candidatos para a remoção, por fitorremediação, em virtude de se conhecer grande número de espécies de plantas que absorvem preferencialmente esses metais.

---

<sup>2</sup> Vetiver (*Vetiveria zizanoides*) é uma planta aromática representante da família Poaceae, conhecida por se adaptar sob diversos tipos de solo e umidade e que é característica do norte da Índia.

A fitoestabilização usa plantas para limitar a mobilidade e biodisponibilidade de metais em solos. As plantas usadas devem ser capazes de tolerar altos níveis de metais e imobilizá-los no solo por precipitação, complexação ou redução de valências (EPA, 1997).

A rizofiltração é principalmente utilizada com água contaminada. Similar a fitoextração, porém as plantas utilizadas apresentam raízes que desenvolvem um sistema radicular com grande área de contato. Quando as raízes tornam-se saturadas com os contaminantes, as plantas são coletadas e trocadas para a continuação da remediação. Uma vegetação, em região contaminada, pode influenciar na força hidráulica do aquífero e controlar a migração da pluma de contaminação para a superfície ao extrair a água subterrânea. Para conseguir aproveitar esse efeito de bombeamento natural, usam-se árvores com raízes profundas, cujas raízes alcançam 30m ou mais e absorvem de 200 a 2000 L de água por dia, como o *choupo* do Canadá (EPA, 1997).

Por sua vez a fitodegradação ou biodegradação é o processo cujas plantas são capazes de degradar poluentes orgânicos. Em alguns casos, os poluentes degradam em simples moléculas que são usadas para o crescimento da planta. Essas plantas contêm enzimas que quebram substâncias orgânicas, como o tricloroetileno (TCE) e alguns herbicidas, e os fragmentos são incorporados para uso da planta.

Também ocorre a biodegradação na rizosfera, que é um processo mais lento que a fitodegradação, onde certos micro-organismos podem digerir substâncias orgânicas como combustíveis e solventes (EPA, 1997). A região ao redor das raízes é ambiente propício para a proliferação de populações microbianas naturais ou inoculadas, que degradam compostos orgânicos para a sua nutrição e obtenção de energia.

#### **4.4.3 Fitorremediação de solos contaminados por petróleo**

No Brasil, recentemente, iniciaram-se as pesquisas com solos contaminados com petróleo e derivados de petróleo (MORENO & CORSEUIL, 2001). Nos Estados Unidos a fitorremediação tem mostrado a sua eficácia em estudos de escala piloto e de campo onde se mostrou bastante adequada para o tratamento de locais cuja contaminação esteja localizada em pequenas profundidades (<5m profundidade). Seja por poluentes orgânicos moderadamente hidrofóbicos (benzeno, tolueno, xileno, solventes clorados, pesticidas, resíduos de armamentos), ou por nutrientes em excesso (nitratos, amônia e fosfato), ou ainda por metais tóxicos e radionuclídeos (Hg, Pb, Cd, Zn e Cs) (SCHNOOR et al., 1995).

Quanto à aplicação da tecnologia, a fitorremediação de contaminantes orgânicos é focada em três classes de compostos: solventes clorados, explosivos e hidrocarbonetos do petróleo. Entretanto, algumas pesquisas têm sido realizadas quanto ao potencial das plantas para a remediação de outros contaminantes, incluindo hidrocarbonetos aromáticos polinucleares e bifenilas policloradas (PCBs) (EPA, 1997; ALKORTA & GARBISU, 2001).

De acordo com ANDRADE et al. (2007), a fitorremediação vem sendo utilizada com um especial destaque em casos de poluição por derivados de petróleo, pois no mundo moderno, um enorme volume desses compostos é produzido, industrializado, transportado e consumido, constituindo um grupo de grande incidência na contaminação ambiental.

Visando a maximização da utilização da fitorremediação para áreas contaminadas, devem ser incentivados novos estudos para a identificação das principais espécies fitorremediadoras e seus mecanismos de atuação, principalmente de espécies tropicais para uso no Brasil, uma vez que grande parte dos trabalhos é realizada com espécies de clima temperado.

Assim, existe no Brasil uma perspectiva francamente favorável ao crescimento da demanda por tecnologias de remediação ambiental, entre as quais a fitorremediação, que deverá despontar em muitas situações pela viabilidade técnica e econômica de sua aplicação.

#### **4.4.4 Interações microbiológicas**

A rizosfera é um habitat mutável, sendo que a sua composição e a sua estrutura são influenciadas durante o ciclo vegetativo. Suas dimensões também são determinadas pelo tipo, composição e umidade do solo. A planta pode modificar as características químicas do solo nas proximidades de suas raízes através dos fragmentos descascados da superfície das raízes e dos exsudatos radiculares solúveis, enriquecendo o solo com uma variedade de compostos orgânicos. Ainda, o consumo de O<sub>2</sub> e liberação de CO<sub>2</sub>, a absorção seletiva de íons nutritivos e a absorção de H<sub>2</sub>O modificam a rizosfera (ZONTA et al, 2006).

Os exsudatos radiculares contêm uma miscelânea de compostos como açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos, vitaminas e outros compostos biologicamente ativos, sendo que a composição dos exsudatos sofre mudanças em várias fases do desenvolvimento da planta. Os exsudatos difundem até distâncias distintas através do meio adjacente, representando um nicho bastante atraente para os micro-organismos, onde os mais diversos tipos de interações podem ser observadas entre estes e as plantas, assim como entre os diversos membros da microbiota (CARDOSO & FREITAS, 1992; ZONTA et al, 2006).

Os métodos biológicos de remediação baseiam-se no fato de que os micro-organismos têm a possibilidade de metabolizar compostos químicos e tanto o solo quanto as águas subterrâneas contêm elevado número de micro-organismos que gradualmente se adaptam às fontes de energia e de carbono disponíveis. As técnicas de biorremediação usando plantas e micro-organismos têm sido amplamente utilizadas na recuperação de solos contaminados com óleo cru, porque transformam, através de processos naturais, esses compostos em substâncias inócuas. No entanto, o grau de descontaminação irá depender da natureza e concentração do poluente presente, assim como as características do solo (AUTRY & ELLIS, 1992; DEL'ARCO, 1999; ADENIYI & AFOLABI, 2002; MILLIOLI, & OLIVEIRA, 2005).

A literatura menciona basicamente três mecanismos envolvidos na fitorremediação de poluentes orgânicos: a) absorção direta de contaminantes e subsequente transformação e acumulação de metabólitos não-fitotóxicos nos tecidos da planta; b) estimulação da atividade microbiana e de transformações bioquímicas na rizosfera através da liberação de exudatos e enzimas; e c) intensificação da mineralização na interface solo-raiz provocada pela associação simbiótica de fungos micorrízicos e colônias de bactérias nas raízes (ANDERSON & WALTON, 1995; SCHNOOR et al., 1995; NYER e GATLIFF, 1996).

## 4.5 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos, do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sendo utilizado exclusivamente o resíduo gerado pela indústria produtora de Biodiesel de Guamaré, RN, a saber: torta de mamona proveniente do processo de produção direta de biodiesel (Torta de PDS). Esta premissa foi fortalecida e consolidada, com base nos resultados obtidos nas fases preliminares de trabalho, descritos e discutidos nos capítulos I e II desta dissertação.

Foram utilizados para o acondicionamento das plantas e do substrato, vasos confeccionados a partir de vidros do tipo “âmbar” de capacidade igual e conhecida a 1L. Para tal, os vidros tiveram suas bases retiradas por um processo manual de corte localizado e direto por aquecimento, com filamento resistente a passagem de energia elétrica. Cada vaso recebeu uma amostra de terra da camada superficial de um Planossolo previamente identificado e caracterizado (VER CAPÍTULO II). Foram dispostas espumas nos gargalos dos vidros para evitar perda do substrato. O volume de substrato utilizado em cada vaso foi igual e conhecido, de 0,9 dm<sup>3</sup> das amostras de terra, que foram previamente corrigidas, por meio de curva de incubação para que o pH do solo chegasse a 6,5.

O solo recebeu uma adubação de N e P, suficiente para elevar a relação C:N:P para 100:10:1, de acordo com o proposto por DEUEL & HOLLIDAY (1997). A adubação potássica foi feita com base na análise do solo, de acordo com ALMEIDA et al. (1988), para cada espécie avaliada.

### 4.5.1 Tratamentos

O experimento em delineamento em blocos ao acaso, consistiu de 12 tratamentos em esquema fatorial, sendo estes a combinação de duas espécies de plantas oleaginosas, a mamoneira (*Ricinus communis* L.) e o girassol (*Helianthus annuus* L.), cultivadas em dois níveis de contaminação (0 e 4%) e seis doses crescentes (0, 5, 10, 20, 40, 80 Mg. ha<sup>-1</sup>) de torta de PDS, com 3 repetições cada (Tabela 17).

Para contrastar os tratamentos propostos foram elaboradas duas testemunhas, designadas de “branco absoluto” (mesmo solo, sem plantas e sem dose alguma de torta e do óleo contaminante) e “branco” (mesmo solo, sem plantas, sem torta e com óleo contaminante 4%), também com 3 repetições cada, totalizando 78 unidades experimentais.

Durante o experimento as condições ambientais foram controladas automaticamente, de forma que a temperatura média foi de 30±5°C e da umidade relativa do ar de 70±20%, visando assim não submeter às plantas a nenhuma situação de estresse para esses fatores.

**Tabela 17.** Tratamentos utilizados no experimento em casa de vegetação.

Tratamento	Torta	Óleo	Dose da torta de PDS (Mg ha <sup>-1</sup> )	Espécies
Branco Absoluto	Sem torta	Sem óleo	0	Nenhuma
Branco	Sem torta	Contaminado 4% óleo	0	Nenhuma
1			0	
2			5,00	
3		Sem óleo	10,0	<i>Ricinus communis</i> L.
4			20,0	
5			40,0	
6			80,0	
7	Torta de PDS		0	
8			5,00	
9		Contaminado (4% óleo)	10,0	<i>Helianthus annus</i> L.
10			20,0	
11			40,0	
12			80,0	

#### 4.5.2 Coleta e preparo do solo

O substrato, proveniente do horizonte superficial de um Planossolo (Figura 4), foi coletado próximo ao setor de bovinocultura de leite da UFRRJ, e foi o mesmo utilizado e já caracterizado nos experimentos de laboratório descritos no capítulo II. Depois de coletado, quando o volume total de solo foi homogeneizado, três amostras compostas foram peneiradas em malha de 4 mm e analisadas de acordo com os procedimentos do Manual de Métodos de Análises de Solos (EMBRAPA/CNPS, 1997).

As amostras de terra utilizadas foram incubadas com doses crescentes de calcário com a finalidade de obter pH 6,5. Para a incubação das amostras foram utilizados 200 gramas de terra que foram peneiradas em malha de 4 mm, sendo condicionados em copos plásticos, onde foram adicionadas doses crescentes de CaCO<sub>3</sub>, a saber, equivalentes a 0,0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,4 e 12,8 Mg CaCO<sub>3</sub> ha<sup>-1</sup>, e mantidos com umidade em 70% da sua capacidade de campo. O pH foi determinado nos intervalos de 2, 4, 8, 16, 32 dias. A dose de CaCO<sub>3</sub> utilizada para elevar o pH a 6,5 foi de 1,88 Mg . ha<sup>-1</sup>.

Assim, antes do acondicionamento nos vasos, 50 kg do solo foi incubado por 30 dias a 70% da capacidade de campo, e ao abrigo da luz, com a dose previamente determinada de calcário dolomítico (78% PRNT), e só depois então, acondicionado nos vasos, quando enfim cada unidade experimental recebeu a devida dose de torta de PDS, que foi homogeneizada com o volume total do solo. Foram corrigidos todos os tratamentos propostos, com exceção do branco absoluto (Tabela 17).

#### 4.5.3 Contaminação do solo e semeio das espécies

A contaminação do solo foi feita no momento de preenchimento dos vasos com o auxílio de uma bomba, sendo realizada a dispersão do contaminante sobre o solo já contido no vaso, de forma a simular um vazamento ou derrame de óleo. Foram utilizadas 5 sementes por vaso, com a pretensão de se deixar apenas uma planta em cada unidade experimental (UE). O semeio foi realizado 15 dias após a contaminação do solo e as sementes foram colocadas

aproximadamente a 5 cm de profundidade, exatamente na divisão entre a camada formada pelo contaminante, que nesses primeiros 15 dias não percolou ao longo do vaso (Figura 13).



**Figura 13.** Vasos utilizados no experimento em casa de vegetação (vidros tipo âmbar) à esquerda (A), e detalhe da camada de cerca de 5 cm de óleo contaminante que se formou 15 dias antes do plantio sem percolar, à direita (B), para cultivo de girassol e mamoneira sob diferentes doses de torta de PDS.

#### 4.5.4 Coleta e análise das plantas

Aos 60 dias após semeadura, as plantas foram coletadas e segmentadas em parte aérea e raiz. Também foram feitas determinações fenológicas (biometria) durante o crescimento das espécies. A parte aérea e as raízes das espécies foram pesadas após secagem em estufa de ventilação forçada de ar (65°C até peso constante).

Após estas determinações a parte aérea do material vegetal coletado, foi moída para realização das análises químicas. A partir do extrato obtido após a digestão sulfúrica foram determinados os teores de Ca e de Mg, por espectrofotometria de absorção atômica e de K por fotometria de chama. O teor de P foi determinado por colorimetria. As metodologias seguidas foram propostas por TEDESCO et al. (1995).

O sistema radicular foi removido de forma manual do solo, a fim de evitar perda de raízes secundárias. As raízes foram então imediatamente lavadas em um sistema de tanques de flotação com peneiras de 2 mm acopladas para separação das partículas de solo aderidas ao sistema radicular. Após esse processo as raízes foram acondicionadas em sacos de papel e também postas para secar em estufa de ventilação forçada de ar (65°C) até atingir peso constante, para determinação de massa seca de raízes (MSRA).

#### 4.5.5 Análise do solo

Na ocasião da coleta das plantas 60 dias após o plantio, uma amostra representativa da terra de cada unidade experimental, foi também coletada para determinação dos seguintes atributos: P e K disponíveis (extrator Mehlich 1); Ca, Mg e Al trocáveis (extrator KCl), pH e  $C_{\text{orgânico}}$  (EMBRAPA, 1997). Atributos como saturação por alumínio, soma de bases, saturação por sódio e CTC, foram calculados posteriormente.

Os parâmetros de classe de fertilidade foram comparados com as recomendações postuladas por ALMEIDA et al., (1988) e, para cálcio e magnésio, por RIBEIRO et al. (1999).

#### 4.5.6 Monitoramento de atenuação dos totais de hidrocarbonetos de petróleo

A determinação da concentração do total de hidrocarbonetos de petróleo no solo foi realizada no laboratório da Analytical Solutions, no Rio de Janeiro e usou como referência a técnica de cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a um espectrofotômetro de massas, de acordo com a metodologia EPA 8015B da Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA, 2005).

A coleta ocorreu ao final dos 60 dias de experimento, quando da coleta das plantas, e utilizou-se amostras contaminadas de 100 g de solo, que foram acondicionadas em recipientes de vidro e imediatamente colocadas na geladeira para posterior envio ao laboratório.

#### **4.5.7 Avaliação da quantificação microbiana**

A diversidade microbiana foi avaliada tomando-se alíquotas de 10 g de solo que foram suspensas em 90 mL de solução de NaCl 0,85%. Após forte agitação e decantação, utilizaram-se diluições  $10^{-3}$  a  $10^{-7}$  para UFC de fungos,  $10^{-5}$  a  $10^{-9}$  para bactérias e  $10^{-4}$  a  $10^{-8}$  para actinomicetos. O meio de cultura utilizado para bactérias foi agar nutriente (NA), para fungos o meio de Martin (MM) e para actinomicetos, o meio de caseína.

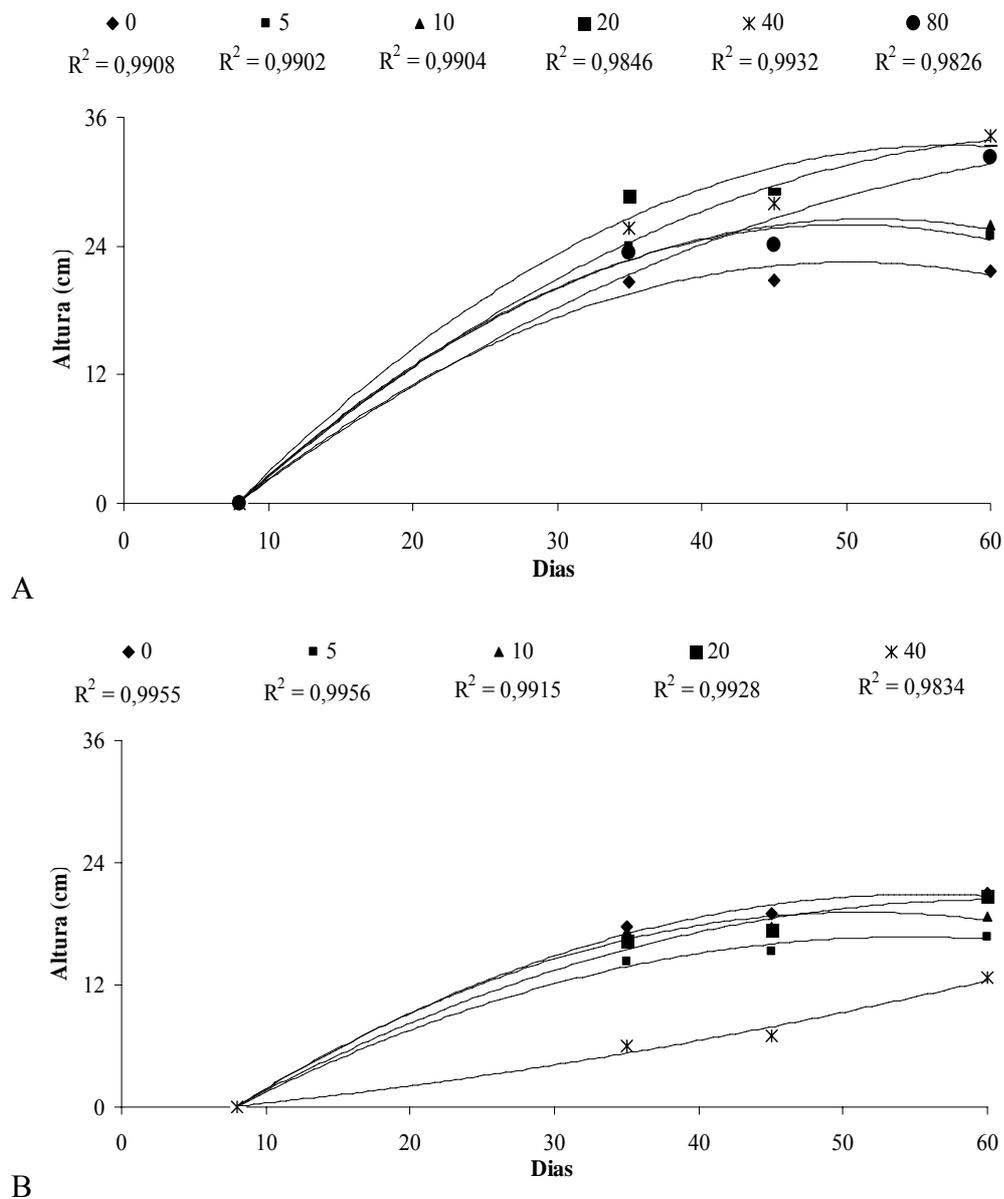
O plaqueamento foi feito com alíquotas de 0,1 mL das respectivas diluições, transferidas para os tubos de cultura contendo 0,9 mL de meio de cultura específico para cada microrganismo. Posteriormente foram retirados 40  $\mu$ L desta solução, que foram plaqueados em forma de gotas, com 5 repetições para cada diluição e micro-organismos. As placas de Petri foram incubadas em estufas a 28° C por 72h. A leitura se baseou na presença ou ausência de unidades formadoras de colônias (UFC) sobre cada gota, a partir das quais foi obtido o NMP calculado pela Tabela de Mc Crady (PELCZAR et al., 1980).

A análise estatística dos dados se deu com a avaliação do efeito da contaminação sob cada espécie e foi validado pelo teste de *Duncan* a 5% de probabilidade. O efeito do tempo descrito por meio de modelos (lineares ou não lineares) para cada espécie, sendo aquele gerado para o solo contaminado comparado com o gerado para solo não contaminado. Foi utilizado o pacote estatístico SAEG 5.0.

## 4.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.6.1 Fenologia e absorção de nutrientes em plantas de mamona

Dados biométricos das plantas de mamona foram obtidos ao longo do experimento, após a emergência das plântulas (cerca de dez dias após o semeio das sementes em intervalos aproximados de duas semanas). A Figura 14 mostra as curvas de crescimento destas plantas durante o experimento em casa de vegetação. Observa-se uma menor redução na altura final das plantas, bem como durante todo o ciclo, para as plantas de mamona que cresceram em ambiente de contaminação (Figura 14).

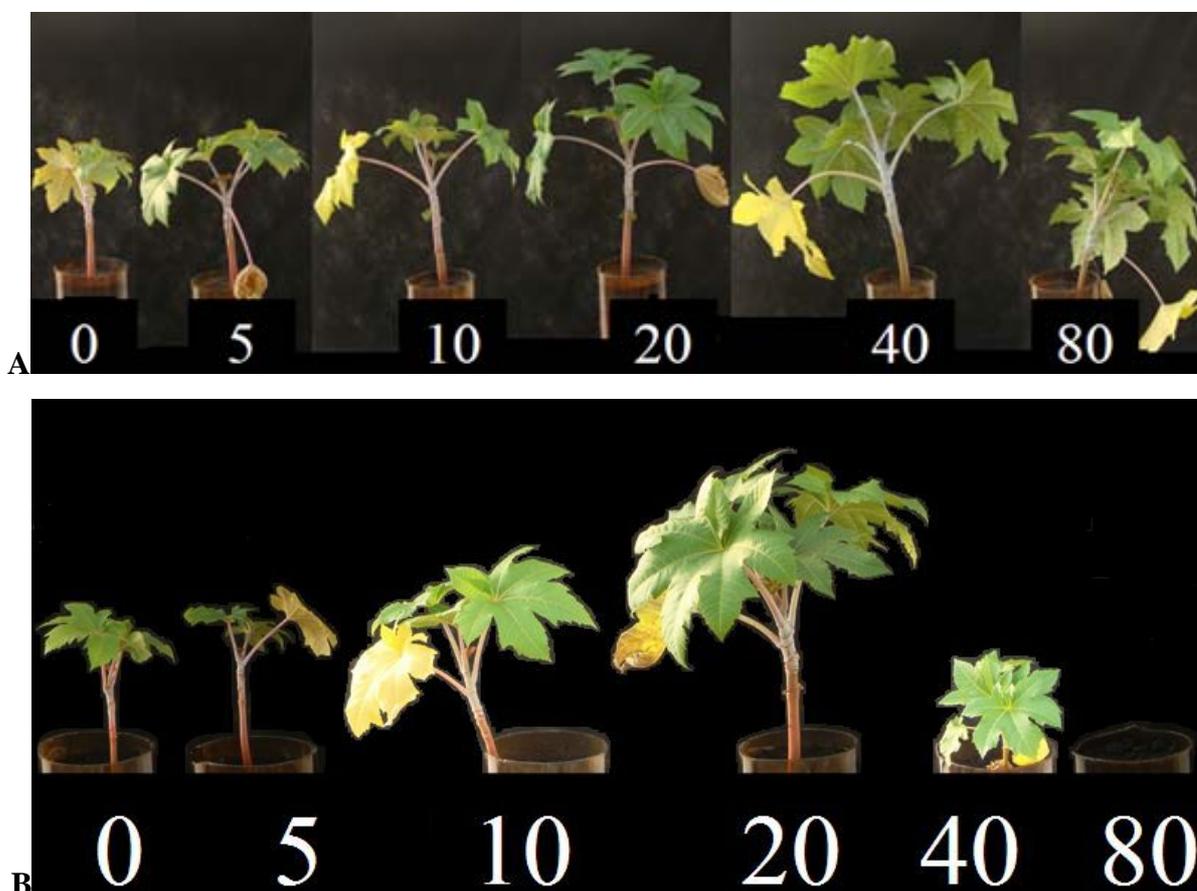


**Figura 14.** Altura de plantas de mamona submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B).

Plantas de mamona com 60 dias após o plantio, na ocasião da colheita, são mostradas na Figura 15. Observa-se que o aumento da dose de torta de PDS influenciou exponencialmente o crescimento da mamona até a dose de torta equivalente a 40 Mg.ha<sup>-1</sup>, quando então, ocorreu um decréscimo daquelas que estavam submetidas aos tratamentos com dose de torta de PDS igual a 80 Mg.ha<sup>-1</sup>.

A Figura 15 mostra também, de forma comparativa, as plantas que cresceram em solo com óleo contaminante. Apenas os tratamentos com dose de torta igual a 10 e 20 Mg.ha<sup>-1</sup> diferiram visualmente dos outros em relação ao crescimento. O tratamento com dose igual a 80 Mg.ha<sup>-1</sup> de torta de PDS teve perda total de plantas.(Figura 15). Independentemente dos níveis de contaminação, aquelas que receberam a maior dose da torta 80 Mg.ha<sup>-1</sup>, não foram as que apresentaram maior altura e crescimento.

Visualmente, pode-se afirmar que em solo não contaminado, a dose de 40 Mg.ha<sup>-1</sup> foi a que apresentou maior crescimento ao final de experimento, e, em solo contaminado foram as plantas que receberam dose de torta igual a 20 Mg.ha<sup>-1</sup> (Figura 15).



**Figura 15.** Plantas de mamona cultivadas sob doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B), ao final de 60 dias de experimento em casa de vegetação.

Os resultados das análises de crescimento realizadas nas plantas de mamona foram sempre comparados entre aquelas que cresceram na presença do óleo e aquelas que cresceram na ausência do óleo contaminante. Para o peso de matéria seca da parte aérea (Figura 16A), as plantas não submetidas ao contaminante tiveram diferença significativa no incremento de massa verde a partir da dose 5 Mg.ha<sup>-1</sup> até 40 Mg.ha<sup>-1</sup> quando comparadas com aquelas que cresceram sem a presença do contaminante. Não ocorreu diferença para o tratamento que não

recebeu dose de torta ( $0 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). A maior dose do produto avaliado ( $80 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) obteve o menor incremento de massa seca da parte aérea para todos os tratamentos avaliados.

A baixa resposta em relação à maior dose aplicada de torta de PDS ( $80 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) pode ser explicada pela presença de sódio em concentrações elevadas (Tabela 7), o que pode ter inibido o crescimento vegetativo e provavelmente a menor produção de massa seca da parte aérea. Em algumas espécies de plantas, o Na é considerado elemento benéfico, enquanto para a maioria das espécies é normalmente tóxico em altas concentrações (KORNDORFER, 2006).

LIMA et al, (2006), avaliando casca e torta de mamona, da produção convencional de biodiesel, como fertilizante orgânico nas doses de 0, 5, 1,0, 1,5 e  $2 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  para produção de mudas de mamoneira, verificaram que a torta de mamona aumentou todas as características de crescimento, de forma proporcional à dose. Neste caso a resposta foi proporcional até a dose de  $40 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de torta de PDS em substrato não contaminado (Figura 16A). O mesmo aconteceu para o girassol, e que será discutido no próximo item e mostrado na Figura 19A.

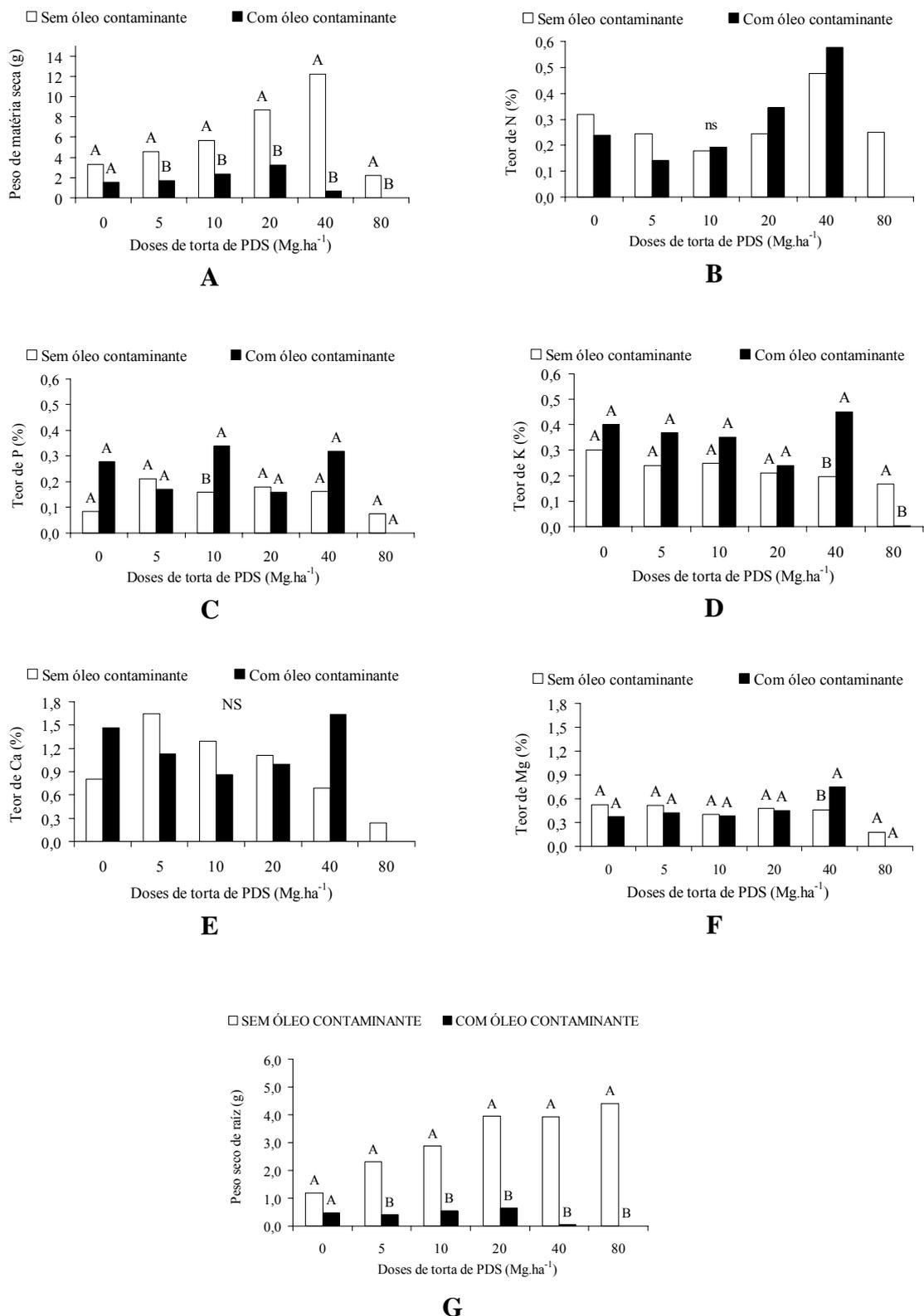
Para o teor de nitrogênio não houve diferença significativa entre as plantas crescidas em substrato contaminado ou não, e na dose de  $40 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  as plantas apresentaram os maiores teores desse elemento (Figura 16B). Para fósforo, não foi possível correlacionar o aumento das doses com o teor encontrado na parte aérea, não ocorrendo inclusive diferença significativa entre as plantas crescidas ou não na presença do contaminante, com exceção apenas para o tratamento  $10 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  (Figura 16C). Neste tratamento o acúmulo foi maior nas plantas que cresceram em solo contaminado com óleo 4%. Quanto ao potássio foi observado o mesmo comportamento encontrado para o P, não havendo relação entre os teores de K nas plantas de mamona e o aumento das doses de torta de PDS, havendo apenas diferença estatística nas plantas que receberam doses equivalentes a  $40 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  (Figura 16D). Também, de forma semelhante ao encontrado para o P, as plantas que cresceram no substrato contaminado com óleo bruto, mostraram maiores teores de K.

As análises dos teores de cálcio revelaram também não haver correlação com as doses, não sendo então possível afirmar que o aumento da dose de torta de PDS influenciou na absorção desse elemento por essas plantas. Também não ocorreu significância para o Ca entre as plantas que cresceram com e sem óleo, de acordo com o teste Duncan a 5% (Figura 16E).

Os teores de magnésio nas plantas foram semelhantes nos tratamentos (com e sem torta), e, não foram significativos quando comparadas plantas que cresceram na presença do contaminante com aquelas que cresceram na ausência deste, exceção apenas para o tratamento com dose de torta de PDS equivalente a  $40 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  (Figura 16F), onde as plantas que estavam submetidas ao tratamento com recebeu óleo bruto a 4% tiveram os maiores teores de Mg.

A avaliação do peso seco de raiz das plantas de mamona mostrou considerável declínio quando comparadas com aquelas submetidas ao óleo contaminante e as que cresceram num ambiente não contaminado. A quantidade de matéria seca de raiz produzida por plantas que estavam no solo com óleo foi bastante inferior às plantas que não possuíam ambiente contaminado, ficando evidente que existiu relação direta entre essa variável avaliada e a presença do contaminante, independente da quantidade de torta aplicada (Figura 16G).

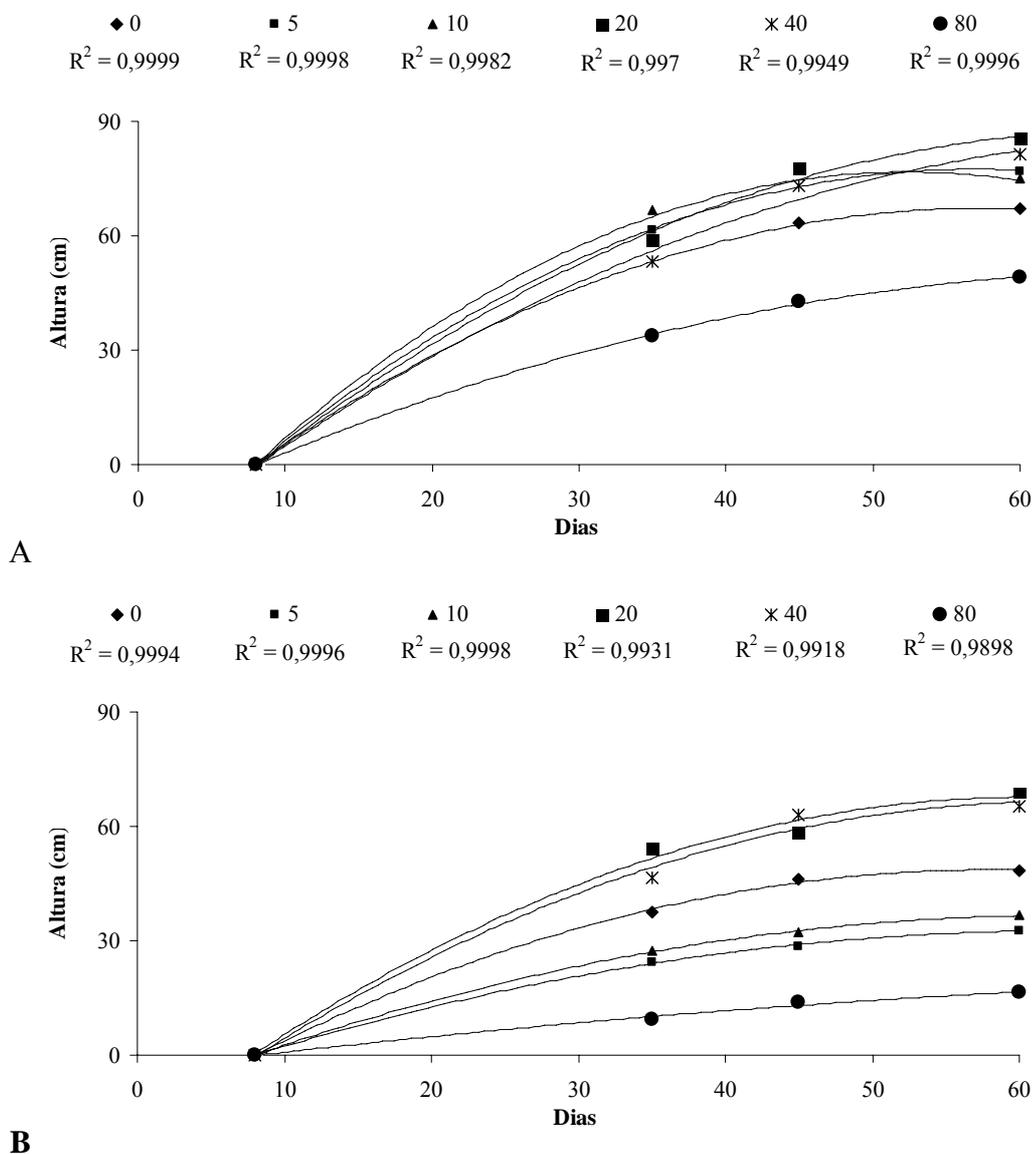
Ao observarmos apenas a quantidade de matéria seca de raiz produzida pelas plantas de mamona que cresceram sem a presença do contaminante pode-se afirmar que há uma correlação linear e direta entre o aumento das doses de torta de PDS com o aumento da quantidade de matéria seca produzida pelas plantas de mamona (Figura 16G).



**Figura 16.** Peso de matéria seca e teores de N, P, K, Ca e Mg da parte aérea e peso seco de raiz de plantas de mamona submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (colunas em branco) e contaminado com óleo bruto a 4% (colunas em preto). Colunas com letras diferentes para uma mesma dose diferem entre si pelo teste de Duncan (5%).

#### 4.6.2 Fenologia e absorção de nutrientes em plantas de girassol

O efeito do óleo contaminante no crescimento de plantas de girassol pode ser observado na (Figura 17). Como ocorrido com as plantas de mamona, as de girassol que cresceram sem a presença do óleo superaram em todos os tratamentos aquelas que foram submetidas ao óleo contaminante.



**Figura 17.** Altura de plantas de girassol submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B).

A Figura 18 mostra as plantas de girassol no momento da colheita, 60 dias após o plantio. Com o aumento das doses de torta de PDS, aumentou também o incremento do crescimento e também o ganho em altura (Figura 18 e Figura 17, respectivamente), ao passo que as plantas submetidas ao óleo bruto, num nível de contaminação igual a 4% (Figura 18.), não mostraram a mesma relação de aumento linear com o aumento das doses de torta. Percebe-se que tanto nestas plantas – crescidas em ambiente contaminado – quanto naquelas não submetidas ao efeito do óleo, que o tratamento com dose de torta de PDS igual a 80 Mg. ha<sup>-1</sup>, parece incrementar a altura das plantas. Essa observação foi verificada igualmente nas

plantas de mamona (Figura 15), com o agravamento de que aquelas que estavam em ambiente contaminado com óleo bruto nem germinaram.



**Figura 18.** Plantas de girassol cultivadas sob doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (A) e contaminado com óleo bruto a 4% (B), ao final de 60 dias de experimento em casa de vegetação.

O efeito semelhante das plantas de mamona e girassol ao final do experimento em relação à maior dose de torta de PDS aplicada ( $80 \text{ Mg. ha}^{-1}$ ) independentemente do nível de contaminação sugere que os teores de sódio encontrados na torta (Tabela 7), foram preponderantes não só na germinação, mas também no crescimento das plantas. Ainda assim as plantas de girassol parecem ter maior adaptação para o crescimento em ambiente adverso que as plantas de mamona.

O peso de matéria seca da parte aérea de plantas de girassol mostrou semelhança para o mesmo parâmetro avaliado nas plantas de mamona e houve diferença significativa entre as plantas que foram crescidas em substrato não contaminado e as que estavam submetidas ao

contaminante durante o experimento. O tratamento que obteve o maior acúmulo de matéria seca foi o que recebeu uma dose de torta de PDS igual a 40 Mg.ha<sup>-1</sup> (Figura 19A).

Para o teor de nitrogênio os tratamentos não diferiram estatisticamente (com e sem óleo contaminante), com destaque apenas para o tratamento com a maior dose de torta (80 Mg.ha<sup>-1</sup>) em ambiente não contaminado que teve o maior acúmulo de teor de N entre todos os tratamentos avaliados (Figura 19B).

Para fósforo a única diferença validada pelo teste estatístico empregado, para as plantas de girassol crescidas ou não no óleo contaminante foi para o tratamento que recebeu a maior dose de torta de PDS (80 Mg.ha<sup>-1</sup>). Os outros tratamentos não diferiram em relação as doses de torta aplicada, sendo estatisticamente iguais para as plantas que cresceram nos substrato com óleo e as que não cresceram neste (Figura 19C).

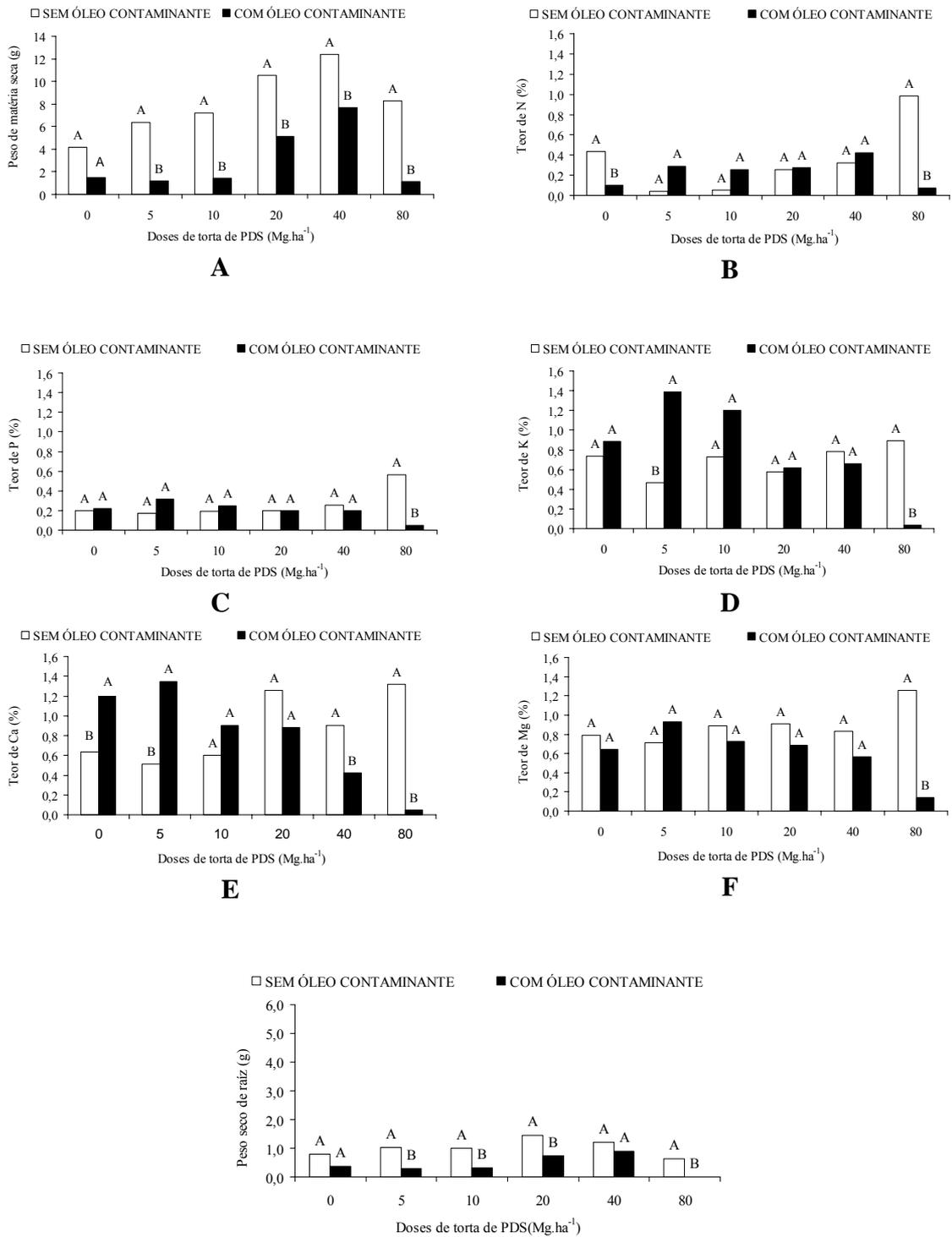
O teor de potássio nas plantas de girassol não mostrou qualquer correlação com a quantidade das tortas aplicadas ou mesmo entre plantas submetidas ou não ao contaminante, tendo porém, as plantas crescidas com o contaminante nas doses de 5 e 10 Mg.ha<sup>-1</sup>, acumulado mais K que as mesmas que cresceram sem a presença do óleo contaminante e as demais (Figura 19D).

Para cálcio, os tratamentos que diferiram em relação ao crescimento de plantas de girassol em ambiente contaminado ou não, de acordo com o teste estatístico empregado, foram aqueles que receberam doses de torta equivalentes a 5, 40 e 80 Mg.ha<sup>-1</sup>; e também o que não recebeu torta (Figura 19E).

Em relação aos teores de Mg, o único tratamento que demonstrou real diferença entre plantas crescidas ou não em ambiente contaminado com óleo foi o que recebeu a maior dose de torta de PDS (80 Mg.ha<sup>-1</sup>). A Figura 19F mostra que o teor desse elemento nas plantas de girassol não diferiu significativamente em relação aos substratos com e sem óleo.

A produção de matéria seca das raízes de plantas de girassol foi muito abaixo dos valores encontrados para o mesmo parâmetro em relação às plantas de mamona (Figura 16G) e (Figura 19G). De uma maneira geral as plantas que foram submetidas aos substratos contaminados com óleo obtiveram sempre os menores valores e foram significativamente diferentes para plantas não submetidas ao contaminante, naqueles tratamentos que receberam doses de torta de PDS equivalentes a 5, 10, 20 e 80 Mg. ha<sup>-1</sup> (Figura 19G).

KORNDORFER (2006), afirma que de maneira geral, os sintomas de toxicidade por sódio em plantas estão associados à redução no crescimento e na produção, além do amarelecimento e murcha das mesmas. Como ocorreram, com as plantas de mamona, resultados semelhantes, é provável que o alto teor de sódio na torta de PDS (Tabela 7), que se intensificou na maior dose fornecida (80 Mg. ha<sup>-1</sup>), tenha influenciado diretamente no crescimento das plantas de girassol e também na produção de matéria seca de raiz.



**Figura 19.** Peso de matéria seca e teores de N, P, K, Ca e Mg da parte aérea e peso seco de raiz de plantas de girassol submetidas às doses crescentes de torta de PDS em solo não contaminado (colunas em branco) e contaminado com óleo bruto a 4% (colunas em preto). Colunas com letras diferentes para uma mesma dose diferem entre si pelo teste de *Duncan* (5%).

#### 4.6.3 Alterações nas relações nutricionais do solo

As alterações nas relações nutricionais do solo são mostradas em função de sete variáveis avaliadas. O pH (Figura 20), o H+Al (Figura 21), sódio (Figura 22), cálcio (Figura 23), magnésio (Figura 24), fósforo (Figura 25) e potássio (Figura 26). Os resultados são sempre comparativos entre os substratos onde cresceram plantas de mamona e plantas de girassol em ambiente com e sem contaminação. Além da comparação com a análise do solo por ocasião da coleta (zero) e com amostras das Unidades Experimentais que foram contaminadas, mas não foram semeadas e não receberam qualquer dose de torta de PDS.

Por ocasião da contaminação dos vasos com o óleo, formou-se uma camada superficial do contaminante que se manteve nitidamente na parte superior dos vasos até o final do experimento (Figura 13). Essa camada variou de 5 a 8 cm, nos vasos utilizados e, optou-se, então, quando na coleta do solo, separá-la em “A”, aquela com o óleo contaminante e “B” aquela, contida nos vasos, que se manteve aparentemente, sem a presença do óleo bruto.

O pH do solo foi previamente corrigido em todos os substratos usados, a exceção do branco absoluto. Por isso, a torta adicionada manteve o pH do solo estável. Todos os tratamentos com plantas superaram a testemunha absoluta (Figura 20). A testemunha com óleo se manteve estável devido a correção do pH com calcário, já que nesta não foi adicionada torta de PDS. Os resultados corroboram as conclusões do experimento de incubação (VER CAPÍTULO II). Segundo MALAVOLTA (1980) o pH atua diretamente na disponibilidade de elementos como N, S e B, cuja fonte principal é a matéria orgânica do solo, e para que estes nutrientes sejam liberados a MOS deve ser decomposta ou mineralizada, processo que depende dos micro-organismos, cuja atividade é inibida ou diminuída pela acidez excessiva. O H+Al em ambos os substratos não mostrou mudança na classe de fertilidade. Os teores foram semelhantes, comparados entre substratos onde cresceram as duas espécies (Figura 21).

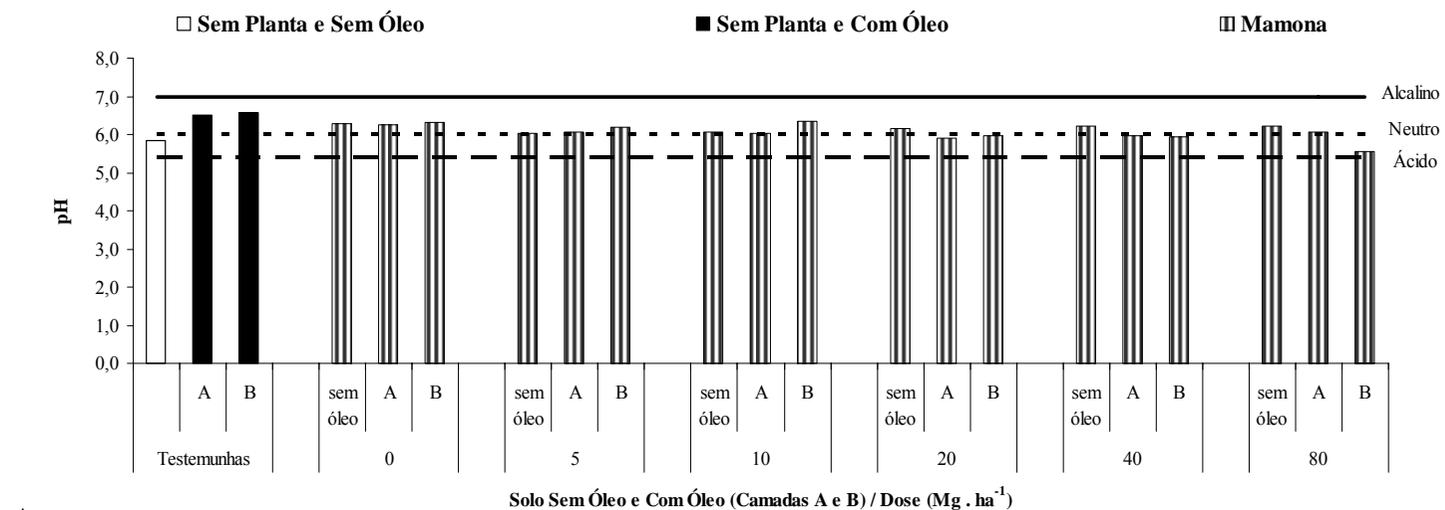
O teor de Na no solo (Figura 22) mostra que em plantas de mamona, parece ter havido maior absorção deste elemento à medida que se aumentaram as doses de torta de PDS. Uma vez que os teores de Na foram diminuindo no solo. Isto poderia explicar o baixo crescimento e a falta de germinação das plantas de mamona nos tratamentos que receberam a maior dose de torta ( $80 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), quando comparadas com as de girassol (Figura 22 A e Figura 22B). Segundo MEURER (2006), o alto teor de sódio limita o crescimento vegetal.

Para os teores de cálcio (Figura 23), não foi possível dizer que a torta de PDS adicionou Ca ao solo. Também não ocorreu mudança na classe de fertilidade, nem para o substrato cultivado com girassol e nem para aquele em que se plantou mamona. Em relação ao magnésio, parece que a torta adicionou este nutriente ao solo. Foi visível, em substratos com plantas de mamona (Figura 24A), que os tratamentos não submetidos ao contaminante, mesmo não tendo a classe alterada, aumentaram seus teores em relação a testemunha. Os menores teores para o Mg mostram que o girassol foi mais seletivo que a mamona e talvez por isso mesmo tenha apresentado as melhores taxas de crescimento (Figura 17 e Figura 18).

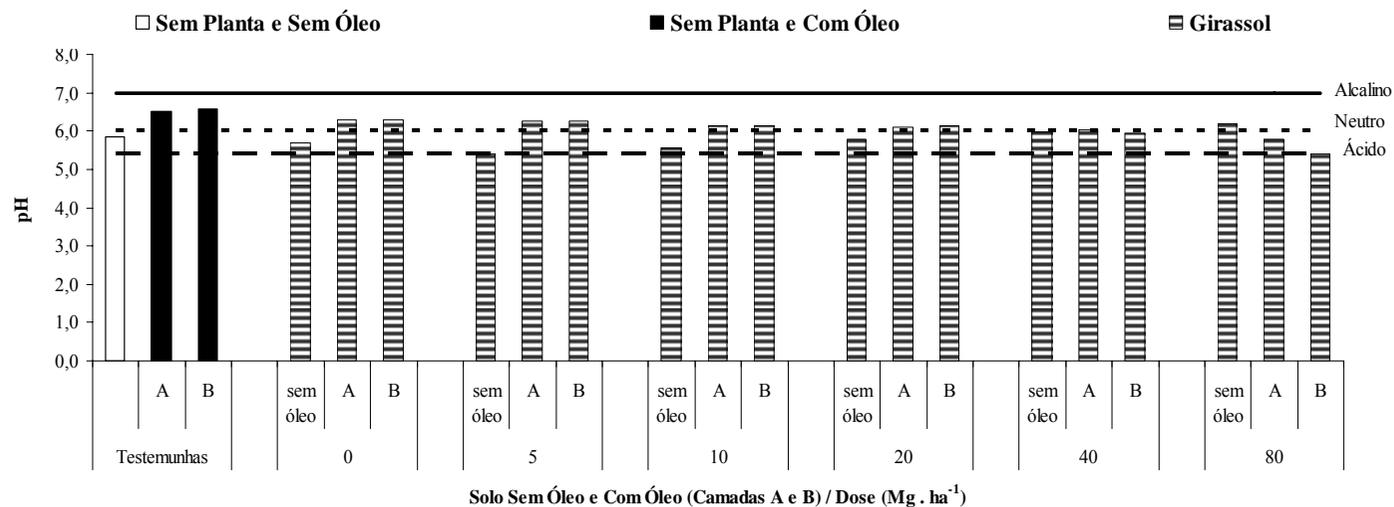
Os teores de fósforo e potássio (Figura 25 e Figura 26) mostraram resultados semelhantes para os dois substratos e as duas oleaginosas. Não foi possível afirmar que a torta contribuiu para o aumento dos teores de P e K e não houve mudanças na classe de fertilidade.

SANTOS & RODELLA (2007) citando LOGAN (1992) e SHUMAN (1998), afirmam que, em geral, a incorporação de matéria orgânica ao solo auxilia na revegetação de áreas degradadas, melhorando a estrutura e a retenção de umidade, e a oferta de nutrientes. Além disso, interfere positivamente no ciclo de vários nutrientes e atua na complexação e quelatção de metais pesados, diminuindo sua disponibilidade e, com isso, a toxicidade para as plantas.

Apesar de os resultados mostraram que a torta influenciou positivamente apenas na alteração de pH, a adição de material vegetal em sistemas de manejo do solo é apontada como alternativa para correção da acidez do solo e neutralização do Al tóxico (MEURER, 2006).

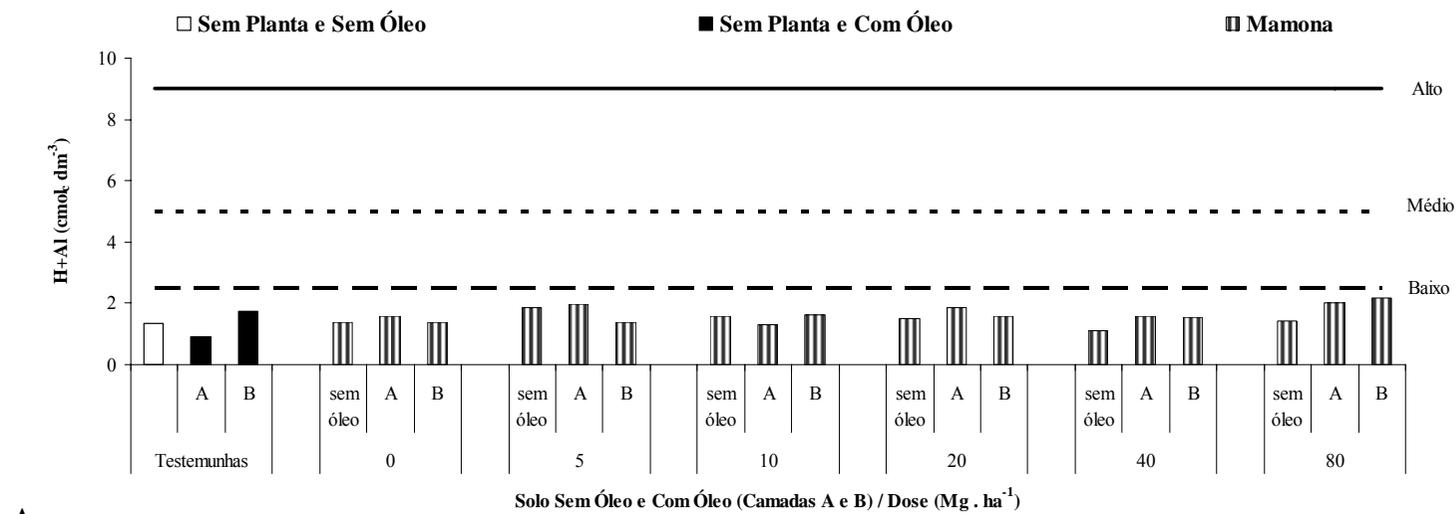


A

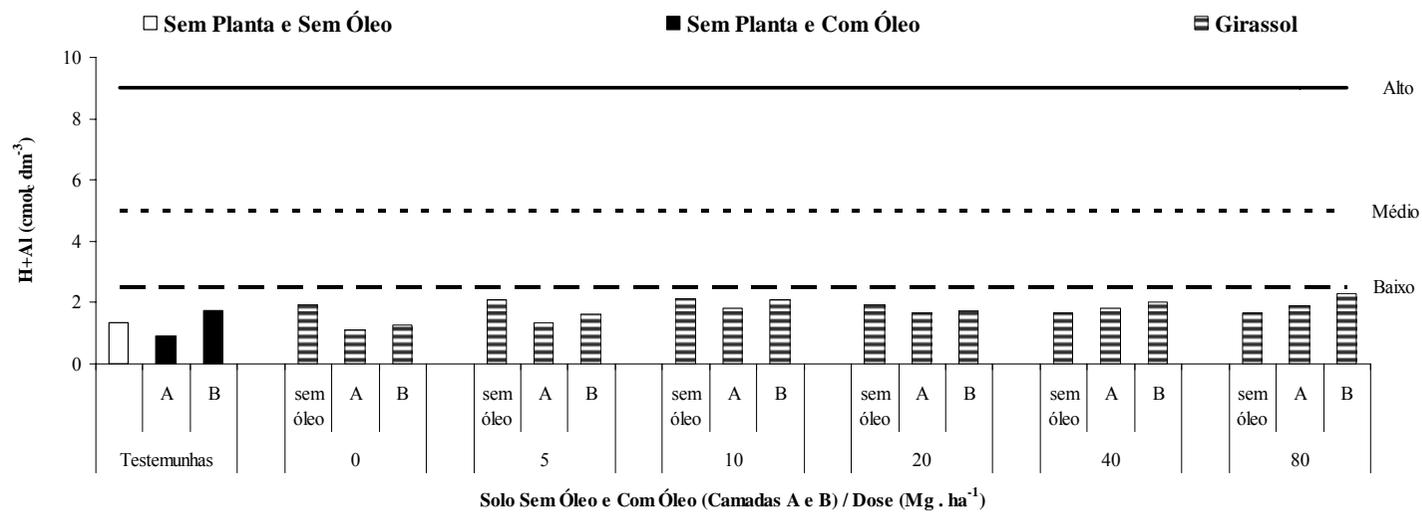


B

**Figura 20.** Alterações no pH do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).

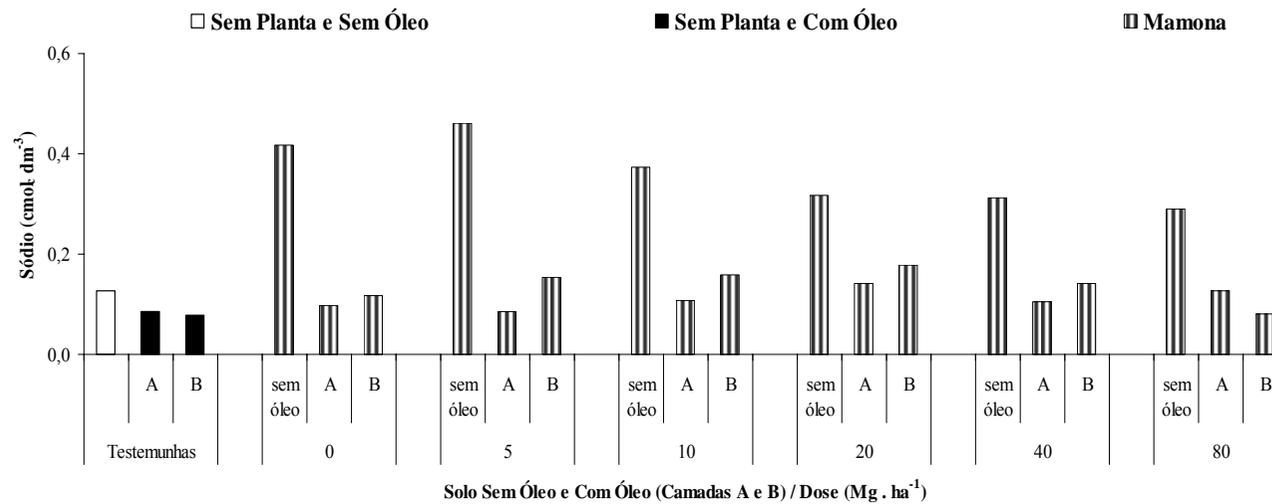


A

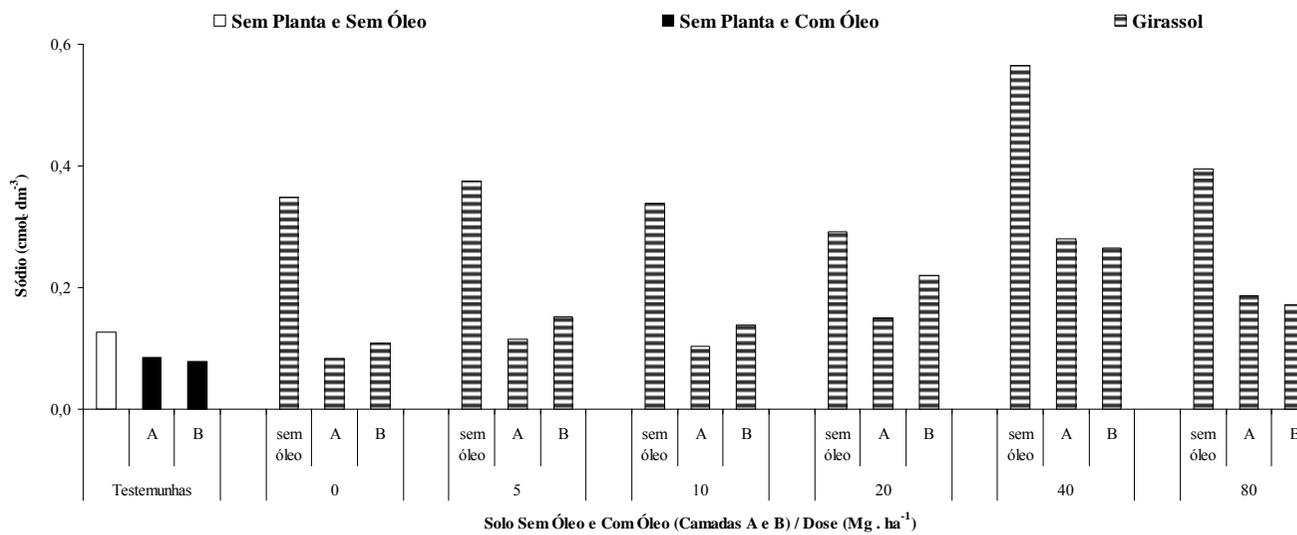


B

**Figura 21.** Alterações nos teores de H+Al do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).

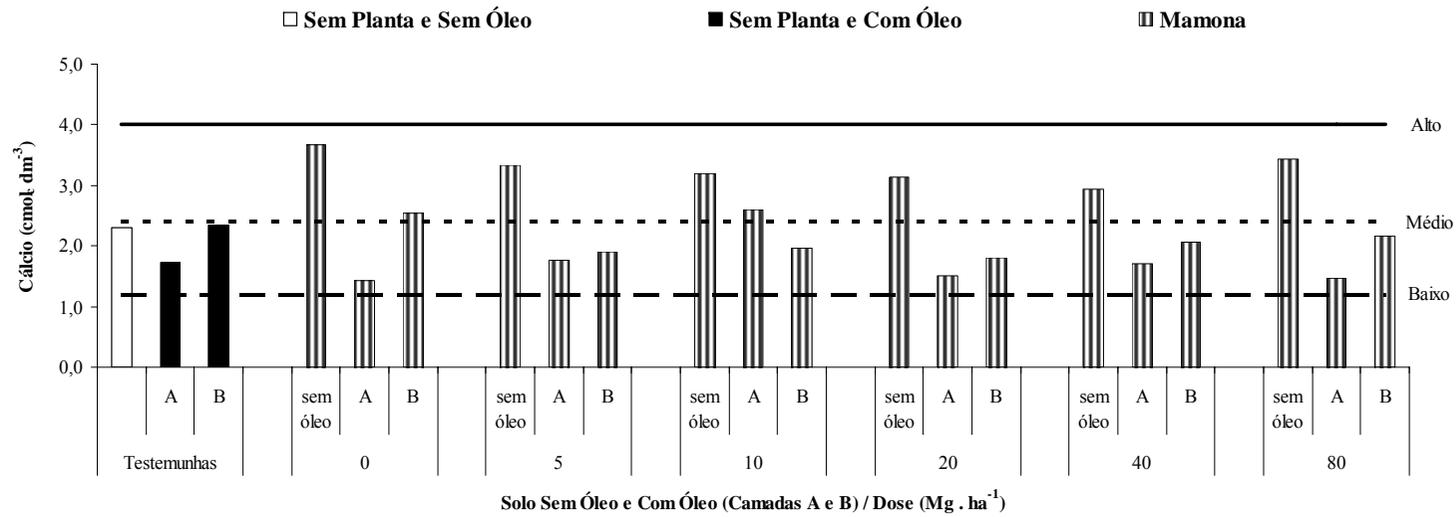


A

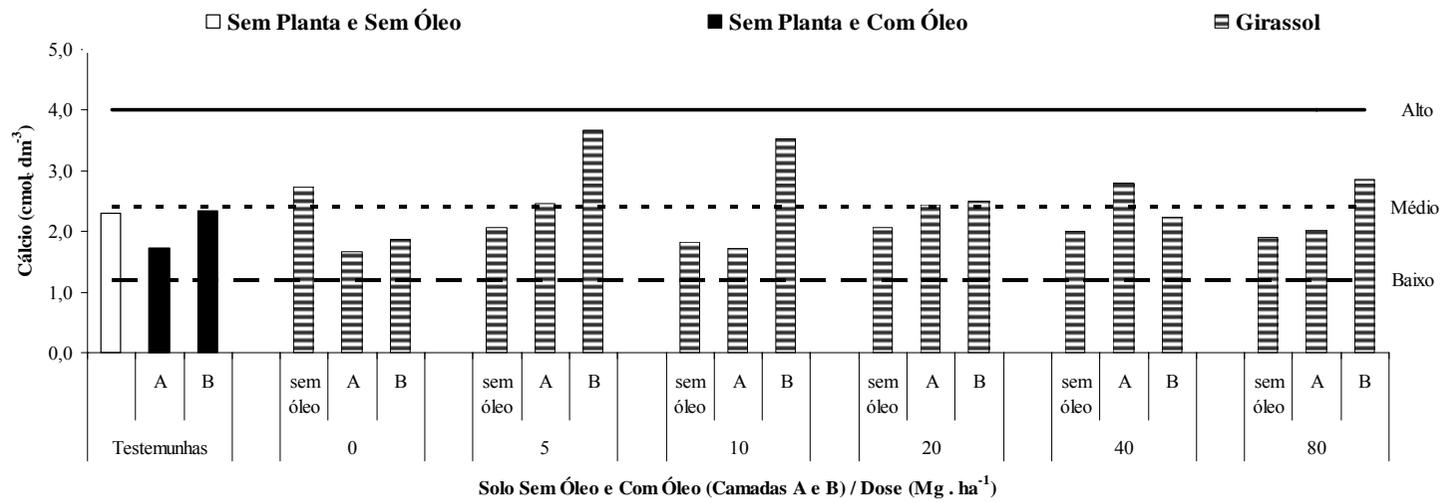


B

**Figura 22.** Alterações nos teores de Sódio em solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).

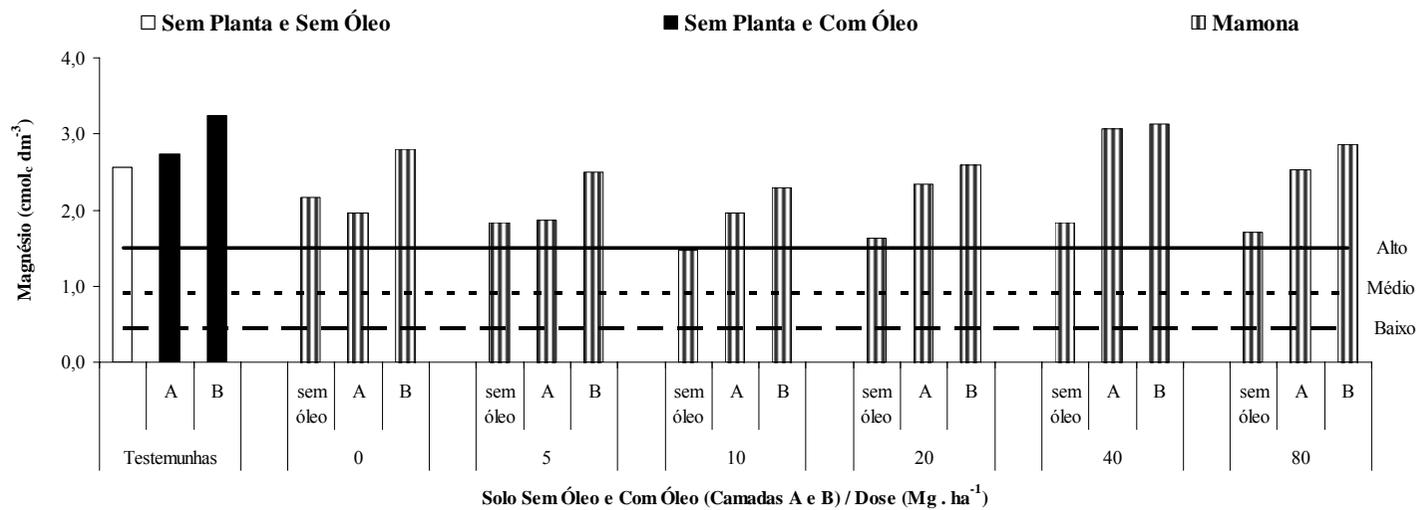


A

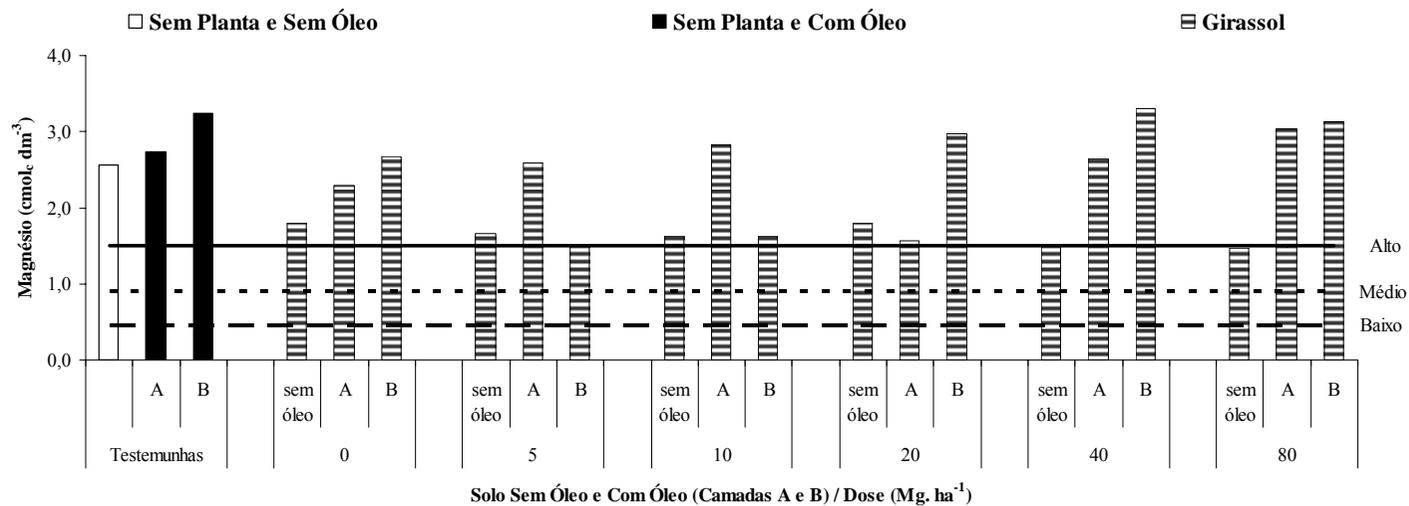


B

**Figura 23.** Alterações nos teores de Cálcio do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).

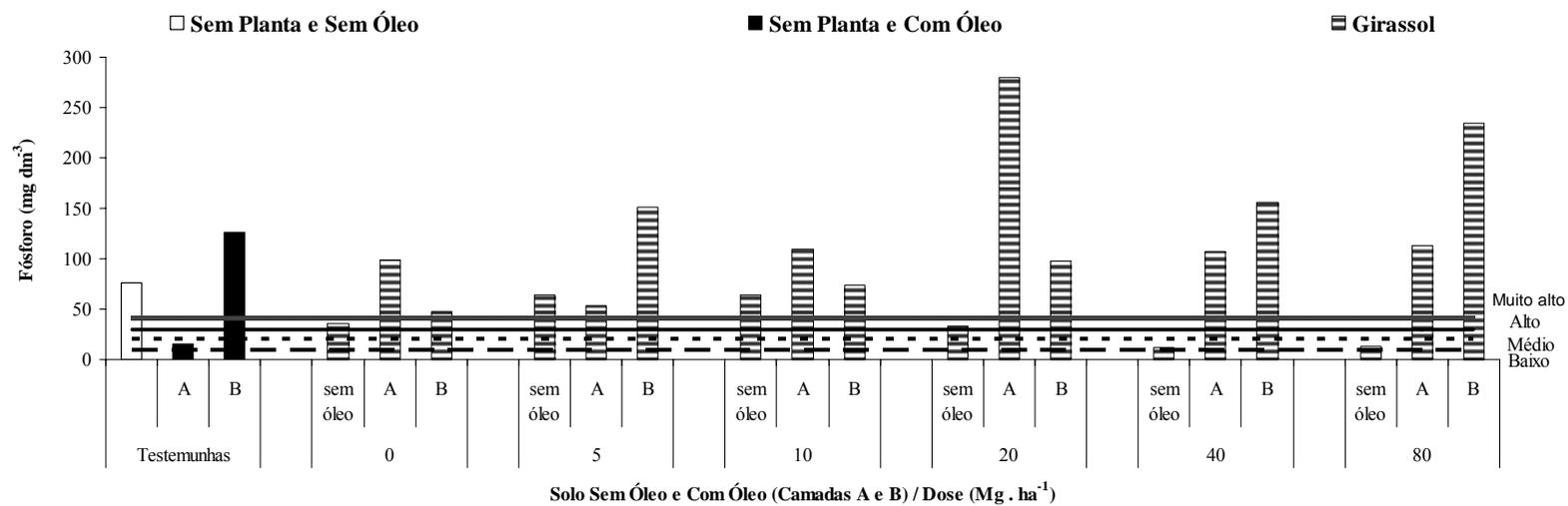
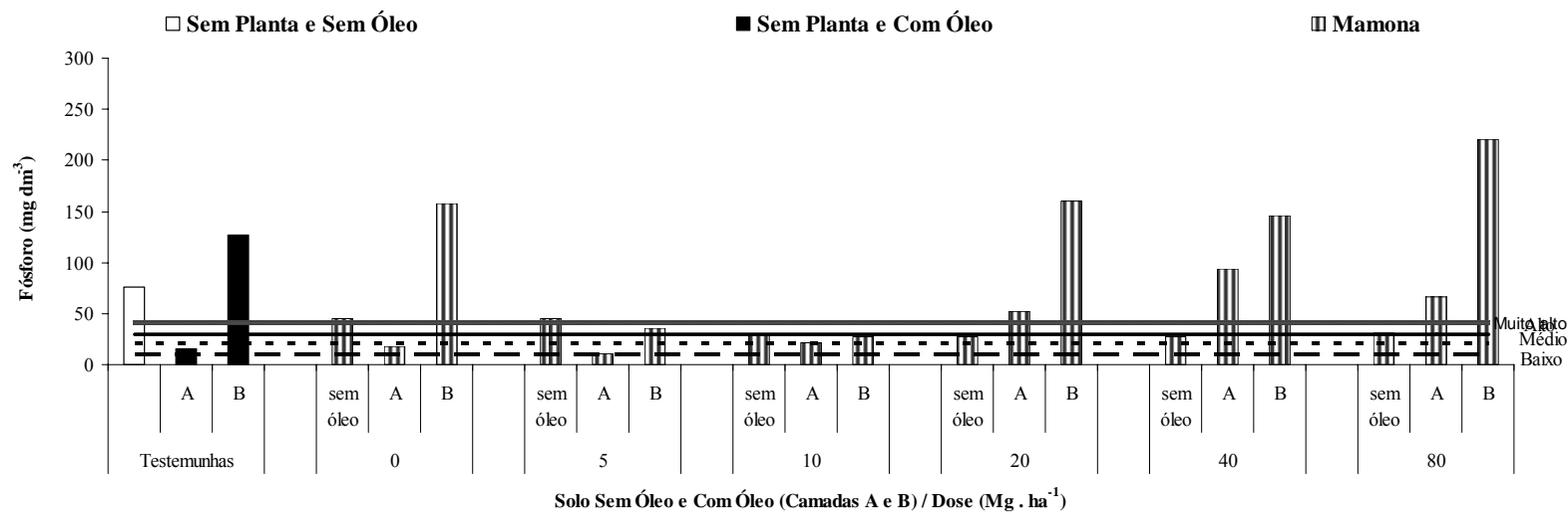


A

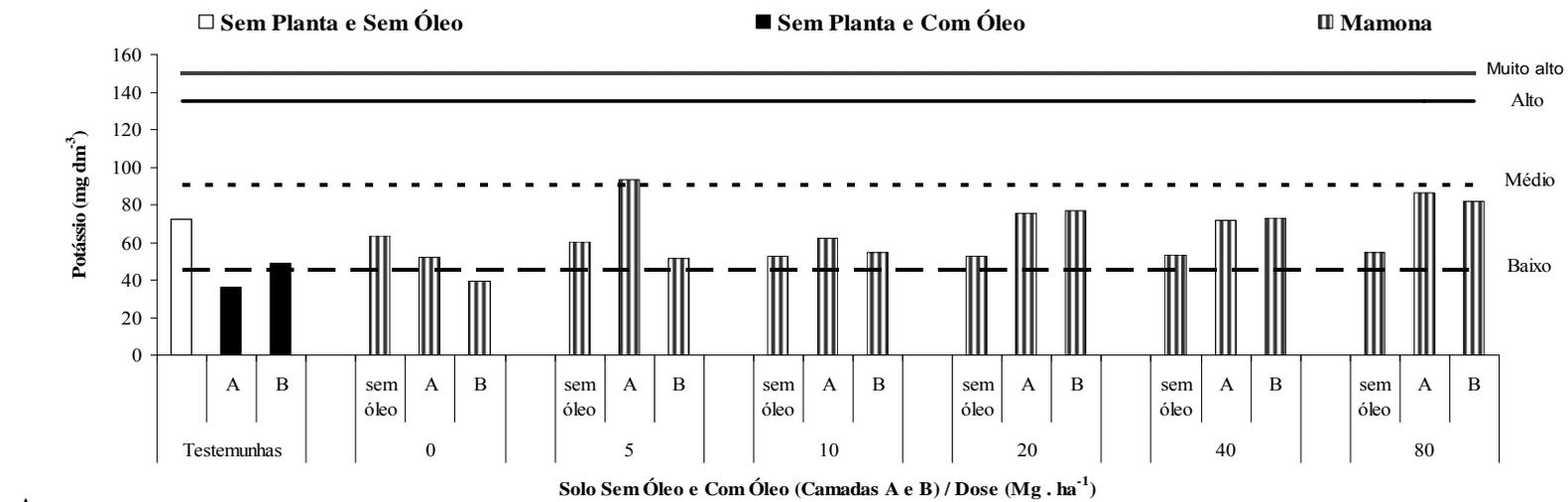


B

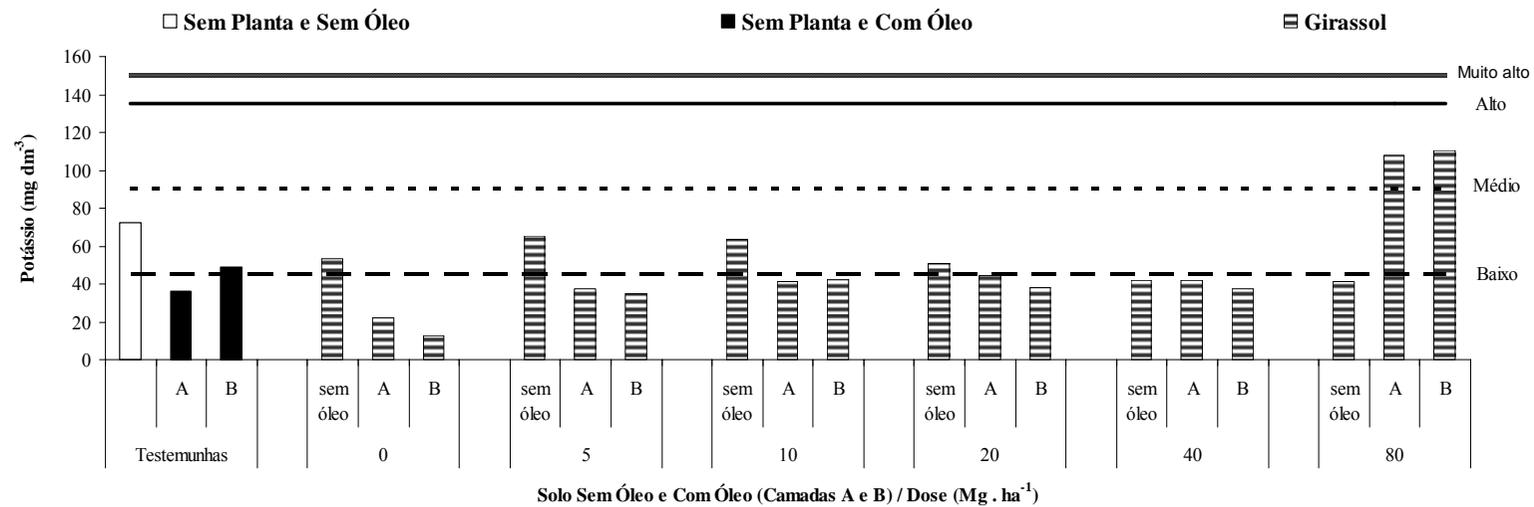
**Figura 24.** Alterações nos teores de Magnésio do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).



**Figura 25.** Alterações nos teores de Fósforo do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).



A



B

**Figura 26.** Alterações nos teores de Potássio do solo onde cresceram plantas de mamona (A) e plantas de girassol (B).

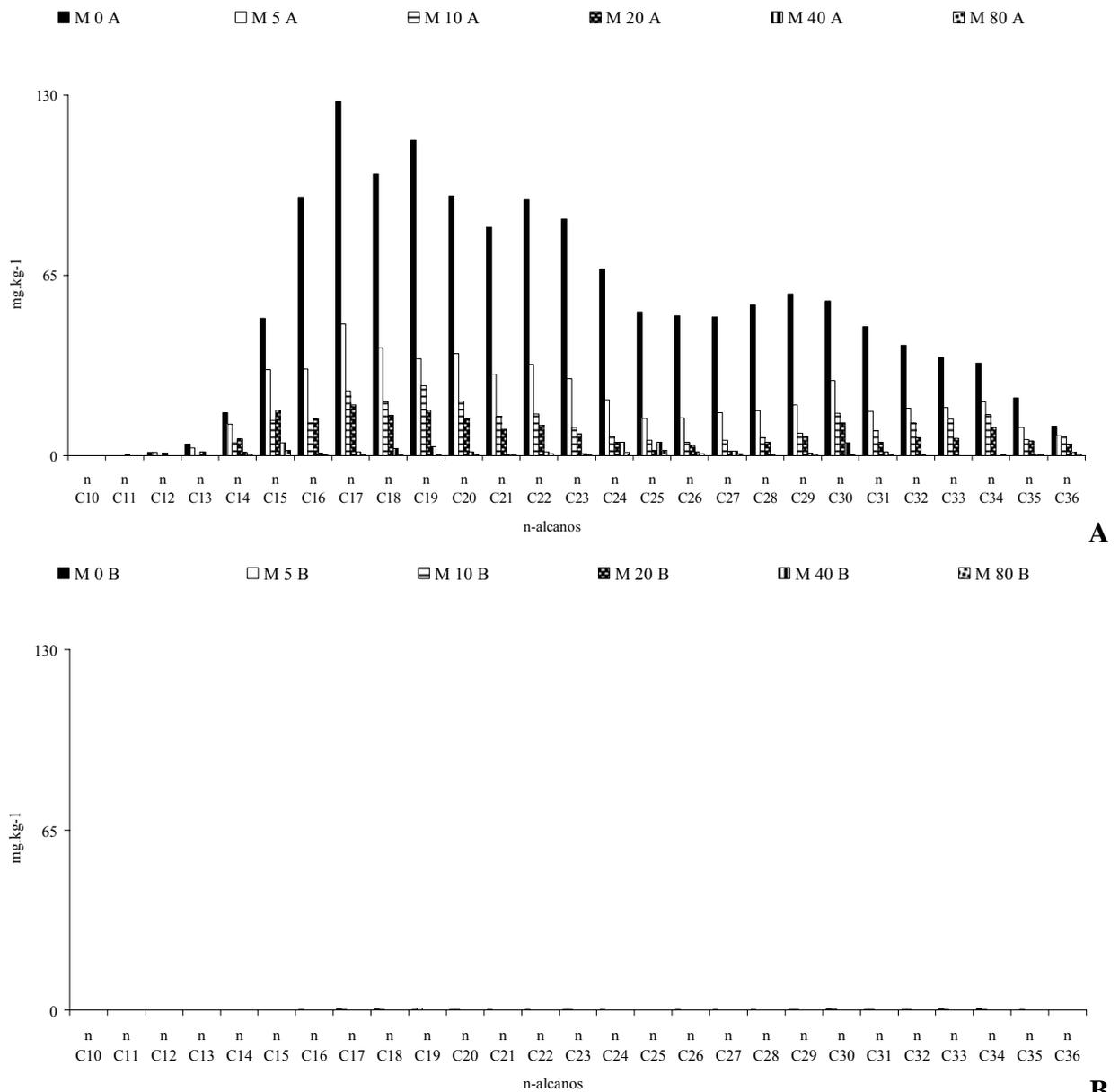
#### 4.6.4 Monitoramento da atenuação de hidrocarbonetos totais de petróleo

O monitoramento da degradação dos hidrocarbonetos totais de petróleo revelou uma correlação direta entre o aumento das doses da torta de PDS e a mudança na composição dos n-alcenos ao final do experimento. Mesmo na camada onde ocorreu maior concentração de óleo contaminante (A), houve uma redução na composição desses n-alcenos que se mostrou inversamente proporcional ao aumento das doses de torta de PDS aplicadas. Tanto para o cultivo de plantas de mamoneira (que demonstraram um nível de mudança menor na composição dos hidrocarbonetos de petróleo) quanto para o cultivo de plantas de girassol (Figura 27A) e (Figura 28A).

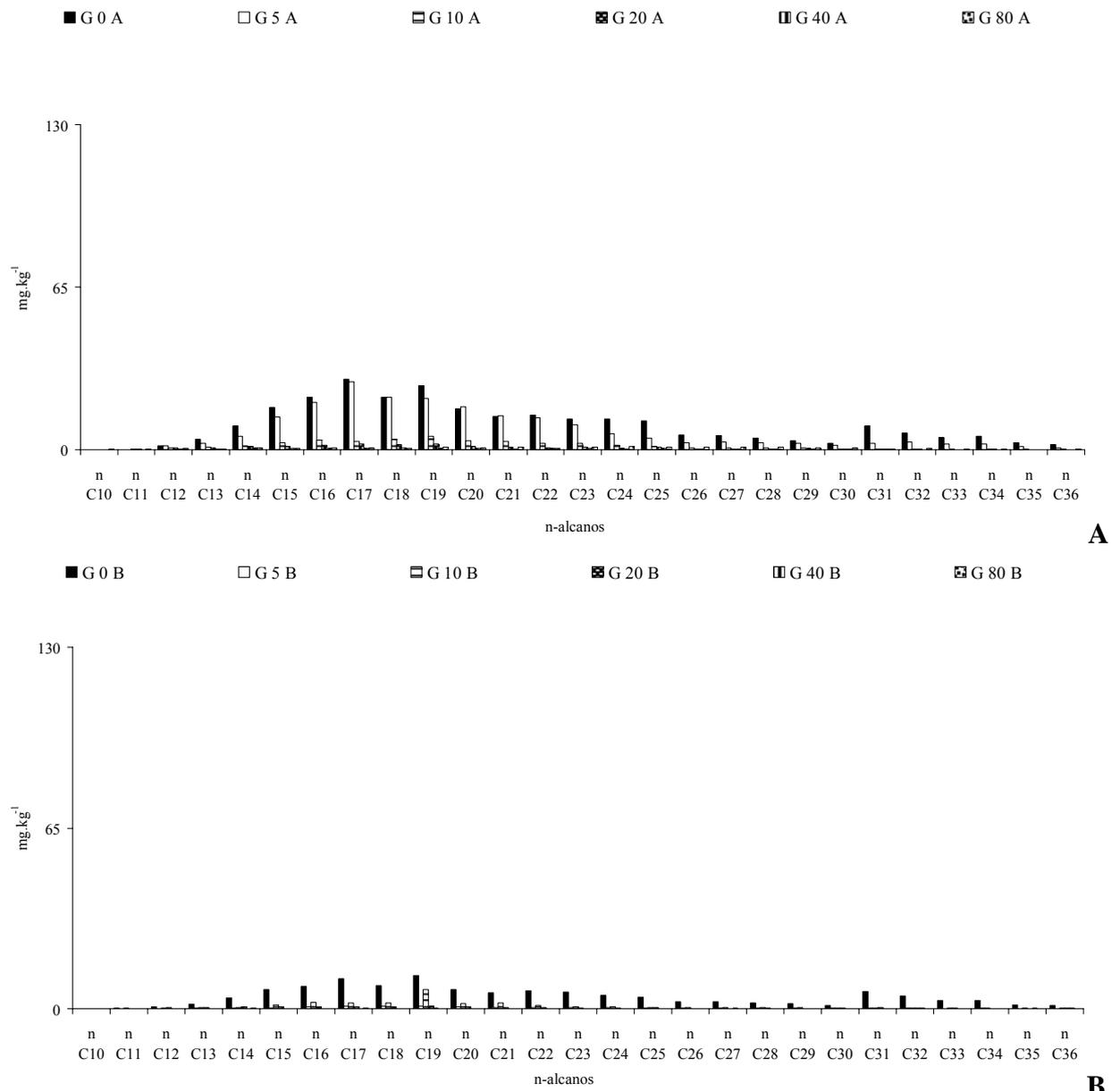
Já na camada subsuperficial avaliada (B), a mudança na composição dos n-alcenos ao final do experimento foi mais proeminente para as duas culturas, se comparada com a camada mais superficial (A). Esta mudança na composição dos n-alcenos foi bem menor onde cresceram plantas de girassol do que na mesma camada para plantas de mamoneira (Figura 27B) e (Figura 28B).

Ao observamos as mudanças ocorridas nas composições dos n-alcenos onde os substratos com plantas de mamona cresceram e compará-las com aquelas ocorridas nos substratos onde cresceram plantas de girassol, fica nítido o que os outros dados já discutidos aqui neste trabalho corroboram. As plantas de girassol se adaptaram melhor nos diferentes ambientes (com e sem contaminação) e dessa forma responderam bem mais a adição das doses crescentes da torta de PDS que as plantas de mamona. Inclusive na dose onde o alto teor de sódio (Tabela 7) pode ter influenciado no crescimento e mesmo na germinação de plantas de mamona (Figura 15). A Figura 27A e a Figura 28A não deixam dúvidas sobre qual planta melhor interagiu com o ambiente. Como se isso não fosse suficiente, a Tabela 18 mostra que na camada A do solo – aquela em que o óleo contaminante permaneceu em maior quantidade ao longo de todo o experimento – a quantidade de n-alcenos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) é rigorosamente menor e diametralmente inversa ao aumento das doses de torta, quando comparadas com a mesma camada, nos mesmos tratamentos em que plantas de mamona cresceram.

Identificando plantas fitorremediadoras em áreas contaminadas por chumbo, NALON et al. (2004), concluíram que a mamona ficou em quarto lugar entre 10 plantas identificadas no que os autores chamaram de características desejáveis, tais como boa produção de massa seca e total acumulado de metal na parte aérea. Entretanto os autores apontam que seria pertinente estudar o comportamento destas dez espécies em diferentes pHs e altas concentrações de matéria orgânica do solo. Os resultados encontrados pelos autores foram numa faixa que de pH que variou de 4 a 4,5. Comparando a Figura 27 e a Figura 28, percebe-se que o girassol também superou a mamona em pH 6,5 com diferentes doses da torta de PDS, em processo de fitorremediação de hidrocarbonetos de petróleo, provocando mudança significativa nas composições dos n-alcenos.



**Figura 27.** Composição de n-alcenos em solo com doses crescentes de torta de PDS de 0, 5, 10, 20, 40 e 80 t.ha-1, onde cresceram plantas de mamona. Acima, camada “A” e abaixo, camada “B” do solo.



**Figura 28.** Composição de n-alcenos em solo com doses crescentes de torta de PDS de 0, 5, 10, 20, 40 e 80 t.ha<sup>-1</sup>, onde cresceram plantas de girassol. Acima, camada "A" e abaixo, camada "B" do solo.

**Tabela 18.** Composição de hidrocarbonetos de petróleo no solo contaminado com óleo bruto (4%) em que plantas de mamona cresceram sob diferentes doses da torta da produção direta de biodiesel (torta de PDS) ao final de 60 dias de experimento em casa de vegetação.

Hidrocarbonetos de petróleo (mg.kg <sup>-1</sup> )		----- Doses de torta de PDS (Mg.ha <sup>-1</sup> ) -----					
		0	5	10	20	40	80
-----Mamona-----							
n-alcanos	A	1434,93	536,86	271,73	201,36	40,78	10,94
	B	5,86	4,04	0,00	0,00	0,00	0,49
HRP	A	3311,17	1828,20	1066,25	947,40	462,84	161,48
	B	40,38	33,44	1,07	0,96	1,90	7,90
UCM	A	23734,16	19744,30	12428,20	13292,39	9737,16	4103,12
	B	753,01	540,27	51,85	69,37	169,28	191,56
HTP	A	27045,32	21572,51	13494,46	14239,80	10200,01	4264,61
	B	793,39	573,71	52,93	70,33	171,18	199,47
----- Girassol -----							
n-alcanos	A	261,06	199,86	43,32	20,64	8,94	17,11
	B	116,04	9,07	26,27	9,76	1,92	1,67
HRP	A	665,99	620,12	244,73	193,38	105,70	162,75
	B	288,11	50,36	212,80	80,58	18,48	18,87
UCM	A	3655,66	4006,06	3085,31	3381,93	2549,16	3816,24
	B	1717,65	672,87	2679,98	1173,56	502,57	350,39
HTP	A	4321,65	4626,18	3330,04	3575,31	2654,86	3979,00
	B	2005,77	723,23	2892,78	1254,14	521,05	369,26

\*HRP: Hidrocarbonetos resolvidos de petróleo; UCM: Mistura Complexa não resolvida; HTP: Hidrocarbonetos totais de petróleo. \*\* Letra (A), camada superficial do solo e letra (B) camada subsuperficiais.

A Tabela 18 mostra que o total de HTP nos substratos que continham plantas de girassol na camada A - mais superficial – diminuiu mais do que naqueles com plantas de mamona. O aumento da dose de torta de PDS influenciou o processo de degradação de ambos os substratos, porém aquele em que havia plantas de girassol se mostrou mais eficiente.

Os hidrocarbonetos resolvidos são chamados “hidrocarbonetos totais resolvidos” (HRP). Os “hidrocarbonetos totais de petróleo” (HTP) são a soma dos HRP e da UCM. Os HRP são hidrocarbonetos não degradados e aparecem como picos nos cromatogramas. Conforme se podem observar na Tabela 18 os HRP diminuem nas duas camadas de substratos onde cresceram as plantas oleaginosas. Entretanto na camada que mais acumulou óleo o girassol apresentou as melhores respostas (Figura 27 e Figura 28).

De acordo com SLOAN (1999), o petróleo altera suas características originais após entrar em contato com o ambiente, devido a fatores físicos e, principalmente, biológicos. Essas transformações são reguladas pelas características específicas do derramamento e do ambiente atingido, tendo este último grande influencia no grau de impacto.

Micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos degradam alcanos ramificados e compostos isoprenóides em velocidades menores que os alcanos de cadeias lineares. Portanto, a razão de alcanos lineares em relação aos compostos altamente ramificados pode refletir a extensão de degradação do óleo diesel causada por micro-organismos. Nos resultados da

cromatografia gasosa a “lombada” correspondente a UCM torna-se maior e os picos dos HRP diminuem devido a biodegradação (SEABRA, 1997; BALBA et al., 1998; MARIANO, 2006) Exatamente o resultado encontrado na Figuras 27, Figura 28 e também na Tabela 18.

#### 4.6.5 Avaliação da quantificação microbiana

Avaliando a biorremediação em plantas de manguezal que foram afetadas por derramamento de petróleo, CRAPEZ et al. (2003) mantiveram em viveiro por 30 dias, 180 plantas dos gêneros *Avicenia* sp, *Laguncularia* sp. e *Rhizophora* sp., divididas em três tratamentos (controle, óleo e óleo + um consórcio de bactérias da rizosfera de plantas adultas de mangues afetados por petróleo). Foram avaliadas características como diâmetro, altura e número de folhas. Os resultados encontrados apontavam as melhores respostas para a biorremediação em *Avicenia* sp e *Rhizophora* sp., além de a altura ter sido a característica biométrica que apresentou maiores valores ( $p < 0,05$ ). Outro resultado importante encontrado pelos autores foi que os grupos morfológicos de bactérias (cocos, espirilos e bastonetes), também apresentaram diferenças significativas quanto ao carbono bacteriano ( $p < 0,05$ ).

PÉREZ-ARMENDÁRIZ et al. (2004), desenvolveram um estudo de bioestimulação com micro-organismos em associação com a essência do bagaço de cana-de-açúcar para remover hidrocarbonetos totais de petróleo. A metodologia envolveu o uso de solo contaminado com óleo diesel coletado em área de derramamento após dez anos, no Estado Mexicano de Tabasco. Solo controle foi coletado na mesma região e os tratamentos utilizados foram: i) Micro-organismos do solo associados aos do bagaço da cana (solo não esterilizado e essência do bagaço não esterilizada); ii) Micro-organismos do solo (bagaço esterilizado e solo não esterilizado); iii) Micro-organismos do bagaço (essência não esterilizada e solo esterilizado); e iv) Controle (solo e essência do bagaço esterilizado). O experimento foi conduzido em colunas de vidro de 30 cm de largura por 6 de diâmetro. Solo e essência do bagaço foram homogeneizados na proporção de 49:1 (v/v). Usando  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  uma mistura foi ajustada para conter 60% de C:N:P na proporção de 100:10:1. O total de fungos, bactérias e actinomicetos foi amostrado aos 0, 3, 7, 13 e 16 dias e quantificados. Os autores concluíram que o tratamento com micro-organismos do solo associado aos da essência do bagaço da cana-de-açúcar até o décimo terceiro dia removeu 50% de http, ao passo que os micro-organismos do solo apenas 30%. Concluíram ainda que os micro-organismos da essência do bagaço da cana podem ser estimulados na remoção de hidrocarbonetos de áreas contaminadas, sem, contudo inibir os micro-organismos nativos do solo.

Avaliando a Tabela 19 percebe-se que os resultados estão de acordo com a literatura, principalmente na quantificação de actinomicetos e bactérias, pois nos tratamentos em que cresceram plantas de mamona foi sensível o incremento destes micro-organismos em relação a dose que não recebeu adição da torta (0 Mg . ha<sup>-1</sup>) e a maior dose adicionada (80 Mg . ha<sup>-1</sup>). Nos substratos com plantas de girassol não foi observado o mesmo comportamento. Para a quantificação de fungos, inferiu-se que as diferentes doses da torta de PDS não influenciaram na população, pois a contagem mostra que a população desse grupo de micro-organismos quase não variou (Tabela 19).

Em trabalho que avaliou o efeito da adição da vinhaça na biorremediação de solos e águas subterrâneas, MARIANO (2006) concluiu que embora a adição da vinhaça tenha proporcionado certa fertilização dos solos e um incremento da população microbiana, não se mostrou adequada para a eficiência de biodegradação do óleo diesel. O autor chama atenção para o fato de se utilizar resíduos como agentes estimulantes da biorremediação, porque eles representam uma fonte potencial de poluição; assim, continua o autor, seus usos deveriam ser restritos a tratamentos ex-situ, pois processos controlados minimizariam qualquer risco de contaminação adicional.

Em trabalho avaliando efeito da adição da vinhaça na biorremediação de solos e águas subterrâneas, MARIANO (2006) concluiu que, embora a adição da vinhaça proporcionasse a fertilização dos solos e incremento da população microbiana, ela não se mostrou adequada para aumentar a eficiência de biodegradação do óleo diesel. O autor destacou o uso de resíduos como agentes estimulantes da biorremediação, porque eles representam uma fonte potencial de poluição; assim, continua o autor, seu uso deveria ser restrito a tratamentos ex-situ, pois processos controlados minimizariam qualquer risco de contaminação adicional.

**Tabela 19.** Contagem de actinomicetos, bactérias e fungos presentes nos substratos contaminados onde cresceram plantas de mamona (acima) e girassol (abaixo).

Tratamentos		Actinomicetos	Bactérias	Fungos
		Substratos com plantas de mamona		
-----UFC. g <sup>-1</sup> de solo-----				
0 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	6,0 x 10 <sup>4</sup>	8,6 x 10 <sup>4</sup>	8,1 x 10 <sup>3</sup>
	B	1,7 x 10 <sup>5</sup>	1,8 x 10 <sup>6</sup>	1,6 x 10 <sup>4</sup>
5 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	2,2 x 10 <sup>5</sup>	4,2 x 10 <sup>5</sup>	9,0 x 10 <sup>3</sup>
	B	3,0 x 10 <sup>6</sup>	6,0 x 10 <sup>8</sup>	1,5 x 10 <sup>4</sup>
10 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	8,5 x 10 <sup>4</sup>	3,5 x 10 <sup>5</sup>	1,8 x 10 <sup>4</sup>
	B	9,6 x 10 <sup>5</sup>	7,9 x 10 <sup>5</sup>	1,3 x 10 <sup>4</sup>
20 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	5,2 x 10 <sup>4</sup>	4,7 x 10 <sup>11</sup>	3,3 x 10 <sup>3</sup>
	B	8,2 x 10 <sup>5</sup>	2,1 x 10 <sup>7</sup>	1,2 x 10 <sup>4</sup>
40 Mg. ha <sup>-1</sup>	A	3,3 x 10 <sup>5</sup>	4,4 x 10 <sup>5</sup>	2,9 x 10 <sup>4</sup>
	B	8,0 x 10 <sup>5</sup>	2,1 x 10 <sup>6</sup>	3,2 x 10 <sup>4</sup>
80 Mg. ha <sup>-1</sup>	A	2,4 x 10 <sup>6</sup>	2,0 x 10 <sup>6</sup>	9,1 x 10 <sup>3</sup>
	B	5,2 x 10 <sup>5</sup>	2,5 x 10 <sup>6</sup>	1,4 x 10 <sup>5</sup>
<b>Substratos com plantas de girassol</b>				
0 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	3,8 x 10 <sup>5</sup>	3,5 x 10 <sup>8</sup>	3,6 x 10 <sup>4</sup>
	B	2,8 x 10 <sup>7</sup>	3,0 x 10 <sup>12</sup>	3,3 x 10 <sup>3</sup>
5 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	7,0 x 10 <sup>4</sup>	4,2 x 10 <sup>5</sup>	3,5 x 10 <sup>4</sup>
	B	4,6 x 10 <sup>12</sup>	1,5 x 10 <sup>12</sup>	1,6 x 10 <sup>5</sup>
10 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	5,6 x 10 <sup>5</sup>	2,2 x 10 <sup>8</sup>	3,1 x 10 <sup>4</sup>
	B	4,9 x 10 <sup>5</sup>	2,0 x 10 <sup>8</sup>	1,8 x 10 <sup>4</sup>
20 Mg . ha <sup>-1</sup>	A	9,9 x 10 <sup>5</sup>	2,3 x 10 <sup>8</sup>	4,1 x 10 <sup>4</sup>
	B	1,7 x 10 <sup>6</sup>	3,2 x 10 <sup>7</sup>	1,8 x 10 <sup>5</sup>
40 Mg. ha <sup>-1</sup>	A	3,5 x 10 <sup>6</sup>	4,2 x 10 <sup>6</sup>	3,5 x 10 <sup>4</sup>
	B	1,1 x 10 <sup>6</sup>	5,4 x 10 <sup>8</sup>	3,3 x 10 <sup>4</sup>
80 Mg. ha <sup>-1</sup>	A	2,9 x 10 <sup>6</sup>	2,2 x 10 <sup>8</sup>	7,6 x 10 <sup>4</sup>
	B	5,1 x 10 <sup>5</sup>	1,7 x 10 <sup>8</sup>	3,8 x 10 <sup>4</sup>

Por essa razão se propõe agir com cautela, antes de fazer uso de qualquer resíduo. O mais correto seria submetê-lo à legislação pertinente no país, o que não foi preconizado no trabalho de MARIANO (2006), pois a ABNT/NBR 10004:2004 tem como objetivo classificar os resíduos sólidos quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública e deve ser aplicada como diretriz para definir rotas de uso destes resíduos. Neste sentido, pode-se dizer que para todo e qualquer resíduo industrial ou proveniente da atividade agropecuária, com vistas à aplicação no solo, deve-se primeiramente fazer a devida classificação segundo a ABNT/NBR 10004:2004 e posteriormente a legislação pertinente do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), visando à maior segurança ambiental.

Ignorar o potencial que os resíduos podem apresentar é atuar contra os diferentes tratados que reforçam a preservação do meio ambiente e a redução do desperdício. Atentar

com parcimônia e responsabilidade para a utilização e/ou reutilização de resíduos pode contribuir para o crescimento e o desenvolvimento sustentável.

## 4.7 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitiram concluir que:

- ✓ A torta de PDS adicionada ao solo manteve o pH dos substratos estabilizado, onde as plantas de mamona e de girassol cresceram durante 60 dias em casa de vegetação.
- ✓ A torta de PDS não alterou a classe de fertilidade, para os parâmetros avaliados, no solo utilizado.
- ✓ A torta de PDS promoveu incremento no ganho de matéria seca da parte aérea das plantas testadas à medida que se aumentavam as doses nos tratamentos sem o contaminante até 40 Mg ha<sup>-1</sup>.
- ✓ A torta de PDS, por conter Na no seu processo de fabricação, pode ter sido fator limitante na germinação e crescimento de plantas de mamona em substratos submetidos ao contaminante.
- ✓ Ocorreram mudanças na composição de n-alcenos, nos substratos contaminados com óleo bruto, onde as plantas de girassol e mamona cresceram.
- ✓ Em ambiente contaminado, as plantas de girassol apresentaram maior acúmulo de massa seca e altura do que as plantas de mamona.

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados permitem concluir de forma geral que:

- ✓ De acordo com a ABNT/NBR 10004:2004, a torta de PDS foi classificada como Resíduo Classe II A (Não inerte);
- ✓ A torta de PDS se mostrou um resíduo orgânico que tem aplicabilidade na agricultura como fertilizante orgânico e seu encontra respaldo na legislação vigente do MAPA como fertilizante orgânico composto de classe “B”;
- ✓ A torta de PDS apresentou resultado semelhante à torta de mamona convencional, com a mesma velocidade de mineralização;
- ✓ A torta de PDS mostrou aplicabilidade em processos de biorremediação em áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo;
- ✓ A torta de PDS pode estimular a atividade microbiológica e assim, favorecer e /ou aumentar a capacidade de degradar contaminantes orgânicos, inerente a alguns micro-organismos presentes no solo;
- ✓ A torta de PDS apresentou teores de sódio elevados, que podem ser limitantes nas doses acima de  $40 \text{ Mg ha}^{-1}$ , quando da sua aplicação em processos de biorremediação;
- ✓ A torta de PDS apresentou teores de sódio elevados, que podem ser limitantes ao crescimento vegetal para as doses acima de  $40 \text{ Mg.ha}^{-1}$ ;
- ✓ Em ambiente contaminado, as plantas de girassol apresentaram maior ganho de massa seca e altura que as plantas de mamona; e
- ✓ O uso da torta de PDS em processos de biorremediação conduziu a mudança na composição final dos n-alcanos, medida por cromatografia gasosa, indicando o início de processo de degradação dos hidrocarbonetos de petróleo.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Utilização de resíduos sólidos. ABNT NBR 10004:2004 – Resíduos sólidos – Classificação. 71p.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Utilização de resíduos sólidos. ABNT NBR 10005:2004 – Procedimentos para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos. 16p.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Utilização de resíduos sólidos. ABNT NBR 10006:2004 – Solubilização de resíduos sólidos. 3p.
- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F. ALVAREZ V, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds.) Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1. p. 299-352.
- ADENIYI, A. A. & AFOLABI, J. A. Determination of total petroleum hydrocarbons and heavy metals in soils within the vicinity of facilities handling refined petroleum products in Lagos metropolis. *Environmental International*, vol. 28, pp. 79-82. 2002
- ALEF, K. Nitrogen mineralization in soils. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: Academic Press, 1995. p.234-245.
- ALEXANDER, M. *Biodegradation and bioremediation*. 2. ed. New York. Academic, 1999. 453p.
- ALKORTA, I.; GARBISU, C. Phytoremediation of organics contaminants in soils. *Bioresource Technology*, Elsevier Science, n. 79, p.273-276, 2001.
- ALMEIDA, D. L.; SANTOS, G. A.; DE-POLLI, H.; CUNHA, L. H.; FREIRE, L. R.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; PEREIRA, N. N. C.; EIRA, P. A.; BLOISE, R. M.; SALEK, R. C. *Manual de adubação para o Estado do Rio de Janeiro*. Itaguaí: Editora Universidade Rural, 1988. 179p. (Série Ciências Agrárias, 2).
- ALMEIDA, C. M.; ALMEIDA NETO, J. A.; PIRES, M. M.; ROCHA, P. K. A produção de mamona no Brasil e o Probiodiesel. In: I Congresso Brasileiro de Mamona, 2004, Campina Grande. *Energia e Sustentabilidade - Anais*, 2004.
- AMARAL, J. G. C. Tecnologias de produção agrícola. Mamona al guarany 2002. Disponível em <[http://cati.sp.gov.br/novocati/tecnologias/producao\\_agricola/manual/al\\_guarany2002](http://cati.sp.gov.br/novocati/tecnologias/producao_agricola/manual/al_guarany2002)>. Acessado em 25.06.2007.
- ANDA. Associação Nacional para Difusão de Adubos. Disponível em <<http://www.anda.org.br>>. Acessado em 26 de setembro de 2008.
- ANDERSON, T. A. & WALTON, B. T. Fate of <sup>14</sup>C trichloroethylene in the root zone of plants from a former solvent disposal site, *Environ. Toxicol. Chem.*, 14 (12): 2041-2047. 1995.
- ANDRADE, J. C. DA MATTA; TAVARES, S. R. DE LUCENA; MAHLER, C. F. *Fitorremediação – o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental – Rio de Janeiro*. Oficina de Textos, 2007. 176p.
- ATLAS NATIONAL GEOGRAPHIC: BRASIL (Volume 2). Editora Abril. São Paulo, 2008. 96p.

- AUTRY, A.R. & ELLIS, G.M. Bioremediation: An effective remedial alternative for petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *Environmental Progress*, vol. 11, n.4, pp. 318-323. 1992.
- AZEVEDO, D. M. P. de. O.; LIMA, E. F., (Ed.) O Agronegócio da mamona no Brasil. Embrapa algodão (Campina Grande – Paraíba) – Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 350p.
- BALBA, M. T.; AL-AWADHI, N.; AL-DAHER, R. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *Journal of Microbiological Methods*, v. 32, p. 155-164, 1998.
- BALIZA, D. P.; CARDOSO, M. G. C.; VILELA, F. J.; GUIMARÃES, L. G. L.; SILVA, V. F.; PEREIRA, A. A.; NETO, P. C.; FRAGA, A. C. Extração do óleo fixo da torta oriunda da prensagem industrial de sementes de *Ricinus communis* (mamona). In: I Congresso Brasileiro de Mamona, 2004, Campina Grande: Energia e Sustentabilidade - Anais. 2004. CD-ROM
- BAYER, C. & MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A; CAMARGO, F.A.O. (ed.), Fundamentos da matéria orgânica do solo - Ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 9-23. v. 1. 508p.
- BERETTA, M.; SILVA, S.M.T.; TAVARES, T.M. Evolução dos níveis de HPA's totais em sedimentos da Baía de Todos os Santos, 1994-2001, Bahia, Brasil. In: Mangrove 2003, Salvador - BA, Maio/2003. Anais do Mangrove, 2003. CD-ROM
- BETTS, K.S. New cleanup technologies battle credibility gap. *Environmental Science Technology*, v.32, p. 226A-270A, 1998.
- BEZERRA, R.G.; FREIRE, G.S.S.; PINHEIRO, R.D.; OLIVEIRA, L.C.C. Aspectos preliminares dos parâmetros hidrodinâmicos do estuário de São Francisco do Conde – Bahia. In: Mangrove 2003, Salvador - BA, Maio/2003. Anais do Mangrove, 2003. CD-ROM
- BON, J.H. Solubilização das proteínas da mamona por enzimas proteolíticas. 1977. 136p. Dissertação de Mestrado. UFRJ, Rio de Janeiro.
- BOWEN G.D. Soil temperature, root growth and plant function. In: WAISEL Y., ESHEL A., KAFKAFI, U. (Eds.), *Plant roots: the hidden half*, Marcel Dekker Pub., 1991, pp. 309-329
- BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; MIERWA, J. C.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. Introdução à engenharia ambiental: o desafio do desenvolvimento sustentável. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005. 318p.
- BRASIL, F.C. Variabilidade espacial e temporal de características morfológicas do sistema radicular de gramíneas forrageiras. 2005. 137p. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência do Solo) – Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ.
- BRASIL, 2008. Ministério de Minas e Energia. Departamento de Combustíveis Renováveis. Disponível em <<http://www.mme.go.br>> Acessado em 08/08/2008.
- BRASIL, 2005. Ministério da Agricultura - Instrução Normativa Nº 23, DE 31 DE AGOSTO DE 2005. Aprova as Definições e Normas Sobre as Especificações e as Garantias, as Tolerâncias, o Registro, a Embalagem e a Rotulagem dos Fertilizantes Orgânicos Simples, Mistos, Compostos, Organominerais e Biofertilizantes Destinados à Agricultura.
- BRASIL, 2006. Ministério da Agricultura - Instrução Normativa Nº 27, DE 05 DE JUNHO DE 2006. Dispõe sobre fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem

produzidos, importados ou comercializados, deverão atender aos limites estabelecidos nos Anexos I, II, III, IV e V desta Instrução Normativa no que se refere às concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas.

BREGNARD, T. P. A.; HÖHENER, P.; HÄNER, A.; ZEYER, J. Degradation of weathered diesel fuel by microorganisms from a contaminated aquifer in aerobic and anaerobic microcosms. *Env. Tox. Chem.*, v. 15, n. 3, p. 299-307, 1996.

BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soils*, v. 19, n. 4, 1995, p. 269-279.

CAMARGO F. A. de O.; SANTOS, G. de A.; GUERRA, J. G. M. Macromoléculas e Substâncias Húmicas. In: SANTOS, G.A; CAMARGO, F.A.O. (ed.), *Fundamentos da matéria orgânica do solo - Ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 27-39. v. 1. 508p.

CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, S.S. A rizosfera. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Ed.). *Microbiologia dos Solos*. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 41-58.

CARVALHO, B.C.L. *Manual do cultivo da mamona*. Salvador: EBDA, 2005. 65 p. il.

CETESB. *Resíduos Sólidos Industriais*. São Paulo: ACETESB. Série ATAS da CETESB, v.1. 1985. 179p.

CETESB. *Companhia de tecnologia de saneamento ambiental. Relação de áreas contaminadas no Estado de São Paulo*. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acessado em 20.09.2007.

CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO. Convênio sobre contaminantes orgânicos persistentes. Disponível em <[http://www.pops.int/documents/convtext/convtext\\_sp.Pdf](http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_sp.Pdf)>. Acessado em 19 de agosto de 2008.

COSCIONE, A. R. Métodos de análise de resíduo. *Reciclagem de resíduos urbanos e industriais no solo agrícola*. IAC – Campinas, SP. 21 a 23 de março de 2006. Curso. 17p.

COSTA, F. X.; SEVERINO, L. S.; BELTRÃO, N. E. de M.; FREIRE, R. M. M.; LUCENA, A. M. A.; GUIMARÃES, M. M. B. Composição Química da torta de mamona. In: *I Congresso Brasileiro de Mamona, 2004, Campina Grande: Energia e Sustentabilidade - Anais, 2004*. CD-ROM.

COSTA, A. Aproveitamento de tortas de oleaginosas como fertilizante orgânico. In: *Fertbio (XXVIII Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, XII Reunião Brasileira sobre Micorrizas, X Simpósio Brasileiro de Microbiologia do solo, VII Reunião Brasileira de Biologia do Solo)*, Londrina, PR. 15 a 19 de setembro de 2008. Anais, 2008.

CRAPEZ, M.A.C.; BISPO, M.G.S.; FALCÃO, M.C.; SILVA, F.S.; FONTANA, L.F.; KREPSKY, N. Biorremediação em plantas de manguezal impactado por petróleo. In: *Mangrove 2003, Salvador - BA, Maio/2003*. Anais do Mangrove, 2003.

CURRIER, H.B.; PEOPLES, S.A. Phytotoxicity of hydrocarbons. *Hilgardia*, v.23, p.155-160, 1954.

DAL FORNO, R. G. Avaliação da poluição do solo por derivados de petróleo e sua remediação. *Dissertação (Mestrado)*. 2006. 61p. Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências Agrárias.. Curitiba, PR.

- DEL'ARCO, J. P. Degradação de hidrocarbonetos por bactérias e fungos em sedimento arenoso. Dissertação. (Mestrado em ciências). 1999. 171p. UFRJ/EQ Rio de Janeiro.
- DENUCCI, S. Catisol 1 - Óleo biocombustível ecológico. Disponível em <[http://www.cati.sp.gov.br/novocati/tecnologias/producao\\_agricola/oleo\\_biocombustivel\\_ec](http://www.cati.sp.gov.br/novocati/tecnologias/producao_agricola/oleo_biocombustivel_ec)> Acessado em 21.06.2007.
- DEUEL, L.E. & HOLLIDAY, G.H. Soil remediation for the petroleum extraction industry. PennWell, 2nd. Ed., TULSA, USA. 242p. 1997.
- DING, A.; ZHANG, Z.; FU, J.; CHENG, L. Biological control of leachate from municipal landfill. *Chemosphere*, 44: 1-8, 2001.
- DURRANT, L.R.; VASCONCELOS, C.K.; CLEMENTE, A.R. Estudo da degradação de hidrocarbonetos policíclicos por fungos lignolíticos para aplicação em processo de biorremediação. In: Biodegradação. MELO, I. S., SILVA, C. M. M. S., SCRAMIN, S., SPESSOTO, A. Embrapa Meio ambiente – Jaguariúna, SP, 2001. 211-213, 426p.
- EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro. 1997. 212p.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa do Algodão. Produtos. Mamona. Disponível em: <<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/index.html>>. Acessado em 20.10.2006.
- EPA - US Environmental Protection Agency. Recent Developments for In Situ Treatment of Metal Contaminated Soils, EPA, March, 1997, EPA 542R97004, 104 p.
- EPA - US Environmental Protection Agency. Superfund. Disponível em <<http://www.epa.gov/superfund/index.htm>>. Acessado em 18 de dezembro de 2008.
- ÉPOCA. Época em debate: Biocombustíveis. Revista Época. Edição especial. n. 526. Editora Globo, Rio de Janeiro. Jun 2008. p. 68-82.
- ÉPOCA. Biocombustíveis: energia verde. Revista Época. n. 534. Suplemento especial. Editora Globo, Rio de Janeiro. Ago 2008. 20 p.
- EVANGELISTA, A. R.; ABREU, J. G.; PERON, A. J.; FRAGA, A. C.; NETO, P. C. Avaliação da composição química de tortas de mamona e amendoim obtidas por diferentes métodos de extração de óleo. In: I Congresso Brasileiro de Mamona, 2004, Campina Grande: Energia e Sustentabilidade - Anais, 2004.
- FAGUNDES, J. D.; SANTIAGO, G.; MELLO, A. M.; BELLÉ, R. A.; STRECK, N. A. Crescimento, desenvolvimento e retardamento da senescência foliar em girassol de vaso (*Helianthus annuus* L.): fontes e doses de nitrogênio. *Ciência Rural*. Santa Maria. Jul-Ago 2007. v. 37, n. 4, p. 987-993.
- GALLEGO, J. L. R.; LOREDO, J.; LLAMAS, J. F.; VÁZQUEZ, F.; SÁNCHEZ, J. Bioremediation of diesel-contaminated soils: Evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. *Biodegradation*, v.12, p.325-335, 2001
- GARTLAN, J.S.; McKEY, D.B.; WATERMAN, P.G.; MBI, C.N.; STRUTSAKE, T.T.; BATE-SMITH, E.C. The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. *Dicotyledons. J. Lin. Soc. London (Bot.)* 58:95-173. 1980.
- GIORDANI, C.; ZANCHI, C.; CECCHI, S. Phytoremediation of soil polluted by nickel using agricultural crops. *Environmental Management*. 2005. v. 36, n. 5, pp. 675-681
- GLICK, B.R. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnological Advances*, v.21, p.383-393, 2003.

- GLYPHIS, J.P. & PUTTICK, G.M. Phenolics in some Southern African Mediterranean shrubland plants. *Phytochemistry* 27:743-751. 1988.
- GOLDEMBERG, J.; VILLANUEVA, L.D. Energia, meio ambiente e desenvolvimento. São Paulo: Editora da Unversidade de São Paulo, 2003. 226p.
- GRISI, B. M. Metodologia da determinação de biomassa microbiana de solo. *Revista brasileira de ciência do solo*. 8:167-172, 1984.
- IPEN. International POPs Elimination Network Disponível em <<http://www.ipen.org>>. Acessado em 19 de agosto de 2008.
- ISTO É. O petróleo é todo nosso. *Revista Isto é*. Edição especial. Editora Três, Rio de Janeiro, 2006. 146p.
- JACQUES, R.J.S.; BENTO, F.M.; ANTONIOLLI, Z.I.; CAMARGO, F.A.O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. In: *Ciência Rural*. Santa Maria. Jul-Ago 2007. v. 37, n. 4, p. 1192-1201. 2007.
- KIEHL, E. J. Fertilizantes orgânicos. Piracicaba; Editora Agronômica Ceres, 1985. 492p.:il.
- KORNDORFER, G.H. Elementos benéficos. In: FERNANDES, M.S. *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa, SBCS, 2006. p. 355-374.
- KONNUR, R.; SUBBARAO, E.C. Biogas form de-oiled castor cake. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON CASTOR SEED, CASTOR OIL AND ITS VALUE ADDED PRODUCTS. Proceedings. Ahmedabad: The Solvent Extractors Association of India, 2004. p.31-35.
- LIMA, R. L.S.; SEVERINO, L. S.; ALBUQUERQUE, R. C.; BELTRÃO, N. E. M. Avaliação da casca e da torta de mamona como fertilizante orgânico. Congresso Brasileiro de Mamona, II, 2006, Aracaju. Energia e sustentabilidade. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. CD-ROM
- LINHARES, M. M. & SEABRA, P.N. Método para avaliação da aplicabilidade e taxa de aplicação de resíduos em solo. *Boletim técnico*. Petrobrás. Rio de Janeiro, RJ. 34 (1): 49-52, jan-mar. 1991.
- MALAVOLTA, E. Seminário sobre corretivos agrícolas. Trabalhos apresentados no seminário sobre corretivos agrícolas realizado em Piracicaba, de 21 a 29 de agosto de 1983. Campinas. Fundação Cargil, 1985. v, 375 p.
- MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral de plantas. Editora Agronômica Ceres . São Paulo, 1980. 251 p.
- MARANHÃO, L. T.; GALVÃO, F.; PREUSSLER, K.H.; MUÑIZ, G.I.B.; KUNIYOSHI, Y. S. Efeito da poluição por petróleo na folha de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., Podocarpaceae. *Acta botânica brasileira*. 20 (3): 615-624. 2006.
- MARCHAL, R.; PENET, S.; SOLANO-SERENA, F.; VANDECASTEELE, J. P. Gasoline and diesel oil biodegradation. *Oil & Gas Science Technology – Ver. IFP*, v. 58(4), p. 441-448, 2003.
- MARIANO, A. P. Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel. Tese (Doutorado). 2006 – Instituto de Geociências e Ciências Exatas Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 162p.
- MENDONÇA, E.S.; MATOS, E.S. Matéria orgânica do solo: métodos de análises. Viçosa, UFV, 2005. 107p.

- MERKL, N.; SCHULTZE-KRAFT, R.; INFANTE, C. Phytoremediation in the tropics – influence of heavy crude oil on root morphological characteristics of graminoids. *Environmental Pollution*, v.138, p.86-91, 2005.
- MEURER, E.J. Fundamentos da química do solo. 3a . Ed. Porto Alegre: Evangraf, 2006. 285p.:il.
- MIELNICZUK, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G.A; CAMARGO, F.A.O. (ed.), Fundamentos da matéria orgânica do solo - Ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 1-8. v. 1. 508p.
- MILLER, G. T. Living in the environment. Califórnia: Wadsworth Pub. Inc., 1985. 603p.
- MILLIOLI, V.S.; OLIVEIRA, F.R. Utilização da técnica de bioestímulo, avaliando-se parâmetros como relação nutricional e umidade na biorremediação de solo contaminado com óleo cru. CT2005-152-00 – Comunicação Técnica a XIII Jornada de Iniciação Científica do CETEM, 13-14 de julho de 2005, Rio de Janeiro, RJ. CD-ROM
- MIRANDA, G. R. B.; MONTERIO, J. V.; AVELAR, R. C.; FRAGA, A. C.; NETO, P. C.; GUIMARÃES, R. J. Avaliação da temperatura de substratos contendo torta de mamona na produção de mudas de cafeeiro. Congresso Brasileiro de Mamona, II, 2006, Aracaju. Energia e sustentabilidade. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. CD\_ROM
- MOLE, S. & WATERMAN, P.G. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of Rain-Forests plants. II. Potential significance to herbivores. *J. Chem. Ecol.* v.14:23-34, 1988.
- MOLINA-BARAHONA, L.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R.; HERNÁNDEZ-VELASCO, M.; VERGA-JARQUÍN, C.; ZAPATA-PÉREZ, O.; CANTÚ-MENDOZA, A.; ALBORES, A. Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. *Applied Soil Ecology*, v.27: 165-175, 2004.
- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras, Editora da UFLA, 2002. 626p.
- MORENO, F.N. & CORSEUIL, H. X. Fitorremediação de aquíferos contaminados por gasolina. *Eng. Sanitária Amb.*, v.6:1-7, 2001.
- NALON, L.; FARIA, A. U.; MELO, G. M. P.; MELO, V. P.; MELO, W. J. . Identificação de plantas fitoremediadoras em áreas contaminadas por chumbo. In: FERTIBIO 2004, 2004, LAGES - SC. FERTIBIO 2004, 2004. CD-ROM
- NANNIPIERI, P.; JOHNSON, R.L.; PAUL, E.A. Criteria for measurement of microbial growth and activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.10, p.223-229, 1978.
- NELLESEN, J.E. AND FLETCHER, J.S. (1993). Assessment of published literature pertaining to the uptake/accumulation, translocation, adhesion and biotransformation of organic chemicals by vascular plants, *Environ. Toxicol. and Chem.*, 12: 2045-2052.
- NUNES, I. J. Alimentos usados em nutrição animal. *Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG*, Belo Horizonte, v.5, p.27-46, 1991.
- NYER, E.K. GATTLIFF, E.G. Phytoremediation, *GWMR*, winter, p.58-62, 1996.
- NYER, E.K.; PALMER, P.L. In situ treatment technology. *Environmental Technology*, January – February, 1997, pp.22 (v.30).
- O GLOBO. Caderno de economia. *Jornal O GLOBO* de 11 de maio de 2008. Ano LXXXIII – n. 27.307.

- PELCZAR, M. J.; REID, R. & CHAN, E.C.S. Microbiologia. 2.ed. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. 566p.
- PÈREZ-ARMENDÁRIZ, B.; LOERA-CORRAL, O.; FERNÁNDEZ-LINARES, L.; ESPARZA-GARCÍA, F. & RODRÍGUEZ-VAZQUEZ, R. Biostimulation of micro-organisms from sugarcane bagasse pith for the removal of weathered hydrocarbon from soil. *Letters in Applied Microbiology*, 38, 373-377. 2004.
- PAUL, E.A. & CLARK, F.E. Soil microbiology and biochemistry. New York: Academic Press, 1989. 273p.
- PIECHALAK, A.; TOMASZEWSKA, B.; BARALKIEWICZ, D.; MALECKA, A. Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. *Phytochemistry*, 60: 153-162, 2002.
- PRITCHARD, H. F.; COSTA, C.F. EPA's Alaska oil spill bioremediation project. *Environmental Science Technology*. v.25, 372-379, 1991.
- RAIJ, B. VAN.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. Campinas: IAC, 1996. (Boletim Técnico, 100). 285p.
- RAIMUNDO, R. S.; RIZZO, A. C. de L. Avaliação da biodisponibilidade de óleo cru em solo. Disponível em: <[http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie\\_anais\\_XI\\_jic\\_2003/24\\_JIC\\_2003.pdf](http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie_anais_XI_jic_2003/24_JIC_2003.pdf)>. Acessado em 19.01.2008.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5º Aproximação. Viçosa, MG, 1999. 359p.
- ROMEIRO, S. Potencial de *Ricinus communis* L. *Helianthus annuus* L. e *Canavalia ensiformes* L. como extratoras de chumbo em solução nutritiva. 2005, 84f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico, Campinas, 2005.
- ROMEIRO, S. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. Campinas: Bragantia. 2007. v.66. n. 2, p.337-334.
- SANTOS, R. F.; BARROS, M. A. L., MARQUES, F. M.; FIRMINO, P. T.; REQUIAO, L. E. G. Análise Econômica. In: AZEVEDO, D.M.; LIMA, E.F. (Ed.) O agronegócio da mamona no Brasil. Embrapa Algodão (Campina Grande – Paraíba) – Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 17 – 35.
- SANTOS, G.C.G. & RODELLA, A.A. Efeito da adição de fontes de matéria orgânica como amenizantes do efeito tóxico de B, Zn, Cu, Mn e Pb no cultivo de *Brassica juncea*, *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa (MG), v.31, n.4, p.793-804. 2007.
- SAVY FILHO, A.; BANZATTO, N.V.O mercado está para a mamona. *Casa da Agricultura*, v. 5, n.5, p. 12-15, 1983.
- SCHUNERT, I. Transformation and degradation of pesticides in soils - Role of soil microorganisms. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3., REUNIÃO DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO DE ESTIRPES DE RHIZOBIUM E BRADYRHIZOBIUM, 6, Londrina, 1994. Resumos. Londrina: IAPAR, 1994. p.13.
- SCHNOOR, J.L.; LICHT, L.A.; MCCUTCHEON, S.C.; WOLFE, L.N. & CARREIRA, L.H. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ., Sci. and Technol.*, 29 (7): 318-323a. 1995.
- SEABRA, P.C.C. Uso de tensoativos na mobilização e biodegradação de óleo diesel em solos impactados. Dissertação (Mestrado). 1997 - COPPE. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

- SEABRA, P.C.C. Uso de biorremediação em áreas impactadas pela indústria de petróleo. In: MELO, I.S.; SILVA, C.M.M.S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. Biodegradação. Embrapa Meio Ambiente – Jaguariúna, SP, 2001. 41-59p.
- SEVERINO, L.S.; COSTA, F.X.; BELTRÃO, N.E.M.; LUCENA, A.M.A.; GUIMARÃES, M.M.B. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.5, n.1, 2004. 6 p.
- SEVERINO, L.S.; MORAES, C.R.A.; GONDIM, T.M.S.; CARDOSO, G.D.; SANTOS, J.W. Fatores de conversão do peso de cachos e frutos para peso de sementes de mamona. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 15p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 56).
- SEVERINO, L.S. O que sabemos sobre a torta de mamona. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 31p. (Documentos, 134)
- SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O.; CERETTA, C.A. Composição da fase sólida orgânica do solo. In: MEURER, E.J. Fundamentos da Química do Solo. 3a. Ed. Porto Alegre: Evangraf, 2006. 285p.:il.
- SILVA, I.R. & MENDONÇA, E.S. Matéria Orgânica do Solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (eds) Fertilidade do Solo, Viçosa, MG; SBCS, 2007. p. 276-374.
- SILVA, C.M.M.S. O fenômeno da biodegradação acelerada de pesticidas. In: MELO, I. S., SILVA, C. M. M. S., SCRAMIN, S., SPESSOTO, A. (eds.) Biodegradação. Embrapa Meio ambiente – Jaguariúna, SP, 2001. 15-28p.
- SKLADANY, G.J.; METTING, Jr, F.B. Biorremediation of contaminated soil. In: METTING Jr, F.B. Soil Microbial Ecology. Applications in Agricultural and Environmental Management. New York. 1993, 483-513.
- SLOAN, N.A. Oil impacts on cold-water Marine Resources: A review relevant to Parks Canada's evolving Marine Mandate. Occasional Paper 11. 1999. 67p.
- TAIOLI, F. Recursos energéticos. In: TEIXEIRA, W.; TOLEDO, M. C. M.; FAIRCHILD, T. R.; TAIOLI, F. Decifrando a Terra. São Paulo: Oficina de Textos. 2000. p. 471-489.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S.J. Análises de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim técnico, 5).
- TRINDADE, P.V.O. Avaliação das técnicas de bioaumentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo. 2002. 127p. (Dissertação de Mestrado). Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ. 2002.
- TRINDADE, A.V.; ACCIOLY, A.M.A. Transformação e uso de resíduos orgânicos no Nordeste. In: FERTBIO (Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, Reunião Brasileira sobre Micorrizas, Simpósio Brasileiro de Microbiologia do solo, Reunião Brasileira de Biologia do Solo), 2006, Bonito, MS. Fertbio - A busca das raízes. Série Documentos. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. v. 82. CD-ROM.
- TSAI, S.M.; BARAIBAR, A.V.L.; ROMANI, V.L.M. Efeitos de fatores físicos e químicos sobre os microrganismos do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (eds). Microbiologia do Solo. Campinas: SBCS, 1992. p.59-72.

UDESHEI, V. The present status of castor oil industry. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON CASTOR SEED, CASTOR OIL AND ITS VALUE ADDED PRODUCTS. Proceedings ... Ahmedabad: The Solvent Extractors Association of India, 2004. p.36-38.

VALOR ECONÔMICO. Incerteza cerca a produção de mamona para biodiesel. Disponível em: <<http://www.valoronline.com.br>>. Acessado em 07.11.2006.

VEJA. Revista Veja. Edição 2052 – Ano 41 – n. 11. Editora Abril, São Paulo. Mar 2008. 158p.

VIEIRA, F.C.S.; NAHAS, E. Microbial counts of dark red latosol samples stored at different temperatures. Revista de Microbiologia, São Paulo, v.29, p.159-163, 1998.

XU, J.G.; JOHNSON, R.J. Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and un-contaminated soils planted to barley and field pea. Plant and Soil, v.173, p.3-10, 1995.

WATER QUALITY: GUIDELINES, STANDARDS AND HEALTH – Assessment of risk and risk management for water-related infectious disease. BARTRAM, J.; FEWTRELL, L. (eds.), World Health Organization, IWA Publishing, London, UK. (2001). 413p.

YAMAOKA, R.S. Plantas para produção de biodiesel e aproveitamento das tortas para adubação orgânica do solo. In: Fertbio (XXVIII Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, XII Reunião Brasileira sobre Micorrizas, X Simpósio Brasileiro de Microbiologia do solo, VII Reunião Brasileira de Biologia do Solo), Londrina, PR. 15 a 19 de setembro de 2008. Anais, 2008. CD-ROM

ZONTA, E. Estudos da tolerância ao alumínio em arroz de sequeiro e seus efeitos sobre a interface solo-planta. 2003. 139p. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ. 2003.

ZONTA, E.; BRASIL, F.C.; GOI, S.R.; ROSA, M.M.T. O sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico. In: Nutrição Mineral de Plantas. In: FERNANDES, M.S. (ed.) Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.7-52.

ZONTA, E.; LIMA, E.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; MAZUR, N.; OLIVEIRA, C.; PORTZ, A.; FREITAS, F.C.; BOECHAT, A.E.A.; GUEDES, J.N. CARVALHO, A.O.; POLIDORO, J.C.; BALIEIRO, F.C.; BRASIL, F.C.; CEDDIA, M.B.; FRAGA, M.E.; ZOFFOLI, H.J.O. Potencial de aplicação da torta de mamona na agricultura, na remediação de áreas impactadas e na recuperação de áreas degradadas. PETROBRAS, 2008. 97p. Relatório Técnico.