

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL**

**USO DA RESPIROMETRIA PARA AVALIAÇÃO DA  
BIODEGRADAÇÃO AERÓBIA DE LIXIVIADO DE  
RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS EM LATOSSOLO  
VERMELHO-ESCURO**

**MELISSA RIANI COSTA**

**ORIENTADORA: ARIUSKA KARLA BARBOSA AMORIM  
CO-ORIENTADOR: RICARDO SILVEIRA BERNARDES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL E  
RECURSOS HÍDRICOS**

**PUBLICAÇÃO: PTARH.DM – 125/09**

**BRASÍLIA/DF: DEZEMBRO – 2009**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL**

**USO DA RESPIROMETRIA PARA AVALIAÇÃO DA  
BIODEGRADAÇÃO AERÓBIA DE LIXIVIADO DE RESÍDUOS  
SÓLIDOS URBANOS EM LATOSSOLO VEMELHO-ESCURO.**

**MELISSA RIANI COSTA**

**DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO DEPARTAMENTO DE  
ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL DA FACULDADE DE  
TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA COMO PARTE  
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU  
DE MESTRE EM TECNOLOGIA AMBIENTAL E RECURSOS  
HÍDRICOS.**

**APROVADA POR:**

---

**Prof<sup>a</sup> Ariuska Karla Barbosa Amorim, Doutora (ENC-UnB)  
(Orientadora)**

---

**Prof<sup>a</sup> Cristina Celia Silveira Brandão, PhD (ENC-UnB)  
(Examinadora Interna)**

---

**Prof. Fernando Fernandes, Doutor (UEL)  
(Examinador Externo)**

**BRASÍLIA/DF, 04 DE DEZEMBRO DE 2009**

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

COSTA, MELISSA RIANI

Uso da respirometria para avaliação da biodegradação aeróbia de lixiviado de resíduos sólidos urbanos em Latossolo Vermelho-Escuro. [Distrito Federal] 2009.

xvii, 109p., 210 x 297 mm (ENC/FT/UnB, Mestre, Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, 2009).

Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

1. Biodegradação

2. Solo

3. Lixiviado de resíduos sólidos urbanos

4. Respirometria

I. ENC/FT/UnB

II. Título (série)

## **REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

COSTA, M. R. (2009). Uso da respirometria para avaliação da biodegradação aeróbia de lixiviado de resíduos sólidos urbanos em Latossolo Vermelho-Escuro. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM - 125/09, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 109p.

## **CESSÃO DE DIREITOS**

AUTORA: Melissa Riani Costa.

TÍTULO: Uso da respirometria para avaliação da biodegradação aeróbia de lixiviado de resíduos sólidos urbanos em Latossolo Vermelho-Escuro.

GRAU: Mestre

ANO: 2009

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. A autora reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito da autora.

---

Melissa Riani Costa  
[melissariani@gmail.com](mailto:melissariani@gmail.com)

*Dedico este trabalho aos meus pais, José Luiz e Amarilis.*

## Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus, por cuidar de cada passo em minha vida;

Aos meus amados pais, José Luiz e Amarilis, que são a minha estrutura, por me mostrarem, sempre de forma tão natural, os verdadeiros valores da vida, pelo amor incondicional e por se fazerem presentes a cada segundo;

Aos meus queridos avós, Aristóteles, Clotilde (*in memorian*), Caetano (*in memorian*) e Rosalinda (*in memorian*) por tanto amor e pelos exemplos que são e sempre serão;

Aos meus irmãos Luga, Lipe, Léo, Lara e Carla, por serem exemplos de esforço, responsabilidade, felicidade e pelo amor;

Ao Bruno, pelo amor, paciência, presença e cuidado; e a sua família, Ednardo, Luzdalma e Elisa por serem um pouco da minha família aqui em Brasília;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida;

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Ariuska, pelo apoio, incentivo e conselhos;

Ao meu co-orientador, Prof<sup>o</sup> Ricardo, pelas importantes idéias;

À Prof<sup>a</sup> Dejanira e ao Zito, pelo enorme auxílio neste trabalho, pelas análises de toxicidade, pela atenção e por serem sempre tão prestativos e profissionais;

À Yovanka, pela fundamental ajuda nos testes estatísticos e pela amizade;

Ao Adriano, pelas inúmeras vezes em que me explicou e deu dicas a respeito de experimentos respirométricos;

Ao pessoal do Laboratório, Boy, Júnior, Marcilene e Rosely, pela ajuda fundamental e pela diversão, mesmo nos momentos de trabalho;

A todos os professores do PTARH, Marco Antonio, Cristina, Koide, Oscar, Góes, Néstor e Nabil pelos importantes ensinamentos transmitidos;

Ao Frederico pela compreensão e pelo apoio.

Ao meu amigo Bruno Pará, pela ajuda nos experimentos em laboratório;

A todos amigos do mestrado, especialmente: Amanda, Dayany, Marcely, Marcilene, Lícia, Débora, Alessandra, Orlandina, Leonor, Maria, Glenda, Elvira, Liane, Jaque, Bernardo, Távora, Davi, Diego, Gustavo e Ronaldo, pela amizade e pelos momentos de descontração;

Aos meus primos e amigos de sempre, especialmente: Marina, Livia, Maíra, Cássia, Acácio, Rafaela, Samile e Cíntia, por serem inesquecíveis e ainda presentes;

Aos amigos do trabalho, Patrícia, Flávia, Nara e especialmente ao Fabrício pelas dicas computacionais.

## RESUMO

A grande quantidade de lixões abandonados e que serão desativados gera a necessidade de remediação de solos contaminados com lixiviado de resíduos sólidos urbanos (RSU). A biorremediação surge como alternativa a ser implementada em áreas contaminadas, utilizando microrganismos capazes de consumir os poluentes presentes no resíduo. O principal objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de biodegradabilidade de amostras de lixiviado de RSU em Latossolo Vermelho-Escuro, característico de Brasília, além de avaliar a utilização da respirometria como ferramenta para acompanhamento da biodegradação aeróbia de lixiviado de RSU e para identificação de solo contaminado por substância tóxica. Para a quantificação do CO<sub>2</sub> produzido foram utilizados Respirômetros de Bartha, que continham solução de KOH. Os experimentos respirométricos foram divididos em duas etapas: a primeira consistiu na utilização de amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, e na segunda foram utilizadas amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica (HgCl<sub>2</sub>). Cada teste contemplava três tratamentos, em triplicata. Em um dos tratamentos foi inserido lixiviado bruto nas amostras de solo, em outro lixiviado diluído com água destilada na proporção 1:1 e no tratamento controle inseriu-se apenas água destilada. A quantidade de lixiviado ou água destilada inserida foi correspondente a 60% da Capacidade de Campo do solo utilizado, visando fornecer umidade aos microrganismos sem tornar o solo saturado e anaeróbio. Os resultados demonstraram que, ao final dos 50 dias de experimento com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, foi observada Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub> (em mg/50 g de solo) de aproximadamente 181 nos respirômetros com lixiviado bruto; 173 nos respirômetros com lixiviado diluído; e 154 nos respirômetros controle. O valor de produção de CO<sub>2</sub> obtido nos seis primeiros dias de monitoramento foi de cerca de 85% da produção máxima teórica de CO<sub>2</sub> estimada com base na DBO<sub>U</sub>, o que indica atividade microbiana e demonstra o potencial dos microrganismos em tratar o solo estudado quando contaminado com o lixiviado de RSU analisado. Os resultados do Teste com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, ao final do período de 41 dias de incubação, apresentaram Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub> (em mg/50 g de solo) de aproximadamente 120 nos respirômetros controle; 99 nos respirômetros com lixiviado contaminado diluído; e 69 nos respirômetros com lixiviado contaminado bruto, indicando que os microrganismos do lixiviado de RSU provavelmente foram afetados pelo mercúrio inserido, o que dificultaria a aplicação de um processo de biorremediação em solos contaminados por lixiviado com alta toxicidade.

## ABSTRACT

The large number of dumps abandoned and which will probably be disabled in the next future generates need for soils' remediation, especially those contaminated with municipal solid waste (MSW) leachate. On the other hand, bioremediation is a technology to be implemented in contaminated areas, using microorganisms which are capable to consume pollutants present in the residue. In this context, the main objective of this research was to evaluate the potential degradation of MSW's samples of leachate in Dark Red Latosol - the most common in Brasilia's region. Furthermore, the use of respirometry as a technique for monitoring the MSW's aerobic leachate's biodegradation and identification of soil contaminated by toxic substances was also investigated. Hence, the respirometric experiments were carried out in Bartha's Respirometer and were divided into two stages: the former used soil samples contaminated by MSW's leachate and the latter analyzed soil contaminated by MSW's leachate added to toxic substance ( $\text{HgCl}_2$ ). Each test contemplated three treatments in triplicate: one used raw leachate in soil samples; the other held leachate diluted with distilled water in 1:1 ratio and, in the last one (control treatment), only distilled water was added. In all these experiments, the amount of leachate or distilled water inserted corresponded to 60% of the soils' field capacity, in order to provide moisture to the microorganisms without making the soil saturated or anaerobic. The final results obtained showed that, by the end of 50<sup>th</sup> day in the experiment with soil's samples contaminated only with MSW's leachate, the average  $\text{CO}_2$ 's accumulated production were - in milligrams per 50 grams of soil - about of 181 in respirometers with raw leachate; 173 in respirometers with diluted leachate and 154 in control respirometers. Moreover, the  $\text{CO}_2$ 's production obtained in the first of the six days of constant monitoring was approximately 85% of the maximum theoretical production - these estimated by the Ultimate BOD. Those results indicate that the most organic matter readily biodegradable was consumed very quickly and demonstrate the great microorganisms' potential to promote bioremediation in areas contaminated with MSW's leachate. Instead, the test samples containing soil contaminated by MSW's leachate and toxic substance showed that, by the end of the 41-day-incubation-period, the  $\text{CO}_2$ 's average accumulated production was - in milligrams per 50 grams of soil - about of 120 in control respirometers, 99 in respirometers contaminated with diluted leachate and 69 in respirometers contaminated with raw leachate. These numbers indicate that MSW's leachate microorganisms were probably affected by mercury added, which makes very difficult the application of bioremediation's process for soils contaminated by leachate containing high toxicity.

## SUMÁRIO

<b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 – OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
2.1 - OBJETIVO GERAL .....	3
2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
<b>3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
3.1 - RESÍDUOS SÓLIDOS.....	4
3.1.1 - Disposição final dos Resíduos Sólidos Urbanos .....	5
3.1.2 - Geração do lixiviado de RSU, suas características e impacto ambiental ....	6
3.2 - A TECNOLOGIA DE BIORREMEDIAÇÃO.....	12
3.2.1 - Vantagens e desvantagens do processo de biorremediação .....	14
3.2.2 - Fatores que interferem no processo de biorremediação em solos.....	16
3.3 - MÉTODO RESPIROMÉTRICO.....	21
3.4 - CRESCIMENTO BACTERIANO EM SISTEMAS DE BATELADA .....	24
3.5 - UTILIZAÇÃO DE RESPIRÔMETROS DE BARTHA PARA AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE CONTAMINANTES.....	26
<b>4 - MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
4.1 – APARATO EXPERIMENTAL .....	35
4.2 – DESENVOLVIMENTO DOS TESTES RESPIROMÉTRICOS .....	37
4.2.1 – Tratamento dos dados respirométricos .....	39
4.3 – COLETA DAS AMOSTRAS DE SOLO .....	41
4.4 – PARÂMETROS DO SOLO ANALISADOS EM LABORATÓRIO PARA FUNDAMENTAR OS EXPERIMENTOS RESPIROMÉTRICOS .....	44
4.5 - COLETA DAS AMOSTRAS DE LIXIVIADO DE RSU .....	46
4.6 – PARÂMETROS DAS AMOSTRAS DE LIXIVIADO ANALISADOS EM LABORATÓRIO PARA FUNDAMENTAR OS TESTES RESPIROMÉTRICOS.....	47
4.7 – QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS EM AMOSTRAS DE SOLO E DE LIXIVIADO DE RSU .....	50
4.8 – TESTES DE TOXICIDADE DAS MISTURAS SOLO-LIXIVIADO E DO SOLO CONTROLE, COM <i>Daphnia similis</i> .....	51
4.9 – ANÁLISE DOS DADOS .....	53



<b>5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>5.1 – CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA DE SOLO E DAS AMOSTRAS DE LIXIVIADO DE RSU UTILIZADAS NOS TESTES RESPIROMÉTRICOS .....</b>	<b>55</b>
<b>5.2 – QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS NAS AMOSTRAS DE SOLO E DE LIXIVIADO DE RSU .....</b>	<b>57</b>
<b>5.3 – TESTE RESPIROMÉTRICO COM AMOSTRAS DE SOLO CONTAMINADAS COM LIXIVIADO DE RSU.....</b>	<b>59</b>
<b>5.3.1 – Teor de Umidade e de Sólidos Voláteis nas amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.....</b>	<b>59</b>
<b>5.3.2 – Medidas de CO<sub>2</sub> no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU .....</b>	<b>60</b>
<b>5.4 – DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO MANOMÉTRICA: ESCOLHA DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIA TÓXICA.....</b>	<b>65</b>
<b>5.5 – TESTE RESPIROMÉTRICO COM AMOSTRAS DE SOLO CONTAMINADAS COM LIXIVIADO DE RSU E SUBSTÂNCIA TÓXICA – HgCl<sub>2</sub> .....</b>	<b>69</b>
<b>5.5.1 – Teor de Umidade e de Sólidos Voláteis nas amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica.....</b>	<b>69</b>
<b>5.5.2 – Medidas de CO<sub>2</sub> no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica.....</b>	<b>71</b>
<b>5.6 – ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS RESPIROMÉTRICOS .....</b>	<b>74</b>
<b>5.7 – TESTE DE TOXICIDADE COM ORGANISMOS <i>Daphnia similis</i> .....</b>	<b>77</b>
<b>5.8 – TEOR DE ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS DO LIXIVIADO E ESTIMATIVA DA EFICIÊNCIA DE BIODEGRADAÇÃO .....</b>	<b>78</b>
<b>5.9 – PRODUÇÃO MÁXIMA DE CO<sub>2</sub> COM BASE NA DBO<sub>U</sub> .....</b>	<b>81</b>
<b>5.10 – TRATAMENTO DO LIXIVIADO DE RSU EM SOLO: ALTERNATIVA PARA PEQUENOS ATERROS .....</b>	<b>82</b>
<b>6 – CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>84</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>95</b>
<b>APÊNDICE A – OPERAÇÃO DOS RESPIRÔMETROS .....</b>	<b>96</b>
<b>APÊNDICE B – PREPARAÇÃO DOS REAGENTES .....</b>	<b>98</b>
<b>APÊNDICE C – METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE DETERMINADOS PARÂMETROS EM AMOSTRAS DE SOLO .....</b>	<b>100</b>

<b>C.1 - Densidade Aparente, Umidade Residual e Capacidade de Campo.....</b>	<b>100</b>
<b>C.2 - Teor de Umidade .....</b>	<b>102</b>
<b>C.3 - Teor de Sólidos Voláteis .....</b>	<b>102</b>
<b>C.4 - Bactérias heterotróficas.....</b>	<b>102</b>
<b>APÊNDICE D – METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE DETERMINADOS PARÂMETROS EM AMOSTRAS DE LIXIVIADO DE RSU.....</b>	<b>104</b>
<b>D.1 - Bactérias heterotróficas.....</b>	<b>104</b>
<b>D.2 - Ácidos Graxos Voláteis .....</b>	<b>104</b>
<b>APÊNDICE E – METODOLOGIA PARA SOLUBILIZAÇÃO DAS MISTURAS E POSTERIOR APLICAÇÃO DE TESTES DE TOXICIDADE .....</b>	<b>106</b>
<b>APÊNDICE F – TABELAS DE PRODUÇÃO DE CO<sub>2</sub> (µmol) PARA OS TRATAMENTOS DOS TESTES RESPIROMÉTRICOS .....</b>	<b>107</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Dados típicos da composição química do lixiviado de aterros (Tchobanoglous <i>et al.</i> , 1993).	9
Tabela 3.2: Composição do lixiviado de aterros sanitários de diferentes localidades brasileiras (Moser, 2003).	10
Tabela 3.3: Composição química do lixiviado do Aterro Controlado Jockey Club (Santos, 1996).	11
Tabela 3.4: Tecnologias de Tratamento de Biorremediação (Baker e Herson, 1994).	14
Tabela 3.5: Aceptores de elétrons típicos nas reações de tratamento biológico (von Sperling, 1996).	18
Tabela 3.6: Informações gerais de estudos que avaliaram a biodegradação aeróbia de substâncias por meio da respirometria.	26
Tabela 4.1: Caracterização física do solo da Área Experimental de Biologia (Leite, 2001).	43
Tabela 4.2: Parâmetros analisados na caracterização das amostras de lixiviado de RSU.	47
Tabela 5.1: Caracterização do solo utilizado nos Testes Respirométricos.	56
Tabela 5.2: Caracterização do lixiviado utilizado no Primeiro Teste Respirométrico (que não recebeu HgCl <sub>2</sub> ) e no Segundo Teste Respirométrico (que recebeu HgCl <sub>2</sub> ).	56
Tabela 5.3: Número de UFC de bactérias heterotróficas no solo; nas misturas após o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica; e no lixiviado coletado no Aterro Controlado Jockey Club.	57
Tabela 5.4: Teor de Umidade do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.	59
Tabela 5.5: Teor de Sólidos Voláteis (Matéria Orgânica) do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.	60
Tabela 5.6: Teor de Umidade do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica.	69
Tabela 5.7: Teor de Sólidos Voláteis (Matéria Orgânica) do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica.	70

Tabela 5.8: Dados de entrada para realização do Teste Estatístico Não-Paramétrico de Kruskal-Wallis, no Software Statistica.....	74
Tabela 5.9: Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para os valores de CO <sub>2</sub> (μmol) produzido nos três tratamentos referentes ao primeiro dia do Primeiro Teste Respirométrico.....	75
Tabela 5.10: Resultados do Teste de Kruskal-Wallis, para verificação da influência do tratamento aplicado nos valores de CO <sub>2</sub> (μmol) acumulado no Primeiro Teste Respirométrico.....	75
Tabela 5.11: Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para os valores de CO <sub>2</sub> (μmol) produzido nos três tratamentos referentes ao primeiro dia do Segundo Teste Respirométrico.....	76
Tabela 5.12: Resultados do teste de Kruskal-Wallis para avaliar a influência do tratamento nos valores de CO <sub>2</sub> (μmol) acumulado no Segundo Teste Respirométrico.....	77
Tabela 5.13: Alcalinidade, Ácidos Graxos Voláteis, DQO <sub>t</sub> e COT <sub>t</sub> das amostras de lixiviado utilizadas nos Testes Respirométricos e de uma amostra de lixiviado com menos de uma semana de armazenamento.....	79
Tabela 5.14: DQO <sub>t</sub> , COT <sub>t</sub> e μmols de C das amostras de lixiviado utilizadas nos Testes Respirométricos e de uma amostra de lixiviado com menos de uma semana de armazenamento, de acordo com os volumes utilizados nos tratamentos.....	79
Tabela 5.15: Eficiência de Biodegradação (%) do lixiviado bruto e diluído, na proporção 1:1, considerando o valor de AGV obtido no lixiviado com menos de uma semana de armazenamento. ....	80
Tabela C.1: Resultados de Densidade Aparente, Umidade Residual, Capacidade de Campo e 60% da Capacidade de Campo da amostra composta de Latossolo coletada. ....	101
Tabela C.2: Composição do meio de cultura PCA, para contagem de bactérias heterotróficas, em 1000 mL de água destilada. ....	103
Tabela F.1: Quantidade de CO <sub>2</sub> (μmol) produzida pelos diferentes tratamentos nas medições do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.....	107
Tabela F.2: Quantidade de CO <sub>2</sub> (μmol) produzida pelos diferentes tratamentos nas medições do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica. ....	108

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: a) Contaminante adsorvido à partícula de solo; b) Contaminante dissolvido na água intersticial de um agregado de solo. ....	17
Figura 3.2: Curva típica de crescimento bacteriano (von Sperling, 1996). ....	24
Figura 4.1: Delineamento experimental adotado no presente estudo. ....	35
Figura 4.2: Foto de um Respirômetro de Bartha utilizado nos Testes Respirométricos do presente estudo. ....	37
Figura 4.3: Esquema dos Testes Respirométricos realizados no presente estudo. ....	38
Figura 4.4: Respirômetros incubados no interior da sala com controle de temperatura. ....	39
Figura 4.5: Mapa temático que indica os solos característicos de regiões do Brasil, com enfoque no Distrito Federal (adaptado de IBGE, 2001). ....	42
Figura 4.6: Latossolo Vermelho Distrófico típico, no município de Caçu/GO (IBGE, 2007). ....	42
Figura 4.7: a) Visão Geral da área de coleta do solo; b) um dos pontos de coleta. ....	44
Figura 4.8: a) Pilha de resíduos sólidos no Aterro Controlado Jockey Club/DF; b) Lagoa de Decantação, local de coleta das amostras de lixiviado. ....	47
Figura 5.1: Produção Média Acumulada de CO <sub>2</sub> nos respirômetros controle (a), com lixiviado bruto (b) e com lixiviado diluído na proporção 1:1 (c), do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, com linhas de tendência (lineares) para os três segmentos (do início ao 2º dia; do 3º ao 9º dia; do 10º ao 50º dia). ....	63
Figura 5.2: Produção Média Acumulada Efetiva de CO <sub>2</sub> , ou seja, produção acumulada de CO <sub>2</sub> nos respirômetros que receberam lixiviado bruto e lixiviado diluído na proporção 1:1 menos a produção acumulada de CO <sub>2</sub> nos respirômetros controle. ....	64
Figura 5.3: Curvas de DBO Manométrica para diversas concentrações de BaCl <sub>2</sub> . ....	66
Figura 5.4: Curvas de DBO Manométrica para diversas concentrações de Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O. ....	67
Figura 5.5: Curvas de DBO Manométrica para diversas concentrações de HgCl <sub>2</sub> . ....	68
Figura 5.6: Produção Média Acumulada de CO <sub>2</sub> nos respirômetros controle (a), com lixiviado bruto (b) e com lixiviado diluído na proporção 1:1 (c), do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica (HgCl <sub>2</sub> ) com linhas de tendência (lineares) para os três segmentos (do início ao 2º dia; do 3º ao 9º dia; do 10º ao 41º dia). ....	73

Figura 5.7: Valores de DBO Manométrica medidos em laboratório, como estimativa da DBO <sub>U</sub> . .....	81
Figura 5.8: Gráfico Climatológico – Precipitação (mm) – Brasília. Obtido no sítio eletrônico do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2009). .....	83

## LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E ABREVIACÕES

ABNT.....	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGV.....	Ácidos Graxos Voláteis
Al.....	Alumínio
ANOVA.....	Análise de Variância
ATP.....	Adenosina Trifosfato
BaCO <sub>3</sub> .....	Carbonato de Bário
BaCl <sub>2</sub> .....	Cloreto de Bário
C.....	Carbono
°C.....	Graus Centígrados (Celsius)
C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COOK.COOH.....	Ftalato Ácido de Potássio
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> .....	Celulose
Ca <sup>2+</sup> .....	Cálcio
CaCl <sub>2</sub> .....	Cloreto de Cálcio
CaCO <sub>3</sub> .....	Carbonato de Cálcio
Cd.....	Cádmio
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O.....	Nitrato de Cádmio
CETESB.....	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH.....	Etanol
CH <sub>3</sub> COOH.....	Ácido Acético
CH <sub>4</sub> .....	Gás Metano
Cl <sup>-</sup> .....	Cloreto
cm.....	Centímetro
cm/s.....	Centímetros por segundo
cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> .....	Centimol de carga por decímetro cúbico
CO <sub>2</sub> .....	Dióxido de Carbono
COT.....	Carbono Orgânico Total
COT <sub>t</sub> .....	Carbono Orgânico Total Teórico
Cr.....	Cromo
C.T.C.....	Capacidade de troca de cátions
Cu.....	Cobre
DBO.....	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DBO <sub>5</sub> .....	Demanda Bioquímica de Oxigênio por cinco dias
DBO <sub>U</sub> .....	Demanda Bioquímica de Oxigênio Última
DF.....	Distrito Federal
DQO.....	Demanda Química de Oxigênio
DQO <sub>t</sub> .....	Demanda Química de Oxigênio Teórica
<i>EB</i> .....	Eficiência de Biodegradação
eq-g/L.....	Equivalente Grama por Litro
ETA.....	Estação de Tratamento de Água
ETAR.....	Estação de Tratamento de Águas Residuárias
Embrapa.....	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Fe <sup>2+</sup> .....	Ferro
FORSU.....	Fração Orgânica dos Resíduos Sólidos Urbanos
g.....	Gramas
g/cm <sup>3</sup> .....	Gramas por centímetro cúbico
g/L.....	Gramas por litro
GO.....	Goiás
HCl.....	Ácido Clorídrico

HCO <sup>3-</sup>	Carbonato de Hidrogênio
HgCl <sub>2</sub>	Cloreto de Mercúrio
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de Hidrogênio
hs	Horas
H <sub>2</sub> S	Ácido Sulfídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
KCl	Cloreto de Potássio
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonato de Potássio
kg	Quilogramas
KOH	Hidróxido de Potássio
L	Litros
mg	Miligramas
mg/dm <sup>3</sup>	Miligramas por decímetro cúbico
mg/kg	Miligramas por quilograma
mg/L	Miligramas por litro
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MO	Matéria Orgânica
Mpa	Mega Pascal
N	Normal
N <sub>2</sub>	Nitrogênio Gasoso
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonato de Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NO <sup>2-</sup>	Nitrito
NO <sup>3-</sup>	Nitrato
NBR	Norma Brasileira
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amônio
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de Amônio
Ni	Níquel
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrato
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
O <sub>2</sub>	Oxigênio gasoso
PA	Para Análise
Pb	Chumbo
PCA	Plate Count Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	Potencial Hidrogeniônico
PTARH	Pós-graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos
r <sup>2</sup>	Coefficiente de correlação
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
Si	Silício
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Sulfato
SP	São Paulo
SPT	Teste de Penetração Padrão
SST	Sólidos Suspensos Totais
STD	Sólidos Totais Dissolvidos
SV	Sólidos Voláteis



t/ha.....Toneladas por hectare  
tds/ha.....Toneladas de sólidos secos por hectare  
TFSA.....Terra Fina Seca ao Ar  
UFC.....Unidades Formadoras de Colônia  
UnB.....Universidade de Brasília  
UNESP.....Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Zn.....Zinco  
μmol.....Micromoles

## **1 – INTRODUÇÃO**

As diversas formas de contaminação do meio ambiente são capazes de gerar uma série de impactos negativos ao equilíbrio dos ecossistemas e à saúde da população. Para minimizar tais impactos, devem ser aplicadas medidas preventivas, como a adoção de alternativas de baixo impacto, e medidas corretivas, para os casos em que o dano já foi causado e faz-se necessária a conversão do quadro de degradação.

Os resíduos sólidos gerados nas diversas atividades humanas são, normalmente, dispostos em lixões, aterros controlados ou aterros sanitários. A degradação da Fração Orgânica dos Resíduos Sólidos Urbanos (FORSU) gera o chorume que, juntamente com a água que percola essa massa de resíduos, resulta nos lixiviados que apresentam elevado potencial poluidor. Essa produção, associada às formas de disposição final inadequadas, como lixões e aterros controlados, resulta em situações de contaminação do solo e de águas subterrâneas e superficiais, que geram impactos negativos ao meio ambiente e à saúde da população humana.

A quantidade de lixões desativados no Brasil torna-se cada vez maior, e tende a aumentar com a aprovação da Política Nacional de Resíduos Sólidos, que se encontra em tramitação no Congresso Nacional Brasileiro, por estimular a substituição desse tipo de destino final por aterros sanitários.

Apesar de premente a necessidade de remediar áreas contaminadas com lixiviado de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU), para minimizar os impactos negativos à saúde da população e ao meio ambiente, muitas vezes existe dificuldade, por parte das empresas e órgãos públicos responsáveis pelo destino adequado dos RSU, em dispor de recursos financeiros, fato que torna de extrema importância o desenvolvimento de tecnologias de remediação acessíveis.

Assim, a biorremediação, tecnologia que se baseia na capacidade dos microrganismos de degradar resíduos complexos transformando-os em produtos mais simples e menos perigosos, mostra-se com potencial de preencher essa demanda e oferecer uma alternativa para que, no futuro, lixões desativados possam vir a apresentar um uso mais nobre, com menores riscos ao meio ambiente e à população.

Contudo, a aplicação da biorremediação ainda envolve importantes questionamentos quanto à sua eficácia e aos impactos que pode provocar. Dessa forma, é fundamental que sejam realizados experimentos em escala laboratorial e/ou estudos pilotos capazes de acompanhar o processo e o crescimento dos microrganismos para que a biorremediação possa ser aplicada da forma mais eficiente e menos impactante possível.

São muitas as metodologias aplicadas para acompanhar o processo de biorremediação em escala laboratorial, podendo ser divididas em dois principais grupos: um que avalia o crescimento das populações microbianas por meio da quantificação da biomassa; e outro que se baseia nos efeitos metabólicos do crescimento das populações no meio.

Sob condição de batelada, em que apenas o alimento é limitante e os microrganismos encontram condições adequadas ao seu desenvolvimento e reprodução, a tendência é que as populações microbianas cresçam até atingir um limite provocado pela ausência de alimento. O crescimento das populações microbianas em ambientes aeróbios provoca certas alterações em um sistema fechado tais como o aumento da quantidade de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e a redução da quantidade de oxigênio ( $\text{O}_2$ ).

A respirometria é uma técnica de acompanhamento do processo de biodegradação que se baseia no conceito de que, em um sistema aeróbio, quanto maior a quantidade de  $\text{CO}_2$  produzido e de oxigênio consumido, maior a facilidade, dos microrganismos, em degradar a matéria orgânica presente no resíduo e assim, maior o potencial de utilização do processo de biorremediação para recuperação de áreas contaminadas pelo resíduo analisado.

No presente estudo, optou-se pela utilização de Respirômetros de Bartha, utilizado em trabalhos que estudaram a biorremediação de solos contaminados principalmente por derivados de petróleo e águas residuárias domésticas e recomendado pela NBR 14.283 (ABNT, 1999) para a determinação da biodegradação de resíduos em solos pelo método respirométrico.

## **2 – OBJETIVOS**

### **2.1 - OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o potencial de biodegradabilidade de amostras de lixiviado de resíduos sólidos urbanos em Latossolo Vermelho-Escuro, característico de Brasília/DF.

### **2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

O presente estudo apresenta como objetivos específicos:

- 1 - Avaliar o Respirômetro de Bartha como ferramenta para acompanhamento da biodegradação aeróbia de lixiviado de RSU em solo;
- 2 - Determinar a concentração de substância tóxica capaz de inibir a ação dos microrganismos de amostras de lixiviado de RSU;
- 3 - Avaliar a resposta do Respirômetro de Bartha em solo contaminado com lixiviado de RSU e substância tóxica, para análise do processo de inibição da ação dos microrganismos do lixiviado e como ferramenta para identificação de um solo contaminado;

## 3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 - RESÍDUOS SÓLIDOS

A disposição dos resíduos sólidos já foi considerada um problema apenas de estética e conforto. Posteriormente, adquiriu-se uma visão dos impactos causados pelo lançamento descontrolado de resíduos no solo, como a proliferação de animais peçonhentos e a obstrução de rios e canais; das questões de ordem sanitária, como surtos epidêmicos; e da compreensão do valor da preservação do ambiente (Nascimento *et al.*, 2003). Mais recentemente, compreendeu-se a importância econômica de prevenir contaminações do meio ambiente devido ao alto custo da recuperação de áreas já degradadas. O problema dos resíduos sólidos urbanos torna-se cada vez mais importante devido ao crescimento populacional e desenvolvimento industrial.

De acordo com a NBR 10.004 (ABNT, 2004), revisão da Norma de setembro de 1987, resíduos sólidos são os “resíduos nos estados sólido e semi-sólido, que resultam de atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição”. Estão incluídos também, os “lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como determinados líquidos cujas particularidades tornem inviável seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos d’água, ou exijam para isso soluções técnica e economicamente inviáveis” (ABNT, 2004).

A NBR 10.004 (ABNT, 2004) classifica os resíduos sólidos em:

- Resíduos Classe I – Perigosos. São resíduos que apresentam periculosidade (risco à saúde pública e/ou ao meio ambiente) ou uma das seguintes características: inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade ou patogenicidade.
- Resíduos Classe II – Não - perigosos.
  - Resíduos Classe II A – Não - inertes. São aqueles que não se enquadram como perigosos (Classe I) ou inertes (Classe II B) e podem ter propriedades como combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água.
  - Resíduos Classe II B – Inertes. São resíduos que, quando em contato estático ou dinâmico com água destilada ou deionizada à temperatura

ambiente, conforme a NBR 10.006, não apresentam solubilidade de seus constituintes a concentrações superiores aos padrões de potabilidade de água, exceto os padrões de aspecto, cor, turbidez, dureza e sabor.

A diversidade de origens que os resíduos sólidos podem apresentar resulta em uma composição qualitativa e quantitativa variável. Outros fatores que afetam a composição dos resíduos sólidos e a sua quantidade estão relacionados às atividades econômicas predominantes, ao clima da região e às características particulares da população local como número de habitantes, nível educacional, hábitos e padrão de vida.

Os resíduos sólidos de origem residencial e comercial são constituídos por compostos orgânicos e inorgânicos. A fração orgânica compreende cerca de 40 a 60% da composição gravimétrica (Bidone e Povinelli, 1999), e é composta, principalmente, por restos de comida, papéis, papelão, vários tipos de plástico, borracha, tecido, madeira e couro. A fração inorgânica é constituída por vidros, louças, alumínio, metais ferrosos e inertes, dentre outros (Leite, 2001).

### **3.1.1 - Disposição final dos Resíduos Sólidos Urbanos**

Atualmente, no Brasil, as três principais formas de disposição final de resíduos sólidos são: o lixão, o aterro controlado e o aterro sanitário, partindo de uma situação sem o menor controle ambiental para uma situação onde se tem, teoricamente, o controle do resíduo sólido em relação à sua ação de degradação do meio ambiente e da saúde da população (Carvalho, 1997).

De acordo com a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico de 2000, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a especificação das unidades de destino final do lixo indicou uma situação favorável quando analisada a massa de resíduos coletados no Brasil: 47,1% estariam em aterros sanitários, 22,3% em aterros controlados e 30,5% em lixões. Contudo, quando se analisa o destino dos resíduos em relação ao número de municípios, o resultado é menos favorável: 63,6% utilizam lixões, 18,4% aterros controlados e 13,8% aterros sanitários, sendo que 5% não informaram o destino final de seus resíduos (IBGE, 2002).

As informações coletadas pelos pesquisadores do IBGE foram obtidas com os órgãos responsáveis pela execução dos serviços de limpeza urbana, na maioria das vezes a própria prefeitura da cidade, e, dessa forma, certas informações podem ter sido distorcidas para evitar a exposição de problemas no sistema.

A disposição dos resíduos em lixões gera uma série de impactos negativos ao meio ambiente e à saúde da população, devido, principalmente, ao lançamento direto do lixiviado e dos gases produzidos a partir da degradação da FORSU, que contaminam o solo, as águas e o ar. Além da poluição, podem ser citados outros possíveis impactos: odor desagradável; proliferação de animais peçonhentos, ratos e baratas; presença de aves, como urubus, que prejudicam a aviação; impactos visuais; e desvalorização dos terrenos vizinhos (Carvalho, 1997).

No aterro controlado ocorre a cobertura dos resíduos sólidos dispostos no local, permitindo a minimização: da percolação da água da chuva e assim a produção de lixiviado; da presença de catadores; da proliferação de animais peçonhentos; e da presença de urubus. Porém, por não impermeabilizar a base do aterro controlado e não promover a coleta e tratamento dos gases e do lixiviado, essa ainda não é a opção mais adequada, já que continua a exercer potencial de contaminação do meio ambiente e de degradação da saúde da população (Carvalho, 1997).

O aterro sanitário é uma das formas de disposição final que produz menos impactos ao meio ambiente e à saúde humana, pois promove a cobertura diária dos resíduos, a impermeabilização da base do aterro e a coleta e tratamento do lixiviado e dos gases, dentre outras características. Contudo, mesmo nos aterros sanitários pode ocorrer contaminação do meio ambiente por meio de vazamentos de gases e/ou de lixiviado devido a problemas de impermeabilização ou nos sistemas de coleta e tratamento, como rachaduras e tratamentos ineficientes. Tal fato é decorrente, principalmente, de problemas de dimensionamento inadequado ou de movimentações geológicas.

### **3.1.2 - Geração do lixiviado de RSU, suas características e impacto ambiental**

Grande parte dos materiais orgânicos que compõem os resíduos sólidos urbanos é degradável por microrganismos aeróbios e anaeróbios, o que resulta na formação de compostos mais simples e na produção de gases e lixiviado (El-Fadel *et al.*, 1997).

O lixiviado de RSU é resultado da remoção de compostos solúveis, que já se encontravam nos resíduos ou que foram formados após a degradação (física, química ou biológica) parcial ou total, pela massa de água intermitente e não-uniforme percolada nos resíduos. A água que irá formar o lixiviado pode advir dos próprios resíduos e da degradação desses, mas principalmente da precipitação e intrusão da água subterrânea (El-Fadel *et al.*, 1997).

As características do lixiviado dependem de uma série de fatores como os tipos de resíduos que são dispostos no local, a idade do aterro (tempo de solubilização e de reações de oxirredução), as condições climáticas, as características pedológicas e geológicas e os procedimentos operacionais adotados (El-Fadel *et al.*, 1995).

A tendência com o aumento do tempo de aterramento dos resíduos é a diminuição da carga poluente e o aumento do valor de pH. A biodegradabilidade do lixiviado de RSU diminui com o decorrer do tempo, fato que pode ser verificado por meio da análise da razão DBO<sub>5</sub>/DQO. Quanto menor essa relação, menor é a biodegradabilidade do lixiviado, sendo que a DBO<sub>5</sub> representa a Demanda Bioquímica de Oxigênio por um período de cinco dias e a DQO representa a Demanda Química de Oxigênio (Carvalho, 1997).

Em aterros jovens a relação DBO<sub>5</sub>/DQO observada no lixiviado de RSU está por volta de 0,5 ou mais. Valores na faixa de 0,4 a 0,6 indicam que a matéria orgânica presente no lixiviado apresenta potencial de biodegradabilidade. Em aterros maduros a relação DBO<sub>5</sub>/DQO, normalmente, varia de 0,05 a 0,2, devido ao fato da matéria orgânica mais facilmente biodegradável já ter sido consumida, restando no lixiviado ácido húmicos e fúlvicos, de difícil degradação por parte dos microrganismos (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

Além dos compostos orgânicos e inorgânicos, o lixiviado de RSU pode conter substâncias tóxicas oriundas do recebimento de resíduos industriais ou de resíduos que contenham essas substâncias. Segundo El-Fadel *et al.* (1997), muitas substâncias químicas como metais, alifáticos, alicíclicos, terpenos e aromáticos têm sido detectadas no lixiviado de aterros domésticos, comerciais, industriais e de co-disposição.



Outro impacto relacionado à contaminação por lixiviado de RSU decorre das altas concentrações de nitrogênio amoniacal, que apresenta potencial de toxicidade à biota do ecossistema aquático. Em sistemas de tratamento biológico, o nitrogênio amoniacal pode causar problemas de mau odor e apresentar efeito tóxico para os microrganismos responsáveis pelo tratamento (Fernandes *et al.*, 2006).

Em resumo, grande parte dos aterros recebe uma mistura de resíduos municipais e comerciais e o lixiviado produzido na degradação desses resíduos apresenta quatro principais grupos de poluentes (Christensen, 1992):

- Matéria orgânica, expressa como Demanda Química de Oxigênio (DQO) ou Carbono Orgânico Total (COT), incluindo ácidos graxos voláteis e compostos refratários como compostos húmicos e fúlvicos;
- Macroconstituintes inorgânicos como: Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), Sódio ( $\text{Na}^+$ ), Potássio ( $\text{K}^+$ ), Amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), Ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ), Manganês ( $\text{Mn}^{2+}$ ), Cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), Sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) e Carbonato de Hidrogênio ( $\text{HCO}_3^-$ );
- Poluentes orgânicos específicos, de origem doméstica ou industrial, que apresentam baixa concentração no lixiviado, geralmente menor que 1 mg/L, incluindo Hidrocarbonetos Aromáticos, Fenóis e Alifáticos Clorados;
- Metais Pesados como: Cádmio (Cd), Zinco (Zn), Chumbo (Pb), Cobre (Cu), Níquel (Ni) e Cromo (Cr).

Quando poluentes, como os característicos do lixiviado de RSU, estão presentes no solo, ocorrem diversos processos, sendo os mais importantes:

- Adsorção de compostos na estrutura dos argilominerais podendo, contudo, ocorrer a sua disponibilização posterior;
- Lixiviação, transporte dos poluentes solubilizados;
- Transformação físico-química por meio de reações que transformam os compostos em outros elementos;
- Degradação biológica da matéria orgânica susceptível, que pode gerar subprodutos líquidos e/ou gasosos.

Na Tabela 3.1 é apresentada a composição típica do lixiviado de aterros novos e maduros.

Tabela 3.1: Dados típicos da composição química do lixiviado de aterros (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

Parâmetros	Aterros Novos (< 2 Anos)		Aterros Maduros (> 10 Anos)
	Faixa de Variação	Valor Típico	Faixa de Variação
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	2000 - 30000	10000	100 - 200
COT (mg/L)	1500 - 20000	6000	80 - 160
DQO (mg/L)	3000 - 60000	18000	100 - 500
STD (mg/L)	200 - 2000	500	100 - 400
Nitrogênio Orgânico (mg/L)	10 - 800	200	80 - 120
Amônia (mg/L)	10 - 800	200	20 - 40
Nitrato (mg/L)	5 - 40	25	5 - 10
Fósforo Total (mg/L)	5 - 100	30	5 - 10
Ortofósforo (mg/L)	4 - 80	20	4 - 8
Alcalinidade (mg de CaCO <sub>3</sub> /L)	1000 - 10000	3000	200 - 1000
pH	4,5 - 7,5	6	6,6 - 7,5
Dureza Total (mg de CaCO <sub>3</sub> /L)	300 - 10000	3500	200 - 500
Cálcio (mg/L)	200 - 3000	1000	100 - 400
Magnésio (mg/L)	50 - 1500	250	50 - 200
Potássio (mg/L)	200 - 1000	300	50 - 400
Sódio (mg/L)	200 - 2500	500	100 - 200
Cloreto (mg/L)	200 - 3000	500	100 - 400
Sulfato (mg/L)	50 - 1000	300	20 - 50
Ferro Total (mg/L)	50 - 1200	60	20 - 200

Pelos dados apresentados na Tabela 3.1, verifica-se a grande variabilidade nos valores das concentrações dos diversos parâmetros analisados. Tal fato pode estar relacionado à diversidade da composição dos resíduos, dependente de características locais, e ao tempo de disposição dos resíduos.

Na Tabela 3.2 são apresentadas características do lixiviado de alguns aterros no Brasil. Apesar da variabilidade nos valores obtidos por diversos parâmetros analisados, geralmente a DQO e o teor de nitrogênio total são elevados e o pH é neutro ou básico. Contudo, o lixiviado oriundo de resíduos com pouco tempo de aterramento pode apresentar pH ácido (Fernandes *et al.*, 2006).

Tabela 3.2: Composição do lixiviado de aterros sanitários de diferentes localidades brasileiras (Moser, 2003).

Parâmetros	Santo André		Bandeirantes		Itapecerica da Serra		São Giácomo		Londrina 1998	Londrina 2005
	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.		
pH	6,90	8,65	7,14	8,50	7,05	7,14	5,71	8,40	8,30	8,3
DQO (mg/L)	2.600	8.050	5.500	7.150	2.560	3.700	558	49.680	1.680	4.500
DBO (mg/L)	1.720	5.790	3.410	8.430	2.520	2.720	99	26.799	*	330
Alcalinidade (mg de CaCO <sub>3</sub> /L)	-	-	-	-	-	-	-	-	973	7.900
Ntotal (mg/L)	600	4.950	80	650	160	160	144	1.494	*	1300
Namoniacal (mg/L)	25	1.000	62	220	*	*	0,6	1.258	*	1100
Nítrito (mg/L)	0,005	0,10	-	<0,05	-	0,015	*	*	*	*
Nitrato (mg/L)	<0,20	0,60	0,40	0,60	0,06	0,08	*	*	*	*
SST (mg/L)	1.230	3.350	3.560	5.100	1.320	2.760	*	*	1.780	82

Santos (1996) compilou as características do lixiviado de aterros de vários lugares do mundo, inclusive do Aterro Controlado Jockey Club, localizado em Brasília/DF, e observou, para esse, um pH levemente alcalino, alta concentração de Ca, Mg e Si e baixa concentração de Mn, Zn, Ni, Cu, Fe e Cd, sendo, contudo, considerável a quantidade de Cádmiu por se tratar de um elemento extremamente tóxico. Na Tabela 3.3 é apresentada a faixa de valores para alguns parâmetros analisados no Aterro Controlado Jockey Club.

Devido ao alto potencial poluente das contaminações dos solos e água superficiais e subterrâneas por lixiviado de RSU, torna-se necessário evitar que tal substância seja lançada ao meio. Para tanto, a argila tem sido muito utilizada na impermeabilização da base dos aterros, devido às características de adsorção e retenção dos constituintes químicos do lixiviado de RSU e baixa permeabilidade. O uso combinado de geomembranas e camadas de argila têm ganhado popularidade, pois, soma-se às vantagens da argila a resistência apresentada pela geomembrana (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

Tabela 3.3: Composição química do lixiviado do Aterro Controlado Jockey Club (Santos, 1996).

<b>Parâmetros</b>	<b>Aterro Controlado Jockey Club, DF</b>
STD (mg/L)	5710 – 6720
Condutividade Elétrica (µmho/cm)	9580 – 11670
pH	7,45 – 7,7
Cálcio (mg/L)	41,11 – 80,4
Ferro (mg/L)	4,903 – 9,89
Magnésio (mg/L)	17,54 – 36,22
Amônia (mg/L)	955
Alumínio (mg/L)	0,2651 – 0,779
Zinco (mg/L)	0,0639 – 0,1679
Manganês (mg/L)	0,0583 – 0,1295
Fósforo Total (mg/L)	1,304 – 3,336
Bário (mg/L)	0,0581 – 0,2674
Níquel (mg/L)	0,1529 – 0,2475
Nitrato (mg/L)	120
Cromo (mg/L)	0,0399 – 0,0505
Cobre (mg/L)	0,0142 – 0,0362
Molibdênio (mg/L)	0,0766 – 0,0362
Cádmio (mg/L)	0,0265 – 0,0390
Berílio (mg/L)	0,0022 – 0,0023

Algumas das opções para o destino final do lixiviado de RSU são: a recirculação dentro do aterro; o tratamento por processos físicos, químicos e/ou biológicos; e o lançamento em Estações de Tratamento de Águas Residuárias (ETAR) (Carvalho, 1997). As características do lixiviado, em suas diferentes etapas de degradação, devem ser consideradas no planejamento e dimensionamento dos sistemas de tratamento adotados.

A recirculação do lixiviado pela massa de resíduos sólidos pode auxiliar o processo de degradação dos resíduos, fornecer umidade e diminuir a carga orgânica, porém, essa prática deve ser cuidadosamente avaliada para evitar que os mecanismos biológicos de degradação dos resíduos sejam prejudicados (El-Fadel *et al.*, 1997).

Os municípios que hoje utilizam lixões como destino final de seus resíduos sólidos deverão encerrar os mesmos para implantação de aterros sanitários em áreas adequadas. Assim, os lixões encerrados deverão receber um tratamento para remediação da área contaminada com o intuito de minimizar os impactos negativos ao meio ambiente e à população, em complementação a projetos de cobertura e arborização da área. Nesse contexto, a

biorremediação surge como uma alternativa para recuperar a área contaminada com lixiviado de RSU.

### **3.2 - A TECNOLOGIA DE BIORREMEDIAÇÃO**

A biorremediação pode ser aplicada no processo de remediação de solos e corpos d'água (superficiais ou subterrâneos) contaminados por misturas complexas e até mesmo para tratar gases presentes na atmosfera. O sucesso da aplicação dessa tecnologia depende da interdisciplinaridade do estudo que deve envolver a engenharia, microbiologia, ecologia, geologia e química (Baker e Herson, 1994).

A eficiência da biorremediação depende dos microrganismos, dos contaminantes e das características do meio. Normalmente, os microrganismos mais indicados são as bactérias e os fungos, que apresentam capacidade fisiológica e metabólica para degradar diversos contaminantes (Baker e Herson, 1994).

Para que ocorra o processo de biorremediação, é necessário que os microrganismos capazes de degradar ou estabilizar o contaminante estejam na área contaminada; quando estão presentes naturalmente são denominados autóctones e quando é necessário semear a área com os microrganismos adequados, são denominados alóctones. Há, ainda, a possibilidade de inocular a área contaminada com espécies de microrganismos já presentes no local para aumentar a população e acelerar o processo de biorremediação.

A biorremediação consiste em um processo no qual os microrganismos fagocitam as moléculas de poluentes para obtenção de carbono e de energia para as atividades metabólicas e geração de novas células, promovendo, assim, a quebra de compostos orgânicos em metabólitos de menor complexidade e/ou menor massa. Em alguns casos a degradação é completa, gerando apenas produtos inorgânicos (CO<sub>2</sub>, água e sais minerais) e biomassa. Quando a degradação promovida pelos microrganismos é parcial, a implantação de um processo de biorremediação só deverá ocorrer se os subprodutos forem não-tóxicos e/ou susceptíveis a uma reação subsequente, que pode ser biótica ou abiótica.

O metabolismo celular pode ser dividido em duas categorias:

- Desassimilação ou catabolismo: reações de produção de energia por meio da degradação do substrato;
- Assimilação ou anabolismo: reações que possibilitam a formação de material celular (crescimento) utilizando a energia liberada pelo processo de desassimilação.

Para que partículas e macromoléculas possam ser transportadas para o interior da célula dos microrganismos, elas devem ser hidrolisadas em frações menores por meio de exoenzimas liberadas. Depois de hidrolisadas, as partículas atravessam a membrana citoplasmática, atingindo o interior da célula, onde o metabolismo será processado por meio das endoenzimas.

A completa degradação de certos contaminantes pode se tornar possível, mesmo que nenhum dos microrganismos presentes no meio seja capaz de degradá-lo completamente, isso porque o cometabolismo permite que o produto metabólico de uma espécie seja consumido por outra, e assim por diante.

As técnicas de engenharia genética representam uma possibilidade de tornar os microrganismos mais aptos à degradação de determinado contaminante (Pieper e Reineke, 2000). Contudo, devem ser tomados os devidos cuidados para não introduzir um organismo geneticamente alterado que seja capaz de provocar danos ambientais por meio do desequilíbrio da comunidade microbiana.

O processo de biorremediação que se dá no local contaminado é denominado biorremediação *in situ*. Quando há total ausência de interferência da ciência, o processo é denominado intrínseco-natural. Porém, quando são utilizados processos semelhantes aos realizados pela própria natureza, com o objetivo de fortalecer a ação dos microrganismos no processo de biodegradação, o processo é denominado intrínseco-auxiliado (Martins *et al.*, 2003).

Em muitos casos é necessário mais do que um simples auxílio, como a aplicação de técnicas de engenharia, modificação topográfica do local, introdução de novos microrganismos, uso de biorreatores e adição de nutrientes. Nesse caso, a biorremediação é denominada engenhada e pode ser realizada *in situ* ou *ex situ*. A biorremediação *ex situ*,

normalmente é utilizada quando ocorre o risco de alastramento da área contaminada (Martins *et al.*, 2003).

Na Tabela 3.4 são apresentadas as tecnologias de biorremediação mais comumente utilizadas.

Tabela 3.4: Tecnologias de Tratamento de Biorremediação (Baker e Herson, 1994).

<b>Tecnologia</b>	<b>Características</b>
Bioaumento	Adição de culturas microbianas no meio contaminado, freqüentemente utilizando biorreatores e sistemas <i>ex situ</i> .
Biofiltro	Uso de colunas com microrganismos para tratar emissões atmosféricas.
Bioestimulação	Estímulo das populações microbianas autóctones em solos ou águas subterrâneas, podendo ser realizada <i>in situ</i> ou <i>ex situ</i> .
Biorreatores	Biorremediação utilizando recipientes ou reatores para tratar líquidos ou misturas.
Bioventilação	Método para tratar solos contaminados pelo aumento de oxigênio, estimulando o crescimento e as atividades microbiológicas.
Compostagem	Tratamento aeróbio e termofílico do material contaminado. Podem ser utilizadas pilhas estáticas, pilhas aeradas, ou reatores de alimentação contínua.
Landfarming	Tratamento da fase sólida de um sistema que apresente solo contaminado. Pode ser realizado <i>in situ</i> ou em uma célula construída.

### 3.2.1 - Vantagens e desvantagens do processo de biorremediação

A biorremediação pode apresentar certas vantagens comparativamente a outras tecnologias de tratamento. Uma dessas vantagens é que ela pode ser realizada *in situ*, o que minimiza os custos relativos ao transporte, os impactos e as perturbações ao ambiente e permite a eliminação contínua dos resíduos enquanto os microrganismos sobreviverem. A biorremediação pode ainda ser associada a outras tecnologias de tratamento para estabilizar misturas de resíduos e resíduos complexos (Baker e Herson, 1994).

Contudo, a biorremediação apresenta, também, desvantagens e limitações como não ser capaz de degradar biologicamente certas substâncias químicas. Além disso, alguns produtos químicos, quando sofrem degradação biológica, podem gerar subprodutos de maior toxicidade ou mobilidade do que o composto original (Baker e Herson, 1994).

Assim, quando a biorremediação é realizada sem conhecimento dos microrganismos presentes e dos produtos metabólicos oriundos da degradação, as conseqüências podem ser ainda mais desastrosas do que inicialmente.

Quando se utiliza a técnica da inserção de organismos alóctones e o processo é cessado, pelo fato do contaminante já ter sido degradado, os microrganismos inseridos no sistema poderão desaparecer pela falta de alimento, ou poderão permanecer na área e até mesmo apresentar crescimento populacional adaptando-se às novas condições. Esse crescimento populacional de uma ou mais espécies exóticas pode provocar impactos ambientais por competição com espécies nativas ou ainda provocar novos impactos à saúde humana como, por exemplo, quando esses microrganismos vão para a água de abastecimento de uma comunidade. Portanto, além de estudos prévios, o processo deve ser monitorado após o encerramento da biorremediação, para conhecimento das reações apresentadas pelos microrganismos.

A biorremediação exige intenso monitoramento da área e manutenção das condições ambientais para que o processo ocorra com segurança e eficiência.

Antes da aplicação dessa tecnologia são necessários diversos estudos, o que demanda tempo, recursos financeiros, equipamentos e pessoal capacitado.

Normalmente, a escolha da tecnologia de tratamento mais adequada para a remediação de áreas contaminadas é muito difícil devido à falta de informações e dados. Além disso, os dados obtidos em um estudo não podem ser adotados sem novas análises, pois o mesmo contaminante em áreas diferentes, sob o mesmo tratamento, pode responder de forma diversa. Assim, estudos em escala de bancada e/ou em escala piloto tornam-se fundamentais na escolha da alternativa tecnológica mais indicada (Baker e Herson, 1994).

É parte fundamental de um estudo de biorremediação a investigação hidrogeológica com o intuito de compreender o movimento dos fluidos, dos materiais dissolvidos e dos microrganismos nos poros do solo. Para tanto, geralmente são utilizados modelos que podem ser teóricos, matemáticos ou computacionais. É importante que, no modelo, sejam considerados valores e características particulares do local no qual se deseja implantar a biorremediação (Baker e Herson, 1994).



Os estudos de biotratabilidade em escala laboratorial devem ser realizados para a obtenção de respostas a diversas perguntas de extrema importância tais como: se os contaminantes são biodegradáveis, se as espécies de microrganismos capazes de degradá-los estão presentes na área, o quão rápido ocorre a degradação, qual é a concentração aceitável do contaminante no ambiente, se são produzidos subprodutos tóxicos e quais as condições ambientais para o crescimento ótimo dos microrganismos (Baker e Herson, 1994).

### **3.2.2 - Fatores que interferem no processo de biorremediação em solos**

O solo é originado a partir das rochas por meio de processos físicos, químicos e biológicos que promovem a desintegração, decomposição e recombinação, e consiste na camada externa e agricultável da superfície terrestre (Reichardt e Timm, 2004).

O solo não é constituído por uma substância homogênea e contém sólidos inorgânicos, sólidos orgânicos, gases e líquidos. Assim, os microrganismos não estão distribuídos uniformemente, mas sim associados à distribuição de microhabitats favoráveis (Baker e Herson, 1994).

Os microrganismos aeróbios concentram-se na camada mais superficial do solo em que o oxigênio necessário está disponível, além de concentrar nessa camada a maior quantidade da matéria orgânica que será consumida por esses microrganismos. Como a maioria dos contaminantes é capaz de permear até camadas mais profundas, para biorremediar essas camadas é necessário fornecer as condições adequadas, podendo incluir a inoculação do meio com microrganismos adequados, a injeção de oxigênio para os microrganismos aeróbios e a adição de nutrientes.

Quando um material entra em contato com o solo pode ocorrer uma série de transformações físicas, químicas e biológicas, tanto em micro quanto em macro escala (Baker e Herson, 1994).

Na micro escala essas transformações podem resultar da distribuição do contaminante no solo. O contaminante pode estar distribuído na forma de gás nos interstícios do solo, dissolvido na água entre os poros ou associado com partículas de solo, ou, ainda, estar na

forma de produto livre (Baker e Herson, 1994). Na Figura 3.1 são apresentadas algumas das possíveis formas que o contaminante pode estar associado ao solo.

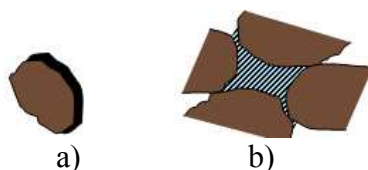


Figura 3.1: a) Contaminante adsorvido à partícula de solo; b) Contaminante dissolvido na água intersticial de um agregado de solo.

Na macro escala, o material pode ser transformado por processos bióticos ou abióticos e transportado pelo solo. Pode, também, deixar o solo para entrar na atmosfera, por meio da volatilização e evaporação, ou na água subterrânea, por meio da lixiviação (Baker e Herson, 1994).

Os cinco principais grupos de microrganismos presentes nos solos são as bactérias, os actinomicetos, os fungos, as algas e os protozoários. Grande parte da comunidade microbiana presente nos solos é formada pelas bactérias, tanto em quantidade de indivíduos (de  $10^9$  a  $10^{10}$  por grama de solo) quanto em variedade de espécies (Mello, 2005).

Os principais representantes das bactérias presentes no solo pertencem aos gêneros: *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus* e *Arthrobacter*. Quanto aos actinomicetos, podemos citar: *Actinomyces* e *Streptomyces*. Os gêneros de fungos mais comuns nos solos são: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Pythium* e *Phytophthora* (Siqueira *et al.*, 1994).

A degradação de compostos orgânicos nos solos é realizada principalmente por bactérias e fungos. O grupo das bactérias é formado por organismos procariotos que possuem grande diversidade e ampla distribuição na biosfera. As bactérias apresentam uma série de características que contribuem para seu uso nos processos de biorremediação, como rápido crescimento e metabolismo, plasticidade genética e habilidade de ajuste relativamente rápido às variações das condições ambientais (Baker e Herson, 1994).

Apesar das bactérias serem mais eficientes na degradação de contaminantes orgânicos presentes nos solos, os fungos são mais resistentes às mudanças de condições ambientais tais como o pH e a salinidade (Mello, 2005).

Estando os microrganismos adequados em contato com o meio contaminado, torna-se necessário controlar e monitorar as condições ambientais de forma a otimizar o crescimento e a atividade metabólica dos microrganismos (Baker e Herson, 1994).

Para o crescimento da população microbiana, muitas vezes torna-se necessária a adição dos nutrientes fósforo e nitrogênio. Os micronutrientes e vitaminas, na maioria das vezes, ou não são requeridos ou estão disponíveis no meio em quantidade suficiente (Menezes, 1988).

O nitrogênio é necessário para a síntese celular de proteínas e de componentes da parede celular, podendo ser utilizado também como um aceptor de elétrons alternativo. O fósforo é necessário para os ácidos nucleicos, membranas celulares e ATP. Tanto nitrogênio quanto fósforo são, freqüentemente, limitantes em solos (Baker e Herson, 1994).

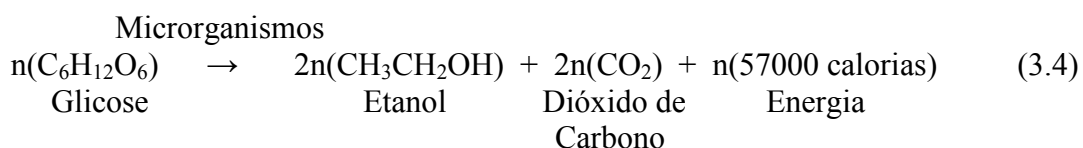
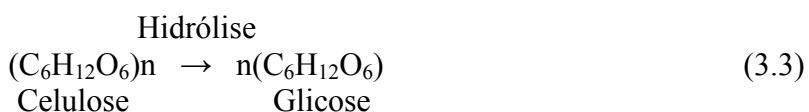
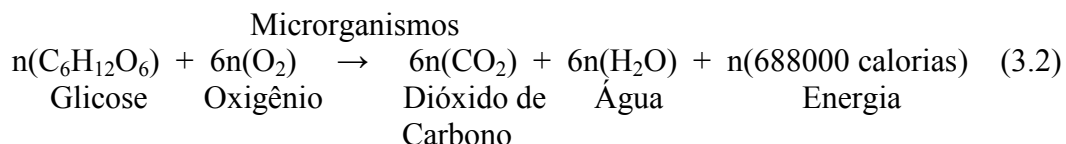
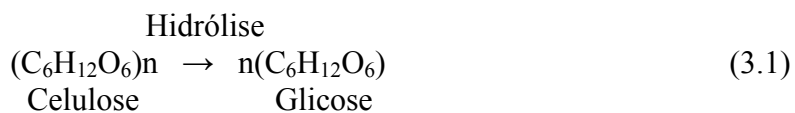
A relação Carbono/Nitrogênio deve ser, geralmente, de 5:1 para as bactérias, de 6:1 para os actinomicetos e de 10:1 para os fungos (Mello, 2005).

A quantidade necessária de aceptores de elétrons para a realização da biorremediação deve ser determinada na etapa de caracterização da área contaminada. Na Tabela 3.5 são apresentados os principais aceptores de elétrons nos processos de biodegradação, em ordem decrescente de liberação de energia.

Tabela 3.5: Aceptores de elétrons típicos nas reações de tratamento biológico (von Sperling, 1996).

<b>Condições</b>	<b>Aceptor de elétrons</b>	<b>Forma do aceptor após a reação</b>	<b>Processo</b>
Aeróbias	O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	Aeróbio
Anóxicas	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N <sub>2</sub>	Redução de nitratos
Anaeróbias	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	H <sub>2</sub> S	Redução de sulfatos
	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	Metanogênese

Segundo Stone (1975), as reações químicas de degradação aeróbia e anaeróbia da matéria orgânica da celulose podem ser expressas pelas reações 3.1 e 3.2; 3.3 e 3.4, respectivamente.



Assim, sob condições aeróbias, a oxidação pode ser completa, liberando maior quantidade de energia do que em condições de oxidação anaeróbia.

Quando a biorremediação de solos contaminados depende da atividade de microrganismos aeróbios, o suprimento adequado de oxigênio no solo é fundamental. Os solos podem sofrer decréscimo nos níveis de oxigênio pela limitação da difusão do oxigênio atmosférico para os poros do solo ocupados por água, ou pelo rápido consumo por parte dos microrganismos (Baker e Herson, 1994).

A técnica de aeração depende da profundidade e do tipo de contaminante. A aeração de solos superficiais pode ser realizada por meio de manipulação física como o cultivo do solo ou incorporação de material vegetal e de outros materiais que alterem a estrutura do solo e facilitem a aeração. Para camadas de solo um pouco mais profundas, até 0,6 m de profundidade, podem ser utilizados equipamentos que revolvam os solos. Para solos ainda mais profundos o oxigênio pode ser adicionado por meio de sopradores, aplicação a vácuo ou introdução de água saturada em ar, oxigênio ou um gerador de oxigênio apropriado, como o Peróxido de Hidrogênio – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Baker e Herson, 1994).

A biodegradação de contaminantes é realizada com maior rapidez em valores de pH neutros ou próximos à neutralidade. Os valores típicos de pH para solos são, na maioria das vezes, ácidos, contudo, podem variar de 2,5 (jazidas exploradas) a 11 (desertos alcalinos). Assim, em muitos projetos de biorremediação, torna-se necessário neutralizar solos ácidos, aumentando o valor de pH para próximo do valor neutro. A técnica que tem sido mais frequentemente utilizada para aumentar o pH do solo é a adição de cal (Baker e Herson, 1994).

A temperatura do solo afeta diretamente a atividade microbiológica; estudos demonstram que, geralmente, um aumento de 10°C dobra a atividade dos microrganismos até a temperatura ótima de cada espécie. Além disso, a temperatura do solo pode exercer efeitos na matriz do solo e no estado físico-químico dos contaminantes (Baker e Herson, 1994).

Algumas das técnicas que podem ser utilizadas para modificar a temperatura do solo são cobrir a área com materiais como terra, esterco, serrapilheira, plástico; ou ainda por meio do crescimento de plantas, devendo-se tomar os devidos cuidados para que a cobertura não atrapalhe o processo de biorremediação. Em locais com clima muito frio é possível aumentar a temperatura do solo com a irrigação ou injeção de água aquecida na zona vadosa (Baker e Herson, 1994).

Segundo Moreira (2002) os processos de degradação de poluentes orgânicos nos solos são otimizados a temperaturas de 24 a 35°C e pH de 5,6 a 8.

Outros fatores relevantes para a escolha do sistema de tratamento são: a natureza do contaminante, a extensão da contaminação, as características do local, a finalidade do tratamento e os custos operacionais (Baker e Herson, 1994).

A compreensão das características do contaminante auxilia na escolha da tecnologia mais indicada. Quando há a necessidade de que a biodegradação ocorra em duas etapas, onde, em uma delas, a substância é degradada preferencialmente anaerobiamente e, em outra, aerobiamente, torna-se necessário adaptar o processo removendo oxigênio em um momento e inserindo em outro (Lehmann, 1998).

A natureza do contaminante determina o metabolismo dos microrganismos e a necessidade para fontes de energia primária e secundária. Os contaminantes que podem ser rapidamente utilizados como fonte de energia primária, com ou sem a presença de oxigênio, favorecem um sistema de tratamento mais simples. A aplicação do cometabolismo ou de um novo substrato torna os requisitos necessários para a biorremediação mais complexos (Carvalho, 1997).

Já os metais tóxicos não são susceptíveis à degradação bacteriológica e o processo de biorremediação ocorre por seqüestro desses metais do meio, tornando-os inertes (Lehmann, 1998).

Os contaminantes orgânicos, normalmente, suprem a quantidade de carbono necessária para as populações de microrganismos que realizam a biorremediação. Contudo, em alguns casos essa quantidade não é suficiente, como quando os compostos são absorvidos por minerais e/ou matéria orgânica do solo, o que o torna indisponível biologicamente; ou quando a concentração do composto está abaixo do nível de carbono e energia requeridos pelos microrganismos. Por outro lado, se a concentração do composto excede certo nível podem ocorrer problemas de toxicidade (Baker e Herson, 1994).

Substratos facilmente biodegradáveis, quando presentes em áreas contaminadas, podem tornar a biodegradação dos contaminantes menos eficiente devido à possível preferência dos microrganismos por tais substratos (Corseuil e Alvarez, 1996). Contudo, quando em proporção adequada, o substrato pode desempenhar o papel de fonte de energia principal enquanto o contaminante é cometabolizado (Luz, 2001).

### **3.3 - MÉTODO RESPIROMÉTRICO**

Quando são utilizados microrganismos em sistemas de tratamento ou remediação, o acompanhamento do desempenho dos microrganismos possibilita a melhoria dos processos.

As técnicas que permitem tal análise podem ser divididas em dois grupos (Bernardes e Soares, 2005):

- Acompanhamento do crescimento dos microrganismos, em que o caso mais comum é a quantificação da biomassa, por meio da análise de sólidos suspensos, totais e voláteis, podendo ser utilizadas, também, as técnicas biológicas de contagem de microrganismos;
- Acompanhamento dos efeitos metabólicos no meio, devido ao crescimento da biomassa, como medidas de eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes.

As técnicas de acompanhamento dos efeitos metabólicos no meio são mais facilmente detectadas e permitem maior eficácia no controle dos processos (Bernardes e Soares, 2005).

A respirometria é uma das técnicas que podem ser utilizadas para o acompanhamento das atividades realizadas pelos microrganismos, e se baseia na análise do consumo de oxigênio ou produção de dióxido de carbono por unidade de volume e de tempo (Bernardes e Soares, 2005).

A respiração é realizada em todas as células vivas, por meio de uma série de etapas que envolvem diversas enzimas específicas e substâncias intermediárias. A respiração está ligada às mitocôndrias e, em termos bioquímicos, é o processo metabólico que envolve a geração de Adenosina Trifosfato (ATP), no qual, compostos como o  $O_2$ , o  $NO_3^-$  e o  $SO_4^{2-}$  desempenham o papel de aceptores finais de elétrons. O ATP é gerado pela remoção de elétrons do substrato e transferência ao longo de uma cadeia de transporte de elétrons de um transportador metabólico para o próximo e, por último, para o oxigênio, no caso de sistemas aeróbios. Nesse caminho, a biomassa converte a energia intra-molecular ligada ao substrato para o fosfato altamente energético ligado ao ATP (Spanjers *et al.*, 1998).

Como não é possível medir as taxas de respiração no interior das células, são utilizadas as medidas do volume de oxigênio consumido ou de  $CO_2$  produzido (Bernardes e Soares, 2005).

O ensaio respirométrico tem como principal objetivo estimar o tempo para a estabilização de um resíduo orgânico inserido no solo, além de obter as taxas de aplicação mais convenientes e detectar uma possível toxicidade aos microrganismos do solo devido à presença de determinados elementos no resíduo (Nuvolari, 1996).

Quando essa técnica é realizada com misturas de contaminantes, é impossível prever qual contaminante está sendo metabolizado em determinado momento (Baker e Herson, 1994).

Além desse inconveniente, o consumo de oxigênio não se dá unicamente pela remoção de carbono do substrato, mas também por outros processos, tais como a oxidação de compostos inorgânicos. As bactérias nitrificantes utilizam o dióxido de carbono dissolvido como fonte de carbono para a formação de biomassa e as bactérias autotróficas utilizam o enxofre ou o ferro para a obtenção de energia e o dióxido de carbono ou o carbonato como fonte de carbono. Assim, todas essas interferências contribuem para a alteração da taxa total de respiração observada (Spanjers *et al.*, 1998).

Para medição da variação de oxigênio e/ou CO<sub>2</sub> no sistema, sob condições controladas, são utilizados equipamentos denominados respirômetros, que consistem em um reator, ou câmara de respiração, e em um equipamento capaz de medir o consumo de O<sub>2</sub> ou produção de CO<sub>2</sub>. Na câmara de respiração são colocados em contato o substrato a ser degradado, a biomassa e o oxigênio disponível, que será consumido (Ferreira, 2002).

Uma das técnicas que tem se destacado é a medida da liberação de CO<sub>2</sub> por meio da captura do CO<sub>2</sub> por substância alcalina (normalmente Hidróxido de Potássio - KOH ou Hidróxido de Sódio - NaOH) e posterior precipitação na forma de Carbonato de Bário - BaCO<sub>3</sub>, pela adição de solução saturada de Cloreto de Bário - BaCl<sub>2</sub>. A soda excedente é, então, titulada com Ácido Clorídrico - HCl, permitindo o cálculo da produção de gás carbônico (Mariani, 2005). É o caso dos Respirômetros de Bartha e Pramer que têm sido utilizados em diversos trabalhos para avaliação do processo de degradação de poluentes por microrganismos, em solo.

A Respirometria eletrolítica monitora o decréscimo da pressão parcial em frascos fechados e hidrolisa eletricamente a água a hidrogênio e oxigênio para suprir os frascos com oxigênio, possibilitando a medida da quantidade de oxigênio produzida (Baker e Herson, 1994).

Há, ainda, a respirometria manométrica que se baseia na medida da mudança da pressão parcial dos gases em frascos fechados com material sofrendo biodegradação. Enquanto o oxigênio é consumido, o dióxido de carbono produzido é precipitado em uma solução



alcalina, o que faz com que a pressão parcial no frasco diminua. O Respirômetro Warburg é um exemplo de equipamento para medida do decréscimo da pressão parcial no frasco e é mais adequado para soluções que contém baixa concentração de substâncias orgânicas (Baker e Herson, 1994).

Técnicas analíticas indiretas similares podem ser utilizadas para monitoramento da respiração anaeróbia. Sob condições anaeróbias, os principais produtos metabólicos são o dióxido de carbono e o metano. Assim, as amostras de gases podem ser removidas dos frascos para quantificação por meio da cromatografia gasosa, com detectores apropriados, ou o aumento de pressão nos recipientes pode ser utilizado para medir a produção de metano e dióxido de carbono (Baker e Herson, 1994).

### 3.4 - CRESCIMENTO BACTERIANO EM SISTEMAS DE BATELADA

Em processo de batelada, no qual a quantidade de substrato é restrita, as medidas respirométricas demonstram que, depois de certo tempo, ocorre a contínua queda da taxa de utilização de oxigênio por parte dos microrganismos, fato que se deve à diminuição do alimento disponível. Assim, quando o alimento se esgota, não havendo mais a taxa correspondente ao consumo de substrato, a única taxa a se desenvolver no sistema será a endógena. A curva típica que representa as taxas de crescimento da biomassa está representada na Figura 3.2:

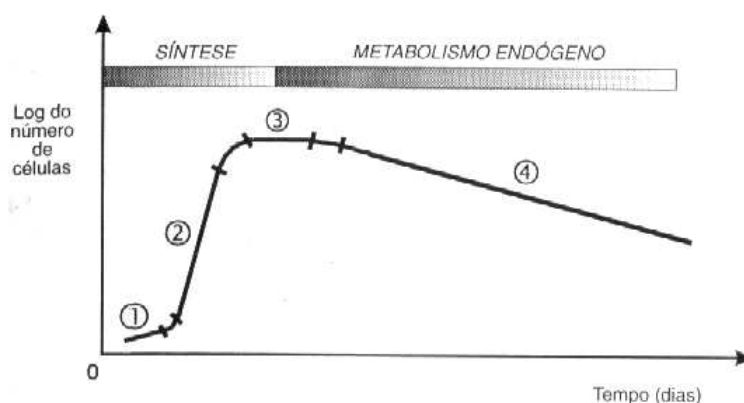


Figura 3.2: Curva típica de crescimento bacteriano (von Sperling, 1996).

A curva é gerada pela seqüência de diversas fases, descritas a seguir:

- 1 - Fase de retardo ou adaptação: período de aclimação, no qual os microrganismos presentes sofrem o processo de adaptação enzimática e tornam-se capazes de degradar o substrato;
- 2 - Fase de crescimento exponencial: o crescimento dos microrganismos ocorre em uma taxa constante, pois há um excesso de substrato no meio, o que possibilita crescimento máximo limitado apenas pela capacidade apresentada pelos microrganismos em degradar o substrato;
- 3 - Fase estacionária: nessa fase o crescimento populacional cessa, pois o substrato se torna escasso, e o crescimento de novas células é recompensado pela morte de outras, mantendo o número de células temporariamente constante;
- 4 - Fase de declínio exponencial: a disponibilidade de substrato é reduzida e a taxa de mortalidade dos microrganismos excede a produção de novos microrganismos. Essa fase está, geralmente, relacionada à população viável e às características ambientais e, em alguns casos, pode ser o inverso da fase de crescimento exponencial. Nessa fase prevalecem características de respiração endógena, em que as bactérias utilizam seu próprio protoplasma celular como fonte de substrato (Metcalf e Eddy, 1991).

A curva típica de crescimento bacteriano apresentada na Figura 3.2 é característica de uma única população de microrganismos que degrada um substrato específico. Em situações reais há uma série de populações degradando substâncias também diversas, sendo observada uma sobreposição de curvas que ocorrem em tempos diferentes (Bernardes e Soares, 2005).

Na respiração aeróbia, a absorção do oxigênio atmosférico se dá em duas fases: na degradação do substrato e na respiração endógena. A fase de degradação do substrato, da matéria orgânica fornecida para os microrganismos, pode ser subdividida em degradação de substratos rapidamente biodegradáveis, com velocidade elevada de consumo de oxigênio, e degradação de substratos lentamente biodegradáveis, com velocidade de consumo de oxigênio inferior. Na fase de respiração endógena o oxigênio necessário é consumido para a respiração dos microrganismos, ou seja, para obtenção da energia requerida para manter as funções básicas da célula, com velocidade de consumo de oxigênio ainda mais baixa (Andreottola *et al.*, 2005).

Por meio do consumo de oxigênio e produção de CO<sub>2</sub>, fornecidos pelas análises respirométricas, é possível realizar uma avaliação da cinética de degradação de misturas de compostos presentes no meio, além de possibilitar a avaliação da toxicidade de substâncias aos microrganismos.

### 3.5 - UTILIZAÇÃO DE RESPIRÔMETROS DE BARTHA PARA AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE CONTAMINANTES

Alguns trabalhos encontrados na literatura científica (Tabela 3.6) avaliaram a biodegradação de: lodos de Estações de Tratamento de Águas Residuárias (Nuvolari, 1996; Andrade, 2004); lodos de Estações de Tratamento de Água (Guerra e Angelis, 2005); lodos industriais (Couracci Filho *et al.*, 1997); compostos fenólicos (Albuquerque, 2000); biodiesel (Oliveira *et al.*, 2006); derivados do petróleo (Lei *et al.*, 2005; Mello, 2005; Mariano, 2006; Walworth *et al.*, 2007; Montagnolli, R. N. *et al.*, 2009) e composto químico Creosoto (Carriere *et al.*, 1995).

Tabela 3.6: Informações gerais de estudos que avaliaram a biodegradação aeróbia de substâncias por meio da respirometria.

Referência	Respirômetros utilizados	Material contaminado	Contaminante testado	Tratamentos	Período de incubação
Nuvolari (1996)	Respirômetros de Bartha e respirômetros alternativos de 560 mL contendo frasco com solução de KOH	Solo argilo-arenoso	Lodo de ETAR	Controle (sem lodo); 10; 15; e 30 tds/ha	2 experimentos de 176 e 172 dias, cada
Andrade (2004)	Respirômetros alternativos de 1,5 L contendo frasco com solução de KOH	Latosolo Vermelho Eutroférico de textura argilosa	Lodo de ETAR	Controle (sem lodo); lodos ativados com reator anaeróbio, condicionados com cal e cloreto férrico ou polímero sintético ou seco termicamente; lodo de lagoas aeradas condicionado com polímero sintético; e lodo compostado, todos a 40 t/ha	70 dias
Guerra e Angelis (2005)	Respirômetros de Bartha	Solo utilizado para cobertura de células de um aterro	Lodo de decantadores de ETA que utilizam cloreto férrico para coagulação	Controle (sem lodo); taxas de 30; 50; 70; e 100% de lodo em solo	118 dias
Couracci Filho <i>et al.</i> (1997)	Respirômetros de Bartha e respirômetros alternativos de 560 e 800 mL contendo frasco com solução de KOH	Solo franco-arenoso	Lodo digerido, de indústria cítrica	Controle (sem lodo); 2,5; e 5 tds/ha	38 dias

Referência	Respirômetros utilizados	Material contaminado	Contaminante testado	Tratamentos	Período de incubação
Albuquerque (2000)	Respirômetros de Bartha	Areia de moldagem	Compostos fenólicos	Areia de moldagem (164 mg de Fenol/kg) submetida a diferentes inóculos	90 dias
Oliveira <i>et al.</i> (2006)	Respirômetros de Bartha	Solo de um aterro sanitário	Biodiesel	Controle (apenas solo); adição de inóculo e biodiesel; adição apenas de inóculo; e adição apenas de biodiesel	69 dias
Lei <i>et al.</i> (2005)	Respirômetro computadorizado Modelo WB512 (N-Con Systems)	Sedimento de um rio	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos	18 g de sedimento contaminado e 90 mL de água: sem adição de nutrientes e sem ajuste de pH; sem adição de nutrientes e com ajuste de pH; com adição de nutrientes e com ajuste de pH; e controle (com inibidores de atividade microbológica)	168 horas
Mello (2005)	Respirômetros de Bartha	Latossolo Vermelho-Escuro de textura argilosa	Fenantreno	Branco (carbonato de cálcio, água e nutrientes); Controle (além destes, acetona); taxas de 1; 2; 3; 5; e 8 g de Fenantreno/kg dissolvido em acetona, água e nutrientes	3 experimentos de 25, 40 e 45 dias, cada
Mariano (2006)	Respirômetros de Bartha	Solos coletados em postos de combustíveis	Óleo diesel	Controle (apenas solo); adição de nutrientes e de inóculo; adição apenas de nutrientes; e adição apenas de inóculo para 2 tipos de solo	5 experimentos de 57, 92, 48, 48 e 47 dias, cada
Walworth <i>et al.</i> (2007)	Frascos de 500 mL com solução de KOH conectados a um Respirômetro COMPUT- OX (N-Con Systems) que mede o consumo de oxigênio	Solo arenoso contaminado com petróleo a uma taxa de 5250 mg de hidrocarbonetos /kg	Petróleo	Controle (sem adição de Nitrogênio); taxas de 125; 250; 375; 500; e 625 mg de N/kg de solo seco	123 dias
Montagnolli <i>et al.</i> (2009)	Respirômetro de Bartha	Solo arenoso	Óleos automotivos e óleos vegetais	7 tratamentos: controle (sem inserção de óleo); 4 tipos diferentes de óleo automotivo lubrificante; e 2 tipos diferentes de óleo vegetal	130 dias
Carriere <i>et al.</i> (1995)	Respirômetro N-Con - reatores com solução de KOH equipados com medidores de pressão e cilindro de oxigênio ligado a um computador para medir a quantidade de oxigênio requerida	Solo arenoso	Creosoto	15 g de solo contaminado às taxas de 112,5; 275,6; 551,5; e 1102,5 mg de Creosoto por kg de solo e 300 mL de água deionizada. Cada taxa comparando com e sem adição de surfactante	480 horas

Os resultados obtidos por Nuvolari (1996) indicam que o total acumulado de CO<sub>2</sub> na primeira fase, em mg/50 g de solo, utilizando Respirômetros de Bartha, foi de: 753 para o controle; 775,7 para o tratamento com 15 tds/ha; e 668,5 para o tratamento com 30 tds/ha; já quando utilizado o respirômetro alternativo, de 560 mL (200 mL a mais do que os de Bartha), os resultados obtidos foram de 899 para o controle; 960,4 para o tratamento com 15 tds/ha; e 852 para o tratamento com 30 tds/ha.

Na segunda fase, o total acumulado de CO<sub>2</sub>, em mg/50 g de solo, utilizando Respirômetros de Bartha, foi de: 370,4 para o controle; 346 para o tratamento com 5 tds/ha; 629,3 para o tratamento com 10 tds/ha; e 589,2 para o tratamento com 15 tds/ha, já quando utilizado o respirômetro alternativo, os resultados obtidos foram de 399,3 para o controle; 435,1 para o tratamento com 5 tds/ha; 644,85 para o tratamento com 10 tds/ha; e 604,25 para o tratamento com 15 tds/ha.

Os resultados demonstram que os respirômetros alternativos apresentaram valores maiores do que os de Bartha, fato que pode ser explicado pela diferença de volume útil, relacionado à disponibilidade de O<sub>2</sub> para os microrganismos.

Quanto à melhor taxa de aplicação de lodo no solo, Nuvolari (1996) ressaltou que, se o critério utilizado for o menor tempo de degradação, os resultados apontam que a melhor taxa de aplicação seria de 5 tds/ha. Contudo, se o aspecto analisado for o de reator biológico, a taxa de aplicação de 10 tds/ha seria mais indicada, pois foi a que gerou maior quantidade de CO<sub>2</sub>.

A análise do pH durante o período de incubação mostrou uma tendência de acidificação do solo-controle, sendo maior a acidificação observada nas misturas solo-lodo. A queda excessiva do pH pode estar relacionada ao fato da presença de alumínio no lodo. Para solos ácidos, o autor sugeriu pesquisas que utilizassem lodos desidratados e pré-condicionados com cal.

De acordo com os dados obtidos por Andrade (2004), a produção média de carbono, em mg de C/kg de solo, de lodos ativados com reator anaeróbio condicionado com cal e cloreto férrico foi de 1636,47; do condicionado com polímero sintético foi de 2592,78; do seco termicamente foi de 3054,51; do lodo de lagoas aeradas condicionado com polímero

sintético foi de 901,12; e do lodo compostado foi de 467,84. O lodo ativado condicionado com cal hidratada e cloreto férrico foi o que produziu a menor quantidade de CO<sub>2</sub> nos primeiros 10 dias, provavelmente devido à fase-lag provocada por uma alcalinidade elevada.

Os resultados obtidos por Guerra e Angelis (2005) demonstraram que, quanto maior a proporção de lodo de ETA em relação ao solo, maior a quantidade de carbono biodegradado, indicando boa biodegradabilidade do material. Foram realizadas, também, contagens de bactérias heterotróficas antes e após o período de incubação em todos os tratamentos o que permitiu constatar o crescimento bacteriano nas diversas proporções.

Couracci Filho *et al.* (1997), utilizando Respirômetros de Bartha obtiveram produção total média de CO<sub>2</sub>, em mg/50 g de solo, de 12,36 nos respirômetros controle; de 21,5 para a taxa de 2,5 tds/ha; e de 37,5 para a taxa de 5 tds/ha. Com os respirômetros alternativos, de 560 mL de volume, a produção total média de CO<sub>2</sub>, em mg/50 g de solo, foi de 7,06 nos respirômetros controle; de 14,36 para a taxa de 2,5 tds/ha; e de 26,96 para a taxa de 5 tds/ha. Já com os alternativos de volume de 800 mL, a produção total média de CO<sub>2</sub>, em mg/50 g de solo, foi de 7,3 nos respirômetros controle; de 16,6 para a taxa de 2,5 tds/ha; e de 34,3 para a taxa de 5 tds/ha. Observou-se que o tempo de biodegradação do lodo ocorreu quase que totalmente nos primeiros 20 dias de incubação. Os autores concluíram que os respirômetros alternativos de 800 mL são viáveis para avaliar a biodegradabilidade de compostos devido à sua boa reprodutibilidade e baixo custo, apresentando a vantagem de permitir leituras com maiores intervalos de tempo.

Os dados obtidos por Albuquerque (2000) apresentaram uma produção acumulada de CO<sub>2</sub>, em mg/150 g de areia de moldagem, de 183,9 para o controle; 238,2 para o tratamento com bactérias; 222,2 com fungos; 231,7 com actinomicetos; 227,4 com misto e nutrientes; e 233,9 com misto sem nutrientes. Ficou demonstrado que a introdução de cultura mista de microrganismos mostrou-se a melhor alternativa para o tratamento do resíduo, com remoção de 99% do fenol em 90 dias de ensaio. Com 37 dias, a concentração de fenol, no solo em que foi aplicado o inóculo misto, era menor de 10 mg/kg, não mais caracterizando o resíduo como perigoso.

Ao final do ensaio respirométrico, foi realizada a quantificação da população de microrganismos que atuaram na biodegradação dos compostos fenólicos por meio da técnica de contagem em placas contendo meio de cultura sólido. No tratamento controle, a quantificação indicou  $1,68 \times 10^7$  UFC de bactérias/g de areia;  $4,34 \times 10^4$  UFC de fungos/g; e  $<1$  UFC de actinomicetos/g. Aquele que recebeu inóculo de bactérias apresentou  $1,28 \times 10^7$  UFC de bactérias/g de areia; o que recebeu fungos apresentou  $7,28 \times 10^4$  UFC de fungos/g e o que recebeu actinomicetos apresentou  $1,14 \times 10^3$  UFC de actinomicetos/g. No tratamento misto com nutrientes a quantificação indicou  $3,24 \times 10^7$  UFC de bactérias/g de areia;  $1,62 \times 10^5$  UFC de fungos/g; e  $1,16 \times 10^3$  UFC de actinomicetos/g. E no misto sem nutrientes foram contadas  $2,73 \times 10^7$  UFC de bactérias/g de areia;  $3,64 \times 10^4$  UFC de fungos/g; e  $3,86 \times 10^3$  UFC de actinomicetos/g. Assim, o tratamento que recebeu misto de microrganismos juntamente com nutrientes foi o que apresentou maior quantidade de bactérias e fungos e o misto sem nutrientes, maior quantidade de actinomicetos, dados compatíveis aos obtidos no experimento respirométrico que apresentaram maior produção de  $\text{CO}_2$  nos tratamentos mistos.

Os resultados obtidos por Oliveira *et al.* (2006) permitiram concluir que a associação do biodiesel com o inóculo de microrganismos produziu maior quantidade de  $\text{CO}_2$ , indicando maior quantidade de carbono biodegradado; seguido do tratamento de solo acrescido somente com biodiesel; e do tratamento apenas com inóculo no solo. A menor produção de  $\text{CO}_2$  ocorreu no controle (somente solo). Os autores concluíram que o combustível estudado é de difícil degradação, pois a eficiência de biodegradação foi baixa. Foi realizada, também, a quantificação total de bactérias e fungos, que mostrou um acréscimo do número de bactérias no decorrer do experimento. Os meios utilizados foram Plate Count Agar (PCA), Potato Dextrose Agar (PDA) e Sabouraud.

Lei *et al.* (2005) observaram que nos tratamentos em que o pH foi ajustado, a demanda de oxigênio foi semelhante e a taxa máxima de consumo de oxigênio variou de 0,33 a 0,36 mmol de  $\text{O}_2$ /(g de sedimento seco.dia).

Mello (2005), em seu estudo, observou que o Fenantreno foi biodegradado em todos os teores analisados; contudo, a maior produção de  $\text{CO}_2$  ocorreu com a concentração de 3g/kg de solo, diminuindo em concentrações superiores, o que indica processo de inibição.

Como as amostras de solo tinham sido esterilizadas, esperava-se não ocorrer produção de CO<sub>2</sub>, contudo, foi observada produção, principalmente no início do experimento. No Teste 1 a porcentagem de remoção de Fenantreno nos respirômetros com 1; 2; 3; 5; e 8 g/kg foi de 12%; 4,5%; 5%; 2,3%; e 1,6%, respectivamente.

No Teste 2, no qual as amostras de solo permaneceram em contato com o carbonato de cálcio por 7 dias, período esperado para tentar eliminar a interferência da produção de CO<sub>2</sub> relacionada ao equilíbrio do carbonato, os resultados foram semelhantes aos obtidos no Teste 1, apresentando valores mais elevados no início e próximos entre as proporções de Fenantreno aplicadas ao solo. Quando subtraída a produção de CO<sub>2</sub> do respirômetro controle, observou-se que a concentração de 8 g/kg não gerou CO<sub>2</sub>, indicando toxicidade do contaminante. A porcentagem de remoção de Fenantreno nos respirômetros com 1; 2; 3; e 5 g/kg foi de 1,8%; 1,8%; 3%; e 1,6%, respectivamente.

O Teste 3 seguiu os mesmos procedimentos adotados nos Testes 1 e 2, porém, sem adição de carbonato de cálcio, com o intuito de eliminar a interferência provocada pelo consumo de CO<sub>2</sub> originado das reações de equilíbrio do carbonato. A porcentagem de remoção de Fenantreno nos respirômetros com 1; 2; 3; e 5 g/kg foi de 7,2%; 2,4%; 5,4%; e 1,7%, respectivamente, demonstrando que não é necessária a adição de carbonato de cálcio para ocorrer a biodegradação, fato que pode ser explicado pela adaptação dos microrganismos ao pH ácido, característico do solo utilizado (Latossolo).

No primeiro experimento do estudo realizado por Mariano (2006), os resultados de CO<sub>2</sub> acumulado demonstraram ausência da fase de adaptação (*fase lag*) o que indica adaptação dos microrganismos aos poluentes e condições experimentais favoráveis. Quando comparada a produção média de CO<sub>2</sub> durante os primeiros 20 dias e o período subsequente, observou-se uma diminuição de aproximadamente 45% para os tratamentos com adição de nutrientes e 23% para os tratamentos sem adição de nutrientes. Essa diferença pode estar relacionada ao consumo dos hidrocarbonetos mais facilmente biodegradáveis no início e posterior consumo dos hidrocarbonetos mais recalcitrantes. De acordo com o autor, a maior diferença nos tratamentos com adição de nutrientes sugere que o efeito benéfico dos nutrientes é menos pronunciado na biodegradação dos hidrocarbonetos recalcitrantes.



Foi realizada, também, a contagem de bactérias heterotróficas totais presentes no solo antes e após o experimento, por meio do crescimento em meio de cultura sólido PCA. Na maioria dos tratamentos, as populações microbiológicas ao final do experimento eram de 2 a 30 vezes maiores do que as iniciais. O número de bactérias heterotróficas não foi influenciado pelos tratamentos.

Walworth *et al.* (2007) verificaram que o tratamento controle, sem adição de Nitrogênio, apresentou consumo de oxigênio de 67,3 mg/(kg.dia). A inserção de 125 mg de N/kg de solo aumentou o consumo de oxigênio para 92,7 mg/(kg.dia). Já a adição de 250 mg de N/kg de solo provocou diminuição no consumo de oxigênio, porém não significativa estatisticamente. E a adição de níveis maiores de N (375; 500; ou 675 mg de N/kg de solo) gerou decréscimo significativo no consumo de oxigênio para valores próximos ao controle.

Montagnolli *et al.* (2009), utilizando Respirômetros de Bartha, após aproximadamente 80 dias de experimento observaram uma pequena diminuição na taxa de produção de CO<sub>2</sub>, que provocou mudança na inclinação da curva, especialmente no tratamento que utilizou óleo de soja. Também verificaram que o tratamento com óleo automotivo lubrificante usado foi o que apresentou maior potencial de biodegradabilidade, gerando 577,72 ± 21,77 mg de CO<sub>2</sub>. A menor produção, dentre os óleos testados, ocorreu no tratamento com óleo de soja não-utilizado, de 419,9 ± 11,66 mg de CO<sub>2</sub>. O tratamento controle apresentou os menores resultados em produção de CO<sub>2</sub>, de 396,77 ± 9,33 mg.

Carriere *et al.* (1995) observaram que o aumento na concentração de surfactante de 0,35-0,71 mg/kg de solo provocou aumento do consumo de oxigênio para o nível de contaminação de 112,5 mg de Creosoto/kg de solo, mas diminuição de 80% no consumo de oxigênio para os níveis de contaminação de 275,6 a 1102,5 mg/kg.

A maior parte das referências bibliográficas que utilizaram Respirômetros de Bartha é brasileira. Nos demais países são utilizados, normalmente, respirômetros automatizados conectados a computadores, tais como da N-Con Systems. Ainda são poucos os estudos que avaliaram a biodegradação da matéria orgânica de lixiviado de RSU em solo, sendo mais comum o estudo de águas residuárias e de substâncias derivadas do petróleo.

O potencial de utilização da biorremediação para minimizar os impactos provocados pela presença do lixiviado em lixões desativados e a ausência de uma literatura consistente acerca do assunto, demonstram a demanda e a necessidade da realização de pesquisas que enfoquem o tema sob esse ângulo para possibilitar a busca de respostas aos questionamentos existentes quanto à eficácia e aos impactos que a aplicação de um processo de biorremediação pode provocar nessas áreas.

#### 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos realizados neste trabalho foram desenvolvidos no Laboratório de Análise de Águas, do Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília (UnB), com a colaboração do Laboratório de Geotecnia, também do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília, e do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), *campus* de Rio Claro/SP.

Foram realizadas coletas de amostras de solo e de lixiviado de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU), seguidas de suas caracterizações, para posterior inserção em Respirômetros de Bartha. As análises respirométricas foram divididas em dois experimentos.

O primeiro consistiu em um Teste Respirométrico com duração de 50 dias, que utilizou amostras de Latossolo Vermelho-Escuro, característico de Brasília, contaminadas com lixiviado de RSU bruto ou diluído com água destilada na proporção 1:1; ou somente com água destilada. Todas as amostras continham volume suficiente para que o solo atingisse 60% da Capacidade de Campo, de acordo com a Norma ABNT 14.283, de 1999, umidade dentro do intervalo adequado ao desenvolvimento de microrganismos, tendo como objetivo avaliar a biodegradabilidade de lixiviado de RSU em solo característico de Brasília e a aplicabilidade do Respirômetro de Bartha como ferramenta para acompanhamento da biodegradação aeróbia de lixiviado de RSU em solo.

Uma vez identificada a capacidade dos microrganismos, do solo e do lixiviado, em biodegradar a matéria orgânica original e a acrescentada, e verificada a aplicabilidade do Respirômetro de Bartha como ferramenta para acompanhamento da biodegradação aeróbia de lixiviado de RSU em solo, foi desenvolvido o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, com duração total de 41 dias, tendo como objetivo avaliar a resposta do Respirômetro quando utilizado lixiviado com alta toxicidade. Para a contaminação da mesma amostra de Latossolo, foi utilizado lixiviado bruto contendo Cloreto de Mercúrio a uma concentração de 1 g de  $\text{HgCl}_2/\text{L}$ ; lixiviado diluído a proporção 1:1 (resultando em uma concentração de 0,5 g de  $\text{HgCl}_2/\text{L}$ ); e somente água destilada (controle), mais uma vez com volume suficiente para atingir 60%

da Capacidade de Campo do solo. Sabe-se que substâncias com Mercúrio podem ser encontradas em lixiviados de RSU por estarem contidas em tintas, pilhas, baterias e outros produtos industrializados; contudo, a concentração utilizada está muito acima da normalmente observada em tais lixiviados, isso porque foi escolhida uma concentração capaz de reduzir a atividade dos microrganismos presentes no lixiviado, em aproximadamente 50%, para que fosse possível identificar diferenças nos dados de produção de CO<sub>2</sub>.

Após a realização dos Testes Respirométricos, os tratamentos foram analisados para verificação de alterações provocadas pelo processo de biodegradação da matéria orgânica durante os períodos de incubação.

O delineamento experimental é apresentado na Figura 4.1, para compreensão das etapas adotadas.

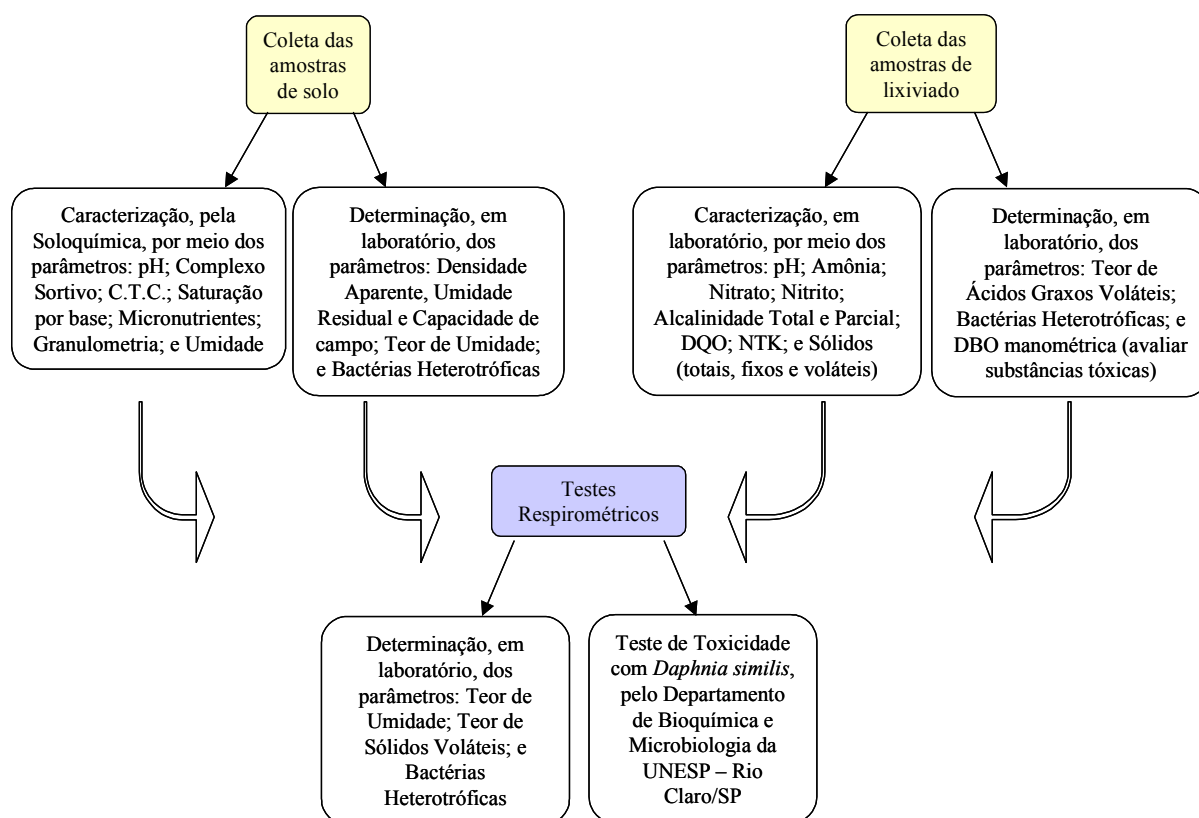


Figura 4.1: Delineamento experimental adotado no presente estudo.

#### 4.1 – APARATO EXPERIMENTAL

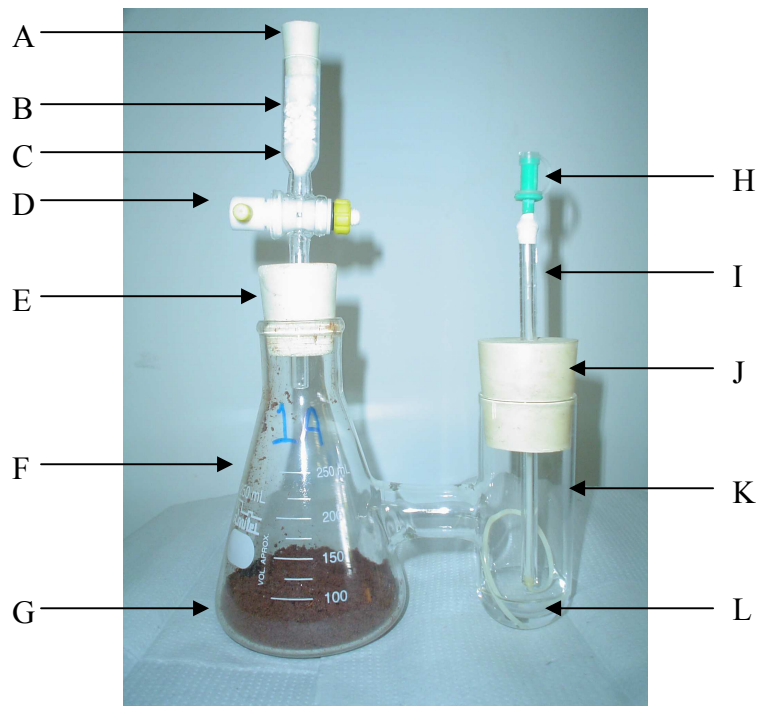
Bartha e Pramer (1965) desenvolveram um frasco biométrico capaz de medir a geração acumulada de CO<sub>2</sub> decorrente da respiração aeróbia. O aparato experimental foi utilizado na avaliação da biodegradabilidade de pesticidas em solo.

O respirômetro de Bartha, segundo a NBR 14.283, de 1999, pode ser utilizado tanto para avaliar a tratabilidade de resíduos em solo, quanto para inferir as condições de manejo de sistemas de tratamento de resíduos em solo. Tal metodologia já foi utilizada por diversos autores tais como Nuvolari (1996); Couracci Filho *et al.* (1997); Albuquerque (2000); Guerra e Angelis (2005); Mello (2005); Mariano (2006); Oliveira *et al.* (2006); Montagnolli *et al.* (2009), entre outros.

Por ser recomendado pela NBR 14.283, de 1999, e ter sido amplamente utilizado em trabalhos nacionais para avaliação da biodegradação de compostos em solo, tais como águas residuárias e subprodutos do petróleo, e, ainda, por ser uma metodologia simples e de baixo custo operacional, optou-se pela utilização de Respirômetros de Bartha neste estudo para acompanhamento da biodegradação de lixiviado de RSU em amostra de Latossolo Vermelho-Escuro.

O Respirômetro de Bartha consiste em um equipamento relativamente simples que apresenta duas câmaras interligadas. Em uma das câmaras é inserido o solo contaminado juntamente com os microrganismos responsáveis pela degradação dos poluentes; na outra câmara são inseridos 10 mL de solução de Hidróxido de Potássio (KOH) 0,2 N, com a função de absorver o CO<sub>2</sub> gerado no sistema. A cada medição, a solução de KOH era removida e titulada com HCl 0,1 N. Enquanto era promovida a titulação, ocorria a oxigenação forçada do sistema por meio de uma bomba de aquário, o ar inserido passava por um filtro de cal sodada, com o objetivo de absorver o CO<sub>2</sub> e permitir a inserção apenas de O<sub>2</sub> para atividade metabólica dos microrganismos.

Na Figura 4.2 é apresentada uma fotografia de um dos respirômetros utilizados nos Testes Respirométricos do presente estudo.



- |   |                                       |
|---|---------------------------------------|
| A – Rolha de borracha;                                  | G – Solo;                             |
| B – Filtro de cal sodada para absorção do $\text{CO}_2$ | H – Tapa da sonda inserida no sistema |
| do ar inserido no momento de reeração;                  | para remoção de toda solução de KOH;  |
| C – Suporte de algodão;                                 | I – Cânula;                           |
| D – Válvula;  | J – Rolha de borracha;                |
| E – Rolha de borracha;                                  | K - Braço lateral;                    |
| F – Frasco de Erlenmeyer adaptado;                      | L - Solução de KOH.                   |

Figura 4.2: Foto de um Respirômetro de Bartha utilizado nos Testes Respirométricos do presente estudo.

#### 4.2 – DESENVOLVIMENTO DOS TESTES RESPIROMÉTRICOS

Foram realizados dois Testes Respirométricos, um com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e outro com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica ( $\text{HgCl}_2$ ). Em cada um deles foram analisados três tipos de tratamento, cada um com três respirometros (triplicata), totalizando nove respirometros por Teste e 18 respirometros no total.

O volume total de líquido acrescentado em todos os respirometros, tanto de lixiviado quanto de água destilada, foi calculado para atingir 60% da Capacidade de Campo do solo utilizado, por estar dentro do intervalo indicado pela Norma ABNT 14.283, de 1999, para fornecer umidade adequada ao crescimento da comunidade microbiana.

O Esquema na Figura 4.3 apresenta os dois Testes Respirométricos e as quantidades aproximadas de solo e de líquido, inseridos nos Respirômetros de Bartha.

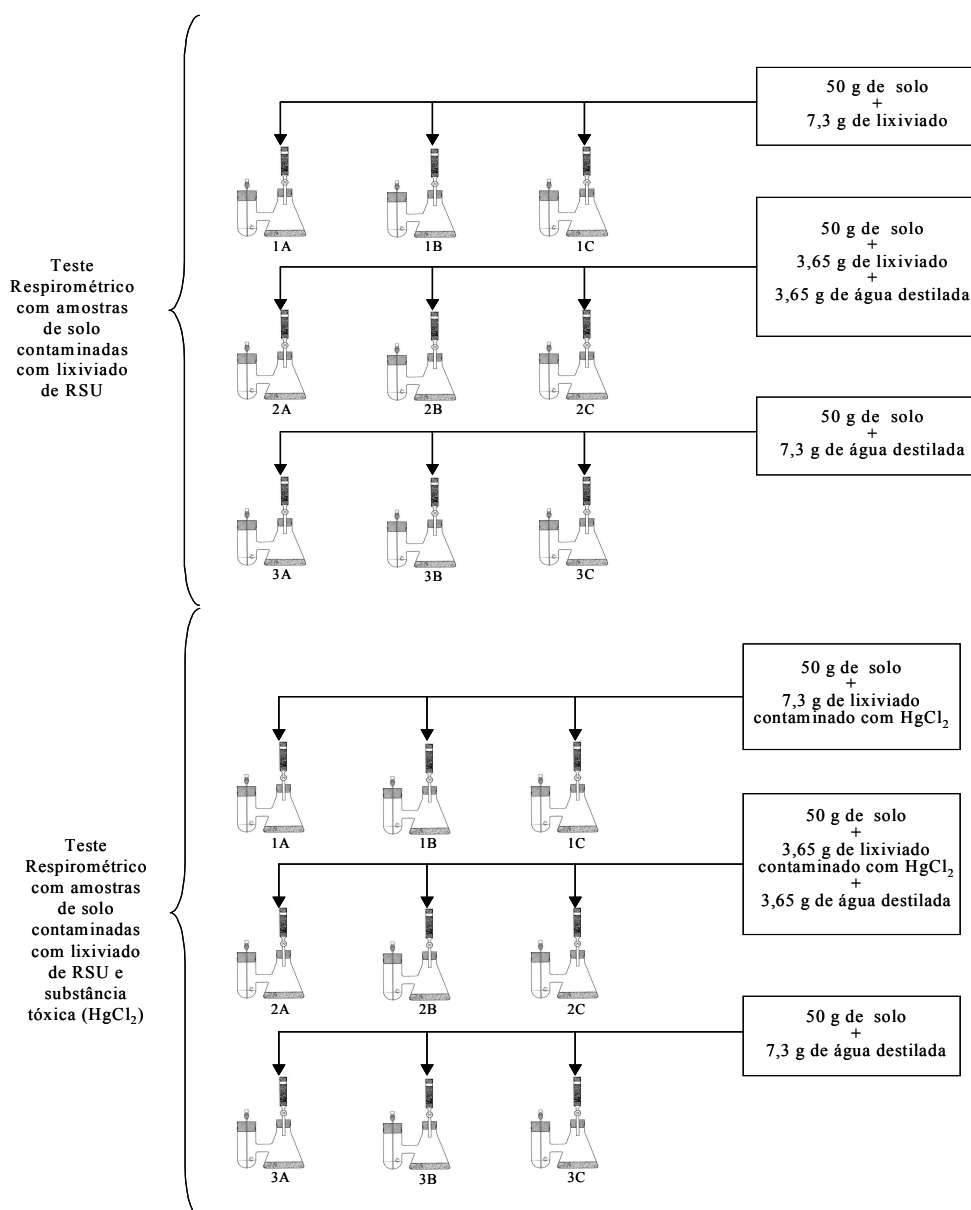


Figura 4.3: Esquema dos Testes Respirométricos realizados no presente estudo.

No Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, o intervalo máximo entre as medições foi de quatro dias e o período de incubação foi de 50 dias. No Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, a medição foi realizada diariamente e os respirômetros permaneceram incubados por 41 dias. O curto espaçamento de tempo entre as medições teve o objetivo de permitir uma alcalinidade residual que garantisse a quantificação da produção de CO<sub>2</sub>.

Os respirômetros permaneceram incubados, no escuro, a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , em uma sala isolada termicamente com placas de isopor e equipada com aquecedor. A Figura 4.4 apresenta foto dos respirômetros no interior da sala.



Figura 4.4: Respirômetros incubados no interior da sala com controle de temperatura.

#### 4.2.1 – Tratamento dos dados respirométricos

A mensuração da geração de  $\text{CO}_2$  foi realizada tanto nos respirômetros controle, quanto nos respirômetros que continham misturas de solo e lixiviado. O  $\text{CO}_2$ , produzido na degradação aeróbia da matéria orgânica originalmente presente no solo e adicionada por meio da aplicação de lixiviado, foi absorvido pela solução de Hidróxido de Potássio (KOH) 0,2 N presente no braço lateral dos Respirômetros de Bartha. O volume da solução de HCl 0,1 N, gasto para atingir o pH capaz de mudar a coloração do indicador Fenolftaleína da cor rósea para a incolor ( $\text{pH} < 8,2$ ), foi utilizado no cálculo da quantidade de  $\text{CO}_2$  produzido, comparando-se com o volume gasto para titular o Branco (KOH sem período de incubação no interior dos respirômetros).

Esse cálculo é possível, pois o  $\text{CO}_2$  resultante da biodegradação reage com o KOH, no interior do Respirômetro de Bartha, formando  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Quando a mistura de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e excesso de KOH é adicionada à solução de  $\text{BaCl}_2$  1,0 N, ocorre reação do  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e do  $\text{BaCl}_2$  formando o precipitado  $\text{BaCO}_3$ , seqüestrando o Carbonato e garantindo que o HCl reaja apenas com o KOH excedente, permitindo o cálculo da quantidade de  $\text{CO}_2$  produzida.

Para cálculo da geração de gás carbônico em cada respirômetro, tanto nos respirômetros controle quanto nos respirômetros que continham lixiviado, foi utilizada a equação 4.1, a seguir:



$$\mu\text{molCO}_{2\text{ solo(residuo)}} = (A - B) \times 50 \times f_{\text{HCl}} \quad (4.1)$$

Em que:

$A$  = volume de HCl 0,1 N utilizado para titular o branco (mL);

$B$  = volume de HCl 0,1 N utilizado para titular o tratamento (mL);

50 = fator para transformar equivalente em  $\mu\text{mol}$  de gás carbônico;

$f_{\text{HCl}}$  = fator do HCl 0,1 N.

Para obtenção da produção média em cada respirômetro, foi calculada a média aritmética dos três respirômetros que receberam o mesmo tratamento. Para cálculo da Produção Média Acumulada, foi realizada a soma dos valores obtidos em cada medição.

A produção efetiva de  $\text{CO}_2$  foi obtida subtraindo-se a produção nos respirômetros submetidos a determinado tratamento pela produção nos respirômetros controle.

De acordo com a Norma ABNT 14.283, de 1999, admitindo-se que metade da quantidade de carbono que é biodegradado é convertida em  $\text{CO}_2$  e os outros 50% incorporam-se ao solo na forma de húmus e biomassa, a quantidade total de carbono biodegradado foi calculada pela Equação 4.2:

$$C_b(\mu\text{molC}) = 2 \times \text{CO}_{2b}(\mu\text{molCO}_2) \quad (4.2)$$

Em que:

$C_b(\mu\text{molC})$  =  $\mu\text{mols}$  de Carbono biodegradados;

$\text{CO}_{2b}(\mu\text{molCO}_2)$  =  $\mu\text{mols}$  de  $\text{CO}_2$  produzidos.

Finalmente, utilizando os dados fornecidos pela metodologia de Ácidos Graxos Voláteis proposta por Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998), que, de acordo com van Haandel e Marais (1999), fornece uma estimativa do  $\text{COT}_t$  introduzido no solo com o lixiviado, foi possível calcular uma estimativa da eficiência de biodegradação (EB) por meio da Equação 4.3:

$$EB\% = \frac{C_b(\mu\text{molC})}{C_I(\mu\text{molC})} \times 100 \quad (4.3)$$

Em que:

$EB$  = Eficiência de Biodegradação;

$C_b(\mu\text{molC})$  =  $\mu\text{mols}$  de Carbono biodegradados;

$C_I(\mu\text{molC})$  =  $\mu\text{mols}$  de Carbono aplicados nos 50 g de solo.

Segundo a NBR 14.283, de 1999, as taxas de aplicação de resíduos que apresentam eficiência de biodegradação acima de 30% podem ser adotadas em escala piloto para um sistema de tratamento no solo; contudo, a Norma não fixou o tempo para obtenção desse valor de eficiência de biodegradação.

A descrição detalhada da operação dos Respirômetros e da preparação dos reagentes utilizados nas análises respirométricas pode ser visualizada nos Apêndices A e B, respectivamente.

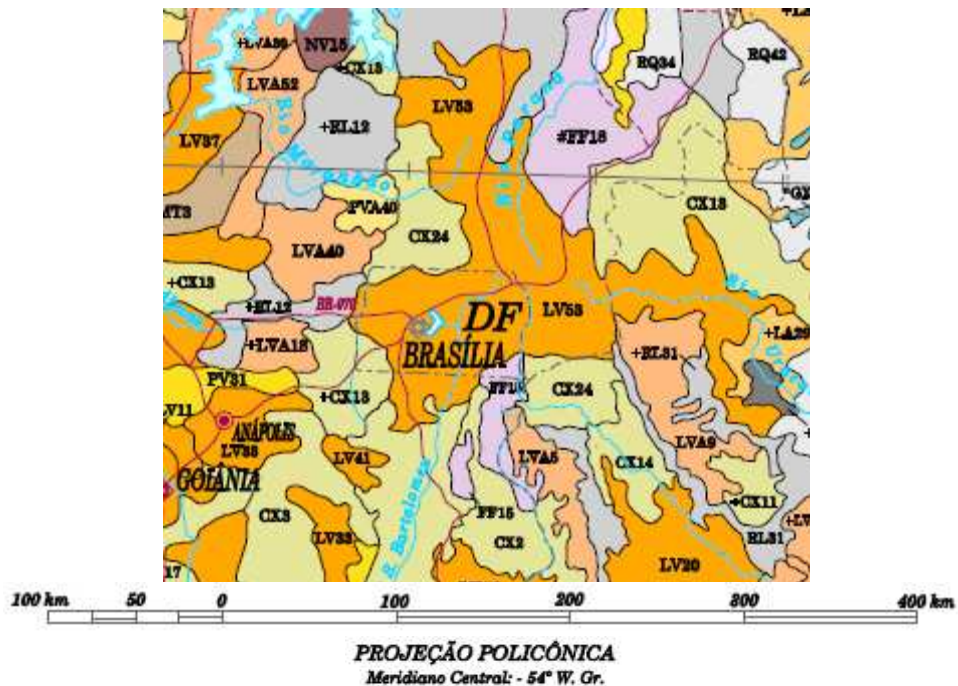
### **4.3 – COLETA DAS AMOSTRAS DE SOLO**

Segundo Santos (2004), em quase todo o Distrito Federal ocorre uma cobertura detrito-laterítica com espessura variável que pode chegar a 20 metros. Há o predomínio do Latossolo Vermelho-Escuro, podendo ocorrer, também, o Latossolo Vermelho-Amarelo. Tais solos costumam possuir baixa resistência, alta permeabilidade ( $10^{-3}$  cm/s), porosidade próxima a 65% e valor de SPT (Teste de Penetração Padrão) inferior a 10 golpes (Santos, 2004).

Na Figura 4.5, é apresentado o Mapa elaborado pela Diretoria de Geociências do IBGE e pela Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Solos, com base no Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos de 1999. A região do Distrito Federal foi focada para permitir melhor identificação.

Os Latossolos Vermelhos, segundo o Manual Técnico de Pedologia (IBGE, 2007), são solos vermelhos, geralmente com grande profundidade, homogêneos, de boa drenagem e quase sempre com baixa fertilidade natural, sendo necessária aplicação de correções químicas para a atividade agrícola. Esse tipo de solo ocorre em praticamente todas as regiões do Brasil e apresenta grande expressividade nos chapadões da Região Central (Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Minas Gerais e outros). Um possível perfil de Latossolo Vermelho pode ser visualizado na Figura 4.6.

Os solos predominantes no Aterro Controlado Jockey Club de Brasília são o solo residual laterítico e o solo coluvionar laterítico, constituídos por camadas marcadas pela presença de argila arenosa vermelho-escura (Latossolo Vermelho-Escuro) (Bernardes *et al.*, 1999).



**Legenda:**

Latossolos Vermelhos

LV53 – LV Distrófico + CX Tb Distrófico + RL Distrófico

Cambissolos Háplicos

CX13 – CX Tb Distrófico + LVA Distrófico + RL Distrófico

CX24 – CX Tb Distrófico + CH Distrófico + RL Distrófico

Plintossolos Pétricos

FF15 – FF Concrecionário Distrófico + CX Tb Distrófico + LV Distrófico

**Símbolos:**

CH – Cambissolo Húmico

LVA – Latossolo Vermelho-Amarelo

CX – Cambissolo Háplico

RL – Neossolo Litólico

LV – Latossolo Vermelho

**Abreviações:**

Ta – Argila de alta atividade

Tb – Argila de baixa atividade

Figura 4.5: Mapa temático que indica os solos característicos de regiões do Brasil, com enfoque no Distrito Federal (adaptado de IBGE, 2001).



Figura 4.6: Latossolo Vermelho Distrófico típico, no município de Caçu/GO (IBGE, 2007).

Assim, o solo utilizado no presente estudo foi coletado em dezembro de 2008, em uma área em frente à Estação Meteorológica do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, da Universidade de Brasília. A escolha da área para coleta das amostras de solo baseou-se na proximidade da Área Experimental de Biologia, da qual foram coletadas amostras no trabalho realizado por Leite (2001), que identificou o solo como sendo Latossolo Vermelho-Escuro, característico de Brasília/DF, e sua caracterização física pode ser visualizada na Tabela 4.1:

Tabela 4.1: Caracterização física do solo da Área Experimental de Biologia (Leite, 2001).

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores obtidos</b>
Umidade Natural	37,4%
Umidade Higroscópica	2,33%
Densidade Real dos Grãos	2,65
Massa Específica Aparente Seca	0,88 g/cm <sup>3</sup>
Limite de Liquidez	49%
Limite de Plasticidade	39%
Índice de Plasticidade	10%
Porosidade	67%
Índice de Vazios	2,01
Fração de Areia Grossa	1,5%
Fração de Areia Média	6,3%
Fração de Areia Fina	8,8%
Silte	22,4%
Argila	61%

Na Figura 4.7 tem-se uma visão geral da área de coleta do solo e de um dos pontos de coleta do solo.

Seguindo o procedimento proposto na Norma ABNT 14.283, de 1999, o solo utilizado no presente estudo foi retirado de uma profundidade de 0-15 cm (por se encontrar, nesta profundidade, grande parte da população microbiana aeróbia) em cinco pontos diferentes, formando um traçado em ziguezague, com a superfície de solo limpa de folhas e outros detritos. Posteriormente, as amostras individuais dos cinco pontos foram misturadas para obter uma amostra composta.



a)



b)

Figura 4.7: a) Visão Geral da área de coleta do solo; b) um dos pontos de coleta.

Ainda de acordo com os procedimentos propostos na Norma ABNT 14.283, de 1999, a amostra composta de solo foi levada ao laboratório e espalhada em uma superfície plana a temperatura ambiente para secar ao ar, sem ocorrer secagem completa. Após a desagregação de eventuais torrões, o solo foi peneirado em peneira com malha de 2,0 mm e o material retido foi descartado, obtendo, ao final do processo, a fração de Terra Fina Seca ao Ar (TFSA).

A amostra foi acondicionada em saco plástico e armazenada a temperatura ambiente, com o cuidado de permitir um volume significativo de ar no interior do saco plástico para manter as células dos microrganismos, presentes no solo, viáveis até o início dos Testes Respirométricos.

O solo utilizado nos Testes Respirométricos foi caracterizado na Soloquímica – Análises de Solo Ltda., laboratório localizado em Brasília/DF. Para tanto, os parâmetros analisados foram: pH (em água, CaCl<sub>2</sub> 1:25 e KCl 1:1); Complexo Sortivo (Teor de Ca e Mg trocáveis em KCl 1,0 N, Teor de K e Na trocáveis com Mehlich, Teor de Acidez Total, Teor de Alumínio, Carbono, Matéria Orgânica, Nitrogênio e Teor de P extraído com Mehlich); C.T.C. a pH 7; Saturação por Base, Micronutrientes (Boro, Cobre, Ferro, Manganês, Zinco e Enxofre, disponíveis); Granulometria (Areia Grossa, Areia Fina, Silte e Argila); e Umidade (0,033 Mpa e 1,5 Mpa)

#### **4.4 – PARÂMETROS DO SOLO ANALISADOS EM LABORATÓRIO PARA FUNDAMENTAR OS EXPERIMENTOS RESPIROMÉTRICOS**

Para crescimento dos microrganismos no interior dos respirômetros, possibilitando a medição do CO<sub>2</sub> produzido por eles, é importante que o solo apresente umidade adequada. De acordo com a Norma ABNT 14.283, de 1999, essa umidade deve estar no intervalo de 50 a 70% da Capacidade de Campo, sendo, Capacidade de Campo, a máxima umidade do solo sem percolação da água. Assim, no presente estudo, buscou-se atingir 60% da Capacidade de Campo do Latossolo coletado, por estar dentro do limite indicado. Para cálculo da Densidade Aparente, Umidade Residual e Capacidade de Campo, foram utilizados os procedimentos propostos pela Norma ABNT 14.283, de 1999.

O teor de Umidade das amostras de solo (logo após a coleta, após armazenamento, antes da contaminação, após contaminação e após realização dos Testes Respirométricos) foi acompanhado por meio da metodologia de comparação de massas do solo antes e após período de 24 horas em estufa a 110°C.

Conceição *et al.* (1999) avaliaram quatro métodos de determinação do Teor de Matéria Orgânica em 27 amostras de horizontes superficiais e subsuperficiais de solos orgânicos: a) Walkley-Black modificado (método volumétrico pelo Dicromato de Potássio e titulação pelo Sulfato Ferroso para determinação do Carbono Orgânico Total); b) combustão em mufla a 400°C durante a noite, em amostras TFSA e maceradas; c) combustão em mufla a 600°C por 6 horas, em amostras indeformadas, TFSA e maceradas e; d) analisador elementar CHN, em amostras de TFSA e maceradas.

Os autores observaram que o teor médio de Carbono determinado pelo método Walkley-Black e a perda de massa por incineração em mufla apresentaram alto coeficiente de correlação ( $r^2 = 0,968$ ) para amostras de solo maceradas. A perda de massa determinada por incineração em mufla a 400°C durante a noite e a 600°C por 6 horas apresentaram comportamento semelhante, com correlação de  $r^2 = 0,960$  e  $r^2 = 0,968$  para amostras de TFSA e maceradas, respectivamente, o que demonstrou não haver diferenças entre os métodos de incineração.

Segundo o Documento 17 da Embrapa, desenvolvido por Martin-Neto *et al.* (2005), os métodos gravimétricos e termogravimétricos são métodos que podem ser utilizados na análise de matéria orgânica do solo e se baseiam na perda da massa por incineração. Essas metodologias eram comumente empregadas antes do método de Walkley-Black, mas

deixaram de ser utilizadas devido à baixa velocidade analítica e dificuldade de automação nos laboratórios. Porém, quando comparados ao método de Walkley-Black, apresentam a vantagem de não contaminar o ambiente com metal tóxico ( $\text{Cr}^{6+}$ ) e não oferecer os riscos associados à utilização de Ácido Sulfúrico concentrado durante o experimento.

De acordo com Nuvolari (1996), a determinação do Teor de Sólidos Voláteis para solos, apesar de não ser muito comum, mostrou-se mais simples do que a determinação do Teor de Matéria Orgânica, além de apresentar as vantagens de possibilitar a utilização de amostras maiores e ser uma técnica que não utiliza produtos que contêm Cromo, metal indesejável nos efluentes.

Escosteguy *et al.* (2007) afirmaram que o Teor de Matéria Orgânica (% p/p) pode ser obtido pelo método de ignição em mufla.

Assim, no presente estudo, para acompanhar possíveis mudanças do Teor de Matéria Orgânica no solo tanto devido ao período de armazenamento, quanto ao desenvolvimento dos Testes Respirométricos (que deveriam reduzir o Teor de Matéria Orgânica por meio da biodegradação), foi utilizado o método gravimétrico de combustão em mufla, como forma de determinação do Teor de Sólidos Voláteis e estimativa do Teor de Matéria Orgânica.

Os passos realizados nas metodologias para análise da Densidade Aparente, Umidade Residual e Capacidade de Campo; do Teor de Umidade; e do Teor de Sólidos Voláteis estão descritos de maneira mais detalhada nos Apêndices C.1; C.2; e C.3, respectivamente.

#### **4.5 - COLETA DAS AMOSTRAS DE LIXIVIADO DE RSU**

As amostras de lixiviado de RSU utilizadas nos Testes Respirométricos foram coletadas no Aterro Controlado Jockey Club, próximo à Estrutural – Administração Regional do Setor Complementar de Indústria e Abastecimento, no Distrito Federal. As amostras foram coletadas em tambores plásticos e armazenadas a 14°C. Na Figura 4.8 é apresentada foto da pilha de resíduos sólidos, próximo à Lagoa de Decantação, e da tubulação da qual o lixiviado era coletado, para posterior análise.



a)



b)

Figura 4.8: a) Pilha de resíduos sólidos no Aterro Controlado Jockey Club/DF; b) Lagoa de Decantação, local de coleta das amostras de lixiviado.

As amostras de lixiviado utilizadas nos Testes Respirométricos foram caracterizadas no Laboratório de Análise de Águas por meio dos parâmetros físico-químicos da Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Parâmetros analisados na caracterização das amostras de lixiviado de RSU.

Parâmetro	Método	Equipamento	Referência
pH	4500-H <sup>+</sup> B – Método eletrométrico	Medidor portátil Orion 4 Star com sonda conjugada para pH/T-°C tipo ATC (9107BNMD)	
DQO (mg/L)	5220 D - Método colorimétrico por refluxo fechado	Espectrofotômetro portátil (Hach) DR/2010	
Sólidos Totais (mg/L)	2540 B – Sólidos Totais secos a 103-105 °C		APHA (1999)
Sólidos Fixos (mg/L)	2540 E – Sólidos Voláteis e Fixos a 550 °C	-	
Sólidos Voláteis (mg/L)			
Amônia (mg N/L)	-	Medidor 720 A - sonda-íon seletivo 95-12 e ATC (Orion)	
Nitrato - NO <sup>3</sup> -N (mg/L)	Método 8039 (redução por Cádmio)	Espectrofotômetro portátil (Hach) DR/2010	DR 2010 Spectrophotometer Handbook – Hach Company (1998)
Nitrito - NO <sup>2</sup> -N (mg/L)	Método 8153 (Sulfato Ferroso)		
NTK (mg/L)	Método 8075	Aparato digestor digesdhal	
Alcalinidade (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	Titulação com solução de Ácido Sulfúrico	Medidor 210 A+ - sonda para pH (9106 BNMP), (Orion)	Ripley <i>et al.</i> (1986)

#### 4.6 – PARÂMETROS DAS AMOSTRAS DE LIXIVIADO ANALISADOS EM LABORATÓRIO PARA FUNDAMENTAR OS TESTES RESPIROMÉTRICOS



A determinação do Teor de Ácidos Graxos Voláteis foi realizada com o intuito de obter uma estimativa do Teor de Carbono contido nas amostras de lixiviado utilizadas nos Testes Respirométricos, pois, de acordo com van Haandel e Marais (1999), o Ácido Acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), dominante nessas análises, apresenta valor de  $\text{DQO}_t$  (Demanda Química de Oxigênio Teórica) de 1,07g  $\text{DQO/g}$  e de  $\text{COT}_t$  (Carbono Orgânico Total Teórico) de 0,40g  $\text{COT/g}$ .

Ribas *et al.* (2007) compararam diversos métodos de determinação dos Ácidos Graxos Voláteis de efluentes. Segundo os autores, a determinação de ácidos por cromatografia gasosa é importante quando se deseja comparar métodos, devido à sua acurácia; porém, é um método caro. Os autores analisaram, também, o método titulométrico proposto por DiLallo e Albertson (1961), que recomenda a remoção do  $\text{CO}_2$  por fervura da amostra acidificada; o de Moraes *et al.* (2001), que sugere a remoção de  $\text{CO}_2$  por *stripping*, com auxílio de ultra-som; o de Moosbrugger *et al.* (1993 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998), que adiciona ácido desde o pH inicial até os valores de pH de 6,7; 5,9; 5,2; e 4,3; e o de Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998) que adiciona ácido forte, de normalidade conhecida, do pH inicial até os valores de pH de 5,0; 4,3; e 4,0. Concluíram que, depois da cromatografia, o método de Kapp se destacou na determinação de ácidos voláteis das amostras com concentrações teóricas de 50, 500 e 1000 mg/L, com recuperação de 42,6; 412,6; e 777,6 mg/L, respectivamente.

Buchauer (1998) comparou os métodos de Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998) e de Moosbrugger *et al.* (1992; 1993 *apud* Buchauer, 1998). Segundo o autor, o termo “Ácidos Graxos Voláteis” se refere a um grupo de diferentes ácidos, no qual as formas mais comuns são o Ácido Acético, o Ácido Propiônico, o Ácido Butírico e o Ácido Valérico, sendo que o Ácido Acético se sobrepõe aos demais. De acordo com Buchauer (1998), o método de Kapp se baseia na idéia de que a quantidade de ácido necessária para fazer com que o pH da amostra reduza de 5,0 para 4,0 pode ser considerada proporcional ao Teor de Ácidos Graxos Voláteis presente na amostra. Pois, nessa faixa, normalmente não estão presentes ácidos/bases fracas, que apresentam efeitos consideráveis no consumo de ácido, além do Acetato. O autor concluiu que o pH 4,0 como ponto de titulação de acordo com o procedimento de Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998) e o pH 5,0 de acordo com o procedimento de Moosbrugger *et al.* (1992; 1993 *apud* Buchauer, 1998) são considerados equivalentes, em termos de acurácia, para determinação do Teor de

Ácidos Graxos Voláteis, e que ambas metodologias são simples, mas requerem cuidados. Outras vantagens apresentadas pelo método de Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998) são não ser necessário utilizar uma base e possibilitar o cálculo por uma equação simples.

No presente estudo foi analisado o Teor de Ácidos Graxos Voláteis das amostras de lixiviado utilizadas nos Testes Respirométricos, que permaneceram armazenadas por meses em frascos plásticos a 14°C, e de um lixiviado com menos de uma semana de armazenamento, por meio da metodologia proposta por Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998), de acordo com a descrição da análise realizada por Buchauer (1998). Uma descrição mais detalhada da metodologia de determinação do Teor de Ácidos Graxos Voláteis das amostras de lixiviado pode ser obtida no Apêndice D.2.

Na realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, buscou-se avaliar a possibilidade de utilização de respirômetros na identificação de solos contaminados e a capacidade de uma substância altamente tóxica gerar impacto negativo na biodegradação da matéria orgânica, afetando a comunidade microbiana do solo e do lixiviado.

Assim, foram testadas diversas concentrações de substâncias, com suposto potencial de toxicidade aos microrganismos presentes no lixiviado, por meio da comparação da DBO Manométrica (DBO Track da Hach) de amostras de lixiviado contaminadas por essas substâncias e amostras não contaminadas. Uma queda de 50% no valor de DBO já indicaria efeito na atividade microbiana, possibilitando a utilização de tal concentração nos solos dos respirômetros para obtenção de valores diferentes dos obtidos no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas apenas com lixiviado de RSU.

A DBO Manométrica se baseia na mudança de pressão no interior dos frascos, pois, conforme o O<sub>2</sub> é consumido e o CO<sub>2</sub> é absorvido pelo hidróxido de lítio, a diminuição da pressão interna é medida pelo equipamento e convertida em valor de DBO (mg/L). Os frascos, sob constante agitação, ficaram incubados a 20°C. O limite de medição adotado foi de 700 mg/L.

A medida da DBO Manométrica por meio do equipamento DBO Track®, da Hach, para comparação do efeito de substâncias tóxicas inseridas em amostras de lixiviado, utilizada no presente estudo, consiste em uma metodologia relativamente simples e de boa reprodutibilidade, além de possibilitar que diversas diluições sejam analisadas simultaneamente. Como exemplos de estudos que utilizaram a mesma metodologia podem ser citados os de Monteiro (2005) e de Alves (2007) que mediram o valor de DBO de efluentes oriundos do manejo de dejetos suínos; e o de Martins (2003) que analisou efluentes de esgoto sanitário por meio da DBO Manométrica.

Para analisar o efeito de substâncias tóxicas no valor da DBO Manométrica foram testadas as substâncias Cloreto de Bário ( $\text{BaCl}_2$ ); Nitrato de Cádmio ( $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); e Cloreto de Mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ). Cada concentração foi medida em triplicata, obtendo a média das repetições.

#### **4.7 – QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS EM AMOSTRAS DE SOLO E DE LIXIVIADO DE RSU**

O meio de cultura Plate Count Agar (PCA), para crescimento de bactérias heterotróficas e quantificação das UFC, tem sido amplamente utilizado em diversos trabalhos, tais como: Mariano (2006), que o utilizou para quantificação de bactérias heterotróficas em amostras de solo e de águas subterrâneas; Oliveira *et al.* (2006), que também utilizou o meio PCA para quantificação de bactérias heterotróficas em amostras de solo; e Machado (2004), que utilizou o referido meio de cultura para crescimento de bactérias heterotróficas presentes em amostras de lixiviado de aterro sanitário.

Cabe ressaltar que, segundo Pelczar *et al.* (1996), a técnica de contagem em placas contendo meio de cultura sólido permite apenas uma estimativa do número de microrganismos na amostra, e não a obtenção da população total, pois se refere apenas àqueles capazes de se desenvolverem no meio utilizado.

De acordo com Moreira (2002), o intervalo mais indicado de UFC em uma placa é entre 30 e 300, para escolha da diluição a ser utilizada.

A metodologia utilizada para quantificação das bactérias heterotróficas neste estudo está apresentada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, na seção 9215 A e C, com meio de cultura Plate count Agar, utilizando o método de espalhamento em superfície (APHA, 1999).

A quantificação das bactérias heterotróficas no solo teve como objetivos: 1) confirmar a presença desses microrganismos capazes de consumir matéria orgânica no solo; 2) avaliar se os microrganismos permaneceram viáveis após o período de armazenamento em sacos plásticos, antes da realização dos Testes Respirométricos, e; 3) verificar se a população aumentou ou diminuiu após o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica ( $\text{HgCl}_2$ ).

Assim, foram analisadas amostras do solo: no dia posterior à coleta; antes do primeiro experimento de respirometria, após período de dois meses de armazenamento; e antes do segundo experimento de respirometria, após período de seis meses de armazenamento.

Após o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas apenas com lixiviado de RSU, não foram quantificadas as bactérias heterotróficas para comparação com o solo antes da contaminação e entre os tratamentos. Porém, observou-se que essa informação seria importante para validar as informações obtidas nos Testes Respirométricos. Assim, após o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica foi realizada a quantificação de bactérias heterotróficas das amostras de solo sujeitas aos diferentes tratamentos.

Com o objetivo de verificar se havia, no lixiviado, microrganismos capazes de consumir a matéria orgânica para realização dos Testes Respirométricos, foram quantificadas as bactérias heterotróficas de uma das amostras de lixiviado coletadas.

A descrição mais detalhada da metodologia de contagem de bactérias heterotróficas em solo e em lixiviado pode ser encontrada nos Apêndices C.4 e D.1, respectivamente.

#### **4.8 – TESTES DE TOXICIDADE DAS MISTURAS SOLO-LIXIVIADO E DO SOLO CONTROLE, COM *Daphnia similis***

O gênero *Daphnia* pertencente à classe Crustácea, ordem Cladocera, é formado por microcrustáceos planctônicos, amplamente distribuídos pelos corpos hídricos continentais, são organismos filtrantes, apresentam reprodução por partenogênese e são importantes nas cadeias alimentares aquáticas por serem consumidores primários que servem de alimento para consumidores secundários (Zoratto, 2007). Dessa forma, apresentam potencial de utilização para avaliar a toxicidade de agentes químicos, efluentes líquidos e solubilizados.

O método consiste na exposição de organismos jovens (neonatos com idade de 6 a 24 horas) a diversas diluições. Segundo Marrara (2008), os testes são considerados válidos quando a sobrevivência do controle é igual ou maior que 90%.

A utilização de organismos *Daphnia similis* para realização de testes de toxicidade, além de ser indicada pela Norma Técnica CETESB L 5.018, de 1994, e ABNT NBR 12.713, de 2004, foi aplicada em diversos estudos tais como Guimarães *et al.* (2004), Jardim (2004), Silveira (2004), Zoratto (2007), Hamada (2008), Marrara (2008) e Silva (2008).

Os Testes de Toxicidade apresentados nesta Dissertação foram realizados no laboratório do Departamento de Bioquímica e Microbiologia, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), *campus* de Rio Claro/SP, para verificar se, após a realização dos Testes Respirométricos, as amostras de solo contaminadas com lixiviado bruto e diluído, contendo ou não Cloreto de Mercúrio, apresentavam toxicidade. Para tanto, as amostras de solo que receberam lixiviado bruto, diluído e água destilada (controle) passaram pelo procedimento descrito na Norma NBR 10.006, de 2004, para extrair os componentes solúveis das substâncias presentes e adicionadas ao solo, possibilitando a análise dos solubilizados por meio de Testes de Toxicidade com *Daphnia similis*.

Os solubilizados foram, então, congelados em frascos plásticos e levados ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP, *campus* de Rio Claro/SP, para realização dos testes toxicológicos, seguindo a Norma CETESB L 5.0018, de 1994, que utiliza *Daphnia similis* como organismo indicador.

No teste preliminar, foi utilizado tempo de incubação de 24 horas e diluições de 20; 40; 60; 80; e 100%. Posteriormente, foi realizado o teste definitivo, com duração de 48 horas, apenas para as diluições 60; 80; e 100%. Em cada uma das diluições, tanto no teste

preliminar quanto no definitivo, foram realizadas quatro réplicas de 10 mL e cada réplica continha cinco organismos, totalizando 20 organismos por diluição. Para realização dos testes, o ambiente foi mantido a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  em ausência de luz e de alimento para, após o período de exposição, proceder à contagem dos organismos imobilizados em cada diluição. A descrição detalhada da metodologia de solubilização das misturas e posterior aplicação de Testes de Toxicidade com *Daphnia similis* pode ser encontrada no Apêndice E.

#### **4.9 – ANÁLISE DOS DADOS**

Os dados obtidos nos Testes Respirométricos com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica; os dados de Teor de Umidade e de Sólidos Voláteis do solo; de quantificação de bactérias heterotróficas nas amostras de solo e de lixiviado; de Ácidos Graxos Voláteis e de DBO Manométrica nas amostras de lixiviado, foram analisados por meio de técnicas estatísticas descritivas, como a obtenção de média das repetições, a organização em tabelas e a geração de gráficos para certos parâmetros.

Os dados de respirometria também foram analisados estatisticamente. De acordo com o tamanho amostral de cada um dos Testes Respirométricos (N=09), optou-se pela utilização do Teste Não-Paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo adotado o nível de 5% ( $p < 0,05$ ) como referência para significância estatística.

O Software utilizado nas análises estatísticas foi o “Statistica” Versão 09, da StatSoft.

A Estatística Não-Paramétrica representa um conjunto de ferramentas de uso mais apropriado quando não se conhece bem o tipo de distribuição da população ou quando o tamanho da amostra analisada é pequeno, impossibilitando a suposição da condição de que os dados seguem o padrão de distribuição Normal.

Para cada Teste Paramétrico existe pelo menos um Teste Não-Paramétrico equivalente. Em geral, esses testes estão relacionados às seguintes categorias:

- Testes de diferenças entre grupos (amostras independentes);
- Testes de diferenças entre variáveis (amostras dependentes);

- Teste de relação entre variáveis.

A interpretação do Teste de Kruskal-Wallis é basicamente igual ao Teste Paramétrico ANOVA, exceto pelo fato de que é baseado em postos de observações e não em médias.

O Teste Não-Paramétrico de Kruskal-Wallis foi aplicado com o objetivo de verificar se ocorreu diferença estatisticamente significativa na produção de CO<sub>2</sub> comparando-se os tratamentos realizados (resíduo bruto, resíduo diluído e água destilada). Os dados de produção de CO<sub>2</sub> analisados foram os obtidos no primeiro dia e ao final do período de incubação de cada Teste Respirométrico.

## **5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O Primeiro Teste Respirométrico realizado utilizou amostras de Latossolo Vermelho-Escuro contaminadas com lixiviado de RSU bruto e diluído em água destilada na proporção 1:1. Para tanto, foram inseridas, em Respirômetros de Bartha, amostras de solo de aproximadamente 50 g juntamente com volume de líquido suficiente para que o solo atingisse 60% da Capacidade de Campo, para fornecer umidade necessária ao desenvolvimento dos microrganismos. Foi realizado também o tratamento controle que recebeu apenas água destilada. Cada tratamento continha três réplicas, totalizando nove respirômetros.

O Segundo Teste Respirométrico utilizou amostras do mesmo solo contaminadas com lixiviado de RSU bruto contendo substância tóxica ( $\text{HgCl}_2$ ) na concentração 1 g/L, e diluído com água destilada na proporção 1:1, obtendo a concentração de 0,5 g  $\text{HgCl}_2$ /L. Para tanto, foram inseridas, em Respirômetros de Bartha, amostras de solo também de aproximadamente 50 g com líquido suficiente para atingir 60% da Capacidade de Campo do solo. Mais uma vez foi realizado o tratamento controle, cada tratamento em triplicata, totalizando nove respirômetros.

### **5.1 – CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA DE SOLO E DAS AMOSTRAS DE LIXIVIADO DE RSU UTILIZADAS NOS TESTES RESPIROMÉTRICOS**

A Caracterização do Latossolo Vermelho-Escuro utilizado nos Testes Respirométricos foi realizada na Soloquímica – Análises de solo Ltda., laboratório localizado em Brasília/DF e especializado em análises de solos. Os diversos parâmetros e os respectivos valores da caracterização do solo são apresentados na Tabela 5.1.

A caracterização das amostras de lixiviado de RSU utilizadas nos Testes Respirométricos foi realizada no Laboratório de Análise de Águas do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 5.2.



Tabela 5.1: Caracterização do solo utilizado nos Testes Respirométricos.

Parâmetros		Valores obtidos
pH	em água	7,5
	em CaCl <sub>2</sub> 1:25	6,4
	em KCl 1:1	6,3
Complexo Sortivo	Teor de Ca trocável em KCl 1 N (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	8,3
	Teor de Mg trocável em KCl 1 N (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,9
	Teor de K trocável com Mehlich (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,27
	Teor de Na trocável com Mehlich (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,02
	Teor de Acidez Total (H + Al) (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	1,8
	Teor de Alumínio (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0
	Carbono (g/Kg)	39
	Matéria Orgânica (g/Kg)	67,1
	Nitrogênio (g/Kg)	12,3
	Relação C/N	3,2
	Teor de P extraído com Mehlich (mg/dm <sup>3</sup> )	0,9
	C.T.C. a pH 7 (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	11,3
	Saturação por Base (%)	84
Micronutrientes	Boro disponível (mg/dm <sup>3</sup> )	0,19
	Cobre disponível (mg/dm <sup>3</sup> )	2,19
	Ferro disponível (mg/dm <sup>3</sup> )	102
	Manganês disponível (mg/dm <sup>3</sup> )	16,3
	Zinco disponível (mg/dm <sup>3</sup> )	2,7
	Enxofre disponível (mg/dm <sup>3</sup> )	5,2
Granulometria	Areia Grossa (%)	13,7
	Areia Fina (%)	5,3
	Silte (%)	38,5
	Argila (%)	42,5
Umidade	0,033 Mpa (%)	22,9
	1,5 Mpa (%)	14,4

Tabela 5.2: Caracterização do lixiviado utilizado no Primeiro Teste Respirométrico (que não recebeu HgCl<sub>2</sub>) e no Segundo Teste Respirométrico (que recebeu HgCl<sub>2</sub>).

Parâmetros	1° Teste Resp.	2° Teste Resp.
pH	8,13	8,28
Amônia (mg N/L)	1159	1115
Nitrato - NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N (mg/L)	39	17
Nitrito - NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> N (mg/L)	5	5
Alcalinidade Total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	5083	6176
Alcalinidade Parcial (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	5910	5151
DQO - lixiviado centrifugado (mg/L)	5070	2533
DQO - lixiviado não centrifugado (mg/L)	5630	2867
NTK (mg/L)	89	1305
Sólidos Totais (mg/L)	8213	8518
Sólidos Fixos (mg/L)	6292	6706
Sólidos Voláteis (mg/L)	1921	1812

## 5.2 – QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS NAS AMOSTRAS DE SOLO E DE LIXIVIADO DE RSU

A realização de contagem de UFC de bactérias heterotróficas no solo e no lixiviado teve como objetivo principal verificar a existência de microrganismos consumidores de matéria orgânica, que possibilitam o processo de biorremediação. Em todas as amostras foi encontrada uma quantidade considerável dessas bactérias. Na maioria dos casos, as diluições  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  apresentaram um número de colônias tão elevado que se uniram, impossibilitando a contagem. Os dados, obtidos pela técnica de espalhamento em placas contendo meio de cultura PCA solidificado, são apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3: Número de UFC de bactérias heterotróficas no solo; nas misturas após o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica; e no lixiviado coletado no Aterro Controlado Jockey Club.

	<b>UFC de bactérias heterotróficas</b>
<b>Solo (logo após a coleta)</b>	$1,3 \times 10^7$ /g de solo seco
<b>Solo antes do 1º Teste Resp.</b>	$1,7 \times 10^7$ /g de solo seco
<b>Solo antes do 2º Teste Resp.</b>	$8,5 \times 10^6$ /g de solo seco
<b>Mistura (solo+lixiviado) após o 2º Teste Resp. -lixiviado bruto – 1 g de HgCl<sub>2</sub>/L</b>	$4,2 \times 10^6$ /g de solo seco
<b>Mistura (solo+lixiviado) após o 2º Teste Resp. -lixiviado diluído – 0,5 g de HgCl<sub>2</sub>/L</b>	$1,0 \times 10^8$ /g de solo seco
<b>Mistura (solo+água destilada) após o 2º Teste Resp.</b>	$1,5 \times 10^8$ /g de solo seco
<b>Lixiviado</b>	$1,0 \times 10^6$ /mL

A contagem realizada no solo no dia posterior à coleta do mesmo, em dezembro de 2008, indicou uma quantidade de  $1,3 \times 10^7$  UFC/g de solo seco.

Em seu estudo, Mello (2005) realizou a quantificação de bactérias heterotróficas em amostras de Latossolo por meio da contagem em placas e encontrou um valor de  $3,3 \times 10^5$  UFC/g de solo, valor abaixo do obtido neste estudo.

Quando a contagem foi realizada novamente, após período de armazenamento de dois meses, para início do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e verificação da sobrevivência dos microrganismos, o resultado obtido

foi de  $1,7 \times 10^7$  UFC/g de solo seco, indicando que o armazenamento em sacos plásticos com o cuidado de manter uma quantidade de ar para fornecer oxigênio aos microrganismos, mas fechados hermeticamente para evitar a perda de umidade, foi suficiente para que os microrganismos presentes no solo se mantivessem viáveis para a posterior realização do experimento de biorremediação com Respirômetros de Bartha.

A análise foi repetida com amostras do mesmo solo, que permaneceram armazenadas em sacos plásticos a temperatura ambiente por seis meses, antes da realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, também para verificar a sobrevivência das bactérias heterotróficas. Mais uma vez, as diluições  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  apresentaram quantidade de UFC elevada, impossibilitando a contagem, indicando que os microrganismos necessários para o processo de biorremediação ainda estavam presentes e viáveis no solo, contudo, o número de UFC foi menor, de  $8,5 \times 10^6$  UFC/g de solo seco.

Após o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, foi analisada a quantidade de bactérias heterotróficas nos diferentes tipos de tratamento. Assim, o solo que havia recebido lixiviado bruto contaminado com Cloreto de Mercúrio à concentração de 1 g de  $\text{HgCl}_2/\text{L}$ , após o período de 41 dias nos respirômetros de Bartha, apresentou  $4,2 \times 10^6$  UFC/g de solo seco. O solo que havia recebido lixiviado contaminado com 1 g de  $\text{HgCl}_2/\text{L}$ , porém diluído na proporção 1:1 com água destilada, obtendo concentração final de 0,5 g de  $\text{HgCl}_2/\text{L}$ , após o mesmo período de incubação apresentou  $1,0 \times 10^8$  UFC/g de solo seco. O controle que havia recebido apenas água destilada para correção da umidade, após o período de 41 dias nos respirômetros, apresentou  $1,5 \times 10^8$  UFC/g de solo seco, número semelhante ao obtido nos respirômetros que haviam recebido lixiviado diluído, mas superior ao tratamento que recebeu lixiviado bruto contaminado com Cloreto de Mercúrio, fato que confirma a toxicidade da substância aos microrganismos do solo e do lixiviado.

A análise de bactérias heterotróficas na amostra de lixiviado indicou cerca de  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL de lixiviado, indicando importante presença de bactérias heterotróficas, provavelmente já adaptadas ao consumo da matéria orgânica presente nesse tipo de resíduo, o que reforça o potencial de biodegradação do lixiviado em solo, não necessitando inocular o meio com novos microrganismos.

### 5.3 – TESTE RESPIROMÉTRICO COM AMOSTRAS DE SOLO CONTAMINADAS COM LIXIVIADO DE RSU

#### 5.3.1 – Teor de Umidade e de Sólidos Voláteis nas amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU

Na Tabela 5.4 são apresentados os resultados da análise do Teor de Umidade, por meio do método gravimétrico em estufa, de amostras do solo inserido nos respirômetros antes da realização do Primeiro Teste Respirométrico, ainda sem ajustar a umidade, e de amostras do solo após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU (50 dias de incubação) nos tratamentos que receberam lixiviado bruto, lixiviado diluído na proporção 1:1 e apenas água destilada (respirômetros controle).

Tabela 5.4: Teor de Umidade do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.

	Tratamento	Teor de Umidade (%)			Média aproximada (%)
<b>Antes do 1º Teste Respirométrico</b>	<b>Apenas solo, sem acréscimo de lixiviado ou água destilada</b>	5,2	6,4	6,4	6,0
	<b>Solo + lixiviado bruto</b>	14,8	15,3	14,2	14,8
<b>Após o 1º Teste Respirométrico</b>	<b>Solo + lixiviado diluído (1:1)</b>	12,4	10,8	10,7	11,3
	<b>Solo + Água destilada (Controle)</b>	11,6	11,3	11,7	11,5

Os dados da Tabela 5.4 indicam que o Teor de Umidade do solo aumentou ao final do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, o que já era esperado pelo fato de ter sido inserido, em cada amostra de 50 g de solo, 7,3 g de líquido (lixiviado e/ou água destilada), o que corresponde a um acréscimo de aproximadamente 14,6% da massa. Porém, o aumento, em porcentagem, do Teor de Umidade antes e depois do Primeiro Teste Respirométrico foi ainda maior para os três tratamentos, o que pode estar relacionado à evaporação da água presente na solução de KOH, contida no braço lateral do Respirômetro de Bartha, e a absorção dessa umidade interna pelo solo.

Na Tabela 5.5 é apresentado o Teor de Sólidos Voláteis, que permite uma estimativa do Teor de Matéria Orgânica, das mesmas amostras de solo que tiveram os Teores de Umidade apresentados na Tabela 5.4, ou seja, do solo inserido nos respirômetros antes da realização do Primeiro Teste Respirométrico, ainda sem inserção de lixiviado e/ou água destilada, e de amostras do solo após a realização do mesmo (50 dias de incubação) nos tratamentos que receberam lixiviado bruto, lixiviado diluído na proporção 1:1 e apenas água destilada (respirômetros controle).

Tabela 5.5: Teor de Sólidos Voláteis (Matéria Orgânica) do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.

	<b>Tratamento</b>	<b>Teor de Sólidos Voláteis (%)</b>			<b>Média aproximada (%)</b>
<b>Antes do 1º Teste Respirométrico</b>	<b>Apenas solo, sem acréscimo de lixiviado ou água destilada</b>	3,7	4,7	4,7	4,4
	<b>Solo + lixiviado bruto</b>	2,8	2,7	2,6	2,7
<b>Após o 1º Teste Respirométrico</b>	<b>Solo + lixiviado diluído (1:1)</b>	2,6	2,5	2,5	2,5
	<b>Solo + Água destilada (Controle)</b>	2,4	2,5	2,6	2,5

Os resultados apresentados na Tabela 5.5 indicam uma diminuição do teor de sólidos voláteis, e, portanto, de matéria orgânica, após o período de incubação de 50 dias, contudo, quando comparados os valores obtidos nos três tratamentos após o Teste Respirométrico, verificou-se que permaneceram muito próximos, não permitindo a conclusão de diferenças do Teor de Matéria Orgânica. Assim, os dados demonstraram que tanto a matéria orgânica inserida com o lixiviado bruto e diluído, quanto parte da matéria orgânica originalmente presente no solo, foi consumida pelos microrganismos do solo e do lixiviado. Entretanto, observou-se que, para comparar o efeito do tempo de incubação tanto no Teor de Umidade quanto no Teor de Sólidos Voláteis do solo, seria necessário que as medições anteriores ao Teste fossem realizadas após a inserção de água destilada, lixiviado bruto e diluído.

### **5.3.2 – Medidas de CO<sub>2</sub> no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU**

As medidas realizadas no Teste Respirométrico com amostras de solo que receberam lixiviado bruto, lixiviado diluído (1:1), e água destilada; forneceram os dados compilados na Tabela F.1, do Apêndice F. Os dados de volume de HCl 0,1 N, em mL, gasto para atingir o pH capaz de mudar a coloração do indicador Fenolftaleína da cor rósea para a incolor (pH < 8,2), foram convertidos em Produção de CO<sub>2</sub> (μmol). Para obtenção da média, foi calculada a média aritmética dos três respirômetros que receberam o mesmo tratamento. Finalmente, para cálculo da Produção Média Acumulada, foi realizada a soma dos valores obtidos em cada medição.

Em alguns momentos a medição foi diária, em outros a solução alcalina permaneceu por até quatro dias no interior dos respirômetros, pois observou-se que não havia necessidade de medição diária, já que a absorção de CO<sub>2</sub> não tornava o pH da solução de KOH próximo daquele em que a Fenolftaleína altera da cor rósea para a incolor (pH < 8,2).

Assim, no primeiro dia do Teste Respirométrico com amostras de 50 g de solo contaminadas com lixiviado de RSU, o tratamento que recebeu lixiviado bruto apresentou produção de CO<sub>2</sub> de 582,8 μmols (25,6 mg/50 g de solo), aquele que recebeu lixiviado diluído apresentou produção de 385 μmols de CO<sub>2</sub> (16,9 mg/50 g de solo) e o que recebeu apenas água destilada produziu 155,8 μmols de CO<sub>2</sub> (6,8 mg/50 g de solo).

Na Figura 5.1 é apresentada a Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros controle e nos que receberam lixiviado bruto e diluído (1:1), demonstrando que a produção acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros que receberam lixiviado bruto sempre foi maior do que a acumulada dos demais. Contudo, a produção acumulada do respirômetro com lixiviado diluído que se mostrava maior do que a produção acumulada nos respirômetros controle, inverteu do 34º dia em diante, passando a produção acumulada nos respirômetros controle a superar a observada para os respirômetros nos quais o solo foi contaminado com lixiviado diluído. Uma possível explicação seria de que a matéria orgânica introduzida com o lixiviado diluído foi rapidamente degradada, e passou então, a introdução do lixiviado, a apresentar efeito tóxico, prejudicando o consumo da matéria orgânica originalmente presente no solo.

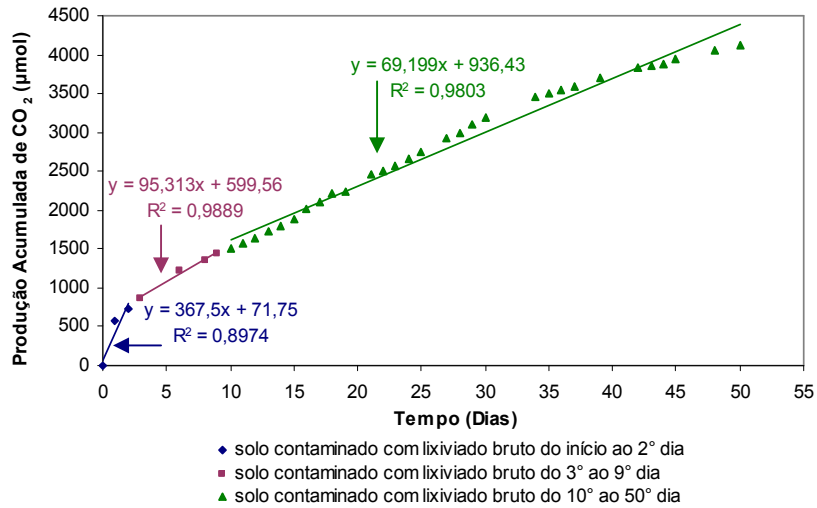
A aplicação de linhas de tendência nos dados de Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub>, indica que o primeiro trecho (do início ao 2º dia) apresentou a maior inclinação, o segundo

(do 3° ao 9° dia) apresentou inclinação intermediária e o terceiro (do 10° até o 50° dia, quando o Teste Respirométrico foi finalizado) apresentou a menor inclinação. Tal fato foi recorrente para os três tratamentos, porém a diferença foi muito mais significativa nos tratamentos que receberam lixiviado bruto e diluído, e a maior inclinação de reta foi observada para o primeiro segmento do tratamento com lixiviado bruto, o que confirma que a matéria orgânica inserida foi consumida nos primeiros dias do Teste. O tratamento controle apresentou valores de inclinação mais próximos entre os três segmentos e mais baixos do que os demais tratamentos, por não ter recebido incremento de matéria orgânica com a inserção de lixiviado bruto e diluído.

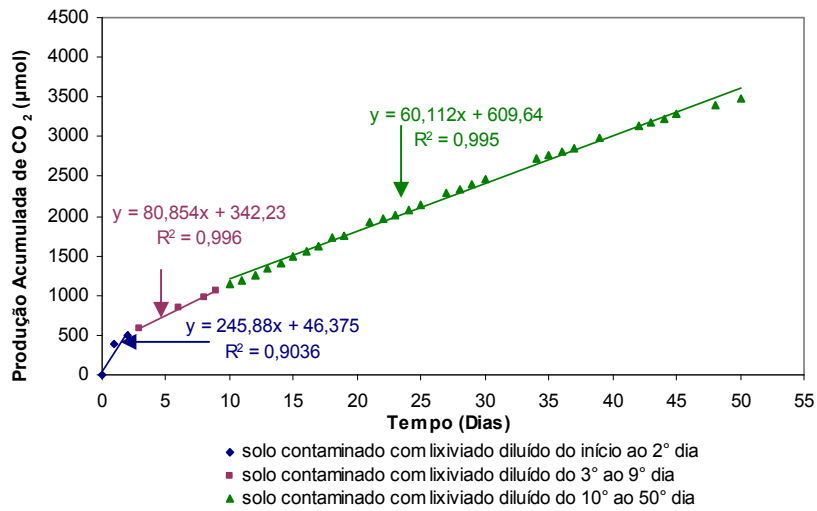
Ao final dos 50 dias de experimento, a Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros com 50 g de solo que receberam lixiviado bruto foi de 4120,1 μmols (181,3 mg/50 g de solo), nos que receberam lixiviado diluído foi de 3932,2 μmols (173 mg/50 g de solo), e nos respirômetros controle foi de 3490,8 μmols (153,6 mg/50 g de solo).

Nuvolari (1996) estudou a degradação da matéria orgânica de lodo de ETAR em um solo argilo-arenoso e encontrou, utilizando Respirômetros de Bartha, produção, em mg de CO<sub>2</sub>/50 g de solo, de 753 para o controle; 775,7 para o tratamento com 15 tds/ha; e 668,5 para o tratamento com 30 tds/ha. Na segunda fase do mesmo experimento, encontrou 370,4 para o controle; 346 para o tratamento com 5 tds/ha; 629,3 para o tratamento com 10 tds/ha; e 589,2 para o tratamento com 15 tds/ha, valores superiores aos observados no presente estudo.

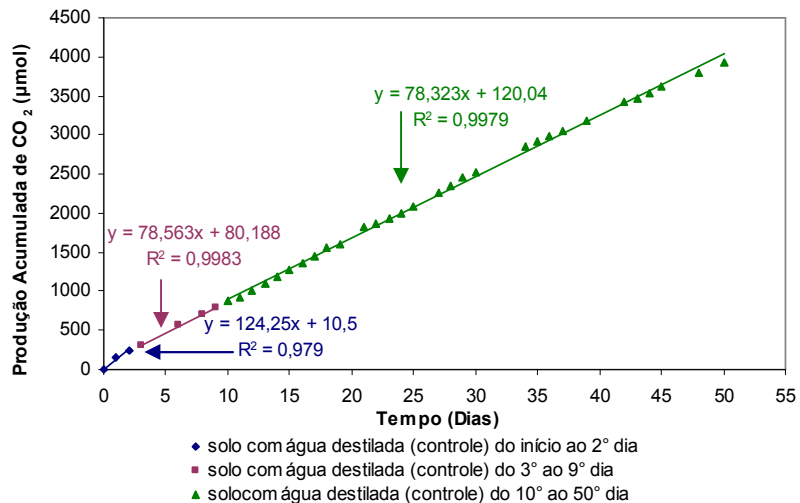
Por outro lado, Couracci Filho *et al.* (1997), utilizando Respirômetros de Bartha para avaliar a degradação de lodo digerido de indústria cítrica em solo franco-arenoso, obtiveram produção total média de CO<sub>2</sub>, em mg/50 g de solo, de 12,36 nos respirômetros controle; de 21,5 para a taxa de 2,5 tds/ha; e de 37,5 para a taxa de 5 tds/ha, valores inferiores aos observados no presente estudo.



a)



b)



c)

Figura 5.1: Produção Média Acumulada de  $\text{CO}_2$  nos respirômetros controle (a), com lixiviado bruto (b) e com lixiviado diluído na proporção 1:1 (c), do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, com linhas de tendência (lineares) para os três segmentos (do início ao 2° dia; do 3° ao 9° dia; do 10° ao 50° dia).



Os dados obtidos por Albuquerque (2000), na análise da degradação de compostos fenólicos em areia de moldagem à concentração de 164mg/kg, apresentaram uma produção acumulada de CO<sub>2</sub>, em mg/150 g de areia de moldagem, de 183,9 para o controle; 238,2 para o tratamento com bactérias; 222,2 com fungos; 231,7 com actinomicetos; 227,4 com misto e nutrientes; e 233,9 com misto sem nutrientes. O valor obtido para o solo controle, sem inóculo, foi mais próximo ao observado no controle do presente estudo. Contudo, a massa inserida nos respirômetros foi diferente, de 150 g no estudo de Albuquerque (2000) e de 50 g no presente estudo.

Na Figura 5.2 é apresentada a Produção Média Acumulada Efetiva de CO<sub>2</sub> nos respirômetros que receberam lixiviado bruto e lixiviado diluído; para tanto, foi descontada a produção de CO<sub>2</sub> nos respirômetros controle. Porém, como visualizado na Figura 5.1, a produção acumulada dos respirômetros controle superou a observada para o solo contaminado com lixiviado diluído, o que fez com que a Figura 5.2 apresentasse valores negativos para a Produção Média Acumulada Efetiva dos respirômetros com lixiviado diluído em proporção 1:1.

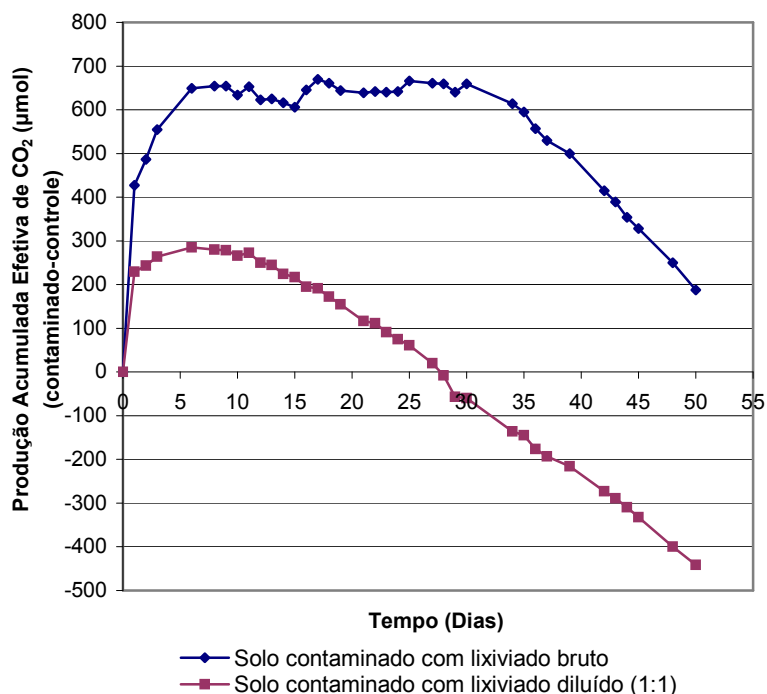


Figura 5.2: Produção Média Acumulada Efetiva de CO<sub>2</sub>, ou seja, produção acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros que receberam lixiviado bruto e lixiviado diluído na proporção 1:1 menos a produção acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros controle.

O comportamento observado na Figura 5.2 demonstra, ainda, que, após um tempo de estabilização, os valores acumulados efetivos passaram a decair, indicando que os respirômetros controle estavam produzindo maior quantidade de CO<sub>2</sub> do que os respirômetros contaminados com lixiviado bruto e com lixiviado diluído, e, assim, que a matéria orgânica introduzida pela contaminação já havia sido consumida. Dessa forma, pode-se concluir que, descontando a produção nos respirômetros controle e considerando o final do período de estabilização, a produção efetiva de CO<sub>2</sub> ao final do Primeiro Teste Respirométrico foi de 659,4 μmols (29 mg) nos respirômetros que receberam lixiviado bruto e 273 μmols (12 mg) nos respirômetros que receberam lixiviado diluído.

Diante dos dados apresentados no Primeiro Teste Respirométrico, concluiu-se que os Respirômetros de Bartha foram eficientes na avaliação do consumo da matéria orgânica biodegradável de lixiviado de RSU em solo e que a matéria de mais fácil biodegradação foi consumida rapidamente, nos primeiros dias de experimento. Esses resultados indicaram a possibilidade de simular um lixiviado de RSU com alta toxicidade, suficiente para reduzir a atividade dos microrganismos presentes no lixiviado em aproximadamente 50%, para avaliar como ocorreria a biodegradação desse tipo de resíduo e se os Respirômetros de Bartha também seriam adequados para a identificação de solos altamente contaminados.

#### **5.4 – DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO MANOMÉTRICA: ESCOLHA DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIA TÓXICA**

Para comparar a produção de CO<sub>2</sub> obtida no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas apenas com lixiviado de RSU com a produção em um Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, foram testadas concentrações de substâncias até encontrar uma capaz de provocar queda de 50% da atividade da comunidade microbiana presente no lixiviado, quantificada por meio da DBO Manométrica.

Dessa forma, inicialmente foi medida a DBO do lixiviado bruto e diluído a 20%. Contudo, os valores foram muito altos, atingindo o limite da medição. Assim, foram realizadas medidas de DBO no lixiviado diluído a 5% e 10%.

Para testar a imobilização de parte da comunidade microbiana presente no lixiviado, primeiramente foi utilizado o Cloreto de Bário ( $\text{BaCl}_2$ ), no lixiviado com diluição a 5%, nas concentrações de 10,3; 30,5; e 50,2 mg de  $\text{BaCl}_2/100\text{mL}$ , comparando com o lixiviado diluído 5%, sem a inserção de  $\text{BaCl}_2$ . Os resultados de DBO obtidos são apresentados na Figura 5.3, já considerando o fator de diluição.

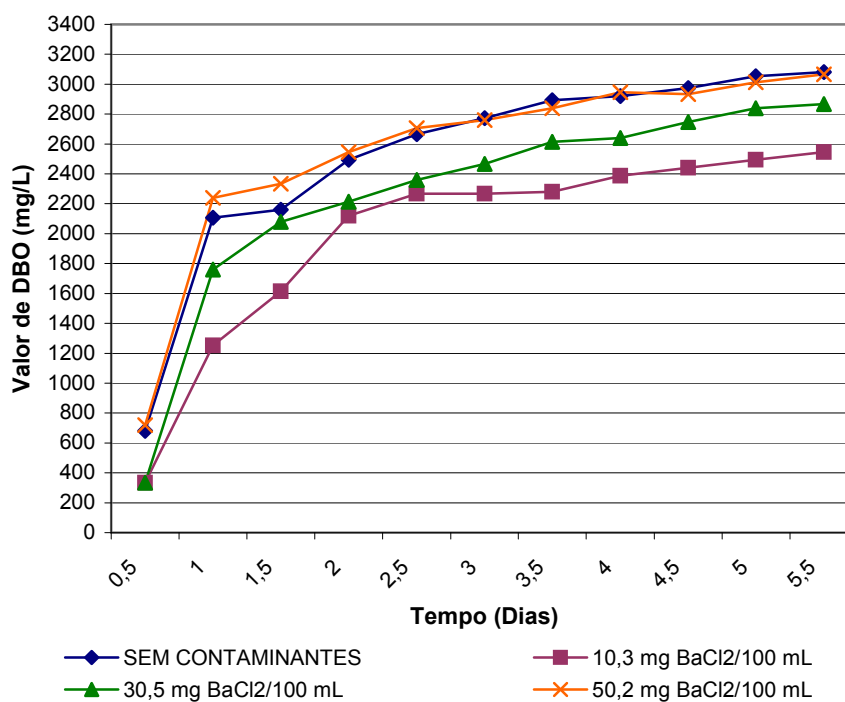


Figura 5.3: Curvas de DBO Manométrica para diversas concentrações de  $\text{BaCl}_2$ .

Ao final de 5,5 dias, o lixiviado sem adição de contaminantes apresentou valor de DBO de aproximadamente 3080 mg/L, aquele que recebeu 10,3 mg de  $\text{BaCl}_2$  em 100 mL de lixiviado (103 mg/L) apresentou DBO de 2546,7 mg/L; na concentração 30,5 mg de  $\text{BaCl}_2/100$  mL de lixiviado (305 mg/L) a DBO foi de 2866,7 mg/L; e o lixiviado que recebeu maior concentração de  $\text{BaCl}_2$ , 50,2 mg em 100 mL de lixiviado (502 mg/L) foi o que apresentou valor mais próximo ao do lixiviado sem contaminantes, atingindo DBO de 3066,7 mg/L. O que pode indicar que a substância, nas concentrações testadas, não apresentou toxicidade e as diferenças entre as concentrações está relacionada a limitações da metodologia.

Assim, foram testadas outras substâncias como o Nitrato de Cádmio ( $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) a concentrações de 10; 100,9; e 1000,3 mg de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}/100\text{mL}$ , com lixiviado diluído a 10%. Os dados são apresentados na Figura 5.4, a seguir.

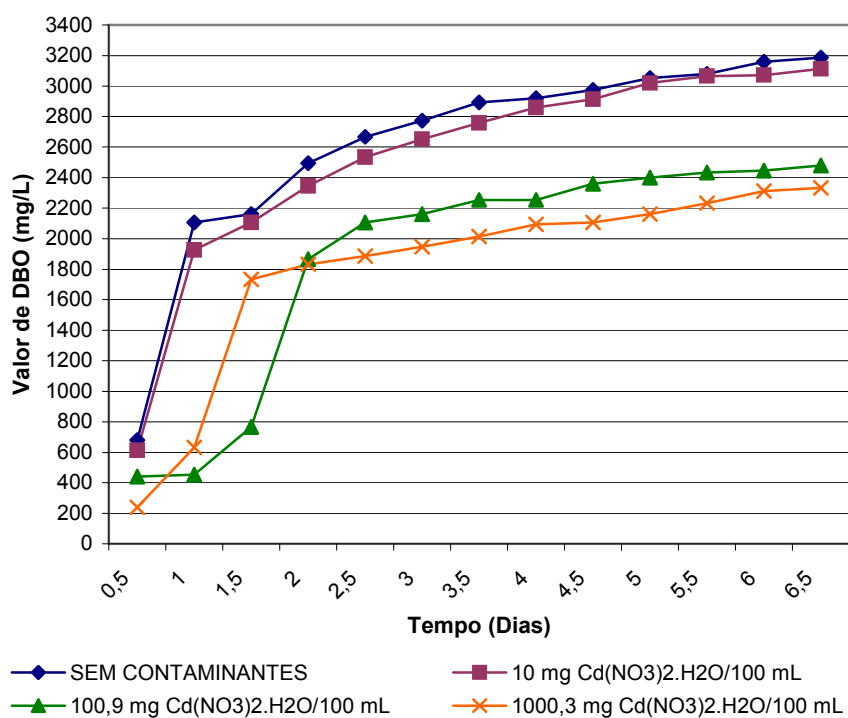


Figura 5.4: Curvas de DBO Manométrica para diversas concentrações de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

Ao final de 6,5 dias, o lixiviado que não havia recebido contaminantes atingiu valor de DBO de 3186,7 mg/L; aquele que recebeu 10 mg de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  em 100 mL de lixiviado (100 mg/L) chegou a 3113,3 mg/L; com 100,9 mg de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}/100 \text{ mL}$  (1009 mg/L) a DBO apresentada foi de 2480 mg/L; e a maior concentração de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 1000,3 mg/100 mL (10003 mg/L), apresentou valor de DBO 2333,3 mg/L. Os resultados indicam que mais uma vez a diferença entre os valores de DBO não atingiu queda de 50% com relação ao lixiviado sem a substância

Posteriormente, foi testada a substância Cloreto de Mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ), medindo-se o valor de DBO para as concentrações de 10; 50; e 100 mg de  $\text{HgCl}_2/100\text{mL}$ , com diluição de 10%, e do lixiviado sem inserção de  $\text{HgCl}_2$ , com a mesma diluição. Nesse caso, foram medidos os valores de pH ao final do experimento de DBO. Como apresentado na Figura 5.5, observou-se que a concentração que reduziu o valor de DBO em aproximadamente

50% foi de 100 mg de  $\text{HgCl}_2/100\text{mL}$ . Os valores de pH não divergiram muito entre os tratamentos, variando de 7,7 a 7,9.

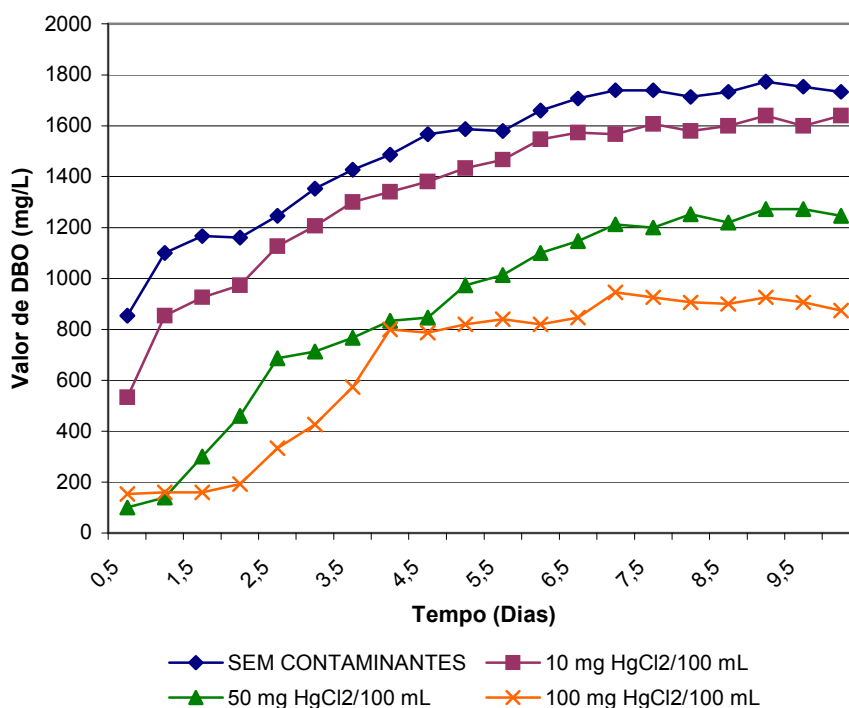


Figura 5.5: Curvas de DBO Manométrica para diversas concentrações de  $\text{HgCl}_2$ .

Ao final de 10 dias de experimento, o valor de DBO obtido para o lixiviado sem contaminantes foi de 1733,3 mg/L; o lixiviado que recebeu 10 mg de  $\text{HgCl}_2$  em 100 mL (100 mg/L) atingiu DBO de 1640 mg/L; já o lixiviado com 50 mg de  $\text{HgCl}_2/100$  mL (500 mg/L) apresentou DBO de 1246,7 mg/L; e, finalmente, a concentração de 100 mg de  $\text{HgCl}_2/100$  mL de lixiviado (1000 mg/L) apresentou DBO de 873,3 mg/L, valor de aproximadamente metade do apresentado pelo lixiviado sem adição de contaminantes. O lixiviado utilizado nessa última análise de DBO foi o mesmo daquele utilizado nos demais experimentos, contudo após um período maior de armazenamento, o que pode explicar a diferença nos valores de DBO do lixiviado sem adição de substâncias contaminantes.

Dessa forma, a concentração de Cloreto de Mercúrio utilizada no segundo experimento de respirometria foi de 100 mg de  $\text{HgCl}_2/100\text{mL}$  ou 1 g/L.

## 5.5 – TESTE RESPIROMÉTRICO COM AMOSTRAS DE SOLO CONTAMINADAS COM LIXIVIADO DE RSU E SUBSTÂNCIA TÓXICA – HgCl<sub>2</sub>

### 5.5.1 – Teor de Umidade e de Sólidos Voláteis nas amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica

Antes da realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, foram realizadas as medições do Teor de Umidade e de Sólidos Voláteis das amostras, após a inserção do lixiviado bruto contaminado com Cloreto de Mercúrio a concentração de 1 g/L, do lixiviado também contaminado com 1g de HgCl<sub>2</sub>/L, mas diluído com água destilada na proporção 1:1, obtendo concentração final de 0,5 g de HgCl<sub>2</sub>/L, e amostras apenas com água destilada (respirômetros controle). As mesmas medições foram realizadas após o Teste Respirométrico, com período de incubação de 41 dias, para os diferentes tratamentos. Os resultados de Teor de Umidade obtidos estão compilados na Tabela 5.6, a seguir:

Tabela 5.6: Teor de Umidade do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica.

	Tratamento	Teor de Umidade (%)		Média aproximada (%)
<b>Antes do 2º Teste Respirométrico</b>	<b>Solo + lixiviado bruto com HgCl<sub>2</sub></b>	14,6	13	13,8
	<b>Solo + lixiviado com HgCl<sub>2</sub> diluído (1:1)</b>	13,2	13,6	13,4
	<b>Solo + Água destilada (Controle)</b>	14,7	14,7	14,7
<b>Após o 2º Teste Respirométrico</b>	<b>Solo + lixiviado bruto com HgCl<sub>2</sub></b>	7,6	8,7	8,1
	<b>Solo + lixiviado com HgCl<sub>2</sub> diluído (1:1)</b>	7,4	7,5	7,4
	<b>Solo + Água destilada (Controle)</b>	8,3	9,0	8,6

Os resultados da Tabela 5.6 indicam que as amostras apresentaram Teor de Umidade ao final do experimento menor do que antes do período de incubação, podendo ter ocorrido evaporação de parte dos líquidos inseridos nas porções de solo.

Na Tabela 5.7 é apresentado o Teor de Sólidos Voláteis, que permite uma estimativa do Teor de Matéria Orgânica, antes do início do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, após acrescentar lixiviado bruto contaminado com Mercúrio; lixiviado também contaminado com Mercúrio, mas diluído com água destilada na proporção 1:1; e apenas água destilada (respirômetros controle) e dos mesmos tratamentos após o período de incubação de 41 dias nos respirômetros.

Tabela 5.7: Teor de Sólidos Voláteis (Matéria Orgânica) do solo inserido nos respirômetros antes e após a realização do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica.

	<b>Tratamento</b>	<b>Sólidos Voláteis (%)</b>		<b>Média aproximada (%)</b>
<b>Antes do 2º Teste Respirométrico</b>	<b>Solo + lixiviado bruto com HgCl<sub>2</sub></b>	8,7	7,6	8,1
	<b>Solo + lixiviado com HgCl<sub>2</sub> diluído (1:1)</b>	11,9	3,6	7,7
	<b>Solo + Água destilada (Controle)</b>	8,6	7,5	8,0
<b>Após o 2º Teste Respirométrico</b>	<b>Solo + lixiviado bruto com HgCl<sub>2</sub></b>	4,2	4,8	4,5
	<b>Solo + lixiviado com HgCl<sub>2</sub> diluído (1:1)</b>	4,1	4,2	4,1
	<b>Solo + Água destilada (Controle)</b>	4,4	4,9	4,6

Os dados apresentam um decréscimo do valor de sólidos voláteis após o período de incubação nos respirômetros, indicando consumo de parte da Matéria Orgânica do solo e do contaminante inserido. A pequena diferença entre os valores de sólidos voláteis dos três tratamentos, antes e após o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, permite concluir que a maior parte da matéria orgânica analisada estava originalmente presente no solo e o acréscimo de contaminante não gerou diferença significativa na matéria orgânica total.

Contudo, deve-se considerar que a utilização da metodologia de determinação de sólidos voláteis por ignição em mufla fornece apenas uma estimativa do conteúdo de matéria orgânica no solo, e não resultados precisos.

### **5.5.2 – Medidas de CO<sub>2</sub> no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica**

As medidas realizadas no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, nas quais foi inserido lixiviado bruto com Cloreto de Mercúrio à concentração de 1 g de HgCl<sub>2</sub>/L; lixiviado diluído com água destilada na proporção 1:1, obtendo a concentração de 0,5 g de HgCl<sub>2</sub>/L; e somente água destilada (respirômetros controle), forneceram os dados compilados na Tabela F.2, do Apêndice F. Os dados de volume de HCl 0,1 N, em mL, gasto para atingir o pH capaz de mudar a coloração do indicador Fenolftaleína da cor rósea para a incolor (pH < 8,2), foram convertidos em Produção de CO<sub>2</sub> (μmol). Para obtenção da média, foi calculada a média aritmética dos três respirômetros que receberam o mesmo tratamento. Para cálculo da Produção Acumulada, foi realizada a soma dos valores obtidos em cada medição.

A medição foi diária, para maior garantia do acompanhamento de qualquer possível variação na produção de CO<sub>2</sub>.

Assim, no primeiro dia do Teste Respirométrico com amostras de 50 g de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, o tratamento que recebeu apenas água destilada (controle) produziu, 328,9 μmols de CO<sub>2</sub> (14,5 mg/50 g de solo), aquele que recebeu lixiviado diluído contaminado com mercúrio apresentou produção de 187,1 μmols de CO<sub>2</sub> (8,2 mg/50 g de solo) e o que recebeu lixiviado bruto contaminado com mercúrio apresentou produção de CO<sub>2</sub> de 77,7 μmols (3,4 mg/50 g de solo).

Na Figura 5.6 é apresentada a Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros controle e nos que receberam lixiviado bruto e diluído (1:1) contaminado com Cloreto de Mercúrio. Verifica-se que a produção acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros controle sempre foi maior do que a acumulada dos demais, seguida do solo que recebeu lixiviado diluído contaminado com mercúrio e do solo que recebeu lixiviado bruto contaminado com mercúrio. Os resultados podem estar relacionados ao fato do efeito tóxico apresentado pela substância Cloreto de Mercúrio ser mais significativo no lixiviado bruto, pois no lixiviado diluído a substância contaminante também foi diluída, apresentando menor potencial de toxicidade. Já os respirômetros controle não receberam a substância e, assim, a matéria orgânica originalmente presente no solo foi biodegradada.

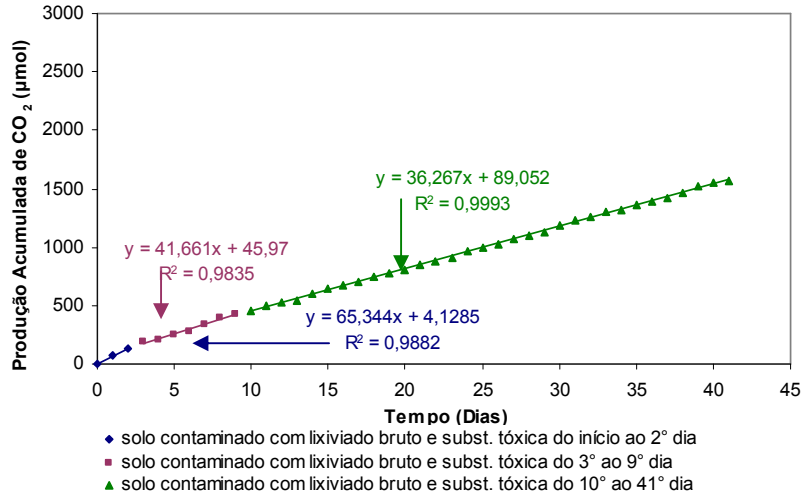


A aplicação de linhas de tendência nos dados de Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub> indica que o primeiro trecho (do início ao 2º dia) apresentou a maior inclinação, o segundo (do 3º ao 9º dia) apresentou inclinação intermediária e o terceiro (do 10º até o 41º dia, quando o Teste Respirométrico foi finalizado) apresentou a menor inclinação. Tal observação é comum para os três tratamentos, porém a diferença foi muito mais significativa no tratamento controle e no que recebeu lixiviado diluído, e a maior inclinação de reta foi observada para o primeiro segmento do tratamento controle, o que indica que grande parte da matéria orgânica do solo foi consumida nos primeiros dias do Teste. O tratamento que recebeu lixiviado bruto contaminado com Cloreto de Mercúrio apresentou valores de inclinação mais próximos entre os três segmentos e mais baixos do que os demais tratamentos, confirmando o efeito tóxico da substância inserida na amostra de lixiviado.

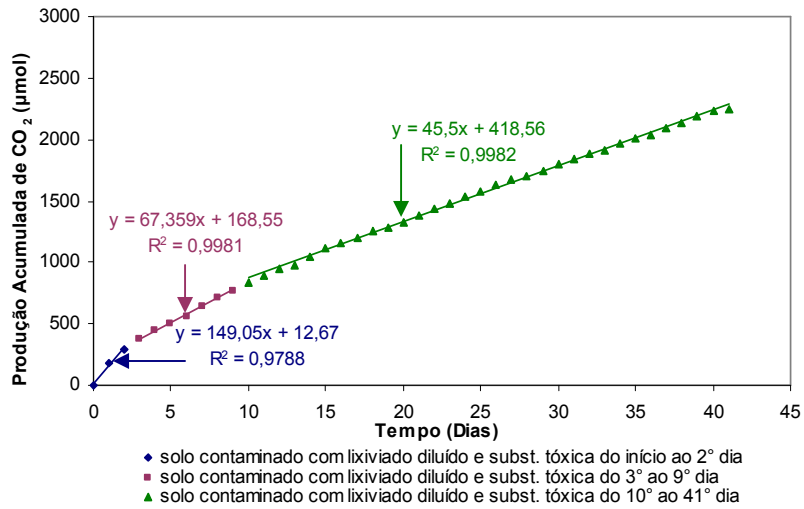
Ao final dos 41 dias de experimento, a Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub>, em 50 g de solo, nos respirômetros controle foi de 2733,2 μmols (120,3 mg/50 g de solo), nos respirômetros com lixiviado diluído contaminado com mercúrio, foi de 2246,3 μmols (98,8 mg/50 g de solo), e nos respirômetros com lixiviado bruto contaminado com mercúrio, foi de 1572,3 μmols (69,2 mg/50 g de solo).

Como a produção de CO<sub>2</sub> foi menor nos tratamentos do que nos respirômetros controle, foi inviável a obtenção da Produção Média Acumulada Efetiva, já que só seriam obtidos valores negativos, por desconsiderar a produção do controle nos tratamentos realizados.

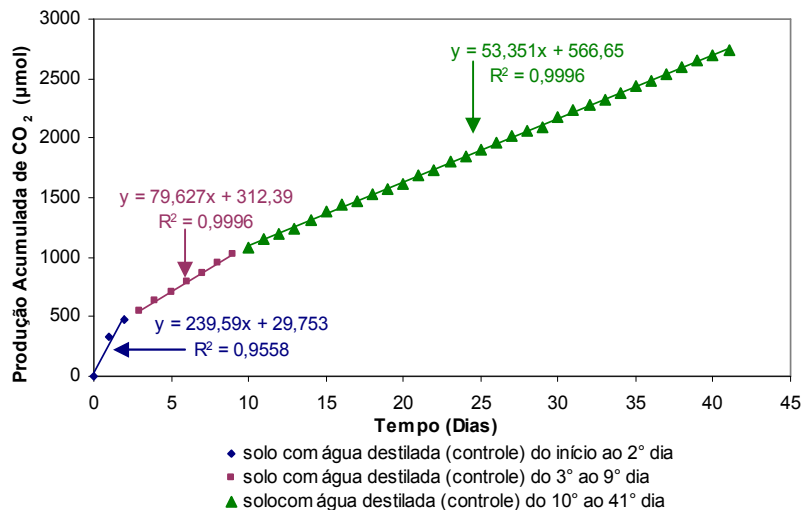
Os dados obtidos nos respirômetros confirmam os dados da quantificação de bactérias heterotróficas, que indicaram maior quantidade de UFC no solo dos respirômetros controle, que receberam apenas água destilada, os mesmos que apresentaram maior produção de CO<sub>2</sub>. Da mesma forma, os respirômetros nos quais o solo havia recebido lixiviado contaminado com mercúrio bruto e diluído apresentaram menor produção de CO<sub>2</sub> e menor quantidade de UFC de bactérias heterotróficas.



a)



b)



c)

Figura 5.6: Produção Média Acumulada de CO<sub>2</sub> nos respirômetros controle (a), com lixiviado bruto (b) e com lixiviado diluído na proporção 1:1 (c), do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica (HgCl<sub>2</sub>) com linhas de tendência (lineares) para os três segmentos (do início ao 2° dia; do 3° ao 9° dia; do 10° ao 41° dia).

## 5.6 – ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS RESPIROMÉTRICOS

Na Tabela 5.8 são apresentados os dados de entrada que foram inseridos no Programa “Statistica”, Versão 09, para aplicação do Teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 5.8: Dados de entrada para realização do Teste Estatístico Não-Paramétrico de Kruskal-Wallis, no Software Statistica.

Tratamentos	CO <sub>2</sub> (μmol) – 1º dia do 1º Teste Resp.	CO <sub>2</sub> (μmol) – Acumulado no 1º Teste Resp.	CO <sub>2</sub> (μmol) – 1º dia do 2º Teste Resp.	CO <sub>2</sub> (μmol) – Acumulado no 2º Teste Resp.
1	593,3	3827,8	84,6	1578,8
1	577,5	4794,4	74,3	1574,1
1	577,5	3738,1	74,3	1564
2	372,8	3391,5	176,8	2115,7
2	425,3	3491,1	187,1	2394,9
2	357	3590	197,3	2228,4
3	141,8	3737,6	294,7	2678,7
3	168	4045,4	294,7	2704,5
3	157,5	4013,6	397,2	2816,4

Legenda: Tratamento 1 = amostras de solo contaminadas com lixiviado bruto; Tratamento 2 = amostras de solo contaminadas com lixiviado diluído com água destilada (1:1); Tratamento 3 = amostras de solo apenas com umidade ajustada com água destilada (controle).

Assim, foram analisados os dados do Primeiro Teste Respirométrico (com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU) e do Segundo Teste Respirométrico (com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica) para comparar se os tratamentos aplicados apresentaram diferença significativa no primeiro dia de cada Teste e ao final do período de incubação, por meio dos valores acumulados, em cada réplica de cada tratamento.

Na Tabela 5.9 são apresentados os resultados do Teste de Kruskal-Wallis para a produção de CO<sub>2</sub> (μmol) no primeiro dia do Primeiro Teste Respirométrico nas três réplicas de cada um dos três tratamentos aplicados: lixiviado bruto (1); lixiviado diluído na proporção 1:1 com água destilada (2); e somente água destilada (3).

Os valores de “p” menores que 0,05 indicam diferença estatisticamente significativa entre os pares de tratamentos, comparados ao nível de 95% de confiança. Assim, o tratamento no qual o solo recebeu lixiviado bruto e o tratamento controle, que recebeu apenas água destilada, foram estatisticamente diferentes. Já o tratamento no qual o solo recebeu

lixiviado diluído na proporção 1:1, com água destilada, não apresentou diferença estatisticamente significativa dos demais tratamentos, demonstrando que quanto maior a concentração do lixiviado inserido, maior seria o conteúdo de matéria orgânica e assim, maior também a produção de CO<sub>2</sub>.

Tabela 5.9: Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para os valores de CO<sub>2</sub> (µmol) produzido nos três tratamentos referentes ao primeiro dia do Primeiro Teste Respirométrico.

Valores de “p” para Comparação Múltipla (bicaudal); CO<sub>2</sub> (µmol) 1° dia do 1° Teste Resp.  
Variável Independente: Tratamentos  
Teste de Kruskal-Wallis: H (2, N = 9) = 7,260504 p = ,0265

Depend.: CO <sub>2</sub> (µmol) – 1° dia do 1° Teste Resp.	1 R: 8,0000	2 R: 5,0000	3 R: 2,0000
1		0,539137	0,021871*
2	0,539137		0,539137
3	0,021871*	0,539137	

\* Efeitos significativos ao nível de 95% de confiança

Na Tabela 5.10 são apresentados os resultados fornecidos pelo Teste Estatístico de Kruskal-Wallis para a Produção Acumulada de CO<sub>2</sub> (µmol) durante os 50 dias de período de incubação, nas três réplicas de cada um dos três tratamentos aplicados ao Primeiro Teste Respirométrico: lixiviado bruto (1); lixiviado diluído na proporção 1:1 com água destilada (2); e somente água destilada (3). A análise da Tabela 5.10 permite concluir que nenhum dos tratamentos diferiu estatisticamente, pois todos os valores de “p” foram maiores de 0,05, sendo que “p” representa nível de significância estatística de 95%.

Tabela 5.10: Resultados do Teste de Kruskal-Wallis, para verificação da influência do tratamento aplicado nos valores de CO<sub>2</sub> (µmol) acumulado no Primeiro Teste Respirométrico.

Valores de “p” para Comparação Múltipla (bicaudal); CO<sub>2</sub> (µmol) Acumulado no 1° Teste Resp.  
Variável Independente: Tratamentos  
Teste de Kruskal-Wallis: H (2, N = 9) = 5,422222 p = ,0665

Depend.: CO <sub>2</sub> (µmol) – Acumulado no 1° Teste Resp.	1 R: 6,6667	2 R: 2,0000	3 R: 6,3333
1		0,110665	1,000000
2	0,110665		0,157897
3	1,000000	0,157897	

Na Tabela 5.11 são apresentados os resultados fornecidos pelo Teste Estatístico de Kruskal-Wallis para a produção de CO<sub>2</sub> (µmol) no primeiro dia do Segundo Teste Respirométrico nas três réplicas de cada um dos tratamentos: lixiviado bruto contaminado com mercúrio a uma concentração de 1 g de HgCl<sub>2</sub>/L (1); lixiviado contaminado diluído na proporção 1:1 com água destilada, chegando a uma concentração de 0,5 g de HgCl<sub>2</sub>/L (2); e somente água destilada (3).

Tabela 5.11: Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para os valores de CO<sub>2</sub> (µmol) produzido nos três tratamentos referentes ao primeiro dia do Segundo Teste Respirométrico.

Valores de “p” para Comparação Múltipla (bicaudal); CO <sub>2</sub> (µmol) 1º dia do 2º Teste Resp.			
Variável Independente: Tratamentos			
Teste de Kruskal-Wallis: H (2, N = 9) = 7,322034 p = ,0257			
Depend.: CO <sub>2</sub> (µmol) – 1º dia do 2º Teste Resp.	1 R: 2,0000	2 R: 5,0000	3 R: 8,0000
1		0,539137	0,021871*
2	0,539137		0,539137
3	0,021871*	0,539137	

\* Efeitos significativos ao nível de 95% de confiança

A análise da Tabela 5.11 permite concluir que o tratamento no qual o solo recebeu lixiviado bruto contaminado com HgCl<sub>2</sub> a uma concentração de 1 g/L e o tratamento controle, que recebeu apenas água destilada, foram estatisticamente diferentes. O tratamento intermediário, que recebeu lixiviado contaminado, diluído em água destilada a proporção 1:1, obtendo concentração final de 0,5 g de HgCl<sub>2</sub>/L, não apresentou diferença estatisticamente significativa dos demais tratamentos, demonstrando que quanto maior a concentração de uma substância altamente tóxica no lixiviado, maior seria o impacto na microbiota do lixiviado e do solo e, conseqüentemente, menor a produção de CO<sub>2</sub>.

Na Tabela 5.12 são apresentados os resultados fornecidos pelo Teste Estatístico de Kruskal-Wallis para a produção acumulada de CO<sub>2</sub> (µmol) durante os 41 dias de período de incubação nas três réplicas de cada um dos três tratamentos aplicados ao Segundo Teste Respirométrico: lixiviado bruto contaminado com mercúrio a uma concentração de 1 g de HgCl<sub>2</sub>/L (1); lixiviado contaminado diluído a proporção 1:1 com água destilada, chegando a uma concentração de 0,5 g de HgCl<sub>2</sub>/L (2); e somente água destilada (3).

Tabela 5.12: Resultados do teste de Kruskal-Wallis para avaliar a influência do tratamento nos valores de CO<sub>2</sub> (μmol) acumulado no Segundo Teste Respirométrico.

Valores de “p” para Comparação Múltipla (bicaudal); CO <sub>2</sub> (μmol) Acumulado no 2º Teste Resp.			
Variável Independente: Tratamentos			
Teste de Kruskal-Wallis: H (2, N = 9) = 7,200000 p = ,0273			
Depend.: CO <sub>2</sub> (μmol) – Acumulado no 2º Teste Resp.	1 R: 2,0000	2 R: 5,0000	3 R: 8,0000
1		0,539137	0,021871*
2	0,539137		0,539137
3	0,021871*	0,539137	

\* Efeitos significativos ao nível de 95% de confiança

A análise da Tabela 5.12 permite concluir que, também para a produção acumulada nos 41 dias do Segundo Teste Respirométrico, o tratamento que recebeu lixiviado bruto contaminado com mercúrio e o tratamento controle diferiram estatisticamente entre si, enquanto o tratamento que recebeu lixiviado diluído contaminado com mercúrio não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos.

### 5.7 – TESTE DE TOXICIDADE COM ORGANISMOS *Daphnia similis*

O Teste de Toxicidade com organismos *Daphnia similis*, aplicado na análise dos solubilizados das amostras de solo submetidas aos diferentes tratamentos do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas apenas com lixiviado de RSU e do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, foram realizados no Departamento de Bioquímica e Microbiologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), *campus* de Rio Claro/SP.

Os resultados obtidos para todas as diluições demonstraram que, ao final dos Testes Respirométricos, a quantidade de lixiviado inserida nas amostras de solo, tanto nas amostras que não haviam recebido HgCl<sub>2</sub> quanto nas que haviam recebido, não ocorreu efeito tóxico aos organismos-teste utilizados, pois nenhum organismo foi imobilizado quando colocado em contato com as diferentes concentrações dos extratos solubilizados obtidos.

Tal fato pode demonstrar que a contaminação do lixiviado com Cloreto de Mercúrio gerou letalidade às bactérias no momento da contaminação do lixiviado, provocando diferenças na produção de CO<sub>2</sub>, mas a quantidade de lixiviado adicionada ao solo não transferiu tal efeito tóxico para o solo, do qual foi obtido o extrato solubilizado.

## **5.8 – TEOR DE ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS DO LIXIVIADO E ESTIMATIVA DA EFICIÊNCIA DE BIODEGRADAÇÃO**

A Determinação do Teor de Ácidos Graxos Voláteis, segundo a metodologia proposta por Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998), foi realizada no lixiviado utilizado no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas apenas com lixiviado de RSU e no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, mas também em um lixiviado com menos de uma semana de armazenamento, já que as amostras de lixiviado utilizadas nos Testes permaneceram, por um longo período, armazenadas em frascos plásticos, refrigeradas a 14°C.

De acordo com van Haandel e Marais (1999) o Ácido Acético (CH<sub>3</sub>COOH), dominante nessas análises, apresenta valor de DQO<sub>t</sub> de 1,07 g DQO/g e de COT<sub>t</sub> de 0,40 g COT/g. Assim, conhecendo a estimativa do valor de Ácido Acético de uma amostra de lixiviado e o volume utilizado, é possível estimar o Teor de Carbono Orgânico inserido nas amostras de solo.

Na Tabela 5.13 são apresentados os valores de Alcalinidade e Ácidos Graxos Voláteis, obtidos pela Metodologia de Kapp (1984 *apud* Ribas *et al.*, 2007 e Buchauer, 1998) e de DQO<sub>t</sub> e COT<sub>t</sub>, estimados com base nos valores propostos por van Haandel e Marais (1999).

Como foram utilizados apenas 7,2 mL nos tratamentos que receberam lixiviado bruto e 3,6 mL nos tratamentos que receberam lixiviado diluído, foram obtidos os valores de COT inseridos nos tratamentos e o valor, em mg, foi convertido para μmols de C (Tabela 5.14).

Tabela 5.13: Alcalinidade, Ácidos Graxos Voláteis, DQO<sub>t</sub> e COT<sub>t</sub> das amostras de lixiviado utilizadas nos Testes Respirométricos e de uma amostra de lixiviado com menos de uma semana de armazenamento.

Parâmetros	Lixiviado do 1° Teste Resp. armazenado por sete meses	Lixiviado do 2° Teste Resp. armazenado por dois meses	Lixiviado com menos de uma semana de armazenamento
Alc (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	5712,5	6587,5	12424,1
AGV (mg CH <sub>3</sub> COOH/L)	231,7	441	7925,4
DQO <sub>t</sub> (mg/L)	247,9	471,8	8480,2
COT <sub>t</sub> (mg/L)	92,7	176,4	3170,2

Tabela 5.14: DQO<sub>t</sub>, COT<sub>t</sub> e μmols de C das amostras de lixiviado utilizadas nos Testes Respirométricos e de uma amostra de lixiviado com menos de uma semana de armazenamento, de acordo com os volumes utilizados nos tratamentos.

Parâmetros convertidos para o vol. de lixiviado inserido nos Tratamentos	Lixiviado do 1° Teste Resp. armazenado por sete meses		Lixiviado do 2° Teste Resp. armazenado por dois meses		Lixiviado com menos de uma semana de armazenamento	
	Lixiviado Bruto	Lixiviado Diluído	Lixiviado Bruto	Lixiviado Diluído	Lixiviado Bruto	Lixiviado Diluído
	DQO <sub>t</sub> (mg)	1,8	0,9	3,4	1,7	61,1
COT <sub>t</sub> (mg)	0,7	0,3	1,3	0,6	22,8	11,4
μmols de C	55,8	27,9	105,8	52,9	1901,7	950,8

Com o valor de COT presente no lixiviado, estimado a partir do valor de Ácidos Graxos Voláteis (matéria orgânica biologicamente degradável), pode-se obter a eficiência do processo de biorremediação nos tratamentos do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.

Para cálculo da quantidade de CO<sub>2</sub> produzida, em μmols, no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, considerou-se o valor final da estabilização na curva da Produção Média Acumulada Efetiva de CO<sub>2</sub> (Figura 5.2), descontando-se os respirômetros controle. Não foi possível calcular a Eficiência do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, pois os valores obtidos são negativos, quando descontada a produção nos respirômetros controle.

Seguindo o proposto pela Norma ABNT 14.283, de 1999, a quantidade de CO<sub>2</sub> produzida no Teste Respirométrico foi multiplicada por dois, para obtenção do número de μmols de



Carbono biodegradados, já que aproximadamente metade da quantidade de Carbono biodegradada é convertida em húmus e biomassa para o solo.

O valor de  $\mu\text{mols}$  de Carbono, aplicados por 50 g de solo, foi obtido conforme os cálculos apresentados anteriormente, considerando os volumes aplicados nos tratamentos.

Assim, os valores de Eficiência de Biodegradação do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, utilizando o dado obtido para o lixiviado com menos de uma semana de armazenamento, podem ser observados na Tabela 5.15:

Tabela 5.15: Eficiência de Biodegradação (%) do lixiviado bruto e diluído, na proporção 1:1, considerando o valor de AGV obtido no lixiviado com menos de uma semana de armazenamento.

	<b>EB (%) do Lixiviado Bruto</b>	<b>EB (%) do Lixiviado Diluído</b>
<b>AGV do lixiviado com menos de uma semana de armazenamento</b>	69	57

Segundo a NBR 14.283, de 1999, as taxas de aplicação de resíduos que apresentam eficiência de biodegradação acima de 30% podem ser adotadas em escala piloto para um futuro sistema de tratamento do resíduo no solo. Considerando que o valor real de AGV inserido no solo foi mais próximo do calculado para a o lixiviado com menos de uma semana de armazenamento do que aquele calculado com o lixiviado após sete meses de armazenamento, pelo fato da matéria orgânica provavelmente já ter sido biodegradada; quando analisado o Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, os tratamentos mostraram-se viáveis em escala piloto como sistema de tratamento no solo, por ambos apresentarem valores de Eficiência de Biodegradação maiores de 30%. A aplicação de lixiviado bruto apresentou eficiência ainda maior, chegando a um valor de 69%, enquanto o lixiviado diluído apresentou eficiência de 57%.

A boa biodegradabilidade das amostras de lixiviado analisadas pode ser confirmada pelos valores de DBO Manométrica obtidos para testar o efeito de substâncias tóxicas, cujos resultados estão apresentados no item 5.4 e variaram de aproximadamente 1733 a 3187 mg/L.

## 5.9 – PRODUÇÃO MÁXIMA DE CO<sub>2</sub> COM BASE NA DBO<sub>U</sub>

A Figura 5.7 apresenta os dados de DBO Manométrica, obtidos em laboratório, para uma das amostras de lixiviado coletadas no Aterro Controlado Jockey Club. Com esses dados, foi possível obter uma estimativa da DBO<sub>U</sub> (Demanda Bioquímica de Oxigênio Última), já que a curva se aproximou muito da esperada em um processo completo de consumo da matéria orgânica.

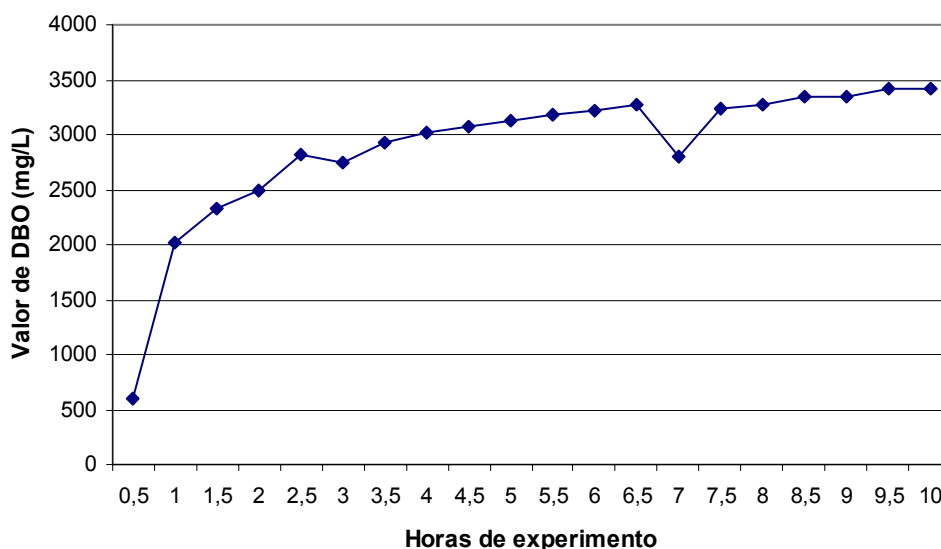


Figura 5.7: Valores de DBO Manométrica medidos em laboratório, como estimativa da DBO<sub>U</sub>.

Com base no limite da DBO, foi obtido o máximo consumo de oxigênio e com esse dado, foi possível uma estimativa da máxima produção de CO<sub>2</sub>, para comparação com a Produção Média Acumulada Efetiva de CO<sub>2</sub> obtida no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, apresentada no Gráfico da Figura 5.2.

A DBO<sub>U</sub> da amostra de lixiviado analisada apresentou valor de aproximadamente 3400 mg/L, o equivalente a cerca de 106250  $\mu$ mol de O<sub>2</sub> passíveis de serem consumidos por litro de lixiviado. Como a quantidade de mols de O<sub>2</sub> a serem consumidos é a mesma de mols de CO<sub>2</sub> que seriam produzidos no processo de respiração, pode-se dizer que a produção máxima de CO<sub>2</sub> seria, também, de aproximadamente 106250  $\mu$ mol por litro de lixiviado. Contudo, o volume máximo de lixiviado utilizado nos experimentos respirométricos foi de 7,2 mL. Assim, seria esperada uma produção máxima de 765  $\mu$ mol

de CO<sub>2</sub> devido à inserção de lixiviado nas amostras de solo. Conforme observado na Figura 5.2, no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU, foram produzidos aproximadamente 659 μmols de CO<sub>2</sub> devido à introdução do lixiviado bruto, valor equivalente a aproximadamente 86% da estimativa da produção máxima de CO<sub>2</sub> referente ao volume de lixiviado bruto inserido. Contudo, já no 6º dia do Teste Respirométrico, foram produzidos aproximadamente 649 μmols, 85% do valor estimado para a produção máxima de CO<sub>2</sub> com base na DBO<sub>U</sub>. Tal fato aponta para a possibilidade da matéria orgânica do lixiviado ser consumida em um curto intervalo de tempo quando em contato com o solo.

#### **5.10 – TRATAMENTO DO LIXIVIADO DE RSU EM SOLO: ALTERNATIVA PARA PEQUENOS ATERROS**

Considerando que os experimentos respirométricos indicaram que antes de completar um mês a carga orgânica inserida com o volume de lixiviado no solo, tanto no tratamento que recebeu lixiviado bruto quanto no tratamento que recebeu lixiviado diluído, havia sido significativamente consumida, deve-se analisar a possibilidade do lixiviado de RSU produzido em municípios de pequeno porte ser tratado por meio de sua disposição em solo. Para tanto, é importante calcular a profundidade do solo necessária para que o lixiviado introduzido apresente taxa semelhante àquela utilizada no presente estudo, já que em escala real o lixiviado não deve percolar o solo até atingir camadas mais profundas, onde poderia entrar em contato com a água subterrânea, provocando sua contaminação.

A densidade aparente da amostra de Latossolo Vermelho-Escuro utilizada foi calculada de acordo com os procedimentos propostos pela Norma ABNT 14.283, de 1999, obtendo o valor de 0,6548 g/cm<sup>3</sup>. Assim, pode-se concluir que cada metro cúbico de solo conteria massa correspondente a 654800 g. Se, em 50 g do mesmo solo acrescentamos um volume de até 7,2 mL de lixiviado bruto, em um metro cúbico poderíamos inserir até aproximadamente 94291 mL por mês, ou 94 L.

Para cálculo da estimativa de produção de lixiviado em um metro quadrado na região de estudo, foram utilizados os dados de Precipitação Média Anual, que somados mês a mês forneceram a Precipitação Acumulada Anual de aproximadamente 1560 mm para Brasília, DF. A conversão do dado anual para mensal, desconsiderando as particularidades das

estações, forneceu o valor de precipitação de aproximadamente 130 mm/mês. Os dados foram obtidos no sítio eletrônico do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2009) e podem ser visualizados na Figura 5.8.

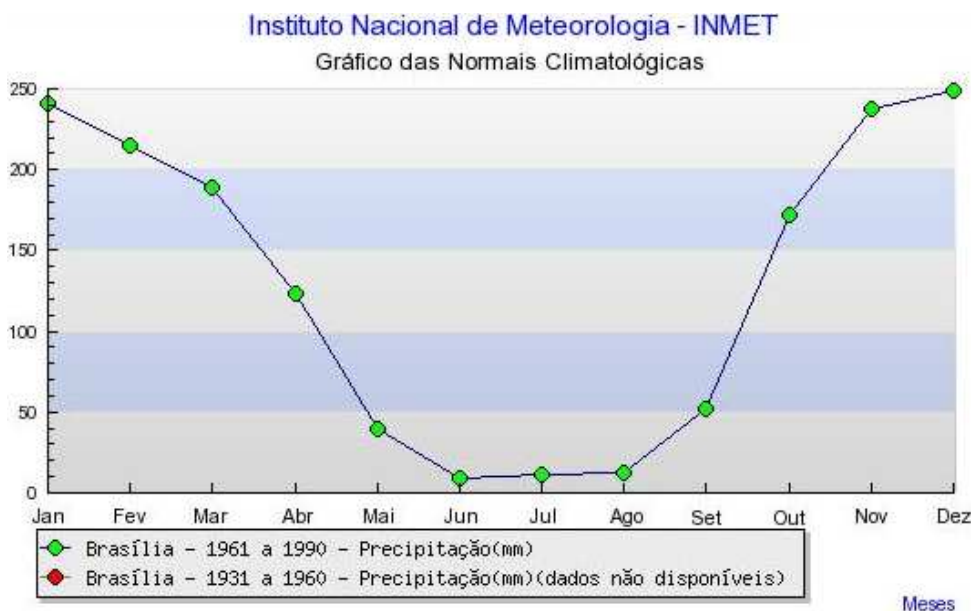


Figura 5.8: Gráfico Climatológico – Precipitação (mm) – Brasília. Obtido no sítio eletrônico do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2009).

Considerando que toda a precipitação seja convertida em lixiviado quando entrar em contato com os resíduos sólidos urbanos, em um metro quadrado seria percolado  $0,13 \text{ m}^3$ , ou 130 L de lixiviado.

Para que os 130 L de lixiviado produzido sejam incorporados ao solo na mesma taxa utilizada nesta Dissertação, seriam necessários aproximadamente  $1,5 \text{ m}^3$  de solo. Dessa forma, pode-se estimar que, em áreas em que as águas subterrâneas permaneçam a uma profundidade significativamente maior do que 1,5 m, seria possível promover o tratamento de lixiviado de RSU em solo. Contudo, é importante destacar que componentes tóxicos e até mesmo matéria orgânica recalcitrante podem permanecer adsorvidos nas partículas de solo, promovendo a contaminação da área. Para analisar tais efeitos, seriam necessários estudos complementares.

## 6 – CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os resultados obtidos demonstraram que os Respirômetros de Bartha são úteis para acompanhar o processo de biodegradação e que os microrganismos autóctones das amostras de solo e do lixiviado estudado mostraram-se capazes de degradar a matéria orgânica presente, tanto no solo quanto no lixiviado, em um tempo consideravelmente rápido, o que indica a possibilidade dos microrganismos promoverem o tratamento do lixiviado em solo.

A umidade desse tipo de resíduo fez com que o volume de lixiviado a ser aplicado ao solo seja pequeno, de forma a possibilitar a aeração do solo, fundamental para o desenvolvimento dos microrganismos aeróbios. Contudo, a quantidade de carbono orgânico aplicada também se torna pequena, o que fez com que grande parte da matéria orgânica inserida fosse consumida nos primeiros dias do Teste Respirométrico.

Em condições reais, o lixiviado produzido iria percolar pela massa de solo, deixando, nas camadas mais superficiais, a umidade máxima de 100% da Capacidade de Campo do solo. Porém, o volume escoado poderia deixar parte da matéria orgânica e dos contaminantes adsorvidos nas camadas superficiais do solo, onde ocorreria o processo de biorremediação.

Apesar dos testes de toxicidade não terem demonstrado toxicidade para os organismos *Daphnia similis*, uma quantidade maior de lixiviado poderia apresentar toxicidade tanto para os organismos do ambiente, quanto para os próprios microrganismos responsáveis pelo processo de biorremediação.

A concentração de Cloreto de Mercúrio capaz de provocar queda em 50% da atividade da comunidade microbiana presente no lixiviado estudado foi de 100 mg de  $\text{HgCl}_2/100\text{mL}$ , ou 1 g/L.

A simulação de um lixiviado com toxicidade elevada (no caso por inserção de Cloreto de Mercúrio) indicou que os microrganismos do lixiviado e do solo provavelmente não resistiram à concentração aplicada, e deixaram de consumir matéria orgânica, o que indica dificuldade na aplicação de processos de biorremediação quando o lixiviado apresentar

elevado nível de toxicidade por metais pesados, apesar de a concentração utilizada ter sido extremamente elevada, pouco comum na maioria dos lixiviados de aterros sanitários.

Os Respirômetros de Bartha também se mostraram adequados na identificação de um solo contaminado por substância tóxica, por apresentar produção de CO<sub>2</sub> menor do que aquele que se sabe não estar contaminado com a substância testada, no caso o Cloreto de mercúrio.

A quantificação das bactérias heterotróficas confirmou os dados obtidos no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica, indicando maior quantidade de microrganismos nas amostras de solo que apresentaram maior produção de CO<sub>2</sub> e menor quantidade de microrganismos nas amostras de solo que apresentaram menor produção de CO<sub>2</sub>.

A análise de Ácidos Graxos Voláteis possibilitou a estimativa da Eficiência de Biodegradação do lixiviado em solo, que confirmou a hipótese de que o processo de biorremediação, com alguns cuidados e adaptações, pode ser aplicado para tratamento do solo estudado, quando contaminado pelo lixiviado de RSU analisado.

A estimativa da DBO<sub>U</sub> permitiu o cálculo da produção máxima de CO<sub>2</sub> devido ao volume de lixiviado bruto inserido no Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e, já nos seis primeiros dias do experimento, haviam sido produzidos cerca de 85% da máxima produção de CO<sub>2</sub> esperada.

Assim, como cuidados experimentais, recomenda-se, nos próximos estudos relacionados ao tema:

- A análise mais precisa do Teor de Carbono aplicado ao solo, para possibilitar um cálculo também mais preciso da Eficiência de Biodegradação;
- A aplicação de outras taxas de Carbono Orgânico, por exemplo, pela percolação de um volume maior de lixiviado por amostra de solo, para drenar o excesso de líquido, permitindo a utilização nos Respirômetros de Bartha;

- Que as análises aplicadas nas amostras de solo, como Testes de Toxicidade com *Daphnia similis*, quantificação de bactérias heterotróficas e Teor de Carbono Orgânico, sejam aplicadas nas amostras de solo contaminadas, antes e depois do período de incubação nos respirômetros, para permitir a comparação do efeito de um processo de biorremediação.

Com relação à continuidade dos estudos relacionados ao tema, recomenda-se:

- A utilização de outras concentrações e de outras substâncias tóxicas mais comumente encontradas em lixiviados de RSU para avaliar o processo de biorremediação de áreas contaminadas com lixiviados com toxicidade elevada;
- Estudos que comparem resultados obtidos pelos Respirômetros de Bartha e por outros tipos de respirômetros para confirmar se os dados não estão relacionados a particularidades da metodologia utilizada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque, A. F. (2000). *Biodegradação de compostos fenólicos incorporados em areia de moldagem utilizando microrganismos do solo*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Civil, Área de concentração Saneamento, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, 99p.
- Alves, R. G. C. M. (2007). *Tratamento e valorização de dejetos da suinocultura através de processos anaeróbios – operação e avaliação de diversos reatores em escala real*. Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, 171p.
- Andrade, C. A. (2004). *Fração orgânica de biossólidos e efeito no estoque de Carbono e qualidade da Matéria Orgânica de um Latossolo cultivado com Eucalipto*. Tese de Doutorado, Departamento de Agronomia, Área de Concentração: Solos e Nutrição de Plantas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP, 121p.
- Andreottola, G., Oliveira, E. L., Foladori, P., Dallago, L., Peterlini, R. e Cadonna, M. (2005). “Método Respirométrico para o monitoramento de Processos Biológicos.” *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 10 (1), 14-23.
- APHA - American Public Health Association. (1999). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20. ed. Washington: American Public Health Association; AWWA; WPCF, 1569p.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (1999). ABNT/NBR 14.283. *Resíduos em solos – Determinação da biodegradação pelo método respirométrico*. Rio de Janeiro, RJ, 08p.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas (2004) ABNT/NBR 10.004. *Resíduos Sólidos*. Rio de Janeiro, RJ, 71p.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2004). ABNT/NBR 10.006. *Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos*. Rio de Janeiro, RJ, 03p.
- Baker, K. H. e Herson, D. S. (1994). *Bioremediation*. McGraw-Hill, Inc, Environmental Microbiology Associates, Inc. Harrisburg, Pennsylvania, 375p.
- Bartha, R. e Pramer, D. (1965). “Features of a flask and Method for Measuring the Persistence and Biological Effects of Pesticides in Soil”. *Soil Science*, 100 (1), 68-70.



- Bernardes, R. S., Pastore, E. L. e Pereira, J. H. F. (1999). “Caracterização Geofísica e Geoquímica da área de disposição de resíduos urbanos “Aterro do Jôquei Clube” em Brasília – DF”, *20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 1969-1980.
- Bernardes, R. S. e Soares, S. R. A. (2005). *Fundamentos da Respirimetria no controle de poluição da água e do solo*. Editora Universidade de Brasília: Finatec, Brasília, DF, 164p.
- Bidone, F. R. A. e Povinelli, J. (1999). *Conceitos Básicos de Resíduos Sólidos*. EESC/USP, São Carlos, SP, 109p.
- Buchauer, K. (1998). “A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in influents to waste-water and sludge treatment process.” *Water SA*, 24 (01), 49-56.
- Carriere, P. P. E. e Mesania, F. A. (1995). “Enhanced Biodegradation of Creosote Contaminated Soil.” *Waste Management*, 15 (08), 579-583.
- Carvalho, M. N. (1997). *Estudo da Biorremediação in situ para o tratamento de solos e aquíferos contaminados com percolado de chorume*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, 150p.
- CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. (1994). *Norma Técnica L 5.018 – Teste de Toxicidade aguda com Daphnia similis Claus*, 1876 (CLADOCERA, CRUSTACEA). São Paulo, 25p.
- Christensen, T. H. (1992). Attenuation of leachate pollutants in groundwater. In: *Landfilling of waste: leachate*. Christensen, T. H., Cossu, R. e Stegmann, R. (eds.), Elsevier Applied Science, Londres, Inglaterra, 441-483.
- Conceição, M., Manzatto, C. V., Araújo, W. S., Martin-Neto, L., Saab, S. C., Cunha, T. J. F. e Freixo, A. A. (1999). “Estudo comparativo de métodos de determinação do teor de matéria orgânica em solos orgânicos do Estado do Rio de Janeiro.” *Pesqui. andam. - Embrapa Solos*, 3, 1-5.
- Corseuil, H. X. e Alvarez, P. J. J. (1996). “Natural Bioremediation perspective for BTX – contaminated groundwater in Brazil: effect of ethanol.” *Water Science and Technology*, 34 (7-8), 311-318.
- Couracci Filho, B., Siviero, A. R., Souza, L. C. F. e Albuquerque, A. F. (1997). “Avaliação da biodegradação de lodo de indústria cítrica no solo através do ensaio de

- respirometria.” 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 165-172.
- DiLallo, R. e Albertson, O. E. (1961). Volatile Acids by direct titration. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 33 (04), 356-365.
- El-Fadel, M., Findikakis, A. N. e Leckie, J. O. (1997). “Environmental Impacts of Solid Waste Landfilling.” *Journal of Environmental Management*, 50, 1-25.
- Escosteguy, P. A. V., Galliassi, K. e Ceretta, C. A. (2007). “Determinação de Matéria Orgânica do solo pela perda de massa por ignição, em amostras do Rio Grande do Sul.” *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31, 247-255.
- Fernandes, F., Costa, R. H. R., Gomes, L. P., Ferreira, J. A., Beal, L. L., Castilhos Junior, A. B., Silva, S. M. C. P., Campos, J. C., Lopes, D. D., Boff, R. D. e Silva, J. D. (2006). “Tratamento Biológico de Lixiviados de Resíduos Sólidos Urbanos.” In: Castilhos Junior, A. B. (ed.) *Gerenciamento de Resíduos Sólidos Urbanos com ênfase na proteção de corpos d’água: Prevenção, geração e tratamento de lixiviados de Aterros Sanitários*. Prosab 4, Florianópolis, SC, 475p.
- Ferreira, E. D. S. (2002) *Aplicação da respirometria na caracterização do esgoto doméstico afluyente a uma ETE por processo de lodos ativados*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, 140p.
- Guerra, R. C. e Angelis, D. F. D. (2005). “Classificação e biodegradação de lodo de Estações de Tratamento de Água para descarte em Aterro Sanitário.” *Arquivos do Instituto Biológico*, 72 (1), 87-91.
- Guimarães, E. S., Lacava, P. M. e Magalhães, N. P. (2004). “Avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia similis* na água captada no Rio Paraíba do Sul e processada na Estação de Tratamento de água do município de Jacareí, SP – Brasil.” *Engenharia Sanitária e Ambiental*. 9 (2), 124-130.
- Hach Company. (1998). *Procedures Manual DR/2010 Spectrophotometer*, U.S.A., 824 p.
- Hamada, N. (2008). *Ensaio de toxicidade empregados na avaliação de efeitos no sistema de tratamento de esgotos e efluentes, ETE Suzano, e seu entorno, utilizando organismos aquáticos*. Dissertação de Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, 68p.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2001). *Base Cartográfica* elaborada pelo Departamento de Cartografia, *Mapa Temático – Solos* – elaborado pelo

- Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais e pelas divisões de Geociências.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretório de Pesquisas. (2002). Departamento de População e Indicadores Sociais. *Pesquisa Nacional de Saneamento Básico, 2000*. Rio de Janeiro, RJ, 369p.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2007). *Manual Técnico de Pedologia – Manuais Técnicos em Geociências, nº 4, 2ª ed.* Rio de Janeiro, RJ, 316p.
- INMET (2009) Gráficos Climatológicos – Precipitação (mm) – Brasília, *Sítio institucional do Instituto Nacional de Meteorologia*. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em novembro de 2009.
- Jardim, G. M. (2004). *Estudos Ecotoxicológicos da água e do sedimento do Rio Corumbataí, SP*. Dissertação de Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP, 127 p.
- Lehmann, V. (1998). “Bioremediation: A solution for polluted soils in the South?” *Biotechnology and Development Monitor*, (34), 12-17.
- Lei, L., Khodadoust, A.P., Suidan, M.T. e Tabak, H.H. (2005). “Biodegradation of sediment-bound PAHs in field -contaminated sediment.” *Water Research*, 39, 349–361.
- Leite, C. M. B. (2001). *Uso do método titulação após oxi-redução por via úmida e do método refluxo aberto para determinação da matéria orgânica em solos contaminados por chorume de resíduos sólidos domésticos*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, 101p.
- Luz, A. P. (2001). *Biodiversidade e dispersão de genes catabólicos de microrganismos degradadores de compostos xenobióticos no solo*. Tese de Doutorado, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, 103p.
- Machado, C. F. (2004). *Avaliação da presença de microrganismos indicadores de contaminação e patogênicos em líquidos lixiviados do Aterro Sanitário de Belo Horizonte*. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, 125p.
- Mariani, P. D. S. C. (2005). *Estudo da biodegradação da blenda de Poli ( $\epsilon$  caprolactona) e amido modificado em meios sólido e líquido*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de

- Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, 77p.
- Mariano, A. P. (2006). *Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel*, Tese de Doutorado, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, SP, 162p.
- Marrara, A. C. T. (2008). *Avaliação físico-química e ecotoxicológica do Ribeirão Tatu no município de Limeira – SP*. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Área de Saneamento e Ambiente, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, 122p.
- Martin-Neto, L., Segnini, A., Simões, M. L., Milori, D. M. B. P., Silva, W. T. L. e Primavesi, O. (2005). *Dinâmica e Estabilidade da Matéria Orgânica em Área com Potencial para Seqüestro de Carbono no Solo*. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária – Documentos, ISSN 1518-7179; 17, 52p.
- Martins, A., Dinardi, A. L., Formagi, V. M., Lopes, T. A., Barros, R. M., Coneglian, C. M. R., Brito, N. N., Sobrinho, G. D., Tonso, S. e Pelegrini, R. (2003). “Biorremediação.” In: *III Fórum de Estudos Contábeis*. Faculdades Integradas Claretianas, Rio Claro, SP, 10p.
- Martins, C. L. (2003). *Comportamento de reator de leito fluidizado trifásico aeróbio utilizando diferentes materiais suporte*. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, 156p.
- Mello, G. S. L. (2005). *Avaliação da viabilidade da utilização do teste respirométrico de Bartha para determinar a biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em solo tropical: caso do Fenantreno*. Dissertação de Mestrado, Escola Politécnica, Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP. 191p.
- Menezes, T. J. B. M. (1988) Microbiologia Industrial. In: *Tratado de Microbiologia*. Ed: Roitman, I., Travassos, L. R. e Azevedo, J. L. Vol. I, Editora Manole Ltda., São Paulo, SP. 102-181.
- Metcalf & Eddy (1991). *Wastewater Engineering – Treatment, Disposal and Reuse*. Revisado por Tchobanoglous, G. e Burton, F. L. 3<sup>rd</sup> ed., 1334p.
- Montagnolli, R. N., Lopes, P. R. M. e Bidoia, E. D. (2009). “Applied models to biodegradation kinetics of lubricant and vegetable oils in wastewater.” *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63, 297–305.

- Monteiro, L. W. S. (2005). *Avaliação do desempenho de dois sistemas em escala real para o manejo dos dejetos suínos: Lagoa armazenamento comparada com biodigestor seguido de lagoa de armazenamento*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC. 128p.
- Moraes, E. M., Adorno, M. A. T., Zaiat, M. e Foresti, E. (2001). Determinação das Alcalinidades Real e Total em amostras de reatores anaeróbios por titulações condutométricas. In: *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos*. Belo Horizonte: Prosab, 19-23.
- Moreira, F. M. S. (2002). *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: Editora UFLAS. 625p.
- Moser, G. I. F. (2003). *Estudo da nitrificação de líquido lixiviado de aterro sanitário utilizando sistema de lagoa aerada e lodos ativados*. Dissertação de Mestrado, Escola Politécnica, Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP. 107p.
- Nascimento, V. B., Cynamon S. E. e Ferreira, J. A. (2003). “Estudo de Caso: Análise da Remediação Ambiental do Aterro Metropolitano de Gramacho – RJ.” *Anais do 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, Joinville, SC, 1, 1-8,.
- Nuvolari, A. (1996). *Aplicação de lodo de esgotos municipais no solo: ensaios de respirometria para avaliar a estabilidade do lodo*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Civil, Área de Concentração: Recursos Hídricos e Saneamento, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP. 158p.
- Oliveira, D. M., Henckein, F. A., Satow, M. M., Angelis, D. F., Almeida, A. F., Bertoletti, A. C. D., Messetti, M. A., Guerra, R. C. e Roncon, T. J. (2006). “Avaliação da Biodegradação de Biodiesel.” In: *3º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel*, Varginha, MG.
- Pelczar, Jr. M. J. P., Chan, E. C. S. e Krieg, N. R. (1996). *Microbiologia: conceitos e aplicações*. MAKRON Books do Brasil. Vol. II, 2ª Ed., 517p.
- Pieper, D. H. e Reineke, W. (2000). “Engineering bacteria for bioremediation.” *Current Opinion in Biotechnology*, 11 (3), 262–270.
- Reichardt, K e Timm, L. C. (2004). *Solo, planta e atmosfera: conceitos, processos e aplicações*, Editora Manole Ltda., Barueri, SP, 478p.
- Ribas, M. M. F., Moraes, E. M. e Foresti, E. (2007). “Avaliação da acurácia de diversos métodos para determinação de ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato

- para monitoramento de reatores anaeróbios.” *Engenharia Sanitária e Ambiental*. 12 (03), 240-246.
- Ripley, L. E., Boyle, W. C. e Converse, J. C. (1986). “Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes”. *Journal of water pollution control federation*, 58 (05), 406-411.
- Santos, P. C. V. (1996). *Estudo da Contaminação d’água subterrânea por percolado de aterro de Resíduos Sólidos – Caso Jockey Club, DF*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, 137p.
- Santos, P. C. V. (2004). *Estudo da degradação e dos recalques em células experimentais de Resíduos Sólidos no Aterro do Jockey Club, DF*. Tese de Doutorado, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, 227p.
- Silva, A. M. (2008). *Avaliação da qualidade do Rio São Lourenço, SP, sob influência de Estações de Tratamento de Água e Estações de Tratamento de Esgoto*. Tese de Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, 157p.
- Silveira, I. C. T. (2004). *Cloro e Ozônio aplicados à desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos em Daphnia similis*. Tese de Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 173p.
- Siqueira, J. O., Moreira, F. M. S., Grisi, B. M., Hungria, M. e Araújo, R. S. (1994). *Microrganismos e Processos Biológicos do Solo: Perspectiva Ambiental*. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), 142p.
- Spanjers, H., Vanrolleghem, P. A., Olsson, G. e Dold, P. L. (1998). *Respirometry in control of the Activated Sludge Process: Principles*. *Scientific and Technical Reports*, 7, IAWQ, Londres, Inglaterra, 48p.
- Stone, R (1975). *Aerobic landfill stabilization*. In: *Solid Wastes: Origin, Collection, Processing, and Disposal*. Mantell, C. L. (ed), John Wiley e Sons, Inc. USA, pp. 153-183.
- Tchobanoglous, G., Theisen, H. e Vigil, S.A. (1993). *Integrated Solid Waste Management – Engineering Principles and Management Issues*. McGraw-Hill, E.U.A., 978p.

- Tortora, G. J., Funke, B. R. e Case, C. L. (2006). *Microbiologia*. 8ª ed, Artmed, 894p.
- van Haandel, A. e Marais, G. (1999). *O comportamento do sistema de lodo ativado – Teoria e aplicações para Projetos e Operação*, epgraf, Campina Grande, PB, 472p.
- von Sperling, M. (1996). *Princípios Básicos do Tratamento de Esgotos - Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Vol. 2*, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 211p.
- Walworth, J., Pond, A., Snape, I, Rayner, J., Ferguson, S. e Harvey, P. (2007). “Nitrogen requirements for maximizing petroleum bioremediation in a sub-Antarctic soil.” *Cold Regions Science and Technology*, 48, 84–91.
- Zoratto, A. C., (2007). *Avaliação ecotoxicológica de compostos naturais produzidos por Eucalyptus grandis e Eucalyptus urophylla no Vale do Rio Doce, Minas Gerais*. Dissertação de Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, SP, 222p.

## **APÊNDICES**



## APÊNDICE A – OPERAÇÃO DOS RESPIRÔMETROS

Para determinação do CO<sub>2</sub> produzido no interior dos Respirômetros de Bartha, foram aplicados os seguintes procedimentos, indicados pela NBR 14.283, de 1999:

- no recipiente para realização da titulação, primeiramente foram adicionadas 2 gotas do indicador Fenolftaleína e 1,0 mL de Solução de Cloreto de Bário (BaCl<sub>2</sub>) 1,0 N;
- após a retirada da rolha do filtro, que continha cal sodada para absorção do CO<sub>2</sub> atmosférico, e abertura da cânula do braço lateral, a solução de Hidróxido de Potássio (KOH) 0,2 N, que permaneceu durante um período no interior do respirômetro, foi removida utilizando-se seringa de 10 mL. A solução foi, então, adicionada ao recipiente de análise;
- utilizando a mesma seringa, foi realizada a lavagem do braço lateral do respirômetro injetando 10 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub> e inserindo juntamente com a solução de KOH no recipiente, para promover a titulação. A lavagem foi repetida mais duas vezes, totalizando 30 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub>;
- após essas etapas, foi realizada a titulação com solução de Ácido Clorídrico (HCl) 0,1 N, introduzindo a solução ácida mais rapidamente no início e mais lentamente quando o pH da mistura aproximava-se do ponto de viragem da Fenolftaleína (pH < 8,2), anotando-se a quantidade de ácido gasto;
- enquanto a titulação era realizada, procedeu-se a reoxigenação do sistema (respirômetro) por meio da entrada de ar comprimido, fornecido por uma bomba de aquário, passando o ar por um filtro com cal sodada, para remoção do CO<sub>2</sub>;
- com outra seringa, eram adicionados 10 mL de KOH no braço lateral que estava vazio, para novo período de absorção do gás carbônico produzido no interior dos respirômetros;
- assim, a análise era finalizada fechando a cânula do braço lateral e a válvula do filtro e colocando, por fim, a rolha de borracha no filtro;

- os respirômetros eram, então, retornados à sala com temperatura de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , para novo período de incubação no escuro;
- para servir como base de cálculos para a determinação do  $\text{CO}_2$  gerado no período de incubação, eram preparadas duas provas em branco para obtenção da média, sendo que em cada uma delas eram adicionados: 2 gotas do indicador Fenolftaleína; 1 mL da solução de  $\text{BaCl}_2$  1,0 N; 10 mL de KOH sem incubação nos respirômetros; e 30 mL de água destilada isenta de  $\text{CO}_2$ , para titulação com HCl.

## APÊNDICE B – PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Para obtenção da água destilada isenta de CO<sub>2</sub>, a água destilada foi fervida por 30 minutos e deixada esfriar a temperatura ambiente, para posterior utilização.

A solução de Hidróxido de Potássio (KOH) 0,2 N foi obtida diluindo-se 11,2 g de KOH (Para Análise – PA) em 1000 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub>. A padronização da solução foi realizada por meio da titulação com 100 mL de solução Ftalato Ácido de Potássio (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOK.COOH) 0,2 N e duas gotas do indicador Vermelho de Metila, para cálculo da Normalidade Real do KOH utilizando a Equação B.1, a seguir:

$$N_{\text{KOH}} = \frac{100 \times 0,2}{V} \quad (\text{B.1})$$

Em que:

$N_{\text{KOH}}$  = Normalidade Real do KOH (eq-g/L);

100 = Volume de Ftalato Ácido de Potássio 0,2 N (mL);

0,2 = Normalidade do Ftalato Ácido de Potássio (eq-g/L);

V = Volume de KOH gasto na viragem do indicador de vermelho para amarelo (mL).

A Solução Padrão de Ftalato Ácido de Potássio 0,2 N foi obtida por meio da dissolução de 40,860 g de Ftalato Ácido de Potássio (PA), seco em estufa a 110-120°C por 30 minutos e esfriado em dessecador até a temperatura ambiente, em 1000 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub>.

A solução de Ácido Clorídrico (HCl) 0,1 N foi obtida diluindo-se 8,5 mL de HCl concentrado (PA) em 1000 mL de água destilada. A padronização da solução foi realizada por meio da titulação com 100 mL de solução Carbonato de Sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 0,1 N e duas gotas do indicador Vermelho de Metila para cálculo da Normalidade Real do HCl utilizando a Equação B.2:

$$N_{\text{HCl}} = \frac{100 \times 0,1}{V} \quad (\text{B.2})$$

Em que:

$N_{\text{HCl}}$  = Normalidade Real do HCl (eq-g/L);

100 = Volume de Carbonato de Sódio 0,1 N (mL);

0,1 = Normalidade do Carbonato de Sódio (eq-g/L);

V = Volume de HCl gasto na viragem do indicador de amarelo para vermelho (mL).

A Solução Padrão de Carbonato de Sódio 0,1 N foi obtida por meio da dissolução de 5,3 g de Carbonato de Sódio (PA), seco em mufla a 270°C por 1 hora e esfriado em dessecador até a temperatura ambiente, em 1000 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub>.

A Solução de Cloreto de Bário (BaCl<sub>2</sub>) 1,0 N foi obtida por meio da dissolução de 12,2 g de Cloreto de Bário (PA) em 100 mL de água destilada.

A Solução Indicadora Vermelho de Metila foi obtida por meio da dissolução de 0,2 g de Vermelho de Metila em 60 mL de Etanol (PA), completando-se o volume para 100 mL com água destilada.

A Solução Indicadora Fenolftaleína foi obtida por meio da dissolução de 0,2 g de Fenolftaleína em 60 mL de Etanol (PA), completando-se o volume para 100 mL com água destilada.

## APÊNDICE C – METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE DETERMINADOS PARÂMETROS EM AMOSTRAS DE SOLO

### C.1 - Densidade Aparente, Umidade Residual e Capacidade de Campo

Para cálculo da Densidade Aparente, Umidade Residual e Capacidade de Campo, foram utilizados os procedimentos propostos pela Norma ABNT NBR 14.283, de 1999. Assim, três anéis volumétricos com volume de 40,8 mL foram previamente aferidos ( $V_1$ ) e, em cada um deles, foi colado um recorte de papel de filtro. O conjunto foi imerso em uma caixa com água destilada até saturar o papel e, depois de drenado o excesso de água, a sua massa foi anotada ( $m_1$ ). O conjunto passou, então, por secagem a 105°C até obter massa constante ( $m_2$ ) e foi preenchido com amostra de TFSA compactada com 10 batidas para nova obtenção da massa ( $m_3$ ). O conjunto foi seco a 105°C por 24 horas e a sua massa anotada novamente ( $m_4$ ). O passo seguinte foi imergir o conjunto em caixa com água até a metade do anel e quando a amostra estava com umidade visível, foi retirado para drenagem completa e posterior anotação da massa ( $m_5$ ).

Assim, após a realização dos procedimentos acima descritos, a Equação C.1 foi utilizada no cálculo da Densidade Aparente:

$$A = \frac{m_4 - m_2}{V_1} \quad (\text{C.1})$$

Em que:

$A$  = Densidade Aparente (g/cm<sup>3</sup>);

$m$  = Massa (g);

$V_1$  = Volume do anel (cm<sup>3</sup>).

Já para o cálculo da Umidade Residual foi utilizada a Equação C.2:

$$U_R = \frac{m_3 - m_4}{m_4 - m_2} \quad (\text{C.2})$$

Em que:

$U_R$  = Umidade Residual (g de água/g de solo seco);

$m$  = Massa (g).

E a capacidade de campo foi calculada pela Equação C.3:

$$CC = \frac{(m_5 - m_4) - (m_1 - m_2)}{m_4 - m_2} \quad (C.3)$$

Em que:

CC = Capacidade de Campo (g de água/g de solo seco);

m = Massa (g).

Tais análises forneceram os resultados de Densidade Aparente, Umidade Residual e Capacidade de Campo, agrupados na Tabela C.1. Como a Norma ABNT NBR 14.283, de 1999, indica que o solo inserido deve estar entre 50 e 70% da capacidade de campo, foi calculado, também, o valor de 60% da capacidade de campo nos três anéis e a média.

Tabela C.1: Resultados de Densidade Aparente, Umidade Residual, Capacidade de Campo e 60% da Capacidade de Campo da amostra composta de Latossolo coletada.

	<b>Densidade Aparente (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Umidade Residual (g de água/g de solo seco)</b>	<b>Capacidade de Campo (g de água/g de solo seco)</b>	<b>60% da Capacidade de Campo (g de água/g de solo seco)</b>
<b>Anel 1</b>	0,6655	0,2996	0,7332	0,4399
<b>Anel 2</b>	0,6458	0,2973	0,7855	0,4713
<b>Anel 3</b>	0,6530	0,2993	0,7070	0,4242
<b>Média</b>	0,6548	0,2987	0,7419	0,4451

Contudo, como a TFSA não estava completamente seca, e ainda havia Umidade Residual, subtraiu-se a média da Umidade Residual da média de 60% da Capacidade de Campo, para obtenção da massa de água e/ou lixiviado a ser inserida nos dois Testes Respirométricos, conforme a Equação C.4:

Massa de líquido = média 60% da Capacidade de Campo – média Umidade Residual (C.4)

Massa de líquido = 0,4451 - 0,2987 = 0,1464 g água e/ou lixiviado por grama de solo

Como foram utilizados 50 g de solo por respirômetro, o valor obtido pela Equação C.4 foi multiplicado por 50, como mostra a Equação C.5:

Massa de líquido em 50 g de solo = 50 x 0,1464 = 7,3 g de água e/ou lixiviado (C.5)

Assim, nos casos em que foi aplicado ao solo apenas lixiviado bruto ou apenas água destilada, a massa de líquido acrescentado foi de aproximadamente 7,3g em 50 g de solo. Já quando foi aplicado o lixiviado diluído na proporção 1:1, dividiu-se a massa total (7,3 g) por dois, chegando aos valores de 3,65 g de água destilada e 3,65 g de lixiviado.

## C.2 - Teor de Umidade

Para acompanhar o Teor de Umidade do solo nas diversas etapas do experimento, foi utilizada a metodologia de secagem do solo em estufa, utilizando-se a Equação C.6.

$$U = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1)} \times 100 \quad (\text{C.6})$$

Em que:

$U$  = Umidade (g de água/g de solo seco);

$m_1$  = Cadinho calcinado + solo úmido (g);

$m_2$  = Cadinho calcinado + solo após 24 horas em estufa a 110°C (g).

## C.3 - Teor de Sólidos Voláteis

Para cálculo do Teor de Sólidos Voláteis, que fornece uma estimativa do Teor de Matéria Orgânica, utilizou-se a metodologia de ignição em mufla a 600°C por um período de 6 horas, de acordo com a Equação C.7, a seguir:

$$SV = \frac{(m_2 - m_3)}{(m_2)} \times 100 \quad (\text{C.7})$$

Em que:

$SV$  = Sólidos Voláteis (g de sólidos/g de solo seco);

$m_2$  = Cadinho calcinado + solo após 24 horas em estufa a 110°C (g);

$m_3$  = Cadinho calcinado + solo sem umidade após 6 horas em mufla a 600°C (g).

## C.4 - Bactérias heterotróficas

Para a quantificação das bactérias heterotróficas, 1 g de solo foi misturado a 100 mL de solução salina (NaCl 0,9%) previamente esterilizada em autoclave a 121°C por 15 minutos. Após agitação por um minuto, 1 mL da solução foi transferido para um tubo de ensaio que continha 9 mL de solução salina esterilizada, obtendo a diluição  $10^{-1}$ . Esse procedimento foi repetido até a diluição  $10^{-4}$ . Com o auxílio de uma micropipeta, 0,1 mL de cada diluição (de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ ) foi transferido para placas de petri contendo meio de cultura para crescimento de bactérias heterotróficas, utilizando a técnica de espalhamento em superfície com o auxílio de uma alça de platina e de Bico de Bunsen.

As placas foram realizadas em triplicata, para cada diluição, e incubadas por 48 horas, a 35°C, para posterior contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC).

O meio de cultura sólido utilizado foi o PCA “Plate Count Agar”, sua composição para 1000 mL de água destilada está apresentada na Tabela C.2:

Tabela C.2: Composição do meio de cultura PCA, para contagem de bactérias heterotróficas, em 1000 mL de água destilada.

<b>Composição</b>	<b>Quantidade (g)</b>
Triptona	5,0
Extrato de Levedura	2,5
Dextrose	1,0
Ágar	15,0

Para cálculo do n° de UFC, levou-se em conta a diluição utilizada (que apresentou o n° de UFC mais próximo do intervalo indicado de 30 a 300); o volume inserido nas placas, no caso 0,1 mL, multiplicando-se por 10 para obter o valor em mL; e a proporção solo/solução salina (no presente estudo de 1:100), devendo-se multiplicar por 100 para obter o n° de UFC em 100 mL de suspensão inicial, como mostra a Equação C.8:

$$\text{UFC/g de solo úmido} = \text{“n° de colônias na placa”} \times \text{“Fator de Diluição (10^x)”} \times \text{Fator relativo ao volume (10)} \times \text{Proporção solo/solução (100)} \quad (\text{C.8})$$

Esse valor obtido foi calculado utilizando solo com umidade, assim, para transformar o n° de UFC/ g de solo úmido para n° de UFC/ g de solo seco, foi utilizada a equação C.9:

$$\text{UFC/g solo seco} = \text{UFC/g solo úmido} / (1 - (\text{Teor de umidade} / 100)) \quad (\text{C.9})$$



## APÊNDICE D – METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE DETERMINADOS PARÂMETROS EM AMOSTRAS DE LIXIVIADO DE RSU

### D.1 - Bactérias heterotróficas

A quantificação foi realizada de maneira semelhante à aplicada ao solo. Contudo, 1 mL de lixiviado bruto foi adicionado à 9 mL de solução salina (NaCl 0,9%) para obter a diluição  $10^{-1}$  e assim por diante até a diluição  $10^{-4}$ . Foi utilizada a técnica de espalhamento de 0,1 mL das diluições, em cada placa de petri, na superfície do meio de cultura PCA sólido, em triplicata. O tempo de incubação também foi de 48 hs, a 35°C.

Mais uma vez, para cálculo do n° de UFC, levou-se em conta a diluição utilizada (que apresentou o n° de UFC mais próximo do intervalo indicado de 30 a 300); e o volume inserido nas placas, no caso 0,1 mL, multiplicando-se por 10 para obter o valor em mL. Contudo, para quantificação de UFC no lixiviado de RSU, não foi realizada a diluição em 100 mL de solução salina, assim, não é necessário multiplicar por 100, como mostra a Equação D.1:

$$\text{UFC/mL de lixiviado} = \frac{\text{“n° de colônias na placa”} \times \text{“Fator de Diluição (10}^x\text{)”}}{\text{Fator relativo ao volume (10)}} \quad (\text{D.1})$$

### D.2 - Ácidos Graxos Voláteis

Antes de realizar a medida do Teor de Ácidos Graxos Voláteis, as amostras foram filtradas a vácuo por membrana filtrante de 0,45 µm. Posteriormente, 20 mL de cada amostra foram colocados em frascos para realizar a titulação com Ácido Sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0,1 N padronizado com solução de Carbonato de Sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 0,1 N. O pH inicial da amostra foi anotado e a amostra foi titulada com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> até atingir o pH de valor 5,0. O volume de ácido necessário foi anotado e a titulação continuou até atingir o pH 4,3, anotando mais uma vez o volume. Finalmente, a titulação foi concluída quando o pH atingiu o valor 4,0 e o volume de ácido foi anotado.

O trabalho realizado por Ribas *et al.* (2007) apresentou as Equações D.2 e D.3 envolvidas no método de Kapp, para obtenção do valor de Ácidos Graxos Voláteis:

$$AGV = 131340 \times N \times \frac{VA_{5-4, meas}}{VS} - (0,061 \times Alc) - 10,9 \quad (D.2)$$

Em que:

$AGV$  = Valor de Ácidos Graxos Voláteis (mg de  $CH_3COOH/L$ );

$N$  = Normalidade Real do  $H_2SO_4$ , padronizado com  $Na_2CO_3$  (eq-g/L);

$VA_{5-4, meas}$  = Volume de ácido para titular a amostra do pH de 4,0 ao pH de 5,0 (mL);

$VS$  = Volume da amostra analisada (20 mL);

$Alc$  = Valor de Alcalinidade medido (mg de  $CaCO_3/L$ ).

$$Alc = \frac{VA_{4,3} \times 50000 \times N}{VS} \quad (D.3)$$

Em que:

$Alc$  = Valor de Alcalinidade medido (mg de  $CaCO_3/L$ );

$N$  = Normalidade Real do  $H_2SO_4$ , padronizado com  $Na_2CO_3$  (eq-g/L);

$VA_{4,3}$  = Volume de ácido para titular a amostra do pH inicial até o pH de 4,3 (mL);

$VS$  = Volume da amostra analisada (20 mL).

## **APÊNDICE E – METODOLOGIA PARA SOLUBILIZAÇÃO DAS MISTURAS E POSTERIOR APLICAÇÃO DE TESTES DE TOXICIDADE**

Para obtenção do solubilizado das misturas solo/líquidos nos tratamentos aplicados nos Testes Respirométricos, as amostras de solo dos três respirômetros que haviam recebido o mesmo tipo de tratamento foram misturadas. De acordo com a Norma ABNT NBR 10.006, depois de a amostra ser seca, deveria ser separada massa de 250 g e colocada em um frasco de 1500 mL para adição de 1000 mL de água deionizada. Contudo, como foram adicionados apenas 50 g de solo em cada respirômetro, a quantidade final foi de aproximadamente 150 g de solo por tratamento, o que fez com que fosse utilizada apenas a proporção dos valores indicados pela Norma. Dessa forma, 25 g do resíduo seco (solo dos tratamentos realizados nos dois Testes Respirométricos) foram adicionados a 100 mL de água deionizada, em duplicata. Após proceder a mistura do solo com a água, em frascos de erlenmeyers, as amostras foram agitadas em baixa velocidade por cinco minutos, utilizando o equipamento Shaker. Em seguida a essa etapa, os frascos foram cobertos com filme de PVC e permaneceram em repouso por 7 dias em incubadoras BOD para controle da temperatura até 25°C. Em seguida, a solução foi filtrada por uma membrana filtrante de 0,45 µm, obtendo, assim, o extrato solubilizado dos solos submetidos aos diversos tratamentos dos experimentos respirométricos, sendo seguida da medição do pH dos solubilizados. Os solubilizados foram congelados para posterior realização do Teste de Toxicidade com *Daphnia similis*.

APÊNDICE F – TABELAS DE PRODUÇÃO DE CO<sub>2</sub> (µmol) PARA OS TRATAMENTOS DOS TESTES RESPIROMÉTRICOS

Tabela F.1: Quantidade de CO<sub>2</sub> (µmol) produzida pelos diferentes tratamentos nas medições do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU.

Data	Dias	CO <sub>2</sub> Produzido (µmol)																	
		Solo + chorume bruto						Solo + chorume diluído						Solo + Água Destilada (Controle)					
		1A	1B	1C	Média	Desvio	2A	2B	2C	Média	Desvio	3A	3B	3C	Média	Desvio			
03/02/2009	0	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00				
04/02/2009	1	593,3	577,5	577,5	582,8	7,42	372,8	425,3	357,0	385,0	29,18	141,8	168,0	157,5	155,8				
05/02/2009	2	162,8	152,3	141,8	152,3	8,57	84,0	115,5	120,8	106,8	16,23	73,5	136,5	68,3	92,8				
06/02/2009	3	149,6	133,9	112,9	132,1	15,05	86,6	76,1	91,9	84,9	6,55	44,6	55,1	91,9	63,9				
09/02/2009	6	385,9	322,9	322,9	343,9	29,70	265,1	265,1	280,9	270,4	7,42	259,9	254,6	233,6	249,4				
11/02/2009	8	149,6	139,1	139,1	142,6	4,95	128,6	144,4	123,4	132,1	8,92	133,9	123,4	154,9	137,4				
12/02/2009	9	78,7	94,5	99,7	91,0	8,92	94,5	89,3	84,0	89,2	4,29	89,3	89,3	94,5	91,0				
13/02/2009	10	70,9	55,1	65,6	63,9	6,55	44,6	60,4	112,9	72,6	29,18	86,6	91,9	76,1	84,9				
14/02/2009	11	57,8	94,5	47,2	66,5	20,26	57,8	52,5	52,5	54,3	2,47	26,3	73,5	42,0	47,3				
15/02/2009	12	52,5	68,3	57,8	59,5	6,55	68,3	57,8	73,5	66,5	6,55	105,0	78,8	84,0	89,3				
16/02/2009	13	101,4	80,6	80,6	87,5	9,81	75,4	91,0	75,4	80,6	7,35	80,6	91,0	85,8	4,25				
17/02/2009	14	62,4	114,4	31,2	69,3	34,32	72,8	20,8	78,0	57,2	25,83	26,0	145,6	62,4	78,0				
18/02/2009	15	101,4	96,2	91,0	96,2	4,25	101,4	91,0	106,6	99,7	6,49	101,4	117,0	101,4	106,6				
19/02/2009	16	49,4	247,0	70,2	122,2	88,65	70,2	44,2	65,0	59,8	11,23	75,4	96,2	75,4	82,3				
20/02/2009	17	78,0	135,2	88,4	100,5	24,88	78,0	67,6	72,8	72,8	4,25	88,4	83,2	88,4	76,3				
21/02/2009	18	98,8	124,8	83,2	102,3	17,16	104,0	67,6	104,0	91,9	17,16	130,0	114,4	88,4	110,9				
22/02/2009	19	0,0	72,8	15,6	29,5	31,30	36,4	31,2	20,8	29,5	6,49	46,8	26,0	67,6	46,8				
24/02/2009	21	189,8	257,4	195,0	214,1	30,71	174,2	179,4	189,8	181,1	6,49	226,2	215,8	219,3	4,90				
25/02/2009	22	44,2	49,4	44,2	45,9	2,45	23,4	54,6	33,8	37,3	12,97	49,4	39,0	39,0	42,5				
26/02/2009	23	62,4	83,2	52,0	65,9	12,97	20,8	57,2	62,4	46,8	18,51	57,2	72,8	67,6	7,35				
27/02/2009	24	78,0	109,2	57,2	81,5	21,37	67,6	57,2	67,6	64,1	4,90	78,0	78,0	83,2	79,7				
28/02/2009	25	104,0	114,4	72,8	97,1	17,68	46,8	72,8	57,2	58,9	10,68	62,4	83,2	72,8	8,49				
02/03/2009	27	187,2	208,0	150,8	182,0	23,64	140,4	145,6	150,8	145,6	4,25	182,0	197,6	182,0	187,2				
03/03/2009	28	57,2	93,6	67,6	72,8	15,31	36,4	41,6	62,4	46,8	11,23	62,4	88,4	72,8	74,5				
04/03/2009	29	80,6	117,0	80,6	92,7	17,16	75,4	75,4	39,0	63,3	17,16	117,0	111,8	106,6	4,25				
05/03/2009	30	83,2	114,4	83,2	93,6	14,71	67,6	78,0	67,6	71,1	4,90	72,8	93,6	57,2	74,5				
09/03/2009	34	270,4	322,4	249,6	280,8	30,62	249,6	260,0	239,2	249,6	8,49	312,0	327,6	338,0	10,68				
10/03/2009	35	10,4	52,0	46,8	36,4	18,51	57,2	46,8	36,4	46,8	8,49	62,4	36,4	67,6	55,5				
11/03/2009	36	33,8	54,6	49,4	45,9	8,84	54,6	54,6	49,4	52,9	2,45	75,4	49,4	127,4	84,1				
12/03/2009	37	5,2	78,0	31,2	38,1	30,12	52,0	57,2	36,4	48,5	8,84	57,2	62,4	78,0	65,9				
14/03/2009	39	85,8	127,4	101,4	104,9	17,16	111,8	106,6	111,8	111,8	4,25	143,0	132,6	127,4	134,3				
17/03/2009	42	111,8	174,2	122,2	136,1	27,30	169,0	143,0	179,4	163,8	15,31	210,6	210,6	241,8	221,0				
18/03/2009	43	20,8	36,4	26,0	27,7	6,49	36,4	41,6	36,4	38,1	2,45	41,6	57,2	62,4	53,7				
19/03/2009	44	10,4	41,6	26,0	26,0	12,74	41,6	20,8	57,2	39,9	14,91	72,8	57,2	52,0	60,7				
20/03/2009	45	54,6	65,0	70,2	63,3	6,49	54,6	70,2	75,4	66,7	8,84	101,4	85,8	80,6	8,84				
23/03/2009	48	85,8	101,4	122,2	103,1	14,91	85,8	143,0	111,8	113,5	23,38	179,4	163,8	200,2	181,1				
25/03/2009	50	59,8	85,8	65,0	70,2	11,23	85,8	85,8	101,4	91,0	7,35	96,2	137,8	163,8	27,84				

Tabela F.2: Quantidade de CO<sub>2</sub> (µmol) produzida pelos diferentes tratamentos nas medições do Teste Respirométrico com amostras de solo contaminadas com lixiviado de RSU e substância tóxica.

Data	Dias	Solo + chorume bruto						Solo + chorume diluído						Solo + Água Destilada (Controle)									
		1A		1B		1C		2A		2B		2C		3A		3B		3C		Média		Desvio	
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio
31/05/2009	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
01/06/2009	1	84,6	74,3	74,3	77,7	4,83	176,8	187,1	197,3	187,1	8,37	294,7	294,7	397,2	328,9	48,32	150,3	143,5	150,3	13,45	150,3	13,45	150,3
02/06/2009	2	41,0	61,5	56,4	53,0	8,71	102,5	117,9	112,8	111,0	6,39	169,1	138,4	143,5	150,3	13,45	150,3	143,5	13,45	150,3	13,45	150,3	
03/06/2009	3	56,4	41,0	61,5	53,0	8,71	51,3	71,8	92,3	71,8	16,74	51,3	76,9	76,9	68,3	12,08	68,3	76,9	68,3	12,08	68,3	12,08	
04/06/2009	4	20,5	35,9	25,6	27,3	6,39	71,8	71,8	71,8	71,8	0,00	71,8	87,1	92,3	83,7	8,71	83,7	92,3	83,7	8,71	83,7	8,71	
05/06/2009	5	46,1	46,1	35,9	42,7	4,83	61,5	66,6	66,6	64,9	2,42	82,0	82,0	82,0	82,0	0,00	82,0	82,0	82,0	0,00	82,0	0,00	
06/06/2009	6	17,9	28,2	12,8	19,6	6,39	43,6	64,1	53,8	53,8	8,37	89,7	58,9	84,6	77,7	13,45	77,7	84,6	77,7	13,45	77,7	13,45	
07/06/2009	7	64,1	69,2	48,7	60,6	8,71	84,6	79,4	99,9	88,0	8,71	79,4	79,4	84,6	81,1	2,42	81,1	84,6	81,1	2,42	81,1	2,42	
08/06/2009	8	66,6	41,0	56,4	54,7	10,53	51,3	71,8	61,5	61,5	8,37	71,8	87,1	82,0	80,3	6,39	80,3	87,1	82,0	6,39	80,3	6,39	
09/06/2009	9	38,6	43,8	33,5	38,6	4,20	54,1	59,2	74,7	62,7	8,75	69,5	79,8	64,4	71,2	6,42	71,2	64,4	71,2	6,42	71,2	6,42	
10/06/2009	10	28,3	38,6	33,5	33,5	4,20	54,1	74,7	59,2	62,7	8,75	59,2	69,5	59,2	62,7	4,86	62,7	59,2	62,7	4,86	62,7	4,86	
11/06/2009	11	43,8	28,3	33,5	35,2	6,42	64,4	74,7	48,9	62,7	10,58	79,8	48,9	59,2	62,7	12,85	62,7	48,9	59,2	12,85	62,7	12,85	
12/06/2009	12	41,2	30,9	41,2	37,8	4,86	46,3	61,8	41,2	49,8	8,75	36,1	61,8	56,7	51,5	11,13	51,5	56,7	51,5	11,13	51,5	11,13	
13/06/2009	13	18,0	12,9	7,7	12,9	4,20	28,3	38,6	28,3	31,8	4,86	28,3	43,8	43,8	38,6	7,28	38,6	43,8	38,6	7,28	38,6	7,28	
14/06/2009	14	48,9	54,1	48,9	50,6	2,43	59,2	69,5	64,4	64,4	4,20	90,1	74,7	74,7	79,8	7,28	74,7	74,7	79,8	7,28	74,7	7,28	
15/06/2009	15	51,5	51,5	41,2	48,1	4,86	61,8	72,1	72,1	68,7	4,86	67,0	67,0	82,4	72,1	7,28	67,0	67,0	82,4	7,28	67,0	7,28	
16/06/2009	16	23,2	48,9	23,2	31,8	12,14	28,3	43,8	48,9	40,3	8,75	59,2	48,9	38,6	48,9	8,41	48,9	38,6	48,9	8,41	48,9	8,41	
17/06/2009	17	18,0	28,3	28,3	24,9	4,86	38,6	48,9	33,5	40,3	6,42	12,9	48,9	38,6	33,5	15,16	38,6	48,9	38,6	15,16	38,6	15,16	
18/06/2009	18	44,6	55,1	44,6	48,1	4,95	55,1	60,4	55,1	56,9	2,47	60,4	70,9	55,1	62,1	6,55	62,1	70,9	55,1	6,55	62,1	6,55	
19/06/2009	19	18,4	18,4	18,4	18,4	0,00	23,6	49,9	39,4	37,6	10,79	44,6	39,4	34,1	39,4	4,29	39,4	34,1	39,4	4,29	39,4	4,29	
20/06/2009	20	26,3	26,3	42,0	31,5	7,42	42,0	36,8	42,0	40,3	2,47	36,8	52,5	47,3	45,5	6,55	47,3	52,5	47,3	6,55	47,3	6,55	
21/06/2009	21	44,6	44,6	39,4	42,9	2,47	49,9	65,6	55,1	56,9	6,55	65,6	65,6	55,1	62,1	4,95	62,1	65,6	55,1	4,95	62,1	4,95	
22/06/2009	22	21,0	36,8	36,8	31,5	7,42	52,5	52,5	42,0	49,0	4,95	52,5	57,8	47,3	52,5	4,29	47,3	57,8	47,3	4,29	47,3	4,29	
23/06/2009	23	42,0	42,0	36,8	40,3	2,47	36,8	52,5	52,5	47,3	7,42	57,8	63,0	63,0	61,3	2,47	61,3	63,0	61,3	2,47	61,3	2,47	
24/06/2009	24	47,2	42,0	47,2	45,5	2,47	57,8	57,8	63,0	59,5	2,47	73,5	63,0	31,5	56,0	17,85	56,0	63,0	31,5	17,85	56,0	17,85	
25/06/2009	25	34,1	28,9	28,9	30,6	2,47	34,1	44,6	39,4	39,4	4,29	55,1	49,9	49,9	49,9	2,47	49,9	49,9	49,9	2,47	49,9	2,47	
26/06/2009	26	42,0	36,8	36,8	38,5	2,47	47,3	57,8	36,8	47,3	8,57	42,0	63,0	63,0	56,0	9,90	56,0	63,0	56,0	9,90	56,0	9,90	
27/06/2009	27	36,8	52,5	42,0	43,8	6,55	52,5	47,3	42,0	47,3	4,29	57,8	57,8	57,8	57,8	0,00	57,8	57,8	57,8	0,00	57,8	0,00	
28/06/2009	28	15,8	36,8	26,3	26,3	8,57	26,3	31,5	21,0	26,3	4,29	47,3	36,8	36,8	40,3	4,95	40,3	36,8	40,3	4,95	40,3	4,95	
29/06/2009	29	23,4	18,2	39,0	26,9	8,84	44,2	39,0	33,8	39,0	4,25	39,0	39,0	39,0	39,0	0,00	39,0	39,0	39,0	0,00	39,0	0,00	
30/06/2009	30	44,2	59,8	54,6	52,9	6,49	49,4	65,0	59,8	58,1	6,49	106,6	54,6	85,8	82,3	21,37	82,3	54,6	85,8	21,37	82,3	21,37	
01/07/2009	31	52,0	41,6	52,0	48,5	4,90	41,6	52,0	41,6	45,1	4,90	46,8	41,6	67,6	52,0	11,23	52,0	41,6	67,6	11,23	52,0	11,23	
02/07/2009	32	39,0	33,8	39,0	37,3	2,45	39,0	44,2	44,2	42,5	2,45	49,4	44,2	59,8	51,1	6,49	51,1	44,2	59,8	6,49	51,1	6,49	
03/07/2009	33	41,6	31,2	20,8	31,2	8,49	26,0	36,4	31,2	31,2	6,49	52,0	41,6	57,2	45,1	16,07	45,1	41,6	57,2	16,07	45,1	16,07	
04/07/2009	34	36,4	15,6	31,2	27,7	8,84	57,2	41,6	52,0	50,3	6,49	52,0	41,6	57,2	50,3	6,49	50,3	41,6	57,2	6,49	50,3	6,49	
05/07/2009	35	36,4	26,0	36,4	32,9	4,90	36,4	36,4	36,4	36,4	0,00	52,0	57,2	57,2	55,5	2,45	55,5	57,2	57,2	2,45	55,5	2,45	
06/07/2009	36	31,2	31,2	26,0	29,5	2,45	57,2	36,4	26,0	39,9	12,97	52,0	72,8	31,2	52,0	16,98	52,0	72,8	31,2	16,98	52,0	16,98	
07/07/2009	37	38,6	38,6	38,6	38,6	0,00	43,8	54,1	43,8	40,3	4,20	48,9	54,1	54,1	54,1	0,00	54,1	54,1	54,1	0,00	54,1	0,00	
08/07/2009	38	43,8	43,8	33,5	40,3	4,86	38,6	48,9	33,5	40,3	6,42	38,6	48,9	59,2	52,4	9,71	52,4	48,9	59,2	9,71	52,4	9,71	
09/07/2009	39	61,8	36,1	56,7	51,5	11,13	61,8	51,5	56,7	56,7	4,20	67,0	67,0	67,0	67,0	0,00	67,0	67,0	67,0	0,00	67,0	0,00	
10/07/2009	40	28,3	23,2	33,5	28,3	4,20	43,8	38,6	33,5	38,6	4,20	43,8	38,6	38,6	38,6	0,00	38,6	38,6	38,6	0,00	38,6	0,00	
11/07/2009	41	20,6	20,6	41,2	27,5	9,71	20,6	20,6	20,6	20,6	0,00	41,2	36,1	30,9	36,1	4,20	36,1	30,9	36,1	4,20	36,1	4,20	