

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC
CENTRO DE ENGENHARIA, MODELAGEM E CIÊNCIAS SOCIAIS APLICADAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Lilian Cristina Soares Silva

**O EFEITO DO USO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS EM SOLOS
CONTAMINADOS COM GASOLINA**

Dissertação

Santo André – SP
2019

Lilian Cristina Soares Silva

**O EFEITO DO USO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS EM SOLOS
CONTAMINADOS COM GASOLINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal do ABC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental. Linha de pesquisa: Tecnologias Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Derval dos Santos Rosa

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Elizabete Campos de Lima

Santo André – SP

2019

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do ABC
Elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFABC
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Silva, Lilian Cristina Soares
O EFEITO DO USO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS EM SOLOS
CONTAMINADOS COM GASOLINA / Lilian Cristina Soares Silva. — 2019.

123 fls. : il.

Orientador: Derval dos Santos Rosa

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do ABC, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Santo André, 2019.

1. bioestimulação. 2. bioaugmentação. 3. BTEX. 4. polímeros
biodegradáveis. I. Rosa, Derval dos Santos. II. Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia Ambiental, 2019. III. Título.

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, de acordo com as observações levantadas pela banca no dia da defesa, sob responsabilidade única do(a) autor(a) e com a anuência do(a) orientador(a).

Santo André/SP

10 de Setembro de 2019

Assinatura do(a) autor(a):



Assinatura do(a) orientador(a):



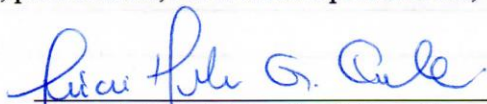


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Fundação Universidade Federal do ABC
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental
Avenida dos Estados, 5001 – Bairro Santa Terezinha – Santo André – SP
CEP 09210-580 · Fone: (11) 4996-0017
pgcta@ufabc.edu.br

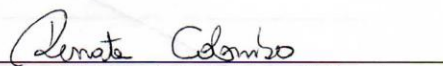
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

No vigésimo oitavo dia do mês de maio de dois mil e dezenove, às quatorze horas e trinta minutos, no auditório 801-A, 8º andar do Bloco B, da Universidade Federal do ABC, no campus Santo André, realizou-se a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada “**O EFEITO DO USO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS EM SOLOS CONTAMINADOS COM GASOLINA**” de autoria da candidata **Lilian Cristina Soares Silva**, RA nº 131720010, discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da UFABC. Concluídos os trabalhos de apresentação e arguição, a candidata foi considerada APROVADA pela Banca Examinadora.


E, para constar, foi lavrada a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca.

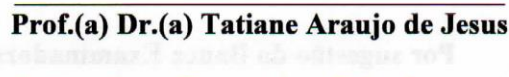

**Prof.(a) Dr.(a) Lucia Helena Gomes
Coelho**


Universidade Federal do ABC – Titular



Prof.(a) Dr.(a) Renata Colombo

Universidade de São Paulo – Titular


**Prof.(a) Dr.(a) Rodrigo de Freitas
Bueno**
Universidade Federal do ABC – Suplente


Prof.(a) Dr.(a) Tatiane Araujo de Jesus
Universidade Federal do ABC – Suplente


**Prof.(a) Dr.(a) Demetrio Jackson dos
Santos**
Universidade Federal do ABC – Suplente


Prof.(a) Dr.(a) Derval dos Santos Rosa
Universidade Federal do ABC – Presidente



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Fundação Universidade Federal do ABC
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental
Avenida dos Estados, 5001 – Bairro Santa Terezinha – Santo André – SP
CEP 09210-580 · Fone: (11) 4996-0017
pgcta@ufabc.edu.br

FOLHA DE ASSINATURAS

Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Lilian Cristina Soares Silva, realizada em 28 de maio de 2019:

Prof.(a) Dr.(a) **Derval dos Santos Rosa** (Universidade Federal do ABC) – Presidente

Prof.(a) Dr.(a) **Lucia Helena Gomes Coelho** (Universidade Federal do ABC) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Renata Colombo** (Universidade de São Paulo) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Rodrigo de Freitas Bueno** (Universidade Federal do ABC) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Tatiane Araujo de Jesus** (Universidade Federal do ABC) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Demetrio Jackson dos Santos** (Universidade Federal do ABC) – Membro Suplente

DEDICATÓRIA

A Deus, que merece toda a glória por colocar pessoas tão maravilhosas no meu caminho, me permitindo chegar até aqui;

À minha família, alicerce que me sustenta com companheirismo e apoio;

Aos que lutam pela defesa de um meio ambiente saudável, colocando este cuidado acima dos seus interesses pessoais;

A todos os que acreditam e se esforçam para que a interdisciplinaridade seja de fato praticada nas instituições brasileiras.

Dedico a vocês esta conquista!

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001"

AGRADECIMENTOS

A Deus, o meu Amado Senhor, que nunca me abandonou e se fez mais que presente durante esta etapa de minha vida, me ajudando, abrindo o meu entendimento e consolando o meu coração nos momentos difíceis. Obrigada por ser o meu amigo, o maior companheiro nesta tempestade de emoções chamada Mestrado; sem o Senhor eu realmente não conseguiria.

Ao meu esposo Renato Ramos da Silva, pelo amor, dedicação, paciência, conselhos, companheirismo e incentivo. Você sempre fez o melhor para que eu estivesse bem, abriu mão do tempo a ti dedicado, para que eu chegasse até aqui. Obrigada por ser essa pessoa linda, totalmente digna da minha admiração e amor.

À minha mãe querida, Solange Neyde Soares, que eu tanto amo! A senhora sempre foi o meu exemplo de que vale a pena batalhar para aprender mais. A senhora passou por problemas de saúde difíceis durante este processo, mas finalmente estou tendo a honra de vê-la ao meu lado nesta conquista. Que Deus te abençoe! (Mal sabia que ela viria a sofrer um AVC na semana seguinte, vindo a falecer 3 semanas depois). Saudades para sempre ☹.

Aos irmãos Edneide, Edna, Sirlei e Arnaldo, pelo encorajamento, compreensão e orações; sei o quanto torceram por mim e me ajudaram, para que este momento chegasse. Às famílias França, Oliveira, Bonani, Silva; estou grata a todos vocês, por encherem a minha vida de alegria e serem tão pacientes com algumas das minhas ausências nos encontros de família e conversas do dia a dia.

Aos irmãos da Igreja Casa da Bênção do Parque Novo Oratório, pelas muitas orações. Peço perdão pelos momentos em que não estive com vocês por causa dos estudos, mas hoje posso dizer que valeu a pena.

À Universidade Federal do ABC, pela oportunidade de estudo e apoio.

Às empresas que gentilmente cederam as matérias-primas para a pesquisa.

Aos mestres e técnicos de laboratório: Bárbara Alonso, Rogério Ramos e Ana Paula Pagotti, por serem os primeiros incentivadores para que eu ingressasse no mestrado e pelo apoio durante esta jornada. Ao meu chefe e Coordenador dos Laboratórios Didáticos Secos, Wanderlei Soares dos Santos, pelo apoio e compreensão durante todo o curso. Aos técnicos de Materiais: Arnaldo (meu irmão), Wilson e Marília, por permitirem que eu utilizasse o laboratório didático e pelo apoio nas atividades.

À Prof^a. Dr^a. Luiza Helena de Oliveira, pelo auxílio inicial, dicas de trabalho durante a pesquisa, além de me permitir usar o Laboratório de Processos Biológicos.

Aos Professores Doutores: Lúcia Gomes Coelho, Mércia Regina Domingues, Renata Ayres Rocha, Renata Colombo e Rodrigo de Freitas Bueno, pelas contribuições dadas durante as bancas de minha Qualificação e Defesa.

Aos colegas de pesquisa, Leonardo e Viviane, pela força em momentos muito importantes, com os seus compartilhamentos de informações, que possibilitaram que eu avançasse na minha pesquisa. O apoio de vocês foi essencial para mim!

Aos colegas do laboratório de pesquisa (L803-1), os professores Júlio, Cristina e Cássia, e os colegas Alana, Sueli, Maurício, Renan, Anna, Rute, Priscila, Jéssica, Alexandre, Rafaela, José Ricardo, Giovanni, Lucas, Letícia, Mari, Clara, Lara e, em especial, o Daniel e o Paulo, que me auxiliaram bastante com a preparação do material e os ensaios.

Ao Prof. Dr. Clóvis Lúcio da Silva, por toda a colaboração prestada no uso e definição da metodologia com o uso do HPLC.

À Prof^a. Dr^a. Elizabete de Campos Lima, pelo profissionalismo, bom caráter, parceria, prontidão e permissão de uso do HPLC. Não apenas por isso, mas também pelo carinho que sempre teve comigo não somente agora, mas desde 2007, quando nos conhecemos; alegro-me muito por tê-la como minha coorientadora.

Finalmente, com muito orgulho agradeço ao meu motivador e cuidador temporário, Prof. Dr. Derval dos Santos Rosa. Lembro-me que o senhor disse logo na nossa primeira conversa que o orientador deve ser como um pai, que sabe proteger, apoiar, elogiar, mas também dar uns doloridos puxões de orelha, quando necessário. Passamos por TODOS esses momentos algumas vezes, mas sei que tudo isso fazia parte de um moldar, para que eu aprendesse a pesquisar e me tornasse uma pessoa melhor. O senhor fez com que eu chegasse até aqui não para obter apenas um título de mestre, mas para que eu aprendesse a amar o conhecimento. O senhor é com certeza um modelo de como deve ser um orientador. Obrigada por me aceitar em sua família de jovens pesquisadores.

A todos os colegas que conquistei durante este tempo e que de alguma forma caminharam comigo e fizeram desta jornada algo possível.

Não se constrói ciência sozinho!

O MEU CARINHOSO OBRIGADA!

“Por que você me chama bom Mestre?”, respondeu Jesus. ‘Não há ninguém que seja suficientemente bom, a não ser Deus.’”

Bíblia (Lucas 18:19)

PRODUÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DURANTE O PERÍODO DO

MESTRADO

SILVA, L. C. S.; BUSTO, R. V.; CAMANI, P. H.; ZANATA, L.; COELHO, L. H. G.; BENASSI, R. F.; ROSA, D. S. **Biocomposites of starch: properties and their impacts on aquatic environments.** In: **8º International Symposium On Natural Polymers And Composites (ISNAPOL)**, São Pedro, São Paulo, Brasil, 2018.

SILVA, L. C. S.; ROSA, D. S.; SILVA, C. L.; LIMA, E.C. **New methodology to determine BTEX in soil samples by HPLC-DAD.** In: **SETAC Europe 28th Annual Meeting**, Rome, Italy, 2018.

OKAMOTO, A. B.; SILVA, E. R.; SILVA, L. C. S.; CORTÉS, M. A. S.; SANTOS, V. L.; JESUS, T. A. **Escassez hídrica em São Paulo e má gestão de recursos hídricos: avaliação do índice de qualidade das águas da região do Alto Tietê (2014 - 2015).** In: **8ª Reunião de Estudos Ambientais**, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 2018

RESUMO

O uso em grandes proporções de combustíveis derivados de petróleo na sociedade tem trazido preocupações, devido a impactos ambientais causados pelos vazamentos destes nos solos. Nesse sentido, a gasolina, que possui dentre os seus constituintes tóxicos os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (conhecidos por BTEX), tem sido um dos principais poluentes dos solos de postos de combustíveis, devido, em grande parte, a vazamento dos tanques de armazenamento. Estudos têm sido realizados envolvendo técnicas que podem contribuir para a mitigação deste impacto ambiental; uma delas é a biorremediação, em que podem ser utilizadas substâncias que irão atuar como substratos, contribuindo para o crescimento dos microrganismos degradadores de BTEX. O trabalho em questão propôs desenvolver um material compósito, que atuará como substrato, composto de polímero biodegradável, constituído de amido termoplástico, obtido da entrecasca de mandioca e de glicerina “loira”, misturados com minerais de argila (zeólita e bentonita), e que, após a sua aplicação, será utilizado como agente facilitador de biorremediação em solo contaminado com gasolina. Os aspectos visuais, morfologia e propriedades mecânicas das composições de amido termoplástico (TPS) foram avaliados. Foi verificada a degradação obtida com a adição de fungos *Aspergillus fumigatus* no solo contaminado, em um tempo de tratamento de 30 dias. Os resultados mostraram que é possível processar o amido termoplástico com a entrecasca de mandioca e glicerina “loira”. Os ensaios também mostraram a adsorção média de BTEX por parte do solo entre 23 e 30%. Os materiais compósitos contribuíram com o crescimento microbiano, com observação da redução de BTEX nos primeiros 4 dias de tratamento do solo.

Palavras-chave: bioestimulação, bioaugmentação, BTEX, polímeros biodegradáveis.

ABSTRACT

The predominant use of petroleum-derived fuels in society has raised concerns, due to environmental impacts caused by these leaks in soils. In this sense, gasoline, which contains benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (known as BTEX) among its constituents, has been one of the main pollutants of the soils of gas stations, due in large part to the leakage of fuel tanks. Studies have been carried out, involving techniques that may contribute to the mitigation of this environmental impact; one of them is bioremediation, in which substances that act as substrates can be used, contributing to the growth of BTEX degrading microorganisms. The work in question proposed the development of a composite material, which will act as a substrate, composed of biodegradable polymer, consisting of thermoplastic starch obtained from cassava peels and of “blond” glycerin, mixed with clay minerals (zeolite and bentonite), which, after its application, will be used as facilitator agent of bioremediation in soil contaminated with gasoline. Visual aspects, morphology and mechanical properties of thermoplastic starch (TPS) compositions were evaluated. The degradation obtained with the addition of *Aspergillus fumigatus* fungi in the contaminated soil was verified in a treatment time of 30 days. The results showed that it's possible to process the thermoplastic starch with the cassava peels and “blond” glycerin, which the BTEX analysis by liquid chromatography is possible and efficient. The tests also showed the average soil BTEX adsorption between 23 and 30%. The composite materials contributed to the microbial growth, observing the reduction of BTEX in the first four days of soil treatment.

Keywords: biostimulation, bioaugmentation, BTEX, biodegradable polymers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ilustração da composição de gasolina e os percentuais em massa e fórmulas estruturais do BTEX	277
Figura 2: Esquema ilustrativo mostrando como acontece a contaminação de solo e água por combustíveis.	299
Figura 3: Ilustração das áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo.	3131
Figura 4: Ilustração da distribuição das áreas contaminadas para postos de combustível.	32
Figura 5: Representação de um material compósito	399
Figura 6: Algumas aplicações do amido termoplástico.	4040
Figura 7: Estrutura de um grão de amido.	41
Figura 8: Ilustração da produção anual brasileira de mandioca no período de 2006 até 2018.	42
Figura 9: Produção anual de biodiesel no Brasil e percentual adicionado de biodiesel no diesel.	44
Figura 10: Fluxograma do processo de produção de biodiesel, que ilustra a etapa da produção de glicerina loira.	45
Figura 11: Estrutura da zeólita e da montmorilonita.	47
Figura 12: Representação da região de um polímero semicristalino, na qual é possível obter o módulo de elasticidade.	50
Figura 13: Ilustração de valores de ângulo de contato e graus de molhabilidade.	50
Figura 14: Número de publicações voltadas para o tema remediação de solos contaminados com BTEX.	53
Figura 15: Número de publicações voltadas para o tema amido termoplástico com zeólita ou bentonita.	53
Figura 16: Ilustração das diferentes etapas de preparação dos resíduos da entrecasca de mandioca.	55
Figura 17: Ilustração do processamento do amido termoplástico (TPS) e dos compósitos.	57
Figura 18: Ilustração do sistema utilizado para a avaliação da afinidade das amostras com os fungos <i>A. fumigatus</i>	59

Figura 19: Cromatograma correspondente a uma mistura de padrões de BTEX e alíquota obtida de um solo contaminado com gasolina.....	60
Figura 20: Ilustração do preparo das amostras para validação do método de cromatografia.	63
Figura 21: Fungos <i>A. fumigatus</i> na contagem de UFC (1) e crescidos após 7 dias (2).	66
Figura 22: Esquema ilustrativo da coleta de amostras de solos normal e estéril para análise no HPLC.	68
Figura 23: Representação da fração granulométrica retida em cada abertura de malha para a matéria prima Zeólita.....	72
Figura 24: Ilustração das composições de TPS após a saída do misturador planetário.	73
Figura 25: Fotomicrografias dos compósitos de TPS.....	74
Figura 26: Ilustração das curvas de tensão x deformação das amostras.....	76
Figura 27: Ilustração dos valores médios de resistência máxima de tração das amostras ensaiadas e suas respectivas estimativas de desvios padrão.	78
Figura 28: Ilustração dos valores médios de alongamento na ruptura das amostras, bem como suas respectivas estimativas de desvios padrão.....	80
Figura 29: Ilustração dos valores médios de Módulo de Elasticidade para as amostras e suas respectivas estimativas de desvios padrão.....	82
Figura 30: Valores de Ângulo de Contato e Energia de Superfície para as amostras de TPS.	83
Figura 31: Compatibilidade do fungo <i>A. fumigatus</i> nas amostras de TPS.	86
Figura 32: Cromatogramas e gráficos de linearidade dos padrões de BTEX.....	88
Figura 33: pH das amostras em solos normal e estéril.	93
Figura 34: Valores médios de BTEX das amostras no decorrer de 30 dias (solos). .	94
Figura 35: Cromatogramas - Gasolina em solução ($GAS_{(s\phi)}$) e em solo estéril ($GAS_{(est.)}$).....	96
Figura 36: Valores médios de Benzeno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.....	98
Figura 37: Valores médios de Tolueno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.....	98
Figura 38: Valores médios de Etilbenzeno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.....	98

Figura 39: Valores médios de Xileno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.	99
Figura 40: pH do solo com os compósitos de TPS.....	101
Figura 41: Teor de carbono do solo com os compósitos de TPS.	41
Figura 42: Valores médios de BTEX das amostras no decorrer de 30 dias (compósitos de TPS).....	102
Figura 43: Valores médios de Benzeno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.....	103
Figura 44: Valores médios de Tolueno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.....	103
Figura 45: Valores médios de Etilbenzeno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.....	104
Figura 46: Valores médios de Xileno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores orientadores de concentração de BTEX para solos no Estado de São Paulo, 2016.....	33
Tabela 2: Distribuição de microrganismos no solo de acordo com a profundidade.....	377
Tabela 3: Minerais de argilas e seus valores de CTC.....	48
Tabela 4: Composições dos compósitos biodegradáveis preparados.....	56
Tabela 5: Concentrações dos compostos BTEX utilizados na curva de calibração da solução.....	61
Tabela 6: Concentrações dos compostos de BTEX para a solução padrão P ₀	62
Tabela 7: Composições para avaliação da gasolina retida nos solos estéril e normal.....	68
Tabela 8: Composições dos sistemas de biorremediação dos compósitos de TPS.....	69
Tabela 9: Percentual granulométrico da matéria-prima Zeólita.....	71
Tabela 10: Valores médios e suas respectivas estimativas de desvios padrão de resistência máxima de tração, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade para as amostras.....	77
Tabela 11: Concentração (mg.L ⁻¹) de BTEX nas Replicatas 1 e 2; injeções em quintuplicata.....	899
Tabela 12: Recuperação do BTEX em solo.....	90
Tabela 13: Número de microrganismos (UFCs) presentes nos solos estéril e normal em 30 dias.....	92
Tabela 14: Porcentagem de BTEX adsorvido no solo estéril no período de 30 dias.....	96
Tabela 15: Número de microrganismos (UFCs) presentes nos solos com compósitos de TPS no decorrer de 30 dias.....	100

LISTA DE SIGLAS

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AC – Ângulo de Contato
- AFM – Atomic Force Microscope (Microscópio de Força Atômica)
- ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- AS – Air Sparging (Aspersão de Ar)
- ASTM - American Society for Testing and Materials (Sociedade Americana de Ensaios e Materiais)
- BEN – Bentonita
- BTEX – Benzeno, Etilbenzeno, Tolueno e Xileno
- CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
- CG – Cromatografia gasosa
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- CRA – Capacidade real de água no solo
- CTC – Capacidade de Troca de Cátions
- CZE - Eletroforese Capilar em Zona Livre
- FAO - Food and Agriculture Organization (Organização da Agricultura e Alimentos)
- F+G – Fungo + gasolina
- GAS - gasolina
- HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
- HPLC – High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta *Performance*)
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ISCO – In Situ Chemical Oxidation (Oxidação Química)
- LLE – Extração Líquido-líquido
- MEV – Microscópio Eletrônico de Varredura
- NBR – Norma brasileira
- PP - Polipropileno
- PRFV – Plástico Reforçado com Fibras de Vidro
- PUR – Composição Pura de Amido Termoplástico
- PTFE - Politetrafluoretileno
- SVE – Soil Vapor Extraction (Extração de Vapores no Solo)
- TPH - Total Petroleum Hydrocarbons (Hidrocarbonetos de Petróleo)

TPS – Thermoplastic Starch (Amido Termoplástico)

UFC – Unidade Formadora de Colônias

WWP – Water Vapour Permeability (Permeabilidade ao Vapor de Água)

ZEO - Zeólita

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
2.1. Gasolina e seus impactos ambientais	27
2.2. Acidentes causados por vazamento de combustíveis	33
2.3. Técnicas aplicáveis para tratamento do solo contaminado com combustível	34
2.3.1. Solo contaminado e microrganismos atuando na biorremediação	37
2.4. Materiais auxiliares na biorremediação de solos contaminados com gasolina...	39
2.4.1. Utilização de subprodutos da agroindústria como auxiliares de biorremediação.....	40
2.4.1.1. Mandioca.....	42
2.4.1.2. Glicerina “loira”	43
2.4.2. Bentonitas e zeólitas como auxiliares na biorremediação	47
2.5. A importância da realização de ensaios com o material compósito	499
2.5.1. Ensaios de tração.....	49
2.5.2. Ângulo de contato	50
2.5.3. Ensaio de granulometria.....	51
2.5.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	51
2.6. Determinação de BTEX por técnicas de separação em coluna	51
3. JUSTIFICATIVA DO TEMA	52
4. OBJETIVOS.....	54
4.1. Objetivo geral	54
4.2. Objetivos específicos	54
5. MATERIAL E MÉTODOS	54
5.1. Preparo dos compósitos biodegradáveis.....	55
5.1.1. Ensaio de granulometria.....	57
5.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	57
5.1.3. Ensaios de tração.....	58
5.1.4. Ângulo de contato	58
5.1.5. Observação da afinidade das amostras com os fungos.....	58

5.2. Desenvolvimento do método de determinação de BTEX em solo utilizando Cromatografia Líquida de Alta Performance	59
5.2.1. Padrões de calibração - linearidade	61
5.2.2. Repetitividade e reprodutibilidade.	61
5.2.3. Recuperação de BTEX do solo	62
5.3. Preparo do solo para a realização dos ensaios.....	64
5.4. Estimativa da densidade populacional de fungos (UFCs) adicionados no solo..	65
5.5. Ensaios de biorremediação de BTEX contido no solo contaminado com gasolina	66
5.5.1. Preparo do sistema de biorremediação para verificar a degradação com e sem o acréscimo dos fungos <i>A. fumigatus</i> no solo	67
5.5.2. Ensaios de biorremediação de BTEX contido no solo com a adição de <i>A. fumigatus</i> e compósitos de TPS	69
6. RESULTADOS.....	70
6.1. Caracterização das matérias primas bentonita e zeólita e compósitos de TPS .	71
6.1.1. Ensaio de granulometria.....	71
6.1.2. Aspecto das composições com TPS	72
6.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	73
6.1.4. Ensaios de tração.....	76
6.1.4.1. Resistência máxima de tração	78
6.1.4.2. Alongamento na ruptura	80
6.1.4.3. Módulo de elasticidade.....	81
6.1.5. Ângulo de contato	83
6.1.6. Observação da afinidade dos compósitos de TPS com os fungos.....	85
6.2. Validação do método de determinação do BTEX em solo utilizando Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC)	87
6.2.1. Padrões de calibração.....	87
6.2.2. Verificação da repetitividade e reprodutibilidade	89
6.2.3. Validação da recuperação de BTEX do solo	90
6.3. Avaliação preliminar para determinação das UFCs de fungos adicionados no solo.....	91
6.3.1. Crescimento de microrganismos nos solos normal e estéril.....	92

6.3.2. Valores de pH obtidos para os solos normal e estéril, em 30 dias de avaliação	93
6.3.3. Valores de BTEX encontrados nos solos normal e estéril.....	94
6.4. Avaliação da biorremediação do BTEX contido no solo com a adição de <i>A. fumigatus</i> e compósitos de TPS	99
6.4.1. Crescimento de microrganismos no solo com compósitos de TPS.....	100
6.4.2. pH e teor de carbono do solo com os compósitos de TPS.....	100
6.4.3. Valores de BTEX encontrados nos solos com compósitos de TPS	102
7. CONCLUSÃO	106
8. PROPOSTAS PARA ESTUDOS FUTUROS	107
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108
ANEXOS	121

1. INTRODUÇÃO

A construção dos postos de gasolina no Brasil se intensificou a partir da década de 1970, com a consolidação das indústrias automobilísticas no país (Noel, 2010). A norma brasileira vigente nesse período era a NB-190/1972 e previa que os tanques subterrâneos de combustíveis fossem constituídos principalmente de aço, com uma carcaça sem proteção contra corrosão, o que com o tempo acabou por culminar em alguns danos. Com a promulgação da Lei de Crime Ambiental nº 9605, em 1998, as atividades de postos de combustíveis foram identificadas como poluidoras potenciais e, posteriormente, com a edição da Resolução CONAMA nº 273, no ano 2000, foi prevista a necessidade de licenciamento ambiental para os postos de combustíveis, determinando que fosse feita uma alteração na construção dos tanques. A Norma ABNT NBR 13212/2004, que inseriu na construção dos tanques de aço carbono mais uma parede interna com resina termofixa reforçada com fibras de vidro, foi revogada pela NBR 16161/2015, que regularizou o uso do plástico reforçado com fibras de vidro.

À época que a legislação previa que as paredes dos tanques fossem simples e constituídas unicamente de aço carbono, no mundo inteiro o prazo de validade desses tanques era em torno de 5 anos, necessitando, a seguir, da realização de uma grande manutenção ou mesmo substituição. No final da década de 1990, no entanto, começaram a ser notados no Brasil os impactos ambientais causados em virtude da falta de manutenção ou substituição desses tanques, que já estavam em uso há mais de 20 anos (Sandres, 2004). Não poucas vezes foram observados durante a troca desses tanques grandes vazamentos de combustível em amplas extensões de solos contaminados, chegando por vezes a atingir lençóis freáticos.

A gasolina possui uma constituição com diversos componentes, ou seja, é uma mistura de mais de cem compostos químicos e que pode variar de um campo petrolífero para outro; por conseguinte, há uma mudança na sua composição química e propriedades físicas dependendo de região onde se encontra. É, no entanto, composta basicamente de uma mistura de hidrocarbonetos leves, normalmente contendo constituintes químicos de 4 a 12 átomos de carbono, e com índice de octano de 35 a 95 (Petrobras, 2018).

Como principais constituintes da gasolina destacam-se os compostos denominados de BTEX, que são benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, os quais

estão presentes na gasolina em um percentual, em massa, por volta de 18% (Trusek-Holownia, Noworyta, 2015). Estas substâncias são altamente tóxicas, e mesmo em pequenas concentrações podem causar doenças (Amaral *et al.* 2017). A exposição a BTEX a curto prazo pode causar anemia, dores de cabeça, distúrbios na capacidade cognitiva e de coordenação e outros distúrbios menores no sistema nervoso que podem ser agravados com o aumento do tempo de exposição. A longo prazo pode causar câncer, aberrações cromossômicas, deterioração do sistema nervoso central e insuficiências renal e hepática se ingeridos (Bustillo-Lecompte, Kakar, Mehrvar, 2018). Ao entrar em contato com o solo, além de contaminá-lo, esses constituintes poderão rapidamente atingir o lençol freático e, por consequência, as águas utilizadas para consumo humano (Balseiro-Romero, Kidd, Monterroso, 2016),

Em decorrência de um vazamento de combustível pelo solo, a população pode sofrer sérias consequências em virtude da inexistência de informações imediatas a respeito dos parâmetros da água consumida, caso possua poços em sua residência ou se alimente dos peixes de um rio que esteja potencialmente contaminado por combustíveis, e por essa razão, poderá adquirir doenças. Desta forma, todo o sistema de transporte e acondicionamento de combustível deve ser feito de modo seguro, com manutenções preventivas, de maneira a evitar possíveis acidentes e quaisquer danos para a sociedade.

Com o intuito de mitigar o impacto ambiental causado no solo em virtude do vazamento de combustíveis, têm sido aplicadas várias técnicas de tratamento, porém a maioria delas acaba não sendo viável do ponto de vista econômico, cronológico ou ambiental. Desta forma, os estudos realizados atualmente visam ao desenvolvimento de técnicas que reúnam características de baixo custo, com uso de materiais que não comprometam a condição inicial do solo durante a descontaminação e com tempo curto de ação para que a pluma de contaminação no subsolo seja contida imediatamente (de Boer, Wagelmans, 2016).

Em algumas das técnicas de remediação desenvolvidas costuma-se fazer uso de microrganismos existentes no solo (biorremediação), que trabalham em consórcio, atuando em cometabolismo (Liu *et al.*, 2011) para realizar a decomposição do poluente. Como este processo acontece de maneira muito lenta, se faz necessário acelerá-lo, fornecendo nutrientes ao solo e proporcionando condições que favoreçam o desenvolvimento e multiplicação rápida destes

microrganismos. Para favorecer o crescimento da comunidade microbiana, podem ser aplicados produtos no solo que atuam como substratos (Berticelli *et al.*, 2016). Estes materiais são ricos em nutrientes e constituem uma espécie de suporte, a partir do qual os microrganismos se alimentam, multiplicando-se.

Como forma de mitigar a contento o impacto ambiental no solo, o não descarte de quaisquer materiais contaminantes é emergencial e providencial, haja vista a grande quantidade de aterros sanitários e lixões espalhados pelo país, porém o aumento populacional e crescente demanda de produtos industrializados apontam para uma realidade que caminha em sentido oposto a isso, sendo assim, cria-se um apelo pela elaboração de materiais, equipamentos e metodologias que agridam cada vez menos o meio ambiente. Esta pesquisa aborda a criação de um novo material que tem como matriz o polímero biodegradável denominado amido termoplástico (TPS), com aplicações que permitirão, após o seu uso, ao invés de ser descartado diretamente em um aterro ou entregue a outra forma de destinação sem o devido tratamento, seja moído e descartado no solo, não lhe causando danos. Além disso, este mesmo material poderá vir a atuar como nutriente para o crescimento e multiplicação de microrganismos, que poderão agir na biorremediação de um solo contaminado com gasolina, em um período de estudo de 30 dias.

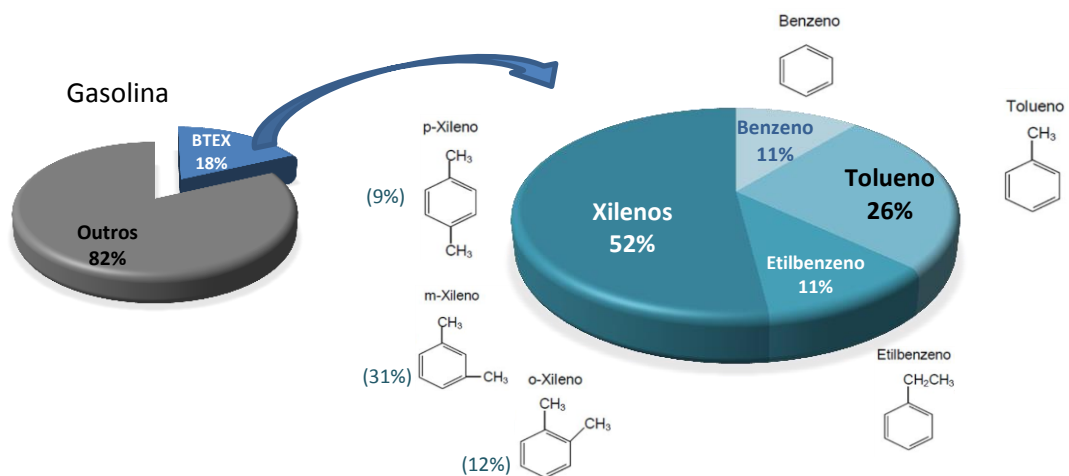
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Gasolina e seus impactos ambientais

A gasolina é um combustível derivado do petróleo, tóxica, composta por uma mistura de hidrocarbonetos aromáticos, olefínicos e saturados; é insolúvel em água e volátil em temperatura ambiente. Apresenta alto poder de penetração no solo, que pode variar dependendo da porosidade e força de capilaridade apresentadas pelo solo, da influência da força existente entre as moléculas da argila e a gasolina, além das características microscópicas e as condições ambientais às quais o solo está submetido (Zhang *et al.*, 2017).

Os compostos BTEX, que são hidrocarbonetos monoaromáticos, estão presentes na gasolina em um percentual de massa equivalente a 18%; estando distribuídos em porcentagens conforme mostrado na Figura 1.

Figura 1: Ilustração da composição de gasolina e os percentuais em massa e fórmulas estruturais do BTEX

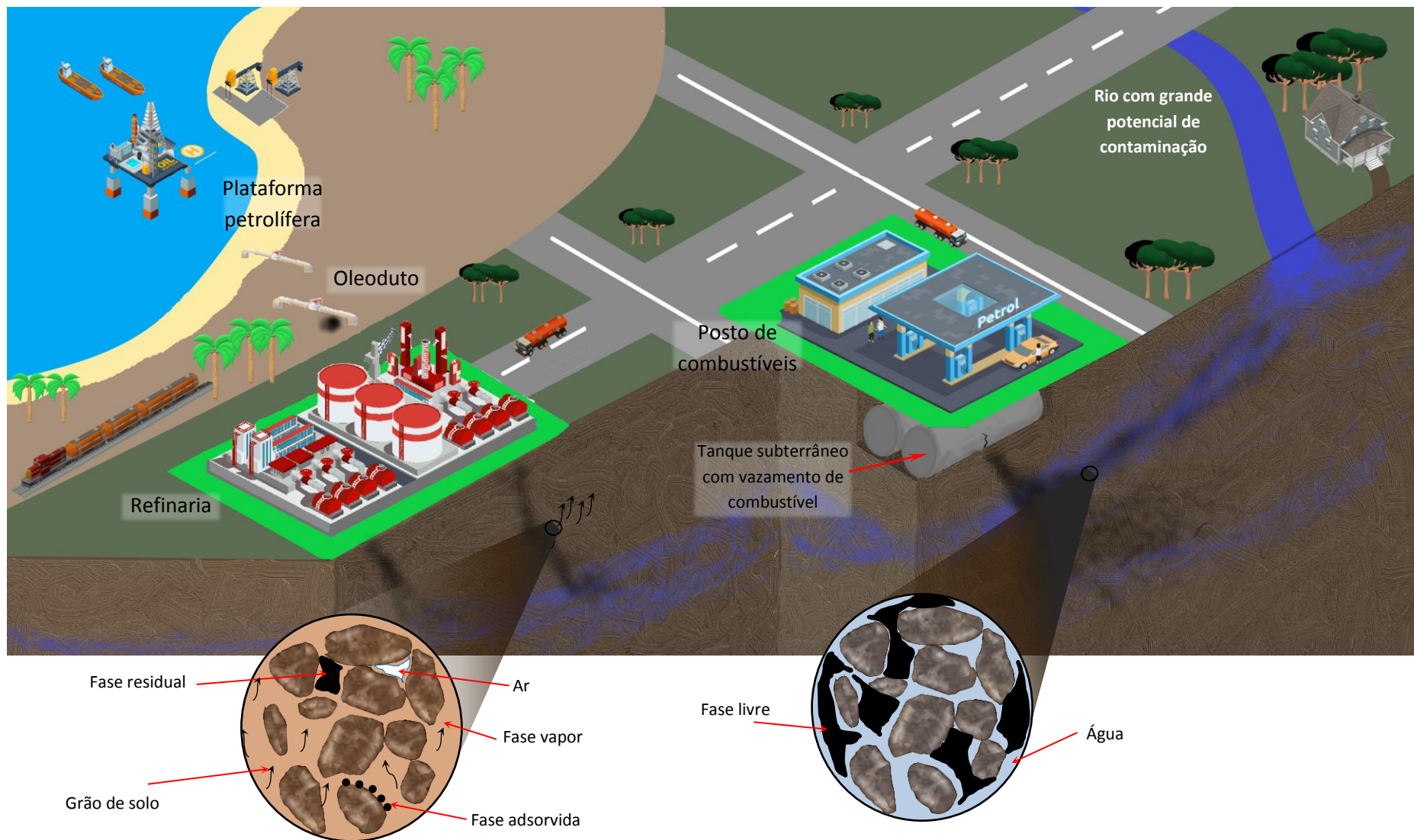


Fonte: Trusek-holownia e Noworyta, 2015 (Adaptado)

Em caso de contaminação do solo, são estes compostos, além de outros também nocivos, que poderão atingir os lençóis freáticos. A gasolina é nociva para ambientes aquáticos, pois além de seu potencial tóxico, a liberação de gasolina em grandes quantidades se distribui em forma de uma fina camada que se dispersa sobre a superfície da água, provocando o sufocamento de animais, apresentando ainda potencial de bioacumulação em organismos aquáticos (Petrobras, 2017).

Ao longo de todo o trajeto de transporte, compreendido entre a extração de petróleo das refinarias, quer seja por oleodutos aéreos ou submersos, quer seja por meio de transportes terrestres ou marítimos, até a chegada do combustível ao consumidor final, existem diversos riscos de vazamentos de combustíveis, porém é nos tanques de armazenamento dos postos que se dá o acúmulo de grandes volumes de combustíveis, que estão disponíveis para que gradualmente seja feito o abastecimento dos veículos automotores. Caso ocorra algum rompimento no tanque de combustível (Figura 2), o vazamento permeará o solo em formato de pluma de contaminação, podendo ser dispersa da seguinte forma: a) sofrendo processo de biorremediação passiva; b) estando presente no solo como fase livre e/ou residual; c) evaporando e atingindo a superfície do solo, contaminando o ar; d) migrando pelos poros do solo, ficando confinada em tubulações de esgoto, podendo causar explosões; e) seguindo em direção à zona insaturada do solo, alcançando o lençol de águas subterrâneas que abastecem os poços domésticos, centros distribuidores de água e outros corpos d'água (Lima *et al.*, 2017).

Figura 2: Esquema ilustrativo mostrando como acontece a contaminação de solo e água por combustíveis.



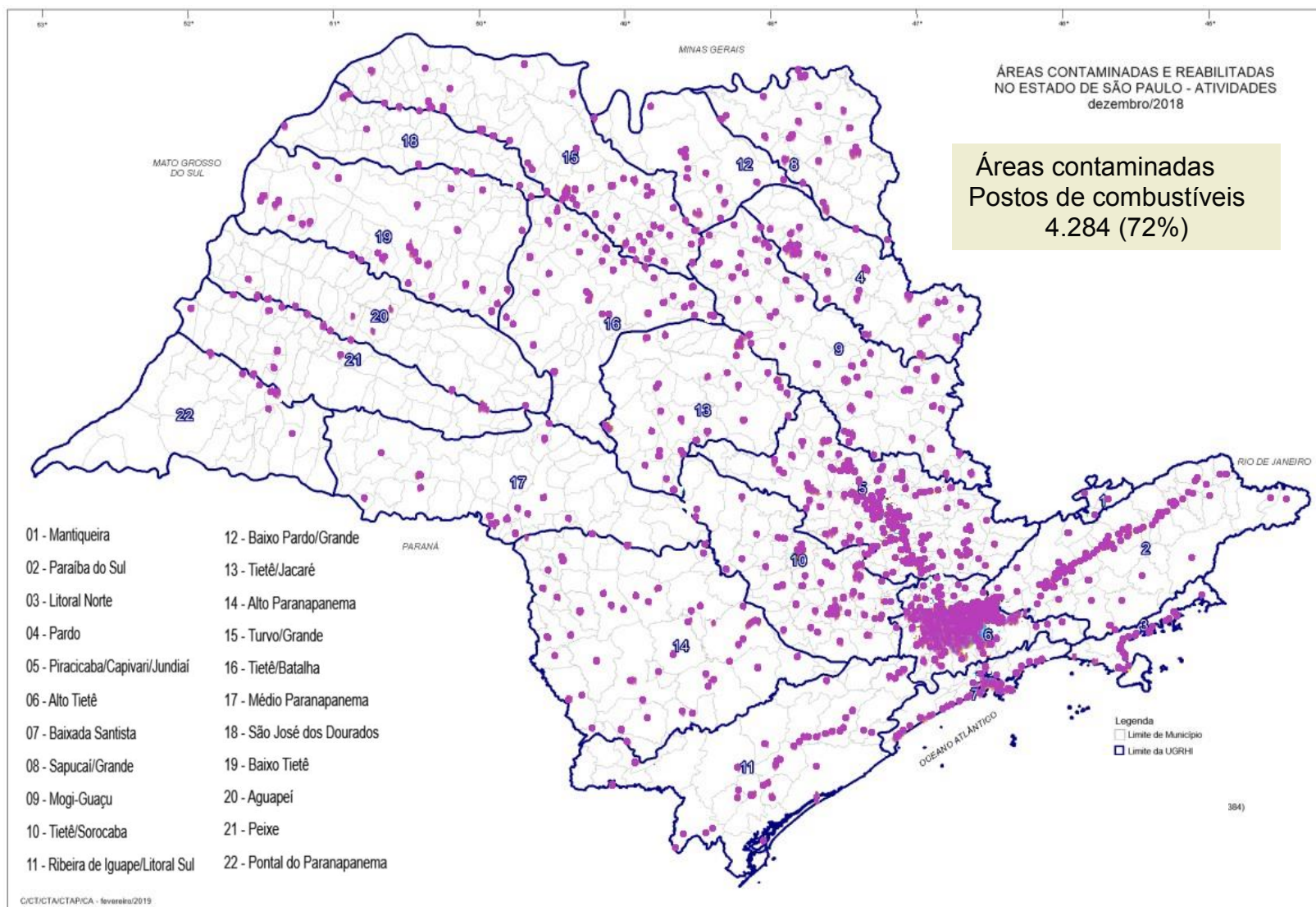
Fonte: Autora

No Brasil é admitida atualmente, para a gasolina comum tipo C, a mistura de 18 a 27% de álcool etílico em sua composição, o que a torna ainda mais perigosa, pois o BTEX se torna mais solúvel na presença de etanol, podendo atingir mais rapidamente os corpos hídricos. Experimentos realizados por Corseuil e Fernandes (1999), comparando a gasolina pura com a gasolina comercial brasileira, mostraram que a presença de 10% de etanol na fase aquosa representa um aumento de 30% na concentração total de benzeno, tolueno e xileno, concluindo que a elevação da concentração de etanol presente na gasolina pode potencializar o efeito de cossolvência de BTX na água, tornando o processo de remediação ainda mais oneroso. Por razões como esta, os cuidados para evitar o vazamento de combustíveis nos tanques devem ser cada vez mais intensificados.

Os vazamentos de combustíveis em solos têm crescido a cada ano. Esta preocupação torna-se maior, pois nem todos os tanques de combustíveis instalados desde a época de 1970 foram substituídos até os dias atuais e, para agravar esta problemática, muitos postos de combustíveis que encerraram as suas atividades continuam com seus tanques soterrados e causando grande perigo (Sandres, 2004); a corrosão dos tanques de armazenamento que foram construídos sem um rígido controle de qualidade poderá gerar muitos outros sérios problemas ambientais.

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP, 2017), o Brasil possui mais de 42 mil postos de combustíveis líquidos, sendo que quase 40% deles estão concentrados na região Sudeste. Em dezembro de 2017 a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB havia cadastrado 5.942 áreas contaminadas e reabilitadas em todo o Estado de São Paulo, conforme pode ser observado na Figura 3. Deste número, 4.284 (72%) correspondem a postos de combustíveis (CETESB, 2019).

Figura 3: Ilustração das áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo.



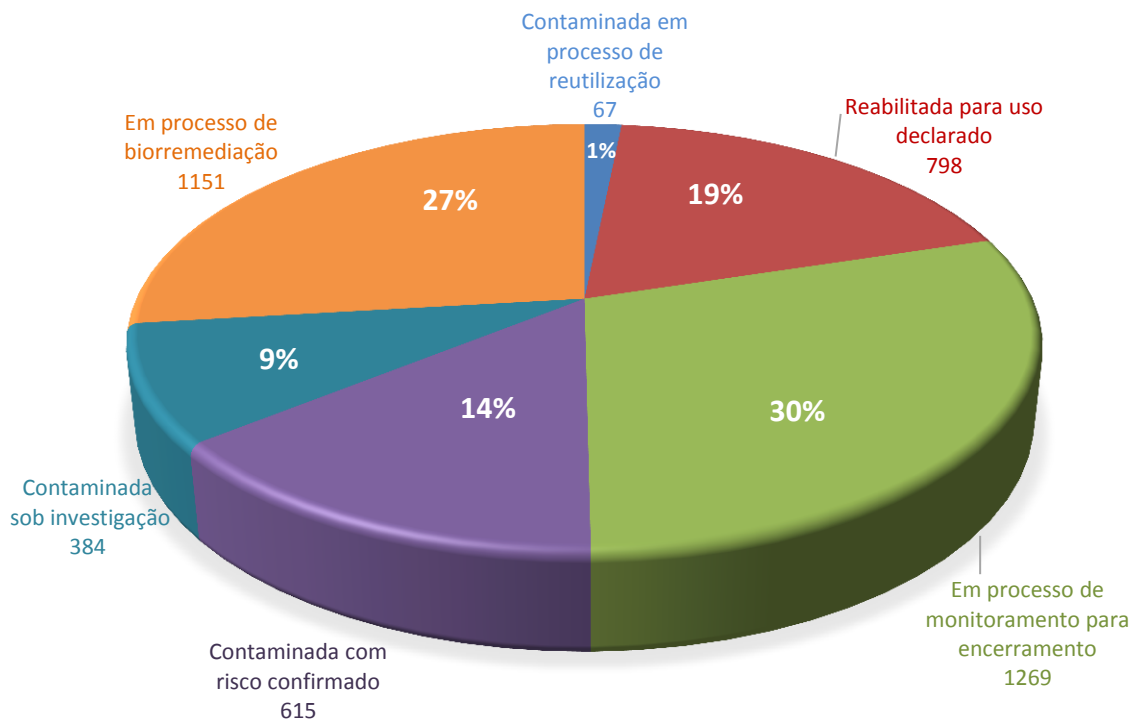
Fonte: CETESB², 2019 (Adaptado)

As áreas contaminadas são classificadas, de acordo com o Regulamento da Lei 13.577/2009, aprovado pelo Decreto 59.263 de 05/06/2013, da seguinte forma:

- a) Contaminada em processo de reutilização;
- b) Reabilitada para uso declarado;
- c) Em processo de monitoramento para encerramento;
- d) Contaminada com risco confirmado;
- e) Contaminada sob investigação; e
- f) Em processo de remediação.

Desta forma, a CETESB fez a classificação para a atividade de posto de combustível, conforme ilustração da Figura 4, para as 4.284 áreas identificadas no ano de 2017.

Figura 4: Ilustração da distribuição das áreas contaminadas para postos de combustível.



Fonte: CETESB², 2017 (Adaptado)

Em decorrência de vazamentos de combustíveis transportados por meio de oleodutos e também em postos de gasolina se faz necessário o estabelecimento de parâmetros que monitorem o nível de contaminação destes solos, a fim de que não haja maiores problemas para o meio ambiente. A Tabela 1 faz referência aos valores orientadores de BTEX, estabelecidos pela CETESB, para contaminação em solo.

Tabela 1: Valores orientadores de concentração de BTEX para solos no Estado de São Paulo, 2016.

Substância	Solo (mg.kg^{-1} peso seco)			
	Valor de Prevenção	Valor de Intervenção		
		Agrícola	Residencial	Industrial
Benzeno	0,002	0,02	0,08	0,2
Tolueno	0,9	5,6	14	80
Etilbenzeno	0,03	0,2	0,6	1,4
Xilenos	0,03	12	3,2	19

Fonte: CETESB³, 2018 (Adaptado)

2.2. Acidentes causados por vazamento de combustíveis

Em fevereiro de 1984, na cidade de Cubatão – SP, o bairro Vila Socó foi vitimado por um incêndio causado pelo vazamento de aproximadamente 700 mil litros de gasolina. Vila Socó era um bairro constituído por palafitas, com cerca de 6 mil habitantes. A provável causa do acidente foi devido a uma falha no fechamento do registro dos dutos entre a Refinaria Presidente Bernardes e um de seus terminais no porto de Santos; esses dutos passavam por debaixo das palafitas e um deles se rompeu. Rapidamente a gasolina foi derramada pelo mangue e o fogo e se espalhou por todo o bairro, levando a aproximadamente 300 óbitos (Ferreira, 2014).

Em abril de 1992 aconteceu em Guadalajara, México, um acidente decorrente de vazamento de combustível, devido ao gotejamento de água de uma tubulação instalada sobre um oleoduto. Com a corrosão da tubulação do oleoduto, a gasolina vazou pela rede de esgoto. Dois dias antes do acidente, os moradores das proximidades alertaram as autoridades a respeito de um odor muito forte de gás que estava sendo exalado pelos bueiros, mas devido à demora para que as providências fossem tomadas, bastou uma faísca para causar uma sucessão de nove explosões. Somente após as primeiras explosões foi realizada a vistoria e limpeza nas redes de esgoto e pluvial, para que as substâncias combustíveis circulassem. As explosões alcançaram um trecho de 8 km de distância e profundidades de 6 a 15 metros. O acidente deixou 300 mortos e cerca de 1500 feridos (Zona de Risco, 2009).

Em 2002, quatro famílias num condomínio em Sobradinho – DF deixaram suas residências por ter sido descoberto um vazamento de um tanque de gasolina no posto de combustíveis ao lado, que permeou o solo e alcançou a água que os moradores retiravam de um poço artesiano. Dez anos após a construção do posto de combustíveis, as famílias começaram a sentir um cheiro forte na água por eles

consumida e após a realização da análise, foi detectada contaminação por benzeno em 6 moradores, com um teor de benzeno na água 2,5 vezes maior que o limite permitido pelo órgão regulador. Estudos mostraram que o limite máximo fora atingido 16 meses antes da detecção do problema. Quatro meses após, as famílias mudaram de residência; nesta ocasião o teor de benzeno havia subido assustadoramente para 410 vezes o limite aceitável. Foram diagnosticados como efeitos de exposição ao benzeno: dores de cabeça, dores no corpo e problemas de tireoide em alguns moradores. Estudos afirmaram que a probabilidade daquelas famílias desenvolverem câncer era 22 vezes maior que famílias não expostas à água contaminada (Portal UnB, 2018).

Vazamentos em oleodutos têm ocorrido com grande frequência, não só por falhas de manutenção, mas também por causa de pessoas que destroem as paredes das tubulações de oleodutos para furtar combustíveis. Em 1998, um incêndio causado em um oleoduto da Nigéria provocou mais de 30 mortes. A causa foi atribuída a ladrões de combustíveis que atuam no país (Lessa, 2000). Caso semelhante aconteceu no Brasil, no Distrito de Mangaratiba – RJ, no ano de 2015, quando um duto da Transpetro, que conecta a refinaria de Angra dos Reis à cidade de Campos Elísios, foi violado em tentativa de furto. Foi calculado o derramamento de 600 litros de combustível, atingindo um córrego próximo; mesmo com a atuação das equipes de contingência, aproximadamente 50 litros do combustível chegaram a atingir o mar (Petrobras, 2015).

2.3. Técnicas aplicáveis para tratamento do solo contaminado com combustível

Com o propósito de promover o tratamento dos solos contaminados por combustíveis, diferentes técnicas têm sido desenvolvidas e utilizadas de acordo com o tipo de solo e grau de contaminação encontrada. Dentre as técnicas conhecidas, destacam-se:

- Extração de gás de solo (SVE): é uma técnica *in situ*, em que é bombeado vácuo na zona insaturada do solo, removendo os compostos orgânicos que estão presentes no subsolo na forma gasosa (Rao, Sultana, Kota, 2016);
- Air Sparging (AS): é uma técnica similar à SVE, em que o ar é injetado na zona de saturação do subsolo, transferindo fisicamente os contaminantes voláteis da fase aquosa para a fase volátil (Rao, Sultana, Kota, 2016);

- Lavagem do solo com processos químicos: a lavagem do solo por meio de solventes orgânicos ou ácidos, sendo que a adição de alguns compostos químicos, como os surfactantes, pode tornar a dessorção dos contaminantes mais eficiente (de Boer, Wagelmans, 2016);
- Contenção: envolve técnicas como solidificação, encapsulamento, vitrificação, enfim, processos que promovem a formação de barreiras que apenas imobilizam o resíduo, porém não alteram o seu caráter (de Boer, Wagelmans, 2016).
- Oxidação química (ISCO): Substâncias químicas são introduzidas no solo, a fim de que reajam com os contaminantes presentes, destruindo-os (Minetti *et al.*, 2017).

Grande parte desses processos, no entanto, agride o meio ambiente, pois apenas transferem o problema, à medida que o tratamento do solo gera outros resíduos que precisarão ser tratados posteriormente, além de causar o empobrecimento do solo (Zhan *et al.*, 2019).

A presente dissertação aborda o processo da biorremediação. Técnicas de biorremediação, embora apresentem um tempo de tratamento de solo mais longo, costumam apresentar baixo custo, além de serem mais ambientalmente amigáveis.

Biorremediação: é um processo de tratamento do solo e/ou água, no qual se faz uso de microrganismos, os quais irão atuar diretamente no ambiente contaminado, contribuindo para mitigar o impacto ambiental, transformando o poluente. Os microrganismos utilizados neste processo podem estar presentes no próprio ambiente ou ser incorporados, adaptando-se a ele (Dixit *et al.*, 2015).

Para tratamento do solo contaminado, as técnicas de biorremediação podem ser *in situ* ou *ex situ*. Na técnica *in situ* o solo é tratado no próprio local. O tratamento *ex situ*, por sua vez, necessita da escavação e remoção do solo contaminado, transportando-o para o local do tratamento. Dentre as técnicas, destacam-se:

Tratamentos *in situ*:

- Biorremediação passiva ou atenuação natural: é o tipo de tratamento lento, que ocorre naturalmente, sem reforços que acelerem o processo de degradação do poluente; neste caso os microrganismos nativos naquele meio são os que participam da biorremediação. (Agnello *et al.*, 2016; Guarino, Spada, Sciarrillo, 2017).
- Bioaumento ou bioaugmentação: é acrescentado ao solo contaminado maior número de microrganismos. A elevação da população microbiana no solo tem como

objetivo efetuar com maior rapidez a degradação do contaminante (Yuan *et al.*, 2018).

- Bioestímulo ou bioestimulação: o crescimento da população microbiana é acelerado fornecendo-se condições favoráveis a esse acontecimento, tais como aumento na disponibilidade de nutrientes, ajustes de pH, umidade, aeração e controle da temperatura do solo (Jiang *et al.*, 2016). A bioventilação: é uma técnica de bioestímulo, na qual é injetado oxigênio no solo, a fim de estimular o aumento da população de microrganismos aeróbios lá presentes (Reginatto *et al.*, 2012).

- Fitorremediação: corresponde a uma técnica de tratamento do solo que faz uso de plantas apropriadas e microrganismos a elas associados para promover a remoção de compostos orgânicos e metais do solo (Rajtor, Piotrowska-Seget, 2016);

- Landfarming: é uma tecnologia de biorremediação que consiste na mistura dos resíduos com a camada fértil do solo, com o intuito de promover as condições para que os próprios microrganismos presentes no solo promovam a degradação do poluente (Silva-Castro *et al.*, 2015). A biodegradação e/ou biotransformação acontece geralmente nos primeiros 20 cm de profundidade no solo. É possível fazer a adição e mistura de nutrientes e umidade, no intuito de favorecer o bioestímulo (Guarino, Spada, Sciarrillo, 2017).

Tratamentos *ex situ*:

- Biopilhas: O solo é retirado e misturado com aditivos orgânicos, como cavacos de madeira, restos animais e vegetais, para aumentar a porosidade do solo e facilitar a ação dos microrganismos. O solo é então disposto em biopilhas, onde acontecerá a metabolização dos constituintes do petróleo. A oxigenação destas pilhas pode acontecer por meio do revolvimento periódico do solo, recebendo o nome de compostagem, ou então de maneira estática, por aeração a vácuo ou convecção forçada (Baldan *et al.*, 2015).

- Processos de digestão anaeróbia: correspondem a processos de biorremediação que acontecem em ambientes sem oxigênio dissolvido, no qual se utiliza consórcios de bactérias, que irão fazer a digestão anaeróbica por meio de várias transformações bioquímicas (Mohee, Mudhoo, 2012). Estes processos podem ser feitos em conjunto com outros processos, com a participação, inclusive, de microrganismos aeróbios (Cassidy *et al.*, 2015; Yoshikawa, Zhang, Toyota, 2017).

2.3.1. Solo contaminado e microrganismos atuando na biorremediação

O solo por si só é capaz de atenuar naturalmente os efeitos de sua contaminação por combustíveis, pois em sua constituição já apresenta alguns microrganismos e nutrientes que atuam no processo de biorremediação, no entanto, este tratamento é muito lento, como citado anteriormente. Este tratamento natural poderia não impedir o alcance da porção de água subterrânea, caso a contaminação do solo fosse de grande proporção. Desta forma, faz-se necessário, em muitos casos, que este processo seja acelerado (Brown *et al.*, 2017).

O solo, que é rico em minerais, apresenta uma composição vasta, repleta de microrganismos que realizam a degradação de compostos tóxicos. Fungos e bactérias são capazes de degradar os hidrocarbonetos, porém essa variedade pode ser reduzida com a presença de hidrocarbonetos de petróleo no solo, devido à competição entre os microrganismos que farão a degradação do poluente, ou mesmo pela destruição de alguns microrganismos menos resistentes à ação dos componentes da gasolina, além de alguns fatores limitantes, tais como pH, temperatura, salinidade, umidade e disponibilidade de nutrientes no solo (Brown *et al.*, 2017). A Tabela 2 indica a proporção de bactérias, actinomicetos e fungos presentes no solo até 145 cm de profundidade.

Tabela 2: Distribuição de microrganismos no solo de acordo com a profundidade.

Profundidade (cm)	Microrganismos / 1000 g de solo				
	Bactérias Aeróbias	Bactérias Anaeróbias	Actinomicetos	Fungos	Algas (incluindo cianobactérias)
3 a 8	7800	1950	2080	119	25
20 a 25	1800	379	245	50	5
25 a 40	472	98	49	14	0,5
65 a 75	10	1	5	6	0,1
135 a 145	1	0,4	-	3	-

Fonte: Moreira & Siqueira, 2006 (Adaptado)

Dentre os fungos estudados, merecem destaque espécies do gênero *Aspergillus*, cuja eficácia tem sido comprovada na remoção de produtos de refinaria de petróleo, tais como a gasolina. Dentre eles, o *Aspergillus fumigatus* se mostrou eficiente na degradação do octano (Dhar, Dutta, Anwar, 2012) e na metabolização do fenol (Gerginova *et al.*, 2013; Sivasubramanian, Namasivayam, 2015).

Ye *et al.* (2011) isolaram, de uma amostra de solo contaminado nas proximidades de um posto de gasolina, uma cepa degradadora de antraceno e que continha o *A. fumigatus*. Foi preparado um meio de cultura contendo sais e inoculado o *A. fumigatus*; também foram adicionadas algumas substâncias, dentre elas o benzeno e o tolueno, as quais funcionaram como substratos. Foi observada uma alta eficiência na biodegradação do antraceno com o pH entre 5,0 e 7,5 e temperatura de 30°C. Também foi observada a capacidade do *A. fumigatus* utilizar alguns hidrocarbonetos aromáticos como benzeno, tolueno e fenol, como fontes de carbono e energia, mostrando, desta forma, a ocorrência da biodegradação desses compostos.

Em um estudo realizado com solo altamente contaminado com HPA (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), em uma coqueria em Pequim, foram feitos testes utilizando três tipos de abordagens: a) bioaumento, b) bioestímulo e c) junção das duas técnicas, ou seja, bioaumento + bioestímulo. Como resultado, verificou-se que na amostra controle, a redução de HPA foi de 23,4%, ao passo que com a bioaugmentação houve redução em 26,82% e 33,9% no bioestímulo. A junção das duas técnicas apresentou redução em 43,9%, mostrando que a eficiência de degradação do HPA é maior unindo as duas técnicas do que de modo separado (Sun *et al.*, 2012).

A utilização de dois processos de degradação de poluente também foi estudada por Guarino *et al.* (2017), em que foi feita a coleta de amostras de solo contaminado de uma refinaria desativada, avaliando experimentalmente a degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo sob as técnicas de: a) atenuação natural, b) *landfarming* e c) *landfarming* + bioaumento. Após 90 dias, para as amostras mais poluídas, foram obtidas as reduções de hidrocarbonetos totais de petróleo em 86% para *landfarming* + bioaumento, 70% para *landfarming* e 57% para atenuação natural.

Cascas de coco, que são utilizadas em processos de compostagem, foram consideradas em uma pesquisa realizada por Stähelin *et al.* (2018), almejando a remoção de benzeno e tolueno. Foi utilizado carvão ativado à base de casca de coco, dado o seu comportamento adsorvente. À temperatura ambiente, foram observadas remoções de 1,1 mmol.g⁻¹ de benzeno e 1,8 mmol.g⁻¹ de tolueno. Ao ser alcançado o equilíbrio cinético de adsorção, em até 60 minutos, os melhores resultados em termos de remoção de benzeno e tolueno foram de 2,05 mmol.g⁻¹

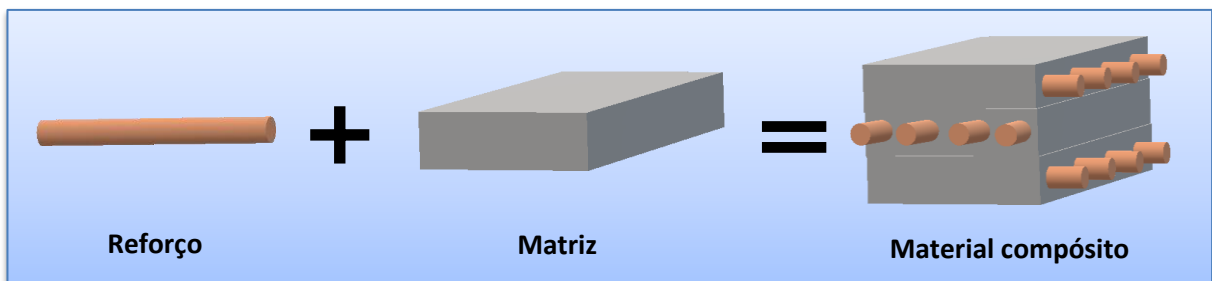
para o benzeno e $2,04 \text{ mmol.g}^{-1}$ para o tolueno, mostrando eficiência no processo com a introdução da casca de coco.

2.4. Materiais auxiliares na biorremediação de solos contaminados com gasolina

As pesquisas anteriormente citadas corroboram a importância da união de técnicas de biorremediação, acrescentando elementos que poderão melhorar o desempenho deste processo. Com esta finalidade, este estudo faz uso de materiais compósitos constituídos pelo polímero biodegradável amido termoplástico e minerais de argila (bentonita e zeólita), atuando na biorremediação de solos contaminados com gasolina.

O termo compósito (Figura 5) pode ser entendido como sendo uma substância formada por dois ou mais materiais, obtendo-se propriedades que não seriam obtidas nestes materiais isoladamente, apresentando, portanto, uma melhoria em sua *performance* (Fleischer *et al.*, 2018). Podem ser interpretados também como compostos ou conjugados.

Figura 5: Representação de um material compósito



Fonte: Kumar, Lohchab, 2016 (Adaptado)

Os materiais compósitos, atualmente, possuem uma ampla gama de aplicações, se destacando nas indústrias de construção civil, químicas, têxteis, de componentes eletrônicos, porém são as indústrias automobilísticas que fazem grande parte do uso destes materiais (Fleischer *et al.*, 2018). Neste estudo, o amido termoplástico atua como matriz que fornecerá carbono para o crescimento dos microrganismos; no entanto, polímeros biodegradáveis, de uma forma geral, possuem baixa resistência mecânica. Neste estudo, o reforço com os minerais de argila, além de proporcionar maior resistência mecânica ao material, deve auxiliar no processo de adsorção do poluente e assim tornar a biorremediação mais efetiva, devido à ação de seus materiais adsorventes.

2.4.1. Utilização de subprodutos da agroindústria como auxiliares de biorremediação

Com o crescente incentivo ao agronegócio no Brasil, tem se intensificado o descarte de rejeitos oriundos da agroindústria; estes geralmente possuem elevada perecibilidade, necessitando, portanto, de uma rápida destinação (Carvalho, Pisano, 2017). Pensando no ganho ambiental obtido da utilização de resíduos na elaboração deste projeto, optou-se pelo aproveitamento de resíduos das indústrias de biodiesel e das fecularias para o processamento de um amido termoplástico (TPS).

O TPS é um polímero biodegradável, ou em uma forma mais rústica de expressão, um plástico de amido com rápida degradação no ambiente; logo, os microrganismos presentes no solo serão responsáveis por sua degradação. O amido apresenta, ainda, alta permeabilidade ao vapor de água (Liu *et al.*, 2016), uma característica que contribui para a fixação de microrganismos que irão atuar na biorremediação do solo contaminado. Atualmente possuem aplicação mais voltada para o setor de embalagens e descartáveis. Conforme pode ser notado na Figura 6, o amido termoplástico tem sido bastante utilizado em produtos descartáveis, como embalagens para alimentos, sacolas, copos e até talheres, pois a permeabilidade em água e a baixa resistência que este material possui restringem a sua aplicação, porém o seu uso do ponto de vista ambiental é bastante atrativo.

Figura 6: Algumas aplicações do amido termoplástico.



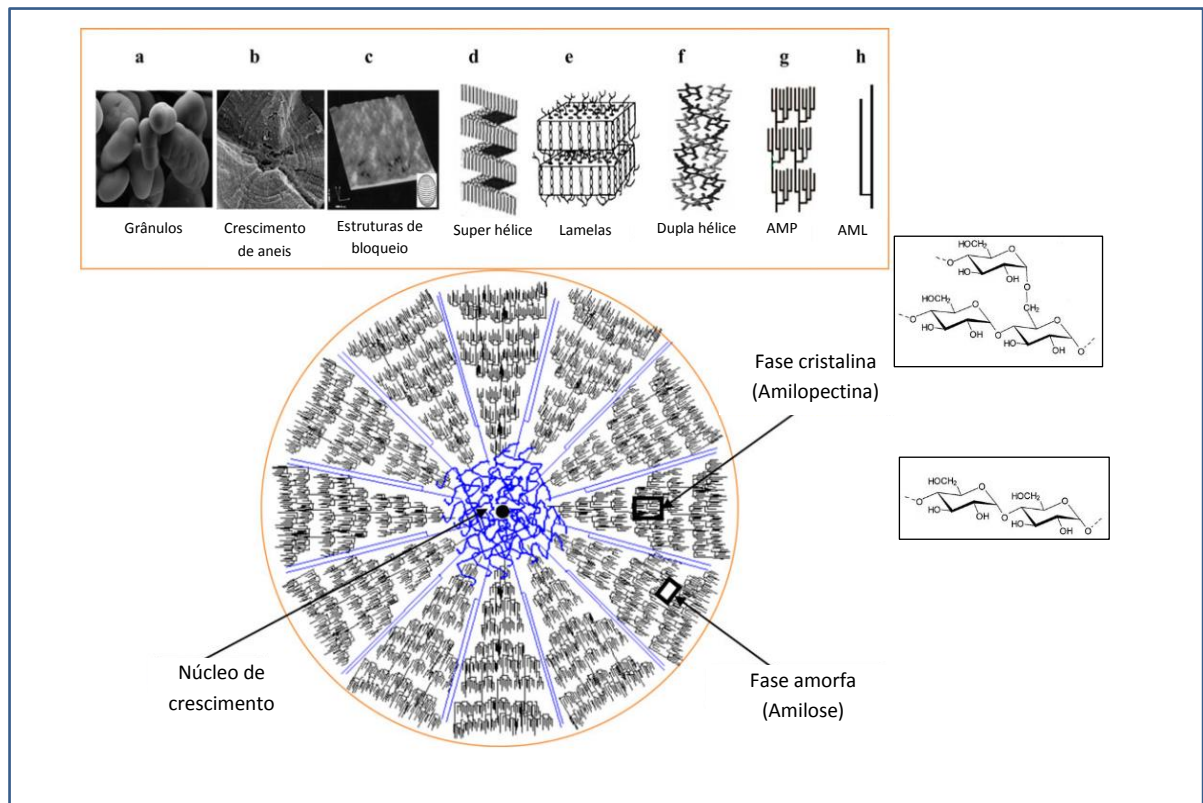
Fonte: Avani Eco, 2019 (Adaptado)

O amido é um polissacarídeo constituído de cadeias de amilose (cadeia linear de glicose) e amilopectina (cadeia ramificada de glicose), cuja proporção variar,

dependendo da fonte. No amido obtido da mandioca, o teor de amilose é de 17% e o de amilopectina, 83% (Food Ingredients Brasil, 2015).

As moléculas de amilose e amilopectina estão distribuídas na estrutura do grão de amido, de maneira que sejam observadas as fases cristalina e amorfa ao longo de todo o grão. Como ilustração, na Figura 7 é possível observar como ocorre o crescimento do grão de amido de ervilha. Na parte superior da figura são mostrados: (a) grânulos de amido vistos no MEV; (b) crescimento de anéis em um grão quebrado de amido, vistos no MEV; (c) estrutura de bloqueio reveladas por Microscópio de Força Atômica (AFM); (d) até (f) representam, respectivamente, as estruturas de super hélice, lamelar, helicoidais duplas em que se dá o crescimento do grânulo de amido; moléculas de (g) amilopectina e (h) amilose. O grânulo de amido é esquematizado a seguir, indicando a presença de fases cristalinas e amorfas.

Figura 7: Estrutura de um grão de amido.



Fonte: Wang *et al.*, 2015 (Adaptado)

O TPS é processado sob a ação de pressão e temperatura, que varia de 90 a 180 °C. Como o amido possui uma estrutura granular e semicristalina, apresentando

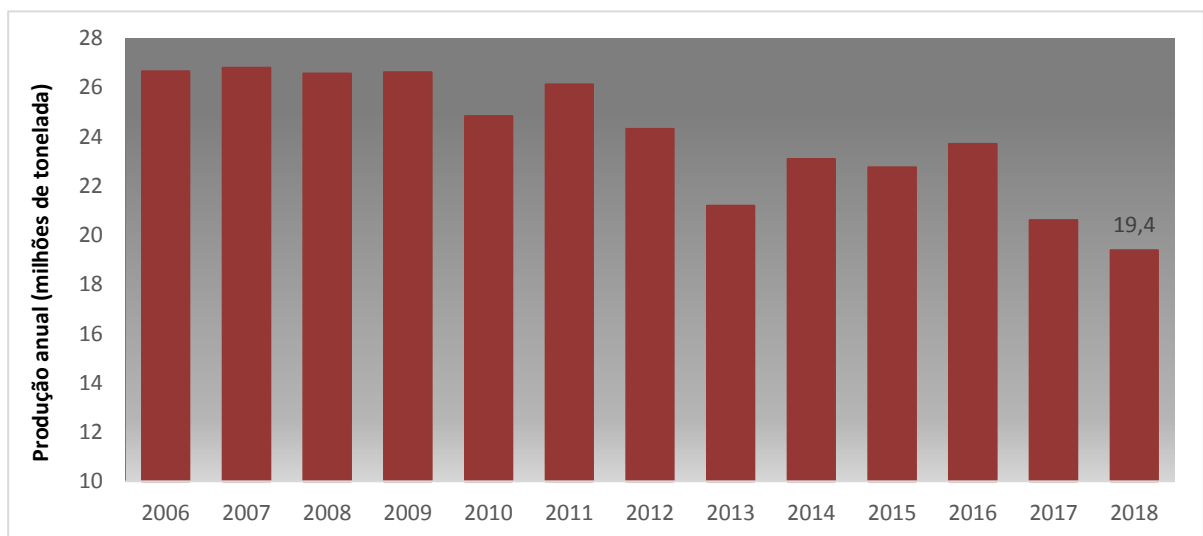
temperatura de fusão acima de sua temperatura de degradação, para torná-lo moldável e flexível sem que ele degrade, são adicionados plastificantes (geralmente água ou glicerol), os quais contribuem para baixar o seu ponto de fusão (formação de ponto eutético). Sob a ação da pressão e temperatura e na presença do plastificante, os grãos de amido se rompem, liberando moléculas de amilopectina (que confere a cristalinidade ao amido) e amilose. Neste ponto o amido é fundido, dando origem ao amido termoplástico (Corradini *et al.*, 2007).

Para a composição do TPS no presente estudo, optou-se pela utilização de subprodutos da indústria agropecuária. Como fonte de amido foi escolhida a entrecasca de mandioca. Como fonte de glicerol e plastificante, foi escolhida a glicerina “loira”.

2.4.1.1. Mandioca

Segundo a FAO - Food and Agriculture Organization (2017), o Brasil é atualmente o terceiro maior produtor mundial de mandioca, com uma produção anual por volta de 20 milhões de toneladas. O País está apenas abaixo da Nigéria, com uma produção acima de 57 milhões de toneladas, e da Tailândia, com uma produção anual acima de 31 milhões de toneladas de mandioca. A Figura 8 mostra um levantamento realizado pelo IBGE (2019), referente à produção anual de mandioca cultivada no Brasil, desde 2006 até 2018.

Figura 8: Ilustração da produção anual brasileira de mandioca no período de 2006 até 2018.



Fonte: IBGE, 2019 (Adaptado)

Aproximadamente 18% da produção de mandioca se refere a cascas (2 a 5%) e entrecasca (13%). Além desses, não de ser considerados os subprodutos como a crueira, que é um resíduo constituído dos restos das raízes e entrecasca, e também a varredura, que corresponde à farinha de mandioca que cai pelo chão da fábrica ao longo do dia de trabalho (Cereda, 2000; Cereda, 2003). Estes subprodutos geralmente são inutilizados pelas feculares, tendo como destino o descarte ou aproveitados como complemento alimentar na forma de farelos para consumo animal.

A casca de mandioca foi o resíduo agroindustrial utilizado neste estudo, atuando como biossorvente. Sua eficácia tem sido comprovada na remoção de metais pesados tóxicos e pesticidas contidos na água e no solo (Kosasih *et al.*, 2010; Simate, Ndlovu, 2015). Pouco tem sido relatado a respeito da atuação da casca de mandioca como auxiliar em biorremediação, porém é conhecida a eficácia do amido, seu principal constituinte.

De acordo com Cereda (2000), enquanto a raiz de mandioca desidratada fornece aproximadamente 85% de amido, a entrecasca da mandioca desidratada fornece um teor significativo de amido, em torno de 58%, o que torna o seu uso interessante como agente formador do amido termoplástico.

2.4.1.2. Glicerina “loira”

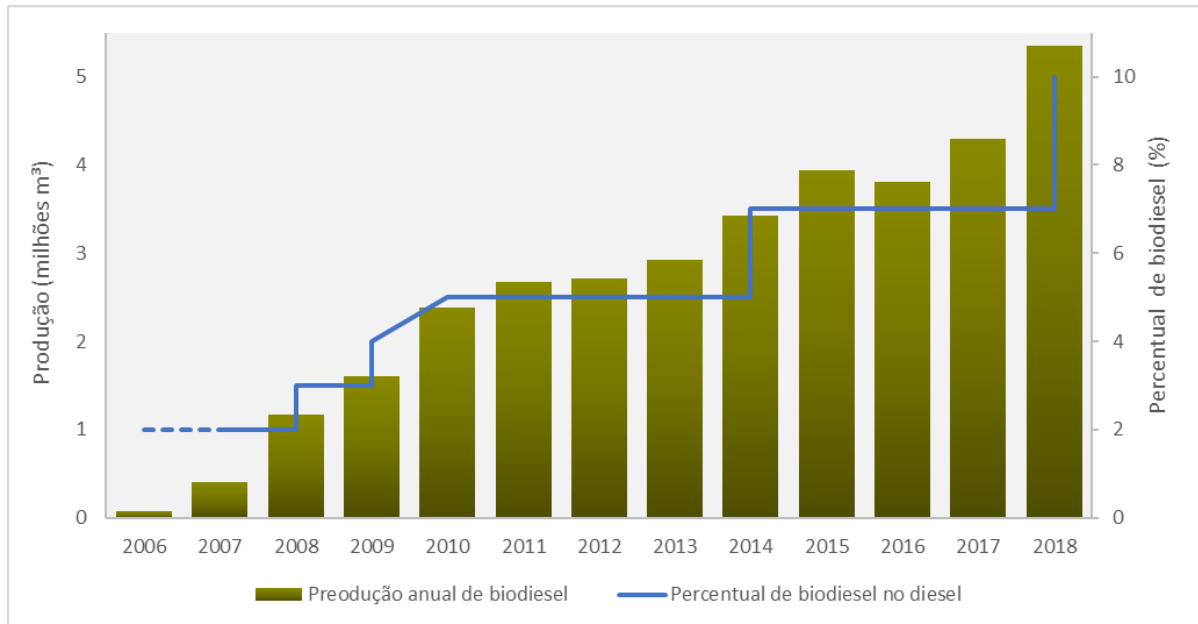
A fonte de glicerol utilizado neste estudo é um resíduo agroindustrial derivado do processamento do biodiesel, sendo conhecida como glicerina “loira”, que leva este nome por apresentar coloração marrom a amarelada. No Brasil, aproximadamente 75% do biodiesel é proveniente da soja e 20% do sebo bovino. Existem usinas produtoras deste combustível em todas as regiões do Brasil, sendo as regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul as maiores produtoras do país.

A Lei 11.097/2005¹ introduziu o uso do biodiesel na matriz energética, monitorando ao longo dos anos os percentuais mínimos de adição deste combustível ao diesel mineral. De acordo com a Figura 9, é notado no decorrer dos anos uma elevação tanto na produção de biodiesel no Brasil como na proporção de biodiesel acrescentado no diesel comum. Na figura em questão existe um trecho

¹ Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nos 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm

compreendido entre janeiro de 2006 e dezembro de 2007, em que o uso de biodiesel era opcional e, a partir de então, o uso passou a ser obrigatório.

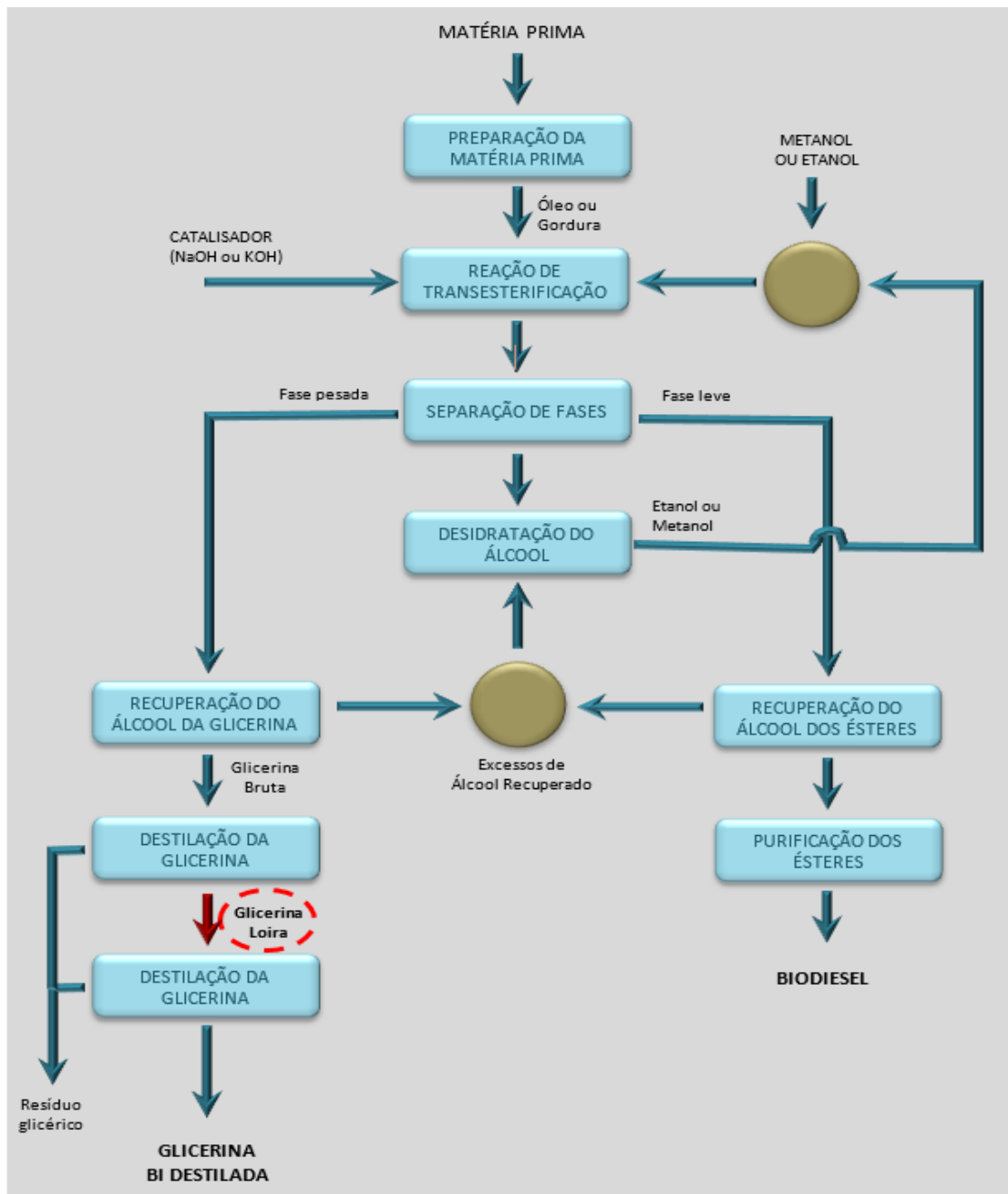
Figura 9: Produção anual de biodiesel no Brasil e percentual adicionado de biodiesel no diesel.



Fonte: ANP - Agência Nacional de Petróleo e Biocombustíveis, 2019 (Adaptado)

Um esquema de produção do biodiesel está ilustrado na Figura 10. Na produção de biodiesel são gerados aproximadamente 10% (em massa) do coproduto glicerina bruta, que, por apresentar impurezas como água, metanol e material orgânico, apresenta valor pouco atraente economicamente. A glicerina bruta apresenta, geralmente, um teor de pureza abaixo dos 30%, a glicerina “loira” possui uma pureza em torno de 80%, enquanto a glicerina bidestilada ou de grau farmacêutico apresenta pureza por volta de 99,5% (Biodiesel, 2010). Quanto maior o teor de pureza da glicerina, maior torna-se o ônus para realizar a purificação e, portanto, têm sido buscadas alternativas visando promover o uso sustentável da glicerina “loira” e principalmente da glicerina bruta, evitando que fiquem estocadas nas instalações das usinas produtoras de biodiesel. Algumas das soluções apresentadas, todavia, apenas transformam este resíduo em outro tipo de contaminante, transferindo o problema, ao invés de resolvê-lo.

Figura 10: Fluxograma do processo de produção de biodiesel, que ilustra a etapa da produção de glicerina loira.



Fonte: Parente, 2003 (Adaptado)

Jun *et al.* (2017) utilizaram o resíduo da glicerina do biodiesel como matéria prima na produção de bioetanol. Para isso, foi imobilizado com alginato de sódio o microrganismo *Enterobacter aerogenes* ATCC 29007, um excelente produtor de metanol. Foi também utilizado um tanque reator com agitação contínua, onde foi adicionado um meio de cultura composto por 12 g.L^{-1} de resíduos de glicerol,

6,5 g.L⁻¹ de peptona, 3,8 g.L⁻¹ de sulfato de amônio e 2,1 g.L⁻¹ de citrato desidratado. Durante a biofermentação do etanol, foram controladas a velocidade de rotação, temperatura e pH no reator, com coleta de amostras a cada 24 horas. Para avaliar as concentrações de etanol e glicerina foi utilizado o cromatógrafo líquido. Utilizando glicerina pura, nas melhores condições foram produzidos 5,38 g/L de etanol e 0,96 mol de etanol / mol de glicerol, porém com o resíduo da glicerina a produção foi de 5,29 g/L de etanol e 0,91 mol de etanol / mol de glicerol, indicando, então, que esta é uma alternativa eficiente de obtenção de bioetanol.

Nartker *et al.* (2014) propuseram uma aplicação como fonte de energia para a glicerina do biodiesel. Com o intuito de elevar a produção de gás e do teor de metano no biogás, a glicerina foi utilizada como um cossubstrato no interior de um digestor anaeróbio com lodo de esgoto primário, com agitação contínua, em porcentagens que variaram de 0 a 60% da carga orgânica. Com uma taxa de carregamento de 25 a 60% de glicerol foram obtidos os melhores resultados, porque nesta faixa foi obtida uma produção de gás que variou de 82 a 280% em relação à produção do biodigestor sem a glicerina. Com a obtenção destes resultados, os autores recomendaram a glicerina de biodiesel como matéria-prima para otimizar a produção de biogás e conseqüentemente elevar o fornecimento de energia.

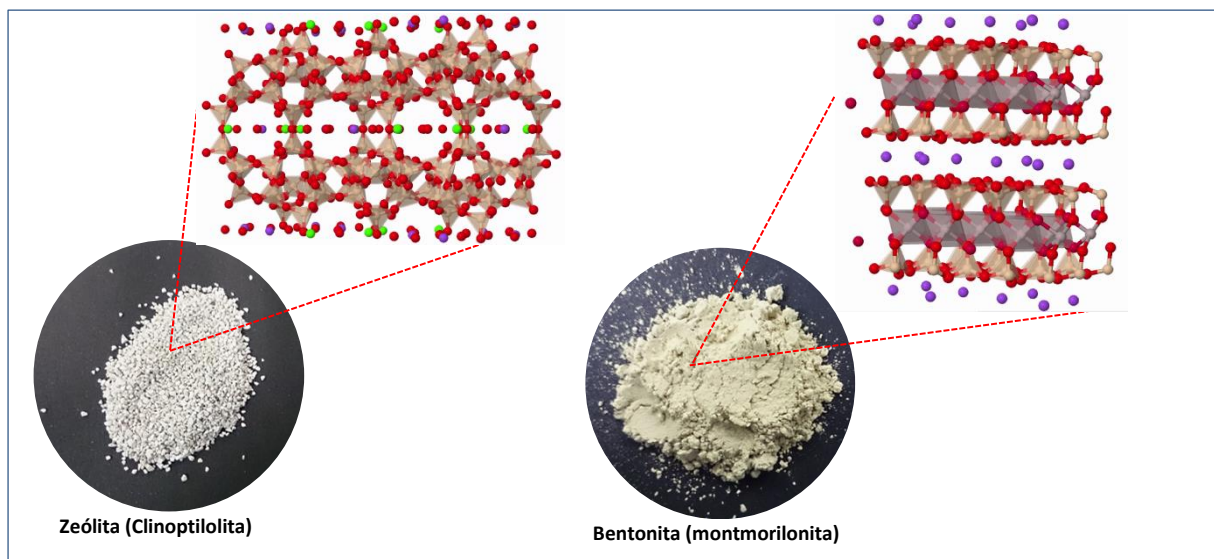
Sabendo que o glicerol possui um conteúdo energético interessante como gerador de calor, Bartocci *et al.* (2018) estudaram o aproveitamento da glicerina do biodiesel como uma forma de utilizar esta energia no próprio processo de transesterificação do biodiesel. Para facilitar a alimentação do forno reator rotativo, a glicerina foi misturada a pó de serragem de madeira e peletizada, a fim de ser utilizada como combustível sólido. Os ensaios foram feitos com composições de 20 e 40% em peso de glicerina para 80 e 60% de serragem moída e uma composição de 100% de pó de serragem e outra contendo 100% de glicerina (estas duas últimas apenas como comparativo), obtendo-se para as amostras contendo pó de serragem os pellets de 6 mm de diâmetro. Para a peletização, foi observado que quanto menor a porcentagem de glicerina, maior a durabilidade, sendo assim, a variação de 20% de glicerina obteve melhor desempenho energético e durabilidade em relação à composição de 40%. À medida que se aumentou o teor de glicerina, elevou-se a produção de gás nas amostras testadas, porém as composições de 20 e 40% apresentaram valores iguais para valor máximo de aquecimento do gás obtido pela combustão do pellet, cerca de 14 MJ.kg⁻¹.

2.4.2. Bentonitas e zeólitas como auxiliares na biorremediação

Argilas são conjuntos de minerais abundantes na crosta terrestre, conhecidas por apresentarem granulometria extremamente fina. São constituídas basicamente de argilominerais (silicatos de alumínio hidratados) como caulinita, montmorilonita (bentonita), illita e, geralmente apresenta outros minerais a ela associados, como quartzo, mica, zeólitas, além de impurezas como a matéria orgânica. Bentonitas são argilominerais e zeólitas minerais de argila; ambas são conhecidas por apresentar elevada capacidade de troca de cátions (CTC), que é uma propriedade importante para auxiliar na degradação de poluentes.

A CTC se refere à condição que os argilominerais possuem de manter certos íons aderidos à sua superfície, entre as camadas e canais de suas unidades estruturais, com a possibilidade de permutação com outros cátions e ânions geralmente em meio aquoso, sem que haja modificação na sua estrutura cristalina (Santos, 1989). Na Figura 11 é ilustrada a ligação dos aluminossilicatos presentes em bentonitas e zeólitas, que lhes fornecem um arranjo estrutural de forma a favorecer a troca catiônica.

Figura 11: Estrutura da zeólita e da montmorilonita.



Fonte: Ubowska, 2010; Noroozi *et al.*, 2018 (Adaptados)

Esta troca acontece ao redor dos tetraedros de silício na estrutura dos argilominerais, porém sem causar alterações no empacotamento estrutural dos mesmos. Bentonitas são argilominerais e possuem, portanto, esta propriedade. Nos

argilominerais, os cátions trocados geralmente são Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , H_3O^+ (Santos, 1989). A Tabela 3 apresenta os valores de CTC para alguns minerais encontrados nas argilas, medidos com $\text{pH}=7$.

Tabela 3: Minerais de argilas e seus valores de CTC.

Minerais de argilas	CTC (Mili-equivalentes / grama)
Caulinita	3 a 15
Haloisita di-hidratada	5 a 10
Haloisita tetra-hidratada	10 a 40
Montmorilonita (bentonita)	80 a 150
Ilita	10 a 40
Vermiculita	100 a 150
Clorita	10 a 40
Zeólita	100 a 300

Fonte: Santos (1989)

As montmorilonitas possuem espaços entre as suas lamelas (camadas). As zeólitas, embora não estejam organizadas em lamelas, possuem uma estrutura com bastantes espaços vazios, passíveis de trocas de cátions. Tanto nas zeólitas como nas montmorilonitas, estes espaços vazios lhes conferem um caráter hidrofílico, que possui grande importância, no sentido de contribuir com o crescimento e a manutenção da microbiota.

A matéria orgânica, que está presente no solo e também nas argilas em geral, promove uma elevação da CTC, proporcionando aos solos argilosos uma maior capacidade de retenção de água em relação aos solos mais arenosos. Estas são características importantes no sentido de favorecer a retenção de nutrientes que auxiliarão no crescimento das plantas e também na elevação e diversificação da população microbiana (Liddicoat *et al.*, 2018). Os argilominerais também realizam, em grau inferior, troca aniônica, possuindo como principais ânions SO_4^{-2} , PO_4^{-3} , SiO_4^{-4} e NO_3^- . Esta troca ocorre, na maior parte das vezes, em casos de substituição dos íons OH^- e fixação de fosfatos, o que é interessante para a fertilidade dos solos (Santos, 1989).

Alguns argilominerais e minerais comumente presentes na argila são utilizados como agentes que elevam o poder de remoção dos compostos da

gasolina, porque estes materiais podem ser adicionados no solo, contribuindo para a elevação da adsorção de água na superfície e na unidade estrutural dos grãos, em alguns casos diminuindo a viscosidade do solo contaminado (facilitando a extração do solo contaminado por meio do bombeamento do mesmo) ou estimulando o crescimento dos microrganismos, favorecendo a sua atuação na degradação da gasolina (Misaelides, 2011; Ugochukwu, Manning, Fialips, 2014; Duman, Tunç, Polat, 2015). Muitos estudos envolvendo esta propriedade estão voltados para o uso de matérias primas com granulometria em fração nanométrica, como é o caso das argilas organofílicas. A abordagem dada a esta pesquisa, no entanto, visa à avaliação da eficiência de remoção do poluente, porém com o uso de minerais com tamanho de grãos em fração micrométrica.

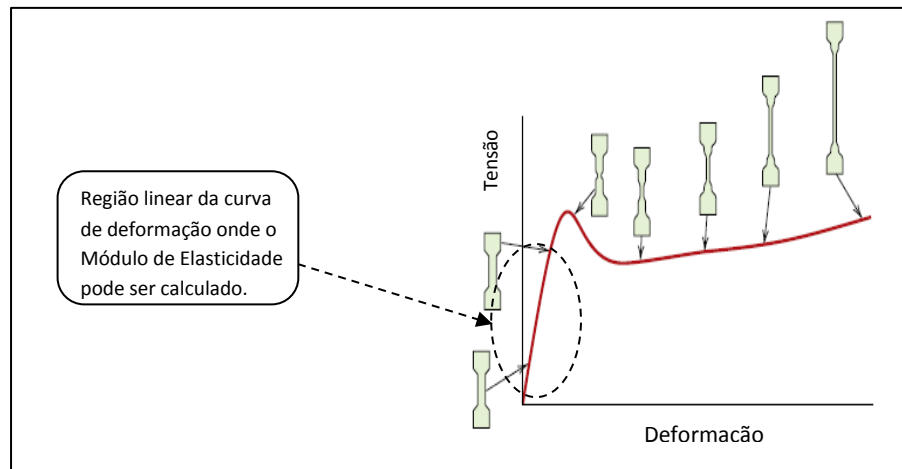
2.5. A importância da realização de ensaios com o material compósito

A aplicação de um determinado material está atrelada à propriedade inerente a ele. Por esta razão, é fundamental que sejam feitos alguns ensaios que mostrem a sua capacidade de reproduzir resultados que indiquem a sua condição futura de uso. Devido à possibilidade do material desenvolvido ter uma aplicação dupla, ou seja, sendo inicialmente um produto utilitário que, após o seu descarte, será novamente processado para atuar como um contribuinte para a redução de impacto ambiental, foram realizados ensaios com o material compósito isoladamente e, posteriormente, observando a sua atuação como auxiliar na biorremediação de um solo contaminado com BTEX.

2.5.1. Ensaios de tração

Os ensaios de tração visam à observação do comportamento mecânico das amostras de polímeros, que irá embasar a atribuição das possíveis aplicações para os materiais que estão sendo caracterizados. Estes ensaios são aplicados em corpos de prova poliméricos e avaliam as propriedades mecânicas de resistência máxima de tração ($\sigma_{\text{máx}}$), alongamento na ruptura (ϵ) e módulo de elasticidade (E) das amostras. A Figura 12 representa graficamente as três propriedades mecânicas de tração, exemplificando o comportamento de um corpo de prova obtido de um polímero semicristalino, quando submetido a um ensaio de tração.

Figura 12: Representação da região de um polímero semicristalino, na qual é possível obter o módulo de elasticidade.

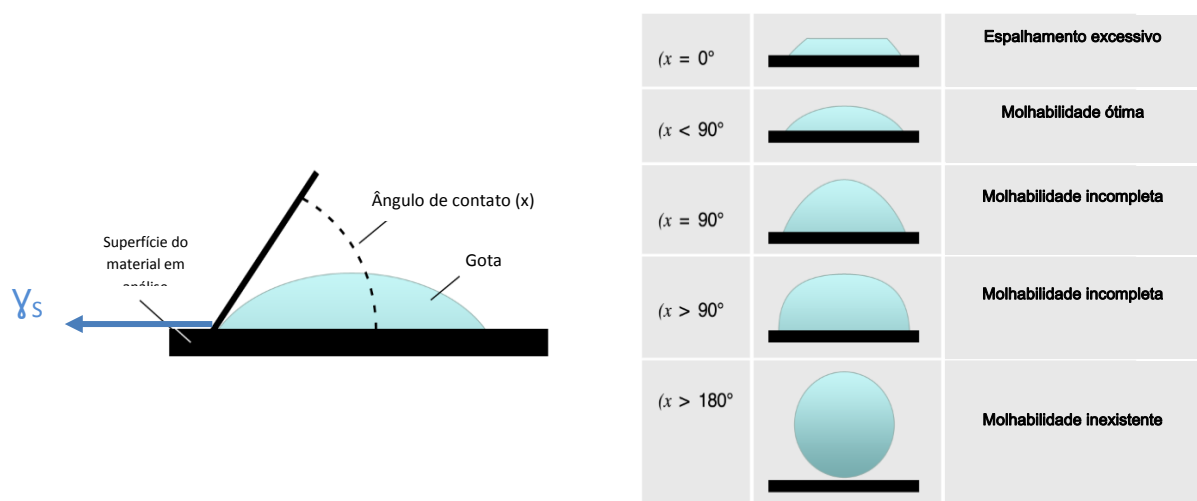


Fonte: Callister, 2013 (Adaptado)

2.5.2. Ângulo de contato

Ângulo de contato (Figura 13) é uma técnica utilizada para estudar a energia livre de superfície e a molhabilidade das amostras; é obtido por análise de imagens em que é medido o ângulo limite (tangente) formado entre a superfície da amostra e a gota formada sobre a amostra (Romero-Bastida *et al.*, 2016) quando a gota de um solvente (no caso, a água) é depositada sobre um substrato (a amostra de TPS).

Figura 13: Ilustração de valores de ângulo de contato e graus de molhabilidade.



Fonte: 21st Century Chemical, 2018 (Adaptado)

A molhabilidade se refere ao primeiro estágio de contato da amostra sólida com o meio aquoso e está relacionada com a cinética de adsorção dos elementos presentes no meio. A energia de superfície (γ_s) é uma medida obtida a partir do ângulo de contato, na região em que as forças de atração e repulsão dos átomos e moléculas entre a superfície do material com o líquido da gota entram em equilíbrio.

2.5.3. Ensaio de granulometria

Ensaio granulométrico permite observar o tamanho das partículas presentes no material e a sua distribuição granulométrica; são importantes, uma vez que fatores como superfície de contato com outros meios, cinética de reação, adensamento/empacotamento do material, dependem entre outros, do tamanho do grão e poderão favorecer ou não os processos de biorremediação.

Os ensaios granulométricos das matérias-primas foram realizados com o intuito de auxiliar na compreensão de como os compósitos irão atuar no solo e, além disso, buscar estabelecer uma relação com a capacidade de adsorção de água e o caráter de bioestímulo do solo. As propriedades mecânicas de um produto podem ser consideravelmente alteradas, dependendo da granulometria do material.

2.5.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica de análise morfológica dos materiais, pois permite a observação de detalhes estruturais de amostras em escala nanométrica, com ampliações que não seriam possíveis de obter fazendo uso de um microscópio óptico.

2.6. Determinação de BTEX por técnicas de separação em coluna

A eletroforese capilar em zona (CZE), a cromatografia líquida e a cromatografia gasosa (GC) são técnicas de separação em coluna usadas para determinar BTEX e seus metabólitos em matrizes complexas como fluidos biológicos e amostras ambientais. Métodos de análise por cromatografia líquida facilitam a determinação simultânea do BTEX e metabólitos com tempos de análise entre 20 e 50 min. A retenção e o tempo total de análise para os métodos de cromatografia gasosa são menores, mas a principal desvantagem de métodos GC é a necessidade

de uma etapa de extração com um adicional procedimento de derivatização, que torna a determinação mais trabalhosa e demorada. A análise por CZE é mais rápida em relação às técnicas de cromatografias gasosa e líquida, apresentando um tempo muito mais curto (10 min), no entanto esse equipamento não costuma estar tão disponível em laboratórios analíticos como HPLC ou o GC (González *et al.*, 2017). Dessa forma optou-se por trabalhar com a cromatografia líquida no presente estudo, com preparo de amostra para extração líquido-líquido, com posterior análise em HPLC do extrato obtido dessa amostra.

3. JUSTIFICATIVA DO TEMA

Atualmente, o uso de polímeros biodegradáveis, isoladamente ou como materiais compósitos, é uma alternativa que vem despertando o interesse da sociedade, à medida que valoriza o desenvolvimento sustentável. Esta temática atrai o interesse da comunidade científica, fato que pode ser verificado por meio do elevado número de artigos publicados sobre o tema nos últimos anos (Costa *et al.*, 2015; Marchante *et al.*, 2017; Pradeep *et al.*, 2017; Sienkiewicz *et al.*, 2017; Mujtaba *et al.*, 2019).

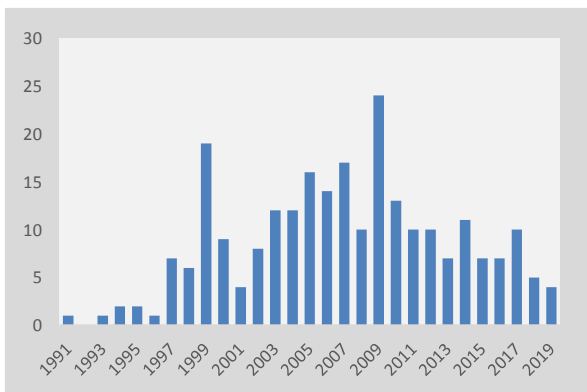
Polímeros biodegradáveis podem ser definidos como materiais que podem se decompor rapidamente por ação de microrganismos, como bactérias e fungos. Já, os polímeros considerados não biodegradáveis, levam centenas de anos para serem degradados (Rosa, Calil, Rodrigues, 2004). Por se notar a melhora já obtida em propriedades mecânicas e físico-químicas dos plásticos ambientalmente amigáveis, a oferta deste tipo de material tem aumentado nos últimos anos, assim como a sua aceitação de uso. Em 2016, a produção deste tipo de material atingiu a marca de produção dos plásticos convencionais, que é de cerca de 280 milhões de toneladas anuais (Silva, Maria, Blácido, 2017). Os plásticos ambientalmente amigáveis, no entanto, ainda têm um grande caminho a percorrer no que diz respeito à melhoria de suas propriedades térmicas e mecânicas, para que sua utilização seja completamente aceita nos mercados nacional e mundial.

A importância do estudo em questão engloba como vantagem a contribuição para a atenuação dos impactos ambientais causados por descartes de materiais poliméricos de forma inadequada e por contaminação do solo com gasolina, visando alcançar níveis aceitáveis dentro dos padrões da legislação brasileira. Além disso,

cada fração de BTEX retida e biorremediada no solo significa menos contaminação liberada para a água e/ou o ar. A utilização dos resíduos (casca de mandioca e glicerina “loira”) é relevante por se tratar de materiais de baixo valor agregado, os quais passarão a ter uma nova possibilidade de aplicação, com uma técnica de produção mais simples, gerando também um material de baixo custo. Os minerais bentonita e zeólita vêm juntar-se neste processo como materiais naturais do solo, contribuindo como reforços para a biorremediação; desta forma, não precisarão de um descarte final, pois são minerais presentes nas argilas e assim sendo, poderão permanecer no solo.

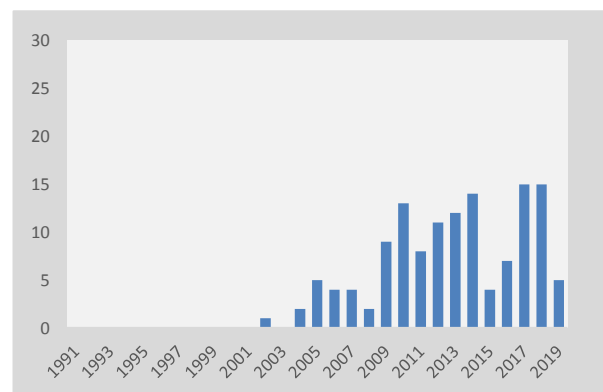
Estão sendo destacados aqui dois assuntos de grande importância nos dias atuais. A Figura 14 mostra o resultado de busca referente ao tema de remediação de um solo contaminado com BTEX, enquanto na Figura 15 a busca se refere ao tema do material compósito formado pelo amido termoplástico + bentonita ou zeólita.

Figura 15: Número de publicações voltadas para o tema remediação de solos contaminados com BTEX.



Fonte: Base de dados Scopus, 2019 (Adaptado)

Figura 14: Número de publicações voltadas para o tema amido termoplástico com zeólita ou bentonita.



Fonte: Base de dados Scopus, 2019 (Adaptado)

Os dois temas têm sido alvo de publicações nos últimos anos, porém, quando foi feita a busca unindo os dois temas, não foram encontradas publicações, o que atribui à pesquisa um caráter inovador e com relevância nos dias atuais, uma vez que o acúmulo de resíduos tem sido motivo de preocupação em todo o planeta. Assim, o cerne deste estudo aponta para uma abordagem de aplicação um material obtido de resíduos das fecularias e das usinas de biodiesel, e que, ao invés de ser descartado após o seu uso convencional, será utilizado para mitigar o impacto ambiental causado por outro resíduo: o combustível no solo.

4. OBJETIVOS

4.1. *Objetivo geral*

Desenvolver um material compósito biodegradável, constituído de resíduos de mandioca, glicerina “loira” e dois diferentes tipos de minerais de argila e avaliar o seu efeito como agente de bioestímulo, para a degradação do BTEX contido em solo contaminado com gasolina.

4.2. *Objetivos específicos*

São considerados os objetivos específicos:

- 1) Desenvolver um material compósito de baixo custo, fazendo uso de resíduos de materiais naturais e de baixo impacto ambiental;
- 2) Analisar o material compósito como substrato para auxiliar na biorremediação do BTEX;
- 3) Verificar a eficiência dos materiais compósitos de amido termoplástico (TPS) como agentes biossorbentes;
- 4) Observar o comportamento do solo com a adição de fungos *Aspergillus fumigatus*, no que concerne à eficiência na remoção dos compostos BTEX presentes na gasolina;

5. MATERIAL E MÉTODOS

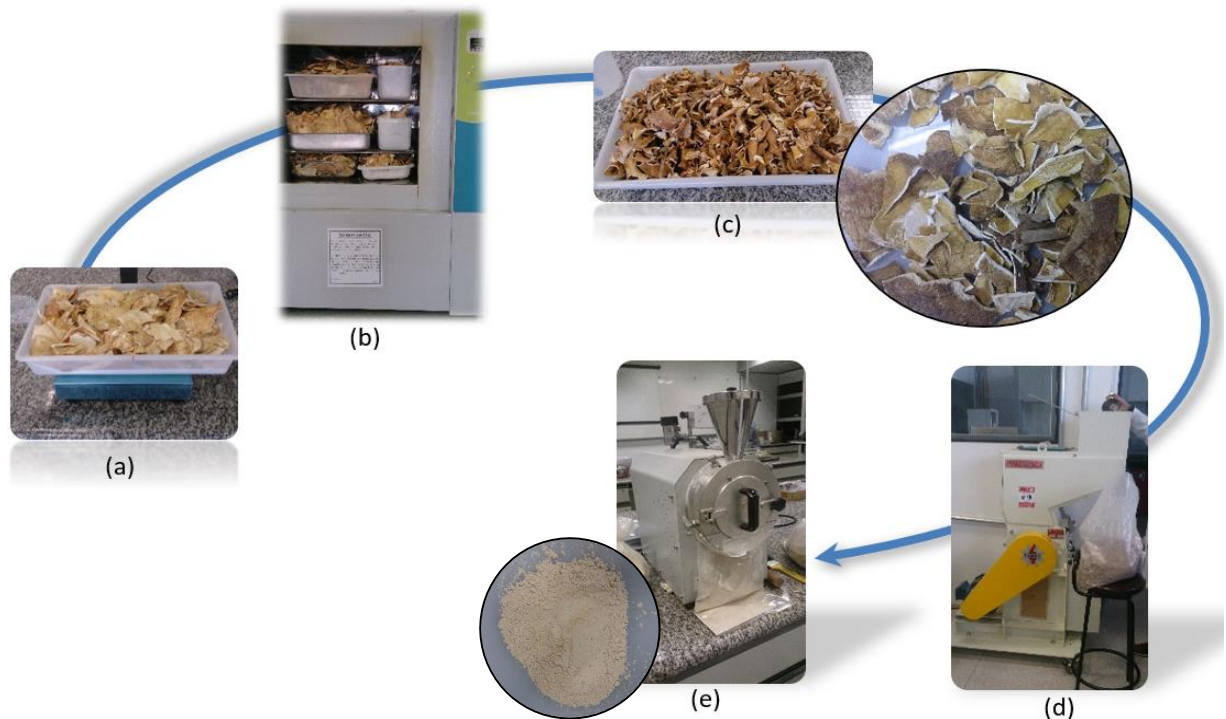
Os procedimentos metodológicos adotados neste trabalho foram organizados conforme a seguinte sequência:

- 1) Preparo dos compósitos biodegradáveis;
- 2) Desenvolvimento do método de determinação de BTEX em solo utilizando Cromatografia Líquida de Alta *Performance*;
- 3) Preparo do solo para a realização dos ensaios;
- 4) Estimativa da densidade populacional de fungos (UFCs) adicionados no solo;
- 5) Ensaios de biorremediação de BTEX contido no solo contaminado com gasolina.

5.1. Preparo dos compósitos biodegradáveis

Para a execução desta pesquisa foram preparados materiais compósitos biodegradáveis, constituídos de entrecasas de mandioca (cedida pela empresa RDL Mandiocas), glicerina “loira” (cedida pela empresa Almad Agroindústria Ltda.) e minerais com variações, em massa, de bentonita (cedida pela empresa Brasilminas) ou zeólita clinoptilolita (cedida pela empresa Celta Brasil). A Figura 16 ilustra o processo pelo qual foram preparadas as cascas de mandioca, as quais foram (a) lavadas em água corrente e retirada toda a película marrom, sobrando apenas a entrecasca. Imediatamente, foram (b) levadas para uma estufa com circulação de ar, a 60°C durante 48 horas, até a (c) secagem total. A seguir, as entrecasas foram fragmentadas em um (d) moinho de 3 facas (marca Primotécnica), atingindo granulometria de 5 a 10 mm. Para diminuir ainda mais o tamanho dos fragmentos, as entrecasas sofreram nova moagem em um segundo (e) moinho de 5 facas (marca Solab, modelo SL31), obtendo-se um material micronizado.

Figura 16: Ilustração das diferentes etapas de preparação dos resíduos da entrecasca de mandioca (a)= limpeza; (b) e (c)= secagem; (d) e (e)= moagem das entrecasas de mandioca.



Fonte: Autora, 2018

O processamento do TPS (Figura 17) iniciou-se em um misturador planetário, com velocidade de rotação baixa, onde foi feita a homogeneização das entrecasas secas e micronizadas com a glicerina “loira” (que funcionou como agente plastificante) e os minerais, conforme composições descritas na Tabela 4. Para melhor entendimento, as amostras preparadas foram nomeadas segundo a indicação a seguir:

- PUR: amostra pura, apenas com glicerina e entrecasca de mandioca (TPS);
- BEN: composição de TPS com acréscimo de bentonita;
- ZEO: composição de TPS com acréscimo de zeólita;
- XXX-5 e XXX-10, onde: XXX indica o tipo de mineral de argila utilizado e a numeração a porcentagem (%) presente de bentonita ou zeólita (5 ou 10%), ou seja, a amostra BEN-5 indica que é composta de TPS e 5%, em massa, de bentonita.

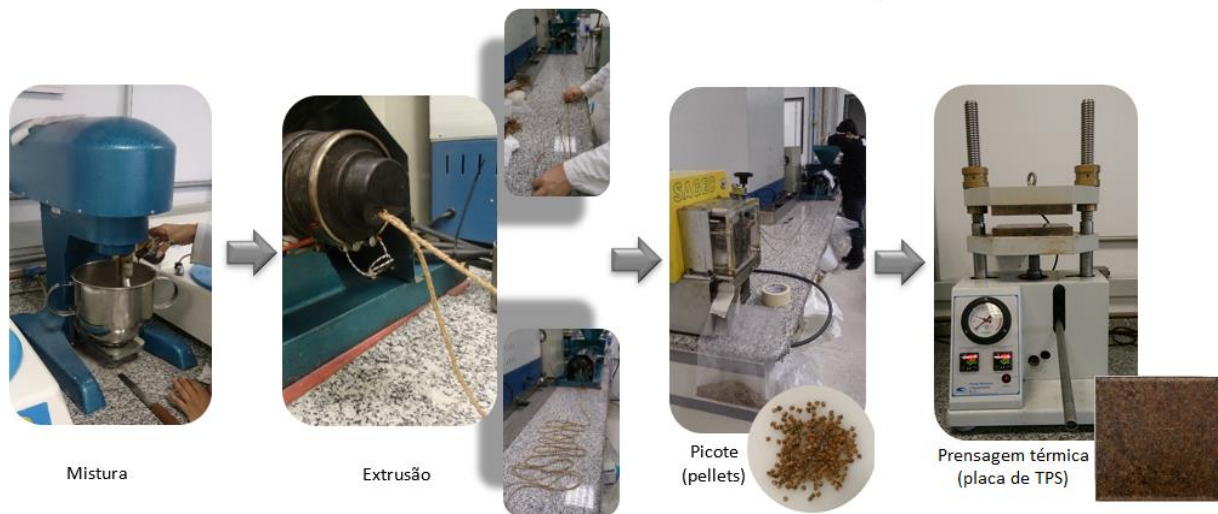
Tabela 4: Composições dos compósitos biodegradáveis preparados.

M-prima (%)	PUR	BEN-5	BEN-10	ZEO-5	ZEO-10
Entrecasca de mandioca	70	66,5	63	66,5	63
Glicerina	30	28,5	27	28,5	27
Bentonita	-----	5	10	-----	-----
Zeólita	-----	-----	-----	5	10

Fonte: Autora, 2018

Todas as amostras foram misturadas por aproximadamente 15 minutos, tempo suficiente para que fosse obtida a melhor homogeneização da glicerina com a entrecasca de mandioca e os minerais de argila no misturador planetário. As composições descritas na Tabela 4 foram processadas em uma extrusora monorroscas (marca AX Plásticos), com uma razão comprimento/diâmetro (L_{rosca}/D_{rosca}) = 24 e com duas zonas de aquecimento, com temperaturas de 104 e 120 °C nas zonas 1 e 2, respectivamente, com rotação da rosca igual a 45 rpm. O material processado pela extrusora foi cortado em formato de *pellets*. Estes *pellets* foram conformados em uma prensa térmica, na temperatura de 120 °C, com uma pressão de 5 tf aplicada por 2 minutos, obtendo-se uma placa de amido termoplástico (TPS).

Figura 17: Ilustração do processamento do amido termoplástico (TPS) e dos compósitos.



Fonte: Autora, 2018

A zeólita e os compósitos foram caracterizados por alguns ensaios:

- Ensaio com o mineral zeólita: granulometria. No caso da bentonita, foi considerada a granulometria o laudo do fornecedor (ANEXO A);
- Ensaios com os compósitos de TPS: microscopia eletrônica de varredura (MEV), tração e ângulo de contato;
- Afinidade dos compósitos de TPS com o fungo *A. fumigatus*.

5.1.1. Ensaio de granulometria

Para o ensaio com a zeólita foi utilizado o peneirador eletromagnético, com vibração de 40%. O ensaio foi realizado conforme norma ABNT NBR 7217-1987.

5.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para que pudessem ser observadas as estruturas das superfícies dos compósitos de amido termoplástico, bem como a dispersão dos minerais de argila na matriz de TPS, as amostras foram submetidas à análise morfológica, cuja observação foi realizada em um MEV com intensidade de 20 kV. As amostras foram previamente recobertas com ouro pela técnica de *sputtering* (EDUARDES, SCANCOAT SIX), com deposição de íons de ouro, atingindo a espessura de 30 nm de ouro sobre a superfície de cada amostra.

5.1.3. Ensaio de tração

Os ensaios de tração foram realizados em uma máquina universal de ensaios mecânicos da marca Instron, com célula de carga de 50 N e velocidade de deslocamento da travessa adaptada em 2 mm/min. Os corpos de prova são “haltere”, do tipo IV, obtidos por estampagem das placas previamente preparadas. As propriedades mecânicas das composições de TPS e suas variações foram analisadas segundo a norma ASTM-D-638-14. Os valores médios das propriedades mecânicas foram calculados utilizando 12 corpos de prova para cada composição.

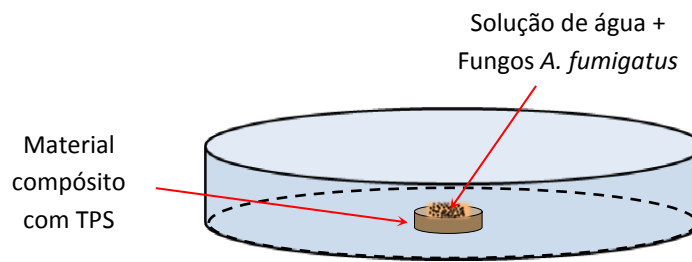
5.1.4. Ângulo de contato

Para conhecer as propriedades de molhabilidade, as amostras de compósitos de TPS foram submetidas a análises no equipamento Tensiômetro DCAT de estágio trifásico Ar/Água/Amostra, para determinação do ângulo água-amostra pelo método do ângulo de contato estático (θ_{est}) e dinâmico (θ_{din}) pela equação de Young-Laplace, com gotas de água deionizada (4,00 μ L), acompanhamento temporal de 300 s, determinando o ângulo de contato e, por conseguinte, a energia de superfície.

5.1.5. Observação da afinidade das amostras com os fungos

Com a finalidade de observar a capacidade de adaptação e crescimento do fungo *A. fumigatus* nas amostras de materiais compósitos de TPS, foi utilizada uma placa de Petri e colocado no centro da placa de Petri um pedaço recortado (com um diâmetro de 15 mm) das placas prensadas de PUR e dos compósitos BEN-10 e ZEO-10 (Figura 18). Sobre a superfície de cada amostra foram adicionadas 3 gotas de uma solução contendo 0,1 g do fungo em 1 mL de água deionizada; a partir de então as placas foram incubadas a uma temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, em duplicata, sendo observado e registrado, por meio de fotografias, o crescimento de fungos sobre a placa de TPS no período de 1 a 8 dias.

Figura 18: Ilustração do sistema utilizado para a avaliação da afinidade das amostras com os fungos *A. fumigatus*.



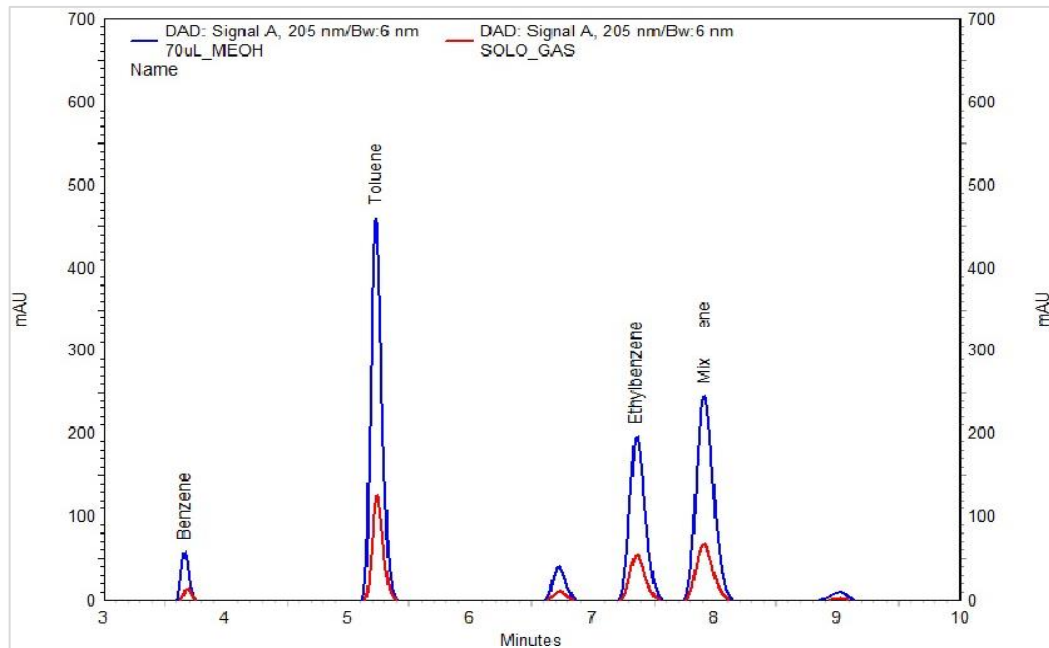
Fonte: Autora, 2018

5.2. Desenvolvimento do método de determinação de BTEX em solo utilizando Cromatografia Líquida de Alta Performance

A cromatografia líquida de alta *performance* acoplada à detecção de rede de diodos (HPLC-DAD) foi a técnica utilizada, com o intuito de quantificar o teor de BTEX contido no solo e verificar a sua taxa de remoção.

Mostrando a viabilidade de uso da técnica, assim como a simplicidade do preparo da amostra, foi desenvolvido e validado um método, com o qual foi possível realizar a determinação de BTEX com resolução na linha de base, eficiência e tempo de análise relativamente curto ($T_{\text{análise}} < 12\text{min}$), conforme pode ser observado na Figura 19. Nesta figura são mostrados dois cromatogramas; o de cor azul se refere à solução de padrões de BTEX, em que foi adicionado um volume correspondente a 20 μL para o benzeno, o tolueno, o etilbenzeno e o xileno, tendo como solvente 50 mL de metanol. O cromatograma de cor vermelha corresponde a uma amostra coletada de solo com gasolina, cuja extração de alíquota (quantitativa) foi feita por meio de metanol, para a análise do BTEX.

Figura 19: Cromatograma correspondente a uma mistura de padrões de BTEX e alíquota obtida de um solo contaminado com gasolina.



Fonte: Autora, 2018

A metodologia foi desenvolvida utilizando como fase móvel metanol e água acidificada com 250 μL de ácido fosfórico (70:30, v/v), coluna Eclipse XDB C18 (5 μm x 4,6 x 250 mm), fluxo de 1,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $\lambda=205$ nm, injeção de amostra de 10 μL e $T=50$ °C. As análises foram realizadas em um HPLC marca Agilent, modelo 1220, equipado com um injetor automático, um forno de coluna e um detector de rede de diodos. Os dados foram adquiridos e analisados utilizando o software Open LAB A.01.05.

Para otimização da metodologia, foi verificada a acurácia dos resultados fornecidos pelo HPLC, com o desenvolvimento de padrões de calibração de BTEX e observação da linearidade. Foi também observada a repetitividade e a reprodutibilidade dos valores obtidos com uma solução padrão de BTEX (P_0) diluída em metanol. Para quantificar a recuperação de BTEX, foram preparadas amostras de calibração constituídas por 5g de solo contaminado com gasolina e com acréscimo da solução padrão de BTEX, com extração do solo via líquido-líquido (LLE) e posterior análise do extrato obtido por HPLC.

5.2.1. Padrões de calibração - linearidade

Para identificar a concentração de BTEX presente no solo contaminado com gasolina, foi construída uma curva de calibração de padrões de BTEX. Preparou-se, inicialmente, uma solução padrão (estoque), com concentração de 20 mg.L^{-1} de BTEX, denominada solução P₈. A solução foi então sofrendo diluições 1:1 em metanol, a partir de P₈ até P₁, de modo a serem obtidos os padrões com as concentrações indicadas na Tabela 5. As concentrações que compunham a curva de calibração de BTEX foram estabelecidas idealizando-se uma elevada concentração de BTEX, até alcançar diluições com concentrações próximas de zero, almejando-se simular um ambiente com elevada contaminação de gasolina, até completa atenuação do impacto ambiental causado por ela no solo.

Tabela 5: Concentrações dos compostos BTEX utilizados na curva de calibração da solução.

Concentração (mg.L⁻¹) Padrão (P)	Benzeno	Tolueno	Etilbenzeno	Xileno
P1	0,15	0,16	0,16	0,15
P2	0,31	0,31	0,31	0,31
P3	0,62	0,62	0,62	0,62
P4	1,25	1,24	1,24	1,25
P5	2,50	2,49	2,49	2,50
P6	5,00	4,98	4,98	5,00
P7	10,00	9,95	9,95	10,00
P8	20,00	19,90	19,90	20,00

5.2.2. Repetitividade e reprodutibilidade.

Para verificar repetitividade e a reprodutibilidade, foi preparada uma solução padrão (P₀) contendo benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, os quais foram diluídos em metanol, com as proporções indicadas na Tabela 6.

Tabela 6: Concentrações dos compostos de BTEX para a solução padrão P₀.

	Concentração ($\mu\text{L}/50\text{mL}_{\text{metanol}}$)	Concentração (mg.L^{-1})
Benzeno	20	350,4
Tolueno	20	346,8
Etilbenzeno	20	346,4
Xileno	20	344,4

Partindo da solução P₀, foram preparadas duas soluções idênticas, em replicata, com diluições de 2 mL de P₀ + 25 mL de metanol (Rep.1 e Rep.2), com o intuito de avaliar se havia a reprodução de resultados semelhantes na leitura feita pelo HPLC. Para avaliar a repetitividade do equipamento, foram feitas 5 injeções em Rep.1 e em Rep.2 (quintuplicata de injeção). Desta forma, foram verificados os valores médios e os desvios-padrão de duas replicatas com 5 injeções cada, totalizando em um número amostral igual a 10.

5.2.3. Recuperação de BTEX do solo

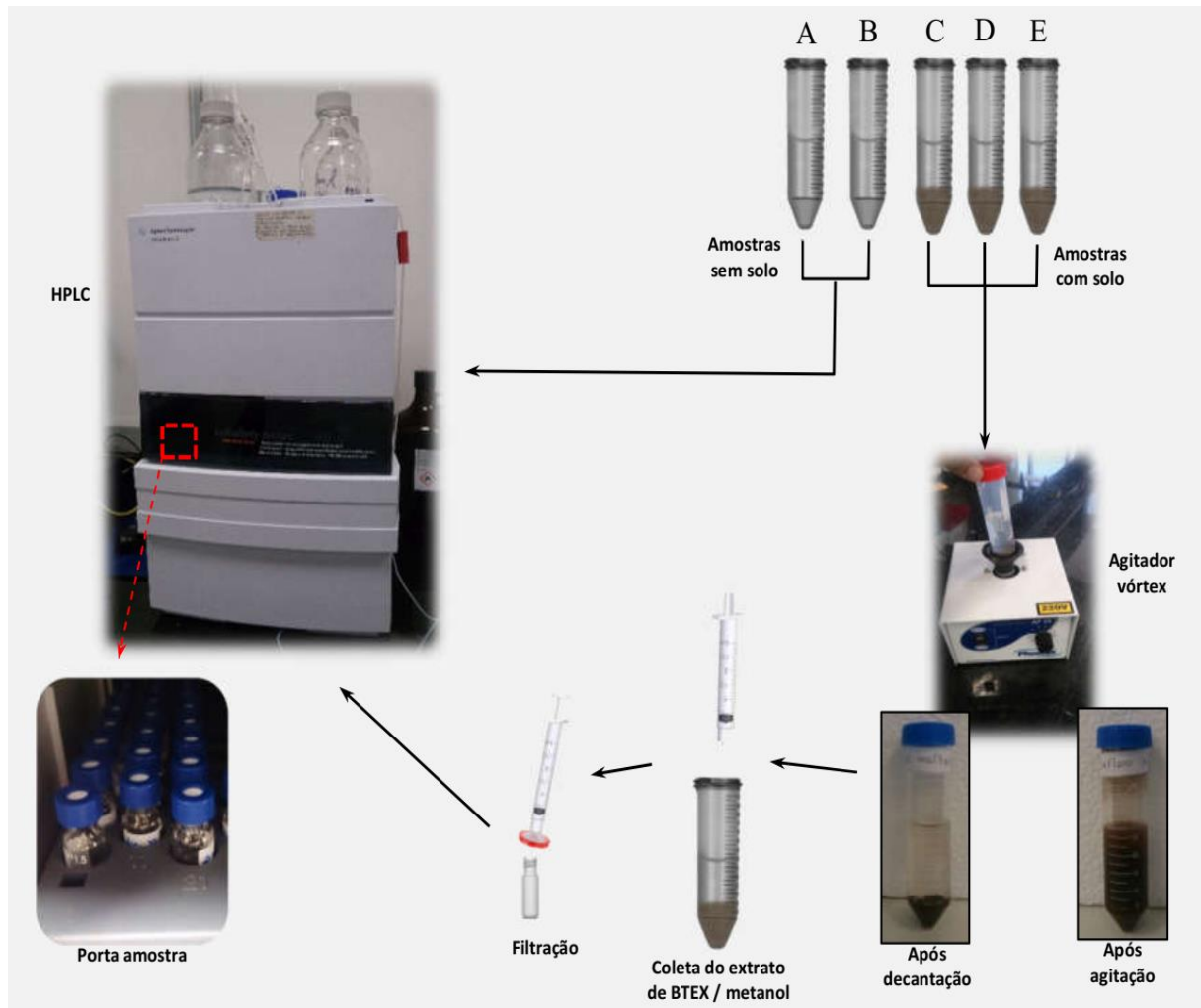
Para validar o método de cromatografia líquida na avaliação de BTEX extraído do solo foi utilizada como fonte de BTEX a gasolina comum tipo C (marca BR), a qual foi utilizada como contaminante para a análise de amostras nas situações seguintes:

- A) 70 μL de gasolina +25 mL de metanol (branco₁);
- B) 70 μL de gasolina + 25 mL de metanol + 1 mL de P₀ (branco₂);
- C) 5 g de solo úmido + 25 mL de metanol;
- D) 5 g de solo úmido + 70 μL de gasolina + 25 mL de metanol (comparativo₁);
- E) 5 g de solo úmido + 70 μL de gasolina + 25 mL de metanol + 1 mL de P₀ (comparativo₂).

As amostras A e B correspondem aos padrões (brancos/referências) desta etapa de análise. A amostra C foi preparada apenas para confirmar que o solo natural não estava contaminado com gasolina. D e E (comparativos/obtidos) correspondem às amostras A e B, respectivamente, porém acrescidas de solo (5 g).

Esta comparação se fez necessária para evidenciar a taxa de remoção de BTEX pelo metanol no solo contaminado. O esquema do preparo das amostras (em triplicata) para validação do método de avaliação do teor de BTEX por HPLC está representado na Figura 20.

Figura 20: Ilustração do preparo das amostras para validação do método de cromatografia.



Fonte: Autora, 2018

As amostras com solo D e E foram colocadas dentro de tubos Falcon estéreis de 50 mL e misturadas em um agitador Vórtex durante 15 segundos, seguido do repouso, até que a parte sólida sofresse decantação.

Logo após, com uma seringa estéril de 5 mL, foi extraída de cada amostra uma alíquota contendo a fase líquida sobrenadante. Na ponta da seringa foi acoplado um filtro (membrana de PTFE, hidrofílico, D=13 mm e tamanho do poro=

0,45 μm), por onde a solução foi filtrada, transferida para o interior de um vial de 1,5 mL e submetida a análise no cromatógrafo, com injeção em duplicata. Com os dados obtidos foi feita a comparação entre a análise da gasolina com e sem solo, a fim de validar via HPLC o método de análise de BTEX retido no solo contaminado com gasolina. De posse dos resultados, foi verificada a diferença entre as amostras com e sem solo, ou seja, foi feita a comparação de resultados de cromatografia líquida entre as condições A e D, B e E, determinando, desta forma, a porcentagem de remoção de BTEX no solo.

5.3. Preparo do solo para a realização dos ensaios

Esta etapa foi realizada para deixar o solo em condições de ser utilizado para as etapas seguintes, de ensaios preliminares com determinação da variação das unidades formadoras de colônias (UFCs) de fungos adicionados no solo e ensaios de biorremediação de BTEX contido no solo com a adição de *A. fumigatus* e compósitos de TPS.

Foram estabelecidos alguns parâmetros do solo para promover o cultivo de microrganismos: o solo não poderia estar com umidade excessiva e deveria possuir porosidade suficiente para ajudar a promover a dispersão da gasolina no mesmo e favorecer a multiplicação dos microrganismos (Tatagiba *et al.*, 2015).

Para o preparo do solo foi utilizada terra vegetal, marca Verde Fértil, que segundo o fabricante, é composta de turfa, terra virgem, esterco de gado, calcário, fertilizante orgânico e húmus de minhoca, de acordo com a seguinte especificação (Verde Fértil, 2019):

- Nitrogênio total (mínimo)= 1%;
- Carbono orgânico (mínimo)= 15%;
- CRA (mínimo)= 60%;
- CTC (mínimo)= 300 mmolc/dm³;
- pH (mínimo)= 6;
- Relação C/N (máximo)= 18/1;
- Soma NPK= 2%.

O solo foi peneirado previamente em malha com abertura de 2 mm. Foi medida a capacidade de retenção de água (CRA) do solo, segundo metodologia descrita por Nascimento (2013), atingindo um valor igual a 58%. Foi medido o pH do

solo, segundo metodologia proposta por Rosa e Pantano Filho (2003), obtendo-se um valor de 6,4. A umidade foi ajustada para 27 ± 1 % em massa (correspondente a 50% da capacidade de retenção de água do solo). O solo foi acondicionado em saco plástico e fechado por 48 horas, a fim de tornar homogênea a distribuição de água em todas as suas partículas.

5.4. Estimativa da densidade populacional de fungos (UFCs) adicionados no solo

A fim de determinar uma quantidade adequada de fungos *A. fumigatus* para atuar no processo de degradação da gasolina, foi feito um teste prévio, de amostras com diferentes quantidades de fungos inoculados nos solos normal e estéril, observando a concentração de BTEX em função do número de fungos contados.

Para fazer a contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs) de fungos, optou-se por adaptar o método 9215 (Heterotrophic Plate Count) às necessidades deste estudo. Foi preparada uma solução nutritiva sem peptona e autoclavada contendo: 0,2 g de fosfato bibásico, 0,05 g de sulfato de magnésio e 0,01 g de cloreto férrico, diluídos em 1 litro de água ultrapura.

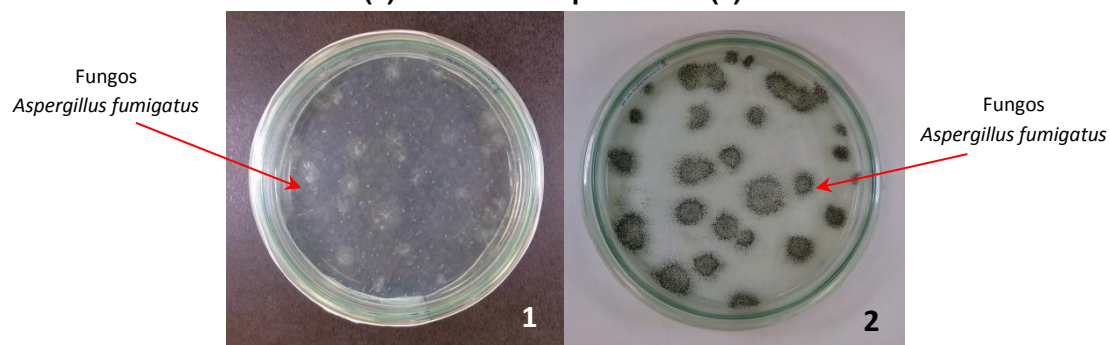
A partir de uma placa com desenvolvimento de *A. fumigatus* com mais de 7 dias de crescimento, na proporção de 0,01 g de fungo/meio para 100 mL da solução nutritiva, obteve-se uma contagem de aproximadamente $4,5 \times 10^4$ UFCs de fungos por mL de solução. A partir dessa solução, foram feitas diluições sucessivas até chegar às proporções de 12, 24, 120, 1.200 e 12.000 UFCs de fungos por mL de solução nutritiva.

Em frascos de vidro com volume de 500 mL, foram colocados 136 g de solo úmido, 1 mL de gasolina e 1 mL de cada solução de UFCs de fungos, ficando estes frascos em incubadora a 27 ± 1 °C. Na coleta das amostras de solo do contido nos frascos (as quais também foram utilizadas para o teste de cromatografia líquida), foi coletado 1 g de solo para o ensaio de crescimento de microrganismos. Este 1 g de solo foi colocado no interior de uma proveta de 100 mL com tampa, completando o seu volume com água ultrapura. A proveta foi agitada manualmente durante 45 segundos e depois deixada em repouso por alguns minutos, até que a maior parte da fase sólida fosse decantada.

Em uma capela de segurança biológica de fluxo laminar, de cada proveta foi retirada uma alíquota de 100 µL do líquido sobrenadante e adicionado em uma placa

de Petri. Como meio de cultura foi utilizado o Ágar Czapek (Swapna, Lalchand, 2017; Arora, Kaur, 2018) preparado previamente (24,5 g / 500 mL de água), em quantidade suficiente para cobrir a superfície do interior da placa e se misturar com a amostra. As placas de Petri foram então fechadas e colocadas na incubadora, com temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ por 36 horas. Passado este período, as placas foram retiradas da incubadora e então foi feita a contagem manual das UFCs de microrganismos. A Figura 21 ilustra uma de placa de Petri contendo apenas fungos *A. fumigatus*; à esquerda (1) está uma placa utilizada na contagem das UFCs de microrganismos, os quais correspondem a pequenos pontos brancos que podem ser visualizados sobre um fundo preto; à direita (2) está a mesma placa após 7 dias, quando foram evidenciadas as colônias contendo os fungos já crescidos, que podem ser identificados pela cor preta sobre um fundo mais claro.

Figura 21: Fungos *A. fumigatus* na contagem de UFC (1) e crescidos após 7 dias (2).



Fonte: Autora, 2018

Os sistemas que continham as amostras eram constituídos por frascos de vidro de 500 mL, com tampa rosqueada. Embora o sistema tenha sido reforçado em vedação com fita de teflon, para evitar o escape de gasolina por volatilização, as perdas foram inevitáveis, de forma que os resultados obtidos passaram a ser duvidosos. Desta forma, admitiu-se a maior concentração de fungos (12.000 UFCs) para ser utilizada nos testes seguintes com solo estéril e com os materiais compósitos, de acordo com a seção 5.2.5.

5.5. Ensaios de biorremediação de BTEX contido no solo contaminado com gasolina

Nesta seção foi avaliada a biorremediação do solo contaminado com gasolina. Inicialmente foi observado o comportamento do BTEX nos solos estéril e

normal. Na sequência, foi observado o comportamento do solo ao serem inseridos os materiais compósitos de TPS, de modo a avaliar as contribuições provenientes do uso de um polímero biodegradável como facilitador do processo de biorremediação e a ocorrência de possíveis benefícios com o acréscimo dos fungos *A. fumigatus* e o uso do TPS no processo, quer seja de maneira isolada, quer seja como material compósito ao acrescentar os minerais bentonita ou zeólita. Foram realizados ensaios para verificar o pH e o teor de carbono do solo, ambos conforme metodologia proposta por Rosa e Pantano Filho (2003), com o intuito de melhor compreender o comportamento dos microrganismos presentes, bem como a sua contribuição para uma possível biorremediação do solo contaminado por gasolina.

*5.5.1. Preparo do sistema de biorremediação para verificar a degradação com e sem o acréscimo dos fungos *A. fumigatus* no solo*

Esta etapa foi realizada com amostras de solo em duas condições:

- a) solo esterilizado em autoclave;
- b) solo natural, utilizado como adquirido do fornecedor.

O intuito de esterilizar o solo era o de observar a degradação do BTEX em condições de ausência dos microrganismos que são encontrados naturalmente no solo; com o solo estéril seria possível observar a ação isolada do fungo *A. fumigatus* como agente de biorremediação e também observar a ocorrência de adsorção de BTEX por parte do solo.

Para as amostras em que foi utilizado o solo esterilizado, a esterilização foi feita em autoclave, a 120°C por 50 minutos, seguido de congelamento do solo no freezer por período mínimo de 24 horas. Este procedimento foi repetido por 3 vezes.

Em vials de vidro com capacidade de 60 mL, septo fixo de silicone/teflon e tampa, foram colocados 14 g de solo úmido, o equivalente a 10 g de solo em base seca (umidade do solo igual a $27 \pm 1\%$). A seguir, foi adicionada em cada frasco a solução contendo os fungos e a gasolina, conforme Tabela 7.

Tabela 5: Composições para avaliação da gasolina retida nos solos estéril e normal.

Amostra	Descrição	Solo normal	Solo estéril	<i>A. fumigatus</i> (12.000 UFCs/mL)	Gasolina
GAS (sç) (branco)	Gasolina (solução)	-----	-----	-----	100 µL
F+G (sç)	Fungo + Gasolina (solução)	-----	-----	100 µL	100 µL
GAS (est.)	Gasolina (em solo estéril)	-----	14g	-----	100 µL
F+G (est.)	Fungo + Gasolina (em solo estéril)	-----	14g	100 µL	100 µL
GAS (norm)	Gasolina (em solo normal, não estéril)	14g	-----	-----	100 µL
F+G (norm)	Fungo + Gasolina (solo normal, não estéril)	14g	-----	100 µL	100 µL

As amostras foram preparadas em triplicata e armazenadas na incubadora, com temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Cumpridos os dias para a coleta, ou seja, após 1, 2, 4, 7, 15 e 30 dias, os vials foram retirados e transportados, em caixa de isopor com gelo, até o local da extração das amostras para o ensaio de cromatografia líquida. As injeções das amostras no HPLC foram feitas em duplicata. Foram também preparadas amostras para coleta imediata (T_0) para as versões $\text{GAS}_{(\text{sç})}$, $\text{GAS}_{(\text{est.})}$ e $\text{GAS}_{(\text{norm.})}$, para verificar os valores iniciais de BTEX presentes logo após a adição de gasolina nas amostras com e sem solo. O esquema ilustrativo de preparação na Figura 22 resume as etapas de preparação de cada amostra.

Figura 22: Esquema ilustrativo da coleta de amostras de solos normal e estéril para análise no HPLC.



Fonte: Autora

Utilizando a diferença entre $GAS_{(sc)}$ e $GAS_{(est.)}$ foi calculada a porcentagem de BTEX retida no solo por adsorção, sendo possível conhecer, então, qual era a taxa de remoção de BTEX do solo.

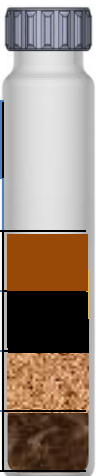
5.5.2. Ensaio de biorremediação de BTEX contido no solo com a adição de *A. fumigatus* e compósitos de TPS

O sistema de biorremediação foi preparado e o ensaio de cromatografia líquida foi considerado para avaliação do teor de BTEX existente no solo. As análises foram feitas ao longo dos 30 dias do processo de biorremediação.

A montagem do sistema de biorremediação foi feita semelhante à seção 5.5.1, com amostras montadas em triplicata, tendo como diferencial o acréscimo dos compósitos de TPS nos vials de 60 mL. Foi utilizada a contagem de fungos de 12.000 UFCs de fungos *A. fumigatus* para ser adicionada em cada frasco. O solo utilizado foi a terra vegetal, normal, sem esterilização. O sistema de biorremediação foi montado com a adição dos compósitos de TPS definidos para cada composição, segundo constam na Tabela 8.

Tabela 6: Composições dos sistemas de biorremediação dos compósitos de TPS.

Elementos	Compósitos de TPS (quantidade para cada composição)				
	PUR (Branco)	BEN-5	BEN-10	ZEO-5	ZEO-10
Gasolina (μL)	100	100	100	100	100
<i>A. fumigatus</i> _(12.000 UFC / mL) - volume (μL)	100	100	100	100	100
Compósitos de TPS (g)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Solo base úmida (g)	14	14	14	14	14



A composição PUR foi identificada como Branco nesta etapa, para que pudesse ser feita a comparação dos resultados obtidos com o acréscimo das cargas minerais de bentonita ou zeólita no amido termoplástico (TPS). Os compósitos de TPS adicionados nos vials de vidro de 60 mL foram obtidos das placas prensadas das composições PUR, BEN-5, BEN-10, ZEO-5 e ZEO-10. As placas foram moídas

em um processador doméstico (mixer) até atingir a granulometria por volta de 1 mm; a seguir foram colocadas nos vials de vidro, sendo acrescentada, por último, a gasolina, com o fechamento imediato dos vials, para evitar perdas de BTEX por volatilização. Depois de fechados, os vials foram agitados leve e manualmente por 5 segundos, para promover a dispersão da gasolina e dos fungos no solo. Em seguida, foram acondicionados em uma incubadora com temperatura de 26 ± 1 °C, em 6 diferentes condições (1, 2, 4, 7, 15 e 30 dias), quando ocorreu a coleta das amostras.

Após serem retirados da incubadora, os frascos foram colocados dentro de uma caixa de isopor, cobertos com gelo, para serem transportados até o local da coleta das amostras para a realização do ensaio de HPLC. A coleta de amostra para análise de HPLC foi realizada conforme esquema ilustrativo da Figura 22.

6. RESULTADOS

Nesta seção são apresentados e discutidos os resultados desde o preparo e caracterização das amostras puras e da mistura contendo entrecasca de mandioca e glicerina “loira”, além das suas misturas com diferentes teores dos minerais bentonita e zeólita, até a obtenção do material compósito e a verificação do seu comportamento na presença de um solo contaminado com gasolina, visando alcançar maior entendimento do processo de biorremediação, com base nas características das matérias primas e dos compósitos de TPS.

São considerados os resultados desde a avaliação do método de determinação de BTEX por meio de HPLC, crescimento de fungos no solo contaminado com gasolina, até a verificação do comportamento dos compósitos de TPS inseridos no solo contaminado e interagindo com os microrganismos que contribuirão para a biorremediação do solo.

Esta seção foi dividida em 4 partes:

- 1) Caracterização das matérias primas bentonita e zeólita e compósitos de TPS;
- 2) Validação do método de determinação do BTEX em solo utilizando Cromatografia Líquida de Alta *Performance* (HPLC);
- 3) Avaliação preliminar para determinação das UFCs de fungos adicionados no solo;
- 4) Avaliação da biorremediação do BTEX contido no solo com a adição de *A. fumigatus* e compósitos de TPS.

6.1. Caracterização das matérias primas bentonita e zeólita e compósitos de TPS

A realização de todos os ensaios de caracterização das matérias-primas e compósitos de TPS permitiu, portanto, obter um panorama das composições desenvolvidas e diferenciá-las em termos de seus comportamentos mecânico, morfológico e de interação com agentes de biorremediação do solo contaminado, de forma a associá-los com próximos resultados de degradação do BTEX presente no solo contaminado com gasolina.

6.1.1. Ensaio de granulometria

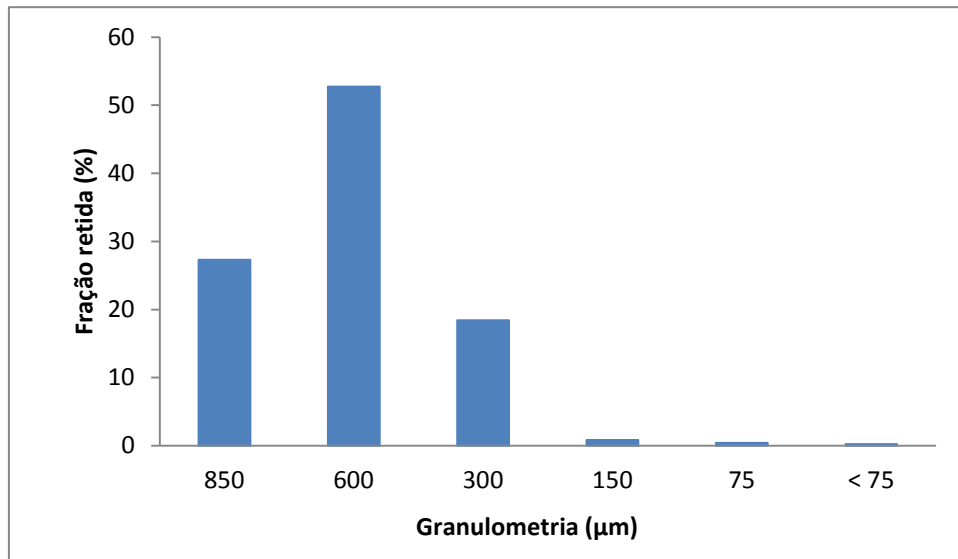
É importante conhecer a granulometria dos minerais de argila, pois, uma vez que os minerais de argila foram misturados ao TPS, formando um material compósito, a granulometria da bentonita e zeólita pode oferecer aos compósitos de TPS comportamentos mecânicos bem diferenciados.

O ensaio de granulometria da zeólita foi realizado em triplicata, utilizando um peneirador granulométrico, sendo utilizadas peneiras cujas aberturas e números de malha (#) ABNT são apresentados na Tabela 9. A Figura 23 ilustra o percentual das frações retidas em cada peneira granulométrica, de forma que possa ser visualizada a distribuição do tamanho de partículas existentes na zeólita.

Tabela 7: Percentual granulométrico da matéria-prima Zeólita.

Malha ABNT (#)	Abertura de malha (μm)	Zeólita Fração retida (%)
20	850	27 \pm 3
30	600	53 \pm 1
50	300	18,4 \pm 1,9
100	150	0,95 \pm 0,01
200	75	0,45 \pm 0,05
>200	< 75	0,2 \pm 0,1

Figura 23: Representação da fração granulométrica retida para a matéria prima Zeólita.

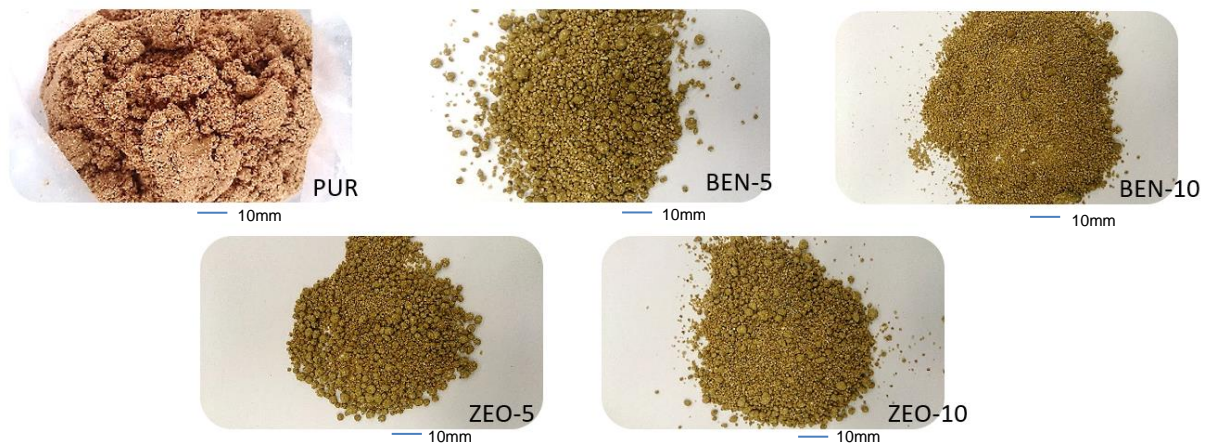


A zeólita possui uma faixa granulométrica bem definida, com tamanho de partículas mais concentrado entre 300 e 850 µm. Este ensaio não foi realizado para a bentonita em virtude de 99% de suas partículas apresentarem diâmetro abaixo de 45 µm, de acordo com o laudo fornecido pelo fabricante, sendo necessária outra técnica para análise de grãos, provavelmente em escala nanométrica. Quanto menor o tamanho da partícula, maior será a sua área superficial, o que tende a facilitar os processos de absorção de água e adsorção de compostos (Haghollahi, Fazelipour, Schaffie, 2016). O tamanho de partículas da bentonita é pelo menos 10 vezes menor que o da zeólita. Por outro lado, elevada CTC também favorece os processos de adsorção. A zeólita apresenta CTC bem superior à bentonita.

6.1.2. Aspecto das composições com TPS

Na Figura 24 são apresentadas as composições com TPS logo após a homogeneização das matérias primas no misturador planetário e antes da extrusão.

Figura 24: Ilustração das composições de TPS após a saída do misturador planetário.



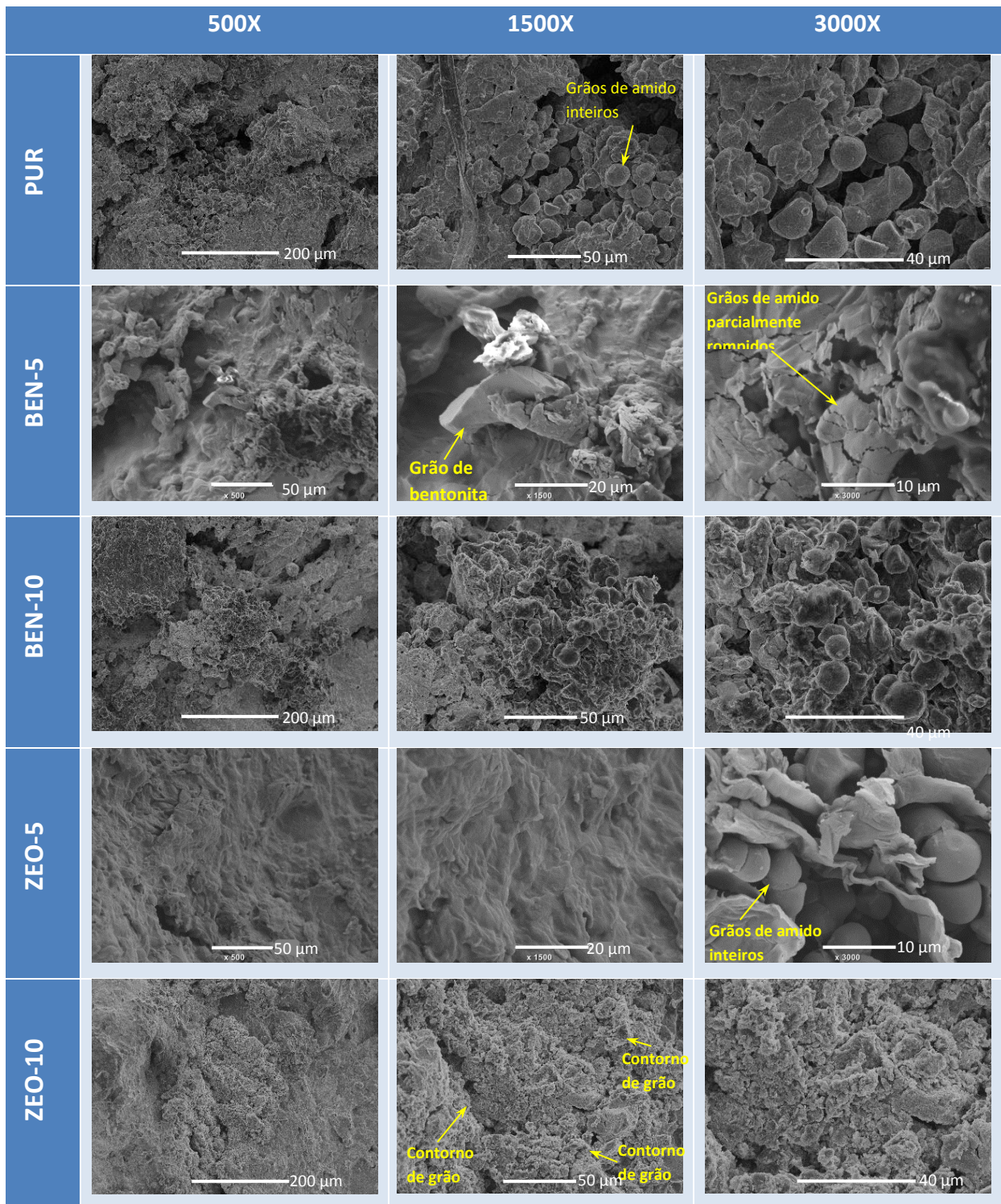
Fonte: Autora

Foi notado que a amostra PUR ficou com a consistência mais pastosa, enquanto que as demais composições apresentaram-se de forma granulada, em virtude de estas possuírem acréscimo de carga mineral em sua constituição e, por conseguinte, menor plasticidade a frio. A elevação da carga mineral conferiu à composição BEN-10 uma menor quantidade de aglomerados do que em BEN-5. Em ZEO-10 isto também pode ser observado, porém com diferença muito sutil em relação à ZEO-5 em termos de aspectos visuais. A ausência de água nas composições pode ter dificultado a penetração do amido nos grãos de bentonita e zeólita, produzindo baixa adesão entre os minerais e o TPS, após o seu processamento (Castaño *et al.*, 2012).

6.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As fotomicrografias, apresentadas na Figura 25, caracterizam a superfície do compósito puro e para cada composição.

Figura 25: Fotomicrografias dos compostos de TPS.



Todas as amostras apresentaram a superfície rugosa, porém ZEO-10 apresentou uma superfície mais homogênea. Todas elas (exceto ZEO-10) também apresentaram pontos com grãos de amido inteiros, o que indica a ocorrência de uma plastificação parcial da matriz de amido (Pedroso; Rosa, 2005; Rosa, Guedes, Carvalho, 2007; Aouada, Mattoso, Longo, 2013). Esse comportamento que

possivelmente interferiu nos resultados de ensaios de tração (Ahamed, Phang, Sin, 2016) e ângulo de contato (Shahbazi, Majzoobi, Farahnaky, 2018). Além disso, a falta de água na preparação da composição provavelmente prejudicou a uniformidade na plastificação do amido; segundo Manoel *et al.* (2017), a água favorece consideravelmente a plastificação de composições de TPS no processo de extrusão e, para casos em que haja baixa umidade, se faz necessária a elevação da taxa de cisalhamento no processo de extrusão; isto, no entanto, acaba por elevar a degradação do amido, prejudicando as suas propriedades mecânicas.

Foram observadas poucas fibras nas amostras, sendo esta uma indicação positiva de que possivelmente a granulometria da entrecasca de mandioca não fora empecilho para que ocorresse uma homogeneização dos grãos de amido com a glicerina dentro da matriz. Este é um forte indício de que o processamento de amido termoplástico a partir do uso de entrecasca de mandioca e glicerina “loira” é algo possível, podendo ser aprimorado fazendo ajustes mais adequados de temperatura e cisalhamento no seu processamento, proporcionando a partir daí o melhor aproveitamento destes dois subprodutos na produção de amido termoplástico.

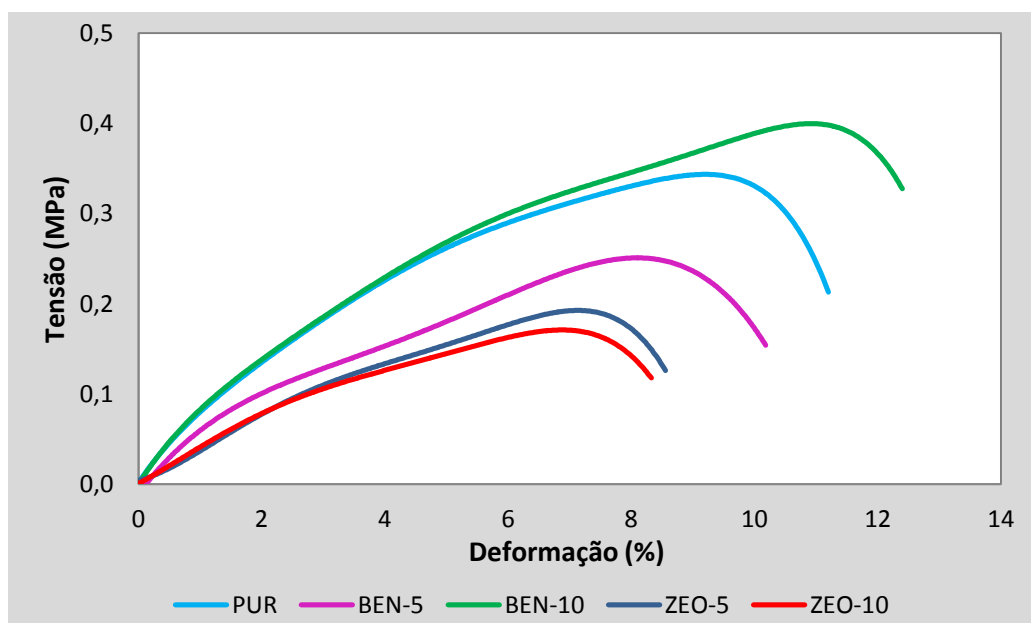
A adição da bentonita e da zeólita resultou em uma modificação significativa na morfologia dos compósitos, além de heterogeneidade. A má distribuição dos componentes na matriz polimérica das amostras, para Ahamed, Phang e Sin (2016), foi um dos fatores que interferiu nas propriedades mecânicas de suas amostras de TPS com montmorilonita. O incremento da carga mineral em BEN-10 e ZEO-10 conferiu às amostras uma rugosidade maior que em BEN-5 e ZEO-5, a exemplo das observações feitas para as mesmas composições nas ilustrações da Figura 24. A amostra ZEO-10 foi a que apresentou a melhor dispersão na matriz de TPS, e também não foram identificados grânulos de amido. O espalhamento pode ser observado na amostra, apesar da rugosidade apresentada na sua superfície, a qual pode ser proveniente do tamanho de grão da zeólita, evidenciado na fotomicrografia de ZEO-10 pela presença de contornos de grãos na amostra, sendo estes mais visíveis no aumento de 1500X, porém esta rugosidade favorece a penetração de água nas composições com zeólita (Yan *et al.*, 2014), o que é importante para o crescimento de fungos. Na amostra BEN-5 foi observado um grão de bentonita bem no centro da imagem obtida nos aumentos de 500 e 1500X, o que pode sugerir a existência de baixa interação entre o argilomineral e a matriz de TPS (Ahamed, Phang, Sin, 2016).

As fotomicrografias apresentadas apontam para uma necessidade de melhorias no processamento das composições de TPS no sentido de tornar completa a transformação do amido termoplástico e melhorar a dispersão dos minerais de argila na matriz de amido, para que os produtos formados com estas composições apresentem uniformidade ao longo de toda a sua constituição. Shahbazi, Majzoobi, Farahnaky (2018) verificaram que mudanças em temperatura e velocidade de cisalhamento interferem significativamente em fatores como textura, permeabilidade ao vapor de água e homogeneização do TPS.

6.1.4. Ensaios de tração

Após a extrusão e picotamento das amostras, os *pellets* obtidos foram prensados, obtendo-se placas, das quais foram preparados 12 corpos de prova de cada composição (n=12) para serem realizados os ensaios de tração, que permitem avaliar o comportamento mecânico dos materiais. As curvas de tensão x deformação obtidas para as amostras avaliadas estão ilustradas na Figura 26.

Figura 26: Ilustração das curvas de tensão x deformação das amostras.



De maneira geral observou-se que as amostras apresentam resultados próximos umas das outras, tendendo a se igualar à medida que se considera os limites das margens de erro. Alguns fatores provavelmente influenciaram na

obtenção destes valores aproximados, conforme exposto na avaliação das amostras por MEV, não permitindo, desta forma, que pudesse ser observada, de fato, a real contribuição dos minerais de argila nas propriedades mecânicas do material compósito. A ausência de água na preparação do TPS (Manoel *et al.*, 2017) e as condições de temperatura e cisalhamento no processamento do TPS (Shahbazi *et al.*, 2018) possivelmente foram fatores preponderantes para a não plastificação do TPS por inteiro, criando pontos de fragilidade precoce nas amostras processadas. Outro fator a ser tido em consideração é o fato de as amostras utilizadas não terem sido levadas à estufa antes da realização dos ensaios mecânicos; esta pode ser uma das razões para a queda nos resultados de tração. O amido possui certa higroscopicidade, que tende a ser elevada com o aumento do tempo de armazenamento (Ahamed *et al.*, 2016). Por esta razão, costuma-se manter as amostras de TPS para ensaios mecânicos de tração em ambiente com temperatura e umidade relativa do ar controlados. Ren *et al.* (2018), ao preparar as suas amostras para os ensaios mecânicos, as manteve por 3 semanas em temperatura ambiente, com umidade relativa controlada de $52 \pm 2\%$.

Os valores médios e suas respectivas estimativas de desvios padrão de resistência máxima de tração, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 8: Valores médios e suas respectivas estimativas de desvios padrão de resistência máxima de tração, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade para as amostras.

Composição	Resistência máxima de tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)	Módulo de elasticidade (MPa)
PUR	$0,35 \pm 0,03$	11 ± 1	$7,5 \pm 0,9$
BEN-5	$0,26 \pm 0,03$	10 ± 1	$5,0 \pm 0,5$
BEN-10	$0,40 \pm 0,03$	12 ± 1	$6,5 \pm 0,6$
ZEO-5	$0,20 \pm 0,03$	8 ± 2	$3,8 \pm 0,8$
ZEO-10	$0,18 \pm 0,03$	8 ± 2	$3,6 \pm 0,6$

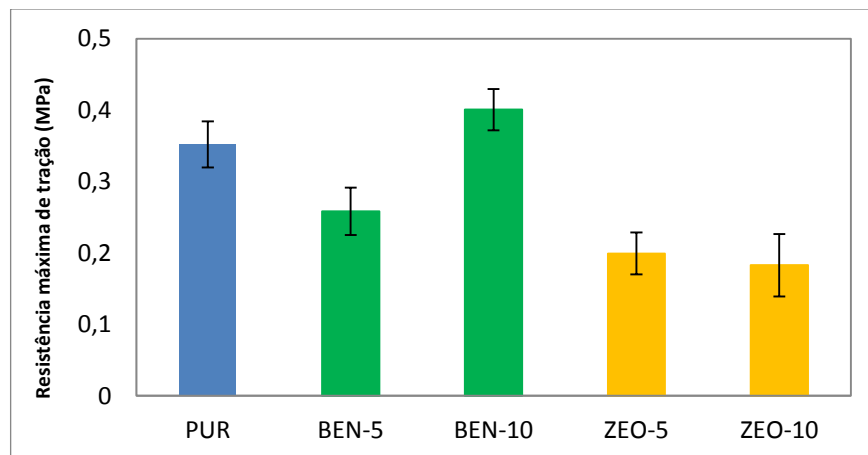
De acordo com os valores médios obtidos, foi notado que o incremento da carga mineral no TPS diminuiu a resistência mecânica das variações de composições em relação a PUR. Segundo Xie *et al.* (2015), a adição de filossilicatos, como é o caso da bentonita, eleva a tensão de tração e o módulo de Young de composições de TPS, diminuindo o alongamento na ruptura. Para que isto

aconteça é necessário, dentre outros fatores, que haja uma boa dispersão entre as camadas dos filossilicatos na matriz de amido, porém alguns resultados obtidos para as composições de BEN-5 e BEN-10 vão de encontro com esta teoria, apontando então para a necessidade de ajustes no processamento do material, a fim de obter um compósito de TPS com melhor *performance*. ZEO-5 e ZEO-10, por sua vez, apresentaram comportamento mecânico inferior em relação às demais composições; o acréscimo da zeólita aumentou a cristalinidade do compósito, agindo na matriz de TPS como um agente nucleante (Thipmanee *et al.*, 2015).

6.1.4.1. Resistência máxima de tração

A resistência máxima de tração corresponde à maior tensão que o material suporta antes de sua ruptura (Callister, 2014). Buscando avaliar o comportamento da adição dos diferentes teores de minerais, a Figura 27 ilustra os valores médios de resistência máxima de tração das diferentes composições ensaiadas (n=12).

Figura 27: Ilustração dos valores médios de resistência máxima de tração das amostras ensaiadas e suas respectivas estimativas de desvios padrão.



Conforme os resultados obtidos para os ensaios de resistência máxima de tração, foi possível fazer algumas considerações comparando principalmente com os resultados obtidos das fotomicrografias. Desprezando-se as margens de erro, verificou-se que a amostra que apresentou maior resistência máxima de tração quando aplicada uma carga foi a composição BEN-10; as demais apresentaram resistência inferior a PUR, que nesta situação também funcionou como comparativo

para avaliar a *performance* das amostras de compósitos. ZEO-10 foi a composição que apresentou a menor resistência máxima de tração.

Existe uma diferença entre os compósitos com bentonita e zeólita; BEN apresenta resistências máximas de tração superiores a ZEO. Essa superioridade pode estar relacionada com a granulometria da bentonita, que possui partículas com tamanho pelo menos 10 vezes inferior à zeólita, o que confere aos grãos de BEN uma maior superfície de contato com a matriz de TPS do que em ZEO. É sabido que quanto maior for o tamanho do grão na matriz, maior será a probabilidade de indução de tensões no material, reduzindo assim a sua resistência mecânica, então a elevada granulometria da zeólita associada à pequena faixa de distribuição granulométrica de suas partículas (pequeno empacotamento entre os grãos) pode ter-lhe atribuído pontos defeituosos, com maior probabilidade de propagação de tensões entre as partes dos compósitos, causando uma baixa resistência mecânica de tração em ZEO (CALLISTER, 2014). Embora houvesse a presença de fase amorfa no TPS da matriz, a plastificação parcial da matriz de TPS e a cristalinidade presente nos grãos de bentonita e zeólita podem ter sido importantes contribuintes para que este material compósito apresentasse o seu comportamento plástico reduzido, o que normalmente não aconteceria em uma matriz de TPS individualmente. A baixa resistência mecânica de tração pode estar associada a uma interação pequena entre os minerais e a matriz de TPS (Lorandi *et al.*, 2016).

Comparando PUR com os compósitos de bentonita, a composição BEN-5 foi inferior em relação a PUR, enquanto que BEN-10 foi a única composição que a superou. Comparando estes resultados com os aspectos visuais das composições antes da extrusão (Figura 24), a formação de maior número de aglomerados em BEN-5 pode ter-lhe sido prejudicial no sentido de ter formado partículas maiores e insuficientemente homogêneas na extrusão. De acordo com as fotomicrografias de BEN-5, a possível baixa interação entre a argila e a matriz de TPS (Aouada *et al.*, 2013) também pode ter sido uma causa da queda na sua resistência máxima de tração. No caso das bentonitas, que possuem estrutura lamelar, a formação de menos aglomerados em BEN-10 e o reforço na sua carga mineral podem ter provocado maior pressão dos grãos de bentonita entre a matriz de amido termoplástico durante o processo de extrusão, ocasionando ligeira esfoliação das camadas de bentonita, fornecendo mais adesão ao amido termoplástico e elevando

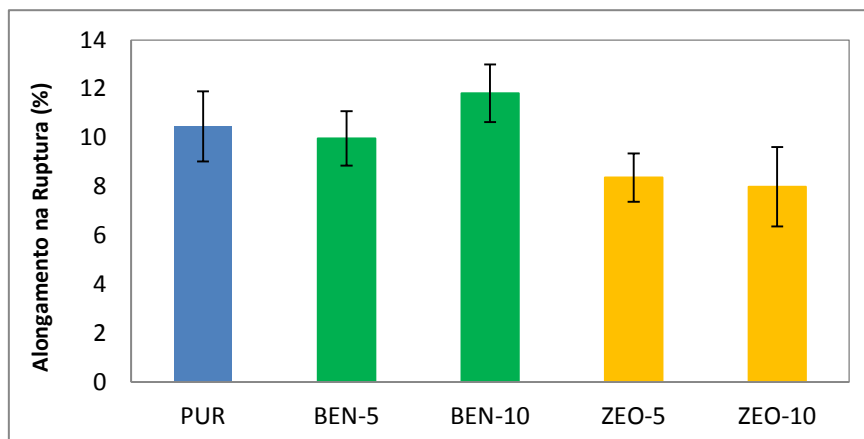
a sua resistência máxima de tração, conforme comportamento esperado em casos de acréscimo de bentonita na matriz de TPS (Ninago *et al.*, 2017).

Comparando os compósitos de ZEO, as resistências máximas de tração de ZEO-5 e ZEO-10 foram inferiores a PUR e sutilmente diferentes entre si (Plotegher, Ribeiro, 2013). O uso da zeólita, que além de possuir uma granulometria elevada em comparação à bentonita, possui uma estrutura cristalina tridimensional semelhante a uma esfera bastante porosa, pode ter resultado em uma pequena diminuição de resistência máxima de tração. Zhang, Zao e Chen (2017) já haviam alertado para o fato de que as zeólitas, devido à sua estrutura e interações de superfície, possuem a tendência de se agregar, tendendo a se dispersar no polímero de forma irregular, caso não recebam um tratamento prévio, resultando em pouca compatibilidade durante a polimerização e podendo comprometer as propriedades finais do compósito. O reforço da carga mineral na matriz de TPS pode ter elevado o número de pontos defeituosos no compósito, diminuindo ainda mais a resistência máxima de tração em ZEO-10, que mesmo apresentando a melhor dispersão na matriz de TPS, não foi suficiente o bastante para melhorar esta propriedade.

6.1.4.2. Alongamento na ruptura

Representado pela letra ϵ , o alongamento na ruptura indica o máximo comprimento percentual obtido para o corpo de prova enquanto este é submetido à tração, até que se rompa totalmente (Callister, 2013). A Figura 28 ilustra os valores médios obtidos para o alongamento na ruptura dos corpos de prova e os seus respectivos desvios padrão (n=12).

Figura 28: Ilustração dos valores médios de alongamento na ruptura das amostras, bem como suas respectivas estimativas de desvios padrão.



Considerando-se os limites de margens de erro, foi observada certa semelhança de resultados entre todas as amostras avaliadas, porém, se desprezadas estas margens de erro, encontrou-se como maior valor alcançado no alongamento na ruptura a composição BEN-10; as demais composições tiveram os seus valores inferiores a PUR, sendo atribuído a ZEO-10 o menor alongamento na ruptura. Em ensaios visando avaliar as propriedades de tração de TPS com reforço de cargas minerais como bentonita e zeólita, observa-se que pequenas porcentagens destes minerais na matriz de TPS geralmente eleva a resistência máxima de tração, enquanto diminui-se o alongamento de ruptura das amostras (Belibi *et al.*, 2013), portanto era esperado que BEN-10 apresentasse menor alongamento na ruptura, comparando-a com PUR, porém este resultado controverso pode estar evidenciando o efeito da má dispersão da bentonita na matriz de TPS, além de alertar para defeitos obtidos em virtude da ocorrência da plastificação parcial da matriz de TPS (Manoel *et al.*, 2017).

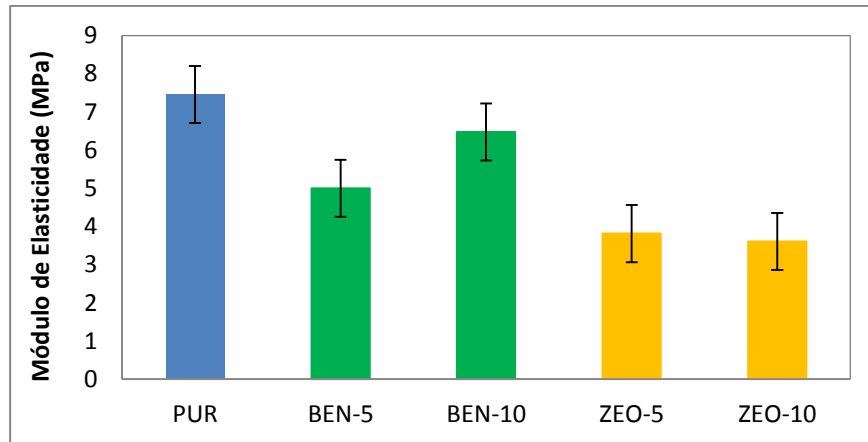
Os resultados de alongamento na ruptura entre as composições de ZEO-5 e ZEO-10 foram semelhantes entre si, observando ligeira queda em ZEO-10 ao compará-la com ZEO-5 (Plotegher, Ribeiro, 2013). Na interpretação dos resultados de resistência máxima de tração, o tamanho dos grãos e a distribuição granulométrica da zeólita possivelmente vêm a ser a justificativa para a ruptura precoce durante o alongamento das composições de ZEO.

6.1.4.3. Módulo de elasticidade

O Módulo de Elasticidade (E) é uma propriedade mecânica essencial quando se visa aplicações que exigem uma resistência mecânica do produto, e permite compreender a influência do reforço nas propriedades mecânicas do material.

A Figura 29 ilustra os valores médios obtidos e as estimativas de desvios padrão para o Módulo de Elasticidade das composições avaliadas ($n=12$).

Figura 29: Ilustração dos valores médios de Módulo de Elasticidade para as amostras e suas respectivas estimativas de desvios padrão.



Os valores obtidos de módulo de elasticidade para todas as amostras foram comparados com PUR, porque conforme descrito inicialmente, esta composição representa 100% de amido termoplástico, enquanto que as demais composições possuem o acréscimo de carga mineral. A composição PUR apresentou o maior módulo de elasticidade, evidenciando a sua propriedade plástica de alongar-se ao ser submetida à tração. Nas demais composições, com o acréscimo das cargas minerais bentonita e zeólita, a porcentagem de amido termoplástico diminuiu. Houve diminuição do módulo de elasticidade das variações de BEN e ZEO. Era de se esperar, porém, que BEN e ZEO apresentassem resultados superiores a PUR; para isso deveriam apresentar resistência máxima de tração bem maior do que PUR e/ou alongamento na ruptura inferior a PUR.

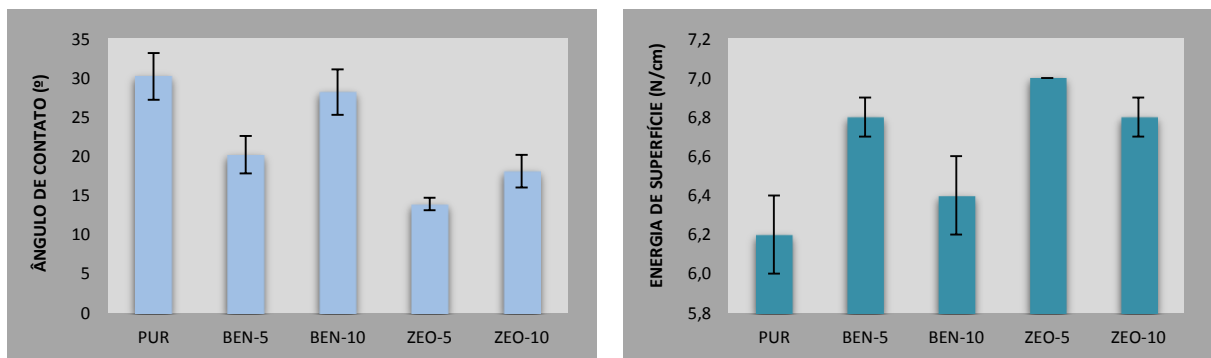
Estas características seriam obtidas caso o reforço dos minerais provocasse maior dispersão do amido termoplástico entre as camadas de bentonita e no interior dos grãos de zeólita, elevando a resistência mecânica dos materiais compósitos. Tais características poderiam ter sido melhoradas com uma melhor homogeneização dos componentes (Ahamed *et al.*, 2016). Pode ser somado a este, certo acréscimo de água na composição, a fim de melhorar a plastificação do TPS (Manoel *et al.*, 2017). Ren *et al.* (2018), comparando suas amostras de TPS com o argilomineral haloisita, utilizando como plastificante o glicerol ou o sorbitol, obtiveram melhores resultados de módulo de elasticidade ao utilizar o sorbitol, pois este contém maior quantidade de água do que o glicerol, causando melhor plastificação do TPS e dispersão da carga mineral na matriz.

O baixo módulo de elasticidade apresentado pelos compósitos de TPS reforça a hipótese de ter acontecido pouca esfoliação das lamelas de bentonita apenas em BEN-10, comportando-se o material como um aglomerado de partículas tridimensionais, assim como em ZEO. Ainda foi observado que BEN-10 apresentou módulos superiores a BEN-5 possivelmente devido a uma maior esfoliação das camadas de bentonita, elevando a resistência máxima de tração. No caso de ZEO, em que a morfologia dos grãos permanece inalterada com o cisalhamento durante a tração do material, foi obtido um resultado mais coerente entre as duas composições, apesar do baixo módulo de elasticidade obtido para ZEO-5, diminuindo ainda mais para ZEO-10. A interação entre o reforço e a matriz deste material compósito pode não ter sido positiva (Lorandi *et al.*, 2016), necessitando de melhorias, a começar com a diminuição do tamanho do grão.

6.1.5. Ângulo de contato

A medida do ângulo de contato foi realizada com o intuito de observar o espalhamento da gota de água sobre a superfície das amostras de TPS, de modo a identificar a molhabilidade de cada uma delas e compreender a capacidade de sorção da umidade contida no solo, necessária para que haja aumento da microbiota e que pode vir a favorecer a biorremediação do BTEX presente no solo contaminado e também a própria degradação dos compósitos de TPS no solo, uma vez que se trata de plásticos biodegradáveis. A Figura 30 ilustra os valores obtidos de ângulo de contato e energia de superfície para a amostra PUR e os demais compósitos de TPS (n=10).

Figura 30: Valores de Ângulo de Contato e Energia de Superfície para as amostras de TPS.



Os valores obtidos para ângulo de contato e energia de superfície mostram que as composições de TPS apresentaram molhabilidade classificada como ótima, pois os resultados de ângulo de contato foram menores que 90°. Como resultados de caracterização dos compósitos, as medidas do ângulo de contato mostraram decréscimo nos valores com o incremento da carga mineral nas amostras BEN e ZEO comparados com PUR. Já foi comprovado que o próprio amido termoplástico é um contribuinte para a redução do ângulo de contato em amostras de blendas poliméricas (Rodrigues *et al.*, 2015).

A presença das cargas minerais promoveu uma elevação da rugosidade na superfície, reduzindo ainda mais o ângulo de contato e aumentando da energia de superfície dos compósitos de TPS, melhorando a molhabilidade. Estes resultados divergem das pesquisas realizadas com compósitos de TPS e bentonitas, que mostram que a esfoliação das lamelas da bentonita contribui para a elevação do ângulo de contato nos compósitos de TPS (Villar *et al.*, 2017; Monteiro *et al.*, 2018).

Os compósitos contendo bentonita apresentaram uma ligeira superioridade de ângulo de contato em relação aos compósitos com zeólita. Belibi *et al.* (2013) também observaram tal comportamento em suas amostras de TPS contendo beidelita (tipo de argilomineral pertencente ao grupo das montmorilonitas) e zeólita. Foi realizado o ensaio de permeabilidade ao vapor de água (WVP) com filmes de TPS contendo os dois tipos de cargas minerais. Os resultados obtidos apontaram para maior permeabilidade ao vapor de água na amostra contendo zeólita, enquanto a amostra com beidelita se mostrou mais resistente à penetração do vapor. A explicação para tal diferença estava no fato da zeólita possuir maior afinidade com as moléculas de água, além da existência de lacunas existentes entre as partículas de zeólitas, por onde aconteceu a passagem de água com mais facilidade. No caso da bentonita, conforme também relatado por Liu *et al.* (2016), os filmes de TPS têm a sua resistência à penetração de água elevada por causa das lamelas do argilomineral, que são esfoliadas na matriz polimérica, formando caminhos tortuosos, que irão prolongar o caminho para a passagem da molécula de água.

Se por um lado os resultados aqui apresentados reforçam as observações já discutidas na análise das fotomicrografias destes compósitos, em que a plastificação parcial da matriz de amido, a pouca esfoliação das lamelas de bentonita, a maior rugosidade obtida nos compósitos e o elevado tamanho de grão da zeólita foram fatores fundamentais para a queda de desempenho nos ensaios mecânicos de

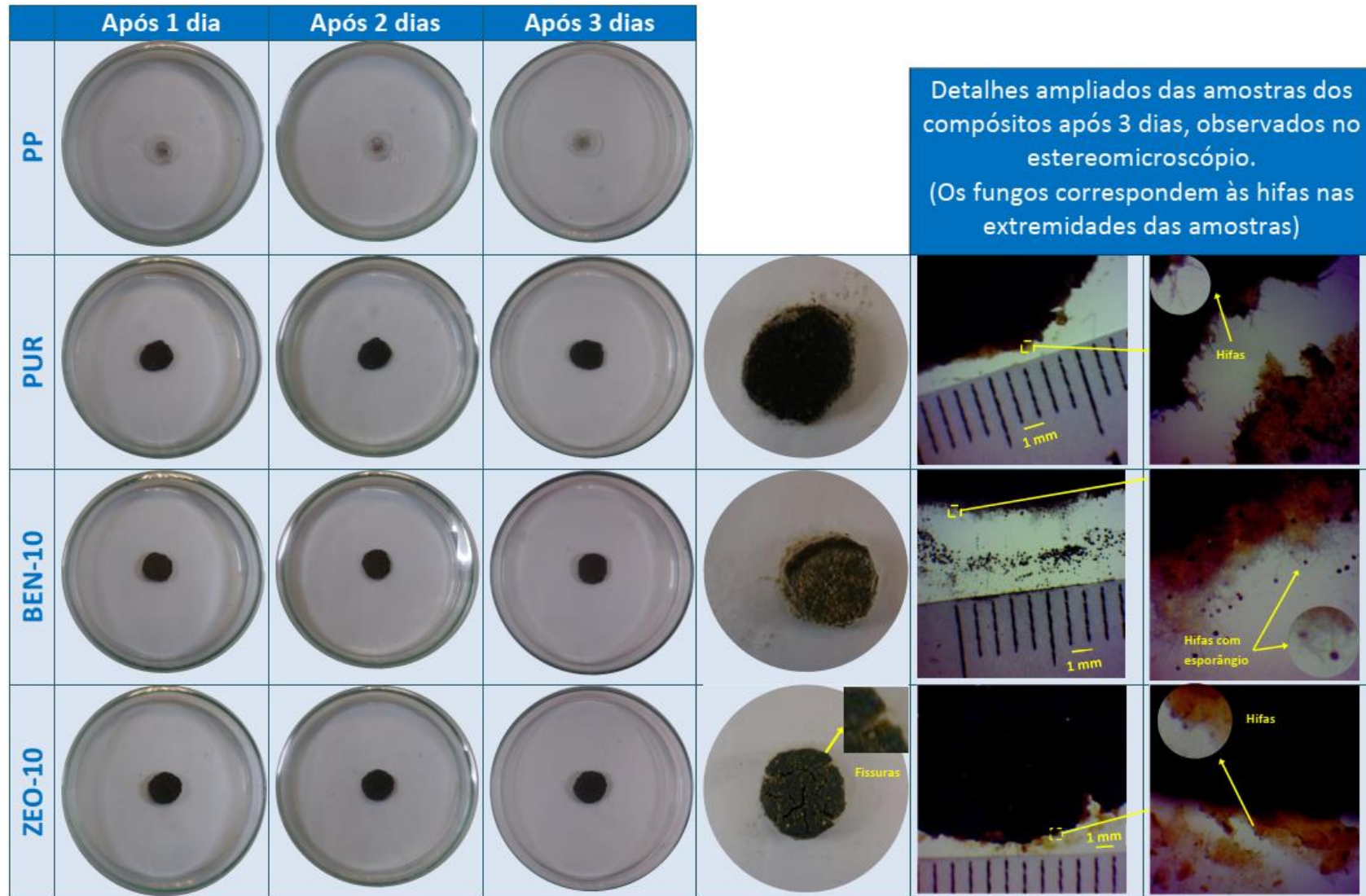
tração, por outro, lado estes mesmos resultados evidenciam a melhora na molhabilidade dos compósitos de TPS, o que tende a aumentar a interação entre a água e o substrato, tão importante para auxiliar no transporte de nutrientes para o microrganismo, além de favorecer a formação de biofilme no compósito.

6.1.6. Observação da afinidade dos compósitos de TPS com os fungos

Visando verificar a adaptação do *A. fumigatus* em meio às amostras de compósitos de TPS, foi observado o potencial de crescimento deste fungo tendo como substrato as amostras de PUR, BEN-10 e ZEO-10. Os ensaios foram feitos apenas com estas composições porque objetivou ilustrar o crescimento do fungo em meio ao TPS e compósitos com bentonita e zeólita, não importando no momento a variação de crescimento em função da porcentagem de carga mineral acrescentada. Os detalhes visuais que evidenciam a compatibilidade do *A. fumigatus* com as amostras de TPS estão registrados na Figura 31.

Após 3 dias de incubação observou-se que não houve espalhamento na amostra de PP (polipropileno), conforme era esperado, por se tratar de uma amostra inerte para a ação dos microrganismos (Branco). As amostras de compósitos de TPS, no entanto, evidenciaram crescimento microbiano, com concentração nas bordas das amostras. Este crescimento é um fato importante, uma vez que a presença das colônias do microrganismo em volta dos compósitos indica que aconteceu estímulo proveniente da presença do TPS, que agiu como nutriente em um ambiente úmido, podendo favorecer a biorremediação do solo contaminado com gasolina (Dhar *et al.*, 2012).

Figura 31: Compatibilidade do fungo *A. fumigatus* nas amostras de TPS.



Legenda: PP= Polipropileno (amostra branco); PUR= TPS puro; BEN-10= 90%TPS + 10% bentonita; ZEO-10= 90%TPS + 10% zeólita

Algumas diferenças foram observadas entre as amostras. Após 3 dias de incubação, a amostra de ZEO-10 absorveu mais rapidamente a umidade, sendo observadas fissuras na borda da amostra. Em ZEO-10, a presença de microrganismos foi menor em comparação com PUR e BEN-10, sendo isto, possivelmente, resultado da rápida absorção de água presente na solução com fungos, que acabou por não ser suficiente para auxiliar o crescimento dos *A. fumigatus*. BEN-10 apresentou as condições mais favoráveis para o crescimento microbiano, seguido de PUR, nas condições às quais foram expostos. Em BEN -10, porém, os fungos se apresentaram com o corpo frutífero mais visível.

Os resultados apresentados mostram a importância das cargas minerais, que podem vir a auxiliar o processo de biorremediação, atuando como adsorventes.

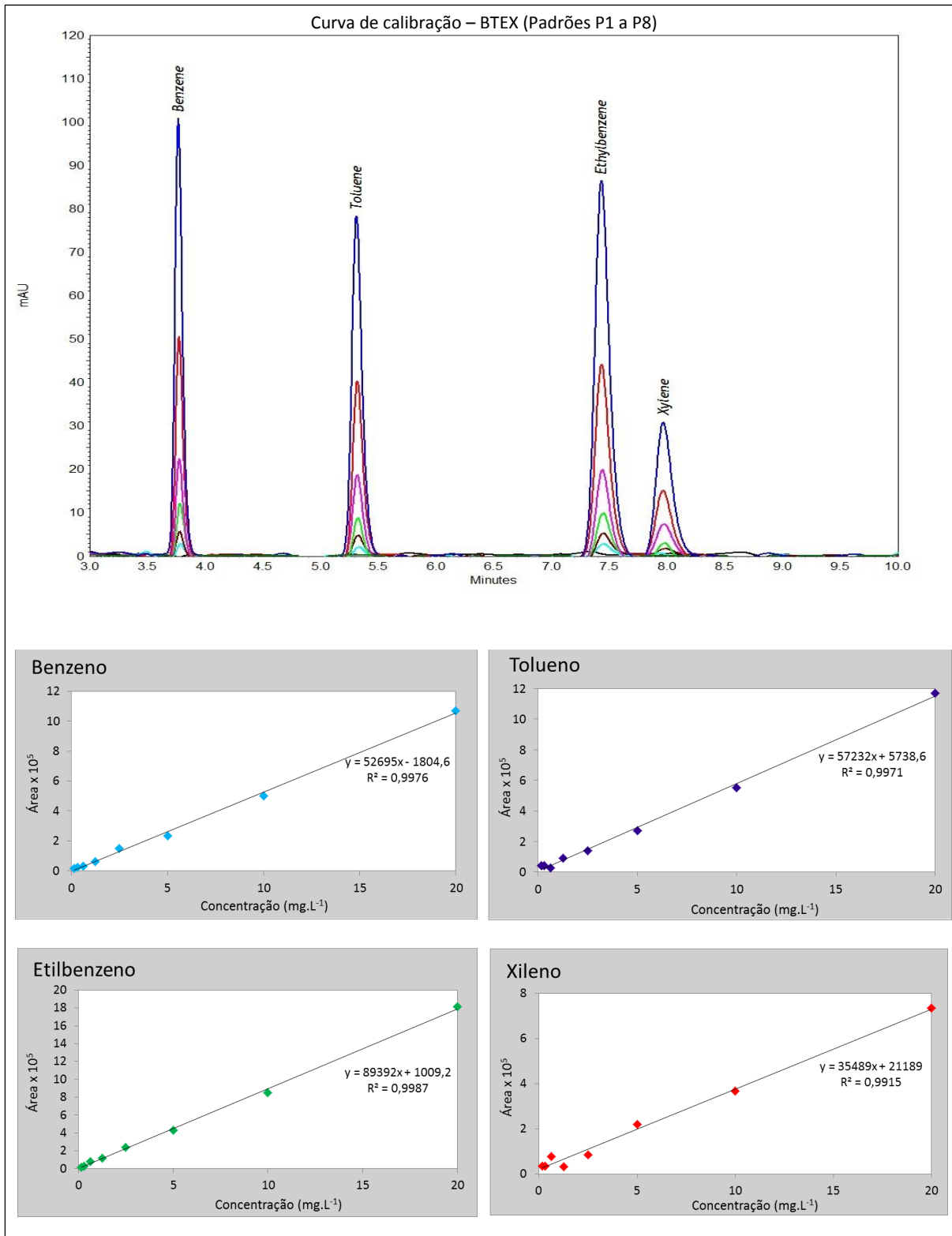
6.2. Validação do método de determinação do BTEX em solo utilizando Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC)

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos por meio de análise via HPLC dos teores de BTEX contido nas soluções padrão e na gasolina presente no solo. Os resultados necessários para verificar a taxa de remoção de BTEX em solo também são apresentados, uma vez que a cromatografia líquida foi a técnica utilizada para quantificar os teores de BTEX presentes no solo.

6.2.1. Padrões de calibração

Com o intuito de verificar se a técnica de HPLC apresentaria resultados com certa tendência linear ao longo da medição de variadas concentrações de BTEX, foram preparadas diferentes soluções padrão de BTEX diluídas em metanol em proporção 1:1 e submetidas à análise por HPLC. Foram construídas curvas de calibração, observando a linearidade para as concentrações de BTEX, cujas equações da reta e valores de R^2 constam Figura 32.

Figura 32: Cromatogramas e gráficos de linearidade dos padrões de BTEX.



A partir da construção da curva dos padrões de calibração, foi observada ótima linearidade, com valores de R² correspondentes a 0,9976 para benzeno, 0,9971 para tolueno, 0,9987 para etilbenzeno e 0,9915 para xileno, o que caracteriza

bons valores de trabalho para o equipamento HPLC em leituras dos teores de BTEX, uma vez que os valores de R^2 estão muito próximos de 1.

6.2.2. Verificação da repetitividade e reprodutibilidade

Os ensaios para verificar a repetitividade e reprodutibilidade foram feitos com o intuito de revelar a acurácia da metodologia desenvolvida para determinação do BTEX por meio de cromatografia líquida e também revelar a confiabilidade para a leitura de amostras diferentes de uma mesma composição. Os compostos de BTEX são muito voláteis e por esta razão é importante que o método de extração das alíquotas de BTEX presentes do solo com metanol apresente confiança.

Os resultados mostrados na Tabela 11 se referem às concentrações de BTEX encontradas para as Replicatas 1 e 2, que foram analisadas com injeções em quintuplicata.

Tabela 9: Concentração (mg.L^{-1}) de BTEX nas Replicatas 1 e 2; injeções em quintuplicata.

	Benzeno (mg.L^{-1})	Tolueno (mg.L^{-1})	Etilbenzeno (mg.L^{-1})	Xileno (mg.L^{-1})
Replicata 1 (2 mL de P_0 + 25 mL de metanol)	26,368	30,628	30,165	34,074
	26,330	30,804	30,033	33,552
	26,623	31,327	29,911	33,651
	26,355	30,510	30,139	33,270
	26,259	30,991	29,791	33,269
Replicata 2 (2 mL de P_0 + 25 mL de metanol)	27,375	30,835	30,067	33,369
	26,332	30,735	30,266	32,691
	26,395	30,775	29,927	32,902
	26,272	30,915	30,023	34,401
	26,433	31,936	30,001	34,526
Média	26,474	30,946	30,032	33,571
Mínimo	26,259	30,510	29,791	32,691
Máximo	27,375	31,936	30,266	34,526
Desvio padrão (mg.L^{-1})	0,333	0,412	0,137	0,606
Desvio padrão (%)	1,26	1,33	0,46	1,81

Os valores da Replicata 1 foram muito próximos aos da Replicata 2. O cálculo do desvio padrão foi feito com a média das Replicatas 1 e 2, obtendo-se valores com baixo desvio padrão para o BTEX, revelando que a técnica de cromatografia líquida

em questão apresenta repetitividade, reproduzindo valores adequadamente, permitindo uso da cromatografia líquida como técnica apropriada para a quantificar a presença de BTEX encontrados no solo contaminado com gasolina.

6.2.3. Validação da recuperação de BTEX do solo

A retirada de amostras de BTEX no solo para a realização de ensaios deve ser feita com muita cautela, levando em consideração que estes compostos são altamente voláteis, logo parte deles fica presente misturada com o ar, distribuída no espaço do frasco que o comporta (headspace). Outra interferência nos resultados de coleta e remoção destes compostos do reside no fato de que parte do BTEX fica adsorvida no solo, sendo muito difícil a sua remoção com o uso do metanol em temperatura ambiente, principalmente quanto mais argiloso for este solo (Haghollahi *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2017). Por estas razões se faz necessário conhecer qual é a taxa de recuperação do BTEX.

Para verificar a eficiência da extração do BTEX contido na gasolina acrescentada no solo, foi verificada a diferença entre os resultados obtidos para a solução *Gasolina + metanol* e esperados para a solução *Solo + gasolina + metanol*, obtendo-se assim a taxa de recuperação de BTEX, ou seja, a diferença percentual entre o que entrou de BTEX e o que ficou retido no sistema, cujos valores foram apresentados na Tabela 12.

Tabela 10: Recuperação do BTEX em solo.

1º caso	Branco/Referência (mg.L ⁻¹)	Obtido (mg.L ⁻¹)	Recuperação (%)
	Gasolina + metanol	Solo + gasolina + metanol	
Benzeno	9,8	6,6	67,3
Tolueno	102,7	76,8	74,9
Etilbenzeno	48,3	37,6	77,8
Xileno	157,9	122,7	77,7

2º caso	Branco/Referência (mg.L ⁻¹)	Obtido (mg.L ⁻¹)	Recuperação (%)
	Gasolina + metanol + 1,0 mL P ₀	Solo + gasolina + metanol + 1,0 mL P ₀	
Benzeno	20,3	17,9	88,2
Tolueno	112,9	92,4	81,8
Etilbenzeno	59,6	50,0	83,9
Xileno	168,0	137,8	82,0

No primeiro caso de comparação do resultado esperado com o obtido, ou seja, comparando-se a solução gasolina + metanol com a solução solo + gasolina + metanol, a taxa de recuperação de BTEX variou de 68 a 78%, concluindo-se que parte do BTEX ficou adsorvida no solo e não conseguiu ser totalmente removida com a adição do metanol. No segundo caso, com o acréscimo de 1 mL da solução P_0 , em que o BTEX está presente em uma concentração bem superior à encontrada na gasolina, a comparação entre o resultado esperado e o obtido elevou a taxa de recuperação de BTEX para 82 a 88%, indicando que no segundo caso, as partículas do solo não conseguiram adsorver o BTEX com a mesma intensidade do primeiro, por causa de certa saturação existente no solo, resultando em uma taxa mais elevada de recuperação do BTEX (Varona-Torres *et al.*, 2018).

Tendo em vista que o método de validação de recuperação em BTEX contido no solo contaminado com gasolina apresentou resultados adequados de linearidade com o uso do HPLC, que os ensaios com as amostras de solo contaminado foram reprodutivos, conhecendo-se também qual é a taxa de recuperação de BTEX em solo, foi possível, neste estudo, adotar a cromatografia líquida como técnica para identificar os teores de BTEX presentes no solo no decorrer dos 30 dias seguintes de análise, de maneira a permitir observar se houve diminuição de BTEX com a participação dos microrganismos e com o uso dos materiais compósitos de TPS.

6.3. Avaliação preliminar para determinação das UFCs de fungos adicionados no solo

Nesta seção são mostrados os resultados de contagem do número de UFCs encontrados nos solos estéril e normal. Os ensaios de variação nas concentrações de UFCs de fungos adicionados no solo contaminado com gasolina foram realizados para identificar a adaptação do fungo *A. fumigatus* no solo e escolher a concentração de fungos a ser utilizada posteriormente na etapa final de aplicação das técnicas de biorremediação do solo usando os compósitos de TPS. Neste sentido, foi verificado se o crescimento de microrganismos e a remoção de BTEX contido no solo estavam ou não relacionados com a variação das concentrações de UFCs de fungos adicionados no solo.

Durante a obtenção dos primeiros ensaios com solos normal e estéril, foi notado que os frascos de 500 mL, que continham as amostras, não apresentavam

vedação adequada para este tipo de teste, pois acabaram não conseguindo reter toda a gasolina. Assim sendo, considerou-se que o escape da fase gasosa causou alterações no sistema e, por conseguinte, nos resultados obtidos. Observou-se também que a esterilização do solo não aconteceu de modo satisfatório, à medida que as amostras 0 UFC, que não deveriam apresentar quaisquer microrganismos, apresentaram contagens com valores elevados de UFCs. Diante do exposto, observou-se que os resultados apontados não se mostrariam confiáveis, pois o processo de esterilização não aconteceu de maneira íntegra. Linhares *et al.* (2018), para avaliar a ação do fungo patógeno *Macrophomina phaseolina*, causador da podridão cinzenta no caule do feijão caupi, fizeram a esterilização do solo utilizado no cultivo da leguminosa. Para isso, o solo umedecido foi autoclavado duas vezes a 120°C, durante uma hora, com intervalo de 24 horas entre as duas esterilizações. Dellai *et al.* (2014) verificando a ação do óleo de eucalipto, associado com o fungo *Pisolithus microcarpus*, em bracatinga cultivada em solo contaminado com cobre, esterilizaram o solo três vezes em autoclave a 121°C, por 60 minutos. Desta forma, para produzir resultados mais fidedignos, foi considerada uma nova condição de preparo do solo, sendo este esterilizado em autoclave a 120°C, durante 50 minutos, sendo a seguir acondicionado em um freezer por intervalos de 24 horas entre as 3 vezes em que foi repetida a operação. As avaliações foram feitas para solos normal e estéril, com a contagem de 0 e 12.000 UFCs.

6.3.1. Crescimento de microrganismos nos solos normal e estéril.

Os resultados de crescimento da população do *A. fumigatus* nos solos normal e estéril foram registrados por meio da contagem de UFCs presentes no solo após 2, 7 e 30 dias de acondicionamento na incubadora, com os valores médios contidos na Tabela 13.

Tabela 11: Número de microrganismos (UFCs) presentes nos solos estéril e normal em 30 dias.

Solos	<i>A. fumigatus</i>	2 dias	7 dias	30 dias
Estéril	F+G _(estil)	17	40	19
Normal	GAS _(normal)	42	52	42
	F+G _(normal)	64	32	49

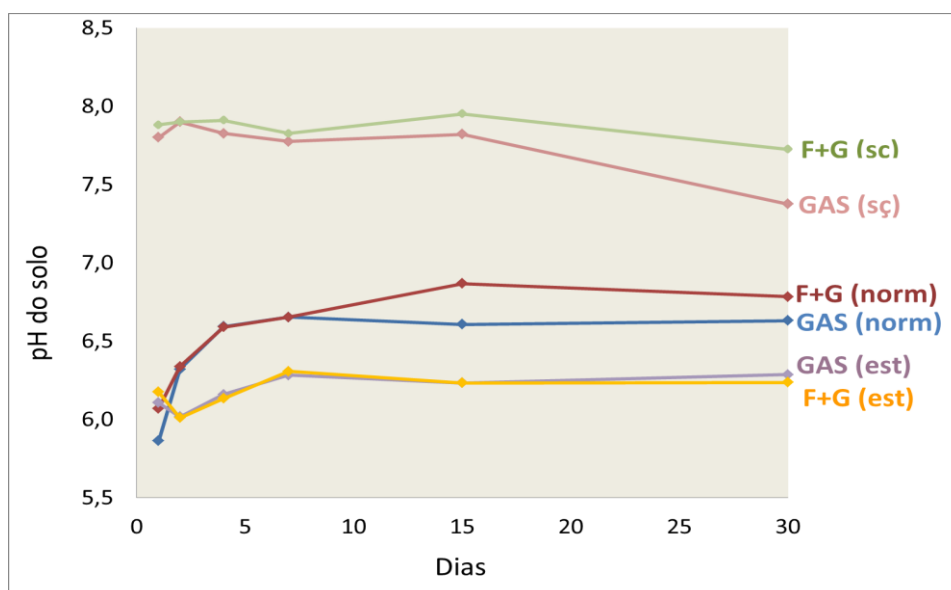
No ensaio de crescimento de *A. fumigatus* no solo estéril foi observada uma fase inicial de adaptação dos fungos no meio, seguindo de crescimento da comunidade fúngica e indicação de declínio após 30 dias. Estes resultados mostram a adaptação do fungo no solo.

O solo normal evidencia a presença dos microrganismos nativos, somando-se aos fungos *A. fumigatus*, durante os 30 dias. Embora tenha havido maior número de microrganismos no solo normal em relação ao solo estéril, esta quantidade de microrganismos parece pequena, sugerindo-se que houve competição entre os microrganismos presentes e/ou a ação de todos estes, atuando em consórcio, com a finalidade de metabolizar a gasolina. A escassez de nutrientes e de espaço pode gerar competições entre a comunidade microbiana, causando o crescimento de algumas espécies mais dominantes em um tempo que pode ser mais curto ou mais longo (Cavalcante, Martins, Martins, 2017)

6.3.2. Valores de pH obtidos para os solos normal e estéril, em 30 dias de avaliação

Os valores de pH encontrados nos solos normal e estéril foram avaliados, com resultados apresentados na Figura 33 (n=3). As composições GAS_(sç) e F+G_(sç) (amostras sem a presença de solo) foram utilizadas como comparativas, a fim de observar a ocorrência de alteração de pH nas amostras de solos estéril e normal.

Figura 33: pH das amostras em solos normal e estéril.



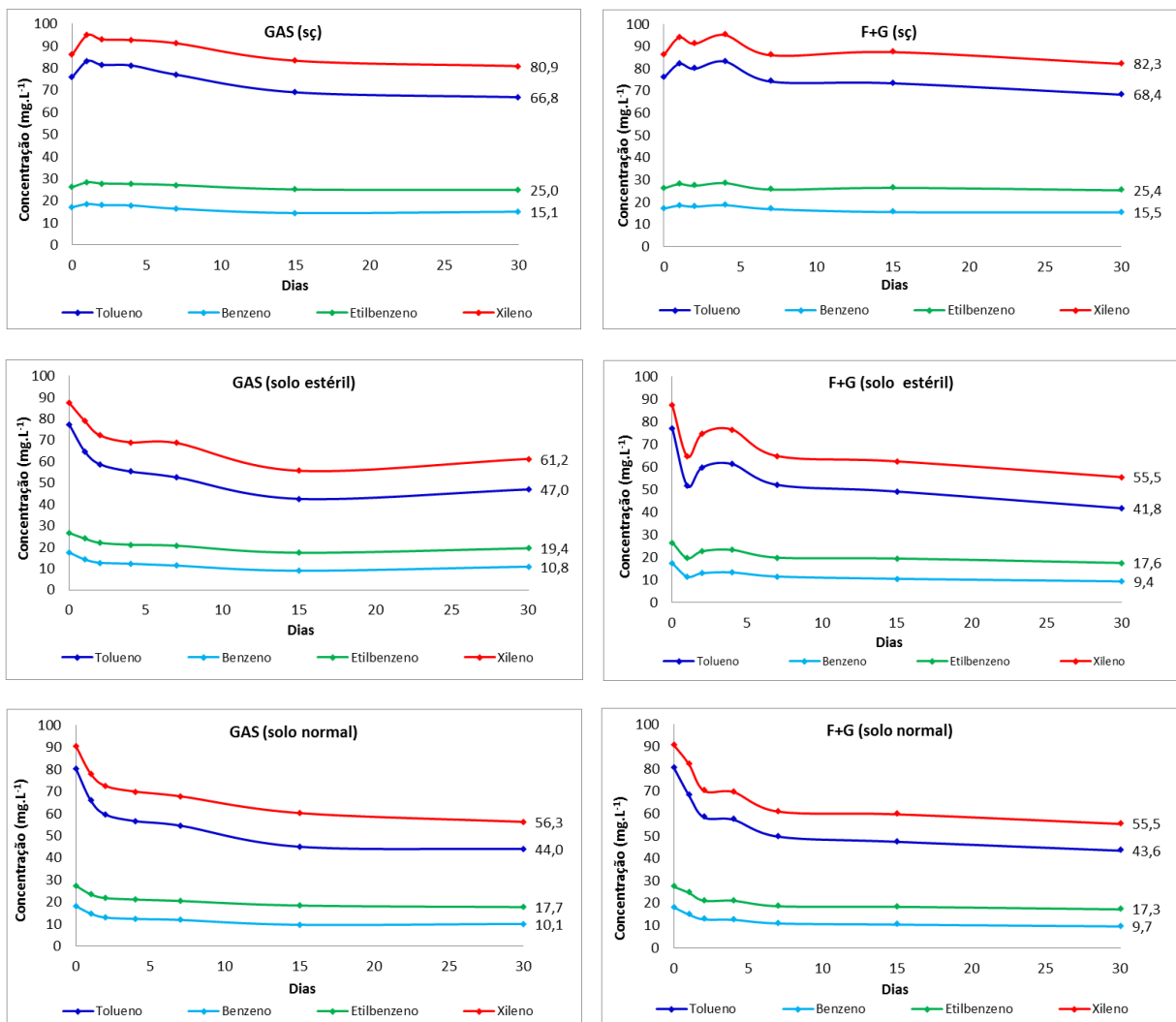
Legenda: F+G= fungo + gasolina; GAS= gasolina;
sç= solução sem solo; norm= solo normal; est= solo esterilizado

Foram observados nas amostras avaliadas 3 níveis de pH. As amostras GAS_(sç) e F+G_(sç) apresentaram pH mais elevado em relação às amostras com solo. De acordo com Brown *et al.* (2017), o pH em no solo pode variar de 2,5 a 12; isto acontece em razão da química do solo ser muito variável ao longo de sua extensão.

6.3.3. Valores de BTEX encontrados nos solos normal e estéril

A quantificação do teor de BTEX presente nos solos normal e estéril ao longo de 30 dias foi feita por HPLC. Os valores médios de BTEX encontrados nas amostras no decorrer de 30 dias estão representados na Figura 34.

Figura 34: Valores médios de BTEX das amostras no decorrer de 30 dias (solos).



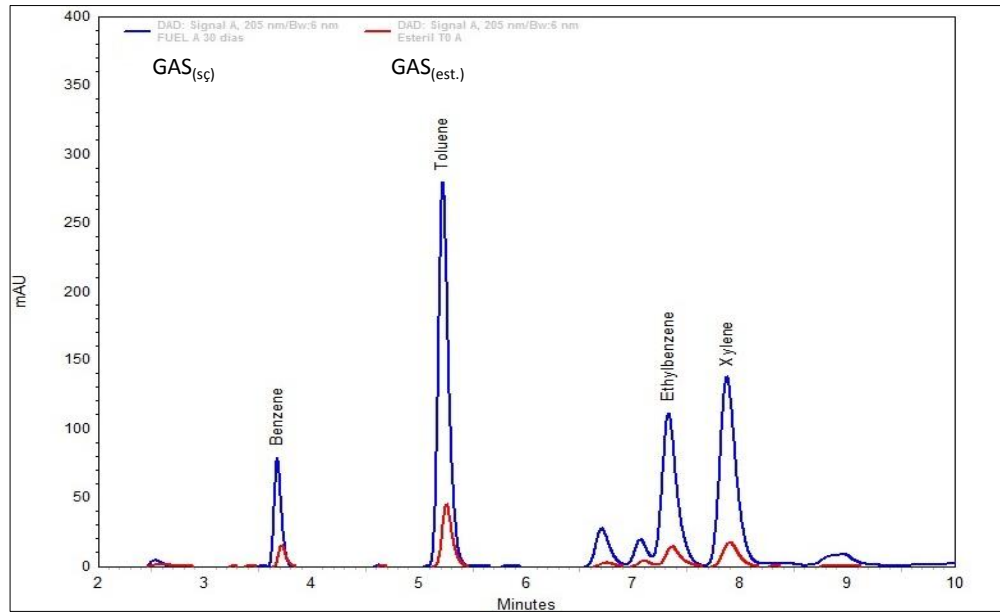
É possível observar que decorridos os 30 dias, as amostras sem solo, ou seja, GAS_(sç) e F+G_(sç) apresentaram a concentração de BTEX inferior à inicial, indicando uma perda, possivelmente por volatilização, uma vez que o BTEX é um composto altamente volátil. Por esta razão, é possível inferir que a redução do BTEX no solo, como será visto a seguir, não aconteça totalmente devido a efeitos de adsorção do solo e/ou degradação por parte de microrganismos, uma vez que a perda de BTEX também acontece no sistema das composições com solo, conforme será mostrado posteriormente.

Foram feitas as seguintes comparações:

- Amostras com gasolina (coluna esquerda) x amostras com fungo + gasolina (coluna direita): as amostras sem e com o acréscimo de *A. fumigatus* produziram resultados finais muito próximos em termos de concentração final de BTEX. Foi notado, porém, que decorridos os 30 dias, a redução na concentração de BTEX com o acréscimo dos fungos foi ligeiramente maior do que nos solos sem o acréscimo de *A. fumigatus*, tanto em solo normal, como no solo estéril, podendo indicar certa contribuição destes microrganismos na redução do BTEX. Nota-se, também, que as amostras de solo F+G apresentaram uma oscilação no teor de BTEX nos 4 dias iniciais. Zhong (2018) aborda esta questão, informando que a concentração de BTEX cai inicialmente, elevando-se ao longo do tempo, tendendo a se estabilizar acima das 16 horas, considerando-se o equilíbrio de adsorção atingido às 48 horas. Admite-se também a oscilação decorrente da presença dos fungos acrescentados, pois nas amostras de solo F+G, a oscilação inicial de BTEX é maior do que em GAS.

- Amostras apenas com gasolina x amostras com solo + gasolina: primeiramente, observando o solo estéril, ou seja, comparando-se GAS_(sç) com GAS_(est.), houve redução no teor de BTEX com a presença de solo no sistema. Essa redução está representada na Figura 35 e corresponde ao BTEX que foi adsorvido pelo solo, cujos valores percentuais estão quantificados na Tabela 14.

Figura 35: Cromatogramas - Gasolina em solução ($GAS_{(sc)}$) e em solo estéril ($GAS_{(est.)}$).



Fonte: A autora

Tabela 12: Porcentagem de BTEX adsorvido no solo estéril no período de 30 dias.

	Benzeno	Tolueno	Etilbenzeno	Xileno
1 dia	23%	22%	16%	17%
2 dias	30%	28%	21%	22%
4 dias	32%	32%	24%	26%
7 dias	31%	32%	24%	25%
15 dias	38%	38%	31%	33%
30 dias	28%	30%	22%	24%
Média	30%	30%	23%	24%

No decorrer dos 30 dias, a adsorção dos elementos no solo foi maior para o benzeno (30%) e tolueno (30%) do que para o etilbenzeno (23%) e xileno (24%). Desta forma, é possível obter a taxa média de recuperação de BTEX no solo, o que corresponde ao valor percentual que não foi adsorvido pelo solo, ou seja, 70% para o benzeno, 70% para o tolueno, 87% para o etilbenzeno e 86% para o xileno.

O equilíbrio de adsorção foi atingido após 2 dias. Zhong (2018), analisando amostras de solo árido contaminados com BTEX, também encontrou o equilíbrio de adsorção de suas amostras após 48 horas.

Observando o comportamento BTEX no solo, foi notado que os valores obtidos com os solos estéril e normal se igualaram dentro do limite da margem de erro, mantendo essa diferença no decorrer dos 30 dias. Fatores como temperatura, teor de matéria orgânica e pH do solo influenciam na sorção/adsorção de BTEX (Zhong, 2018). Logo, a atividade microbiana pode afetar o pH do solo, dependendo da quantidade de nutrientes que é disponibilizado e metabolizado. Como foi encontrado BTEX no solo ao final de 30 dias, uma hipótese admitida é a de que a presença dos microrganismos nativos e do *A. fumigatus* tenha sido insuficiente para causar a completa degradação do BTEX.

Outra hipótese é a de que esses microrganismos tenham recebido pouco BTEX para serem ativados ou então utilizado o carbono já presente no solo, não metabolizando, *a priori*, o BTEX. O tipo de solo também influencia significativamente no processo de biorremediação. Haghollahi *et al.* (2016) avaliaram a remoção de hidrocarbonetos de petróleo (TPH) em tipos de solos altamente contaminados com gasolina; foram escolhidos 4 tipos de solos, contendo: (I) 100% de areia, (II) acima de 95% de argila, (III) 68% de cascalho e 32% de areia, e (IV) 40% cascalho, 20% areia e 40% argila. Foram inoculados nestes solos microrganismos degradadores de petróleo e avaliada a remoção e TPH em um período de 270 dias.

O melhor resultado de remoção de TPH foi alcançado pelo solo com areia (70%), tendo o solo argiloso o pior desempenho (23,5%), sendo que este, após 100 dias de tratamento, alcançou menos de 10% de remoção. Estes resultados mostram que a eficiência de remoção do poluente está associada com o tempo de tratamento, tamanho de partículas e presença de matéria orgânica no solo. Estas são algumas das razões de serem feitos reforços com diversos nutrientes, com junção de técnicas que irão estimular o crescimento microbiano, acelerando o processo de biorremediação.

A seguir, os mesmos resultados são apresentados em termos de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, isoladamente, nas Figuras 36 a 39.

Figura 36: Valores médios de Benzeno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.

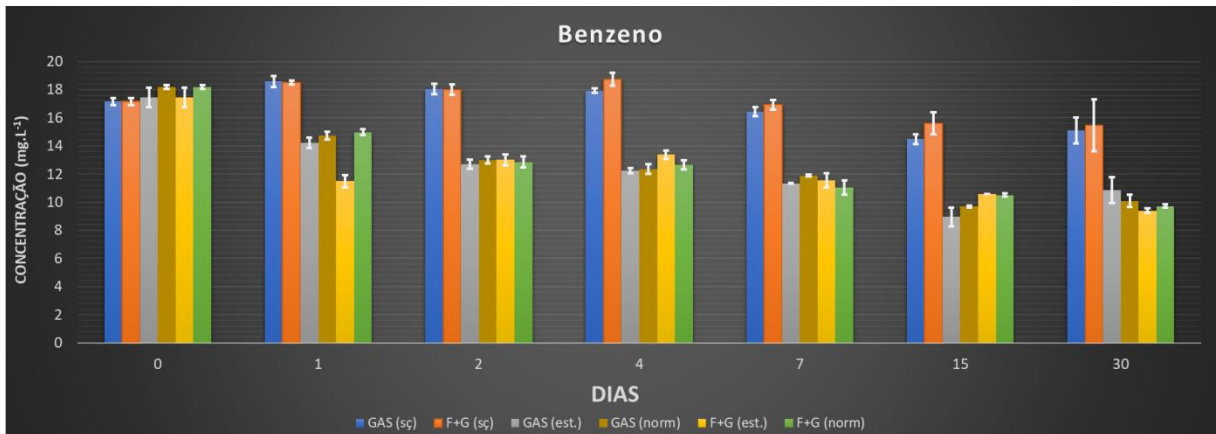


Figura 37: Valores médios de Tolueno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.

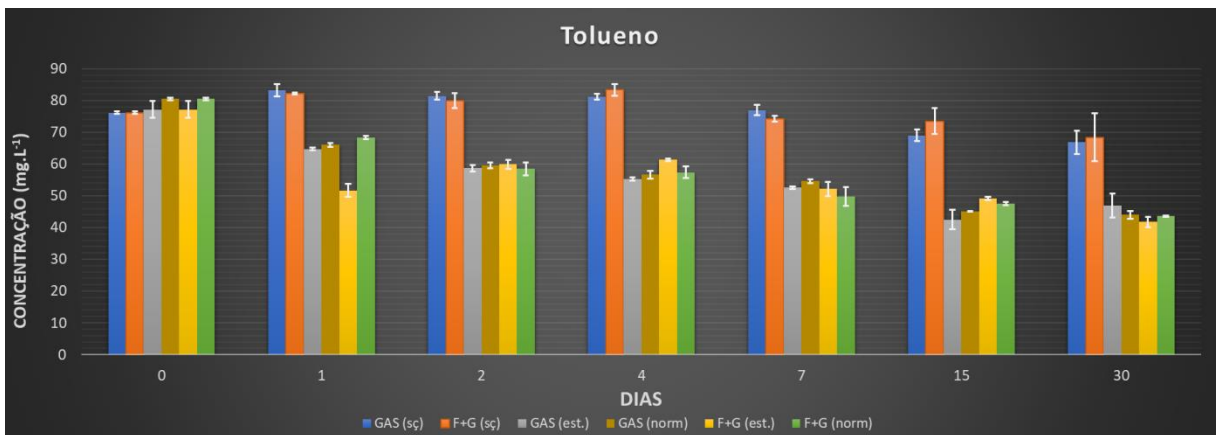


Figura 38: Valores médios de Etilbenzeno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.

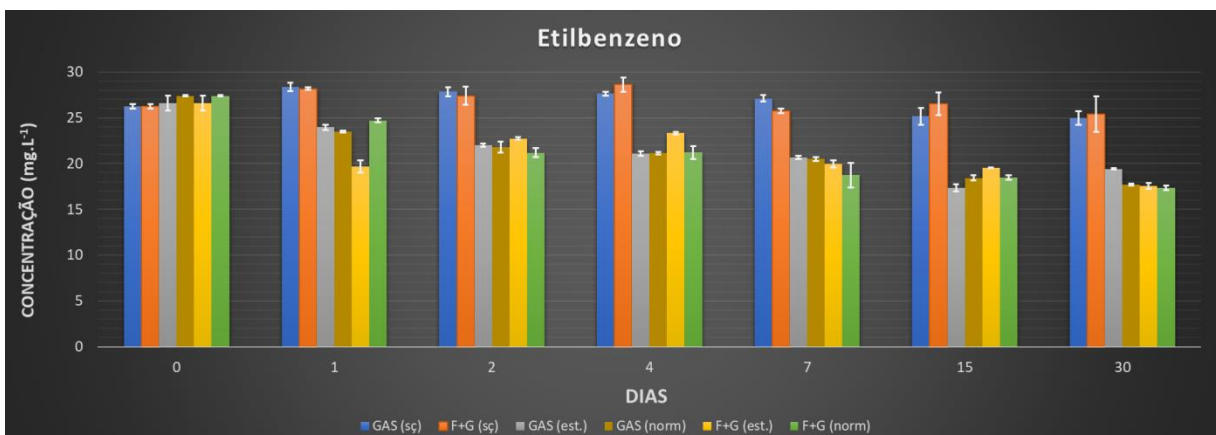
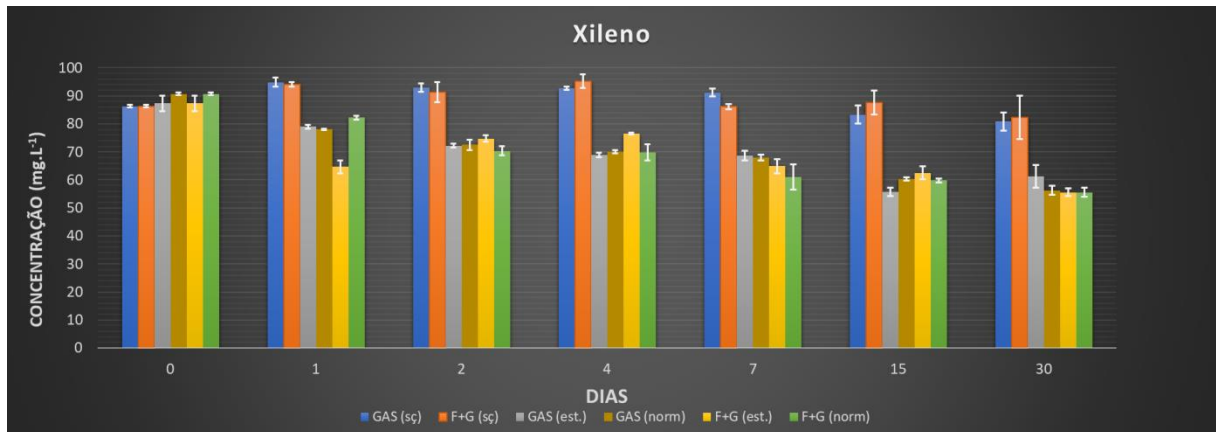


Figura 39: Valores médios de Xileno encontrado nas amostras de solos ao longo de 30 dias.



Considerando os limites das margens de erro, é possível observar que as amostras sem solo, ou seja, os brancos $GAS_{(sç)}$ e $F+G_{(sç)}$ não apresentaram perda de BTEX no sistema, desde o instante T_0 até T_{30} . Esta informação é importante para se constatar que o sistema preparado para acondicionar as amostras de solo contaminado com gasolina se mostrou eficiente, com ótima vedação, e que a redução de BTEX foi originária, principalmente, da adsorção do poluente por parte do solo, uma vez que os solos estéril e normal apresentaram valores similares de BTEX no final dos 30 dias.

6.4. Avaliação da biorremediação do BTEX contido no solo com a adição de *A. fumigatus* e compósitos de TPS

A etapa de avaliação da biorremediação é a fase final deste estudo, que evidencia quais foram os êxitos alcançados com a criação de um novo material compósito biodegradável em termos de contribuições na mitigação do impacto do ambiental causado pela ação do BTEX da gasolina no solo, de maneira que se possa delinear os próximos passos para a aplicação deste estudo de uma forma mais sustentável e economicamente viável. São apresentados os resultados de crescimento de microrganismos e presença de BTEX no solo contaminado com gasolina e contendo os materiais compósitos de TPS no decorrer de 30 dias.

6.4.1. Crescimento de microrganismos no solo com compósitos de TPS

A contagem de microrganismos presentes no solo com a adição de *A. fumigatus* e compósitos de TPS foi registrada, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 15.

Tabela 13: Número de microrganismos (UFCs) presentes nos solos com compósitos de TPS no decorrer de 30 dias.

Composições	1 dia	2 dias	4 dias	7 dias	15 dias	30 dias
PUR	87	57	219	209	139	55
BEN-5	123	81	179	195	88	34
BEN-10	133	100	260	196	157	74
ZEO-5	125	56	208	124	171	57
ZEO-10	98	105	271	141	150	62

Ao fazer uma comparação entre as amostras de solo sem TPS (solos normal e estéril) e com os compósitos de TPS (PUR, BEN e ZEO), observou-se que o crescimento de UFCs de microrganismos foi maior nas composições com TPS, indicando que o TPS atuou como fonte de carbono para estimular o crescimento dos microrganismos presentes (Datta, Halder, 2018, 2019). Até o quarto dia, nas composições com cargas minerais ocorreu maior desenvolvimento no número de microrganismos do que em PUR, mostrando que a adsorção de água (e, provavelmente de nutrientes) por parte das cargas minerais favoreceu a multiplicação microbiana.

6.4.2. pH e teor de carbono do solo com os compósitos de TPS

Os valores de pH e teor de carbono encontrados nas amostras de solo com os compósitos de TPS foram avaliados, com resultados ilustrados nas Figuras 40 e 41 (n=3). As composições GAS_(norm) e F+G_(norm) foram utilizadas como comparativas, referentes ao solo sem compósitos de TPS.

Figura 40: pH do solo com os compósitos de TPS.

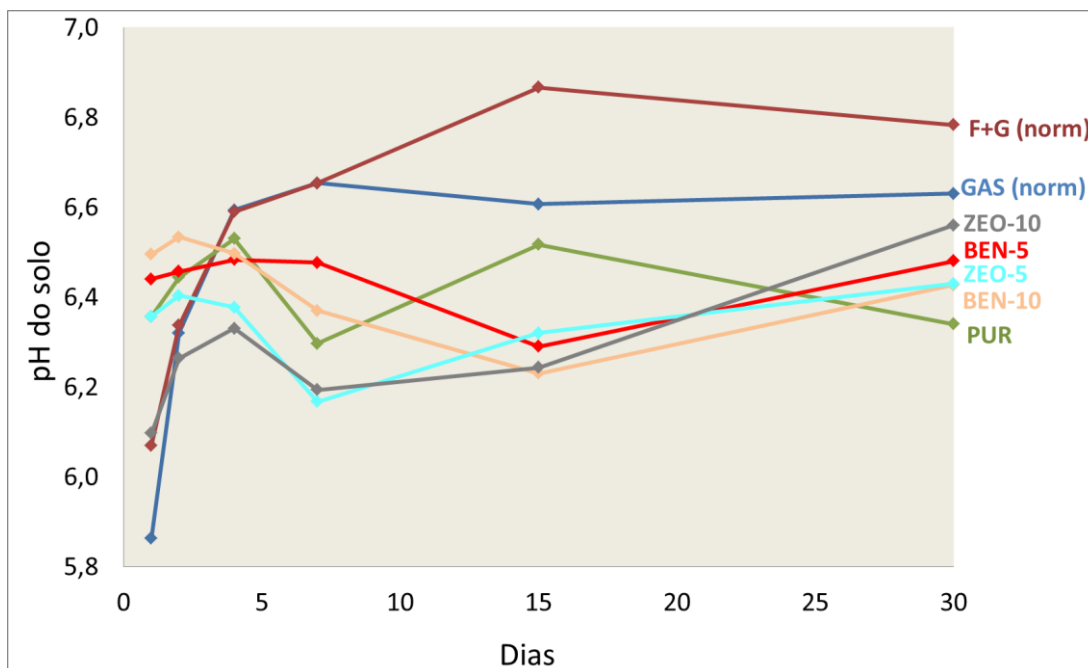
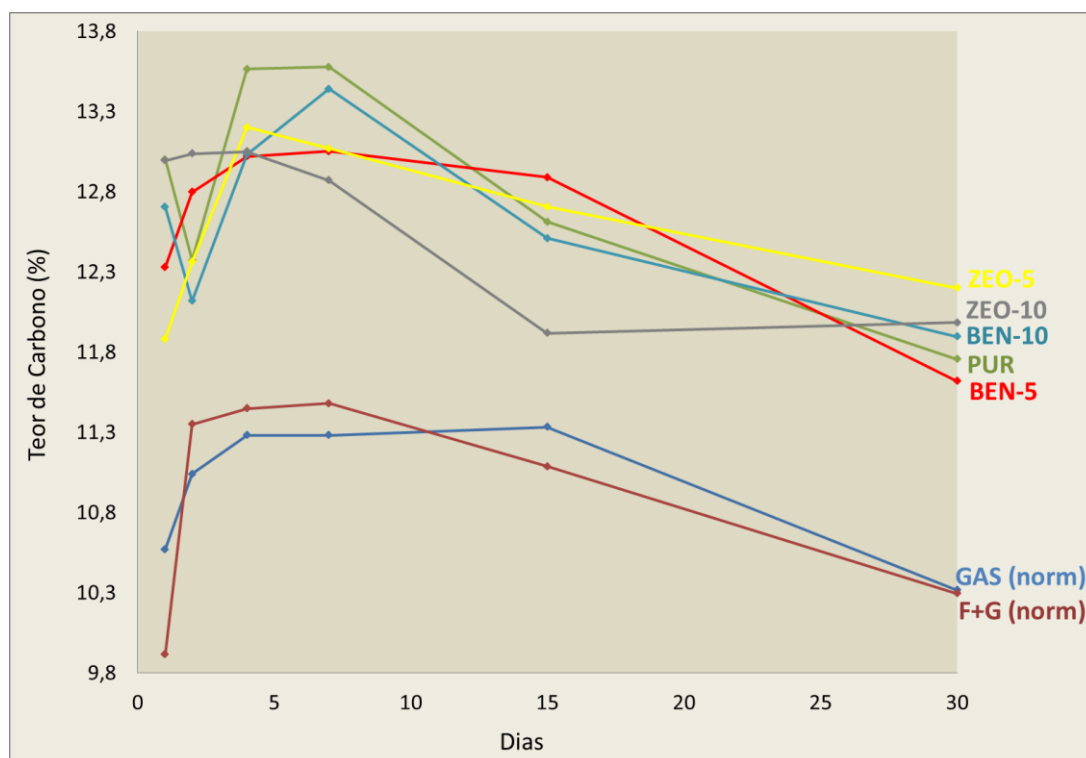


Figura 41: Teor de carbono do solo com os compósitos de TPS.



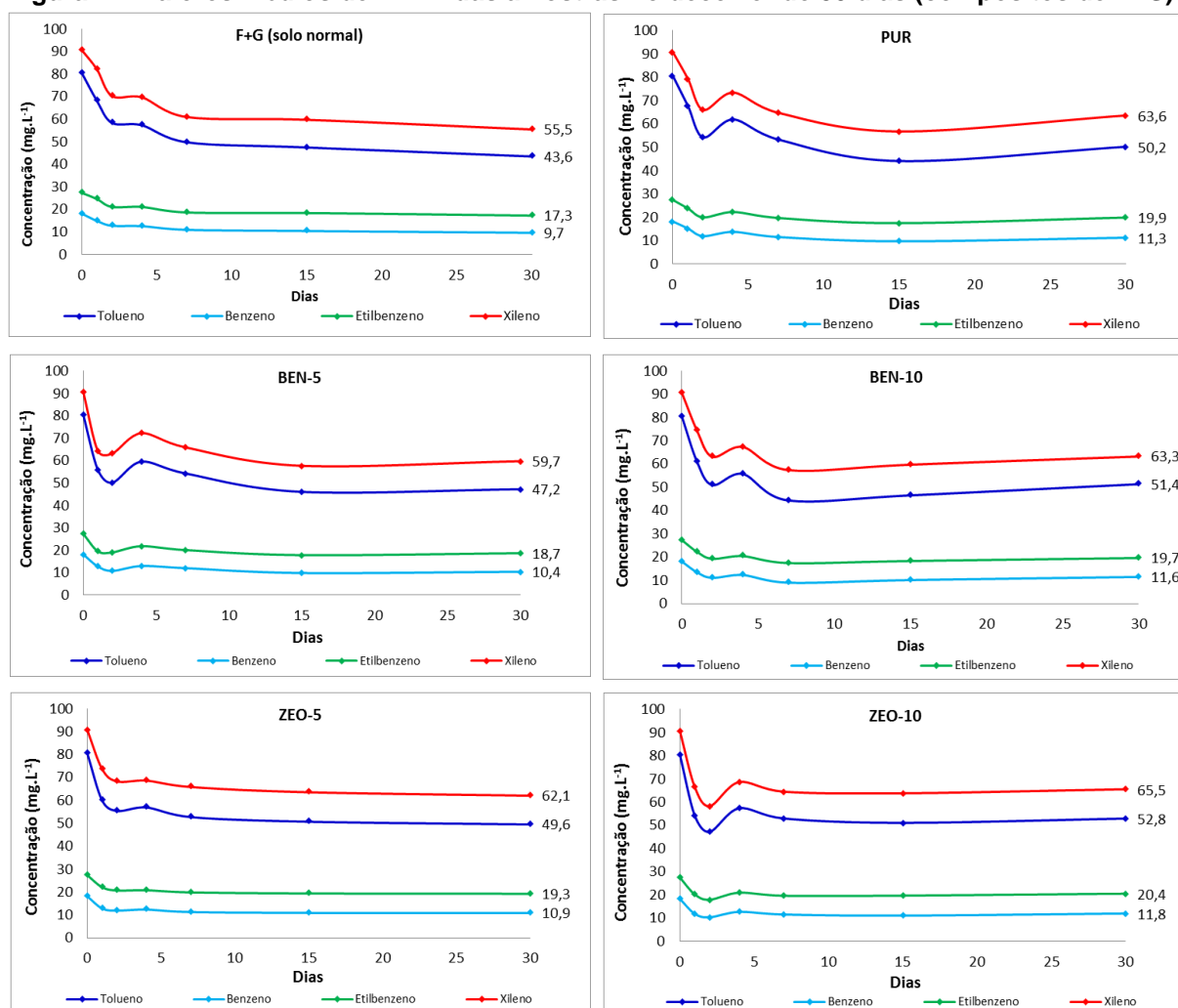
A atuação de microrganismos torna-se evidente com a presença dos compósitos de TPS nos primeiros 7 dias, a ser comprovado pela elevação da oferta de carbono no solo pela alteração do pH, que variou de 6,3 a 6,6 no solo com os compósitos de TPS. Em um estudo de caso realizado por Zhong (2018), foi

investigada a adsorção de BTEX no solo em função da alcalinidade, salinidade, teor de matéria orgânica e temperatura ambiente, no qual se constatou que em pH abaixo de 7,6, a redução do pH implica em elevação da adsorção de BTEX no solo. Brown *et al.* (2017) relata, contudo, que a faixa ótima de pH para a biodegradação de hidrocarbonetos situa-se em torno de 6,5 a 8, e que os microrganismos que atuam na degradação são muito sensíveis às variações de pH.

6.4.3. Valores de BTEX encontrados nos solos com compósitos de TPS

O BTEX contido nas amostras de solo com os materiais compósitos de TPS foi extraído dos frascos e medido no HPLC, com triplicata de amostra e duplicata de injeção, totalizando em um número amostral igual a 6 para cada composição. A Figura 42 ilustra os valores médios de BTEX encontrados nos solos com o acréscimo de compósitos de TPS ao longo de 30 dias de biorremediação.

Figura 42: Valores médios de BTEX das amostras no decorrer de 30 dias (compósitos de TPS).



Em todas as amostras em que foi acrescentado o *A. fumigatus*, inclusive nas amostras de compósitos de TPS notou-se uma inflexão na curva de BTEX, ocorrida entre o 1º e o 2º dia, podendo ser resultante do equilíbrio do processo de sorção/adsorção ocorrido no solo, até em 48 horas (Zhong, 2018), mas também podendo ser proveniente, em parte, da ação metabólica de microrganismos presentes no solo.

Ao final de 30 dias, os valores de BTEX das amostras de PUR e dos demais compósitos de TPS elevaram, comparando com o solo F+G_(norm), sem TPS. É interessante notar que, com a elevação das cargas minerais de bentonita e zeólita em BEN-10 e ZEO-10, elevou-se um pouco mais o teor de BTEX em relação ao que foi encontrado em BEN-5 e ZEO-5, respectivamente. Para melhor compreender os resultados obtidos para PUR e as suas variações de cargas minerais, as amostras foram comparadas separadamente, de acordo com cada composto de BTEX, com resultados apresentados nas Figuras 43 a 46.

Figura 43: Valores médios de Benzeno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.

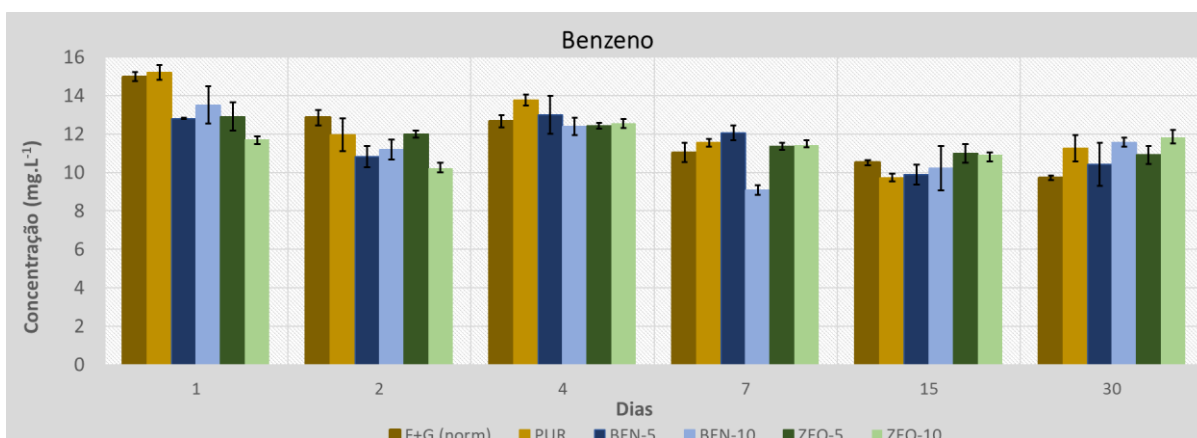


Figura 44: Valores médios de Tolueno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.

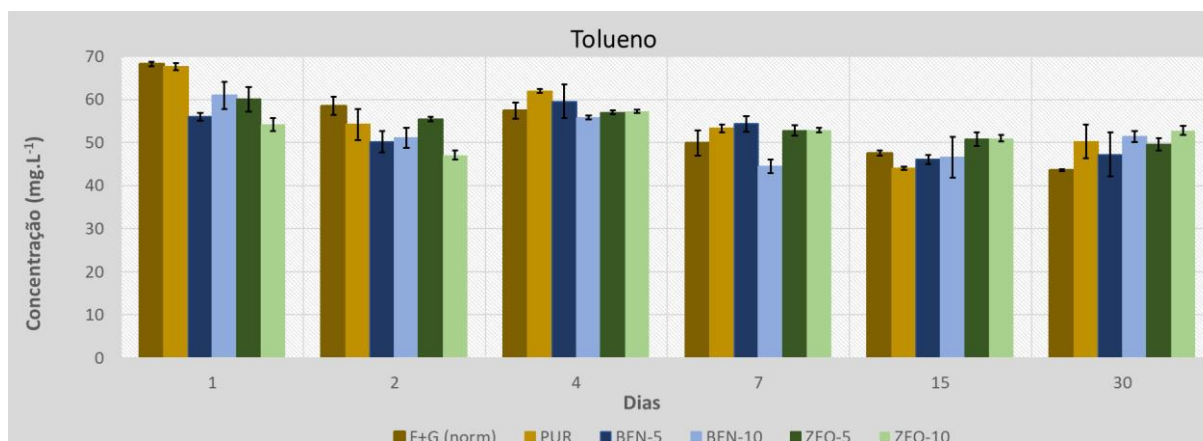


Figura 45: Valores médios de Etilbenzeno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.

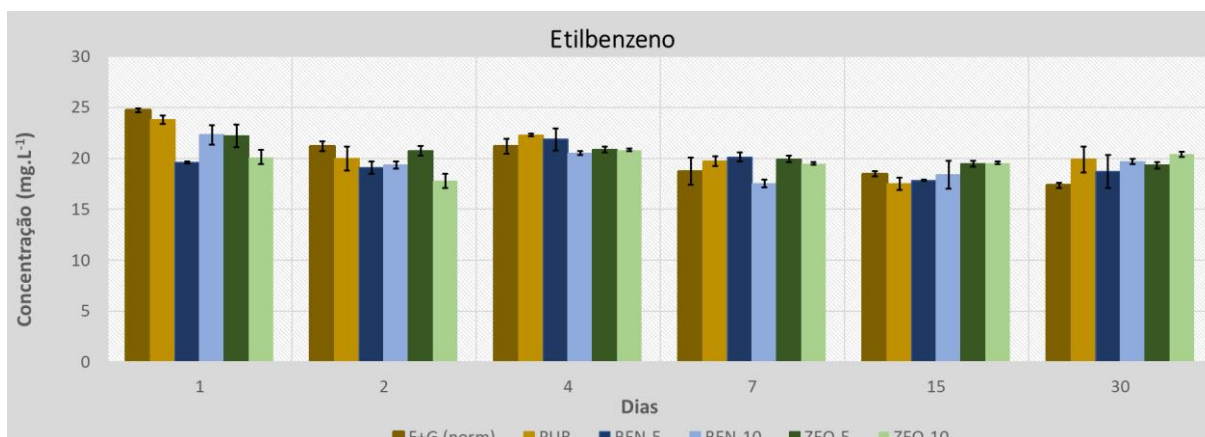
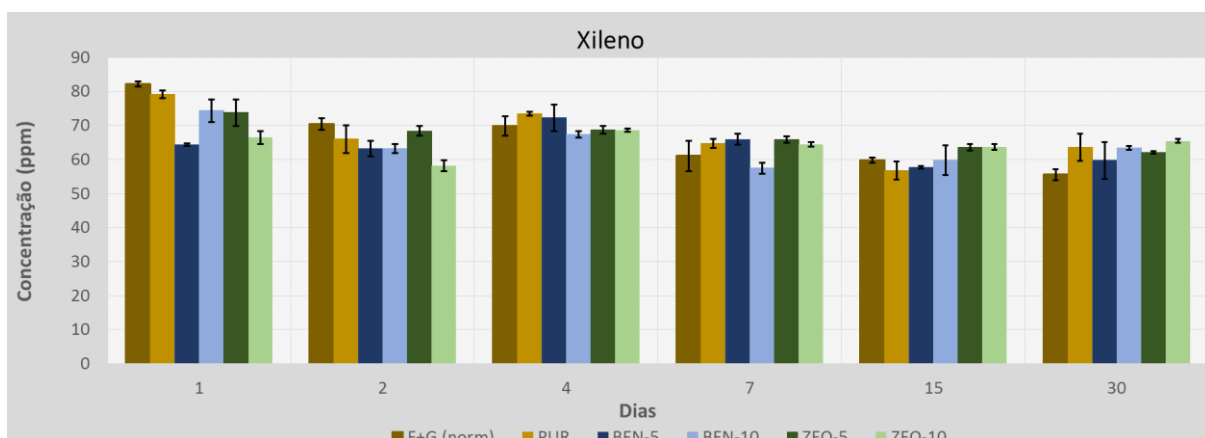


Figura 46: Valores médios de Xileno encontrados nas amostras de solos ao longo de 30 dias.



Foi observado que o comportamento em termos de proporção obtida para os valores de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno nas amostras analisadas era semelhante, de tal forma que possibilitou a avaliar a presença dos quatro compostos voláteis como um só. Desprezando-se os limites das margens de erro, é possível observar algumas diferenças entre as amostras.

Até o segundo dia notou-se que as composições com os compósitos de TPS, ou seja, com as cargas minerais, apresentaram o teor de BTEX reduzido em relação a PUR e a F+G_(norm). Esta diferença possivelmente está relacionada com a contribuição dada pela bentonita e pela zeólita, proporcionando rápida absorção de água (Bandura *et al.*, 2017). A absorção de água no sistema é importante para favorecer o crescimento dos microrganismos, conforme foi evidenciado nos resultados de crescimento microbiano. Com a rápida absorção de água, parte da gasolina presente também pode ter sido capturada. Com o passar do tempo, porém, o teor presente de BTEX das amostras com compósitos se igualou à amostra de

solo sem os compósitos, ou seja, $F+G_{(norm)}$, chegando, inclusive, a superar a quantidade final de BTEX encontrada nos testes anteriores, realizados com os solos normal e estéril. Uma hipótese admitida é a de que o fato de o TPS ser higroscópico e os minerais de argila também o serem, em maior potencial, isto possivelmente tenha inibido parte da adsorção que deveria ser realizada pelo solo, sendo que depois de 2 dias, o BTEX passou a ser liberado dos compósitos de TPS para o sistema por meio de sorção, no momento em que foi adicionado e misturado com o metanol para a coleta de alíquota para o ensaio no HPLC.

Se a adição dos compósitos de TPS pareceu não ter culminado, *a priori*, em contribuição significativa para a biorremediação de BTEX no 30º dia, a captura de BTEX nos primeiros dias de tratamento torna-se interessante no sentido de evitar que parte do BTEX seja perdida por volatilização no headspace; neste caso, se for elevado o número de microrganismos degradadores de BTEX no início do processo, possivelmente este BTEX capturado pelos compósitos de TPS seja degradado.

Conforme observado no final do 30º dia, o BTEX ainda estava presente no sistema. Processos de biorremediação, no entanto, normalmente acontecem por períodos superiores a 30 dias (Haghollahi *et al.*, 2016), desta forma, não se pode descartar a possibilidade de serem feitas alterações no processo, de modo que a biorremediação venha a acontecer a curto prazo, efetuando-se melhorias no tamanho e distribuição granulométrica das partículas dos minerais utilizados (Zhang *et al.*, 2017), no processamento do material compósito (Shahbazi *et al.*, 2018), no preparo do solo e dos microrganismos (Padilha *et al.*, 2017) utilizados para os estudos futuros. Wojtowicz (2009) e Villar *et al.* (2017) estudaram a degradação do amido no solo, alcançando a biodegradação do TPS no solo após 45 dias de incubação das amostras.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo propôs a criação de um material compósito biodegradável em solo contaminado com gasolina que, diferente dos outros materiais plásticos convencionais, que demoram cerca de 200 anos para serem degradados, apresenta rápida degradação, contribuindo desta forma para a mitigação do impacto ambiental que fora causado no solo. Foi possível desenvolver amido termoplástico com uso dos subprodutos entrecasca de mandioca e glicerina “loira”, acrescentando bentonitas e zeólitas, de granulometria em escala micrométrica, gerando com isso um material compósito de baixo custo e baseado em matérias primas naturais. Apesar de a análise morfológica identificar a plastificação parcial do amido na matriz de TPS, ajustes de pressão e temperatura durante o processamento do material são recomendáveis, de maneira a intensificar também as propriedades mecânicas dos compósitos de TPS.

O método de HPLC utilizado mostrou confiabilidade em termos de linearidade de padrões de BTEX, com adequada repetitividade e reprodutibilidade das amostras analisadas. O uso do HPLC indicou na definição do método uma taxa de recuperação de BTEX que variou de 68 a 78%, valores estes que vieram a ser ainda mais elevados na aplicação deste método para os testes finais com o solo contaminado com gasolina, em que a taxa de recuperação de BTEX alcançou valores entre 70 e 87%. A média de desvio padrão percentual obtido, considerando todas as amostras analisadas, foi de 2,5% para o benzeno, 2,3% para o tolueno, 1,7% para o etilbenzeno e 2,1% para o xileno.

Houve crescimento microbiano durante o período de avaliação de tratamento do solo, o qual foi se acentuou com a inserção dos compósitos de TPS, a ser notado principalmente nos primeiros dias de tratamento e evidenciado nos testes de contagem das UFCs de fungos, na alteração do pH do solo e na elevação da oferta de carbono. Nas condições de análises utilizadas, houve certa contribuição promovida pelo bioaumento proveniente do *A. fumigatus*; o controle do pH do solo e a utilização de cultura diversificada de microrganismos são questões a serem investigadas para tornar a biorremediação de BTEX mais eficiente.

A atuação dos compósitos de TPS promoveu a absorção de parte da água presente no solo e, juntamente com ela, parte da gasolina. Isso se deveu, em grande parte, ao incremento dos minerais zeólita e bentonita na matriz de TPS. Este

benefício, porém, foi perceptível principalmente no início do processo, no entanto, a biorremediação costuma ser mais evidente com tempo superior a 30 dias, por esta razão, a continuação do período de tratamento do solo por tempo superior a 2 meses poderia ser importante para observar o início da degradação do amido termoplástico, com melhoria na oferta de nutrientes e ativação de microrganismos, o que poderia favorecer o processo de biorremediação do solo contaminado com gasolina.

8. PROPOSTAS PARA ESTUDOS FUTUROS

- 1) A continuação do período de tratamento do solo por tempo superior a 2 meses é algo proposto para estudos futuros (Haghollahi *et al.*, 2016), no sentido de poder ser observado o comportamento do solo com o início da degradação do amido termoplástico e a melhoria na oferta de nutrientes e ativação de microrganismos, o que poderá favorecer o processo de biorremediação do solo contaminado com gasolina.
- 2) Processamento de TPS utilizando glicerina bruta como plastificante torna-se algo interessante, visto que o uso da glicerina bruta apresenta custo menor, por não ter passado pelo processo de destilação. Apesar do maior teor de impurezas (Biodiesel, 2010), a maior presença de água poderá contribuir com a plastificação do amido e a matéria orgânica poderá contribuir com o crescimento dos microrganismos, favorecendo a biorremediação;
- 3) Reprocessamento dos compósitos de TPS, com alteração na pressão de cisalhamento e temperatura, pois, segundo Shahbazi *et al.* (2018), tais variações poderão interferir significativamente nas propriedades mecânicas do material;
- 4) Moagem, com redução da granulometria da zeólita, para reduzir a propagação de tensões nos corpos de prova TPS para ensaios mecânicos de tração;
- 5) Cultivo e utilização de consórcio de microrganismos degradadores de BTEX, para acelerar o processo de biodegradação (Liu *et al.*, 2011);

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

21st Century Chemical. *Advanced Surface Preparation for Improved Adhesion of Composite Substrates*. Disponível em:

<http://www.21stcenturychemical.com/img/pdfs/white/prepwipes-whitepaper.pdf>.

Acesso em: 10 fev. 2018.

Agnello, A. C. *et al.* Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation. *Science of the Total Environment*, v. 563–564, p. 693–703, 2016.

Ahamed, F.; Phang, S. W.; Sin, L. T. Mechanical behaviour of thermoplastic starch/montmorillonite/alumina trihydrate nanocomposites. *Journal of Engineering Science and Technology*, v. 11, n. 9, p. 1344–1359, 2016.

Amaral, I. C. C. *et al.* Avaliação ambiental de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) e biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores de postos de combustíveis. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v. 42, n. 1, p. 1–14, 2017.

ANP - Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. *Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2018*. Rio de Janeiro, 2018.

ANP - Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Boletim Gerencial. *Abastecimento Em Números*, n. 57, v. 12, 2017.

Aouada, F. A.; Mattoso, L. H. C.; Longo, E. Enhanced bulk and superficial hydrophobicities of starch-based bionanocomposites by addition of clay. *Industrial Crops and Products*, v. 50, p. 449–455, 2013.

Arora, D. S.; Kaur, N. Antimicrobial Potential of Fungal Endophytes from *Moringa oleifera*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 628–648, 2018.

Baldan, E. *et al.* Development, assessment and evaluation of a biopile for hydrocarbons soil remediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 98, p. 66–72, 2015.

Balseiro-Romero, M.; Kidd, P. S.; Monterroso, C. Leachability of volatile fuel compounds from contaminated soils and the effect of plant exudates: A comparison of column and batch leaching tests. *Journal of Hazardous Materials*, v. 304, p. 481-489, 2016.

Bandura, L. *et al.* Application of Mineral Sorbents for Removal of Petroleum Substances: A Review. *Minerals*, n. 7, v. 3, p. 37, 2017.

Bartocci, P. *et al.* Batch pyrolysis of pellet made of biomass and crude glycerol : Mass and energy balances. *Renewable Energy*, v. 124, p. 172–179, 2018.

Belibi, P. C. *et al.* Tensile and water barrier properties of cassava starch composite films reinforced by synthetic zeolite and beidellite. *Journal of Food Engineering*, n. 115, v. 3, p. 339–346, 2013.

Berticelli, R.; Decesaro, A.; Magro, F.; Colla, L. M. Compostagem Como Alternativa De Biorremediação De Áreas Contaminadas. *CIATEC-UPF*, n. 1, v. 8, p.12-28, 2016.

Biodieselbr. O problema da qualidade da glicerina. *Biodiesel*, n. 16, p. 1–11, 2010. Disponível em: www.biodieselbr.com/revista/016/glicerina-afogamento-2.htm. Acesso em: 12 fev. 2018.

Brown, L. D. *et al.* Bioremediation of Oil Spills on Land (2017). In : Fingas, M. *Oil Spill Science and Technology*. Elsevier, 2017, p. 699–729.

Bustillo-Lecompte, C. F.; Kakar, D.; Mehrvar, M. Photochemical treatment of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX) in aqueous solutions using advanced oxidation processes: Towards a cleaner production in the petroleum refining and petrochemical industries. *Journal of Cleaner Production*, v. 186, p. 609–617, 2018

Callister, W.D. *Materials science and engineering: an introduction*. New York: John Wiley & Sons, 2013.

Carvalho, C. P. de; Pisano, L. C. Resíduos Pecuários : uma Avaliação em Indústria de Alimentos do Município de Bauru-SP. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e Da Saúde*, v. 21, n. 2, p. 105–109, 2017.

Cassidy, D. P. *et al.* Combining *in situ* chemical oxidation, stabilization, and anaerobic bioremediation in a single application to reduce contaminant mass and leachability in soil. *Journal of Hazardous Materials*. v. 297, p. 347–355, 2015.

Castaño, J. *et al.* Processing and characterization of starch-based materials from pehuen seeds (*Araucaria araucana* (Mol) K. Koch). *Carbohydrate Polymers*, v. 88, n. 1, p. 299–307, 2012.

Cavalcante, F. G.; Martins, C. M.; Martins, S. C. S. (2017). Interações bióticas entre actinobactérias e rizóbios em solos da região semiárida brasileira. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, v. 4, n. 26, p. 1009, 2017.

Cereda, M. P. Caracterização dos Subprodutos da Industrialização da Mandioca. In:____. *Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca*. São Paulo: Fundação Cargill, 2000, p. 13–37.

Cereda, M. P. Processamento de Raízes e Tubérculos para uso culinário: minimamente processadas, vácuo, pré-cozidas congeladas e fritas (french-fries). In:____. *Tecnologia, Usos e Potencialidades de Tuberosas Amiláceas Latino-Americanas*. São Paulo: Fundação Cargill, 2003, v. 3, p. 81–109.

CETESB¹. *Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo (2017)*. Disponível em: <http://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2018/01/Texto-explicativo.pdf>, Acesso em: 7 jun. 2018.

CETESB². *Áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo (Mapa dez. 2017)*. Disponível em: www.cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas, Acesso em: 30 jan. 2018.

CETESB³. *Valores orientadores para solo e água subterrânea no Estado de São Paulo 2016*. Disponível em: www.cetesb.sp.gov.br/aguas-subterraneas, Acesso em: 10 out. 2018.

Corradini, E.; Teixeira, E. D. M.; Agnelli, J. A. M.; Mattoso, L. H. C. Amido Termoplástico. *Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*, 2007.

Corseuil, H. X.; Fernandes, M. Efeito do etanol no aumento da solubilidade de compostos aromáticos presentes na gasolina brasileira. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 4, n. 1 e 2, p. 71–75, 1999.

Costa, C. Z.; Albuquerque, M. D. C. C.; Brum, M. C.; Castro, A. M. Degradação microbiológica e enzimática de polímeros: Uma revisão. *Química Nova*, v. 38, n 2, p. 259–267, 2015.

Datta, D.; Halder, G. Enhancing degradability of plastic waste by dispersing starch into low density polyethylene matrix. *Process Safety and Environmental Protection*, v.114, p.143–152, 2018.

Datta, D.; Halder, G. (2019). Effect of media on degradability, physico-mechanical and optical properties of synthesized polyolefinic and PLA film in comparison with casted potato/corn starch biofilm. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 124, p. 39–62, 2019

de Boer, J.; Wagelmans, M. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil – Practical Options for Remediation. *Clean - Soil, Air, Water*, v. 44, n. 6, p 648–653, 2016.

Dellai, A. *et al.* Óleo de eucalipto e *Pisolithus microcarpus* no crescimento de bracatinga em solo contaminado por cobre. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 18, n. 9, p. 927–933, 2014.

Dhar, K.; Dutta, S.; Anwar, M. N. Biodegradation of petroleum hydrocarbon by two aspergillus spp. and two penicillium spp. isolated from the contaminated soil and water of ship breaking yard. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences Paper*, v. 14, n. 1, p. 143–148, 2012.

Dixit, R. *et al.* Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: An overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability (Switzerland)*, v. 7, n. 2, p. 2189–2212, 2015.

Duman, O.; Tunç, S.; Polat, T. G. Determination of adsorptive properties of expanded vermiculite for the removal of C. I. Basic Red 9 from aqueous solution: Kinetic, isotherm and thermodynamic studies. *Applied Clay Science*, v. 109–110, p. 22–32, 2015.

FAO - Food and Agriculture Organization. *Food and agriculture data*. Disponível em: www.fao.org/faostat/en/#home, Acesso em: 25 jun. 2018.

Ferreira, L. C. Fogo infernal deixa 93 mortos em Cubatão. *Folha de São Paulo*, São Paulo, 15 Out. 2014. Disponível em: <http://folha.com/no1531855>, Acesso em: 15 out. 2014.

Fleischer, J. *et al.* Composite materials parts manufacturing. *CIRP Annals*, v. 67, n. 2, p. 603–626, 2018.

Gerginova, M. *et al.* Biodegradation of phenol by Antarctic strains of *Aspergillus fumigatus*. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, v. 68 C, n. 9–10, p. 384–393, 2013.

González, J. L.; Pell, A.; López-Mesas, M.; Valiente, M. Simultaneous determination of BTEX and their metabolites using solid-phase microextraction followed by HPLC or GC/MS: An application in teeth as environmental biomarkers. *Science of the Total Environment*, v. 603–604, p. 109–117, 2017.

Guarino, C.; Spada, V.; Sciarrillo, R. Assessment of three approaches of bioremediation (Natural Attenuation, Landfarming and Bioaugmentation – Assisted Landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil. *Chemosphere*, v. 170, p. 10–16, 2017.

Haghollahi, A.; Fazaelpoor, M. H.; Schaffie, M. The effect of soil type on the bioremediation of petroleum contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, v. 180, p. 197–201, 2016.

IBGE. *Levantamento sistemático da produção agrícola*. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6588>, Acesso em: 23 abr. 2019.

Jiang, Y. *et al.* Insights into the biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soils by bioaugmentation and nutrient stimulation. *Chemosphere*, v. 161, p. 300–307, 2016.

Jun, S. *et al.* Re-utilization of waste glycerol for continuous production of bioethanol by immobilized *Enterobacter aerogenes*. *Journal of Cleaner Production*, v. 161, p. 757–764, 2017.

Kosasih, A. N. *et al.* Sequestering of Cu(II) from aqueous solution using cassava peel (*Manihot esculenta*). *Journal of Hazardous Materials*, v. 180, n. 1–3, p. 366–374, 2010.

Kumar, Y. K.; Lohchab, D. S. Influence of Aviation Fuel on Mechanical properties of Glass Fiber-Reinforced Plastic Composite. *International Advanced Research Journal in Science, Engineering and Technology*, v. 3, n. 4, p. 58–66, 2016.

Lessa, I. Incêndio em oleoduto da Nigéria deixa mais de 30 mortos. *BBC Brasil*. 30 Nov. 2000. Disponível em: https://www.bbc.com/portuguese/noticias/2000/001130_nigeria.shtml, Acesso em: 8 jun. 2018.

Liddicoat, C. *et al.* Ambient soil cation exchange capacity inversely associates with infectious and parasitic disease risk in regional Australia. *Science of the Total Environment*, v. 626, p. 117–125, 2018.

Lima, S. D. de *et al.* Gerenciamento de áreas contaminadas por postos de combustíveis em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Ambiente & Água*, v. 12, n. 2, p. 299–315, 2017.

Linhares, C. M. de S. *et al.* Efeito de coberturas do solo sobre a podridão cinzenta do caule em *Vigna unguiculata*. *Summa Phytopathologica*, v. 44, n. 2, p. 148–155, 2018.

Liu, P. G. *et al.* Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 65, n. 8, p. 1119–1127, 2011.

Liu, S. *et al.* Effect of film multi-scale structure on the water vapor permeability in hydroxypropyl starch (HPS)/Na-MMT nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, v. 154, p. 186–193, 2016.

Logan, L. *Types of Aquifers Unconfined aquifer open to Earth's surface and to infiltration Confined aquifer overlain by less permeable materials Explanation Unconfined*. 2016. 18 slides. Disponível em: <https://slideplayer.com/slide/9395383/>, Acesso em: 15 nov. 2018.

Lorandi, N. P.; Cioffi, M. O. H.; Ornaghi, H. +. Análise Dinâmico-Mecânica de Materiais Compósitos Poliméricos. *Scientia Cum Industria (Sci. Cum Ind.)*, v. 4, n. 13, 48–60, 2016.

Manoel, A. F. *et al.* Thermoplastic Waxy Starch Films Processed by Extrusion and Pressing: Effect of Glycerol and Water Concentration. *Materials Research*, v.20 (suppl 2), p. 353–357, 2017.

Marchante, V. *et al.* Progress in environmental-friendly polymer nanocomposite material from PLA: Synthesis, processing and applications. *Vacuum*, v. 146, p. 655–663, 2017.

Maru, B. T. *et al.* Dark fermentative hydrogen and ethanol production from biodiesel waste glycerol using a co-culture of *Escherichia coli* and *Enterobacter sp.* *Fuel*, v. 186, p. 375–384, 2016.

Misaelides, P. Application of natural zeolites in environmental remediation: A short review. *Microporous and Mesoporous Materials*, v. 144, n. 1–3, p. 15–18, 2011.

Mohee, R.; Mudhoo, A. *Bioremediation and Sustainability: Research and applications*, 2012.

Monteiro, M. K. S. *et al.* Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability. *Food Research International*, v. 105, p. 637–644, 2017.

Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O. *Microbiologia e Biotecnologia do Solo*. Lavras: UFLA, 2006.

Mujtaba, M. *et al.* International Journal of Biological Macromolecules Current advancements in chitosan-based film production for food technology ; A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 121, p. 889–904, 2019.

Nartker, S. *et al.* Increasing biogas production from sewage sludge anaerobic co-digestion process by adding crude glycerol from biodiesel industry. *Waste Management*, v. 34, n. 12, p. 2567–2571, 2014.

Nascimento, T. C. F. *Tratamento biológico de solo impactado por resíduos oleosos provenientes do refino de petróleo*, 2013.

Ninago, M. D. *et al.* Mild microwave-assisted synthesis of aluminum-pillared bentonites: Thermal behavior and potential applications. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 129, n. 3, p. 1517–1531, 2017.

Noel, F. L.-S. *História da distribuição dos combustíveis no Brasil*. Rio de Janeiro: SINDICOM, 2010.

Noroozi, R. *et al.* Removal of cyanide using surface-modified Linde Type-A zeolite nanoparticles as an efficient and eco-friendly material. *Journal of Water Process Engineering*, v. 21, p. 44–51, 2018.

Padilha, T. D. M.; Sampaio, J.; Longoni, L.; Beneduzi, A. Isolamento de linhagens bacterianas degradadoras de hidrocarbonetos BTEX proveniente do setor petroquímico. *Scientia Plena*, v. 13, n. 9, p. 1–10, 2017.

Parente, E. J. S. *Biodiesel: Uma Aventura Tecnológica num País Engraçado*. Tecbio, 2003.

Pedroso, A. G.; Rosa, D. S. Mechanical, thermal and morphological characterization of recycled LDPE/corn starch blends. *Carbohydrate Polymers*, v. 59, p. 1–9, 2005.

Pepino Minetti, R. C.; Macaño, H. R.; Britch, J.; Allende, M. C. *In situ* chemical oxidation of BTEX and MTBE by ferrate: pH dependence and stability. *Journal of Hazardous Materials*, v. 324, p. 448–456, 2017.

Petrobras. *Gasolina*. Disponível em: www.br.com.br/pc/produtos-e-servicos/para-embarcacoes/gasolina-embarcacao, Acesso em: 5 jun. 2018.

Petrobras. *Vazamento causado por tentativa de furto de combustível em Mangaratiba foi contido*. 19 Jun. 2015. Disponível em: <http://www.petrobras.com.br/fatos-e-dados/vazamento-causado-por-tentativa-de-furto-de-combustivel-em-mangaratiba-foi-contido.htm>, Acesso em: 19 jun. 2015.

Petrobras. *Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos - FISPQ*. Disponível em: www.petrobras.com.br, Acesso em: 22 mai. 2017.

Plotegher, F.; Ribeiro, C. Preparação e Caracterização de Compósitos Poliméricos Baseados em Amido Termoplástico e Materiais de Alta Área Superficial: Zeólita ZSM-5 e Sílica Coloidal. *Polímeros Ciência e Tecnologia*, v. 23, n. 2, p. 236–241, 2013.

Pradeep, S. *et al.* Characterization and properties of natural fiber polymer composites: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, v. 172, p. 566–581, 2017.

Quiroga, A. L. B. Amidos. *Food Ingredients Brasil*, n. 35, 31–56, 2015.

Rajtor, M.; Piotrowska-Seget, Z. Prospects for arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to assist in phytoremediation of soil hydrocarbon contaminants. *Chemosphere*, v. 162, p. 105–116, 2016.

Rao, M. N.; Sultana, R.; Kota, S. H. *Solid and Hazardous Waste Management: Science and Engineering*. 2016.

Reginatto, C. *et al.* Biorremediação de um Solo Argiloso Contaminado com uma Mistura de Diesel e Biodiesel Através da Bioventilação. *Revista Ciências Exatas e Naturais*, v. 14, n. 1, p. 43–58, 2012.

Ren, J., Dang, K. M., Pollet, E., & Avérous, L. Preparation and characterization of thermoplastic potato starch/halloysite nano-biocomposites: Effect of plasticizer nature and nanoclay content. *Polymers*, v. 10, n. 8, 2018.

Rodrigues, C. A.; Tofanello, A.; Nantes, I. L.; Rosa, D. S. Biological Oxidative Mechanisms for Degradation of Poly(lactic acid) Blended with Thermoplastic Starch. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, v. 3, n. 11, p. 2756–2766, 2015.

Romero-Bastida, C. A. *et al.* Effect of amylose content and nanoclay incorporation order in physicochemical properties of starch/montmorillonite composites. *Carbohydrate Polymers*, v. 152, p. 351–360, 2016.

Rosa, D. S; Calil, M. R.; Guedes, C. G. F; Rodrigues, T. C. Biodegradability of thermally aged PHB, PHB-V, and PCL in soil compostage. *Journal of Polymers and the Environment*, v. 12, n. 4, p. 239–245, 2004.

Rosa, D. S.; Guedes, C. G. F.; Carvalho, C. L. Processing and thermal, mechanical and morphological characterization of post-consumer polyolefins/thermoplastic starch blends. *Journal of Materials Science*, v. 42, n. 2, p. 551–557, 2007.

Rosa, D. S.; Pantano Filho, R. *Biodegradação: um ensaio com polímeros*. Itatiba; Bragança Paulista: Moara; São Francisco, 2003.

Sandres, G. C. *Contaminação dos solos e águas subterrâneas provocada por vazamentos de gasolina nos postos de combustíveis devido à corrosão em tanques enterrados*. Niterói, 2004. p. 147. Dissertação (Mestrado Profissional em Sistemas de Gestão), Universidade Federal Fluminense.

Santos, P. de S. *Ciência e Tecnologia de Argilas*. 2 ed. v. 1. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1992.

Shahbazi, M.; Majzoobi, M.; Farahnaky, A. Impact of shear force on functional properties of native starch and resulting gel and film. *Journal of Food Engineering*, v. 223, p. 10–21, 2018.

Sienkiewicz, M.; Janik, H.; Borzędowska-Labuda, K.; Kucińska-Lipka, J. Environmentally friendly polymer-rubber composites obtained from waste tyres: A review. *Journal of Cleaner Production*, v. 147, p. 560–571, 2017.

Silva-Castro, G. A. *et al.* Response of autochthonous microbiota of diesel polluted soils to land-farming treatments. *Environmental Research*, v. 137, p. 49–58, 2015.

Silva, N. C.; Silveira, T. M. G.; Blácido, D. R. T. Amido obtido a partir do resíduo da extração de corante de Urucum. In: *Congresso Nacional de Meio Ambiente*, 14, 2017, Poços de Caldas, p. 3.

Simate, G. S.; Ndlovu, S. The removal of heavy metals in a packed bed column using immobilized cassava peel waste biomass. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 21, p. 635–643, 2015.

Sivasubramanian, S.; Namasivayam, S. K. R. Phenol degradation studies using microbial consortium isolated from environmental sources. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 3, n. 1, p. 243–252, 2015.

Stähelin, P. M. *et al.* Benzene and toluene removal from synthetic automotive gasoline by mono and bicomponent adsorption process. *Fuel*, v. 231, p. 45–52, 2018.

Sun, G. D. *et al.* Pilot scale ex-situ bioremediation of heavily PAHs-contaminated soil by indigenous microorganisms and bioaugmentation by a PAHs-degrading and bioemulsifier-producing strain. *Journal of Hazardous Materials*, v. 233–234, p. 72–78, 2012.

Swapna, P. K.; Lalchand, P. D. Fungal Biodiversity of a Library and Cellulolytic Activity of Some Fungi. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 78, n. 6, 2017.

Tatagiba, S. D. *et al.* Determinação da máxima capacidade de retenção de água no substrato para produção de mudas de eucalipto em viveiro. *Floresta*, v. 45, p. 745, 2015.

Thipmanee, R.; Lukubira, S.; Ogale, A. A.; Sane, A. Enhancing distributive mixing of immiscible polyethylene/thermoplastic starch blend through zeolite ZSM-5 compounding sequence. *Carbohydrate Polymers*, v. 136, p. 812–819, 2016.

Trusek-holownia, A.; Noworyta, A. Two-step treatment of harmful industrial wastewater : an analysis of microbial reactor with integrated membrane retention for benzene and toluene removal. *Polish Journal of Chemical Technology*, v. 17, n. 4, p. 15–22, 2015.

Ubowska, A. Montmorillonite as a Polyurethane Foams Flame Retardant. *Archivum Combustionis*, v. 30, n. 4, p. 459–462, 2010.

Ugochukwu, U. C.; Manning, D. A. C.; Fialips, C. I. Effect of interlayer cations of montmorillonite on the biodegradation and adsorption of crude oil polycyclic aromatic compounds. *Journal of Environmental Management*, v. 142, p. 30–35, 2014.

UnB - Universidade de Brasília. *Estudo mapeia contaminação do solo em Sobradinho*. Disponível em: <http://www.unbciencia.unb.br/exatas/72-engenharia-civil/271-estudo-mapeia-contaminacao-do-solo-em-sobradinho>, Acesso em: 19 jun. 2018.

Varona-Torres, E.; Carlton, D. D.; Hildenbrand, Z. L.; Schug, K. A. Matrix-effect-free determination of BTEX in variable soil compositions using room temperature ionic liquid co-solvents in static headspace gas chromatography mass spectrometry.

Analytica Chimica Acta, v. 1021, p. 41–50, 2018.

Villar, M. A. *et al. Starch-Based Materials in Food Packaging - Processing, Characterization and Applications*. London: Academic Press, 2017.

Wang, S., Li, C.; Copeland, L.; Niu, Q.; Wang, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.

Wojtowicz, A. Biodegradability and Compostability of Biopolymers. In L. P. B. M. Janssen & L. Moscicki (Eds.), *Thermoplastic Starch - A Green Material for Various Industries*. Hong Kong, 2009.

Xie, F. *et al.* Mechanical performance of starch-based biocomposites. In: Misra, M.; Pandey, J. K.; Mohanty, A. K. *Biocomposites: Design and Mechanical Performance*. Woodhead Publishing, 2015, v. 61, p. 53-92.

Yan, Z., Lin; Z.; Kai, M.; Guozhu, M. The surface modification of zeolite 4A and its effect on the water-absorption capability of starch-g-poly (acrylic acid) composite. *Clays and Clay Minerals*, v. 62, n. 3, p. 211–223, 2014.

Yang, Y. *et al.* Modeling BTEX migration with soil vapor extraction remediation under low-temperature conditions. *Journal of Environmental Management*, v. 203, p. 114–122, 2017.

Ye, J. S. *et al.* Biodegradation of anthracene by *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 185, n. 1, p. 174–181, 2011.

Yoshikawa, M.; Zhang, M.; Toyota, K. Biodegradation of Volatile Organic Compounds and Their Effects on Biodegradability under Co-Existing Conditions. *Microbes and Environments*, v. 32, n. 3, p. 188–200, 2017.

Yuan, Q.; Shen, Y.; Huang, Y.; Hu, N. A comparative study of aeration, biostimulation and bioaugmentation in contaminated urban river purification. *Environmental Technology & Innovation*, v. 11, p. 276-285, 2018.

Zhan, J. *et al.* Gasoline degradation and nitrogen fixation in soil by pulsed corona discharge plasma. *Science of the Total Environment*, v. 661, p. 266–275, 2019.

Zhang, J.; Lu, S.; Li, J.; Zhang, P.; Xue, H.; Zhao, X. Adsorption Properties of Hydrocarbons (n-Decane , Methyl Cyclohexane and Toluene) on Clay Minerals : An Experimental Study. *Energies*, 1–14, 2017.


Zhang, Y.; Zao, L.; Chen, Y. Synthesis and characterization of starch-g-poly(acrylic acid)/organo-zeolite 4A superabsorbent composites with respect to their water-holding capacities and nutrient-release behavior. *Polymer Composites*, v. 1838–1848, 2017.

Zhong, Y. Chemical Behaviors of Benzene Series in Arid Soil and Impact Factors. *Chemical Engineering Transactions*, v. 64, p. 73–78, 2018.

Zona de Risco. *Lembrança - Tragédia em Guadalajara*. 11 Mar. 2009. Disponível em: <https://zonaderisco.blogspot.com/2009/03/lembanca-tragedia-em-guadalajara.html>, Acesso em: 19 jun. 2018.

ANEXOS

ANEXO A – Laudo da Bentonita, fornecido pela empresa Brasilminas.

	ESPECIFICAÇÃO DE PRODUTO ACABADO		Revisão: 02
	BRM F 14-EPA 13.03 – BENTONITA CREME 331/325		Data: 23/10/07
			Página: 1/1
1- CARACTERÍSTICAS INFORMATIVAS			
1.1 – Composição Básica:		Silicato de Alumínio (SiO ₂ + Al ₂ O ₃)	
1.2 – Características Químicas Típicas – Referencial			
	SiO ₂		51,79 %
	Al ₂ O ₃		17,30 %
	K ₂ O		0,55 %
	Fe ₂ O ₃		6,78 %
	MgO		3,46 %
	Na ₂ O		2,58 %
	CaO		0,52 %
	Perda ao Fogo (850°C) (%)		Máx. 19,0 %
A análise química é uma média de vários lotes e não é controlada lote a lote, portanto serve somente como referencial.			
2- PROPRIEDADES CONTROLADAS			
	CARACTERÍSTICAS	LIMITE DE VARIAÇÃO	MÉTODO DE ENSAIO
	Absorção DOP (%)	35,0 a 46,0	IT BRM 3
	Absorção Óleo Linhaça (%)	29,0 a 39,0	IT BRM 2
	Cor	CREME	IT BRM 19
	Densidade Aparente (g/cm ³)	0,70 a 1,10	IT BRM 20
	Perda ao Fogo (850°C) (%)	Máx. 19,0 %	IT BRM 11
	Peso Específico (g/cm ³)	2,40 a 2,80	IT BRM 7
	pH (solução aquosa 5%)	7,0 a 11,0	IT BRM 9
	Retenção # 325 mesh (0,045mm) (%)	Máx. 1,0	IT BRM 8
	Umidade (%)	Máx. 10,00	IT BRM 10
3- EMBALAGEM: Sacos de papel kraft de 2 folhas com peso líquido de 20 kg por saco			
4- MANUSEIO E ESTOCAGEM: Manuseio e armazenamento em local seco e arejado. Empilhamento máximo de 2 pallets.			
5- PRAZO DE VALIDADE: 5 anos			
ELABORAÇÃO/REVISÃO		ANÁLISE CRÍTICA	APROVAÇÃO
Nome:		Nome:	Nome: I
Data: 23/10/07		Data: 23/10/07	Data: 23/10/07
Assinatura:		Assinatura:	Assinatura:
CONTROLE DE REVISÕES			
Revisão	Descrição	Data	
00	Emissão inicial.	14/07/00	
01	Padronização estética para documentos da qualidade. Atualizações nas propriedades físicas e químicas	03/07/06	
02	Atualização da numeração do método de ensaio	23/10/07	
rev 01			

ANEXO B – Laudo da Zeólita, fornecido pela empresa Celta Brasil.



Produto: WATERCEL ZN 0,4 a 1,0

Lote: 2213.2016.03/031

Fabricação: 03/2016

Validade: 03/2019

LAUDO – 5333

Composição Química

Análise Quantitativa por Espectrometria de Fluorescência de Raios X

COMPONENTE	RESULTADO (%)	ESPECIFICAÇÃO (%)
SiO ₂	62,69	60 – 80
Al ₂ O ₃	12,18	8 - 15
K ₂ O	3,24	< 6
Fe ₂ O ₃	1,06	< 3
MgO	0,68	< 3
TiO ₂	0,18	< 1
Na ₂ O	0,48	< 5
Perda ao fogo	14,53	6 - 15

Os resultados obtidos apresentam uma incerteza de $\pm 1\%$.

Temperatura de secagem $110 \pm 5^\circ\text{C}$

Temperatura de perda ao fogo $950 \pm 50^\circ\text{C}$

Composição Física

ANÁLISE	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO
Odor	Inodoro	Inodoro
Cor	creme	Verde à creme
Granulometria	1,42 C.U.	1,4 - 1,9 C.U.
Ponto de fusão	1.300 °C	1000 a 1400 °C
Densidade aparente	0,9 g/cm ³	0,9 – 1,0 g/cm ³
pH	6,5	5,0 – 11,0
Umidade	2,5 %	< 6 %
CTC	2,0 meq/g	0,8 - 2,0 meq/g

www.celtabrasil.com.br

GROWING TOGETHER!

ANEXO C – Laudo da Glicerina “loira”, fornecido pela empresa Almad.

**Especificação Técnica*****Glicerina Loira*****Nome Químico:** *Glicerina Bruta***Propriedades Físicas e Químicas:**

Características	Unidade	Especificações
Aspecto	Visual	Líq Castanho Escuro ou Âmbar
Glicerol	%	Min. 80,0
Cloretos (NaCl)	%	Máx. 9,50
Cinzas	%	Max. 10,0
Resíduos Orgânicos	%	Max. 3,0
Alcalis Livres	%	Max. 0,1
Alcalis Combinado	%	Max. 0,3
Densidade	g/ml	1,295
Viscosidade	cps	336,50

Função: Dispersante, emulsionante, tenso ativo.**Aplicações:** Linha domestica como Detergente liquido, sabão em pó, e outros. Para linha Automotiva: xampu, pretinho para pneu e outros.**Embalagens:** Tambores 250 kg**Validade:** 24 meses