



**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE ENGENHARIA E ARQUITETURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
Área de Concentração: Infraestrutura e Meio Ambiente**

Rafael Colombo

**Atenuação Natural Monitorada em Latossolo
Contaminado por Misturas de Diesel e Biodiesel**

Rafael Colombo

**Atenuação Natural Monitorada em Latossolo
Contaminado por Misturas de Diesel e Biodiesel**

Orientador: Professor Antônio Thomé, Dr.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia para obtenção do grau de Mestre em Engenharia na Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo na Área de concentração Infraestrutura e Meio Ambiente

Passo Fundo

2010

Rafael Colombo

**Atenuação Natural Monitorada em Latossolo
Contaminado por Misturas de Diesel e Biodiesel**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia para obtenção do grau de Mestre em Engenharia na Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo na Área de concentração Infraestrutura e Meio Ambiente

Data de aprovação: Passo Fundo, 25 de março de 2010.

Os membros componentes da Banca Examinadora abaixo aprovam a Dissertação.

Prof. Dr. Antônio Thomé
Orientador

Prof. Ms. Maria Tereza Friedrich
Co-orientadora

Prof. Dr. Pedro Domingos Marques Prietto
Universidade de Passo Fundo

Prof. Dr. Maciel Donato
Universidade de Passo Fundo

Prof. Dra. Norimar D'Avila Denardin
Universidade de Passo Fundo

Prof. Fernando Schnaid
UFRGS – Examinador Externo

Dedico esta dissertação a mim mesmo, e agradeço à Deus por ter me dado forças pra para vencer e conquistar mais esta etapa em minha vida.

Aos meus pais, por estarem ao meu lado me apoiando sempre nas alegrias, nas decepções sempre como se fosse a primeira vez, mas nunca me deixando sozinho quando o caminho era obscuro.

À minha noiva Josiéle pela confiança, amor e dedicação, pela compreensão, carinho e cumplicidade em todos os momentos.

Ao professor Antônio Thomé, pela esplêndida orientação, por ter acreditado na minha capacidade, e por ter tantas vezes entendido minhas dificuldades.

A professora Maria Tereza Friedrich, pela amizade, orientação e confiança na condução deste trabalho.

À Universidade de Passo Fundo e ao Mestrado em Engenharia pela bolsa concedida.

Aos colegas de mestrado, os quais tornaram se amigos especiais.

Resumo

A utilização de biodiesel como fonte alternativa de combustível vem apresentando potencial promissor no mundo inteiro devido à redução qualitativa e quantitativa dos níveis de poluição ambiental, e também como fonte estratégica de energia renovável em substituição ao óleo Diesel. Embora o biodiesel seja um combustível biodegradável, o seu comportamento em relação à sua biodegradação ainda é desconhecido quando misturado ao solo. Com este trabalho pretendeu-se saber se diferentes concentrações de biodiesel adicionadas ao óleo Diesel influenciariam na velocidade de degradação por microorganismos. O objetivo desse trabalho foi utilizar a atenuação natural para determinar o percentual de biodegradabilidade de diferentes porcentagens de biodiesel adicionado ao óleo Diesel no solo de Passo Fundo. Foram utilizados setes diferentes porcentagens de contaminante: B0, B2, B5, B20, B50, B75 e B100, e o solo do horizonte B contaminado com esses percentuais foi moldado em 21 biorreatores, sendo 3 biorreatores para cada percentual. Coletas quinzenais foram realizadas e analisadas pelo método de Soxhlet e pela cromatografia gasosa (CG). Os resultados demonstraram que houve degradação no teor residual de contaminante pelo Método de Soxhlet e degradação do carbono total na CG. A umidade é um dos fatores que influenciam na biodegradação do contaminante, e que quanto maior a saturação do solo com água ou elevada umidade, mais lenta será a ação dos microorganismos solo para biodegradar o contaminante. Os resultados demonstram também que a temperatura também exerce forte influência na biodegradação do contaminante, ficando ainda mais evidente quando acima dos 21°C, segundo os gráficos. Era esperado que o contaminante que continha maior porcentagem de biodiesel apresentasse maior degradação quando comparado ao contaminante que continha menor porcentagem de óleo Diesel, mas os resultados do presente trabalho não confirmaram essa hipótese. Conclui-se que as diferentes porcentagens de biodiesel adicionado ao óleo Diesel apresentaram comportamento semelhante em relação a sua biodegradação.

Palavras-chave: Biodegradação, Atenuação natural, Biodiesel, Óleo Diesel. Cromatografia Gasosa.

Abstract

The using of biodiesel as fuel alternative source is showing promising potential all over the world due to quantitative and qualitative reduction of the levels of environmental pollution, and how strategy source of renovating energy in substitution towards Diesel. Besides biodiesel is a biodegradable fuel, its behavior related to biodegradation is still unknown in many kinds of soils. This study intended to know if different concentrations of biodiesel added in Diesel fuel can change the degradation velocity by local microorganisms. The objective of this study was make use of natural attenuation to determine the percentual of biodegradability of different percentage of biodiesel added in Diesel fuel on Passo Fundo soil. They were utilized seven different percentages: B0, B2, B5, B20, B50, B75 and B100, and the soil from horizon B contaminated with these percentages was molded in 21 bioreactors, been 3 bioreactors to each percentage. Bi-monthly collects were realized and analysed by Soxhlet Method and Chromatography Gas (GC). The results showed that there were degradation in contaminant residual purport by Soxhlet Method and total carbon in GC. Humidity is one of the factors that influenced on the biodegradation of the contaminant, and that the higher the saturation of soil with water or high humidity, the slower will be the action of soil microorganisms to biodegrade the contaminant. The results also show that temperature exerts a high influence on the biodegradation of the contaminant, getting become more evident when over 21°C. It was expected that the contaminant that contained highest percentage of biodiesel produced higher degradation when compared to the contaminant that contained minor percentage of Diesel, but the results of this study didn't confirm this hypothesis. To finish, the different percentage of biodiesel added to Diesel presented similar behavior in relation to its degradation.

Key-words: Biodegradation, Natural attenuation, Biodiesel, Diesel fuel, Chromatography Gas.

Lista de Figuras

FIGURA 1: REQUISITOS PARA A BIORREMEDIAÇÃO	22
FIGURA 2: TRIÂNGULO DA BIORREMEDIAÇÃO	24
FIGURA 3: CRONOGRAMA DE EXEQUIBILIDADE DO PROGRAMA EXPERIMENTAL.....	51
FIGURA 4: DISPOSIÇÃO DOS BIORREADORES NO SOLO	52
FIGURA 5: CENTRO TECNOLÓGICO DA UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO.....	53
FIGURA 6: LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDOS.....	54
FIGURA 7: ANÁLISE GRANULOMÉTRICA.....	55
FIGURA 8: VALA PARA COLETA DO SOLO.....	58
FIGURA 9: AERAÇÃO DO SOLO PARA PERDA DA UMIDADE	59
FIGURA 10: PENEIRAÇÃO DO SOLO	59
FIGURA 11: ARMAZENAGEM DO SOLO ANTES DA MOLDAGEM DOS CORPOS DE PROVA	60
FIGURA 12: SECAGEM DAS AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DA UMIDADE.....	61
FIGURA 13: MODELO DE BIORREATOR UTILIZADO NA PESQUISA.....	63
FIGURA 14: MANGUEIRAS PARA CONDUÇÃO DO PERCOLADO.....	63
FIGURA 15: ADIÇÃO DE ÁGUA E CONTAMINANTE	66
FIGURA 16: BIORREATOR SEM GEOTÊXTIL	67
FIGURA 17: BIORREATOR COM GEOTÊXTIL	67
FIGURA 18: CAMADA DRENANTE DE AREIA	68
FIGURA 19: MOLDAGEM DO CORPO DE PROVA	69
FIGURA 20: COMPACTAÇÃO DA CAMDA 1 E 2 DO CORPO DE PROVA	69
FIGURA 21: COMPACTAÇÃO DA CAMDA 3 E 4 DO CORPO DE PROVA	69
FIGURA 22: COMPACTAÇÃO DA CAMDA 5 DO CORPO DE PROVA	70
FIGURA 23: RETIRADA DO SOLO PARA INSTALAÇÃO DOS BIORREADORES	70
FIGURA 24: BASE PARA SUSTENTAÇÃO DOS BIORREADORES.....	71
FIGURA 25: PREENCHIMENTO COM SOLO E GEOTÊXTIL SOBRE OS BIORREADORES	72
FIGURA 26: RECIPIENTES PARA COLETA DO PERCOLADO	72
FIGURA 27: EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS DO SOLO CONTAMINADO	73
FIGURA 28: AMOSTRADOR E ÊMBOLO PRA RETIRADA DO SOLO DOS BIORREADORES.....	73
FIGURA 29: PREENCHIMENTO DO SOLO COM AREIA APÓS REMOÇÃO DAS AMOSTRAS	74
FIGURA 30: REPOSIÇÃO DO GEOTÊXTIL E DO SOLO SOBRE OS BIORREADORES	74
FIGURA 31: POTE PARA ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS	75
FIGURA 32: ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS APÓS COLETA.....	75
FIGURA 33: APARELHO DE SOXHLET.....	76
FIGURA 34: DESSECADOR CONTENDO OS BALÕES	77
FIGURA 35: CROMATÓGRAFO	78
FIGURA 36: EXEMPLO DE CROMATOGRAMA DA AMOSTRA (VOLTS X MINUTO).....	79
FIGURA 37: TEOR RESIDUAL DO CONTAMINANTE B0 AO LONGO DO TEMPO.....	80
FIGURA 38: TEOR RESIDUAL DO CONTAMINANTE B2 AO LONGO DO TEMPO.....	81

FIGURA 39: TEOR RESIDUAL DO CONTAMINANTE B5 AO LONGO DO TEMPO.....	82
FIGURA 40: TEOR RESIDUAL DO CONTAMINANTE B20 AO LONGO DO TEMPO.....	83
FIGURA 41: TEOR RESIDUAL DO CONTAMINANTE B50 AO LONGO DO TEMPO.....	84
FIGURA 42: TEOR RESIDUAL DO CONTAMINANTE B75 AO LONGO DO TEMPO.....	85
FIGURA 43: TEOR RESIDUAL DO CONTAMINANTE B100 AO LONGO DO TEMPO.....	86
FIGURA 44: TEOR RESIDUAL DE CONTAMINANTE.....	86
FIGURA 45: DEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE B0.....	89
FIGURA 46: DEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE B2.....	89
FIGURA 47: DEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE B5.....	90
FIGURA 48: DEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE B20.....	91
FIGURA 49: DEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE B50.....	91
FIGURA 50: DEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE B75.....	92
FIGURA 51: DEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE B100.....	93
FIGURA 52: COMPORTAMENTO DAS DIFERENTES MISTURAS AO LONGO DO TEMPO.....	93
FIGURA 53: INTENSIDADE PLUVIOMÉTRICA.....	94
FIGURA 54: UMIDADE RELATIVA DURANTE O PERÍODO DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA	95
FIGURA 55: TEMPERATURA DO SOLO EM 10 CENTÍMETROS.....	96

Lista de Tabelas

TABELA 1: PERSPECTIVA HISTÓRICA DO DESENVOLVIMENTO DA BIORREMEDIAÇÃO	18
TABELA 2.: VANTAGENS E CONTRAPONTO DA BIORREMEDIAÇÃO EM RELAÇÃO À REMEDIAÇÃO TRADICIONAL	21
TABELA 3: ALGUNS MÉTODOS PARA A BIORREMEDIAÇÃO DO SOLO	25
TABELA 4: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO DIESEL CONVENCIONAL.....	32
TABELA 5: CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DE BIODIESEL DE SOJA	33
TABELA 6: COMPOSIÇÃO MÉDIA DOS ÉSTERES ETÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS DE BIODIESEL DE SOJA	34
TABELA 7: FORMAS DE METABOLISMO.....	37
TABELA 8: COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DA CÉLULA MICROBIANA POR PESO SECO	43
TABELA 9: CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO E DIÓXIDO DE CARBONO NA ATMOSFERA DE UM SOLO TROPICAL NAS CONDIÇÕES ÚMIDO E SECO.....	47
TABELA 10: VARIÁVEIS DO EXPERIMENTO E SEUS NÍVEIS DE VARIAÇÃO	52
TABELA 11: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO SOLO NATURAL.....	54
TABELA 12: ANÁLISE BÁSICA E MICRONUTRIENTES DO SOLO	55
TABELA 13: DETERMINAÇÃO DA UMIDADE DAS AMOSTRAS DE SOLO	61
TABELA 14: PARÂMETROS DE CADA BIORREATOR.....	64
TABELA 15: ÁREAS TOTAIS OBTIDAS A PARTIR DA SOMA DAS ÁREAS DOS PICOS EM CADA CROMATOGRAMA PARA OS DIFERENTES TEORES DE BIODIESEL NOS DIFERENTES TEMPOS DE ESTUDO	87

Sumário

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 DESENVOLVIMENTO DA BIORREMEDIAÇÃO AMBIENTAL	17
2.1.1 HISTÓRICO.....	17
2.1.2 VANTAGENS E CONTRAPONTO DA BIORREMEDIAÇÃO	20
2.2 TÉCNICAS BIOLÓGICAS	23
2.2.1 BIORREMEDIAÇÃO "IN SITU"	23
2.2.1.1 ATENUAÇÃO NATURAL	26
2.2.1.2 BIOESTIMULAÇÃO	28
2.2.1.3 BIOVENTILAÇÃO.....	28
2.2.1.4 BIOAUMENTAÇÃO.....	29
2.3 CONTAMINAÇÃO DO MEIO AMBIENTE POR HIDROCARBONETOS DERIVADOS DO PETRÓLEO.....	30
2.3.1 ÓLEO DIESEL.....	31
2.3.1.1 ASPECTOS GERAIS.....	31
2.3.2 BIODIESEL	33
2.3.2.1 ASPECTOS GERAIS.....	33
2.4 BIODEGRADAÇÃO	35
2.4.1 METABOLISMO MICROBIANO	35
2.4.1.1 FORMAS DE METABOLISMO.....	36
2.4.1.2 COMETABOLISMO MICROBIANO.....	38
2.4.2 REAÇÕES MICROBIANAS E SUAS VIAS	39
2.4.3 TAXA E CINÉTICA DA BIODEGRADAÇÃO.....	40
2.4.4 FATORES AMBIENTAIS	40
2.4.4.1 FATORES MICROBIANOS.....	41
2.4.4.2 NUTRIENTES	42
2.4.4.3 FATORES FÍSICOS-QUÍMICOS	44
2.4.4.4 TEMPERATURA E RADIAÇÃO SOLAR.....	44
2.4.4.5 PH.....	45
2.4.4.6 TEOR DE UMIDADE E AERAÇÃO.....	46
2.4.4.7 POTENCIAL DE OXIDAÇÃO E REDUÇÃO (REDOX).....	49
3 MÉTODOS E MATERIAIS.....	50
3.1 MÉTODOS E TÉCNICAS UTILIZADOS.....	50
3.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	51
3.3 DETERMINAÇÃO DE VOLUMES	62
3.3.1 VOLUME DOS BIORREATORES	62
3.3.2 DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE SOLO	64
3.4 AJUSTE DA UMIDADE EM CADA BIORREATOR.....	64
3.4.1 UMIDADE FALTANTE E CONTAMINANTE	66
3.5 CONTAMINAÇÃO DO SOLO	66
3.6 MOLDAGEM DOS CORPOS DE PROVA	67
3.7 MONTAGEM DO EXPERIMENTO	70
3.8 COLETA DAS AMOSTRAS	72
3.9 EXTRAÇÃO DO CONTAMINANTE DO SOLO	75
3.10 DETERMINAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO TEOR RESIDUAL DE CONTAMINANTE	
4 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	80
4.1 TEOR RESIDUAL DE CONTAMINANTE EXTRAÍDO.....	80
4.2 AVALIAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO TEOR RESIDUAL DE CONTAMINANTE	87
4.3 PLUVIOMETRIA, UMIDADE E TEMPERATURA	94
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
5.1 CONCLUSÕES	97

5.2	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	98
6	REFERÊNCIAS	99

1 INTRODUÇÃO

A utilização de biodiesel como fonte alternativa de combustível vem apresentando potencial promissor no mundo inteiro. Em primeira análise, pela sua contribuição ao meio ambiente, com a redução qualitativa e quantitativa dos níveis de poluição ambiental. Em segundo lugar, como fonte estratégica de energia renovável em substituição ao óleo diesel. No cenário brasileiro, o seu uso pode também reduzir a dependência de importação deste combustível.

É interessante a disseminação do biodiesel em áreas particulares, devido ao seu baixo custo de operação, e que não requer alta tecnologia. Isso também promoveria uma relação equilibrada com o meio ambiente, tendo assim diversas possibilidades de aplicações no tratamento das áreas afetadas (PASQUALINO et al, 2006).

O meio ambiente pode ser alterado pelos combustíveis de transporte convencional de diversas maneiras, podendo ser durante a sua geração, transporte ou consumo. Essa alteração do pode resultar na poluição dos sistemas tróficos: ar, águas subterrâneas, sedimentos, meios marinhos, e o próprio solo (BOOPATHY, 2004). Em relação ao ar, verificam-se maiores emissões de dióxido de carbono, o qual é o principal gás causador do efeito estufa, e conseqüente, do aquecimento global, das mudanças climáticas e chuvas ácidas.

A contaminação geralmente decorre de acidentes envolvendo veículos motorizados, tanques de armazenagem subterrânea, derramamentos, oleodutos, disposição ilegal, linhas de transmissão defeituosas, vazamentos acidentais, e até na própria indústria produtora de biodiesel (MARCHAL et al., 2003; MUKHERJI et al., 2004; MARIANO et al., 2008). A contaminação também causa desequilíbrio ambiental, prejuízos econômicos e à sociedade das regiões afetadas (MOLINA-BARAHONA et al., 2004).

Devido ao grande aumento da frota brasileira de veículos e do conseqüente consumo de combustíveis, os órgãos governamentais têm se preocupado com os problemas ambientais causados pelo derramamento ou por acidentes ambientais. O Brasil está incentivando a indústria de combustíveis de fontes renováveis, como o biodiesel. A Lei nº 11.097, de 13 de

janeiro de 2005 estabelece a adição de biodiesel no óleo Diesel, em nível nacional. Segundo a Agência Nacional do Petróleo em janeiro de 2008 o B2 começa a ser adicionado ao óleo Diesel. Em julho de 2008 a alíquota passa de 2% para 3% de biodiesel (B3) adicionado ao óleo Diesel. Um ano depois, em julho de 2009 entra em vigência o B4, ou seja, adição de 4% de biodiesel ao óleo Diesel.

A proposta inicial do governo era para que no ano de 2013 entrasse em vigor o B5, mas devido à demanda, em janeiro de 2010 já entrou em vigor a adição de 5% de biodiesel no óleo Diesel. Atualmente está tramitando na Câmara o Projeto de Lei 204/07, do deputado Leonardo Vilela (PSDB-GO), que obriga a adição de pelo menos 20% de biodiesel ao óleo Diesel comercializado ao consumidor final a partir de 2018. A proposta estabelece uma tabela progressiva desse percentual para os próximos dez anos.

Conforme a Agência Nacional de Petróleo (2009), órgão regulador do gás natural e de biocombustíveis, a produção do Brasil é de aproximadamente 750 milhões de litros de biodiesel ao ano, uma quantidade muito perto dos 840 milhões de litros necessários para atingir apenas a mistura 2% de biodiesel no óleo diesel.

Em relação à contaminação por parte dos combustíveis, há alguns meios para tentar solucionar esse problema, que é tratar a combustão de gases, estimular tecnologias de eficiência energética, e fazer maior uso de formas renováveis de energia (PASQUALINO et al., 2006).

Entretanto, extensos períodos de tempos, espaço físico, tratamento do material contaminado e altos custos normalmente estão associados com a grande maioria dos processos utilizados para remediação de áreas contaminadas. Mesmo que todos os problemas operacionais dos processos de remediação sejam resolvidos, ainda faz-se necessário vários anos para que os padrões de qualidade da água e do solo sejam atingidos (MENEGHETTI, 2007).

Embora o biodiesel seja um combustível biodegradável, o seu comportamento em relação à sua biodegradação ainda é desconhecido em vários tipos de solo. Pretendeu-se saber se diferentes concentrações de biodiesel adicionadas ao óleo Diesel influenciariam na velocidade de degradação por microorganismos indígenas (autóctones) no solo de Passo Fundo.

A biorremediação é o uso de microorganismos vivos para a remoção de poluentes do solo água e gases. A literatura descreve diferentes técnicas de biorremediação para solos contaminados, todavia, o tempo necessário para a biodegradação completa das diferentes porcentagens de biodiesel adicionado ao óleo Diesel, pelo processo de atenuação natural, ainda é desconhecido.

A crescente produção de biodiesel, fonte alternativa de combustível, pode proporcionar ganhos consideráveis e benefícios ao meio ambiente. Segundo Pinto et al., (2005), há uma menor emissão de dióxido de carbono (CO₂), monóxido de carbono (CO), óxidos de enxofre (SO_x), exceto os compostos orgânicos voláteis e material particulado.

As propriedades físico-químicas do biodiesel são similares àquelas do diesel derivado de PETRÓLEO, e pode, entretanto, substituir parcial ou totalmente o diesel no funcionamento de motores a compressão. Além disso, o biodiesel possui outros aspectos como a redução considerável das emissões de contaminantes, a redução de odores (devido a sua exaustão menos ofensiva), não requer armazenamento especial, é biodegradável. De acordo com os padrões da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), o biodiesel possui alta taxa de biodegradabilidade em meio aquático quando comparado com o óleo diesel. Comparando-se a biodegradabilidade do biodiesel entre o meio aquático e o solo, verifica-se que esse biocombustível é ainda mais facilmente biodegradável no solo que no meio aquático.

Atualmente, uma grande variedade de processos químico-físicos e biológicos tem sido utilizada na remoção de hidrocarbonetos de petróleo puros ou dissolvidos do solo e da água subterrânea. Processos como extração de vapores do solo (SVE), recuperação de produto livre, bioventilação, extração com solventes, incineração, torres de aeração, adsorção em carvão ativado, biorreatores, biorremediação “ex situ” (remoção do solo para posterior tratamento) entre outros, têm sido usados para remover contaminantes orgânicos de águas subterrâneas e sistemas de solo.

A biorremediação “in situ” (tratamento do solo no local) é um dos processos de remediação mais viáveis economicamente, apesar de muitas vezes estar limitado pela dificuldade de transporte de nutrientes ou receptores de elétrons, e no controle das condições de aclimação e degradação dos contaminantes nos sistemas subterrâneos. Dessa forma, continua sendo o artifício mais usado e pesquisado para o controle e descontaminação de aquíferos e solo contendo compostos orgânicos (MENEGHETTI, 2007).

Um dos métodos de biorremediação “in situ” proposto é a atenuação natural. Essa técnica promove a biodegradação do contaminante pela ação dos microorganismos do próprio solo, sem a intervenção humana.

A biorremediação “in situ” permite a descontaminação no próprio local, evitando os insuportáveis custos de remoção e posterior tratamento do solo contaminado, não havendo contatos de pessoas com o contaminante. Pouco ou nenhum resíduo é formado, e requer poucos equipamentos e mão de obra. Além de não interferir nas operações que já estão sendo

realizadas, pode ser utilizados em locais de difícil acesso, e é a técnica mais viável economicamente para descontaminação do solo (MENEGHETTI, 2007).

Em solos contaminados, a eficiência da atenuação natural ou engenharia de biorremediação depende largamente da capacidade de biodegradação dos microorganismos indígenas (PENET et al., 2006). A partir disso, muitos estudos têm surgido no sentido de pesquisas alternativas para biorremediar o solo; e esta técnica demonstra ser uma opção de tratamento para lugares contaminados por hidrocarbonetos (BRADDOCK et al., 1997).

O objetivo desse trabalho é avaliar se o aumento da quantidade de biodiesel no óleo Diesel apresenta aumento proporcional na biodegradabilidade, através de atenuação natural, no solo residual de basalto (latossolo) da região de Passo Fundo, RS.

Os objetivos específicos são:

- Identificar como a biodegradabilidade das misturas contendo diferentes percentuais de biodiesel varia ao longo do tempo;
- Verificar como a temperatura e a umidade influenciam no processo de biodegradação das misturas contendo diferentes percentuais de biodiesel.
- Avaliar a eficiência da técnica de atenuação natural.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DESENVOLVIMENTO DA BIORREMEDIAÇÃO AMBIENTAL

2.1.1 Histórico

Biorremediação é o processo de tratamento de solos e águas subterrâneas contaminadas que utiliza microorganismos, como fungos e bactérias para degradar ou transformar substâncias perigosas em substâncias menos tóxicas ou não tóxicas (BOSCOV GIMENEZ, 2008). Além desses microorganismos, Suthersan (2000) e Yong (2001) citam que as algas, os actinomicetos, e alguns protozoários também possuem capacidade de degradação de contaminante.

Os microorganismos digerem os compostos orgânicos para a produção de energia. Para que as técnicas de biorremediação sejam eficientes é necessário haver crescimento da população de microorganismos, o que pode ser obtido criando-se condições ambientais adequadas. Uma vez degradados os contaminantes, a população de microorganismos morre em virtude da falta de alimento. Os microorganismos podem ser nativos, também denominados indígenas (autóctones), e os aplicados ao solo por inoculação, denominados endógenos.

A biorremediação geralmente é mais custo-efetivo do que os processos físicos e químicos convencionais para tratar solo escavado, e também é considerada por ser uma abordagem mais prática para limpar aquíferos contaminados do que as tecnologias tradicionais, tais como, bombeamento e tratamento, ou incineração do solo contaminado (ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

Muitos processos diferentes de tratamento físico-químicos que, principalmente, transferem os poluentes de uma fase (ou localização) para outra, a biorremediação parece oferece uma solução final. De fato, a biorremediação frequentemente destrói poluentes orgânicos eliminando custos de responsabilidade futuros.

A biorremediação é uma técnica consagrada entre as alternativas para limpar ambientes contaminados com uma grande variedade de resíduos inóspitos.

Embora o projeto sistemático e a aplicação dos microorganismos para tratar águas residuárias começaram somente há um século, o uso de processos biológicos para tratamento de resíduos vem desde o Império Romano.

Em 1982, o Dr. Angus Smith demonstrou que águas residuárias poderiam ser “estabilizadas” pela aeração. Ardern & Lockett, avançaram esse conceito para desenvolver os processos de tratamento de lama ativada, que foi usada primeiramente em Salford, na Inglaterra, em 1914. Esse processo foi chamado de lama ativada porque contou com uma massa ativada de microorganismos para tratar as águas residuárias (ALLEMAN e PRAKASIM 1983, *apud* ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

A história da biorremediação “in situ” é consideravelmente mais curta, e dessa forma reflete em muitos altos e baixos como um resultado de forças políticas e econômicas, conforme demonstra a Tabela 1.

Tabela 1: Perspectiva Histórica do Desenvolvimento da Biorremediação.

Década	Eventos
1900	Desenvolvimento dos processos biológicos para tratar águas residuárias municipais e a lama.
1950	Desenvolvimento dos processos de tratamento de águas residuárias industriais. Hipótese de infalibilidade microbiana proposta por Gayle (1952), conduzido fora dos estudos aeróbicos de laboratório.
1960	Pesquisa na biodegradação de produtos químicos orgânicos sintéticos que apresentam-se como “micropoluentes” em águas residuárias.
1970	Estatuto ambiental do trecho de escopo sem precedentes e pressão regulatória (1976 RCRA e TSCA, 1980 CERCLA) estimula o desenvolvimento das tecnologias de remediação. A adição de microorganismos aclimatados para locais contaminados se torna prática comum. Achados anteriores de bioaugmentação freqüentemente deixam de reconhecer que as bactérias indígenas já presentes podem estar melhores adaptadas geneticamente e fisiologicamente para degradar os poluentes, mas a biodegradação pode ser limitada pela bioavaliabilidade do

contaminante ou condições redox desfavoráveis e não por uma falta de potencial catabólico.

- 1980 Fica claro que os processos fundamentais hidrológicos e biogeoquímicos inerentes à biorremediação precisam ser entendidos antes que uma tecnologia de sucesso possa ser planejada.
- 1990 Muitas abordagens bem sucedidas de tecnologia biorremediação (principalmente ex situ) e híbridas (microbiológica/química) são desenvolvidas. Entretanto muitos tomadores de decisão continuam a considerar a biorremediação como uma tecnologia de risco e continuam a selecionar as tecnologias de bombeamento e tratamento (P&T) para os propósitos de biorremediação.
- 2000 A biorremediação in situ e a atenuação natural monitorada são largamente aceitas como alternativas de limpeza com de custo-efetivo para locais contaminados com uma grande variedade de poluentes orgânicos, e o interesse na bioaumentação cresce para o aumento da remoção dos compostos recalcitantes.

Fonte: ALVAREZ e ILLMAN, 2006.

Nos anos de 1980, torna-se claro que o conhecimento fundamental de microbiologia, ecologia microbiana, hidrogeologia e geoquímica foi necessário para projetar e implementar de forma bem sucedida os sistemas de biorremediação. Numerosos ensaios de biorremediação foram bem sucedidos, primariamente foram aqueles envolvendo a limpeza de lançamentos de produtos de petróleo.

A ação corretiva baseada no risco (RBCA) é um processo tomador de decisão para avaliação da resposta a contaminação da sub superfície, baseado na proteção da saúde humana e recursos ambientais (ALVAREZ e ILLMAN, 2006). Os objetivos da ação corretiva baseada no risco são para:

- Reduzir os riscos dos impactos adversos humanos e ambientais para níveis apropriados (por exemplo, o nível máximo de contaminante ou MCL) no ponto onde o receptor é ou pode ser potencialmente encontrado;
- Assegurar que as atividades de avaliação do local são focadas em coletar somente informação que é necessária para tomar as decisões de ação corretiva baseada no risco;

- Afirmar que os recursos limitados estão concentrados em relação àqueles locais contaminados que coloca os maiores riscos à saúde humana e recursos ambientais em qualquer tempo;
- Garantir que a opção de remediação escolhida é a mais favorável economicamente, que tenha uma alta probabilidade de atingir o grau de exposição tratado e a redução do risco;
- Avaliar a complacência relativa aos padrões específicos do local (American Society for Testing and Materials (ASTM), 1994)).

A RBCA contém as normativas que norteiam a biorremediação passiva (atenuação natural), que envolve o monitoramento e modelagem do contaminante. Entretanto, não há tratamento obrigatório se a contaminação ocorrer em uma taxa suficiente em que a pluma de contaminação não se propague.

Na atenuação natural, não fazer nada também é uma opção, basta o monitoramento do local para provar que está realmente acontecendo. Amostras de solo devem ser retiradas e analisadas para provar a existência de microorganismos no local com subsequente desaparecimento de contaminantes. Tais análises e monitoramentos podem ser bastante caros e consumir tempo, então, para a RBCA, é necessário que haja modelos para predizer se as estratégias de remediação implementadas estejam, de fato, funcionando (ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

2.1.2 Vantagens e Contrapontos da Biorremediação

Aplicações bem sucedidas da biorremediação têm sido relatadas para muitos locais contaminados, cujos três maiores classes de resíduos perigosos propícios à biorremediação são: hidrocarbonetos de petróleo (33% de todas as aplicações), creosoto (22%), e solventes clorados (9%). A biorremediação oferece muitas vantagens e contrapontos quando comparada a remediação tradicional, tal como, bombeamento e tratamento, ou a escavação do solo seguida pela incineração, conforme demonstra a Tabela 2.

Tabela 2: Vantagens e contrapontos da biorremediação em relação à remediação tradicional (bombeamento e tratamento).

Vantagens

- A limpeza ocorre “in situ”, o que elimina o transporte de resíduos perigosos e custos de responsabilidade;
- Resíduos orgânicos perigosos podem ser destruídos (por exemplo, convertidos em H₂O, CO₂, e sais minerais) em vez de transferidos de uma fase para outra, assim eliminando a responsabilidade a longo prazo;
- Conta com os processos de biodegradação endógenos que podem ser mais rápidos e mais baratos (no mínimo dez vezes menos caro);
- Mínimo distúrbio ambiental e do solo;
- Não poluição sonora do maquinário no local contaminado;
- Remoção da água do aquífero devido ao bombeamento;
- Pode ser usado em conjunto com outras tecnologias de tratamento.

Contrapontos

- Certos resíduos tais como metais pesados, não são eliminados pelo processos biológicos (embora muitos metais podem ser biorreduzidos ou bio oxidados para menos tóxicos e formas menos móveis);
 - Pode requerer monitoramento extensivo;
 - Requisitos e eficiência de remoção podem variar consideravelmente de um local para outro;
 - Alguns contaminantes podem estar presentes em altas concentrações que inibem os microorganismos;
 - Pode ser uma técnica intensiva cientificamente;
 - Há um risco para acumulação de produtos tóxicos da biodegradação.
-

Fonte: ALVAREZ e ILLMAN, 2006.

As principais vantagens geralmente incluem um custo mais baixo e também uma capacidade de eliminar os poluentes “in situ”, e frequentemente, transformando-os em inofensivos, como o CO₂, a água e a biomassa (ALVAREZ e ILLMAN, 2006; MARIANO et al., 2008).

Assim, uma biorremediação bem sucedida requer um entendimento dos fatores específicos do local que, limitem as biotransformações desejáveis ou que resultem em consequências não intencionais, tal como, a produção de metabólitos tóxicos (ALVAREZ e ILLMAN, 2006), condições ambientais adversas tais como um pH extremo, temperatura, ou a presença de metais pesados e concentrações tóxicas podem inibir atividades microbianas específicas.

Os requisitos para a biorremediação são descritos no modelo piramidal (Figura 1). Em ordem de importância, primeiro é necessária a presença de microorganismos capazes de sintetizar enzimas que podem degradar os poluentes alvos. Essas enzimas catalisam reações metabólicas que frequentemente produzem energia celular e formam blocos para as sínteses de material celular novo.

O segundo nível da pirâmide mostra as fontes de energia apropriadas, por exemplo, doadores de elétrons e aceptores de elétrons que devem estar presentes.

Já, o terceiro nível mostra umidade e pH satisfatório; e o quarto nível, o qual mostra a importância de evitar temperaturas extremas, assegurando a disponibilidade de nutrientes tais como oxigênio, fósforo, e metais traços.

Finalmente, na base da pirâmide, há três requisitos ambientais que são importantes para a sustentabilidade da biorremediação: (1) a ausência de altas concentrações de substâncias que são tóxicas para os microorganismos, (2) a remoção de metabólitos que podem inibir atividades microbianas específicas (talvez por outros membros da comunidade microbiana) e, (3) a ausência de altas concentrações de protozoas, que atuam como predadores das bactérias responsáveis pela degradação de contaminante.

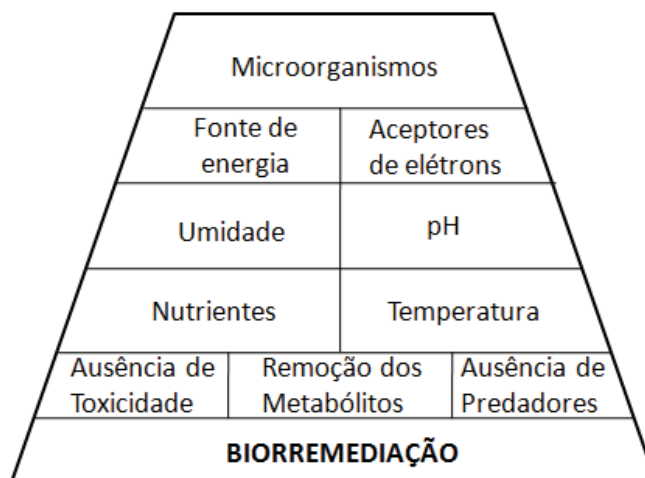


Figura 1: Requisitos para a biorremediação (COOKSON 1995, *apud* ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

Em resumo, a engenharia de biorremediação precisa ter entendimento dos requisitos nutricionais e fisiológicos dos degradadores específicos, e assegurar que uma vantagem competitiva seja fornecida aos meios de biotransformação desejáveis (mas não os indesejáveis). Os avanços recentes nas pesquisas de geoquímica, microbiologia e processos de transporte têm melhorado a habilidade de conduzir a biorremediação. Em suma, muitas estratégias diferentes de biorremediação podem ser adaptadas a cenários específicos de contaminação.

2.2 TÉCNICAS BIOLÓGICAS

2.2.1 BIORREMEDIAÇÃO “in situ”

A biorremediação “in situ” compreende o estímulo e, o aumento da atividade dos microorganismos indígenas, podendo-se assim, estimular seu crescimento pela adição de nutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio), introdução de oxigênio e adequação da temperatura.

A biorremediação “in situ” é a aplicação de tratamento biológico para promover a limpeza de compostos químicos perigosos presentes na subsuperfície. Quando compostos perigosos persistem na subsuperfície é devido ao fato de que as condições do meio não estão apropriadas para a atividade microbiana que resultaria na degradação bioquímica.

Devido à isso, a otimização de condições ambientais é alcançada através do entendimento dos princípios biológicos de como esses compostos são degradados, e o efeito das condições ambientais sobre os microorganismos e nas reações metabólicas. Dessa maneira, Suthersan (2000), apresenta (Figura 2), o triângulo da biodegradação para que se possa entender a degradação microbiana de alguns compostos orgânicos e sintéticos, que consiste de conhecimento das comunidades microbianas, condições ambientais, estrutura e características físico-químicas dos compostos orgânicos a serem degradados.

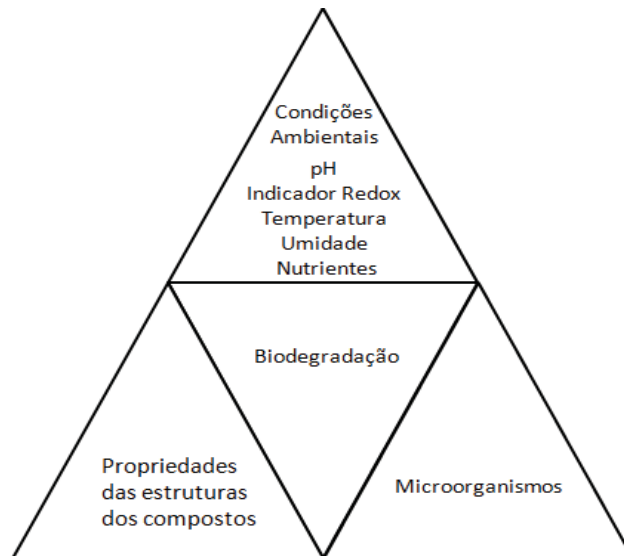


Figura 2: Triângulo da Biodegradação.

Fonte: (SUTHERSAN, 2000).

As técnicas utilizadas na biorremediação “in situ” do solo incluem: a atenuação natural (passiva), “biosparging”, “bioventing”, “biostripping”, biofiltração, bioestimulação, “biotraps”, biodegradação, biorestauração, “landfarming”, e compostagem. Todas elas utilizam de uma forma, ou outra, os vários processos que incluem a degradação microbiana, hidrólise, substituição, transformação e degradações aeróbicas a anaeróbica, reações redox, mineralização e volatilização.

Segundo Suthersan (2000), a biodegradação pode ser definida como redução microbiana catalisada na complexidade de químicos. No caso de compostos orgânicos, a biodegradação, frequentemente, embora não necessariamente, conduz à conversão de grande quantidade de carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre e outros elementos na composição original a produtos finais inorgânicos.

Tal conversão de um substrato orgânico a produtos finais inorgânicos é conhecida como mineralização. Assim, na mineralização do carbono orgânico, nitrogênio orgânico, fósforo orgânico, enxofre orgânico, ou outros elementos, o CO₂ ou formas inorgânicas de nitrogênio, fósforo, enxofre ou outros elementos, são liberados pelos organismos e entram no meio ambiente circundante (ALEXANDER, 1994).

Porém, segundo Moreira e Siqueira (2002), as mais conhecidas são a atenuação natural, bioestimulação, bioventilação, bioaumentação, “landfarming”, e compostagem (Tabela 3).

Tabela 3: Alguns métodos de biorremediação do solo.

BIOREMEDIÇÃO	FUNDAMENTOS E DEFINIÇÕES
Atenuação natural	É degradação intrínseca ou natural pelos microrganismos indígenas do solo.
Bioestimulação	Objetiva a adição de nutrientes, como N e P, para estimular os microrganismos.
Bioventilação (“ <i>Bioventig</i> ”)	É uma forma de bioestimulação por adição de gases estimulantes como O ₂ e CH ₄ , para aumentar a atividade microbiana decompositora.
Bioaugmentação	Inoculação do local contaminado com microrganismos selecionados para degradação do contaminante.
“Landfarming”	Aplicação e incorporação de contaminantes ou rejeitos contaminados na superfície de solo não contaminado para degradação.
Compostagem	Uso de microrganismos termófilos aeróbios em pilhas construídas para degradar o contaminante.

Os processos biológicos, que ocorrem no meio ambiente natural, podem modificar as moléculas orgânicas dos contaminantes no local do derramamento ou durante seu transporte na subsuperfície. Tais transformações biológicas, que envolvem enzimas como catalisador, frequentemente, fazem com que ocorram modificações na estrutura e propriedades toxicológicas dos contaminantes (ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

Esses processos bióticos podem resultar na conversão completa da molécula orgânica para produtos finais inorgânicos inócuos, ocasionando assim, a formação de novos produtos orgânicos ou ocasionalmente menores modificações. A justificativa para isso é que os agentes que causam essa transformação biológica no solo, sedimentos, na água de superfície e água

subterrânea, são realizadas pelos microorganismos indígenas que habitam esse meio (SUTHERSAN, 2000).

Microorganismos podem realizar a biodegradação em muitos tipos diferentes de habitats e meios, ambos sob condições aeróbicas e anaeróbicas. Comunidades de bactérias e fungos podem degradar um grande número de compostos sintéticos e provavelmente todo o produto natural (SUTHERSAN, 2000).

O processo “in situ” inclui a biodegradação, consumo por animais ou plantas, dispersão, diluição, difusão, troca catiônica, sorção, e dessorção, volatilização, complexação, decaimento radioativo e transformação abiótica. O subsolo age como um reator bioquímico alterando o contaminante em seu caminho da fonte ao receptor (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

Os fatores que podem limitar a eficiência da biorremediação “in situ” são as baixas temperaturas, condições anaeróbicas, baixas concentrações ou baixa disponibilidade (distribuição espacial insuficiente dos contaminantes em relação aos microorganismos de nutrientes), dificuldade de biodegradação (compostos recalcitrantes) e baixa permeabilidade do solo, ar e líquidos (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

A manipulação do meio ambiente, incluindo micro e macronutrientes dos procedimentos, é um requisito examinado em conjunto com estudos de tratabilidade e classificação. A maioria das técnicas aplicadas requerem um procedimento de co-tratamento para remoção dos produtos biotratados (YONG, 2001).

2.2.1.1 Atenuação natural

Atenuação natural é a resposta de sistemas hidrológicos à contaminação envolvendo processos químicos, físicos e biológicos que, sob condições favoráveis, agem sem intervenção humana, reduzindo massa, toxicidade, mobilidade, volume ou concentração de contaminantes no solo ou nas águas subterrâneas com o tempo ou distância da fonte (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

O processo de atenuação natural (biorremediação intrínseca) de um poluente orgânico no solo, sem acréscimo de nutrientes ou adequação de qualquer condição ambiental, pode ocorrer de maneira contínua devido ao processo de adaptação natural dos microorganismos indígenas do solo impactado. Esses microrganismos passam, então, a utilizar o composto orgânico poluente como fonte de carbono, ocasionando assim uma redução da sua concentração ao longo do tempo. Além disso, o solo contaminado é sujeito ao processo de intemperização

natural, onde, não só os processos biológicos estão envolvidos, mas também, processos físicos e químicos são responsáveis pela redução da concentração de poluente no solo (lixiviação, volatilização, etc.). No entanto, o tempo envolvido no processo de atenuação natural costuma ser bastante longo (meses ou anos) o que torna necessária, muitas das vezes a remoção do solo impactado e encaminhamento do mesmo para tratamento “ex-situ” (BAPTISTA e RIZZO, 2004).

No processo de atenuação natural, ao longo do tempo, pode ocorrer transferência de massa de contaminante entre as fases mencionadas. Por exemplo, o contaminante pode passar da fase residual para a fase dissolvida graças à subida do nível d’água subterrâneo. Nesse caso, a quantidade dissolvida depende da massa de contaminante e da velocidade de dissolução; esta por sua vez, é afetada pela solubilidade do contaminante, pela velocidade de fluxo do aquífero e pela composição da mistura de fluidos. Para a remoção da fase residual são utilizadas a atenuação natural monitorada e a injeção de ar (bioventilação) e/ou macronutrientes (N,P,K), para acelerar a biodegradação. Já para uma contaminação rasa, pode-se remover o solo contaminado, e após, retornar o solo a área remediada, ou dispô-lo em outro local (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

Os processos de atenuação podem ser classificados em destrutivos ou não destrutivos. A biodegradação é o mais importante mecanismo destrutivo, enquanto os mecanismos não destrutivos incluem sorção, dispersão, diluição devido a sua recarga e volatilização (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

Uma atenuação natural com monitoramento efetivo pode ser considerada uma alternativa de remediação. Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos EUA, atenuação natural é definida como,

“confiança nos processo de atenuação natural (dentro do contexto de controle e monitoramento cuidadosos) para atingir objetivos de remediação específicos para cada local dentro de um tempo que é razoável comparado com o oferecido por outros métodos mais ativos (USEPA, 2008).

Dessa forma, são necessárias avaliações de impactos potenciais de longo prazo, do potencial e das limitações da atenuação natural, bem como o projeto de sistemas para monitorar o desempenho da remediação por atenuação natural. Nesse contexto o solo age como um reservatório contínuo de consistentes solúveis como o nitrogênio; e conseqüentemente, as concentrações de oxigênio dissolvidas na pluma permanecem

praticamente inalteradas por causa da degradação biológica por microorganismos sob as bacias de infiltração (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

Bento et al. (2003), avaliaram o diesel através da atenuação natural, bioaugmentação e bioestimulação a degradação de hidrocarboneto de petróleo em solos contaminados com óleo diesel. Após 12 semanas de incubação, os melhores resultados foram obtidos na bioaugmentação, e a atenuação natural foi mais efetiva que a bioestimulação.

Baptista e Rizzo (2004) realizaram estudos acompanhando o processo de atenuação natural de solo contaminado por petróleo. Os resultados obtidos nos dois primeiros meses de acompanhamento do processo de atenuação natural de duas amostras de solo contaminado com 5 e 10% de óleo cru indicaram uma redução de 5 e 12%, respectivamente, no teor do contaminante. No entanto, deve se destacar que o trabalho encontra-se em fase inicial, tendo em vista o longo tempo normalmente associado ao processo de atenuação natural de poluentes orgânicos em solos.

2.2.1.2 Bioestimulação

A técnica de bioestimulação consiste basicamente na adição de nitrogênio, fósforo, potássio (N, P, K) como fonte de nutrientes para os microorganismos como bactérias, fungos e actinomicetos junto a área contaminada. Esses microorganismos se nutrem dos múltiplos compostos orgânicos, que podem ser usados por um ou mais tipos de microorganismos. A biodegradação completa de um poluente orgânico resulta em H₂O, CO₂, e biomassa como produto final (ALVAREZ e ILLMAN, 2006; MARIANO et al., 2008).

2.2.1.3 Bioventilação

A técnica de bioventilação também conhecida como bioareação ou “bioventig” caracteriza-se pela adição de oxigênio através do solo a fim de estimular o crescimento dos microorganismos indígenas ou introduzidos pela biorremediação. Este processo utiliza baixas vazões de ar, suficientes apenas para manter a atividade microbiana.

Na maioria dos casos, o oxigênio é fornecido pela injeção direta de ar na massa de solo contaminado, onde ocorre também a biodegradação de compostos orgânicos voláteis, que se movem lentamente através do solo biologicamente ativado.

A maioria dos hidrocarbonetos de petróleo são biodegradáveis sob condições aeróbicas. O oxigênio é um co-substrato que pode iniciar o mecanismo de biodegradação e, depois de iniciado o metabolismo, também pode funcionar como aceptor de elétrons para a geração de energia. Em altas concentrações de hidrocarboneto, a biodegradação aeróbia pode não ser suficiente para degradá-los completamente. Quando o oxigênio é, então, esgotado mas o nitrato continua presente, os microrganismos anaeróbios facultativos o utilizarão como aceptor final de elétrons em substituição ao oxigênio (BORDEN et al. 1995, ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

Uma das características de “Bioventig” é a de remoção através de volatilização, da massa do contaminante e sua destruição “in situ”. A aplicação de ar e/ou oxigênio puro na camada de subsuperfície estimula o crescimento da população existente, dessa forma, resultando na redução da via potencial oxidativo da microbiota, e dos contaminantes do sítio (FERNANDES e ALCÂNTARA, 2003).

Uma das características de “Bioventig” é a de remoção através de volatilização, da massa do contaminante e sua destruição “in situ”. A aplicação de ar e/ou oxigênio puro na camada de subsuperfície estimula o crescimento da população existente, dessa forma, resultando na redução da via potencial oxidativo da microbiota, e dos contaminantes do sítio (FERNANDES e ALCÂNTARA, 2003).

2.2.1.4 Bioaumentação

A técnica de bioaumentação caracteriza-se pela inoculação do solo com culturas puras ou consórcio microbiano de determinados microrganismos selecionados para degradação de contaminantes específicos. Esse processo tem sido estudado em relação a contaminantes como herbicidas, hidrocarbonetos clorados e carbamatos, cujo objetivo se dá através do emprego de populações indígenas aclimatadas, isolados selecionados. Dessa forma, a bioaumentação é mais indicada para tratamentos de contaminantes muito recalcitrantes, onde as contaminações sejam recentes, e onde se pretende aplicar a degradação acelerada (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Nesse contexto, Sarkar et al. (2005), relata que as culturas podem ser derivadas de um solo contaminado ou obtidas de uma cultura estoque que têm demonstrado, previamente, capacidade para degradar hidrocarbonetos.

Segundo Siqueira et al. (1994), a bioaugmentação pode ocorrer de três maneiras: 1) estimulação da população existente através de alterações no ambiente ou aplicação de nutrientes; 2) isolamento e seleção de organismos competentes e posterior aplicação ao solo; 3) uso de microrganismos clonados pela engenharia genética (MEG). No processo de bioaugmentação, os microrganismos nativos ou introduzidos degradam contaminantes presentes no solo. Porém, o uso desta tecnologia é ainda restrito a situações mais específicas. A composição biológica destas formulações é mantida em segredo, mas a maioria inclui estirpes selecionadas de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium* e outras bactérias, o fungo *Phanerochaete chrysosporium* e muitos MEG.

2.3 CONTAMINAÇÃO DO MEIO AMBIENTE POR HIDROCARBONETOS DERIVADOS DO PETRÓLEO

A contaminação por hidrocarbonetos derivados do petróleo é de suma preocupação, tanto pela frequência de ocorrência, como pela complexidade de sua repartição no solo, exigindo a associação de algumas técnicas de remediação (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

O uso de hidrocarbonetos como combustíveis e estocagem industrial tem resultado na ocupação do solo e, muitas vezes, na contaminação da água subterrânea por esse grupo de contaminante. Fontes comuns de contaminação incluem vazamentos de tanques de armazenagem subterrâneas, oleodutos, atividades de exploração de óleo, poços em propriedades rurais, poços de produção de óleo e resíduos de refinaria.

Hidrocarbonetos de petróleo compreendem um grupo diverso de compostos, incluindo alcanos, alcenos, e constituintes aromáticos e heterocíclicos. O combustível de avião, por exemplo, tipicamente contém mais que 300 hidrocarbonetos diferentes (ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

Além disso, os combustíveis derivados de petróleo são compostos por um grande número de substâncias orgânicas de diferentes propriedades físicas e químicas, como solubilidade, densidade, polaridade, temperatura de vaporização, entre outras (BOSCOV GIMENEZ, 2008).

Geralmente os hidrocarbonetos são mais leves do que a água e tendem a flutuar na superfície do plano d'água se apresentarem-se numa fase orgânica separada – a tão chamada fase líquida não aquosa leve. Entretanto, diferentes hidrocarbonetos, na mistura, exibem diferentes propriedades físico-químicas que afetam seus transporte, destino, e principalmente

seu mecanismo de remoção. Além disso, diferentes hidrocarbonetos exibem desiguais níveis de resistência a biodegradação. Assim, a biodegradação e os processos de intemperismo abióticos (por exemplo, volatilização, sorção e diluição) resultam na remoção diferencial de hidrocarbonetos específicos, o que muda a composição relativa das misturas de hidrocarboneto ao longo do tempo (ALVAREZ e ILLMAN, 2006).

Segundo Boscov Gimenez (2008), em uma área contaminada por hidrocarbonetos derivados do petróleo, os contaminantes podem se encontrar na superfície nas seguintes fases:

- Residual: apresenta-se na forma de uma fina película envolvendo partículas de solo; compreende a fração retida por adsorção e por formação de filme superficial.
- Dissolvida: é constituída pela dissolução de compostos polares e por uma fração emulsionada; possui maior mobilidade, movimentando-se junto com a água subterrânea.
- Vaporizada: é a fase gasosa dos compostos voláteis.
- Capilar: consiste em bolhas presas por capilaridades nos vazios do solo; forma-se tanto na migração do poluente da superfície do terreno até o nível freático, como quando o nível do nível freático varia, ou mesmo durante a percolação sobre o nível freático.
- Livre: é a fração do óleo que, sujeita a um gradiente hidráulico, percola pelos poros do solo.

2.3.1 ÓLEO DIESEL

2.3.1.1 Aspectos gerais

O óleo diesel é um combustível derivado de petróleo constituído basicamente de hidrocarbonetos. Sua formação se dá principalmente por átomos de carbono hidrogênio e em baixas concentrações por enxofre, nitrogênio e oxigênio. É um produto inflamável, moderadamente tóxico, menos volátil que a gasolina e o álcool, límpido, isento de material em suspensão e com odor forte e característico. (PETROBRÁS, 2006).

Contém de 2000 a 4000 hidrocarbonetos, uma mistura complexa de alcanos ramificados e cíclicos, e compostos aromáticos obtidos da fração meio destilada durante a separação do petróleo (GALLEGO et al., 2001).

Os hidrocarbonetos são uma família de moléculas, cuja constituição consiste, essencialmente, em átomos de carbono e hidrogênio. Sua constituição varia desde moléculas mais simples e mais facilmente biodegradáveis, como o metano, até compostos mais complexos, como os que incluem anéis de benzeno (MOURA e SAMARA, 2005).

A Agência Nacional do Petróleo e Gás (ANP) apresenta as principais características físico-químicas do óleo diesel (Tabela 4), comercializado nos postos de combustíveis do Brasil.

Tabela 4: Características físico-químicas do diesel convencional (tipo C).

CARACTERÍSTICAS	ÓLEO DIESEL
Enxofre (%)*	0,3
Carbono (%)*	86
Hidrogênio (%)	13,4
Oxigênio (%)	0
Aromáticos (% , v/v)	31,5
Viscosidade a 40 °C (cSt)*	2,5 a 5,5
Número de cetano (NC)*	42
Densidade 15 °C (Kg/m ³)	0,849
Ponto de névoa °C	1
Valor calorífico (MJ/Kg)	42,30
Umidade (ppm)	58

Limites requeridos para a comercialização do óleo diesel.

Fonte: ANP, 2001.

Pesquisas tem sido feitas a fim de determinar a degradação deste tipo de combustível por microrganismos isolados oriundos de várias áreas contaminadas. Estudos relacionados a sua biodegradação tem demonstrado que populações microbianas podem degradar frações alifáticas e aromáticas de hidrocarbonetos simultaneamente, embora a adição de determinados compostos, assim como a composição de algumas misturas podem interferir na degradação de seus componentes (OLSON, 1999).

2.3.2 BIODIESEL

2.3.2.1 Aspectos gerais

O biodiesel é um combustível renovável limpo obtido de fontes orgânicas como óleos vegetais e gorduras vegetais. Sua produção ocorre principalmente por transesterificação de óleo ou de gordura, com uma cadeia curta de álcool na presença de um catalisador, usualmente NaOH ou KOH (PASQUALINO et al, 2006).

É composto de ésteres de metil ou etil de ácidos graxos com baixa complexidade estrutural como oleato, plamitato, estearato, linoleato, miristato, laureato e linolenato, derivados de diferentes fontes de óleo vegetal, tal como soja, girassol, amendoim, algodão, óleo de palmeira, coco, babaçu, óleo de rícino, e de gordura animal (PINTO et al, 2005).

As qualificações do biodiesel cujos parâmetros são comparados com a especificação da Agência Nacional do Petróleo (ANP) para o diesel comercializado no país (ANP, 2002), estão demonstrados na Tabela 5.

O número de cetano representa uma das mais importantes propriedades do diesel automotivo e seu aumento geralmente resulta em redução da emissão pela exaustão, diminuindo o consumo de combustível e reduzindo o barulho do motor (SERDARI et al., 1999).

Tabela 5: Características de qualidade do biodiesel de soja obtido comparado com algumas especificações para o diesel comercializado no Brasil segundo a Port. 310/01 da ANP e biodiesel de acordo com E-DIN 51606.

Características	Especificação diesel	Especificação biodiesel	Biodiesel de soja
Aspecto	Límpido, isento de impurezas	---	Límpido, isento de impurezas
Cor ASTM, máx.	3,0	---	2,0
Enxofre Total, máx.	0,35%	---	<0,075%
Massa específica (20°C)	820 a 880 kg/m ³	875 a 900 kg/m ³	877,5 kg/m ³
Índice de cetano, mín.	45	---	57,8
Resíduo Carbono, máx.	0,25%	<0,05%	0,14%
Índice de acidez	---	<0,5 mg KOH/g	0,5 mg KOH/g

Índice de Iodo	---	<115 g I2/100 g	104,45 g I2/100 g
Cinzas	0,02%	---	0,006%
% de glicerol livre	---	<0,02	0,0109%

Fonte: FERRARI et al., 2004.

Observa-se também que o teor de enxofre total presente no biodiesel é inferior ao do óleo diesel, o que confere ao biodiesel uma grande vantagem, pois elimina a emissão de gases de enxofre (SO₂, por exemplo) que ocorre no escape dos motores a diesel. Após esta avaliação pode-se observar que os parâmetros de qualidade do produto estão compatíveis com as especificações existentes atualmente para o diesel. Como se pode observar no caso dos ésteres etílicos de óleo de soja, um valor inferior ao das especificações do diesel combustível é encontrado para o resíduo de carbono, embora este valor exceda ao especificado para o biodiesel de acordo com a E-DIN 51606 (FERRARI et al., 2004).

Na composição média de ésteres etílicos de ácidos graxos do biodiesel observa-se a predominância de ésteres etílicos de ácidos graxos insaturados, com o ácido linoleico aparecendo em maior quantidade, e um teor total de 14,83% de ésteres etílicos de ácidos graxos saturados presentes no biodiesel produzido a partir do óleo neutro de soja. Dependendo da matéria-prima, o biodiesel pode conter mais ou menos ácidos graxos insaturados em sua composição, conforme pode observado na Tabela 6.

Tabela 6: Composição média de ésteres etílicos de ácidos graxos do biodiesel de soja produzido.

Nº de Carbonos	Ácido Graxo	Concentração (%)
C16:0	Palmítico	11,29
C18:0	Esteárico	3,54
C18:1	Oléico	22,45
C18:2	Linoleico	54,62
C18:3	Linolênico	08,11

Fonte: (FERRARI et al., 2004).

2.4 BIODEGRADAÇÃO

Em situações naturais a biodegradação anaeróbica dos compostos biodegradáveis na zona saturada é de taxa-limitada pela avaliabilidade do oxigênio. A biodegradabilidade de alguns compostos sobre condições aeróbicas é dependente da sua estrutura química e parâmetros ambientais tais como o pH, e a temperatura.

Dos compostos orgânicos voláteis (VOCs), os considerados de fácil biodegradabilidade (sob as condições aeróbicas) são o benzeno, o tolueno, a acetona, e etc.; e os de difícil biodegradabilidade, que são o tricloroetileno e o tetracoloroetileno (SUTHERSAN, 2000).

Sob condições anaeróbicas, induzidas pela degradação natural dos contaminantes, concentrações de oxigênio dissolvido (DO) na água subterrânea são freqüentemente menores que 0,5 mililitros/l. Níveis de DO podem ser aumentados por “air sparging” chegando a 6 a 10 miligramas/l. Esse aumento nos níveis de DO contribuirá para as taxas aumentadas da biodegradação aeróbica na zona saturada. Esse método de introdução de oxigênio para melhorar as taxas de biodegradação é uma das vantagens da “air sparging in situ”.

Os caminhos de difusão do oxigênio da água subterrânea são definidos pela distância entre os canais de ar (SUTHERSAN, 2000). Quando o espaçamento do canal é largo, a difusão sozinha não é suficiente para transportar oxigênio para todas as áreas do aquífero por degradação aeróbica avançada. Os canais de poros formados e a mistura induzida durante “air sparging” melhoram a taxa de transferência do oxigênio (CLAYTON et al, 1995).

2.4.1 METABOLISMO MICROBIANO

Durante os processos de biorremediação “in situ”, os microorganismos usam os contaminantes orgânicos para seu crescimento. Além disso, os compostos fornecem a maioria dos nutrientes, tais como o nitrogênio e o fósforo, e nutrientes menores, como o enxofre e elementos traço que são requisitos para seu crescimento.

Na maioria dos casos, um composto orgânico que apresenta um carbono como fonte de energia, é transformado pelos meio metabólicos característicos de microorganismos heterotróficos. Entretanto, um composto orgânico não precisa necessariamente, ser um substrato para crescimento, a não ser que seja metabolizado pelo microorganismo.

Duas categorias de transformações existem: (1) a biodegradação que fornece carbono e energia, os quais dão sustento ao crescimento; o processo, entretanto, está ligado somente ao

crescimento; (2) a biodegradação que não está ligada à multiplicação, mas obtém o carbono para a respiração das células que mantém sua viabilidade (SUTHERSAN, 2000).

Observou-se que o número de células microbianas ou de biomassa das espécies que atuam nos compostos de interesse aumentou com os processos de degradação (ALEXANDER, 1994).

Durante o processo de mineralização ligado ao crescimento, as bactérias usam energia e carbono do substrato orgânico para fazer novas células, esse aumento constante de população causa uma rápida mineralização. Os microorganismos necessitam de nitrogênio, fósforo, e uma variedade de nutrientes traço, com exceção do carbono. (SUTHERSAN, 2000).

Antes da biodegradação de muitos compostos orgânicos, um período é observado, e percebe-se que não há degradação evidente de produtos químicos. Esse intervalo de tempo é conhecido como o período de aclimatação, ou às vezes, como adaptação, ou período de intervalo. O tamanho do período de aclimatação varia e pode ser menor do que uma hora ou muitos meses.

Esse período de aclimatação depende da estrutura química, das condições ambientais biogeoquímicas da sub superfície, e da concentração dos compostos. A aclimatação de uma população microbiana para um substrato, frequentemente, resulta na aclimatação simultânea para alguns, mas não para todos, estruturalmente relacionadas com as moléculas (SUTHERSAN, 2000).

2.4.1.1 Formas de Metabolismo

As formas de metabolismo são de um modo geral classificadas em aeróbicas e anaeróbicas. As transformações aeróbicas ocorrem na presença de moléculas de oxigênio, as quais servem comoceptoras de elétrons. Essa forma de metabolismo é conhecida como respiração aeróbica. As reações anaeróbicas ocorrem somente na ausência da molécula de oxigênio e as reações são subdivididas em respiração anaeróbica, e fermentação de metano (SUTHERSAN, 2000).

Em todos os casos da respiração aeróbica, o aceptor de elétrons é a molécula de oxigênio. Já, a respiração anaeróbica usa compostos orgânicos ou inorgânicos oxidados, e nunca o oxigênio como aceptor de elétrons. A respiração de substratos orgânicos por bactérias é, na maioria dos casos, muito similar. Os substratos são oxidados à CO_2 e H_2O . Durante a

fermentação, compostos orgânicos servem como ambos doadores de elétrons e aceptores de elétrons.

A fermentação pode ocorrer estritamente sob estritas condições anaeróbicas. O nível de oxidação médio dos produtos finais é idêntico àquele do substrato fermentado. Assim, o substrato produz uma mistura de produtos finais, alguns mais oxidados que o substrato e outros mais reduzidos. Os produtos finais dependem do tipo de microorganismos, mas usualmente incluem um número de ácidos, álcoois, cetonas, e gases como: CO_2 e CH_4 . A Tabela 7 elenca as várias reações metabólicas microbianas.

Tabela 7: Formas de metabolismo.

Doador de elétrons redutores		Aceptor de elétrons oxidante	Produtos finais
Respiração Aeróbica			
Substratos orgânicos (benzenos, tolueno, fenol)		O_2	CO_2 , H_2O
	NH_4	O_2	NO_2^- , NO_3^- , H_2O
	Fe^{2+}	O_2	Fe^{3+}
	S^{2-}	O_2	SO_4^{2-}
Respiração Anaeróbica			
Substratos orgânicos (benzeno, tolueno, fenol, tricloroetileno)		NO_3^-	N_2 , CO_2 , H_2O , Cl^-
Substratos orgânicos (benzeno, tricloroetileno)		SO_4^{2-}	S^{2-} , H_2O , CO_2 , Cl^-
	H_2	SO_4^{2-}	S^{2-} , H_2O
	H_2	CO_2	CH_4 , H_2O
Fermentação			
Substratos orgânicos		Compostos orgânicos	Compostos orgânicos, CO_2 , H_2O

Fonte: SUTHERSAN, 2000.

Outra forma importante de metabolismo na biorremediação é o cometabolismo. Cometabolismo não é metabolismo (produção de energia), mas é uma transformação de compostos.

Segundo Alexander (1994), a transformação de compostos orgânicos por um microorganismo que não é capaz de utilizar o substrato como fonte de energia é denominado cometabolismo.

Contaminantes que conduzem a biorremediação por se tornarem um substrato secundário através do cometabolismo são parcialmente transformados. Essa parcial transformação pode ou não resultar em uma redução da toxicidade. O cometabolismo geralmente conduz à baixas degradações, o que requer um cuidado para que essa taxa seja aumentada.

Entretanto, a adição de um número de compostos orgânicos na área contaminada pode elevar a taxa de cometabolismo, e isso pode ser denominado enriquecimento análogo (ALEXANDER, 1994). Em um derramamento de petróleo, por exemplo, o benzeno será degradado sob condições aeróbicas, em uma maior taxa que o naftaleno, que degradará mais rápido que o criseno (SUTHERSAN, 2000).

2.4.1.2 Cometabolismo microbiano

Geralmente estudos laboratoriais são realizados com substratos orgânicos individuais, mas meios poluídos e naturais contém uma multiplicidade de compostos orgânicos que podem ser usados por um ou mais microorganismos indígenas.

Um substrato freqüentemente aumenta a taxa de degradação de outros substratos (PASQUALINO et al., 2006). A razão para este comportamento ainda é bastante desconhecida, e está sendo pesquisada. Segundo Alexander (1994), algumas hipóteses podem ser estabelecidas: (1) a fonte de carbono adicional aumenta o tamanho da população; (2) uma grande massa de células cometabolizantes é produzida; (3) os fatores de crescimento são excretados pela ação da população no segundo composto; (4) as enzimas necessárias para a degradação do primeiro composto são produzidas.

O processo de transformação cometabolica (cometabolismo) consiste em microorganismos que utilizam um segundo substrato, que é rapidamente biodegradável, como o carbono ou fonte de energia para degradar o primeiro substrato. O cometabolismo é importante, pois degrada substâncias resistentes, ou quando os microorganismos presentes não são eficazes em degradar o substrato se o poluente for a única fonte de carbono (ZHANG et al., 1998).

Logicamente, o cometabolismo pode ser utilizado para eliminar substâncias resistentes como óleo bruto e seus derivados (PASQUALINO et al., 2006).

Segundo Pereira & Mudge (2004), pesquisas recentes mostram que o biodiesel pode ser usado como um solvente biológico e que pode remover até duas vezes a quantidade de óleo bruto da areia como limpeza convencional da margem afetada pelo derramamento. Isso aumenta a biodegradabilidade do óleo bruto por meios de cometabolismo, facilita sua remoção pela remoção da viscosidade. Dessa forma, torna-se possível o bombeamento das misturas resultantes.

Zhang et al., (1998), relata que misturas entre biodiesel e diesel indica que o biodiesel pode promover a aumentar a biodegradação do diesel por meios de cometabolismo.

Segundo Mariano et al., 2008, a diferença entre a composição dos combustíveis também influencia a sua degradabilidade.

Os hidrocarbonetos do diesel e ésteres metil de ácidos graxos são rapidamente degradados em realizou trabalho em sistema aquoso quando o biodiesel está presente em níveis relativamente baixos (100 – 400 ppm) na presença de baixos níveis de nitrogênio biologicamente disponível e fósforo. A biodegradação parece muito mais lenta em sistema de solo (DAVIS et al., 2003).

2.4.2 REAÇÕES MICROBIANAS E SUAS VIAS

As transformações microbianas podem ser descritas como: degradação, mineralização, detoxificação, e ativação. A degradação pode ser compreendida como um substrato não mais longo existente (SUTHERSAN, 2000).

A mineralização é a conversão completa da estrutura orgânica em formas inorgânicas tais como CO_2 , H_2O e CL^- (SUTHERSAN, 2000).

A detoxificação é a transformação do composto em alguma forma intermediária que é não-tóxica ou menos tóxica.

Já a ativação pode ser entendida como o processo de formação de produtos finais tóxicos ou produtos intermediários (SUTHERSAN, 2000).

2.4.3 TAXA E CINÉTICA DA BIODEGRADAÇÃO

A degradação de compostos orgânicos, juntamente com seus meios e sua cinética tem sido bem determinada em laboratório. Períodos de meia-vida como parâmetro e cinética de primeira ordem como função, na maioria das vezes são usados para descrever a degradação dos contaminantes na sub superfície. No entanto, a degradação depende densamente das condições ambientais específicas do local (SUTHERSAN, 2000).

Os modelos cinéticos para a degradação microbiana são baseados na concentração de substrato e biomassa (SIMKINS & ALEXANDER, 1994, *apud* SUTHERSAN, 2000).

Dessa forma, isso conduz a três tipos de ordem cinética para biodegradação em meio natural: (1) o primeiro processo de ordem cinética é quando a taxa de biodegradação de um composto é diretamente proporcional à sua concentração; (2) o segundo processo, no qual a cinética de primeira ordem está relacionada à sua densidade populacional. A falta de informações sobre a degradação pode ser uma das razões por que a ocorrência a reações não-lineares é estimada. Isso é demonstrado pela equação que segue. E o outro e último fator (3) que influencia a cinética da biodegradação é a estrutura química do contaminante de interesse.

$$-dC/dt = kC^n$$

Onde:

C : concentração do substrato

t : tempo

k : taxa constante para desaparecimento químico

n : parâmetro adequado

2.4.4 FATORES AMBIENTAIS

Para que possam degradar os contaminantes na sub superfície, as populações microbianas estão sujeitas a uma variedade de fatores físicos, químicos, e biológicos que influenciam seu crescimento, sua atividade metabólica, e existência (SUTHERSAN, 2000).

Os impactos de fatores específicos de cada local são constatado somente quando estudos mostram que um composto específico é biodegradado nas amostras de um meio mas não de outros (ALEXANDER, 1994).

E assim, cria-se um grande interesse sobre as mais variadas informações das atividades bioquímicas de crescimento de microorganismos, tanto para culturas misturadas, quanto puras, em várias concentrações em laboratório, resultando também num crescente interesse pelo entendimento da nutrição, dinâmica das populações e potencial metabólico de microorganismos sob condições controladas em laboratório. Entretanto, no ambiente, os microorganismos são expostos à condições enormemente diferentes àquelas laboratoriais.

Dessa forma, os microorganismos podem ter suprimentos insuficientes de nutrientes orgânicos, como por exemplo a escassez de fatores essenciais de crescimento, as temperaturas, os valores de pH, e a quantidade de contaminante, os quais, em quantidades muito elevadas, podem retardar o crescimento, inibir a atividade metabólica, e resultar em perda de viabilidade (SUTHERSAN, 2000).

2.4.4.1 Fatores microbianos

A população de microorganismos do solo é constituída de cinco maiores grupos: bactérias, actinomicetos, fungos, algas e protozoas. Sendo que as bactérias é o grupo mais abundante, e bem mais numeroso do que os outros quatro grupos juntos. A classificação das bactérias tem sido proposta de várias formas, a fim de encontrar objetivos diferentes: (1) habilidade de crescer na presença ou ausência de oxigênio, (2) estrutura celular morfológica, (3) tipo de energia e fonte de carbono. O crescimento das bactérias, na presença ou ausência do fator oxigênio, é um importante traço bioquímico que colocam as bactérias em três categorias distintas e separadas: as aeróbicas, que estão em presença do O₂; as anaeróbicas que crescem somente na ausência de O₂; e as anaeróbias facultativas, que podem crescer na ausência ou presença de O₂ (SUTHERSAN, 2000).

Os microorganismos podem ser divididos em duas grandes classes com relação a sua energia e fontes de carbono. As formas heterotróficas requerem substratos orgânicos que servem como fontes de energia e carbono e que dominam a microflora do solo. Já os microorganismos autotróficos, obtêm sua energia da luz solar ou pela oxidação de composto orgânicos e seus carbonos pela assimilação do CO₂. Os autótrofos são divididos em dois sub grupos: fotoautotróficos, cuja energia é derivada da luz solar, e quimioautotróficos que obtêm a energia necessária para seu crescimento através da oxidação de matérias orgânicas (SUTHERSAN, 2000).

Geralmente há um período inicial, também chamado de aclimação durante a biodegradação dos contaminantes. Esse período ocorre por várias razões, e as causas podem estar nas comunidades microbianas indígenas. Em outras ocasiões, o contaminante deve induzir a enzima, ou uma nova enzima, também necessária para ser sintetizada. Às vezes, as razões para o período inicial podem mascarar os próprios contaminantes (SUTHERSAN, 2000).

A determinação da atividade microbiana indígena é um método para se avaliar o potencial de toxicidade ou condições inibitórias do local. A quantidade microbiana em solos típicos alcança de 10^3 a 10^7 unidades formadoras de colônias (CFU) por grama de solo. Quantidades bem maiores de microorganismos indicam uma população microbiana saudável. Quantidades abaixo de 10^3 organismos por grama de solo no local contaminado indica uma população microbiana em crise (SUTHERSAN, 2000).

2.4.4.2 Nutrientes

Os nutrientes necessários aos microrganismos são subdivididos em macro (grande quantidade) e micronutrientes (menor quantidade).

Entre os macronutrientes, destaca-se o C como a principal fonte de nutrientes da célula microbiana, participando com 47% da sua matéria seca, sendo suas fontes as mais diversas, como aminoácidos, ácidos graxos, ácidos orgânicos, açúcares, compostos aromáticos, etc. (SIQUEIRA et al., 1994).

Energia e carbono não são os únicos fatores dos quais dependem os microrganismos. Seu material celular é constituído de inúmeros elementos que devem estar disponíveis no meio ambiente, de modo a permitir o desenvolvimento e a multiplicação dos microrganismos. A determinação da fonte de nitrogênio é essencial para o processo de biorremediação, pois ele está intimamente relacionado ao metabolismo dos microrganismos. Estudos mostraram que para 100 unidades de carbono degradadas são necessárias, em média, 10 unidades de nitrogênio. Das várias formas de nitrogênio encontradas na natureza, os microrganismos assimilam mais facilmente a amônia (CARDOSO, 1992).

Pereira e Lemos (2006), utilizaram uréia, nitrato de sódio e sulfato de amônio, como fonte de nitrogênio, cuja relação C/N foi de 100:10, para a degradação de hidrocarbonetos de petróleo por fungos filamentosos.

O carbono ocupa a maior fração do material protoplasmático total de uma célula microbiana. Carboidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, ácidos nucleicos, purinas, pirimidinas e outras substâncias constituem o material celular. Além do carbono o material celular é composto principalmente por hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, esse último constitui aproximadamente 95% de peso da célula viva. Já o fósforo e o cálcio constituem 70% do restante. A seguir, na Tabela 8, é apresentado a composição das células microbianas por peso seco.

Tabela 8: Composição elementar da célula microbiana por peso seco.

Elemento	Porcentagem de peso seco
Carbono	50
Oxigênio	20
Nitrogênio	14
Hidrogênio	8
Fósforo	3
Enxofre	1
Potássio	1
Sódio	1
Cálcio	0.5
Magnésio	0.5
Cloro	0.5
Ferro	0.2
Todos os demais	0.3

Fonte: SUTHERSAN, 2000.

Os requisitos microbianos para os nutrientes são quase os mesmos da composição da célula (tabela 8). A estrutura química de uma bactéria pode ser expressa pela fórmula $C_5H_7O_2N$, e traços de alguns átomos. A obtenção de carbono para a célula microbiana é fornecida por substratos orgânicos – contaminantes orgânicos, no caso de biorremediação – para microorganismos heterotróficos. Hidrogênio e oxigênio são fornecidos pela água. Mesmo na ausência de nitrogênio, e com fósforo adicionado, a biodegradação continuará acontecendo na sub superfície, embora numa taxa mais lenta (SUTHERSAN, 2000).

O fósforo ocorre na natureza na forma de fosfatos inorgânicos e orgânicos, sendo os primeiros (PO_4^{2-}) muito utilizados no crescimento microbiano, e os últimos utilizados sob a ação das enzimas fosfatases (SIQUEIRA, et al. 1994).

O nitrogênio é absorvido principalmente como amônia e nitratos, pelos microrganismos decompositores, e como nitrogênio molecular atmosférico (N_2) pelos fixadores desse elemento (CARDOSO, 1992, SIQUEIRA et al., 1994).

2.4.4.3 Fatores físico-químicos

As atividades dos microrganismos dependem e, são afetadas pelos fatores físico-químicos do meio ambiente. Os parâmetros como a temperatura, o pH, o teor de umidade e o potencial redox determinaram o tamanho e a eficiência da biorremediação.

2.4.4.4 Temperatura e radiação solar

Conforme a temperatura aumenta, a taxa das reações químicas e bioquímicas também aumentam. Com uma condição de temperatura mais baixa, a maioria das bactérias pára as atividades metabólicas em temperaturas um pouco acima do ponto de congelamento da água. A partir disso, três categorias de microrganismos podem ser definidas, tendo como base a temperatura ótimo (CARDOSO et al., 1992, SUTHERSAN, 2000).

- Psicrófilas: são organismos psicrófilos (ou criófilos) que têm uma temperatura ótimo de $15 \pm 5^\circ \text{C}$, e um mínimo de 0°C ou menos. Além disso, há também os microrganismos cuja temperatura ótima é de 25 a 30°C , mas que podem crescer a 0°C . Esses microrganismos são denominados psicrófilos facultativos.
- Mesófilas: organismos que possuem temperatura ótima entre 25°C e 40°C . A maioria dos organismos que habitam a sub superfície são mesófilos. Os microrganismos geralmente são eficientes na biorremediação mesmo extrapolando a temperatura de 10 a 40°C .
- Termófilas: a temperatura ótima para os microrganismos está acima de 45°C , mas também há alguns metanogênicos termofílicos que preferem temperaturas de 55 a 60°C . Os termófilos possuem membrana rica em ácidos graxos saturados.

De acordo com Moreira e Siqueira (2002), o solo, por ser escuro, apresenta grande restrição à penetração de raios solares. Dessa forma, os efeitos diretos da radiação solar são limitados a poucos milímetros da superfície do solo, onde os organismos fotossintéticos (algas e cianobactérias) ocorrem em densidade mais elevada.

As reações químicas e biológicas em solos frios são lentas. As decomposições biológicas são praticamente inexistentes, limitando assim o ritmo com que certos nutrientes, como nitrogênio, fósforo, enxofre e cálcio, tornam-se assimiláveis (BRADY, 1994),

A temperatura interfere não só nas reações fisiológicas das células, mas também nas características físico-químicas do ambiente (difusão, potencial de oxi-redução, viscosidade, pressão, tensão superficial, volume do solo), que por sua vez influenciam o ambiente microbiano. O efeito direto na temperatura pode ser usado para fazer a solarização do solo. Para tal, é necessário cobrir o solo com plástico de forma a induzir o aumento de temperatura, ou adicionado uma fina camada de solo exposta diretamente aos raios solares. Em contrapartida, em muitas espécies fúngicas a liberação e formação de esporos e as mudanças morfológicas são induzidas por luminosidade. O crescimento a baixas temperaturas é facilitado pelo aumento no conteúdo de ácidos graxos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

2.4.4.5 pH

O pH é importante, pois conduz as funções celulares, faz o transporte de membrana, mantém o equilíbrio das reações catalisadas e realiza o transporte de proteínas da célula. Também afeta os fatores que são responsáveis pela produção de energia dentro da célula. A maior parte do meio ambiente natural possui pH entre 5 e 9. A maioria das bactérias tolera um pH entre 5 a 9, mas preferem pH de 6,5 a 7,5. Há bactérias acidófilas, como a *Thiobacillus thiooxidans*, cujo seu pH ótimo é 2,5.; já para as bactérias alcalofílicas o pH ideal fica em torno de 10 a 12 (SUTHERSAN, 2000).

Segundo Cardoso et al., (1992), a ação do pH sobre os microrganismos do solo depende de sua tolerância a esse fator. Distinguem-se quatro categorias de microrganismos: a) Indiferentes: crescem numa faixa ampla de valores de pH. É o caso de numerosas bactérias que apresentam crescimento satisfatório entre valores de pH 6,0 a 9,0. para os fungos os valores variam entre pH 2,0 e 8,0; b) Neutrófilos: preferem pH próximo a neutralidade até ligeiramente alcalino. Numerosos actinomicetos não apresentam crescimento de valores de

pH inferiores a 5,5; c) Acidófilos: são os que preferem ambientes ácidos e; d) Basófilos: não suportam valores de pH inferiores a 8,0.

Os microorganismos com suas atividades metabólicas produzem ácidos orgânicos e HCL da degradação de compostos orgânicos (orgânicos clorados). Quando há a presença de concentrações altas de compostos orgânicos na sub superfície, cuja alcalinidade é baixa, faz-se necessário o controle do pH para manter a continuação da biodegradação (SUTHERSAN, 2000).

2.4.4.6 Teor de umidade e aeração

Segundo Cookson (1994), quando falamos em biorremediação, a umidade é uma variável importante. Um fato interessante é que o teor de umidade do solo afeta diretamente a biodisponibilidade de contaminantes, a transferência de gases, o nível de toxicidade dos contaminantes, a movimentação e o estágio de crescimento dos microorganismos, e a distribuição das espécies.

Os espaços do solo quando ocupados por água e/ou gases, tem forte influência na atividade microbiana, e esse é um dos indicativos que justifica a ação dos microorganismos em degradar o contaminante. O volume total de poros de determinado solo varia de 50 a 60%, sendo 15 a 45% ocupados pela água e o restante por gases. Os gases presentes no solo são os mesmos encontrados na atmosfera (N_2 , O_2 , CO_2 , etc.), além aqueles decorrentes da atividade biológica como, por exemplo, o CH_4 e o H_2S (SIQUEIRA et al. 1994). Tanto os gases como a água competem pelo espaço poroso do solo. Dessa forma, pode-se estabelecer a seguinte relação: quando o solo está parcial ou totalmente preenchido por água, a disponibilidade de gases para os microorganismos é menor (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

O transporte de água através da membrana da bactéria ocorre pelo processo passivo, governado estritamente pela difusão e pelo gradiente através da membrana (SUTHERSAN, 2000).

Quando o assunto recai sobre os microorganismos, as bactérias necessitam de uma umidade elevada do ar no solo na faixa de 98%. Fungos, principalmente actinomicetos, podem apresentar capacidade de crescimento em solos mais secos, cuja saturação de umidade de ar no solo de 85 a 98%. Tanto fungos como actinomicetos necessitam de um arejamento suficiente, de modo que em solos mal arejados predominam bactérias anaeróbias, desaparecendo as aeróbias (PRIMAVESI, 1981).

A aeração e a umidade do solo em relação ao movimento e substituição do ar e da água é dada por uma relação inversamente proporcional. A atmosfera do solo difere da atmosfera da superfície, sendo a concentração de CO₂ de 10 a 100 vezes maior na atmosfera do solo, acontecendo o inverso na superfície com o teor de O₂. Essas diferenças são devidas à respiração dos microrganismos e raízes, que consomem O₂ e eliminam CO₂. Em geral, o O₂ diminui e o CO₂ aumenta com a profundidade (Tabela 9). As alterações na constituição do ar do solo regem o crescimento e atividade da microbiota, pois o CO₂ e O₂ são necessários ao crescimento. Um solo bem arejado, do ponto de vista microbiológico, é aquele em que a atividade de oxigenação é máxima. Entretanto, é pouco provável que um solo torne-se suficientemente aerado, que supra toda a biota. Isso é devido pela dificuldade da movimentação gasosa nos pequenos poros, pela baixa difusão de oxigênio em meio líquido, e microambientes em que os microrganismos estão situados (CARDOSO, 1992).

Tabela 9: Concentrações de oxigênio e dióxido de carbono na atmosfera de um solo tropical nas condições úmido e seco.

Profundidade (cm)	Oxigênio (%)		Dióxido de carbono (%)	
	Úmido	seco	Úmido	Seco
10	13,7	20,7	6,5	0,5
25	12,7	19,8	8,5	1,2
45	12,2	18,8	9,7	2,1
90	7,6	17,3	10	3,7
120	7,8	16,4	9,6	5,1

Fonte: RUSSELL, 1973 *apud* SPINELLI, 2005.

Os solos geralmente têm altas concentrações de CO₂, CO e outros gases em comparação a atmosfera, e uma correspondente diminuição da concentração de O₂. Tais mudanças são mais acentuadas em porosidades menores, onde muitas bactérias são encontradas. À medida que se distancia da superfície, menos O₂ permanece disponível especialmente em ambientes úmido, menos permeáveis (PRESCOTT et al. 1999).

Brady (1989), relata que o montante do gás O₂ num solo é determinado pela quantidade de espaços de poros cheios de ar, e pela proporção desses espaços preenchidos por oxigênio.

Um solo bem arejado, do ponto de vista microbiológico, é aquele em que a atividade de oxigenação é máxima. Entretanto, é pouco provável que um solo torne-se suficientemente

aerado a ponto de satisfazer toda biota. Isso é devido à dificuldade de movimentação gasosa nos diminutos poros, à baixa difusão de O_2 em meio líquido e microambientes em que os microrganismos estão situados. Em contrapartida a pouca aeração é consequência de má encharcamento e drenagem. Pela fato dos poros pequenos terem maior capacidade de retenção de água que os grandes, os solos pesados estão mais propensos a má drenagem. Dessa forma, há mal suprimento de O_2 , redução da velocidade de muitas transformações e inibição completa de alguns processos (CARDOSO, 1992).

A ausência de oxigênio modifica completamente a natureza dos processos de decomposição, e também a intensidade com que eles ocorrem. Onde há disponibilidade de O_2 sob forma de gás, há desenvolvimento de microrganismos aeróbios que utilizam O_2 para oxidar a matéria orgânica. Na ausência de O_2 sob a forma de gás, entra em ação os microrganismos anaeróbios, que utilizam o oxigênio combinado em compostos como nitratos, sulfatos e óxidos férricos.

A decomposição anaeróbia é muito mais lenta do que com ampla disponibilidade de oxigênio sob a forma de gás. Contudo, são inteiramente diferentes os produtos de decomposição (BRADY, 1989).

De acordo com Cardoso et al., (1992), as condições ótimas de desenvolvimento de um microrganismo nem sempre correspondem à umidade ótima detectada a partir de um solo esterilizado e inoculado com o mesmo microrganismo. A partir disso pode-se indicar que vários fatores interagem para fornecer a umidade adequada, sendo que extremos de umidade podem ser prejudiciais à atividade microbiana. A umidade ótima para as diferentes atividades metabólicas varia entre os tipos de solo, teor de argila, grupos de microrganismos, e vegetação.

A água no solo está estritamente ligada com outros fatores que estão relacionados com a atividade dos microrganismos, como, por exemplo, a aeração (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Parte da água de um solo é livre ou gravitacional e está localizada nos poros grandes, influenciando sobremaneira na aeração. Dessa forma, parte é retida adsorvida às partículas, sendo disponível apenas parcialmente para utilização dos microrganismos (CARDOSO et al. 1992).

2.4.4.7 Potencial de oxidação-redução (Redox)

O potencial redox pode ser definido através de uma medida quantitativa de oxidação ou redução que um meio se encontra e o potencial redox pode ser determinado pelo símbolo E_h . Quando o E_h encontra-se acima de zero é comumente interpretado como um meio em oxidação, e quando E_h é menor do que zero, o meio está em redução. A escala de E_h em um meio natural é de +800 mV (alto O_2 , com nenhum processo de esgotamento de O_2) para cerca de -400 mV (alto H_2). As concentrações de oxidantes ou redutantes fora do normal afetarão a atividade metabólica microbiana sem levar em consideração o potencial redox (SUTHERSAN, 2000).

3 MÉTODOS E MATERIAIS

3.1 MÉTODOS E TÉCNICAS UTILIZADOS

Neste projeto retirou-se aproximadamente 400 quilos de solo do horizonte B do campo experimental de Geotecnia da Universidade de Passo Fundo (UPF) para a realização do experimento. No solo realizou-se a determinação e ajuste da umidade; adição de contaminante ao solo e moldagem dos corpos de prova nos cilindros; montagem do equipamento “in situ”; e coleta das amostras. Foi realizada a extração do contaminante das amostras do solo utilizando o Soxhlet, e a cromatografia gasosa para determinar a taxa de degradação do contaminante contido nas amostras, conforme ilustra a Figura 3. Concomitante às coletas das amostras, efetuou-se a quantificação do percolado coletado no sistema, por meio de decantação. Numa mistura líquido-líquido, a decantação foi feita em funil de bromo, também chamado funil de decantação; concomitante a ele utilizou-se um balão com uma torneira na sua parte inferior, a qual permite o escoamento do líquido que constitui a parte mais densa.

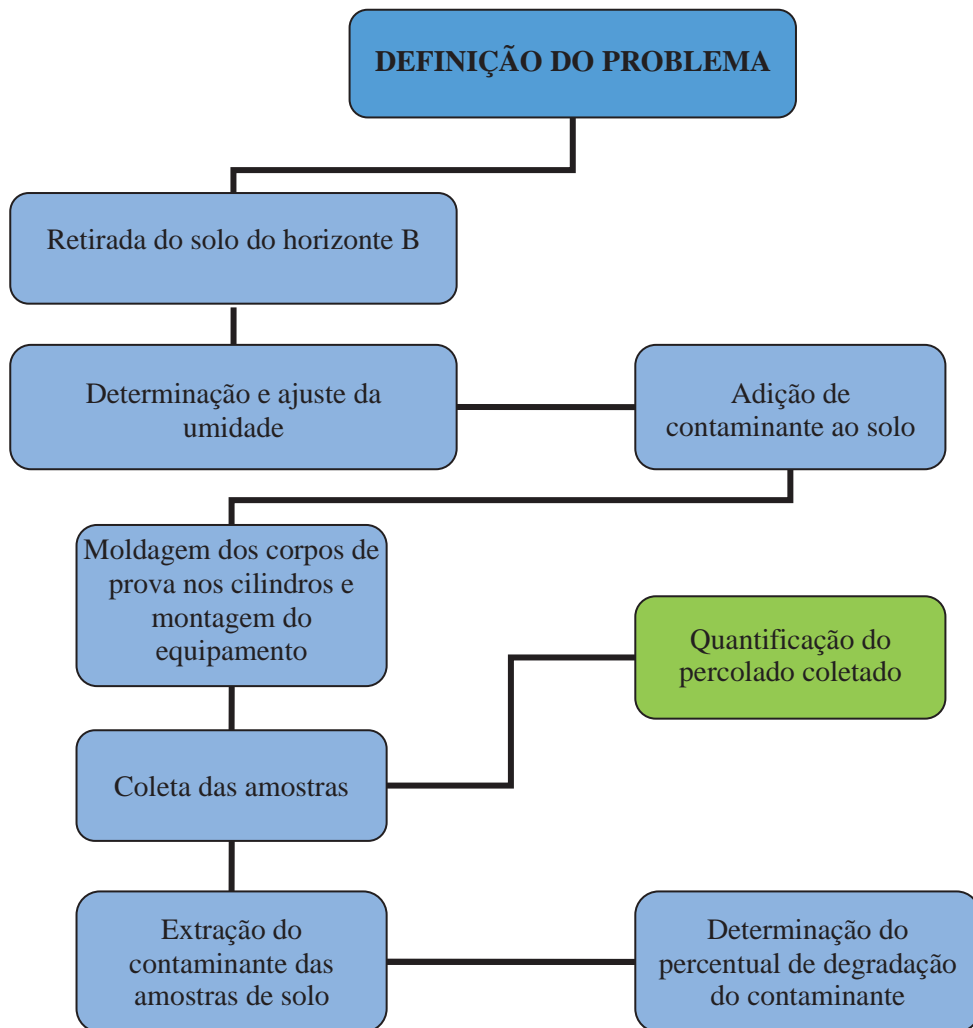


Figura 3: Fluxograma da pesquisa.

3.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Pode-se definir um experimento como um teste ou série de testes, no qual mudanças propositalmente (execução do experimento fora do laboratório) foram feitas para a entrada de variáveis em um processo ou sistema, para que pudesse ser observadas e identificadas as razões para mudanças nas respostas (MONTGOMERY, 2001). O princípio de qualquer experimento é o planejamento, a fim de que os resultados obtidos possam ser analisados de forma crítica e objetiva.

Para a realização do experimento foi utilizado óleo diesel e biodiesel nos diferentes percentuais. Foi utilizado o solo do campo experimental de Geotecnia da UPF. Foram utilizados 21 cilindros de aço, cuja função é de biorreatores. Para cada percentual foram

estabelecidas três repetições. O solo contido em cada biorreator foi contaminado com 750 mililitros de contaminante em uma única vez.

Os cilindros foram enumerados de um a sete, com três repetições para cada percentual, totalizando então 21 biorreatores, e sete tratamentos diferentes. Os biorreatores foram montados por ordem crescente de percentual do contaminante, conforme Figura 4.

O experimento foi realizado no campo afim de que pudesse simular um acidente de contaminação do solo. Para isso o experimento foi submetido a todas variáveis ambientais, tais como, calor, frio, chuva, seca, umidade, temperatura, não controláveis.

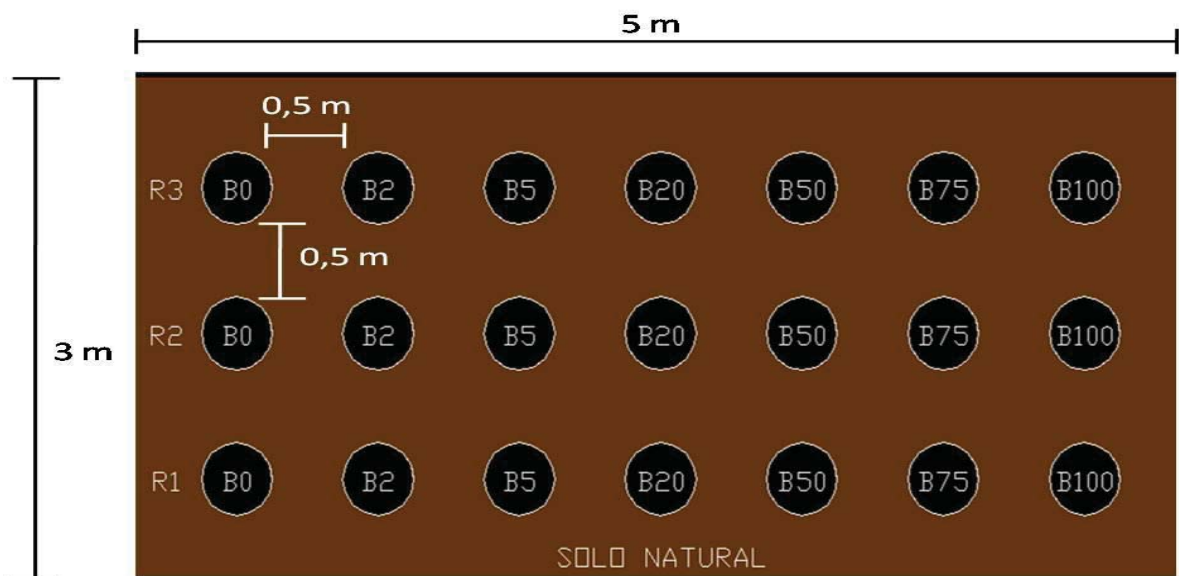


Figura 4: Disposição dos biorreatores no solo.

As variáveis de resposta consideradas no experimento são: o teor de biodiesel, a temperatura (co-variável) e o tempo, pelo qual buscou-se analisar ao longo deste a quantidade de contaminante degradado.

Foram identificadas as seguintes variáveis no experimento, algumas controláveis e outras não controláveis, conforme Tabela 10.

Tabela 10: Variáveis do experimento e seus níveis de variação.

Variáveis	Controláveis	Não – Controlável	Varição
Temperatura		X	S
Umidade		X	S
Quantidade de chuva		X	S

Contaminantes (quantidade)	X		N
Manipulador	X		N

O referido estudo foi realizado no município de Passo Fundo, que está localizado na região norte do Estado do Rio Grande do Sul, a 687 metros de altitude. O clima é temperado subtropical e úmido, apresentando chuvas bem distribuídas durante o ano e temperatura média anual de 17,5 °C.

O experimento foi instalado no Centro Tecnológico (CETEC) (Figura 5). As extrações do contaminante do solo foram realizadas no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia e Arquitetura (FEAR). As análises cromatográficas foram feitas no laboratório de cromatografia gasosa do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA), na Universidade de Passo Fundo, localizada às margens da RS 285, conforme Figura 6.



Figura 5: Centro Tecnológico da Universidade de Passo Fundo.

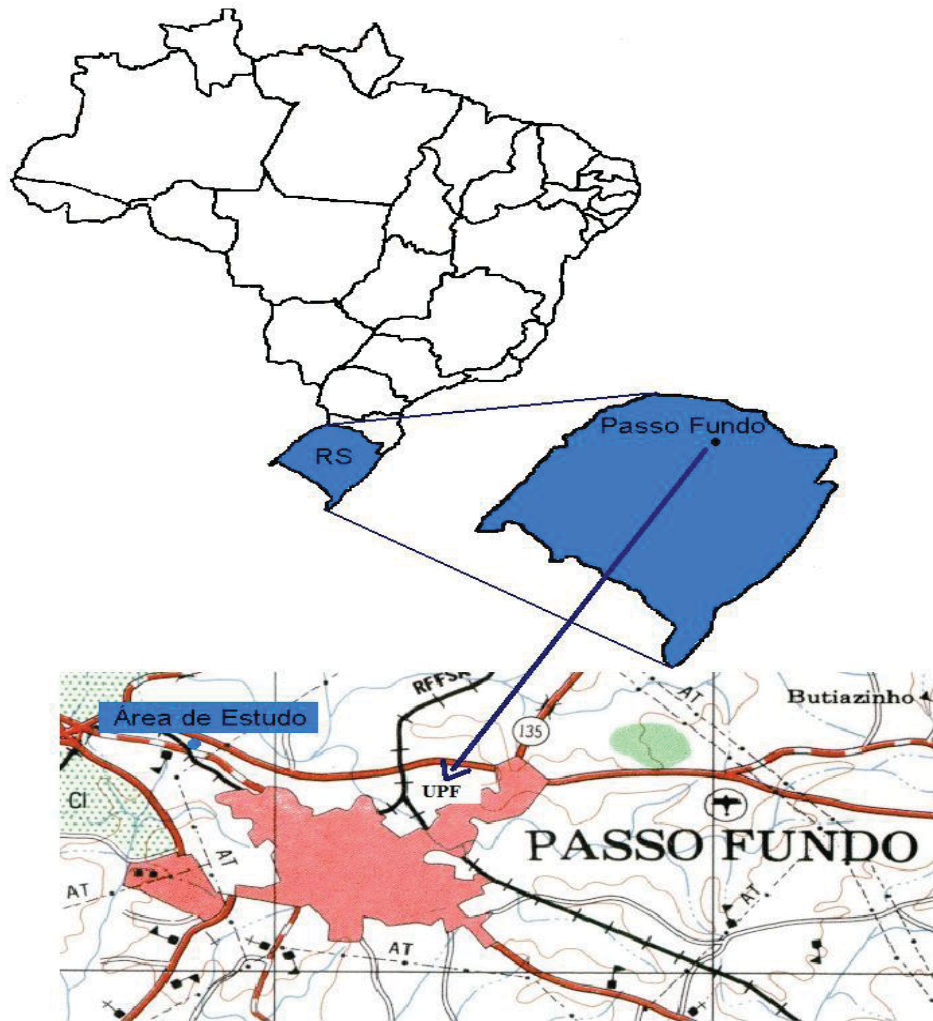


Figura 6: Localização da Área de Estudo.

O solo utilizado no estudo é do campo experimental de Geotecnia, localizado na UPF, proveniente do horizonte B. Esse solo é do tipo residual, oriundo de rochas basálticas. De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – **EMBRAPA (2006)**, o solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Típico Textura Argilosa. Este foi previamente caracterizado em estudo realizado por Meneghetti (2007).

A Tabela 11 mostra a umidade, a densidade real dos grãos e os resultados dos ensaios Limite de Liquidez, Limite de Plasticidade e Índice de Plasticidade, do solo natural.

Tabela 11: Características Físicas do solo natural.

Parâmetros/Solo	Amostra
Umidade natural (%)	34

Densidade Real dos Grãos	2,7
Limite de Liquidez (LL) (%)	53
Limite de Plasticidade (LP) (%)	42
Índice de Plasticidade (IP) (%)	11

Na Figura 7, pode-se observar que a fração granulométrica do solo natural é constituído por 70% de argila, 5% de silte, 22% de areia fina e 3% de areia média.

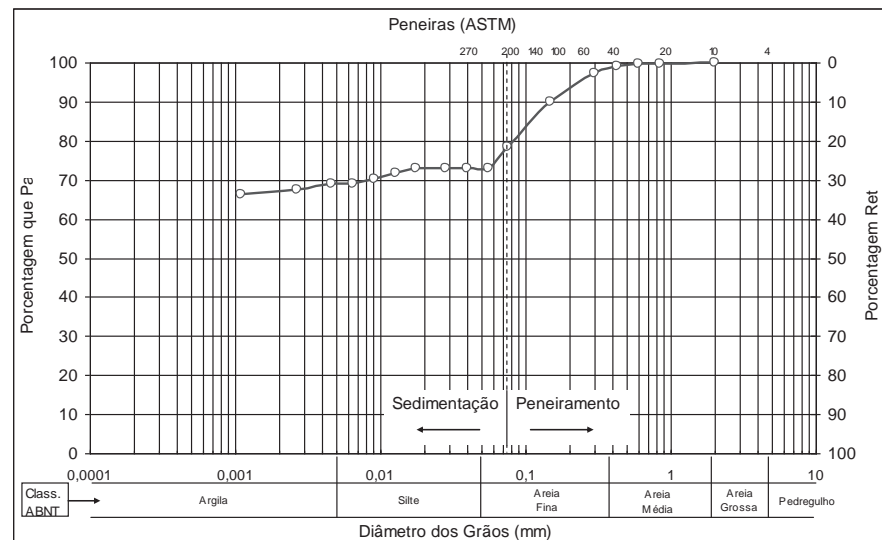


Figura 7: Análise granulométrica.

Os resultados apresentados a seguir são referentes á análise química do solo, as quais foram coletadas no mês de junho de 2006. Os resultados da análise básica e micronutrientes apresentam-se na Tabela 12.

Tabela 12: Análise básica e micronutrientes do solo

Parâmetros/Solo	Amostra
pH H ₂ O	5,4
Ind. SMP	5,7

P (mg/dm ³)	4
K (mg/dm ³)	28
MO (%)	< 0,8
Al (cmol _c /dm ³)	2,4
Ca (cmol _c /dm ³)	1,5
Mg (cmol _c /dm ³)	0,8
H+Al (cmol _c /dm ³)	6,2
CTC (cmol _c /dm ³)	8,6
Saturação – Bases (%)	28
Saturação – Al (%)	50
Saturação – K (%)	0,8
Enxofre (mg/dm ³)	5
Boro (mg/dm ³)	0,5
Manganês (mg/dm ³)	<2
Zinco (mg/dm ³)	1,0
Cobre (mg/dm ³)	0,4

O solo natural analisado apresentou as seguintes características:

- pH ácido. A acidez do solo é determinada principalmente pela concentração de Hidrogênio + Alumínio, presentes no solo. Solos com pH ácido, aumentam a concentração de Alumínio. O aumento da acidez do solo é um processo natural, mas que pode ser acelerado pelas ações humanas. As bactérias são os microrganismos mais tolerantes a acidez, isso justifica a ampla distribuição e concentração no solo em estudo.
- Baixa porcentagem de matéria orgânica. O teor de MO decresce em profundidade, associado ao maior grau de empacotamento das partículas do solo, a tendência é ocorrer a diminuição na porosidade total do solo (AZEVEDO e DALMOLIN, 2004).

- Os micronutrientes encontrados no solo são considerados característicos para um Latossolo. A quantidade de contaminantes inorgânicos (Zinco e Cobre) estão dentro dos padrões de referência determinados pela Lista Holandesa de Valores da qualidade do solo (CETESB, 2006). O Alumínio é considerado alto; o Cálcio foi considerado bom para a profundidade; o Mg, o Enxofre, o Boro, o Manganês e o Cobre foram considerados médios a baixo. A concentração desses micronutrientes no solo natural, não interfere nos processos de bioremediação. No entanto, a concentração de CNPK está diretamente relacionada a este processo. A quantidade de carbono orgânico e nitrogênio total do solo são considerados baixos e estão relacionados com a quantidade de matéria orgânica do solo. O carbono orgânico do solo é constituído por microrganismos, húmus estabilizado, resíduos vegetais e animais em vários estágios de decomposição e carbono inerte (TEDESCO, 1995). A quantidade de Fósforo (P) e Potássio (K) é considerada baixo. Sabe-se que a relação CNPK ideal para a bioremediação é 100:10:1:1, desta forma, para a obtenção de melhores resultados na bioremediação faz-se necessário a bioestimulação com concentrações maiores de nitrogênio, fósforo e potássio.
- A CTC, mede a capacidade que o solo tem de trocar (adsorver e desorver) cátions. Funciona como um reservatório de nutrientes, evitando a lixiviação dos elementos químicos. De acordo com Azevedo e Dalmolin (2004), de modo grosseiro, pode-se assumir que quanto mais argiloso, quanto maior o conteúdo de matéria orgânica e quanto maior o pH do solo, maior a CTC.

Na análise microbiológica do solo foram encontrados os seguintes microorganismos: bactérias, actinomicetos e fungos.

Em maio de 2009, foi escavada uma vala (Figura 8) com auxílio de retro-escavadeira, junto ao campo experimental de Geotecnia, nas coordenadas 28° 13' 35.01'' S e 52° 23' 13.90'' W.

No dia 24 de junho de 2009, o solo foi coletado da vala, na profundidade de 2,50 metros. A faixa de solo contida no horizonte B estende-se de 1,50 a 3,00 metros de profundidade.



Figura 8: Vala para coleta do solo.

O horizonte B, de onde o solo foi retirado, é definido como um horizonte subsuperficial, geralmente encontrado abaixo de um horizonte A. O horizonte em questão sofreu intensas transformações pedogenéticas, e de modo geral, apresenta coloração mais avermelhada devido à pouca influência da matéria orgânica e/ou concentração de argila ou óxidos de ferro (AZEVEDO e DALMOLIN, 2004).

Após o solo ser removido do horizonte B foram retiradas algumas amostras a fim de estabelecer qual a umidade de campo, e constatou-se que apresentava se em 34%. A partir disso, o solo foi colocado para secar ao ar, com o auxílio de aerações manuais, demonstrado na Figura 9.



Figura 9: Aeração do solo para perda de umidade.

Era necessário atingir a umidade de 29,5%, devido ao fato de que essa umidade acrescida de 4,5% do contaminante em relação ao peso seco do solo, o mesmo retornaria a umidade de campo, a qual era de 34%. Dessa forma, aerações manuais diárias foram realizadas no solo, com intervalo de uma hora, para que perdesse umidade. Essas aerações foram realizadas no período de 24 a 29 de julho de 2009. Sequencialmente, o solo foi passado na peneira número quatro para eliminar os torrões maiores, conforme ilustra a Figura 10.



Figura 10: Peneiração do solo.

Com o solo já peneirado, e para que não houvesse variação de umidade, esse foi acondicionado em 21 sacos plásticos, conforme demonstra a Figura 11.



Figura 11: Armazenagem do solo antes da moldagem dos corpos de prova.

Antes de o solo ser armazenado, foram retiradas duas amostras de solo de cada repetição, as quais foram imediatamente colocadas na estufa (Figura 12), determinando-se assim, a umidade média de cada um, conforme indica abaixo na Tabela 13.

Com umidade do solo acertada em 29,5%, acrescentou-se 4,5% de contaminante em relação ao peso seco (13,74 quilos). Dessa forma, foi possível retornar a umidade normal de campo, que era de 34%.



Figura 12: Secagem das amostras para determinação da umidade.

Tabela 13: Determinação da umidade das amostras de solo.

Contaminante	Repetições	Amostragem 1 da umidade (%)	Amostragem 2 da umidade (%)	Média das amostragens (%)
B0 (100% Diesel)				
	R1	25,35	25,05	25,2
	R2	20,35	20,85	20,6
	R3	27,75	28,45	28,1
B2 (2% Biodiesel)				
	R1	20,2	20,7	20,5
	R2	23,7	23,3	23,5
	R3	19,7	19,3	19,5
B5 (5% Biodiesel)				
	R1	21	20,6	20,8
	R2	23,8	23,9	23,9
	R3	19,2	19,2	19,2
B20				

(20% Biodiesel)				
	R1	23,6	24	23,8
	R2	23,5	23,3	23,4
	R3	20,3	20,6	20,5
B50 (50% Biodiesel)				
	R1	17,8	17,5	17,7
	R2	21,2	21	21,1
	R3	20,8	21,2	21
B75 (75% Biodiesel)				
	R1	21,3	20,7	21
	R2	21,6	19,8	21,6
	R3	21	20,7	20,8
B100 (100% Biodiesel)				
	R1	22,5	22,2	22,3
	R2	25,6	25,5	25,5
	R3	21,4	22	21,7

3.3 DETERMINAÇÃO DE VOLUMES

3.3.1 VOLUME DOS BIORREATORES

Para montagem do equipamento de atenuação natural, os biorreatores (cilindros de aço) foram selecionados de modo que os corpos de prova pudessem ser moldados. Esses biorreatores são de forma cilíndrica, com diâmetro de 24 centímetros, de base esférica e sustentados por um tripé, anteriormente continham gás para máquinas de refrigerantes.

Da altura total de 37 centímetros, 25 centímetros foram destinados ao solo para a moldagem do corpo de prova, 3 centímetros para a camada drenante de areia, e os 9 centímetros restante referem ao tripé que o sustenta. A porção superior foi retirada para que o

solo pudesse ser colocado e então moldado. Junto à base dos biorreatores verifica-se a presença de uma válvula com registro, conforme ilustra a Figura 13.



Figura 13: Modelo de biorreator utilizado na pesquisa.

As válvulas permaneceram abertas durante a realização do experimento, nelas foram conectadas mangueiras semi-transparentes de silicone, que conduziram o percolado que continha contaminante e água pluvial até os recipientes, os quais foram colocados a declive dos biorreatores, conforme ilustra a Figura 14.



Figura 14: Mangueiras para condução do percolado.

O experimento consistiu em montar os biorreatores mantendo os mesmos parâmetros físicos do solo “in situ”. Dessa forma, para que o solo ficasse no índice de vazios, porosidade de grau de saturação de campo foi necessário garantir que o volume dentro do reator fosse de 0,01130 m³.

3.3.2 DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE SOLO

Após ser mensurado o volume dos biorreatores, foi necessário definir o volume de solo em relação ao peso seco. Fazendo analogia ao índice de vazios, manteve-se o mesmo do solo “in situ”, que é de 1,22. O peso seco do solo foi de 13,74 Kg para cada cilindro.

3.4 AJUSTE DA UMIDADE EM CADA BIORREATOR

Com a umidade, para o experimento, fixada em 29,5%, foi necessário determinar a massa seca do solo (13,74 Kg). Esta acrescida da umidade acima citada obteve-se a massa úmida de 17,79 Kg para cada biorreator.

A partir do peso úmido foi determinado a quantidade de água faltante para cada biorreator, até atingir umidade fixada em 34% (18,41Kg).

Diminuindo 18,41Kg do peso do solo obteve-se a diferença de 620 gramas, o equivalente a 750 mililitros de contaminante, sendo possível, então, quantificar a quantidade de contaminante para cada biorreator (Tabela 14).

Tabela 14: Parâmetros de cada biorreator.

	Repetição/ Peso seco (Kg)	Umidade das Amostras/ Peso	Umidade (29,5%)/ Adicional de água	Contaminante	Peso total (Kg)
B0 (100% Diesel)					
	R1 (13,74)	(25,2%) 17,20 Kg	590 ml	750 ml	18,41
	R2 (13,74)	(20,6%) 16,60 Kg	1,20 litros	750 ml	18,41
	Repetição/ Peso seco	Umidade das	Umidade (29,5%)/	Contaminante	Peso total (Kg)

	(Kg)	Amostras/ Peso	Adicional de água		
	R3 (13,74)	(28,1%) 17,60 Kg	190 ml	750 ml	18,41
B2 (2% Biodiesel)					
	R1 (13,74)	(20,5%) 16,55 Kg	1,20 litros	750 ml	18,41
	R2 (13,74)	(23,5%) 16,7 Kg	1,1 litros	750 ml	18,41
	R3 (13,74)	(19,5%) 16,41 Kg	1,38 litros	750 ml	18,41
B5 (5% Biodiesel)					
	R1 (13,74)	(20,8%) 16,6 Kg	1,19 litros	750 ml	18,41
	R2 (13,74)	(23,9%) 17,02	770 ml	750 ml	18,41
	R3 (13,74)	(19,2%) 16,37 Kg	1,42 litros	750 ml	18,41
B20 (20% Biodiesel)					
	R1 (13,74)	(23,8%) 17,01Kg	780 ml	750 ml	18,41
	R2 (13,74)	(23,4%) 16,95 Kg	840 ml	750 ml	18,41
	R3 (13,74)	(20,5%) 16,6 Kg	1,19 litros	750 ml	18,41
B50 (50% Biodiesel)					
	R1 (13,74)	(17,7%) 16,17 Kg	1,62 litros	750 ml	18,41
	R2 (13,74)	(21,1%) 16,65 Kg	1,14 litros	750 ml	18,41
	R3 (13,74)	(21%) 16,62 Kg	1,17 litros	750 ml	18,41
B75 (75% Biodiesel)					
	R1 (13,74)	(21%) 16,62 Kg	1,17 litros	750 ml	18,41
	R2 (13,74)	(21,6%) 16,70 Kg	1,09 litros	750 ml	18,41
	R3 (14,74)	(20,8%) 16,59 Kg	1,2 litros	750 ml	18,41

	Repetição/ Peso seco (Kg)	Umidade das Amostras/ Peso	Umidade (29,5%)/ Adicional de água	Contaminante	Peso total (Kg)
B100 (100 Biodiesel)					
	R1 (13,74)	(22,3%) 16,8 Kg	990 ml	750 ml	18,41
	R2 (13,74)	(25,5%) 17,24 Kg	550 ml	750 ml	18,41
	R3 (13,74)	(21,7%) 16,72 Kg	1,07 litros	750 ml	18,41

3.4.1 UMIDADE FALTANTE E CONTAMINANTE

Após ser determinada a umidade e o contaminante faltante de cada amostra, esses foram respectivamente acrescentados ao solo que estava armazenado em cada saco, (Figura 15). Na sequência, foi realizada homogeneização manual em cada saco durante cinco minutos.



Figura 15: Adição de água e contaminante.

3.5 CONTAMINAÇÃO DO SOLO

O solo dos biorreatores foi contaminado com diferentes porcentagens de biodiesel adicionados ao óleo Diesel. O biodiesel produzido a partir do soja, foi adquirido da BSBios, e o óleo Diesel, junto a distribuidora Ipiranga.

As quantidades de biodiesel adicionadas foram: 2, 5, 20, 50 e 75%. Também foi avaliada a biodegradação do solo contaminado com 100% de óleo Diesel, e 100% de biodiesel.

3.6 MOLDAGEM DOS CORPOS DE PROVA

Depois de corrigida a umidade do solo e o volume de contaminante para cada biorreator iniciaram-se os processos de moldagem dos corpos de prova nos biorreatores.

Antes de iniciar a compactação do solo dentro dos biorreatores, esses foram revisados e devidamente lavados para evitar qualquer interferência nos resultados.

Em um primeiro momento colocou-se uma circular de geotêxtil no fundo do cilindro, a fim de evitar qualquer entupimento da válvula localizada logo abaixo, conforme demonstram as Figuras 16 e 17, respectivamente.



Figura 16: Biorreator sem geotêxtil.



Figura 17: Biorreator com geotêxtil.

Em seguida, sobre o geotêxtil, colocou-se uma camada de areia de aproximadamente 3 centímetros, cujo objetivo foi drenar e nivelar o fundo do biorreator (Figura 18). A areia foi passada na peneira número quatro, após foi lavada e deixada secar ao sol.



Figura 18: Camada drenante de areia.

Posteriormente a colocação da areia, iniciou-se o processo de compactação do solo (moldagem dos corpos de prova), dentro dos biorreatores.

Para uma melhor moldagem dos corpos de prova, propôs-se que os vinte e cinco centímetros dos biorreatores ocupados pelo solo, fossem divididos em camadas cada uma com cinco centímetros de altura. O solo de cada biorreator também foi dividido em cinco partes.

Realizadas as divisões das camadas do solo, esse foi colocado dentro do biorreator, e com a utilização de um soquete (Figura 19), foi compactado na altura estabelecida para cada camada. A Figura 20 mostra a compactação da camada 1 e 2 do corpo de prova. A compactação da camada 3 e 4 do corpo de prova é mostrada na Figura 21.



Figura 19: Moldagem do corpo de prova.



Figura 20: Compactação da camada 1 e 2 do corpo de prova.



Figura 21: Compactação da camada 3 e 4 do corpo de prova.

A última camada foi subdividida em duas partes para que não houvesse perda do solo; cada uma com 2,5 centímetros de altura (Figura 22), e o solo também subdividido em duas camadas.



Figura 22: Compactação da camada 5 do corpo de prova.

3.7 MONTAGEM DO EXPERIMENTO

Na área de montagem do experimento fez-se a retirada do solo do talude, nas dimensões de 3 x 5 metros de largura, com profundidade de 40 centímetros, para a instalação dos biorreatores. No período de 3 a 9 de julho de 2009, esses biorreatores foram instalados “in loco”, conforme ilustra a Figura 23.

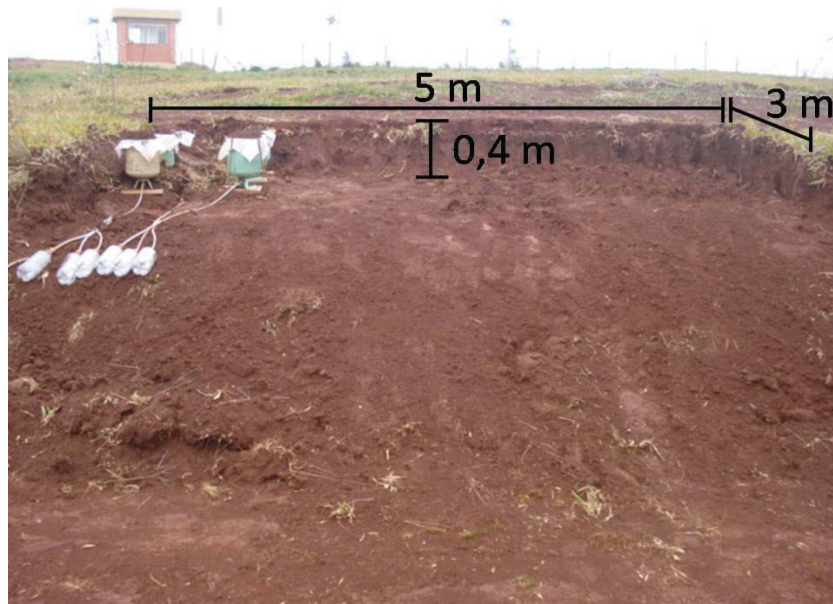


Figura 23: Retirada do solo para instalação dos biorreatores.

Entre cada biorreator e o solo, foram colocados quadrados de madeira de dimensão de 0,30 x 0,30 metros, a fim de permitir a sustentação vertical de cada um, e para que ficassem na mesma posição horizontal que o solo, conforme é mostrado na Figura 24.



Figura 24: Base para sustentação dos biorreatores.

Estabeleceu-se um espaçamento de 0,50 metros entre os biorreatores. Depois de instalados, esses espaços foram preenchidos uniformemente com solo (Figura 25), a fim de que as condições climáticas de dentro dos biorreatores pudessem ser as mais próximas possíveis às existentes no campo, e também para simular as condições que um solo contaminado acidentalmente estaria submetido.

Após alojados, foi colocado um geotêxtil de 0,5 x 0,5 metros sobre os biorreatores, e acima do geotêxtil, uma camada de solo de aproximadamente 10 centímetros, para que não houvesse incidência direta do sol, nem mistura do solo do próprio local (Figura 25).

Na sequência, foram instalados os recipientes (Figura 26) para coleta do percolado, os quais permaneceram ao longo do período de duração do experimento.



Figura 25: Preenchimento com solo e geotêxtil sobre os biorreatores.

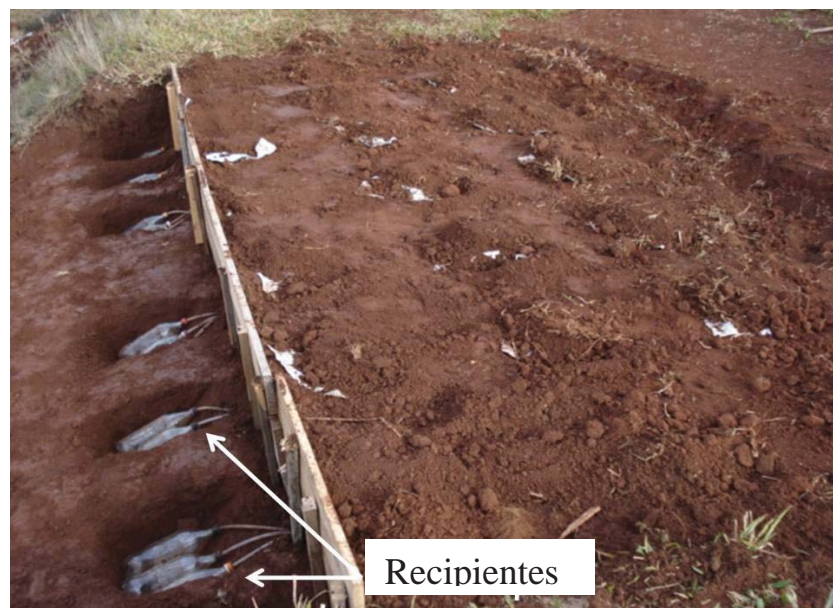


Figura 26: Recipientes para coleta do percolado.

3.8 COLETA DAS AMOSTRAS

No período 03 de julho a 10 de dezembro de 2009, realizou-se as coletas das amostras do solo contaminado. Foi retirada 1 amostra para cada biorreator. Efetuou-se, ao total, 11 rodadas de coleta, que ocorreram quinzenalmente, totalizando 165 dias de investigação da biodegradação do contaminante.

Fez-se uma moldeira de madeira, onde distribuiu-se 11 pontos para coleta do solo, em cada biorreator. A moldeira era colocada sobre os biorreatores sempre na mesma posição, e retirava-se duas amostras por ponto (Figura 27). As coletas eram realizadas pela parte da manhã, no mesmo horário e de forma aleatorizada, conforme Anexo 2.

Para retirar as amostras de solo, empregou-se um amostrador de aço inox, de parede fina, cujo diâmetro externo é de 12,7 milímetros e um êmbolo (Figura 28). O amostrador foi inserido através dos orifícios da moldeira (Figura 27), utilizando a técnica denominada “direct pushing”, a 25 cm de profundidade, para cada ponto de coleta (duas amostragens por ponto). Posteriormente, o solo foi retirado do amostrador com a utilização do êmbolo.



Figura 27: Extração das amostras do solo contaminado.



Figura 28: Amostrador e êmbolo para retirada do solo dos biorreatores.

Após a remoção das amostras de solo dos biorreatores, os orifícios resultantes da ablação do solo contaminado foram preenchidos com areia, para evitar possíveis desmoronamentos ou deformações (Figura 29).

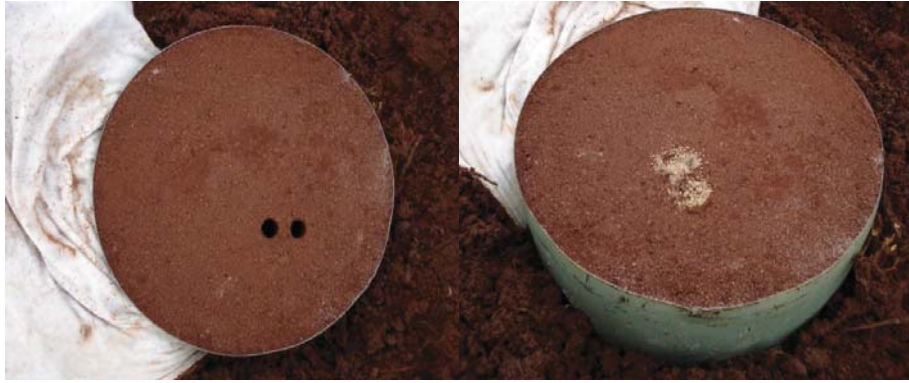


Figura 29: Preenchimento do solo com areia após remoção das amostras.

Subsequente ao preenchimento dos buracos no solo com areia, o geotêxtil era repostado sobre os biorreatores, e o solo sobre o mesmo também, conforme Figura 30. Durante a coleta das amostras foi medida a temperatura média no local em que o experimento foi montado, utilizando-se termômetro com infra-vermelho, a umidade e a pluviometria para avaliar se havia relação desses fatores com a taxa de degradação das diferentes misturas de contaminante.



Figura 30: Reposição do geotêxtil e do solo sobre os biorreatores.

Em seguida, as amostras eram retiradas dos biorreatores e colocadas em potes pretos, hermeticamente fechados e identificados (Figura 31), o que evitou que não mais houvesse interferência de fatores externos como a luz, o oxigênio, calor e etc.

Posteriormente essas amostras foram colocadas no freezer a temperatura de -10°C , para que a atividade microbiana cessasse, conforme ilustra a Figura 32. Após permanecerem no freezer por um dia, foram submetidas ao Laboratório de Saneamento da FEAR, para extração do contaminante do solo, utilizando o Método de Soxhlet.



Figura 31: Recipiente para acondicionamento das amostras.



Figura 32: Armazenamento das amostras após coleta.

3.9 EXTRAÇÃO DO CONTAMINANTE DO SOLO

A determinação do contaminante residual foi avaliada através da extração pelo Método de Soxhlet. Esse método baseia-se na solubilidade dos lipídios (óleos e graxas) em solventes orgânicos, como por exemplo o hexano.

Para realizar esse procedimento, adotou-se o método de extração com solvente através do aparelho de Soxhlet (Figura 33), baseado na quantificação gravimétrica do material extraído com solvente. O método utilizado foi *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA,1998), e utilizou-se o mesmo procedimento para todas as amostras.



Figura 33: Aparelho de Soxhlet.

Para a realização da análise pesou-se aproximadamente 15 gramas de solo de cada amostragem, em cartucho de papel filtro. Os cartuchos, já com a amostra do solo, foram inseridos no aparelho de Soxhlet para fazer a extração com hexano, utilizando balão de fundo chato de 500 mililitros, previamente dessecado e tarado.

Após quatro horas no aparelho de Soxhlet os balões contendo o teor residual de contaminante e hexano foram colocados na estufa a 105° C durante uma hora. Transcorrido esse tempo, os balões foram postos no dessecador por uma hora até atingir a temperatura ambiente e a completa evaporação do hexano (Figura 34).



Figura 34: Dessecador contendo os balões.

Os balões foram novamente pesados, e o cálculo da determinação residual de contaminante foi realizado através da equação a seguir:

Teor residual de contaminante = PF (peso final) – PI (peso inicial).

A partir disso foi possível verificar o teor residual de contaminante ao longo do tempo de duração do experimento (Anexo 3).

3.10 DETERMINAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO TEOR RESIDUAL DE CONTAMINANTE

A determinação do perfil de hidrocarbonetos e ésteres etílicos do resíduo foi feita através do método de Cromatografia Gasosa (CG). Através do método CG, foi possível analisar as cadeias carbônicas do diesel e do biodiesel. As amostras foram encaminhadas ao CEPA da UPF.

O equipamento utilizado para as análises foi o cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama, marca VARIAN, modelo STAR 3400 CX (Figura 35).



Figura 35: Cromatógrafo.

O teor residual de contaminante contido nos balões foi enviado para a análise cromatográfica. As amostras analisadas foram as misturas B0, B2, B5, B20, B50, B75 e B100, pelo período de 165 dias, quinzenalmente.

As coletas foram retiradas em três repetições para cada percentual e depois disso misturadas e homogeneizadas a fim de formar uma amostra única para análise.

Com a finalidade de avaliar os carbonos do teor residual de contaminante foi avaliada a área total de cada cromatograma, como demonstrado na Figura 36.

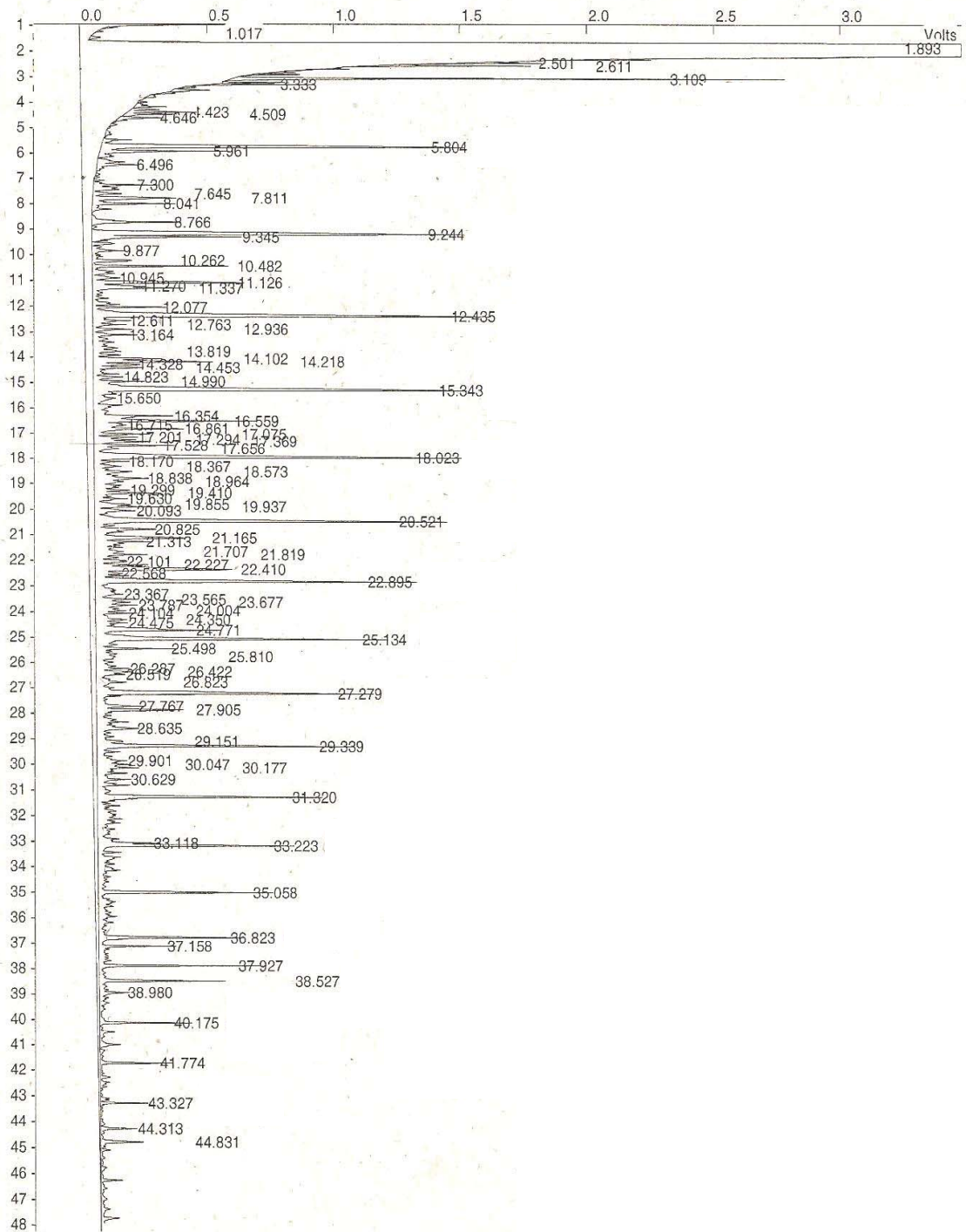


Figura 35: Exemplo de cromatograma da amostra (volts x minuto).

4 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1 TEOR RESIDUAL DE CONTAMINANTE EXTRAÍDO

A Figura 37 apresenta o teor residual de contaminante ao longo do tempo para a mistura B0. No 45º dia a amostra apresentava-se com 2,7% de contaminante, ao passo que no 105º dia continha 2,03%. Chegando aos 165 dias apresentava-se com 0,36%. Então, nesta avaliação foi possível verificar que houve uma degradação de 91% do contaminante.

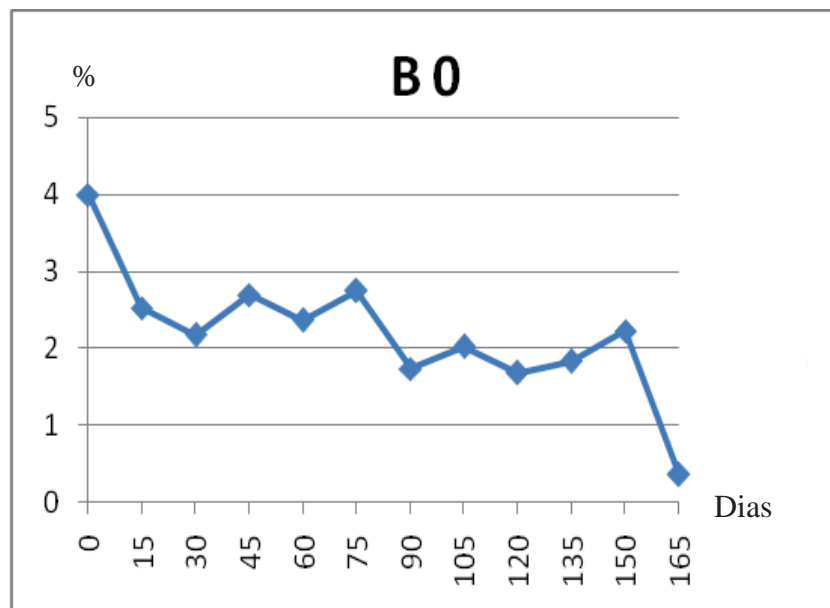


Figura 37: Teor Residual do Contaminante B0
ao longo do tempo.

A Figura 38 apresenta o teor residual de contaminante ao longo do tempo para a mistura B2. Este apresentou uma maior remoção que o B0, visto que no 45º dia já se apresentava com 1,78% de contaminação, demonstrando uma porcentagem menor quando comparado ao B0; ao passo que no 105º dia encontrava-se com 1,73%. Quando completaram os 165 dias do

experimento, apresentava 0,37%, com uma degradação final de 90,75% do contaminante, degradação semelhante ao B0, pois verificou-se que a temperatura manteve-se próxima aos 25° graus, e a respeito da intensidade pluviométrica observou-se que dos 150 aos 165 dias houve tanto ausência de chuvas quanto precipitações de 40 milímetros.

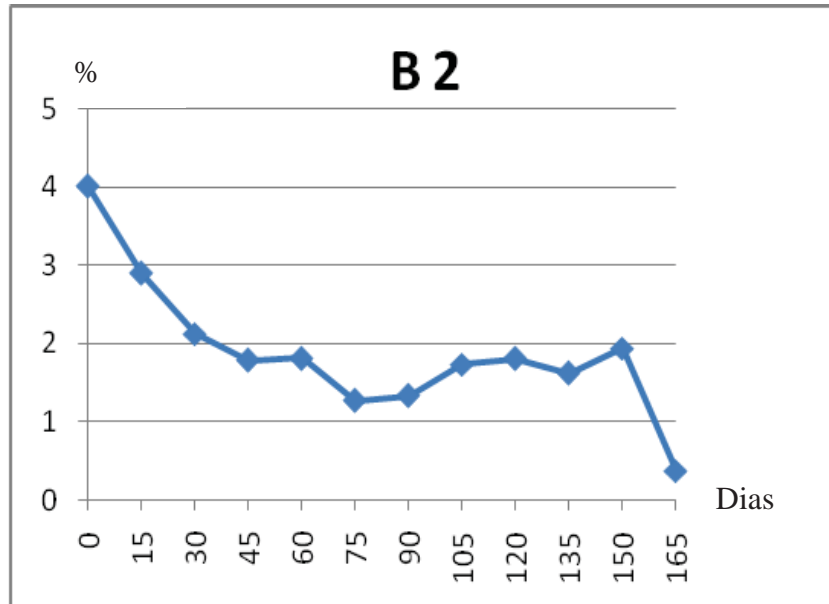


Figura 38: Teor Residual do Contaminante B2 ao longo do tempo.

A Figura 39 apresenta o teor residual de contaminante ao longo do tempo para a mistura B5. Aos 45 dias, O B5, estava com 1,18% de contaminante, e quando avaliado no 105º dia, encontrava-se com 0,97%, porcentagem essa, menor desde o início do experimento, quando comparado ao B0 e B2. Aos 165 dias apresentava-se com 0,16%, tendo uma eficiência de 96,5% na degradação do contaminante. Essa eficiência verificou-se em uma temperatura próxima dos 25° graus, e em uma intensidade pluviométrica de zero a 40 milímetros.

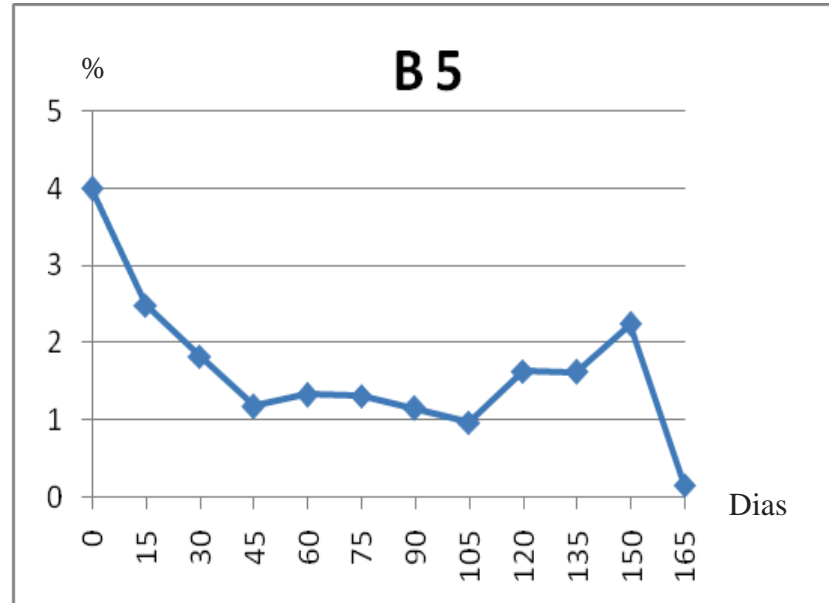


Figura 39: Teor Residual do Contaminante B5
ao longo do tempo.

Outro percentual de biodiesel adicionado ao óleo Diesel foi de 20%. A Figura 40 apresenta o teor residual de contaminante ao longo do tempo para a mistura B20. Este no 45º dia degradou 1,72% de contaminante. Passados 105 dias, encontrava-se com 1,71%, porcentagem maior quando comparado aos outros percentuais até então. Já, aos 165 dias estava com 0,14% de contaminante. Aqui, foi possível verificar uma degradação de 96,5% do contaminante, sendo está até então maior que as concentrações menores de biodiesel, o que seria esperado. Nesse período, verificou-se uma temperatura próxima dos 25º graus, e uma intensidade pluviométrica de zero a 40 milímetros.

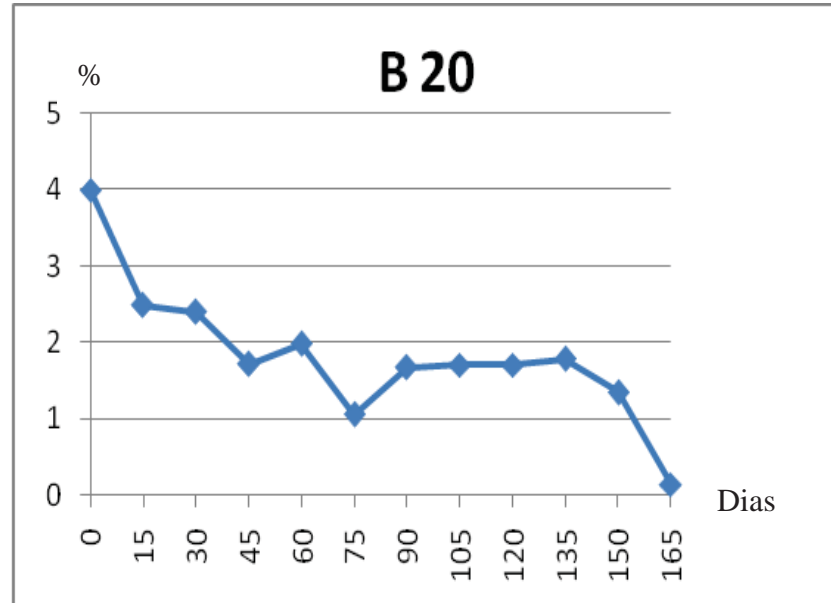


Figura 40: Teor Residual do Contaminante B20
ao longo do tempo.

A Figura 41 apresenta o teor residual de contaminante ao longo do tempo para a mistura B50. No 45º dia apresentava 2,24% de contaminante, porcentagem menor que o B0 nos mesmos dias de avaliação. No 105º dia, encontrava-se com 1,51% degradado. Ao final dos 165 dias, apresentava-se com 0,51%. Nessa concentração se verificou uma degradação de 87,25% do contaminante, não compatível com os demais resultados, sendo a menor degradação. Porém, mesmo sendo a menor degradação, nesse período, assim como nas demais porcentagens, verificou-se uma temperatura próxima dos 25º graus, e uma intensidade pluviométrica de zero a 40 milímetros.

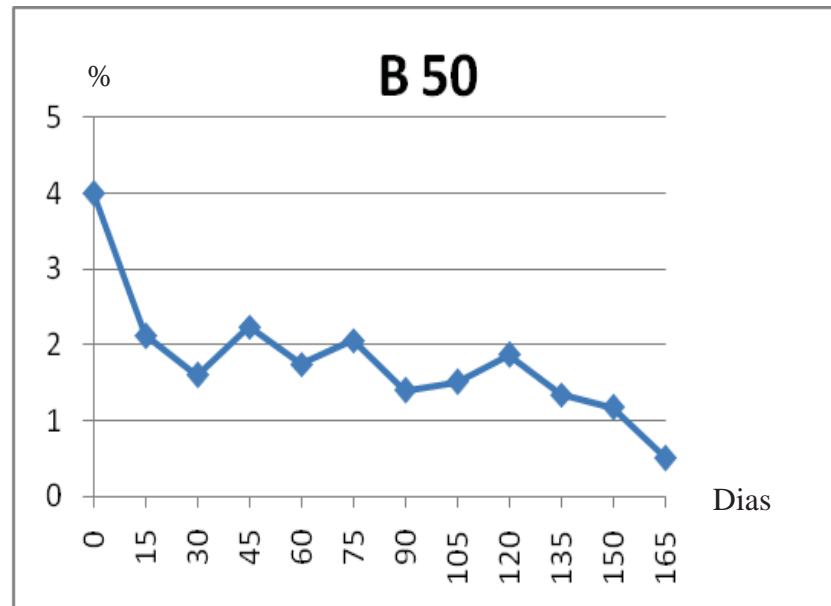


Figura 41: Teor Residual do Contaminante B50
ao longo do tempo.

A Figura 42 apresenta o teor residual de contaminante ao longo do tempo para a mistura B75, sendo 75% de biodiesel adicionado ao óleo Diesel. No 45º dia já se apresentava 2,15% de contaminante. No 105º dia, encontrava-se com 1,9 % degradado. Ao final dos 165 dias, apresentava-se com 0,15 % de degradação, tendo uma degradação de 96,25% do contaminante, chegando próximo ao score do B20. Assim como nas demais porcentagens, nesse período, verificou-se uma temperatura próxima dos 25º graus, e uma intensidade pluviométrica variando de zero a 40 milímetros.

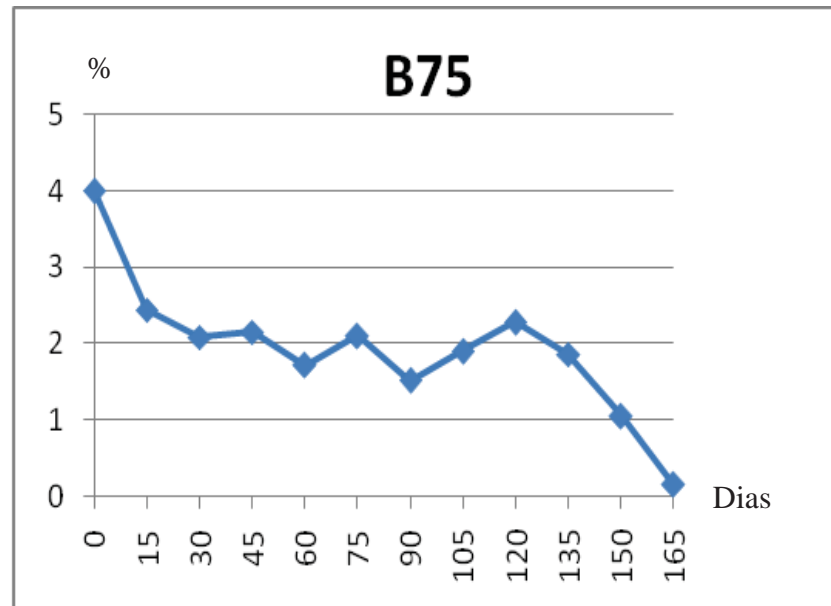


Figura 42: Teor Residual do Contaminante B75
ao longo do tempo.

A Figura 43 apresenta o teor residual de contaminante ao longo do tempo para a mistura B100. No 45º dia se apresentava com 2,98% de contaminante. Aos 105 dias encontrava-se com 2,6%, demonstrando uma maior degradação quando visto a porcentagem do B0, que é o Diesel puro. Ao final do experimento apresentava-se com 0,2%. Nesta avaliação foi possível verificar que houve uma degradação de 95% do contaminante, sendo esta redução do mesmo, um pouco distante apenas do comportamento apresentado pelo B50. Verificando-se uma temperatura próxima dos 25º graus, e uma intensidade pluviométrica variando de zero a 40 milímetros.

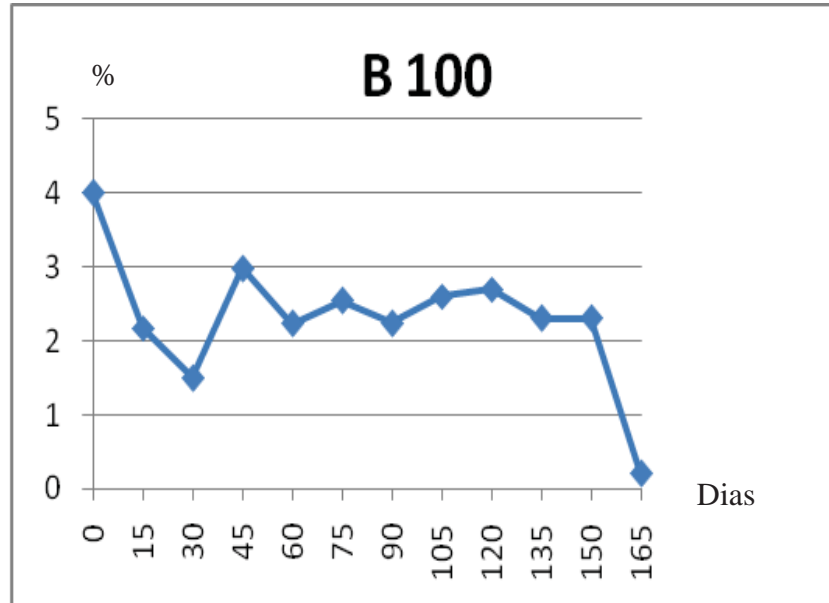


Figura 43: Teor Residual do Contaminante B100 ao longo do tempo.

Após a análise dos resultados, percebeu-se que dos 4% do contaminante presente no início do experimento, aos 165 dias, as amostras continham cerca de 0,5% de contaminante, mostrando que possa ter havido um processo de biodegradação, volatilização, degradação e lixiviação. As diferentes misturas encontram-se na Figura 44.

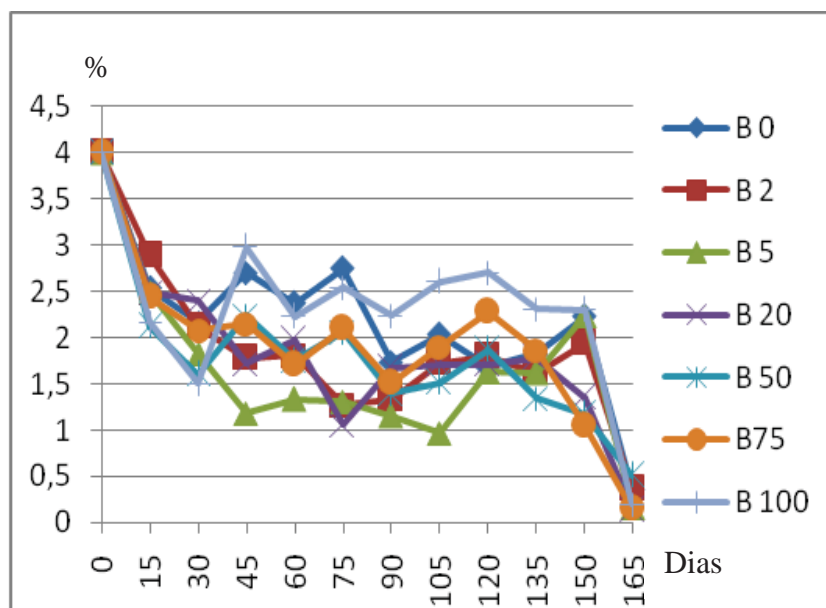


Figura 44: Teor Residual de Contaminante.

No período de duração do experimento observou-se no teor residual de contaminante que o biodiesel foi mais facilmente extraído no Soxhlet quando comparado com o óleo Diesel. Isso, possivelmente, é devido ao fato de que o biodiesel é composto de ácidos graxos livres, sendo assim mais facilmente extraível do solo contaminado.

Considerando que houve lixiviação das misturas (Anexo 1) e comportamento normal de baixa volatilidade do óleo Diesel e do biodiesel, a diminuição no teor residual de contaminante no decorrer do tempo não foi exclusivamente em decorrência da percolabilidade das misturas, mas mais provavelmente, um indicativo de biodegradação dos contaminantes através da ação dos microorganismos. Diminuições no teor residual de contaminante pode ter ocorrido por percolação, embora, ao final do experimento todas as misturas apresentaram, qualitativamente, o mesmo comportamento em relação à biodegradação. Dessa forma, como a percolação não ocorreu em todos os biorreatores, e os comportamentos foram muito similares, tudo indica que a diminuição no teor residual de contaminante ocorreu naturalmente, ou seja, por degradação.

4.2 AVALIAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO TEOR RESIDUAL DE CONTAMINANTE

A taxa de degradação dos hidrocarbonetos do teor residual de contaminante foi avaliada por meio da cromatografia gasosa. Para determinar o percentual de degradação do contaminante utilizou-se o cálculo da diferença da soma de área ao longo do tempo.

Os tempos 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165 dias foram sempre comparados ao tempo zero da pesquisa. Por exemplo, o B100 possuía uma área total de 67403831 no tempo zero. Decorrido 15 dias sua área era de 48567252, e após 30 dias era de 47056656. Isso pode ser visualizado na Tabela 15.

Tabela 15: Áreas totais obtidas a partir da soma das áreas dos picos em cada cromatograma para os diferentes teores de biodiesel nos diferentes tempos de estudo.

Tempo (dias)	B0	B2	B5	B20	B50	B75	B100
0	61356796	73423380	75434564	74268542	74091956	79733359	67403831
15	46079561	41297064	43374412	51927984	41669718	44767683	48567252

Tempo (Dias)	B0	B2	B5	B20	B50	B75	B100
30	55460066	44022167	55094555	58497201	50711506	47570434	47056656
45	59452626	60731462	50479589	51157650	56894392	57763536	41974060
60	52303175	68313859	58262365	47331898	63250414	55763390	64826189
75	51267984	51178261	50953691	64748371	55686840	70241275	68185736
90	52292511	81566331	58367353	65217243	53068572	66783616	72223883
105	48555435	56119531	66578178	66885763	53195441	64445420	71903767
120	49814127	63939680	61960041	58849037	76548288	49546231	70812276
135	14532931	19939548	91900087	10879465	85655901	11687649	12430370
150	11791764	11687012	74392114	12062061	11815648	17377051	11821117
165	12658972	12984782	14014875	17009175	20446494	20104604	17238642

A partir dessas áreas acima exemplificadas obteve-se o percentual de degradação em cada tempo da maneira como seguem os exemplos abaixo:

Ex 1: Percentual de degradação do B100 em 15 dias.

$$67403831 - 48567252 / 67403831 \cdot [100] = 27,94\%.$$

Ex 2: Porcentagem de degradação do B100 em 30 dias.

$$67403831 - 47056656 / 67403831 \cdot [100] = 30,18\%.$$

A biodegradação do contaminante foi obtida pela diferença das áreas analisadas no perfil cromatográfico obtido, para as amostras de solo, dos diferentes percentuais retirados quinzenalmente.

A Figura 45 apresenta a avaliação do teor residual de contaminante do B0. No 45º dia foi possível verificar que houve uma degradação de 3,1% de contaminante, seguido de 20,6% no 105º dia, e 79,36% em 165 dias, todos comparados ao tempo inicial do experimento.

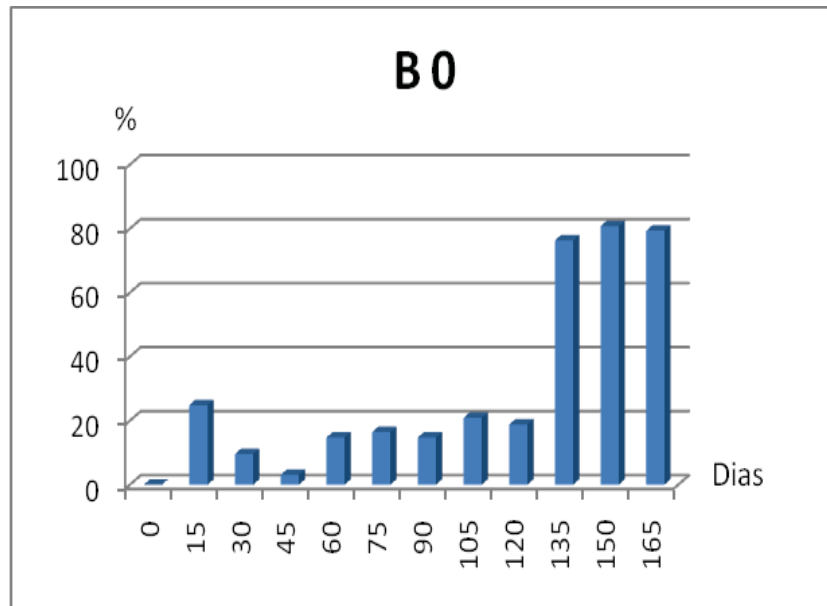


Figura 45: Degradação do contaminante B0.

A Figura 46 apresenta a avaliação do teor residual de contaminante do B2. Aos 45 dias de experimento verificou-se uma degradação de 17,28% de contaminante, conseguinte, no 105º dia, degradou 23,56%. Quando chegou aos 165 dias da pesquisa, 82,31% do contaminante obteve degradação. Aos 90 dias de experimento o percentual de degradação ocorreu de forma negativa, portanto o autor adotou zero para valor de referência.

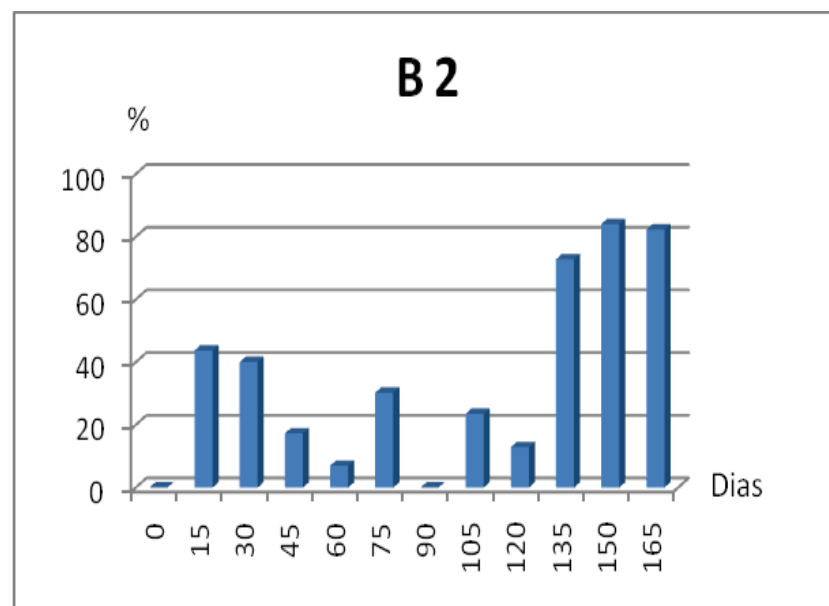


Figura 46: Degradação do contaminante B2.

A Figura 47 apresenta a avaliação do teor residual de contaminante do B5. Aos 45 dias de pesquisa, o B5, degradou, por área, 33,08% de contaminante. Seguido de 11,74% no 105º dia, porcentagem menor quando analisada junto ao B2; e chegando aos 165 dias, houve degradação de 81,42%, degradando menos que o B2. No 135º dia de avaliação da pesquisa, o percentual de degradação ocorreu negativamente, dessa forma o pesquisador adotou zero para valor de referência.

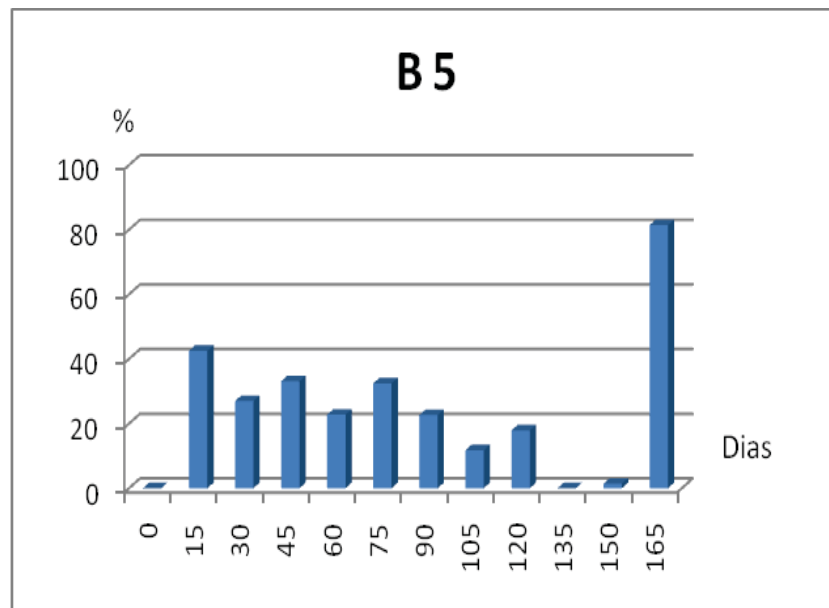


Figura 47: Degradação do contaminante B5.

A Figura 48 apresenta a avaliação do teor residual de contaminante do B20. No 45º dia de experimento, degradou cerca de 31,1% do contaminante. Ao passar os dias, no 105º dia, degradou 9,94%; Então, ao final, nos 165 dias, o percentual de degradação foi de 77,09%, resultando numa degradação menor do que os outros percentuais analisados.

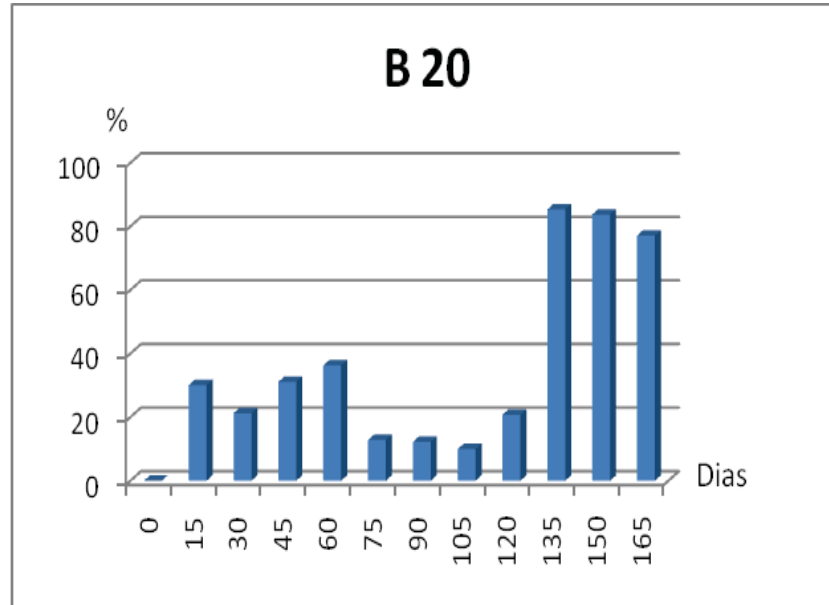


Figura 48: Degradação do contaminante B20.

A Figura 49 apresenta a avaliação do teor residual de contaminante do B50. Em relação a esta porcentagem, no 45º dia foi possível verificar que houve uma degradação por área de 23,21% de contaminante, e no 105º dia o percentual foi de 28,2%. No 165º dia de experimento, degradou 72,4% do contaminante, valor próximo ao B20 nesse mesmo dia. Aos 120 e 135 dias de experimento o percentual apresentou-se negativamente, portanto o autor optou, para referência, valor zero.

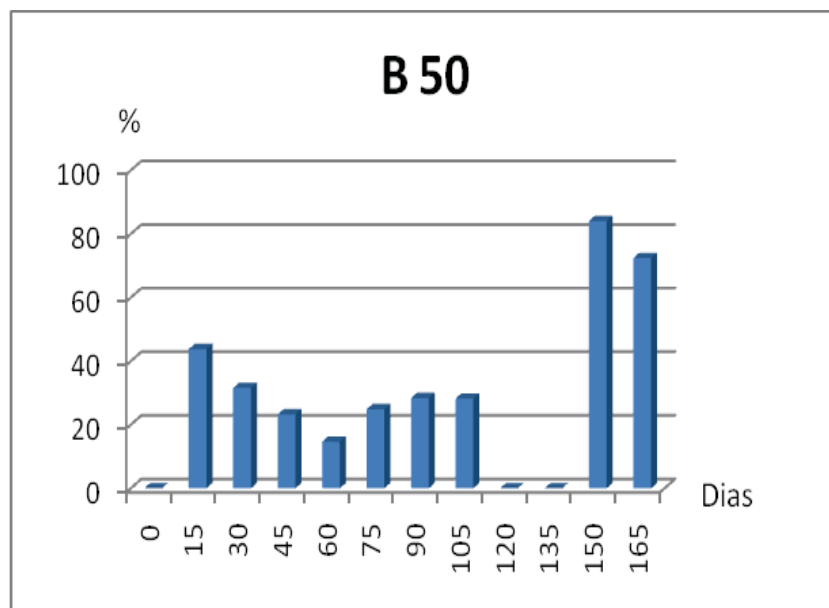


Figura 49: Degradação do contaminante B50.

A Figura 50 apresenta a avaliação do teor residual de contaminante do B75. No 45º dia de avaliação, verificou-se uma degradação por área de 27,55% de contaminante, ao passo que no 105º dia degradou 19,17%, porcentagem menor ainda em relação ao B50; e chegando aos 165 dias, 67,26% foi a taxa de degradação de contaminante, comparados ao tempo inicial do experimento, assim como os outros também.

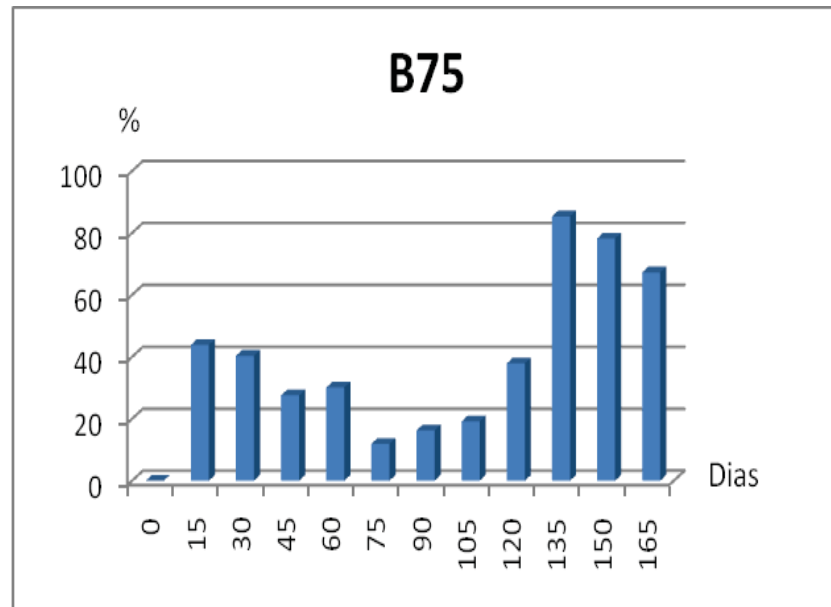


Figura 50: Degradação do contaminante B75.

A Figura 51 apresenta a avaliação do teor residual de contaminante do B100. Em relação ao B100, foi possível verificar que houve uma degradação de 37,12% de contaminante no 45º dia, e 0% no 105º dia. Aos 165 dias, degradou 74,42%, valor aproximado do B20 e do B50. Faz-se necessário lembrar que aos 75º, 90º e 120º dias a taxa de biodegradação, como também ocorreu no 105º dia, foi negativa. Portanto, para tais valores, o autor utilizou valor zero para parâmetro de medição.

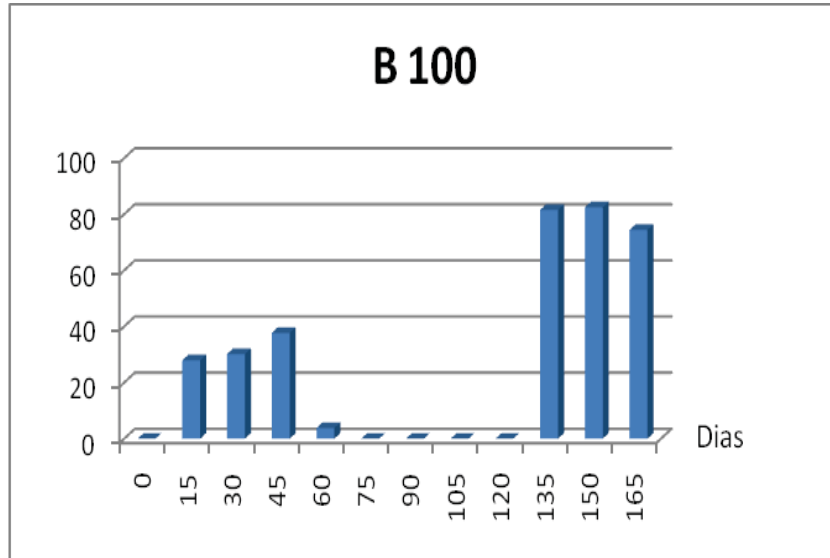


Figura 51: Degradação do contaminante B100.

Na Figura 52, observa-se o comportamento das diferentes misturas ao longo do tempo.

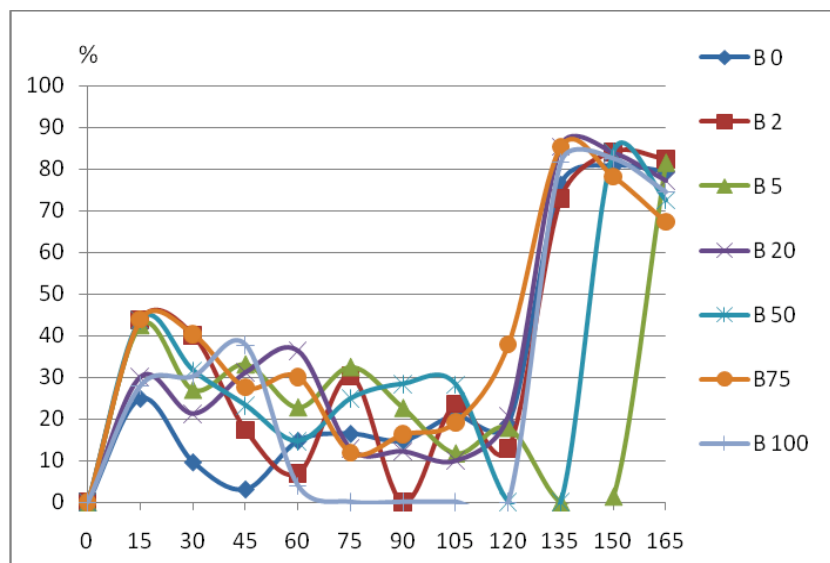


Figura 52: Comportamento das diferentes misturas ao longo do tempo.

Não foi possível avaliar o contaminante a cada quinze dias como proposto no início da pesquisa, pois este apresentou comportamento totalmente atípico quando comparado com experimentos deste tipo realizados em laboratório.

4.3 PLUVIOMETRIA, UMIDADE E TEMPERATURA

Como o experimento não ocorreu em laboratório, mas sim “in situ”, foi necessário o agrupamento de dados como pluviometria, umidade e temperatura.

A pesquisa foi iniciada no mês de julho, período referente ao inverno, dessa forma esperava-se uma maior intensidade pluviométrica, porém conforme ilustra a Figura 53, as chuvas ficaram moderadamente distribuídas também no decorrer do experimento, ou seja, primavera, a qual tem início no dia 23 de setembro, quando finda o inverno, e estende-se a 21 de dezembro, data que marca o início do verão. A intensidade pluviométrica foi avaliada do dia 05 de julho a 10 de dezembro de 2009, assim como a umidade.

No gráfico verifica-se uma maior intensidade pluviométrica no período que antecede os 90 dias, o qual corresponde ao mês de outubro.

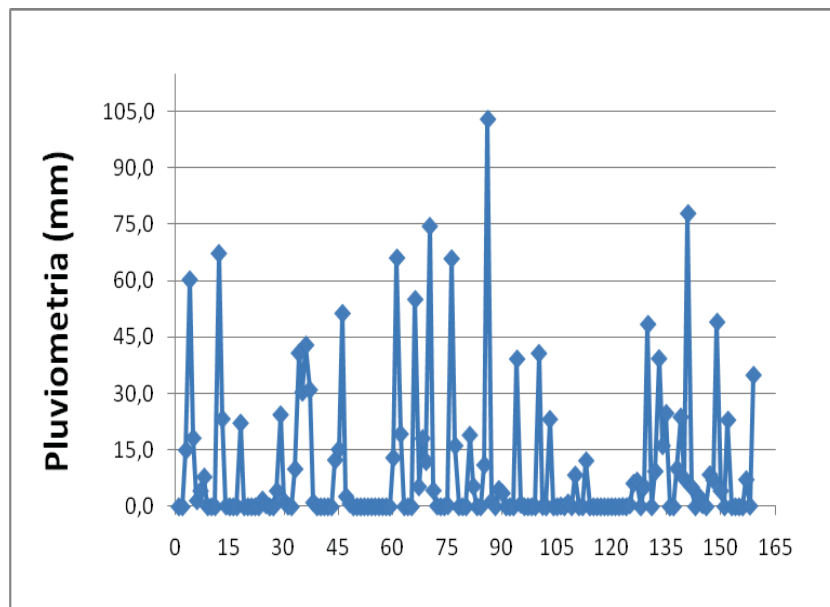


Figura 53: Intensidade Pluviométrica.

Tanto no Soxhlet quanto na Cromatografia Gasosa os resultados demonstraram que houve um maior pico de biodegradação aos 120 dias, dessa forma a quantidade de chuva teve influência sobre a degradação do contaminante, pois verifica-se que período não houve incidência de grandes chuvas. Portanto, a partir dos dados há um indicativo de que quanto menor a intensidade pluviométrica, maior é a taxa de biodegradação.

Em relação a umidade relativa do ar (UR) foi avaliada durante os 165 dias de experimento, conforme ilustra a Figura 54.

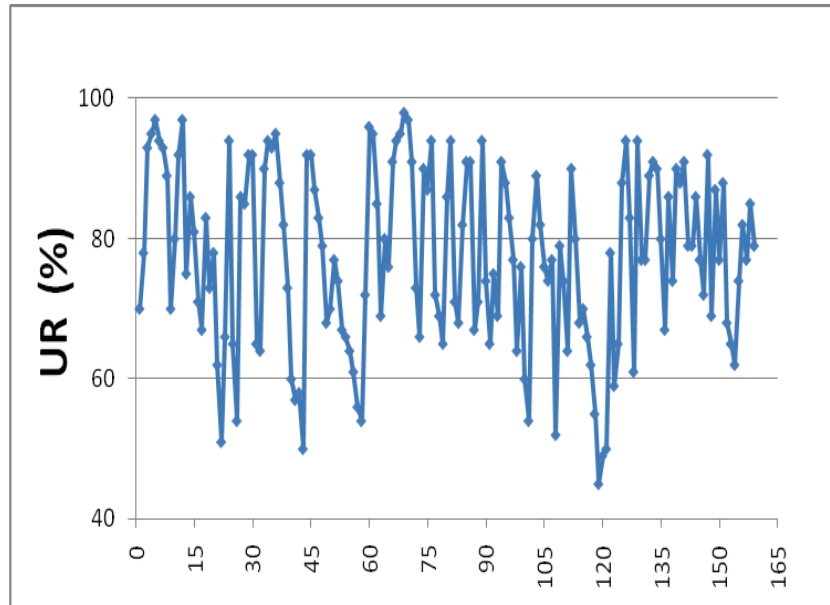


Figura 54: Umidade Relativa do ar durante o período de realização da pesquisa.

A média de umidade relativa foi de 60 a 90% durante o período de 60 a 90 dias do experimento. Os resultados demonstram que parece existir uma melhor faixa de umidade no solo para ação dos microorganismos sobre o contaminante, ou seja, a sua degradação foi maior quando essa umidade permaneceu na faixa de 35%. Isso é demonstrado quando a pesquisa atingiu os 120 dias.

Acompanhando a Figura acima, traçando-se uma semi-reta do ponto máximo inicial ao ponto máximo final, percebeu-se uma ligeira tendência à redução de umidade durante o período de medição.

Observou-se eventos singulares de redução expressiva de umidade, próximos dos 20, 45, 60, e 120 dias, que embora de curta duração, exerceram influência na biodegradação.

Com base nos resultados obtidos pode se explicar que quanto maior a saturação do solo com a água, menor foi a capacidade dos microorganismos em degradar o contaminante.

Em relação à temperatura, essa também foi avaliada durante todo o período de realização do experimento, a 10 centímetros de profundidade do solo contaminado. Os resultados obtidos são demonstrados na Figura 55.

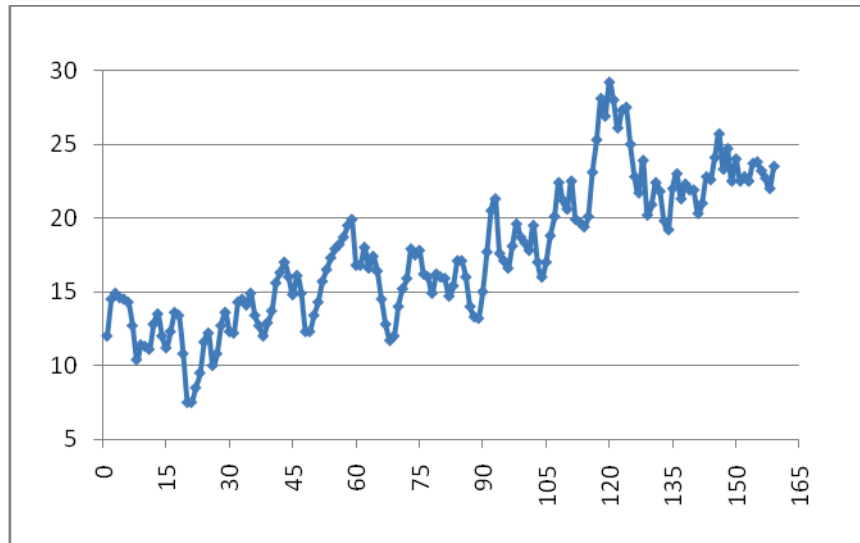


Figura 55: Temperatura do solo em 10 centímetros.

Correlacionando o gráfico da temperatura (Figura 55) com o gráfico do comportamento das diferentes misturas (Figura 52), é possível observar que aos 15 dias houve uma redução da temperatura de 14° para aproximadamente 7°, e que na degradação do contaminante também houve uma redução significativa.

Aos 105 dias a temperatura estava em torno de 15°, e aos 120 dias a temperatura estava por volta de 30°, ocorrendo um grande aumento da temperatura. Nesse mesmo período, no gráfico do comportamento das diferentes misturas é possível perceber que a degradação do contaminante também aumentou, ou seja, houve uma maior degradação quando houve um maior aumento da temperatura.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos foi possível chegar às seguintes conclusões:

- A extração do teor residual de contaminante, através do método de Soxhlet, indicou que houve a degradação de todos os percentuais avaliados no presente trabalho.
- A umidade foi um dos fatores que influenciou na biodegradação dos diferentes percentuais de biodiesel adicionados ao óleo Diesel.
- Os resultados da pesquisa indicam que quanto maior a saturação do solo com água ou elevada umidade, mais lenta será a ação dos microorganismos do solo para biodegradar o contaminante.
- O trabalho demonstrou que a temperatura exerce influência na degradação do contaminante, ficando ainda mais evidente quando acima dos 21°C.
- A atenuação natural apresentou resultados plausíveis, porém essa técnica requer maior tempo para a descontaminação do solo porque a biodegradação ocorre naturalmente sem nenhuma outra forma de biorremediação.
- Era esperado que o contaminante que continha maior porcentagem de biodiesel apresentasse maior degradação quando comparado ao contaminante que continha menor porcentagem de óleo Diesel, mas os resultados do presente trabalho não confirmaram essa hipótese.

5.2 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Monitorar o solo utilizando a técnica de atenuação natural por período equivalente ou superior a dois anos para uma melhor precisão dos resultados.
- Avaliar o teor residual de contaminante individualmente e utilizando repetições a fim de se obter uma melhor precisão nos resultados.
- Utilizar diferentes técnicas de biorremediação “in situ”, a fim de comparar seus comportamentos e identificar aquela que possui maior eficiência na degradação do contaminante.
- Propor um método para realizar o mesmo experimento, instalando os biorreatores na profundidade original do solo do horizonte B.
- Realizar um novo experimento com as mesmas misturas, durante o mesmo tempo, em campo e simultaneamente em laboratório.

6 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. **Especificações e limites para o óleo diesel.** Disponível em: <http://www.anp.gov.br/doc/biodiesel/14%20_20rev_port_anp_p310_2001Ver%20biodiesel%20%2001%20set.pdf>. Acesso em: jan. 2009.

ALEXANDER, M. *Biodegradation and Biorremediation*. Academic Press, New York, 1994.

ALVAREZ, P. J. J., ILLMAN, W. A. *Bioremediation and natural attenuation: processes Fundamentals and mathematical models*. Wiley-Interscience. EUA. 2006, p.609.

APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1998.

BAPTISTA, P. M., RIZZO, A. C. de. L. **Acompanhamento do processo de Atenuação Natural de solo contaminado por petróleo.** XII Jornada de Iniciação Científica do CETEM/MCT, 2004.

BENTO, F. M. et al. *Bioremediation of soil contaminated by diesel oil*. Brazilian Journal of Microbiology. 34(Suppl.1), 65-68, 2003.

BORDEN, R. C.; GOMES, C. A.; BECKER, M. T. *Geochemical indicators of intrinsic bioremediation*. Ground Water, 33:180-189, 1995.

BOSCOV GIMENEZ, M. A. **Geotecnia Ambiental**. São Paulo, 2008, p.248.

BRADDOCK, J. F., RUTH, M. L., CATTERALL, P. H. *Enhancement and Inhibition of Microbial Activity in Hydrocarbon-Contaminated Arctic Soils: Implications for Nutrient-Amended Bioremediation*. Environ. Sci. Technol. v.31 (7), p.2078 -2084, 1997.

BRADY, N. C.; BUCKMAN, H. O. **Natureza e propriedade dos solos**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1994.

BOOPATHY, R. *Anaerobic biodegradation of no. 2 diesel fuel in soil: a soil column study*. Bioresource Technology. n.94, p.143-151, 2004.

CARDOSO, E. J. B. N. et al. **Microbiologia do solo**. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.

CLAYTON, W. S., BROWN, R. A., BASS, D. H. *Air sparging and biorremediation: The case for in situ mixing*. Third International Sump. In Situ and On Site Biorreclamation, San Diego, April 1995.

COOKSON, J. T. *Bioremediation Engineering: Design and Application*. McGraw-Hill. New York. 1994.

DAVIS, C., Cort, T., Dai, D., Illangasekare, T. H., Munakata-Marr, J. *Effects of heterogeneity and experimental scale on the biodegradation of diesel*. Biodegradation. v.14, p.373–384, 2003.

FERNANDES, F. M.; ALCÂNTARA, G. Z. **Bioremediação de solos: estado da arte**. Disponível em: <[http://www. Daqbi.cefet.br/professores/mauricio/pedologia/Bioremediacao%e7%e3odesolo.pdf](http://www.Daqbi.cefet.br/professores/mauricio/pedologia/Bioremediacao%e7%e3odesolo.pdf)>. Acesso em: jul. 2009.

FERRARI, R. A., OLIVEIRA, V. S., SCABIO, A. **Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físicoquímica e consumo em gerador de energia**. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 1, p.19-23, 2004.

GALLEGO, J. L. R., LOREDO, J., LLAMAS, J. F., VÁZQUEZ, F., SÁNCHEZ, J. *Biorremediation of diesel-contaminated soil: Evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation*. Biodegradation. v.12, p.325-335, 2001.

MARCHAL, R., PENET, S., SOLANO-SERENA, F., VANDECASTEELE, J. P. *Gasoline and diesel oil biodegradation*. Oil and Gas Science and Technology. v.58(4), p.441-448, 2003.

MARIANO, A. P., TOMASELLA, R. C., MARCONDES DE OLIVEIRA, L., CONTIERO, J., DE ANGELIS, F. *Biodegradability of diesel and biodiesel blends*. African Journal of Biotechnology. v.7(9), p.1323-1328, 2008.

MENEGHETTI, L. **Bioremediação na descontaminação de um solo residual de basalto contaminado com óleo diesel e biodiesel**. 2007 Dissertação (Mestrado em Engenharia: área de concentração: Infra-estrutura e Meio Ambiente). Faculdade de Engenharia e Arquitetura. Universidade de Passo Fundo, Passo fundo, 2007.

MOLINA-BARAHONA, L., RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R., HERNÁNDEZ-VELASCO, M., VEGA-JARQUÍN, C., ZAPATA-PÉREZ, O., MENDONZA-CANTÚ, A., ALBORES, A. *Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues*. Applied Soil Ecology. v.27, p.165-175, 2004.

MONTGOMERY, D. C. *Desing and analysis of experiments*. Sixth Edition. John Wiley & Sons, Inc, 2001.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Ed. UFLA, 2002.

MOURA, A. SAMARA, F. **O que são hidrocarbonetos**. Disponível em: <http://www.Bioremediacao\hidrocarbonetos\2 Rosas O que são os Hidrocarbonetos.htm>>. Acesso em: jul. 2009.

MUKHERJI, S., JAGADEVAN, S., MOHOPATRA, G., VIJAY, A. *Biodegradation of diesel oil by an arabian sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil Field*. Bioresource Technology. v.95(3), p.281-286, 2004.

OLSON, J. J. et al. *Biodegradation rates of separated diesel components*. Environmental Toxicology and Chemistry, v.18, n.11, 1999.

PASQUALINO, J. C., MONTANÉ, D., SALVADÓ, J. *Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels*. Biomass and Bioenergy, n.30, p.874-879, 2006.

PENET, S., VENDEUVRE, C., BERTONCINI, F., MARCHAL, R., MONOT, F. *Characterisation of biodegradation capacities of environmental microflorae for diesel oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography*. v.17, p. 577-585, 2006.

PEREIRA, G., MUDGE, S. M. *Cleaning oiled shores: laboratory experiments testing the potential use of vegetable oil biodiesels*. Chemosphere. v.54(3), p.297-304, 2004.

PEREIRA, L. T. C.; LEMOS, J. L. S. *Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por Aspergillus Niger e Penicillium Corylophilum*. Disponível em: <http://www.scielo.com.br/>. Acesso em: mar. 2009.

PETROBRÁS. Petróleo Brasileiro S.A. Óleo diesel. Disponível em: <http://petrobras.com.br/oleodiesel> . Acesso em jun, 2009.

PINTO, A.C., GUARIEIRO, L. L. N., REZENDE, M. J. C., RIBEIRO, M. N., TORRES, E. A., LOPES, W. A., PEREIRA, P. A. P., ANDRADE, J. B. *Biodiesel: An Overview*. J. Braz. Chem. Soc. v.16(6B), p.1313-1330, 2005.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. *Microbiology*. Boston: McGraw-Hill, 1999.

PRIMAVESI, A. *O Manejo ecológico do solo: agricultura em regiões tropicais*. São Paulo: Nobel, 3ª ed, 1981.

SARKAR, D. et al. *Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation*. Environmental Pollution, v.136, p. 187-195, 2005.

SERDARI, A., EURIPIDES, L., STOURNAS, S., Ind. Eng. Chem. Res. 38, 3543, 1999.

SIQUEIRA, J. O. et al. *Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental*. EMBRAPA, SPI, Brasília, DF, 1994.

SUTHERSAN, S. S. *Remediation Engineering*. CRC Press LLC. 2000, p.362.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Emerging Technologies for the management and utilization of landfill gas*. 1998. EPA-600/R-98-021. Disponível em: http://www.epa.gov/ttn/catc/dir1/etech_pd.pdf. Acesso em 12 nov. 2008.

YONG, R. N. *Geoenvironmental engineering: contaminated soil, pollutant fate and mitigation*. CRC Press L. C. 2001, p.307.

ZHANG, X., PETERSON, C., REECE, D., MÖLLER, G., HAWS, R. *Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment*. Transactions of ASAE. n.41, p.1423-1430, 1998.

Anexo 1: Quantidade de contaminante percolado durante a pesquisa (em mililitros).

%	Julho (5 a 31/7)	Agosto (1 a 31/8)	Setembro (1 a 30/9)	Outubro (1 a 31/10)	Novembro (1 a 30/11)	Dezembro (1 a 10/12)
B0 (R1)	---	---	5	---	---	---
B0 (R2)	---	---	5	---	---	---
B0 (R3)	---	---	5	---	---	---
B2 (R1)	20	30	10	---	---	---
B2 (R2)	60	23	5	---	---	---
B2 (R3)	10	22	3	---	---	---
B5 (R1)	13	22	5	---	---	---
B5 (R2)	20	44	---	---	---	---
B5 (R3)	---	10	---	---	---	---
B20 (R1)	---	---	62	---	---	---
B20 (R2)	---	---	95	---	---	---
B20 (R3)	---	---	---	---	---	---
B50 (R1)	---	---	120	---	---	---
B50 (R2)	---	---	108	---	---	---
B50 (R3)	---	---	95	---	---	---
B75 (R1)	---	50	53	---	---	---
B75 (R2)	---	---	12	---	---	---
B75 (R3)	---	---	41	---	---	---
B100 (R1)	---	27	---	---	---	---
B100 (R2)	---	5	42	---	---	---
B100 (R3)	---	4	---	---	---	---

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 1º Coleta (15 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Ec.
B0	15,4215	133,2846	132,9220	0,3626	2,35	1,08	2,53
B2	15,6040	132,4638	132,2200	0,418	2,68	1,08	2,89
B5	15,4380	144,9253	144,5675	0,3578	2,31	1,08	2,49
B20	15,1620	152,8880	152,5318	0,3562	2,35	1,06	2,49
B50	15,6202	137,5328	137,2072	0,3256	2,08	1,02	2,12
B75	15,4330	134,5755	134,1977	0,3788	2,44	1,00	2,44
B100	15,0424	142,2498	141,9236	0,3262	2,17	1,00	2,17

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 2º Coleta (30 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,4280	181,4000	181,0896	0,3104	2,01	1,08	2,17
B2	15,3619	151,0422	150,7392	0,3030	1,97	1,08	2,12
B5	15,6074	138,7028	138,4368	0,2660	1,70	1,08	1,83
B20	15,2203	147,6545	147,3085	0,3460	2,27	1,06	2,40
B50	14,9370	147,2100	146,9765	0,2335	1,57	1,02	1,60
B75	15,4118	129,7880	129,4671	0,3209	2,08	1,00	2,08
B100	15,6962	141,3396	141,0131	0,2352	1,50	1,00	1,50

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 3º Coleta (45 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,0410	146,3340	145,9583	0,3757	2,50	1,08	2,70
B2	15,4303	149,7527	149,4976	0,2551	1,65	1,08	1,78
B5	15,2333	147,9670	147,8000	0,167	1,10	1,08	1,18
B20	15,2353	145,8370	145,5878	0,2492	1,63	1,06	1,72
B50	15,3557	145,0943	144,7553	0,339	2,20	1,02	2,24
B75	15,2300	134,5249	134,1980	0,3269	2,15	1,00	2,15
B100	15,5672	142,3868	141,9234	0,4625	2,98	1,00	2,98

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 4º Coleta (60 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,5000	132,5573	132,2166	0,3407	2,20	1,08	2,37
B2	15,4982	137,4720	137,2110	0,2610	1,68	1,08	1,81
B5	15,0570	133,1100	132,9226	0,1874	1,24	1,08	1,33
B20	15,1415	152,9100	152,6271	0,2829	1,87	1,06	1,98
B50	15,4800	150,9856	150,7190	0,2666	1,72	1,02	1,75
B75	15,3000	146,2045	145,9435	0,2610	1,71	1,00	1,71
B100	15,1735	148,1224	147,7832	0,3392	2,23	1,00	2,23

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 5º Coleta (75 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,6110	134,5988	134,2007	0,3981	2,55	1,08	2,75
B2	15,6545	138,6982	138,5140	0,1842	1,18	1,08	1,27
B5	15,3130	144,9443	144,7570	0,1873	1,22	1,08	1,31
B20	15,5330	141,1565	141,0100	0,1465	1,00	1,06	1,06
B50	15,6000	147,2682	146,9533	0,3149	2,02	1,02	2,06
B75	15,4000	149,8204	149,4978	0,3226	2,10	1,00	2,10
B100	15,4000	142,3174	141,9266	0,3908	2,54	1,00	2,54

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 6º Coleta (90 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,8380	147,5695	147,3130	0,2565	1,62	1,08	1,74
B2	15,5730	137,4124	137,2200	0,1924	1,24	1,08	1,33
B5	15,0750	145,7532	145,5930	0,1602	1,07	1,08	1,15
B20	15,8170	133,1763	132,9270	0,2493	1,58	1,06	1,67
B50	15,5160	129,6845	129,4696	0,2149	1,38	1,02	1,40
B75	15,0250	152,8576	152,6300	0,2276	1,51	1,00	1,51
B100	15,6410	146,3130	145,9632	0,3498	2,24	1,00	2,24

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 7º Coleta (105 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,4410	151,0220	150,7320	0,2900	1,88	1,08	2,03
B2	15,3400	133,1697	132,9226	0,2471	1,61	1,08	1,73
B5	15,2540	147,9376	147,8008	0,1368	0,90	1,08	0,97
B20	15,5570	152,8781	152,6260	0,2521	1,62	1,06	1,71
B50	15,2600	129,6963	129,4690	0,2273	1,49	1,02	1,51
B75	15,6015	147,6166	147,3193	0,2973	1,90	1,00	1,90
B100	15,6650	137,6146	137,2125	0,4021	2,60	1,00	2,60

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 8º Coleta (120 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,1300	146,1980	145,9616	0,2364	1,56	1,08	1,68
B2	15,2900	132,4755	132,2196	0,2559	1,67	1,08	1,80
B5	15,6300	141,4498	141,2130	0,2368	1,51	1,08	1,63
B20	15,4260	142,1766	141,9268	0,2498	1,62	1,06	1,71
B50	15,6600	145,8733	145,5848	0,2885	1,84	1,02	1,87
B75	15,6060	138,8646	138,5090	0,3556	2,28	1,00	2,28
B100	15,7380	145,1827	144,7580	0,4247	2,70	1,00	2,70

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 9º Coleta (135 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,3507	148,0585	147,7983	0,2602	1,70	1,08	1,83
B2	15,6188	147,2095	146,9752	0,2343	1,50	1,08	1,62
B5	15,1942	134,4346	134,1995	0,2351	1,50	1,08	1,62
B20	15,6460	149,7590	149,4968	0,2622	1,68	1,06	1,78
B50	15,6800	152,8390	152,6314	0,2076	1,32	1,02	1,34
B75	15,3090	137,4988	137,2140	0,2848	1,86	1,00	1,86
B100	15,8640	151,1082	150,7416	0,3666	2,31	1,00	2,31

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 10º Coleta (150 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,2930	129,7883	129,4719	0,3164	2,07	1,08	2,23
B2	15,0960	133,2021	132,9293	0,2728	1,80	1,08	1,94
B5	15,6830	147,6434	147,3160	0,3274	2,08	1,08	2,24
B20	15,2555	150,9404	150,7450	0,1954	1,28	1,06	1,35
B50	15,2920	141,1921	141,0175	0,1746	1,15	1,02	1,17
B75	15,4950	144,9259	144,7625	0,1634	1,05	1,00	1,05
B100	15,3060	145,9454	145,5930	0,3524	2,30	1,00	2,30

Anexo 3: Teor Residual de Contaminante (TRC) – 11º Coleta (165 dias).

%	P. Solo (g)	P. Final	P. Inicial	TRC	% Extraída	Fator de Ajuste	% Degradada
B0	15,0160	142,0315	141,9810	0,0505	0,34	1,08	0,36
B2	15,7930	132,3360	132,2800	0,0560	0,35	1,08	0,37
B5	15,7220	181,2035	181,1800	0,0235	0,15	1,08	0,16
B20	15,6160	159,5880	149,5660	0,022	0,14	1,06	0,14
B50	15,7440	134,3475	134,2700	0,0775	0,5	1,02	0,51
B75	15,7620	150,9000	150,6170	0,0283	0,15	1,00	0,15
B100	15,4850	133,1680	132,8430	0,0325	0,20	1,00	0,20