Ozelito Possidônio de Amarante Junior

**ESTUDO DA DINÂMICA E DESTINO AMBIENTAL DOS FLUIDOS USADOS
NA USINAGEM INDUSTRIAL DE PEÇAS METÁLICAS**

Tese apresentada à Escola de
Engenharia de São Carlos como
parte dos requisitos para a obtenção
do Título de Doutor em Ciências da
Engenharia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Eny Maria Vieira

**São Carlos
2004**

A Maria Lúcia e Ozelito, meus pais.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por providenciar a vida, os ecossistemas complexos em seus equilíbrios, os reinos, a cadeia trófica, a atmosfera, os ambientes físicos, biológicos, culturais, religiosos, as relações humanas e a consciência, para podermos filosofar e vislumbrar tudo isto;

À Profa. Dra. Eny Maria Vieira, pela firme orientação, pela amizade, por nos receber e confiar em nossa capacidade, mesmo sem nos conhecer, pelo direcionamento que deu ao trabalho e pela marca impressa em nossa alma e personalidade: *jamaís seremos os mesmos após passarmos este tempo de convivência com ela*;

À grande amiga e educadora Profa. Dra. Teresa Cristina Rodrigues dos Santos, sua contribuição não se restringe à área profissional, mas seus conselhos nos auxiliaram nos momentos difíceis, estando distante, nos fazendo voltar;

Ao Prof. Dr. Luiz Roberto Takiyama, com quem começamos a jornada na comunidade científica, sua contribuição nos fez ver quão complexa e equilibrada (embora que em um equilíbrio dinâmico) é a interação entre as espécies químicas e entre os seres humanos;

À Profa. Dra. Maria Lúcia Ribeiro, Bilu, por nos acolher em seu laboratório, contribuindo enormemente para nossa formação profissional, bem como por sua amizade e seus conselhos que nos fizeram crescer como pessoa;

Ao Prof. Dr. João Fernando de Oliveira, pela concessão dos fluidos de corte empregados neste estudo e pela parceria com nosso grupo de pesquisa;

Ao Prof. Dr. Edson Rodrigues Filho, pela contribuição, por abrir-nos as portas de seu laboratório para que os ensaios microbiológicos pudessem ser desenvolvidos;

Ao Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice, nosso filósofo, que nos recebeu no seu ninho, nos fazendo perguntas que ninguém pode responder, nos fazendo verter lágrimas que vem de onde ninguém pode localizar, somos mais maduros após conhecê-lo;

Ao Prof. Dr. Emanuel Carrilho, pelos momentos de descontração e pelas aulas de química, equilíbrio, análise instrumental, nos corredores, nos momentos em que estávamos mais abertos para compreender tais conceitos, bem como pelas informações relativas à vida e à política, entre tantas outras que podemos citar;

Ao Prof. Dr. Wagner Luiz Polito, sua contribuição ao nosso entendimento de equilíbrio químico e seu toque em nossa alma, sua voz tranqüila e os conflitos que nos apresentou mudaram nossa visão de mundo;

Ao Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, por me fazer encontrar o que vim buscar, uma nova visão da Química, associada a todos os outros fenômenos que ocorrem na natureza, por me dar a oportunidade de perguntar aos mais diferentes profissionais sua visão do ambiente e da química, e por me expor a esta situação em que meus conhecimentos eram insignificantes;

Ao Prof. Chico Vecchia, por nos mostrar um outro meio de ser educador e por sua amizade;

Ao Prof. Dr. Eduardo Mário Mendiando, coordenador do núcleo de estudos meteorológicos do CRHEA, pelo apoio, pelas lições de recuperação de Bacias Hidrográficas e pelos dados meteorológicos empregados neste estudo;

A todos os outros professores, que seria difícil de enumerar, por contribuírem na grande mudança que ocorreu em tão pouco tempo na nossa vida, mudança que alcançou todas as esferas da nossa pessoa, quer seja profissional quer seja íntima;

A Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo, FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos e pelo fomento à pesquisa;

Ao meu amigo especial, Hugo Luiz Negrini, pelo companheirismo e pela presença no meu coração e na vida, pela amizade, pelo auxílio, pela arte, meu eterno muito obrigado;

Ao grande Amigo, Elvis Preslei Araújo Caldas, sua contribuição com relação a vários aspectos da minha vida, as lições de finanças vão me acompanhar por toda a vida;

A Natilene Mesquita Brito, sua paciência em ouvir-nos, suas caretas, sua discordância, sua colaboração no desenvolvimento de todas as etapas deste trabalho, sua hospitalidade e, acima de tudo, nosso agradecimento por *ser uma cúmplice*, por estar ao nosso lado todo o tempo desta jornada, por seu amor e amizade;

A Alan Duboc Briches Lopes (Osama), por fazer minha amiga Nati feliz, por nos alegrar sempre, por ser tão envolvido com as questões ambientais e por ser nosso amigo;

Ao amigo Romer Pessoa Fernandes, por sua amizade e amor, seu cuidado comigo, sua preocupação e por ser meu segundo pai;

Às amigas maranhenses Érika, Adriana e Delba por todos os momentos divertidos, que suavizaram toda a saudade que sentimos de casa, da família e do Mar;

À amiga Ciclene (ciclone), pelo turbilhão de felicidade, alegrias, correrias, parcerias, cumplicidade, por tudo - tu viraste minha vida de cabeça para baixo, na casa eu fazia isso;

Ao casal de amigos, Kiki e Alan, pela terapia, pelas risadas e pelas vergonhas que os fizemos passar;

Ao grande amigo Celso e sua esposa Bete, por me receberem em sua casa, mesmo sendo tão reservados, por me aceitarem em sua família, por me permitirem conhecê-los de perto, por viajarmos juntos e por nossas conversas sobre tudo;

Ao amigo Ricardo Coelho, por pedir desculpa e licença para tudo, por suas mensagens dos EUA, sua contribuição MUITO CRÍTICA sobre o que escrevemos e sua linda amizade;

Ao recente amigo Cláudio Turene, que é nosso irmãozinho mais novo, cuidar de ti nos tem feito crescer;

A Antônia Queiroz Lima de Souza, por sua enorme contribuição nos testes microbiológicos, por me ensinar a realizar e entender estes experimentos, meu muito obrigado;

A Pazu, por nos ensinar tanto e ativar nossa consciência ecológica, mesmo que por meio de eletrochoques, nos transformando em pessoas mais responsáveis com relação ao ambiente e menos consumistas, pela amizade, pelo respeito, pela aceitação;

Aos amigos do CRHEA, Illona, Ricardo Minotti, Rita, Sebastian, Anelise, Dani (Modna), Daniela, Sabrina, Sandro, Melo (Quem é o Melo?), Érica (mulher do Tubarão), Rinaldinho e Júlia, e todos os outros por sua companhia e amizade, que não se pode pagar;

Aos amigos da Educação Ambiental, Flórida, Iza, Cibele, Gel, Beto (Homem-Lata), Ana Paula (Mulher-Cristal), Gabi (a bruxinha do Candombe), Gui, Karla, AnaLu (mãinha), Rejane, Thaís, Rodrigo, Vicente, Jean, entre tantos outros, por me ensinarem tanto sobre a natureza humana e sobre educação;

Aos meus meninos, Mateus e Rachel, sua compreensão e vontade me ensinaram mais do que eu pude ajudá-los;

Aos técnicos do CRHEA e do IQSC, por sua pronta colaboração sempre que solicitados;

Aos amigos do Maranhão, em especial do NARP, Ícaro, Louise, Paulo Brasil, Roberval, Salvador, do DAQI, entre tantos outros, por sempre nos receberem de volta e por suas constantes mensagens;

À minha família, base para nosso comportamento, nossa educação, o amor e os princípios que nos acompanham sempre – meu agradecimento ao meu pai, por ser o meu pai, às cinco mulheres da minha vida, minha mãe (e minha maior amiga), minhas três irmãs (e minhas eternas protetoras) e minhas sobrinhas (que roubaram o meu lugar de mascote).

"Passagem das Horas"

"Não sei sentir, não sei ser humano,
não sei conviver de dentro da alma triste, com os homens,
meus irmãos na Terra.
Não sei ser útil, mesmo sentindo ser prático, cotidiano, nítido.
Vi todas as coisas e maravilhei-me de tudo,
mas tudo ou sobrou ou foi pouco, não sei qual, e eu sofri.
Eu vivi todas as emoções, todos os pensamentos, todos os gestos.
e fiquei tão triste como se tivesse querido vivê-los e não conseguisse.
Amei e odiei como toda gente,
mas para toda gente isso foi normal e instintivo.
Para mim sempre foi a exceção, o choque, a válvula, o espasmo.
Não sei se a vida é pouco ou demais para mim.
Não sei se sinto demais ou de menos.
Seja como for a vida, de tão interessante que é a todos os momentos,
a vida chega a doer, a enjoar, a cortar, a roçar, a ranger,
a dar vontade de dar pulos, de ficar no chão,
de sair para fora de todas as casas,
de todas as lógicas, de todas as sacadas
e ir ser selvagem entre árvores e esquecimentos."

Álvaro de Campos

“A primeira noite de quem partiu em busca do seu
sonho
É a primeira sem tudo que passou.
A primeira noite na cidade distante do seu quarto
Gera insônias felizes e aflição.
Não só, não. Por que não? Só, por que não?
A primeira noite de quem larga o conforto do previsto
É a primeira sem colo, pai e mãe.
A primeira noite traz na mala o que te restou de
antes
Traz aperto e euforia ao coração.
Não, só, não. Por que não? Só, por que não.”

Oswaldo Montenegro

RESUMO

AMARANTE Junior, O. P. de (2004). *Estudo da dinâmica e destino ambiental dos fluidos usados na usinagem industrial de peças metálicas*. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

Este estudo consistiu na investigação sobre a interação dos lubrificantes empregados na usinagem de metais com a matéria orgânica natural (substâncias húmicas), a sua mobilidade no solo, a degradação microbiológica e a remoção dos mesmos do solo. Realizou-se, também, um estudo sobre as mudanças nas características dos fluidos após a sua utilização. Para o processo de degradação das amostras de fluido, submetidos aos efeitos de diferentes fatores ambientais, foram utilizados quatro tratamentos: (i) microrganismos nativos, chamada amostra controle; (ii) amostra controle com matéria orgânica proveniente de turfa; (iii) amostra controle acrescida de microrganismos existentes nos efluentes de máquinas de corte; e (iv) amostra controle com adição de microrganismos de compostagem. Para a pesquisa da degradação sem o efeito dos parâmetros climáticos, foram utilizadas amostras de solo contaminadas mantendo-se em estufa, e a inoculação dos microrganismos em meios de cultura com e sem acréscimo de fonte alternativa de carbono. Como técnicas analíticas, foram utilizadas a CG-DIC e a CG-EM. Essas técnicas são indicadas tanto para estudar a composição dos fluidos quanto dos produtos de degradação microbiológica, tendo sido otimizados métodos analíticos para serem empregados no monitoramento ambiental e de estudos de degradação. As análises por IVTF e por EF também foram empregadas na identificação e quantificação dos fluidos. Observou-se uma considerável interação dos fluidos solúveis com a matéria orgânica do solo, embora tenham se apresentado com alta mobilidade para alguns constituintes, bem como um acelerado processo de degradação durante o uso. De outro modo, os fluidos insolúveis se apresentaram mais imóveis, ficando retidos na matéria orgânica do solo, entretanto, foram mais prontamente degradados no ambiente que os solúveis. A adição de matéria orgânica e de microrganismos de compostagem acelerou o processo de degradação para todos os fluidos de corte investigados.

Palavras-chave: degradação, microrganismos, fluidos de corte, cromatografia.

ABSTRACT

AMARANTE Junior, O. P. de (2004). *Study of the dynamics and environmental fate of the fluids employed in the metallic tool industrial machining*. PhD Thesis – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

This study is an investigation of the interaction of lubricants employed in metal machining and natural organic matter (humic substances), their mobility in soil, microbial degradation and their removal from the soil. Also, was performed study of changes in characteristic on fluids after their use. On degradation process from fluid samples, contaminated soils submitted to different environment factors, were used four treatments: (i) native microorganisms named control sample; (ii) control sample added by organic matter from peat; (iii) control sample added by microorganisms existing in flowing out from cutting machines; and (iv) control sample with addition of microorganisms from composting. For degradation research by no effect from climate parameters were used sample of contaminated soil been investigated in stove and microorganisms inoculation in culture mean with and without addition of alternative carbon source. As analytical techniques were used GC-FID and GG-MS. These techniques are both indicated for fluid composition studies and microbial degradation product. Analytic methods had been optimized to be employed on environmental monitoring and degradation studies. The FTIR and espectrofluorimetric methods were used for the fluid identification and quantification. Were observed a notable interaction between soluble fluids and soil organic matter, thought it had been verified high mobility for some compounds as well an accelerated process of degradation during their use. Otherwise, insoluble fluids were more immobile been restrained in soil organic matter, nevertheless, were readily degraded in environment than soluble ones. Organic matter and composting microorganisms' addition accelerated the degradation process for all cutting fluids investigated.

Key-words: degradation, microorganisms, cutting fluids, chromatography.

LISTA DE FIGURAS

p.

FIGURA 1.1 - Usinagem de metal empregando fluido de corte para refrigeração e lubrificação	22
FIGURA 1.2 – Etapas do trabalho com fluidos de corte, inserindo-se a degradação após a utilização	24
FIGURA 3.1 – Dinâmica dos óleos no ambiente	32
FIGURA 3.2 – Principais métodos de extração empregados para posterior análise cromatográfica de compostos orgânicos para matrizes líquidas	43
FIGURA 3.3 – Escolha do método de separação de acordo com as características do analito	45
FIGURA 5.1 – Aspecto dos fluidos de corte empregados neste estudo	74
FIGURA 5.2 – Cromatograma obtido para o fluido A, dissolvendo-se 100 µL deste em 1 mL de metanol	75
FIGURA 5.3 – Cromatogramas obtidos para o fluido B, dissolvendo-se 100 µL deste em 1 mL do solvente: (A) n-hexano, (B) diclorometano, (C) metanol	76
FIGURA 5.4 – Cromatogramas obtidos para o fluido B, dissolvendo-se 100 µL deste em 1 mL do solvente (A) n-hexano, (B) diclorometano	77
FIGURA 5.5 – Cromatograma obtido para o fluido D, dissolvendo-se 100 µL deste em 1 mL de n-hexano	77
FIGURA 5.6 – Cromatograma obtido para o fluido E, dissolvendo-se 100 µL deste em 1 mL de n-hexano	77
FIGURA 5.7 – Cromatograma obtido para o fluido F, dissolvendo-se 100 µL deste em 1 mL de n-hexano	78
FIGURA 5.8 – Cromatograma obtido para o fluido G, dissolvendo-se 100 µL deste em 1 mL de n-hexano	78
FIGURA 5.9 – Espectros de IVTF para os fluidos A, B e C	80
FIGURA 5.10 – Espectros de IVTF para os fluidos D, E, F e G	81
FIGURA 5.11 – Espectros de fluorescência do fluido A, obtidos para diferentes comprimentos de onda de excitação (310, 380 e 410 nm)	83
FIGURA 5.12 – Espectros de fluorescência do fluido B, obtidos para diferentes comprimentos de onda de excitação (310, 380 e 410 nm)	84
FIGURA 5.13 – Espectros de fluorescência do fluido C, obtidos para diferentes comprimentos de onda de excitação (310, 380 e 410 nm)	84
FIGURA 5.14 – Espectros de fluorescência dos fluidos D, E, F e G excitados em 310 nm	85
FIGURA 5.15 – Espectros de fluorescência dos fluidos D, E, F e G após excitação em 380 nm	86
FIGURA 5.16 – Espectros de fluorescência dos fluidos D, E, F e G excitados em 410 nm	86
FIGURA 5.17 – Espectros de fluorescência obtidos para os fluidos investigados, após excitação em 250 nm	87
FIGURA 5.18 – Espectro de fluorescência 3-D dos fluidos A e B	88

FIGURA 5.19 – Espectro de fluorescência 3-D do fluido C	88
FIGURA 5.20 – Espectros de fluorescência 3-D dos fluidos D, E, F e G	89
FIGURA 6.1 – Localização da represa do Ribeirão do Lobo	93
FIGURA 6.2 – Cromatograma obtido para análise do fluido denominado “A” na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	95
FIGURA 6.3 – Cromatograma obtido para análise do fluido denominado “B” na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	96
FIGURA 6.4 – Cromatograma obtido para análise do fluido denominado “C” na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	96
FIGURA 6.5 – Cromatograma obtido para análise do fluido denominado “D” na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	96
FIGURA 6.6 – Cromatograma obtido para análise do fluido denominado “E” na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	97
FIGURA 6.7 – Cromatograma obtido para análise do fluido denominado “F” na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	97
FIGURA 6.8 – Cromatograma obtido para análise do fluido denominado “G” na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	97
FIGURA 6.9 – Cromatograma obtido para análise de amostra de água do córrego Água Clara (Itirapina, SP), injetando-se 1 μL em sistema CG-DIC nas condições descritas	98
FIGURA 6.10 – Curva analítica obtida para o fluido A	99
FIGURA 6.11 – Curva analítica obtida para o fluido B	99
FIGURA 6.12 – Curva analítica obtida para o fluido C	100
FIGURA 6.13 – Curva analítica obtida para o fluido D	100
FIGURA 6.14 – Curva analítica obtida para o fluido E	101
FIGURA 6.15 – Curva analítica obtida para o fluido F	101
FIGURA 6.16 – Curva analítica obtida para o fluido G	102
FIGURA 6.17 – Cromatograma obtido para a análise de amostra de água pluvial após lavagem de rodovia (Itirapina, SP)	104
FIGURA 6.18 - Cromatograma obtido para a análise de amostra de solo das proximidades da represa do Ribeirão do Lobo (Itirapina, SP)	104
FIGURA 7.1 – Resultado do teste de mobilidade realizado em coluna com solo	111
FIGURA 7.2 – Resultado do teste de mobilidade realizado em coluna com solo após adição de turfa	112
FIGURA 8.1 – Equipamento empregado no estudo de interação	117
FIGURA 8.2 – Curva analítica obtida para o fluido A. Excitação em 270 nm e emissão em 540 nm	118
FIGURA 8.3 – Curva analítica obtida para o fluido B. Excitação em 250 nm e emissão em 490 nm	118
FIGURA 8.4 – Curva analítica obtida para o fluido C. Excitação em 250 nm e emissão em 350 nm	119

FIGURA 8.5 – Isotermas de adsorção obtidas para cada fluido após 24 h de interação com AH de turfa	120
FIGURA 9.1 – Espectro de fluorescência para fluido vegetal novo (1) e após seis meses de uso (2)	123
FIGURA 9.2 – Espectro de fluorescência para fluido sintético novo (1) e após seis meses de uso (2)	123
FIGURA 9.3 – Espectro de fluorescência para fluido semi-sintético novo (1) e após seis meses de uso (2)	124
FIGURA 9.4 – Espectro de fluorescência para fluido mineral novo (1) e após seis meses de uso (2)	124
FIGURA 9.5 – Espectro de IVTF para fluido A novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho)	125
FIGURA 9.6 – Espectro de IVTF para fluido B novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho)	125
FIGURA 9.7 – Espectro de IVTF para fluido C novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho)	126
FIGURA 9.8 – Espectro de IVTF para fluido F novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho)	126
FIGURA 9.9 – Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “A” novo (A) e após seis meses de uso (B)	128
FIGURA 9.10 – Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “B” novo (A) e após seis meses de uso (B)	129
FIGURA 9.11 – Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “C” novo (A) e após seis meses de uso (B)	129
FIGURA 9.12 – Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “F” novo (A) e após seis meses de uso (B)	130
FIGURA 10.1 – Reator empregado para a degradação fotocatalítica	134
FIGURA 10.2 – Fotodegradação catalisada por TiO_2 em pH 4,0 em função do tempo de irradiação, sob luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$) e em atmosfera de oxigênio, com agitação constante	135
FIGURA 10.3 – Fotodegradação catalisada por TiO_2 em pH 11,0 em função do tempo de irradiação. Luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$) e em atmosfera de oxigênio e agitação constante	136
FIGURA 10.4 – Fotodegradação dos óleos em pH 8,0 em função do tempo de irradiação, luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$) sob agitação e atmosfera de oxigênio. Catalisador em suspensão: TiO_2	137
FIGURA 10.5 – Fotodegradação catalisada por TiO_2 dos óleos em valores distintos de pH, após 4 h de irradiação sob luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$), e em atmosfera de oxigênio, com agitação constante ...	138
FIGURA 10.6 – Grau de dissociação da superfície de TiO_2 em função do pH do meio, destacando-se as faixas de predominância de cada uma de suas formas	139
FIGURA 11.1 – Reatores e esquema de montagem do experimento de degradação	146
FIGURA 11.2 – Degradação do fluido A em função do tempo de exposição às intempéries	148
FIGURA 11.3 – Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido A: solo contaminado (A) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias	148

FIGURA 11.4 – Degradação do fluido B em função do tempo de exposição às intempéries	150
FIGURA 11.5 – Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido B: solo contaminado (A) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias	151
FIGURA 11.6 – Degradação do fluido C em função do tempo de exposição às intempéries	152
FIGURA 11.7 – Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido C: solo contaminado (A) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias	152
FIGURA 11.8 – Degradação do fluido D em função do tempo de exposição às intempéries	154
FIGURA 11.9 – Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido D: solo contaminado (A) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias	154
FIGURA 11.10 – Degradação do fluido E em função do tempo de exposição às intempéries	155
FIGURA 11.11 – Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido E: solo contaminado (A) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias	156
FIGURA 11.12 – Degradação do fluido F em função do tempo de exposição às intempéries	157
FIGURA 11.13 – Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido F: solo contaminado (A) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias	158
FIGURA 11.14 – Degradação do fluido G em função do tempo de exposição às intempéries	159
FIGURA 11.15 – Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido G: solo contaminado (A) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias	160
FIGURA 11.16 – Resultado da análise estatística para os tratamentos	162
FIGURA 11.17 – Resultado da análise estatística para os óleos	162
FIGURA 11.18 – Radiação solar na região onde o estudo foi realizado	163
FIGURA 11.19 – Precipitação na região onde o estudo foi realizado	164
FIGURA 11.20 – Umidade relativa do ar na região onde o estudo foi realizado	164
FIGURA 11.21 – Temperatura do ar na região onde o estudo foi realizado ..	165
FIGURA 11.22 – Temperatura do solo na região onde o estudo foi realizado	165
FIGURA 11.23 – Percentual remanescente de cada fluido após 30 dias de degradação em estufa a 20°C	166
FIGURA 12.1 – Esquema de diluições e inoculação	171
FIGURA 12.2 – Meios de cultura contendo o fluido A sem a adição de fonte alternativa de carbono (A) e com batata e dextrose (B)	172
FIGURA 12.3 – Meios de cultura contendo o fluido B sem a adição de fonte alternativa de carbono (A) e com batata e dextrose (B)	172
FIGURA 12.4 – Meios de cultura contendo o fluido C sem a adição de fonte alternativa de carbono (A) e com batata e dextrose (B)	172
FIGURA 12.5 – Meios de cultura contendo o fluido D sem a adição de fonte alternativa de carbono (A) e com batata e dextrose (B)	173

FIGURA 12.6 – Meios de cultura contendo o fluido E sem a adição de fonte alternativa de carbono (A) e com batata e dextrose (B)	173
FIGURA 12.7 – Meios de cultura contendo o fluido F sem a adição de fonte alternativa de carbono (A) e com batata e dextrose (B)	174
FIGURA 12.8 – Meios de cultura contendo o fluido G sem a adição de fonte alternativa de carbono (A) e com batata e dextrose (B)	174

LISTA DE TABELAS

	p.
TABELA 1.1 – Mercado de lubrificantes sintéticos	25
TABELA 3.1 – Tratamentos da amostra e técnicas cromatográficas empregadas	40
TABELA 4.1 – Fontes de poluição do solo e das águas subterrâneas e superficiais	53
TABELA 4.2 – Classificação nutricional dos microrganismos	59
TABELA 4.3 – Técnicas de tratamento por biorremediação	62
TABELA 4.4 – Estudos de biodegradação de óleos <i>in situ</i> ou <i>in vitro</i>	67
TABELA 5.1 – Aditivos usados em fluidos de corte	70
TABELA 5.2 – Denominação dada a cada amostra de fluido de corte, sua natureza e solubilidade	73
TABELA 5.3 – Frações obtidas para cada fluido de corte estudado	74
TABELA 5.4 – Componentes dos fluidos estudados	78
TABELA 5.5 – Atribuições de bandas de absorção na região do IV	82
TABELA 6.1 – Recuperações e coeficientes de variação obtidos para a análise dos diferentes fluidos de corte em amostras de solo e água	103
TABELA 6.2 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos	103
TABELA 7.1 – Propriedades químicas do solo	109
TABELA 8.1 – Classificação da adsorção	116
TABELA 9.1 – Atribuições de bandas de absorção na região IV	127
TABELA 11.1 – Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido A ...	149
TABELA 11.2 – Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido B ...	151
TABELA 11.3 – Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido C ..	153
TABELA 11.4 – Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido D ..	155
TABELA 11.5 – Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido E ...	156
TABELA 11.6 – Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido F ...	158
TABELA 11.7 – Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido G ..	160

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANP	Agência Nacional de Petróleo
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CFSC	Cromatografia de Fluido Super-crítico
CG	Cromatografia Gasosa
CGAR	Cromatografia Gasosa de Alta Resolução
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COT	Carbono Orgânico Total
COV	Compostos Orgânicos Voláteis
DIC	Detector de Ionização em Chama
DIN	Deutsche Norm
DMSP	Dispositivos de Membrana Semi-permeável
DNF	Detector de Nitrogênio e Fósforo
EF	Espectrofluorimetria
EFS	Extração em Fase Sólida
EFUV	Espectrofluorimetria na região do Ultravioleta
EIV	Espectroscopia de Infra-vermelho
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EM	Espectrometria de Massas
EP	Extrema pressão
ESD	<i>Emergences Science Division of Environment Canada</i>
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i> (Análise por Injeção em Fluxo).
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
IVTF	Infravermelho com Transformada de Fourier
HPA	Hidrocarbonetos Poli-aromáticos
HS	Hidrocarbonetos Saturados
IVTF	Infravermelho com Transformada de Fourier
MEFS	Micro-extração em Fase Sólida
MOE	Material Orgânico Extraível
NBR	Normas Brasileiras Registradas
NETAC	<i>National Environmental Technology Application Centre</i>
NOAA	<i>Atmospheric Administration</i>
NUMA	Núcleo de Manufatura Avançada
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
UV	Ultra-violeta

SUMÁRIO

	p.
PARTE I	
INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	
1	20
2	28
2.1	28
2.2	28
PARTE II	
REVISÃO DA LITERATURA	
3	29
3.1	29
3.1.1	30
3.1.2	31
3.2	36
3.2.1	37
3.2.2	38
3.3	39
3.3.1	42
3.3.2	44
3.4	50
4	52
4.1	52
4.2	56
4.3	60
4.3.1	61
4.3.2	63
4.3.3	64
4.4	68
PARTE III	
PARTE EXPERIMENTAL	
5	69
5.1	69
5.2	72
5.2.1	72
5.2.2	72
5.2.3	73
5.2.4	73
5.3	74
5.4	90
6	91
6.1	91
6.2	92
6.2.1	92
6.2.2	92
6.2.2.1	93
6.2.2.2	94
6.3	95

6.4	CONCLUSÕES	105
7	ESTUDO DA MOBILIDADE DE FLUIDOS DE CORTE EM AMOSTRAS DE SOLO	106
7.1	INTRODUÇÃO	106
7.2	MATERIAIS E MÉTODOS	107
7.2.1	Reagentes e amostra	107
7.2.2	Sistema cromatográfico	108
7.2.3	Estudo da mobilidade	108
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	109
7.4	CONCLUSÃO	112
8	INTERAÇÃO ENTRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS PROVENIENTES DE TURFA E FLUIDOS DE CORTE SOLÚVEIS DETERMINADA POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA	114
8.1	INTRODUÇÃO	114
8.2	MATERIAIS E MÉTODOS	116
8.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	117
8.4	CONCLUSÕES	120
9	DEGRADAÇÃO DE FLUIDOS DE CORTE DURANTE O USO NA USINAGEM DE METAIS	121
9.1	INTRODUÇÃO	121
9.2	MATERIAIS E MÉTODOS	122
9.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	122
9.4	CONCLUSÕES	131
10	FOTODEGRADAÇÃO DE FLUIDOS DE CORTE SOLÚVEIS OU EMULSIONÁVEIS EMPREGANDO TiO ₂	132
10.1	INTRODUÇÃO	132
10.2	MATERIAL E MÉTODOS	133
10.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	134
10.4	CONCLUSÕES	140
11	DEGRADAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE FLUIDOS DE CORTE EM AMOSTRAS DE SOLO	141
11.1	INTRODUÇÃO	141
11.2	MATERIAIS E MÉTODOS	145
11.2.1	Reagentes e amostras	147
11.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	147
11.4	CONCLUSÕES	167
12	ESTUDO DOS MICRORGANISMOS DE SOLO ENVOLVIDOS NA DEGRADAÇÃO DOS FLUIDOS	168
12.1	INTRODUÇÃO	168
12.2	MATERIAL E MÉTODOS	170
12.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	171
12.4	CONCLUSÕES	174
PARTE IV	CONSIDERAÇÕES FINAIS, REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS E ANEXOS	
13	CONSIDERAÇÕES FINAIS	176
14	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	179
	ANEXOS	180
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	190

1 - INTRODUÇÃO

Os fluidos industriais de usinagem, também conhecidos como fluidos de corte, são divididos basicamente em três tipos: óleos de corte, fluidos miscíveis em água e, por último, gases (ASM, 1984), sendo que os dois primeiros são os mais utilizados (BOOTHROYD *et al.*, 1989).

Uma usinagem sem fluido seria o processo mais apropriado pelo fato de representar um custo de produção menor, não seriam necessários um sistema de refrigeração, nem trocas periódicas e reciclagem dos fluidos, além disto, não causaria impacto ambiental (KLOCKE *et al.*, 1997).

Entretanto, os fluidos de corte são muito utilizados nas operações de usinagem por apresentarem vários benefícios no decorrer da operação, tais como: refrigeração da região de corte em altas velocidades e altas tensões de corte, melhora da vida útil da ferramenta, do acabamento superficial e da acuracidade dimensional da peça, auxílio na quebra e no transporte do cavaco, proteção da máquina (e ferramenta) contra ferrugem, além de lubrificar a região de corte (KLOCKE *et al.*, 1997).

Os óleos de corte são predominantemente óleos minerais, podendo ser utilizados totalmente puros (sem mistura) ou combinados (com aditivos). Eles apresentam excelentes propriedades lubrificantes, bom controle da ferrugem, vida longa, mas não resfriam tão bem quanto os fluidos miscíveis em água. Isto devido ao fato de que, nas misturas com água, é ela quem refrigera a região de corte devido à sua alta capacidade calorífica. Alguns tipos de óleos de corte são: óleos minerais, óleos graxos, combinação de óleo mineral e óleo graxo, combinação de óleo mineral e óleo graxo sulfurado, combinação de óleo mineral e parafina clorada, entre outros.

Os fluidos miscíveis em água são constituídos de óleos minerais misturados com emulsificantes e são utilizados para operações de usinagem de alta velocidade por apresentarem melhor capacidade de refrigeração. Como exemplos destes fluidos, têm-se vários tipos de emulsões, fluidos sintéticos e fluidos semi-sintéticos. Os fluidos sintéticos têm sido desenvolvidos no sentido de se evitar o uso de hidrocarbonetos de petróleo, apresentando melhor lubricidade, capacidade térmica e maior tempo de vida útil (JAIN & SHUKLA, 1997).

O ar é o mais comum dos fluidos gasosos, uma vez que está presente à pressão atmosférica para operações secas ou quando fluidos líquidos estão sendo utilizados. O ar pode ser comprimido a fim de melhorar sua capacidade de refrigeração, no entanto, seu uso não é muito atrativo quando comparado aos líquidos empregados para este fim (KLOCKE *et al.*, 1997).

Estão disponíveis no mercado um grande número de fluidos de corte, sendo que alguns oferecem certa versatilidade enquanto outros são elaborados para aplicações específicas. Cabe ao operador da máquina selecionar o mais adequado aos seus interesses (EL BARADIE, 1996). Assim, na maioria das vezes, os parâmetros envolvidos nesta escolha não incluem os benefícios ambientais, mas vislumbra apenas as características associadas à atividade a ser executada. Um exemplo de usinagem empregando fluido de corte pode ser observado na Figura 1.1.

FIGURA 1.1. - Usinagem de metal empregando fluido de corte para refrigeração e lubrificação.

No intuito de melhorar o desempenho dos fluidos são acrescentados a eles alguns aditivos, que apresentam as funções de reduzir a energia do plano de cisalhamento e a fricção na superfície de saída da ferramenta, bem como de melhorar o controle do cavaco e aumentar a dureza a quente da peça. Os principais tipos de aditivos são: antiespumantes, anticorrosivos, detergentes, emulgadores, biocidas e aditivos de extrema pressão (EP), para operações que utilizam altas forças de corte (VIEIRA, 1997).

O resíduo, contendo óleo, água e partículas de metal, é disposto em um reservatório acoplado à máquina de usinagem. O sobrenadante (fase oleosa) é reutilizado até o momento em que seu desempenho seja considerado inadequado para a finalidade proposta. Em seguida, este resíduo deve ser descartado de forma a não agredir o meio ambiente.

Nas últimas décadas, a indústria vem modificando sua postura com relação à questão ambiental. A poluição e os resíduos podem ser associados

ao fato dos recursos terem sido utilizados de maneira incompleta, ineficiente ou ineficaz (OWEN,1998). Com isso, a indústria ecológica vem otimizando todo o ciclo industrial, da matéria-prima ao produto acabado e ao último resíduo (MOSLEY, 1994).

Nas operações de usinagem convencional, o maior risco ambiental é devido ao uso dos fluidos de corte. A exposição direta do operário de produção a estes fluidos pode causar doenças de pele, respiratórias (em determinados casos pode ocorrer nebulização do fluido) e ao aumento de risco de alguns tipos de câncer (TOLBERT *et al.*, 1992, SCHROEEDER, *et al.*, 1997, YOUNG *et al.*, 1997).

Como forma de adaptação às novas legislações ambientais, constata-se uma grande necessidade de modificação da tradicional composição dos fluidos de usinagem, de forma que apresentem o mesmo desempenho dos fluidos comuns, mas causem menos danos à saúde humana e ao ambiente.

Para amenizar os problemas de contaminação ambiental, causada pela disposição incorreta dos rejeitos gerados durante a usinagem quando se utilizam os fluidos comumente empregados, é freqüente a promoção da degradação destes compostos. Uma das maneiras de degradação de óleos é por meio de microrganismos. Esta degradação mostra-se interessante para que se tenha um menor impacto quando da disposição dos efluentes advindos da indústria mecânica (Figura 1.2).

FIGURA 1.2. - Etapas do trabalho com fluidos de corte, inserindo-se a degradação após a utilização.

Os fluidos de usinagem são compostos de óleos minerais que são divididos nas frações: destilados leves, médios e pesados. Estudos indicam que destilados médios, por exemplo, podem ser degradados em até 96 a 98% da concentração inicial em laboratório, mostrando a possibilidade de remoção de tais poluentes. Os óleos de corte também podem ser constituídos de óleo vegeto-animal ou de fluidos sintéticos. Os principais lubrificantes sintéticos e seus percentuais no mercado de fluidos de usinagem são apresentados na Tabela 1.1.

TABELA 1.1 – Mercado de lubrificantes sintéticos (TEXACO, 1986).

Tipo de lubrificante		Percentual de mercado
Hidrocarbonetos	Alquilaromáticos	5%
	Polialifáticos	35%
Poliglicóis		33%
Ésteres		8%
	Poliésteres	12%
Ésteres fosfatados		5%
Outros		2%

Pesquisadores estudaram a degradação de óleos combustíveis e constataram que os cicloalifáticos são os principais componentes da fração saturada e os aromáticos sulfurosos policíclicos são os principais componentes da fração aromática (RIIS *et al.*, 1996).

A *Emergencies Science Division (ESD) of Environment Canada*, a *US National Oceanographic* e a *Atmospheric Administration (NOAA)*, têm feito de forma independente testes de óleos e produtos de petróleo para determinar a sua biodegradação. Os testes padronizados de laboratório podem produzir dados quantitativos sobre os componentes de óleos e grupos funcionais, os quais são mais susceptíveis ou resistentes à degradação.

A *ESD* e o *National Environmental Technology Application Centre (NETAC)* têm estudado, em laboratórios, a biodegradação de óleos crus. O *Environment Canada* utiliza, na pesquisa de biodegradação, a inoculação com microrganismos de água doce, enquanto que a *NOAA* aplica, geralmente, o protocolo de incubação utilizando água do mar (BORONI *et al.* 1997).

A utilização de microrganismos para degradar moléculas orgânicas que são consideradas poluidoras do meio ambiente é chamada de biorremediação. A biorremediação é uma técnica de interesse mundial, pois pode ser considerada uma potencial opção de descontaminação de áreas inacessíveis ou sensíveis. Porém, ela é considerada como sendo uma técnica de descontaminação opcional, podendo ser eleita como medida a ser tomada pelos responsáveis em solucionar problemas de derramamentos de óleo. Desta forma, é essencial saber se o óleo derramado no meio ambiente é susceptível à degradação.

A biorremediação se baseia na habilidade que alguns microrganismos apresentam em degradar óleos e seus produtos. Os métodos que podem ser aplicados estão relacionados à ativação da microflora original e na biorreparação.

A diversidade da composição química de óleos, juntamente com a variabilidade das condições climáticas e outros fatores ambientais (umidade, fosfato disponível, fonte de nitrogênio e potássio, pH do meio, entre outros) são fatores importantes que devem ser considerados para que o uso da biorremediação microbiana seja eficiente.

Os óleos minerais são principalmente compostos por hidrocarbonetos (BORONI *et al.* 1997). Os hidrocarbonetos são compostos hidrofóbicos de difícil degradação por não apresentarem muita disponibilidade para os microrganismos. A biodisponibilidade de um composto químico durante a biorremediação é determinada pela taxa de transferência de massa para a atividade da célula microbiana.

Diferentes atividades microbianas de compostos hidrofóbicos podem provocar diferentes mecanismos. Existem três mecanismos pelos quais os hidrocarbonetos são transportados para as células microbianas (CHOI *et al.*, 1999):

- interação da célula com o hidrocarboneto dissolvido na fase aquosa;
- contato direto da célula com gotas (ou partículas) de hidrocarbonetos consideradas maiores que as células;
- interação da célula com hidrocarboneto solubilizado, pseudosolubilizado ou transformados em moléculas muito menores do que a célula (microrganismo).

No primeiro caso, a taxa de crescimento de microrganismos observada na degradação de cadeias longas de alcanos é pequena devido à baixa solubilidade destas substâncias.

No segundo caso, as células microbianas ligam-se à superfície das gotas de óleo e fixam o hidrocarboneto por difusão ou transporte ativo. A área

superficial disponível destas gotas de óleo e a hidrofobicidade da superfície da célula são fatores de extrema importância pelo fato da fixação dos microrganismos ser o fator responsável pela degradação dos hidrocarbonetos.

No terceiro caso, as partículas de hidrocarbonetos podem se fixar em toda a superfície do microrganismo e a capacidade de dispersão destes organismos é de fundamental importância para a degradação do óleo. Quando é considerada a biodegradação de óleo cru, a alta interação destes componentes com os microrganismos é responsável por uma alta concentração na fase aquosa. Então, a abundante população microbiana se responsabiliza pela distribuição no próprio ambiente, fazendo com que os componentes do óleo sejam aprisionados nas partículas do solo ou na fase aquosa.

Nestas condições, o efeito da solubilização de hidrocarbonetos pode ser restrita à existência da matriz oleosa e à fixação de microrganismos na superfície do óleo, fazendo com que o contato direto das células com estes poluentes seja de primordial importância na biorremediação de áreas contaminadas (CHOI *et al.* 1999, GIBSON 1997).

Cabe, ainda, lembrar que uma das maiores dificuldades quando se investiga processos de biodegradação de contaminantes orgânicos, em especial de produtos de petróleo, é o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos, exatos e precisos (ERIKSSON *et al.*, 1998). Sendo necessário o estudo destes métodos e sua otimização antes de se iniciarem os estudos de degradação do poluente de interesse.

2 -OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

Investigar a dinâmica de fluidos de corte em águas e solo, estudando a biodegradabilidade destes poluentes.

2.2 - Objetivos Específicos

- Desenvolver e otimizar método empregando a cromatografia gasosa com detector de ionização de chama e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para determinar o grau de degradação dos óleos em estudo.
- Estudar a dinâmica de alguns fluidos de usinagem existentes no mercado frente à ação das variáveis ambientais.
- Verificar as modificações sofridas pelos fluidos de corte durante a usinagem de peças metálicas, no intuito de avaliar a degradação durante sua utilização.
- Estudar a ação dos microrganismos *in vitro* sobre os lubrificantes em estudo.
- Estudar a degradação fotocatalítica dos lubrificantes solúveis em água.
- Propor um método de descarte apropriado para os fluidos após serem utilizados.

3 – DINÂMICA E DESTINO DE ÓLEOS NO AMBIENTE

3.1 - INTRODUÇÃO

Os óleos são misturas de substâncias que vão desde alcanos bastante simples até compostos mais complexos como os asfaltenos (ROQUES *et al.*, 1994; RAO, 2002). A preocupação quanto à constituição dos óleos minerais deve-se ao fato dos efeitos que podem apresentar ao ambiente e à saúde. A exposição direta de operários a óleos minerais, por exemplo, pode causar doenças de pele, respiratórias e aumento de risco de alguns tipos de câncer (TOLBERT *et al.*, 1992; SCHROEEDER, *et al.*, 1997; YOUNG *et al.*, 1997). A correta identificação dos constituintes dos produtos de petróleo em um derramamento e sua relação com sua fonte é importante na resolução de conflitos ambientais, uma vez que define a fonte da poluição e, conseqüentemente, a responsabilidade legal (WANG *et al.*, 1999).

Diversos produtos são obtidos a partir do petróleo. Entretanto, os combustíveis e lubrificantes são de especial relevância devido ao grande volume que é produzido, transportado e consumido anualmente. Estima-se uma produção anual entre 250.000 e 300.000 m³ apenas de lubrificantes, dos quais, após o uso, a maior parte é descartada deliberadamente em solos e águas superficiais (ÓLEO LUBRIFICANTE USADO, *on line*, 2001). Embora os combustíveis não sejam descartados após o uso, visto que são queimados, podem produzir diversos poluentes atmosféricos, bem como atingir diretamente os solos e mananciais por vazamentos em postos de abastecimento, por acidentes durante o transporte e armazenamento. Como exemplo do efeito destes poluentes, pode-se citar que um litro de óleo derramado sobre um corpo aquático produz um filme de alguns micrômetros de espessura sobre a

superfície da água que cobre uma área de 1.000 m². Este filme impede a oxigenação e diminui a entrada de luz solar, impedindo o desenvolvimento da vida aquática. Deste modo, o descarte de tais produtos se mostra um problema. A incineração de lubrificantes usados não resolve o problema uma vez que lança para a atmosfera metais pesados e dioxinas (potencialmente cancerígenos) alcançando grandes distâncias da localidade onde são produzidos (ÓLEO LUBRIFICANTE USADO, *on line*, 2001; AMARANTE Jr. *et al.*, 2003). Além disto, este método de tratamento apresenta elevado custo em equipamentos e mão-de-obra, sendo mais adequado o emprego de processos biológicos para este fim (GREER *et al.*, 2003).

O destino e dinâmica dos constituintes de óleos ou de produtos de petróleo no ambiente são dependentes de diversos fatores físicos, químicos, físico-químicos e biológicos, tais como evaporação, dissolução, emulsificação, biodegradação, foto-oxidação, adsorção e dessorção, entre outros. A combinação destes fatores é chamada de “envelhecimento” e é responsável pela diminuição da concentração dos hidrocarbonetos ou outros constituintes nos solos, águas e sedimentos, alterando a composição química dos produtos derramados. As mudanças ocorridas na composição dos óleos derramados têm um efeito pronunciado na toxicidade e nos impactos causados ao longo do tempo (WANG *et al.*, 1999). Devido aos efeitos à saúde e aos ecossistemas, aos distintos fenômenos associados aos derramamentos e à dinâmica dos constituintes no ambiente, faz-se necessária uma avaliação destes fenômenos o que auxiliará o entendimento dos processos, proporcionando subsídios aos programas de tratamento de ambientes contaminados.

3.1.1 - Aporte no ambiente

A poluição marítima por hidrocarbonetos de petróleo são de extrema importância ambiental e econômica (OUDOT *et al.*, 1998), podendo se citar diversas fontes, quais sejam: (i) atividades de transporte, tais como operações com navios, acidentes com petroleiros e despejos de lastro, por exemplo, que correspondem a 23,5% da entrada destes compostos no ambiente marinho; (ii)

instalações fixas, como refinarias costeiras, explorações em plataformas, terminais portuários, entre outras (7,6% do aporte total de hidrocarbonetos); (iii) fontes naturais, como a lixiviação de rochas (erosão no fundo do mar) (10,6%); (iv) transferência de poluição atmosférica, através de precipitação seca ou úmida (12,7%); (v) outras fontes, tais como descargas urbanas e industriais, bem como a lixiviação e carreamento dos óleos depositados ou descartados em solos e estradas (45,6%) (CLARK *apud* FERNANDES, 2001). Estima-se que entre 1,7 e 8,8 milhões de toneladas de hidrocarbonetos de petróleo entrem no ambiente marinho anualmente (FERNANDES, 2001), afetando tanto o mar quanto os estuários (GREER *et al.*, 2003).

O aporte de óleos em solo ou águas continentais pode se dar por derramamentos, quer sejam acidentais quer criminosos, pela disposição ilegal de óleo usado, por exemplo; ou por precipitação úmida (chuva, neblina, neve, etc) ou seca (poeira) após terem sido volatilizados e transportados até mesmo por longas distâncias; por problemas no armazenamento, transporte ou manuseio; entre outros. Devido à grande quantidade de hidrocarbonetos e de outros compostos que é disposta anualmente no ambiente, seus efeitos tóxicos e suas diversas características (NASH *et al.*, 1996), faz-se necessário estudar sua dinâmica e destino final.

3.1.2 - Dinâmica e destino

A dinâmica dos óleos no ambiente é apresentada na Figura 3.1. Os hidrocarbonetos de petróleo são, geralmente, misturas complexas, podendo conter milhares de substâncias, em diferentes proporções. A contaminação pode apresentar-se de forma diversificada de acordo com o tipo de solo, os parâmetros climáticos, a origem do petróleo, a composição da mistura, o grau de processamento (se o óleo é cru, se misturado ou refinado) e a degradabilidade quando exposto ao ambiente (AMARANTE Jr. *et al.*, 2003). É importante ressaltar que, embora a maior concentração de hidrocarbonetos encontrada no ambiente atualmente seja proveniente de atividades humanas, existe uma produção natural de tais compostos por alguns organismos, como em sedimentos anóxicos (MORASCH *et al.*, 2001). Os hidrocarbonetos

alifáticos são menos persistentes que os aromáticos, sendo mais prontamente degradados por ação de elementos físicos, químicos e biológicos (KRAHN *et al.*, 1993).

FIGURA 3.1. Dinâmica dos óleos no ambiente (adaptada de TRETT, 1989).

Os óleos presentes na água podem ocasionar diversos efeitos indesejáveis, dos quais pode-se destacar a formação de filmes sobre a superfície da água, que pode diminuir a penetração da luz, a concentração de oxigênio dissolvido, entre outras. Outros problemas causados pelos hidrocarbonetos podem ser destacados: o risco de incêndio e explosão, dependendo da quantidade de vapor produzida e do seu confinamento; a toxicidade dos componentes, problemas de modificação das características organolépticas da água, como mudanças de cor, odor e sabor, as mudanças nas características do solo, interferindo na retenção e permeação de água e,

conseqüentemente, no transporte de nutrientes, entre outros. Cabe ressaltar que compostos mais leves (menor massa molar) apresentam geralmente certa volatilidade, podendo ser transportados por vias aéreas a grandes distâncias, enquanto compostos mais pesados (maior massa molar) e com cadeias mais ramificadas persistem por mais tempo no ambiente (PADRÕES NACIONAIS CANADENSES..., *on line*, 2001).

Observa-se que, uma vez no solo, estes compostos podem ser adsorvidos, principalmente pela fração argilosa, a qual apresenta menor granulometria e grande quantidade de matéria orgânica. Os componentes orgânicos do solo, em especial as substâncias húmicas, têm sido relatados como bons adsorventes de compostos hidrofóbicos (ARAÚJO *et al.*, 2004). Compostos adsorvidos podem apresentar menor biodisponibilidade e não serem degradados por via biológica (GRAY *et al.*, 2000). Apesar da adsorção destes compostos no solo, parâmetros climáticos ou a baixa concentração de matéria orgânica no solo pode favorecer a dessorção e conseqüente lixiviação e carreamento destes óleos, transportando-os através dos diferentes horizontes do solo, atingindo os lençóis subterrâneos ou os rios e lagos. A contaminação de águas superficiais ou de lençóis subterrâneos é um grave problema devido à toxicidade destes compostos (LANGWALDT & PUHAKKA, 2000). Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xileno (BTEX) e hidrocarbonetos poliaromáticos (HPA) têm sido reportados como contaminantes de águas subterrâneas (MORASCH *et al.*, 2001).

Nas águas subterrâneas a degradação ocorre mais lentamente devido à ausência de oxigênio e por vezes de organismos capazes de metabolizar os constituintes do óleo. É requerida a presença de microrganismos anaeróbios que empreguem os hidrocarbonetos como fonte de carbono e energia e que utilizem compostos inorgânicos (nitratos, por exemplo) e cátions (como Fe^{3+}) como aceptores de elétrons (MORASCH *et al.*, 2001). Para as águas superficiais é possível se observar processos de transporte, associados ao sedimento ou na forma de emulsões, produzidas pelo incremento de energia que ocorre com o movimento das águas (ROBOTHAN & GILL, 1989). É possível observar, ainda, a dissolução principalmente para

hidrocarbonetos de baixa massa molar. Entretanto, a adsorção ao sedimento em locais com grande taxa de deposição deste material pode transportar os hidrocarbonetos para o leito do corpo aquático, mantendo-o retido até que fatores físicos, químicos ou biológicos, ou ainda a combinação destes, promova a sua dessorção e disponibilização para a coluna d'água (FERNANDES, 2001).

A biodegradação pode ser observada por ação de organismos vegetais: a fitorremediação. Embora este processo seja de extrema importância, para investigações em longo prazo um elemento comprometedor é a sucessão ecológica e as modificações que ela implica. No caso de brejos, o potencial de degradação é algo complexo, pois depende de condições variáveis, como hidrologia, tipos de solo e sedimento, diversidade de espécies vegetais, crescimento sazonal e química aquática (WILLIAMS, 2002). Microrganismos como as cianobactérias, organismos fotoautotróficos, podem ser empregados para a degradação de poluentes de forma similar à fitorremediação (O'NIELL *et al.*, 1999).

Tanto nos solos quanto nas águas superficiais observam-se processos de descontaminação que podem ser promovidos por fatores físicos, como: temperatura e irradiação luminosa; químicos: processos oxidativos ou redutivos, hidrólise, entre outros; ou biológicos: metabolismo e catabolismo. Elevadas temperaturas podem favorecer os processos de volatilização, que transferem os constituintes mais voláteis dos óleos para a atmosfera, sendo possível o transporte por longas distâncias por meio das correntes aéreas. Isto pode favorecer a deposição destes poluentes através de precipitações úmidas (chuva, neve e granizo) ou seca (poeira e fuligem) mesmo em áreas distantes da fonte poluidora. A grande incidência de luz solar promove este efeito devido ao aumento da temperatura, mas promove, também, a fotólise, transformando os constituintes em substâncias mais polares pela adição de oxigênio na molécula, aumentando sua hidrossolubilidade e, portanto, sua biodegradabilidade (GREEN & TRETT, 1989; FERNANDES, 2001).

Em estudo com água do mar próxima a plataformas, na Austrália, Burns & Codi (1999) estudaram a dinâmica de hidrocarbonetos não-voláteis,

percebendo uma dissipação governada, principalmente, devido à diluição ocasionada pelas correntes marinhas. A degradação seria o segundo fator, em termos de relevância, para a dissipação destes compostos, seguida pela sedimentação e, depois, pela evaporação. Neste estudo, os autores observaram o elevado grau de bioacumulação de tais substâncias nos tecidos de bivalves, além da dessorção dos hidrocarbonetos proveniente de partículas em suspensão em um raio de até 1,8 km a partir da fonte poluidora, mostrando o potencial de transporte de tais compostos associados ao sedimento e ao material particulado.

O derramamento de óleos pode provocar a formação de filmes sobre a superfície da água de modo a impedir a oxigenação (troca gasosa), bem como reduzir a entrada de luz, diminuindo a zona eufótica. A baixa oxigenação e a diminuição na fotossíntese podem impedir tanto a autodepuração quanto o funcionamento normal do ecossistema aquático atingido diversos organismos (GREEN & TRETT, 1989; ROBOTHAM & GILL, 1989; FERNANDES, 2001). Desta forma, ocorre mudança no pH, principalmente, quando se tem a presença de compostos mais polares que apresentem características ácidas ou alcalinas. Pode ocorrer, ainda, a seleção de espécies que se adaptem melhor à presença dos hidrocarbonetos, sendo observado o desaparecimento de diversas espécies do fitoplâncton e do zooplâncton, desenvolvendo-se aquelas latentes pela diminuição da concorrência por recursos (ROBOTHAM & GILL, 1989).

Os hidrocarbonetos de moléculas menores (menor massa molar) apresentam-se mais tóxicos, principalmente por serem mais prontamente solubilizados na água e, portanto, transferidos para o interior das células, que aqueles com massas molares superiores. Compostos aromáticos também apresentam elevada toxicidade. Hidrocarbonetos poli-aromáticos (HPA) são mutagênicos e carcinogênicos, apresentando, ainda, capacidade de se acumularem nos organismos e nos sedimentos (FERNANDES, 2001). O uso de tensoativos, chamados dispersantes, para desfazer as manchas de óleo aumentam a toxicidade dos componentes do óleo uma vez que aumentam a taxa de transferência dos mesmos para a célula.

Para organismos vegetais, a época do derramamento pode estar diretamente ligada ao efeito observado. Derramamentos ocorridos no inverno apresentam efeitos inexpressivos uma vez que a atividade da flora se encontra reduzida, embora possam ser observadas perdas na floração na primavera seguinte. Nos períodos de primavera e verão os derramamentos podem apresentar efeitos mais intensos visto que afetam a germinação, crescimento e produção de sementes (FERNANDES, 2001).

3.2 - LEGISLAÇÃO APLICÁVEL

A Política Nacional do Meio Ambiente, Lei 6938/81, estabelece, mesmo que genericamente, que todo aquele que usar economicamente dos recursos ambientais deve contribuir pecuniariamente (artigo 4º, inciso VII). São os chamados princípios “usuário-pagador” e “poluidor-pagador”.

A Lei de Crimes Ambientais (Lei nº 9605/98) prevê penas para aqueles que poluem o ambiente:

“Art. 54 – Causar poluição de qualquer natureza em níveis tais que resultem ou possam resultar em danos à saúde humana, ou que provoquem a mortandade de animais ou a destruição significativa da flora:

Pena – reclusão, de um a quatro anos, e multa.

§ 1º - Se o crime é culposo:

Pena – detenção, de seis meses a um ano, e multa.

§ 2º - Se o crime:

(...)

V – ocorrer por lançamento de resíduos sólidos, líquidos ou gasosos, ou detritos, **óleos ou substâncias oleosas**¹, em desacordo com as exigências estabelecidas em leis ou regulamentos:

Pena – reclusão, de um a cinco anos.

Art. 56 – Produzir, processar, embalar, importar, exportar, comprar, fornecer, transportar, armazenar, guardar, ter em depósito ou usar substância tóxica, perigosa ou nociva à saúde humana ou ao meio ambiente em desacordo com as exigências estabelecidas em leis e regulamentos:

Pena- reclusão, de uma a quatro anos, e multa.”

---

¹ Grifo nosso.

3.2.1 - Resolução CONAMA 09/93

Na Resolução de nº 09, de 31 de agosto de 1993, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) definiu o óleo lubrificante, reciclagem do óleo lubrificante usado, bem como outros termos, e resolveu que todo lubrificante usado ou contaminado deverá ser recolhido, devendo ter o destino apropriado de modo a evitar impactos negativos ao ambiente.

Isto foi estabelecido ao considerar a degradação parcial dos óleos lubrificantes durante o uso, podendo haver contaminações acidentais ou propositais do ambiente, baseando-se na classificação do óleo lubrificante usado como resíduo perigoso por apresentar toxicidade (ABNT NBR-10004), considerando, ainda, que o descarte destes óleos e suas emulsões nos solos ou águas causa graves problemas ambientais e que a incineração pode gerar gases residuais nocivos (BENTHAM *et al.*, 1997). Esta resolução diz, também, que a reciclagem é instrumento prioritário para a gestão ambiental, de modo que todo lubrificante usado deve ser destinado a ela, sendo o re-refino a forma eleita para isto. Deste modo, qualquer outra forma de emprego do óleo usado deve ser previamente autorizada.

Das proibições desta resolução, citam-se:

“Art. 3º Ficam proibidos:

I – quaisquer descartes de óleos usados em solos, águas superficiais, subterrâneas, no mar territorial e em sistemas de esgoto ou evacuação de águas residuais;

II – qualquer forma de eliminação de óleos usados que provoquem contaminação atmosférica superior ao nível estabelecido na legislação sobre proteção do ar atmosférico (PRONAR);

Art. 4º Ficam proibidos a industrialização e comercialização de novos óleos lubrificantes não recicláveis, nacionais ou importados.”

Esta regulamentação proíbe a disposição de resíduos do tratamento de óleo lubrificante usado sem tratá-lo previamente, assegurando a eliminação

de características tóxicas e poluentes, a preservação dos recursos naturais e o atendimento aos padrões de qualidade ambiental. Estabelece, também, que a instalação ou ampliação de empresas que tratem o lubrificante usado deve empregar tecnologias que prevêem a minimização de resíduos a serem lançados no ambiente.

Esta resolução define as obrigações dos produtores, geradores, receptores, coletores e re-refinadores, estabelecendo critérios para o armazenamento, embalagens e transporte dos óleos usados. São exigências: que se adotem medidas para evitar a contaminação do lubrificante com substâncias estranhas ao seu uso e a manutenção de registros sobre compra, uso e alienação do lubrificante usado quando se consumir mais que 700 L/ano. Ficam de fora desta resolução os óleos biodegradáveis pelos sistemas convencionais de tratamento biológico quando não misturados a óleos usados regeneráveis. Cabe ao IBAMA aprovar o sistema de tratamento e destino final após o uso.

3.2.2 - Portarias da ANP

A Agência Nacional do Petróleo (ANP) regulamentou, através da Portaria nº 127, de 30 de julho de 1999, a atividade de coleta dos lubrificantes usados, estabelecendo as obrigatoriedades desta atividade. Assim, cabe à ANP expedir o cadastro de coletor para pessoa jurídica sediada no país.

A Portaria nº 129, de 30 de julho de 1999, estabelece o Regulamento Técnico ANP 004/99, que especifica os lubrificantes básicos brasileiros ou importados para comercialização no território nacional. Esta portaria classifica os óleos em parafínicos e naftalênicos, categorizando-os. Estabelece as especificações de qualidade dos lubrificantes básicos comercializados no Brasil, definido quais as características a serem controladas, e define os métodos de análise como sendo as Normas Brasileiras Registradas (NBR) dos métodos da American Society for Testing and Materials (ASTM) e da Deutsche Norm (DIN), observando-se os de publicação mais recente.

A Portaria nº 130, de 30 de julho de 1999, estabelece as especificações necessárias à comercialização de óleos lubrificantes básicos re-refinados, com as mesmas constando no Regulamento Técnico ANP nº 005/99, anexo a esta portaria, revogando as resoluções do Conselho Nacional de Petróleo nº 16/81 e 13/83, além das demais disposições em contrário.

3.3 - MÉTODOS ANALÍTICOS

A análise cromatográfica tem sido aplicada para o estudo da composição destes óleos, principalmente empregando a cromatografia gasosa (CG) com detecção por ionização em chama (DIC) ou acoplada à espectrometria de massas (EM). Isto se deve ao fato de possibilitar a separação cromatográfica dos compostos que compõem a amostra, bem como fornecer informações usadas na identificação das substâncias (JIROVETZ *et al.*, 1992; OVERTON & MANURA, 1995). Tem-se efetuado, também, detecção com espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (IVTF), que fornece dados adicionais ao estudo da identidade dos constituintes da matriz em estudo (JIROVETZ *et al.*, 1992a). É necessário, entretanto, que métodos capazes de separar cada um dos constituintes do óleo, bem como de identificá-los e quantificá-los com o mínimo de manuseio da amostra, o que fornece métodos com menores custos e tempo de análise, minimizando-se, inclusive, alterações na amostra ou nos constituintes a serem analisados (ROQUES *et al.*, 1994).

A correta identificação de cada constituinte torna-se uma informação de extrema relevância, uma vez que cada produto derivado do petróleo tem uma composição variada, sendo esta identificação necessária para a correta relação entre produto e fonte (WANG, *et al.*, 1999). Outras técnicas utilizadas são a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), CLAE por exclusão por tamanho, cromatografia de fluido super-crítico (CFSC), cromatografia de camada delgada (CCD), espectrofluorimetria (EF), espectroscopia na região do ultra-violeta e métodos gravimétrico, entre outras (WANG *et al.*, 1999).

Os métodos de tratamento da amostra são escolhidos de acordo com as propriedades dos compostos a serem analisados, e da amostra a ser

investigada. Os tratamentos encontrados na literatura para as amostras de óleos minerais, vegetais ou para solos ou água contendo estes óleos são listados na Tabela 3.1.

TABELA 3.1. Tratamentos da amostra e técnicas cromatográficas empregadas.

Amostra	Tratamento/ Purificação	Compostos estudados	Deteção	Quantificação	Ref.
Óleos minerais	Partição com hexano	HPA, HS, heterocíclicos com S, Hopanos e esteranos	CG-EM	Padrão interno	Roques <i>et al.</i> , 1994
Óleos minerais	Fracionamento em coluna (SiO ₂)	Benzenos alquil substituídos	CG-EM	Padrão interno e externo	Wang <i>et al.</i> , 1995
Óleo cru	----	n-alcanos, HPA, terpanos e esteranos	CG-DIC CG-EM	----	Wang e Fingas, 1995
Óleo cru (antes e após de biodegradação)	----	HS, aromáticos, resinas e asfaltenos	CG-EM CG-DIC CG-DNF CG-DFC	-----	Premuzic <i>et al.</i> , 1997
Óleo Diesel	Fracionamento em coluna (SiO ₂)	Hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos	CG-EM	Padrão interno e externo	Sepic <i>et al.</i> , 1996
Óleo cru	Coluna cromatográfica (Al ₂ O ₃) e CCD	HS, alcanos cíclicos (esteranos e terpanos), hopanos	CG-DIC CG-EM	Padrão interno	Stojanovic <i>et al.</i> , 2001
Óleo cru	----	hidrocarbonetos	CG-DIC	----	Choi <i>et al.</i> , 1999
Água (na presença de adsorventes)	Extração I-I com CH ₂ Cl ₂	n-alcanos e hidrocarbonetos aromáticos sulfurados	CG-DIC CG-DFC	-----	Setti <i>et al.</i> , 1999.
Água	Extração com CH ₂ Cl ₂	n-alcanos, alcanos ramificados, aromáticos, HPA	CG-DIC	Padrão interno	Oudot, 2000.
Água (contendo óleo antes e após envelhecimento)	Extração I-I com CH ₂ Cl ₂	HAS e aromáticos, HPA e biomarcadores	CG-DIC CG-EM	Padrão interno	Wang <i>et al.</i> , 1998
Sedimentos (contaminados com óleo mineral)	Extração com hexano/CH ₂ Cl ₂ e com CH ₂ Cl ₂ em sistema ultrasônico. Purificação em microcoluna de fracionamento	Triterpanos, esteranos, HS e HPA	CG-DIC CG-EM	Padrão interno	Wang <i>et al.</i> , 1994.
Sedimentos	Extração com CH ₂ Cl ₂ após adição de Na ₂ SO ₄ e Cobre Purificação em coluna (Al ₂ O ₃ /SiO ₂)	Hidrocarbonetos aromáticos com dois e três anéis	CLAE-DF CG-EM	Padrão interno e externo	Krahn <i>et al.</i> , 1993

Amostra	Tratamento/ Purificação	Compostos estudados	Deteção	Quantificação	Ref.
Solo e água (contaminados com óleo diesel)	MEFS	COV e semi- voláteis	CG-EM	Padrões interno e externo	Eriksson <i>et al.</i> , 1998
Solo (contaminado com óleo diesel)	Extração com hexano	HS (totais e n- parafínicos), Aromáticos e resinas	CG-EM CLAE-EM IVTF	-----	Riis <i>et al.</i> , 1996.
Água Marinha Sedimentos Ostras	Extração com hexano e CH ₂ Cl ₂ Purificação com Al ₂ O ₃	Hidrocarbonetos de Petróleo Não- voláteis	CG-DIC CG-EM EFUV COT MOE	Padrão interno e externo	Burns & Codi, 1999.
Sedimentos (contaminado com óleo mineral)	Extração com hexano/CH ₂ Cl ₂ e com CH ₂ Cl ₂ em sistema ultrasônico. Purificação em microcoluna de fracionamento	HS e biomarcadores (F1) e HPA (F2)	CG-DIC CG-EM	Padrão interno	Wang <i>et al.</i> , 1995.
Água (contaminada com óleo mineral)	Extração I-I com CH ₂ Cl ₂				
Solo	Extração em sistema Soxhlet (clorofórmio)	----	CL-Prep. IV	Pesagem	Boronim <i>et al.</i> , 1997
Água	Extração I-I (clorofórmio)				
Solo	Extração com clorofórmio	n-alcanos, alcanos ramificados, pristano, fitano	CG-EM	Padrão interno	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
Xisto	Dissolução em hexano (precipitação dos asfaltenos), purificação em coluna de SiO ₂ (eluição com hexano- diclorometano e metanol)	parafinas, aromáticos, compostos polares	CG-MS	----	El harfi <i>et al.</i> , 2000.

CG-DIC: cromatografia gasosa com detector de ionização em chama.

CG-EM: cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas.

CG-IVTF: cromatografia gasosa com detector de infravermelho com transformada de Fourier.

CFSC: cromatografia de fluido super-crítico. EFS: extração em fase sólida.

COV: compostos orgânicos voláteis. HPA: hidrocarbonetos poliaromáticos.

HS: hidrocarbonetos saturados.

CLAE-DF: cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência.

CLAE-EM: cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de massas.

CCD: cromatografia em camada delgada.

EFUV: espectroscopia de fluorescência na região do Ultravioleta.

COT: Carbono Orgânico Total.

MOE: Material Orgânico Extraível (determinação em micro-balança).

3.3.1 - Métodos de extração

As principais técnicas de extração de compostos orgânicos em matrizes líquidas são representadas na Figura 3.2.

A simples dissolução pode ser empregada quando se investiga a composição de um dado óleo, entretanto, um método sem qualquer tratamento do extrato, acarreta em uma composição muito complexa da amostra a ser injetada, o que resulta em um cromatograma contendo muitos picos. Este procedimento, mesmo sendo o mais simples, pode não ser indicado, uma vez que existe a possibilidade de se ter compostos co-eluídos, que impedirão a compreensão correta dos dados gerados na análise. Deste modo, o fracionamento em coluna de sílica é empregado, de modo que os compostos mais apolares são eluídos com hexano. Geralmente chamada de F1 (primeira fração), a fração hexânica é constituída de hidrocarbonetos saturados. Os compostos fracamente polares, geralmente HPA, são eluídos com diclorometano ou uma mistura hexano:diclorometano (1:1, v/v) e constituem a segunda fração (F2). A terceira fração, mais polar, pode ser extraída com metanol ou com uma mistura metanol/diclorometano (1:1, v/v) (ROQUES *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1995). Este fracionamento, no entanto, pode ocasionar perdas de analitos e alterações nas amostras devido ao manuseio, sendo desejável evitá-lo (ROQUES *et al.*, 1994).

Diversos estudos são baseados na extração líquido-líquido (KRAHN *et al.*, 1993; ROQUES *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1995; RIIS *et al.*, 1996; BORONIM *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 1998; LIU & KINDERLERER, 1999; SETTI *et al.*, 1999; OUDOT, 2000) ou sólido-líquido em sistema Soxhlet (JIROVETZ *et al.*, 1992b; BORONIM *et al.*, 1997) ou, ainda, em sistema ultra-sônico (WANG *et al.*, 1994). Do mesmo modo que a dissolução da amostra, a simples extração necessita de procedimentos de purificação. Isto pode ser efetuado após derivação, quando os compostos que se deseja determinar, principalmente por CG, são polares e necessitam deste passo, efetuando purificação com colunas cromatográficas recheadas com SiO₂ (JIROVETZ *et al.*, 1992b; WANG *et al.*, 1995) ou com combinação de SiO₂ e Al₂O₃ (KRAHN *et al.*

al., 1993). Isto também pode ser efetuado com microcoluna de fracionamento (WANG *et al.*, 1995).

FIGURA 3.2. Principais métodos de extração empregados para posterior análise cromatográfica de compostos orgânicos para matrizes líquidas. (A) injeção direta (com ou sem diluição); (B) extração líquido-líquido; (C) extração em fase sólida com uso de cartuchos; (D) extração em fase sólida com uso de filtros; (E) "headspace"; (F) "purge and trap"; (G) "steer barr"; (H) microextração em fase sólida.

Outras técnicas de extração, no entanto, podem eliminar a necessidade deste passo, destacando-se: *headspace* estática, *headspace* dinâmica, extração em fase sólida (EFS), micro-extração em fase sólida (MEFS), "purge and trap", dispositivos de membranas semi-permeáveis (DMSP), entre outros.

No caso da EFS, tem-se a passagem da amostra pelos cartuchos contendo uma fase estacionária de interesse, com a posterior eluição dos analitos (REITER *et al.*, 1999). A técnica de *headspace* é empregada na extração de determinação de compostos voláteis e semi-voláteis, necessitando de uma alta concentração de vapores. A MEFS também pode ser empregada para a análise destes compostos com a vantagem de apresentar elevada

sensibilidade e repetitividade, embora apresente como desvantagem a necessidade de estudos que otimizem seu uso, os quais podem demandar um tempo considerável. Uma grande vantagem deste método a ser destacada é a isenção da utilização de solventes (ERIKSSON *et al.*, 1998).

Os dispositivos de membranas semi-permeáveis (DMSP) são empregados para a extração de contaminantes orgânicos em amostras aquosas. Estes dispositivos contêm uma membrana que permite a passagem de contaminantes apolares ou medianamente polares enquanto estão expostos à amostra, depois se efetua um procedimento de diálise ou extração, recuperando-se o analito. Deste modo, é possível realizar uma amostragem no campo, dispondo o DMSP no ponto de coleta e expondo-o a um determinado volume da amostra, assim, tem-se um efeito de pré-concentração (PREST *et al.*, 1995; RANTALAINEN *et al.*, 1998; PETTY *et al.*, 2000a; PETTY *et al.*, 2000b; KOT *et al.*, 2000; SABALIUNAS *et al.*, 2000; RANTALAINEN *et al.*, 2000; ZIMMERMAN *et al.*, 2000; BOOIJ & van DROOGE, 2001; RICHARDSON *et al.*, 2003).

A extração de compostos orgânicos de amostras sólidas (JIROVETZ *et al.*, 1992b; LIU & KINDERLERER, 1999; WANG *et al.*, 1994; KRAHN *et al.*, 1993; RIIS *et al.*, 1996; CHAINEAU *et al.*, 1999; WANG *et al.*, 1995; BORONIM *et al.*, 1997), efetuada em sistema Soxhlet ou em banho ultrassônico, ou do meio aquoso (SETTI *et al.*, 1999; OUDOT, 2000; WANG *et al.*, 1995; WANG *et al.*, 1998; BORONIM *et al.*, 1997) pode ser efetuada com diferentes solventes de acordo com a polaridade dos compostos que se deseja estudar. Compostos mais apolares, como hidrocarbonetos, são comumente extraídos com n-hexano ou clorofórmio, enquanto compostos com caráter medianamente polar são extraídos com sistema de solventes n-hexano/diclorometano (com diferentes proporções), com diclorometano, ou com metanol.

3.3.2 - Métodos de análise

A escolha de um método analítico deve se basear nas propriedades do composto a ser determinado, na capacidade do método em detectá-lo, nos

níveis de concentração, entre outros requisitos. Os métodos de separação comumente empregados na análise de óleos são mostrados na Figura 3.3, onde se pode observar o critério de polaridade ou caráter iônico, bem como a volatilidade para a escolha do método adequado de análise. Entretanto, de acordo com a instrumentação disponível, pode-se desenvolver um método que empregue qualquer um destes métodos nas análises de compostos orgânicos. Isto é, se apenas se dispõe de cromatografia gasosa e se pretende analisar um composto não-volátil, pode-se derivá-lo no intuito de adaptá-lo às exigências da técnica. Do mesmo modo, um composto apolar pode ser analisado por eletroforese por adição de um grupo iônico ou pela modificação da solução tampão.

FIGURA 3.3 – Escolha do método de separação de acordo com as características do analito.

A cromatografia gasosa (CG) utilizando detecção por ionização em chama (DIC) tem sido a técnica mais amplamente empregada (WANG *et al.*, 1999; VOELKEL & FALL, 1997), sendo aplicada à análise de óleos por ser este um detector universal (JIROVETZ *et al.*, 1992a). Outro detector universal descrito na literatura é o de Foto-ionização (DFI) (WANG *et al.*, 1999). Entretanto, por este mesmo motivo, estes detectores não fornecem dados sobre a identidade dos analitos, sendo necessária uma comparação dos

tempos de retenção obtidos pela análise da amostra e de padrões, o que supõe o conhecimento prévio da identidade dos compostos estudados. Porém, pode-se aplicar para o conhecimento do número de compostos que estão sendo extraídos e separados, bem como para quantificá-los (ROQUES *et al.*, 1994). O desenvolvimento das técnicas analíticas, com o advento da CG com colunas capilares, tornou-as capazes de analisar amostras mais complexas, incluindo-se a determinação de compostos biomarcadores específicos, ou mesmo HPA.

A complexidade destes óleos pode aumentar se considerarmos o envelhecimento e a degradação ocasionados por agentes físicos, químicos e biológicos, ou pela ação conjunta destes agentes, que provocam a mudança, de forma não uniforme na composição do extrato (ROQUES *et al.*, 1994). A detecção por espectrometria de massas (EM) fornece o fragmentograma, que possui informações mais relevantes para a determinação da identidade dos constituintes dos óleos (JIROVETZ *et al.*, 1992; OVERTON & MANURA, 1995; ROQUES *et al.*, 1994). Entretanto, este detector fornece a relação massa/carga dos fragmentos formados, sendo possível que dois compostos diferentes apresentem fragmentogramas similares, principalmente quando a diferença entre as substâncias investigadas se restringe a posições de duplas ou triplas ligações ou de ramificações. Isto pode fornecer interpretações erradas sobre a identidade dos compostos, sendo importante a obtenção de dados adicionais. Obtém-se tais informações, associando os resultados obtidos na CG-MS com aqueles gerados na detecção por infravermelho (CG-IVTF) (JIROVETZ *et al.*, 1992a; JIROVETZ *et al.*, 1992b). A combinação do maior número de informações possíveis permite a correta interpretação dos dados, especialmente nos estudos de matrizes muito complexas.

A diminuição gradativa no custo de equipamentos e de manutenção de sistemas CG-EM tem favorecido a aquisição destes equipamentos, embora seja necessário, ainda, algum investimento em recursos humanos, para que se tenham operadores bem treinados, para a preparação correta da amostra e para a aquisição e interpretação dos dados (ROQUES *et al.*, 1994).

É importante ressaltar que a CG é uma técnica que apresenta algumas limitações, quais sejam: (i) os compostos analisados devem ser voláteis; (ii) estes analitos devem ser termoestáveis; e (iii) as moléculas no estado gasoso não devem interagir com o gás de arraste (COLINS, 1999). Para os compostos que não apresentam as propriedades requeridas para esta técnica analítica, a adição de um passo no tratamento da amostra faz-se necessária, em que tais compostos são derivados através de reações químicas, no intuito de obter-se substâncias adequadas à técnica (JIROVETZ *et al.*, 1992b).

A análise de óleos pode, também, ser efetuada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), onde os componentes são, geralmente, separados por classes, uma vez que esta técnica não apresenta resolução suficiente para a separação de misturas tão complexas quanto combustíveis e lubrificantes; cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR ou simplesmente CG), na qual se obtém excelente separação, sendo possível distinguir cada um dos constituintes do óleo em estudo; cromatografia em camada delgada (CCD), sendo usada na escala preparativa, principalmente para hidrocarbonetos saturados, aromáticos ou polares em amostras sem asfaltenos; cromatografia de exclusão por tamanho; e cromatografia de fluido super-crítico (CFSC), ou pela combinação destas (MANSFIELD *et al.*, 1999).

Técnicas espectroscópicas podem ser empregadas na análise de amostras ambientais, destacando-se: espectroscopia de fluorescência na região do ultravioleta (EFUV); espectroscopia de infravermelho (EIV) ou espectroscopia de IVTF; ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas (EM); entre outras. Estas técnicas podem ser acopladas às cromatográficas, acrescentando informações sobre a identidade dos compostos, com exceção da RMN, onde se faz necessário empregar cromatografia em escala preparativa para depois efetuar a análise (MANSFIELD *et al.*, 1999). Por outro lado, sensores podem ser desenvolvidos empregando-se, por exemplo, fluorescência, obtendo-se a excitação com laser, o que leva a um equipamento portátil para determinação de derramamentos em campo, para citar uma aplicação (BROWN & FINGAS, 2003). Outros métodos

podem ser desenvolvidos, como a análise por injeção em fluxo para a determinação das características ácido-base de constituintes dos óleos, podendo-se empregar detectores espectrofotométricos (JYONOSONO *et al.*, 2001). Métodos nefelométricos também podem ser empregados (GREEN *et al.*, 1995).

Nos casos em que estas limitações não podem ser superadas, pode-se empregar a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na análise destes compostos. Neste caso, pode-se realizar a análise empregando-se detector de fluorescência. Nesta análise, tem-se a limitação de que nem todos os compostos orgânicos apresentam fluorescência, sendo invisíveis a este detector (KRAHN *et al.*, 1993). Além disto, este método de detecção não apresenta informações específicas sobre a identidade dos analitos. Entretanto, pode-se realizar a análise por CLAE acoplada ao espectrômetro de massas, obtendo-se o fragmentograma dos compostos (RIIS *et al.*, 1996). Em alguns estudos de óleos, no entanto, não se faz necessário o conhecimento de todos os compostos, sendo importante apenas saber quais os grupos de substâncias se apresentam, analisando-os por infravermelho. Nos casos em que se deseja saber apenas as quantidades de óleo na amostra investigada, emprega-se a cromatografia líquida preparativa (BORONIM *et al.*, 1997) ou a CCD, realizando-se a quantificação por gravimetria.

Para a análise por CLAE com detector de UV, em estudo recente, Husain *et al.* (1999) estudaram a adulteração de óleos vegetais pela determinação de um alcalóide benzofenantridino, que foi separado em coluna C18, com fase móvel: metanol/acetonitrila/tetrahidrofurano/água (21:55:4:20, v/v), pela simples dissolução da amostra na fase móvel, acompanhando-se no comprimento de onda de 280 nm. Este método se apresenta bastante simples uma vez que se pretende a detecção de um único componente que denota a adulteração do produto que não deveria conter tal substância. A análise por CLAE pode também ser efetuada com detecção por fluorescência, entretanto, ela não fornece resultados definitivos, embora possa ser empregada na distinção de produtos de diferentes origens (WANG *et al.*, 1999).

Pode-se, ainda, efetuar cromatografia em linha (*on line*), acoplando-se sistemas cromatográficos a líquido (VREULS *et al.*, 1991) ou com fluido supercrítico (MEDVEDOVICI *et al.*, 1997), efetuando-se uma boa separação dos constituintes da amostra antes da injeção no cromatógrafo empregado para detecção e quantificação. Pode-se, ainda, efetuar análise "*off-line*", sucedendo-se uma técnica à outra, como no caso da cromatografia em camada delgada (CCD) (STOJANOVIC *et al.*, 2001), em escala preparativa, em que se separam os compostos por classes ou grupos, que são extraídos da fase estacionária antes da análise por CG ou CLAE (LIU e KINDERLERER, 1999).

O uso de cromato-membranas para a extração de óleos pode ser efetuada para a posterior detecção por diferentes métodos, como por Análise por Injeção em Fluxo (FIA, do inglês: *Flow Injection Analysis*). Este procedimento traz as vantagens dos sistemas de extração em fluxo segmentado, destacando-se os grandes valores de coeficientes de concentração e o tempo reduzido de análise, dentre outras. Quanto às desvantagens, pode-se citar, como a principal, a possibilidade de entupimento dos poros da matriz hidrofóbica pelas partículas em suspensão na amostra, exigindo uma constante limpeza da cromato-membrana (MOSKVIN *et al.*, 1999). Ensaio tipo ELISA também são empregados na determinação de óleos em amostras ambientais (POLLARD *et al.*, 2002).

Para a perfeita quantificação dos constituintes dos óleos, faz-se necessário conhecer as limitações dos métodos analíticos empregados, definindo-se as capacidades do mesmo em obter resultados (média amostral) próximos ao valor real (média populacional), chamada de exatidão, em obter medidas próximas entre si, precisão, em ter uma relação linear entre a concentração e a medida (área ou altura do pico, no caso da cromatografia). Também é relevante o conhecimento da menor concentração que causa um resultado estatisticamente diferente do ruído ou do sinal do branco, limite de detecção, e o conhecimento da menor concentração em que se pode afirmar qual a exatidão e precisão da medida, limite de quantificação (AMARANTE Jr. *et al.*, 2001).

Para a quantificação destes compostos são comumente utilizados padrões internos, onde se adicionam compostos de características similares àqueles que se esperam encontrar nas amostras em estudo (JIROVETZ *et al.*, 1992, p. 455; OVERTON & MANURA, 1995). Neste caso, é necessário que a resposta do detector ao composto usado como padrão seja similar àquela obtida para os analitos. No caso de detector EM o sinal total de cada composto é integrado para se obter a quantidade relativa de cada composto. O que nem sempre é possível, uma vez que a detecção consiste na interação do analito com o detector, e isto pode ocorrer de acordo com as características específicas de cada composto. Essa quantidade é relacionada à concentração do padrão interno pela equação:

$$X = (AC)/S \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: X é a concentração de compostos orgânicos estudados, A é o sinal integrado do composto, C é a concentração do padrão interno e S é o sinal deste padrão (OVERTON & MANURA, 1995).

Isto é, pode-se empregar o método de padrão interno quando se realiza estudos comparativos e quando a matriz é muito complexa tornando a construção de curvas analíticas um processo pouco viável. Entretanto, este método não apresenta grande exatidão (OVERTON & MANURA, 1995), uma vez que a resposta do padrão interno, em geral, não é exatamente igual àquela obtida para os compostos que estão sendo analisados. Principalmente, quando se tem um número grande de compostos e grupos químicos distintos, o que causa uma diferença maior entre a intensidade na resposta do detector em função da concentração de cada analito.

3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a legislação brasileira não traga limitações para as concentrações dos diferentes componentes dos óleos em águas naturais ou potáveis, existem normas jurídicas que estabelecem procedimentos de descarte destes produtos, mesmo após o uso, nos diversos compartimentos

ambientais ou que estabeleçam mecanismos que punam aqueles que contaminem o ambiente. Não há, no mundo, legislação que estabeleça uma concentração limite de hidrocarbonetos em solo.

O descarte ou derramamento destes poluentes não é necessariamente coibido ou remediado apenas pelo emprego de normas jurídicas. Faz-se necessário, portanto, o entendimento da dinâmica dos óleos no meio. Vários estudos têm sido conduzidos neste sentido e se tem observado os mais diversos fenômenos relacionados às mudanças sofridas por óleos lubrificantes, minerais ou não, que contribuem para a dispersão ou acúmulo dos mesmos no ambiente ou nos tecidos de organismos vivos. O destino final destes poluentes é determinado pelos compostos de que se está tratando, bem como dos parâmetros climáticos, tipo de solo, microbiota, entre outros.

Para o devido estudo destes compostos no meio é que foram desenvolvidos diferentes métodos, baseados nas propriedades da amostra e dos constituintes que se pretendem determinar, empregado-se cada vez mais equipamentos modernos e métodos com baixo custo, elevada eficiência e baixo tempo de análise. Isto tem favorecido o estabelecimento de programas de monitoramento que forneçam informações exatas e precisas sobre regiões afetadas por descartes ou derramamentos acidentais.

4 - BIODEGRADAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS E BIORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS E SOLO CONTAMINADOS.

4.1 - INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da agricultura, da pecuária e da indústria tem levado à produção de inúmeros compostos, além da descoberta de uma infinidade de substâncias naturais empregadas como pesticidas, tensoativos, aditivos e cargas para diversos produtos, sendo descartadas deliberadamente ou inadvertidamente após o seu uso diretamente no ambiente (ALEXANDER, 1999). Além dos produtos principais, uma série de subprodutos é gerada na obtenção dos compostos desejados, sendo que, encontrando ou não aplicações, destinam-se, também, ao descarte, sem um tratamento devido. Um outro grupo de substâncias que necessita ser investigado são os compostos obtidos pelo refino do petróleo, usados como combustíveis, como lubrificantes em automóveis e máquinas domésticas e industriais, como matéria-prima para a produção de diversos materiais, entre outros usos. Estas substâncias são comumente descartadas após sua utilização (lubrificantes, por exemplo) ou derramados acidentalmente no ambiente (combustíveis e outros produtos).

A complexidade da situação aumenta com o fato destas substâncias, geralmente, não se encontrarem isoladas, e sim em uma mistura, o que aumenta a dificuldade de se propor uma reutilização ou formas adequadas e economicamente viáveis de degradação (AMARANTE Jr., 1999; TAKIYAMA *et al.*, 2000).

A contaminação química do solo, dos aquíferos e das águas superficiais tem sido bastante estudada devido ao seu crescimento com o

desenvolvimento da indústria, da agricultura e com o crescimento dos grandes centros urbanos. Entretanto, a contaminação microbiológica também merece que se envidem esforços no sentido de preveni-la ou remediá-la, uma vez que provocam a contaminação de alimentos, dos mananciais e de organismos que mantenham contato com o solo. As principais fontes de contaminação são apresentadas na Tabela 4.1.

TABELA 4.1. Fontes de poluição do solo e das águas subterrâneas e superficiais.

Fontes de contaminação microbiana	Fontes de poluição química
Disposição de esgoto bruto no solo ou em rios	Disposição de efluentes (domésticos e industriais)
Disposição do lodo da ETE* (doméstico e industrial) no solo	Disposição de lodo da ETE
Disposição de resíduos sólidos hospitalares	Disposição de resíduos sólidos industriais
Recarga de água pluvial e drenagem urbana	Sistema de tratamento de resíduos no solo
Fossas sépticas	Injeção de poço profundo
Práticas agrícolas	Atividades mineradoras
	Práticas agrícolas

Fonte: Spilborghs, 1997.

*ETE: Estação de tratamento de efluentes.

As concentrações de poluentes no efluente final de processos industriais, provenientes de atividades agrícolas e pecuária, de efluentes domésticos ou ainda da contaminação por derramamentos, entre outros, vão desde valores bastante elevados, causando uma concentração no ambiente maior que 1 g.L^{-1} de água ou 1 g.kg^{-1} de solo, até valores numericamente pequenos como $1 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ ou $1 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$, de água e solo, respectivamente. Estes valores distintos podem ocasionar erros de interpretação quanto ao impacto que tais compostos causam ao ambiente, uma vez que a toxicidade de cada substância é uma propriedade bastante característica, relacionada à molécula do poluente e à sensibilidade de cada organismo exposto a ele. Desta forma, um composto com concentração de $0,1 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$ de solo pode ser considerado perigoso enquanto outro não (ALEXANDER,1999; SPILBORGHES, 1997,

AMARANTE Jr., 2002). Isto dependerá da toxicidade de cada substância, bem como de parâmetros físicos e químicos do meio, que podem potencializar os efeitos de um dado composto ou minimizá-los, assim como da sensibilidade das espécies presentes e da persistência do poluente no meio.

Quando um contaminante orgânico atinge a superfície do solo, a principal força que age sobre este composto e o movimenta é a gravidade. Se o solo tem porosidade suficiente, a dispersão do poluente terá movimento descendente (devido à gravidade) e algum espalhamento lateral (devido à permeabilidade das camadas do solo). A velocidade depende da sua viscosidade e da porosidade do meio. Podem ocorrer três fenômenos capazes de afetar o movimento e o destino destes contaminantes: (i) adsorção nas partículas; (ii) interrupção por uma camada impermeável; e (iii) encontro com um aquífero (SPILBORGHS, 1997). Derramamentos em águas superficiais podem ocasionar a dissolução completa do poluente, caso seja solúvel em água, ou o seu espalhamento na superfície, para líquidos imiscíveis menos densos, ou, ainda, o depósito no fundo do corpo aquático para líquidos imiscíveis densos ou sólidos pouco solúveis (BRITO *et al.*, 2001). Estes diferentes processos podem levar a diferentes concentrações do poluente dentro do mesmo lugar, formando um gradiente (BAKER & HERSON, 1994; EWEIS *et al.*, 1994), apresentando áreas com concentrações elevadas enquanto outras contêm baixas concentrações dos poluentes.

A contaminação de águas subterrâneas tem como uma de suas principais fontes o derramamento de combustíveis e lubrificantes em postos de abastecimento (SPILBORGHS, 1997) ou em acidentes e a contaminação por lixiviação de pesticidas aplicados na agricultura (BRITO *et al.*, 2001). As águas superficiais podem ser atingidas por derramamentos (hidrocarbonetos) ou por aplicação direta e carreamento através das águas de chuva (pesticidas) (BRITO *et al.*, 2001; DORES & De-LAMONICA-FREIRE, 1999).

Uma vez no ambiente, estes poluentes podem apresentar dinâmicas diferenciadas, afetando os mais diversos organismos. Alguns compostos são capazes de acumularem-se nos tecidos animais ou vegetais, ou nas células de

microrganismos, causando o efeito conhecido como bioacumulação (ALEXANDER, 1999). Os efeitos deletérios que um composto pode causar aos organismos vivos impulsionam o estudo de estratégias capazes de tratar os efluentes antes de sua disposição final ou de remediar uma situação de derramamento (TAKIYAMA *et al.*, 2000). A necessidade de remediar os locais onde ocorrem tais contaminações tem levado ao desenvolvimento de novas tecnologias que enfatizem a desintoxicação ou destruição total dos contaminantes (BAKER & HERSON, 1994; EWEIS *et al.*, 1994). Entre estas estratégias, destacam-se a biodegradação e biorremediação por tornarem capaz a degradação de compostos orgânicos de origem antrópica (ALEXANDER, 1999), mesmo em ambientes muito sensíveis e consideravelmente inacessíveis ou onde outras técnicas de mitigação podem causar danos maiores que a contaminação em questão (ROQUE *et al.*, 1994). Além disto, a biorremediação é uma alternativa economicamente competitiva e possivelmente mais ambientalmente correta que outros métodos estabelecidos (BETHAM *et al.*, 1997).

Para se efetuar a biodegradação de um composto, entretanto, faz-se necessário conhecer a capacidade de assimilação dos organismos que efetuarão esta operação. O ideal neste processo é a total degradação da molécula orgânica, obtendo-se, como produtos finais, CO₂ e água (mineralização). Porém, diversos passos mostram-se necessários e algumas mudanças estruturais podem ser as únicas alterações observadas, de acordo com o meio e os microrganismos em estudo (ALEXANDER, 1999; BAKER & HERSON, 1994; TANCK, 1992; LANÇAS *et al.*, 1994). Tais mudanças estruturais podem produzir compostos orgânicos mais tóxicos que o poluente ou contaminante inicialmente presente (AMARANTE Jr. *et al.*, 2002; AMARANTE Jr. *et al.*, 2003; BAIRD, 2002).

A biodegradação de diversos compostos tem sido o alvo de vários estudos nas últimas décadas. Inicialmente, o interesse nestas investigações era voltado para o destino e persistência de pesticidas em solo (TANCK, 1992; SOCCOL *et al.*, 1995). Entretanto, nos últimos anos este campo tem se estendido a vários grupos de substâncias (ALEXANDER, 1999). O uso de

microrganismo no tratamento de efluentes municipais é bastante conhecido. O que é relativamente novo é a aplicação de processos microbiológicos para descontaminação de solos e águas superficiais e subterrâneas (BAKER & HERSON, 1994).

4.2 - MICRORGANISMOS

Os microrganismos podem ser classificados em quatro grupos distintos, quais sejam: bactérias, fungos, algas e protozoários. Embora os vírus estejam presentes no solo, não são considerados nesta classificação que se baseia na organização celular. De acordo com a divisão de reinos proposta por Whittaker, em 1969, baseada nos principais modos de nutrição (fotossíntese, absorção e ingestão), tem-se: os organismos procariontes, formando o Reino Monera (bactérias e cianobactérias); os organismos unicelulares eucariontes, formando o Reino Protista (algas e protozoários, com sistema nutritivo fotossintético e de ingestão, respectivamente); e os demais organismos eucariontes formam os Reinos Plantae, Animalia e Fungi, este último constituído por fungos unicelulares e filamentosos (SPILBORGHS, 1997).

Destes organismos, os mais aplicados na biodegradação e biorremediação são as bactérias e as algas (SPILBORGHS, 1997). As bactérias e os fungos são citados como os principais mediadores de degradação da matéria orgânica em ambientes naturais (BAKER & HERSON, 1994). As bactérias do solo formam o grupo de microrganismos que apresentam maior abundância e diversidade entre as espécies, tendo uma comunidade estimada de 10^8 a 10^9 organismos/g de solo. Este número varia de acordo com o método de contagem e o tipo de solo estudado (SPILBORGHS, 1997). As bactérias apresentam características que favorecem sua utilização em sistemas de tratamento, quais sejam: rápido crescimento e metabolismo, versatilidade genética (capacidade de sofrer mutação relativamente fácil), e a habilidade de ajustar-se rapidamente a variações ambientais. No entanto, em solos cultivados e com boa aeração, os fungos constituem grande parte da biomassa devido ao grande diâmetro dos seus filamentos e à extensa rede que

formam (micélios), sendo importantes agentes de decomposição em ambientes ácidos (TANCK, 1992). A mesofauna do solo tem um papel importante na biorremediação, embora sua ação se dê de forma indireta (HAIMI, 2000). Um exemplo é a presença de anelídeos que aumentam a aeração e promovem a vermicompostagem da matéria orgânica.

Para o meio aquoso, as cianobactérias, organismos do reino monera, chamadas de algas azuis, embora não sejam consideradas algas verdadeiramente, são citadas como promissoras para a degradação de poluentes orgânicos ou para remoção de metais pesados e semimetais, principalmente quando fixadas em leitos pelos quais se fazem passar as águas contaminadas ou os efluentes aquosos (O'NIELL *et al.*, 1999). Leitos de cianobactérias têm demonstrado serem eficientes na eliminação de diversos compostos orgânicos, tais como hidrocarbonetos, saturados e insaturados, com cadeias alifáticas e aromáticas, com diversas características e empregadas para diversos fins, incluindo-se alguns pesticidas (KURITZ & WOLK, 1994; BENDER *et al.*, 1995; O'NIELL *et al.*, 1999).

Spilborghs (1997) cita que numerosos estudos em solos e água de superfície têm demonstrado a capacidade de diversos microrganismos nativos em se aclimatarem a uma grande variedade de xenobióticos (compostos que não são produzidos por processo enzimático natural ou que possuem estrutura não natural, mesmo que funcionem como fonte de carbono e, ainda, aqueles compostos naturais cujas concentrações aumentam em função da atividade humana) de diversas fontes poluidoras. O período de aclimação depende da natureza e toxicidade do composto, do grau de contaminação e da espécie de microrganismo (SPILBORGHS, 1997).

Atualmente, acredita-se que três etapas são necessárias para a aclimação: (i) indução de enzimas específicas ausentes ou presentes em baixos níveis antes da exposição; (ii) seleção de novas capacidades metabólicas produzidas por mudanças genéticas; (iii) aumento do número de organismos na população ativa (SPILBORGHS, 1997).

Cabe ressaltar que o crescimento microbiológico depende de outros fatores, tais como: interações bióticas, citando-se a competição e a predação; e

fatores abióticos, tais como: presença e atividade de água, temperatura, pH, presença de materiais tóxicos, como metais, o tipo e quantidade de carbono orgânico presente, receptores de elétrons e concentração de nutrientes inorgânicos, como nitrogênio e fósforo (BAKER & HERSON, 1994).

Com relação à água, mais importante que a quantidade é sua atividade. A presença de água disponível para a célula é essencial para o seu crescimento. Geralmente, os microrganismos dependem de atividade de água (α_w) entre 0,9 e 1,0 para sobreviver. Algumas bactérias conseguem se desenvolver em ambientes com $\alpha_w = 0,7$ (como o Mar Morto), embora atividades inferiores a 0,9 sejam, geralmente, limitantes para a biodegradação. Quanto à temperatura, o aumento neste parâmetro causa aumento nos processos biológicos, até o limite da desnaturação das proteínas, quando as atividades celulares são inibidas e as células morrem. Valores de pH entre 6,0 e 8,0 são considerados os ideais para a atividade microbiana, tendo sido reportado o valor de 7,8 como sendo o ideal para degradação microbiológica de hidrocarbonetos de petróleo (BAKER & HERSON, 1994). A variação de pH tem, além da ação direta sobre os microrganismos, um papel fundamental na química do solo e das águas naturais, uma vez que pode disponibilizar ou remover nutrientes e compostos tóxicos devido à atividade do íon hidrogênio em solução (EWEIS *et al.*, 1994).

Com relação à nutrição, deve-se lembrar que o crescimento populacional de microrganismos depende da presença de nutrientes para a síntese de novas células. Destes nutrientes, o carbono é o mais importante, podendo ser incorporado a partir de compostos orgânicos ou do dióxido de carbono (BAKER & HERSON, 1994; EWEIS *et al.*, 1994). Tomando-se por base a fonte de carbono e energia, pode-se classificar os microrganismos em quatro classes apresentadas na Tabela 4.2.

Os microrganismos considerados quimio-heterótrofos são os ideais para serem empregados em projetos de biorremediação, uma vez que utilizam os compostos orgânicos tanto como fonte de energia como de carbono, o que pode levá-los à completa mineralização. Dentro deste grupo, alguns

organismos apresentam uma certa limitação, metabolizando apenas alguns compostos, enquanto outros são bastante versáteis. As *Pseudomonas* são consideradas capazes de degradar mais de 90 compostos diferentes (BAKER & HERSON, 1994).

TABELA 4.2. Classificação nutricional dos microrganismos

Grupo	Fonte de carbono	Fonte de energia
Foto-autótrofos	CO ₂	Luz
Foto-heterótrofos	Carbono orgânico	Luz
Químio-autótrofos	CO ₂	Compostos inorgânicos (amônia, por exemplo)
Químio-heterótrofos	Carbono orgânico	Compostos orgânicos

Fonte: Baker & Herson, 1994.

O catabolismo de compostos orgânicos pode ser dividido em dois grupos principais: a fermentação e a respiração. Na fermentação tanto o doador quanto o receptor de elétrons são compostos orgânicos. Assim, no final do processo, obtêm-se alguns compostos mais oxidados e outros mais reduzidos que o composto original. A fermentação não apresenta bons resultados para a biorremediação. Na respiração, ocorre a oxidação do composto orgânico enquanto um inorgânico é reduzido. O principal receptor de elétrons é o oxigênio e os organismos que o utilizam são chamados de aeróbios. O emprego de outros receptores, como o nitrato, o sulfato e o dióxido de carbono, também é possível e os organismos que os utilizam podem ser os aeróbios facultativos e os anaeróbios (estes últimos não toleram a presença de oxigênio gasoso). A respiração é mais relevante para estudos de degradação para fins de tratamento (EWEIS *et al.*, 1994).

Outros nutrientes fazem-se necessários para o crescimento e reprodução dos microrganismos, como o nitrogênio. Organismos que degradam xenobióticos em ambientes naturais, geralmente, dependem de nitrogênio nas formas ditas “fixadas”, que são nitrato, nitrito e nitrogênio orgânico. Por outro lado, o principal limitante do crescimento populacional de microrganismos é o fósforo devido à sua baixa solubilidade em água e na solução do solo (BAKER & HERSON, 1994).

4.3 - BIODEGRADAÇÃO E BIORREMEDIAÇÃO

A biodegradação é definida como a redução de complexidade de compostos químicos, catalisada biologicamente. No caso de compostos orgânicos, freqüentemente, mas não necessariamente, este processo leva à conversão do carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre, além de outros elementos, às suas substâncias inorgânicas mais estáveis. Entretanto, esta mineralização nem sempre é atingida (ALEXANDER, 1999; LANÇAS *et al.*, 1994).

Deste modo, pode-se obter, durante o processo de biodegradação de um determinado poluente, compostos mais tóxicos que o original que levem à morte de todos os microrganismos envolvidos, diminuindo a eficiência do processo. Porém, uma associação de diferentes comunidades microbianas pode aumentar a degradação de poluentes, uma vez que os excrementos de um grupo podem servir de alimento para outro (ALEXANDER, 1999; AMARANTE Jr., 2002). Outras associações ocorrem e podem ser de extrema relevância, nomeadamente aquelas que ocorrem entre diferentes substâncias e que podem alterar as características físicas ou químicas do composto que se deseja degradar, os chamados sinergismos (quando duas ou mais substâncias interagem aumentando o efeito uma da outra) e antagonismos (quando substâncias interagem diminuindo sua ação). Um exemplo é a ação de surfactantes que podem aumentar a mobilidade, solubilidade e biodisponibilidade de alguns xenobióticos (BAKER & HERSON, 1994).

Os processos envolvidos na degradação podem consistir em sistemas aeróbios, em que os compostos orgânicos são levados às suas formas oxidadas (CO_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , entre outros), ou anaeróbios, em que ocorre a redução do substrato (produzindo-se gases como: CH_4 , NH_3 , H_2S) (SOCCOL *et al.*, 1995; AMARANTE Jr., 2002).

Além disto, os processos abióticos ocorrerão em concorrência com os biológicos de degradação. Assim, reações fotoquímicas ocorrerão na atmosfera ou nas camadas mais superficiais do solo e das águas, podendo destruir totalmente um dado composto, ou causar significativas mudanças estruturais, que aumentem ou diminuam a toxicidade do substrato a ser

consumido (LANÇAS *et al.*, 1994; BARCELÓ & HENNION, 1997; AMARANTE Jr., 2002).

Cabe ainda ressaltar que existem duas visões da biodegradação: a visão da engenharia e a ecológica. A primeira consiste na inserção de tecnologias e no uso de métodos externos para a restauração do solo. A segunda envolve a manipulação de processos de mobilização, fixação e degradação de poluentes inerentes ao próprio solo ou corpo aquático e aos organismos contidos ali (HAIMI, 2000). É necessário, portanto, um esforço conjunto destas duas áreas para a eficiente recuperação de áreas degradadas.

O ciclo de vida dos microrganismos no solo é constituído das etapas de crescimento e multiplicação (que diminui a concentração de poluentes, uma vez que os utiliza como fonte de nutrientes e energia) e de morte e decomposição (quando este material é novamente disponibilizado), continuando a participar do ciclo, uma vez que alimenta a atividade de outros organismos (TANCK, 1992).

A degradação de poluentes pode ocorrer não apenas pela ação de um organismo, mas também pela associação de diferentes seres. A relação entre os seres vivos do solo pode favorecer ou retardar o processo de degradação. Dentre tais relações, destacam-se: neutralismo (organismos que se comportam de forma independente); simbiose (cada simbiote se beneficia e depende do outro); protocooperação (duas espécies associam-se sem a cooperação de um ser vivo obrigatório para suas existências); comensalismo (somente uma espécie beneficia-se embora outra não seja afetada); competição (disputa pelos nutrientes ou outras necessidades comuns), entre outras (TANCK, 1992).

4.3.1 - Biorremediação

A biorremediação é definida como o tratamento em que os organismos da água ou do solo (microrganismos autóctones) são estimulados a empregarem compostos orgânicos como fonte de carbono (SPILBORGHS, 1997). A biorremediação tem sido reconhecida como eficiente, ambientalmente segura e de baixo custo para recuperar áreas degradadas pela inserção de

resíduos perigosos. Esta técnica utiliza a estimulação da população de microrganismos nativos da região afetada ou o acréscimo de cepas selecionadas. Há ainda a otimização de processos abióticos pela biodegradação (HAIMI, 2000). Tem-se classificado a biorremediação (SPILBORGHS, 1997), como: (i) "*on site*", definido como o tratamento em que o meio contaminado (água ou solo) pode ser removido do local; e (ii) "*in situ*", definida como a remediação feita no próprio local contaminado.

Outra classificação da biorremediação é apresentada por Baker e Herson, 1994, sendo apresentada na Tabela 4.3. Esta classificação não é baseada no local onde é realizado o tratamento, e sim na forma como é desenvolvido.

TABELA 4.3. Técnicas de tratamento por biorremediação (Fonte: BAKER & HERSON, 1994; BOOPATHY, 2000).

Bioaugmentation	Adição de cepas de bactérias a um meio contaminado, freqüentemente em biorreatores e sistemas <i>ex situ</i> .
Biofiltros	Uso de colunas contendo microrganismos para tratamento de atmosferas contaminadas.
Bioestimulação	Estimulação de microrganismos nativos em solos ou águas subterrâneas, sendo realizada <i>in situ</i> ou <i>ex situ</i> .
Biorreatores	Degradação realizada em reservatórios, geralmente utilizada para tratamento de líquidos.
Bioventilação	Técnica que emprega a injeção de oxigênio através do solo, em geral, para estimular o crescimento e a atividade microbiana.
Biorremediação intrínseca	Biorremediação não-assistida, apenas se realiza o monitoramento.
Compostagem	Processos aeróbicos e termofílicos de tratamento em que o material contaminado é misturado com uma carga, pode ser realizada através de pilha estática, pilha aerada ou em reatores alimentados continuamente.
Langfarming	Sistema de tratamento em fase sólida, que pode ser realizado <i>in situ</i> ou em células de tratamento.

A biodisponibilidade de um composto químico durante a biorremediação é determinada pela taxa de transferência de massa para a

atividade da célula microbiana (CHOI *et al.*, 1999; GIBSON, 1984). Os hidrocarbonetos, por exemplo, são hidrofóbicos e de difícil degradação por não apresentarem muita disponibilidade para os microrganismos.

4.3.2 - Biorremediação de solo

A biorremediação *in situ* é uma tecnologia que vem sendo estudada nos últimos anos no intuito de tratar e recuperar áreas degradadas, podendo ser aplicada tanto na zona saturada quanto não saturada do solo (SPILBORGHS, 1997). Os microrganismos são capazes de transformar a matéria orgânica (compostos derivados do petróleo, madeira, solventes orgânicos halogenados ou não, pesticidas, entre outros), levando-os a outras substâncias intermediárias ou à total degradação, obtendo energia, água, sais minerais e gases (como dióxido de carbono, metano e gás sulfídrico). Neste caso, o poluente funciona como fonte de carbono, sendo necessário adicionar nitrogênio e fósforo, nutrientes específicos, sais minerais ou agentes oxidantes que funcionem como receptores de elétrons (SPILBORGHS, 1997).

A remediação *in situ* apresenta eficiência de degradação de 80% em locais contaminados com óleo e PCB (policlorobenzeno), porém apresenta uma queda nesta eficiência em solos argilosos e siltosos. Algumas desvantagens são: (i) o custo bastante elevado para grandes áreas contaminadas e (ii) a introdução de substâncias ou organismos que deverão ser retirados posteriormente (SPILBORGHS, 1997). Outras desvantagens citadas são a baixa degradabilidade de compostos orgânicos altamente clorados, bem como os metais que podem ser transferidos de fase, mas não degradados (BAKER & HERSON, 1994). Entretanto, a biorremediação apresenta menor custo que outras tecnologias *on site*, como a incineração (COOKSON Jr., 1995). Além disto, a diminuição dos distúrbios provocados no local, a eliminação de custos com transporte, a eliminação permanente de resíduos e poder ser acoplado a outras técnicas são também citados como vantagens. As etapas que oferecem maior custo são o acesso à área a ser tratada, sua caracterização e a avaliação da biodegradabilidade dos compostos de interesse, bem como o

monitoramento da degradação dos compostos e da comunidade de organismos envolvidos no processo (BAKER & HERSON, 1994).

Para a remediação *in situ* o solo não deve apresentar: (i) baixa permeabilidade (uma vez que isto dificultaria a penetração de água e nutrientes); (ii) pH menor que 5,5 (inibe a atividade microbiana); (iii) baixo conteúdo de matéria orgânica; (iv) umidade menor que 10% (impede o desenvolvimento das bactérias); e (v) sítio hidrogeológico desfavorável (o fluxo da água subterrânea deve permitir o bombeamento para a extração e reinjeção, no caso de tratamento de lençóis subterrâneos) (SPILBORGHS, 1997).

O primeiro passo na utilização da biorremediação é a caracterização do sítio, principalmente o potencial biológico do sistema, parâmetros físicos, químicos e hidrogeológicos. O tempo de tratamento é relacionado com a taxa de degradação dos compostos, a disponibilidade destas substâncias, o volume do material contaminado, o nível de descontaminação pretendido, as condições climáticas, entre outras (COOKSON Jr., 1995; KING *et al.*, 1992).

A biorremediação de solos pode ser efetuada pelo método denominado "biopilhas" onde ocorre a compostagem. Este método consiste na formação de pilhas do solo contaminado, no intuito de favorecer a atividade aeróbia de microrganismos. Para aumentar a eficiência neste processo, adicionam-se nutrientes e promove-se a umidade. Deve-se, entretanto, ter o cuidado de construir estas pilhas sobre uma área impermeabilizada, evitando-se a lixiviação de produtos tóxicos para os lençóis subterrâneos (JØRGENSEN *et al.*, 2000).

4.3.3 - Biodegradação de óleos

O Petróleo e os seus produtos, como combustíveis e óleos lubrificantes, são misturas complexas de compostos orgânicos, principalmente hidrocarbonetos. Óleos podem ser constituídos por compostos mais simples como alguns alcanos até aqueles mais complexos como os asfaltenos (ROQUE *et al.*, 1994). Destes, os lubrificantes são constituídos por

hidrocarbonetos de cadeias com número de átomos de carbono entre 26 e 38. Alguns lubrificantes leves têm entre 18 e 25 átomos de carbono (BAKER & HERSON, 1994). Riis *et al.* (1996) estudaram a degradação de óleos combustíveis e constataram que os cicloalifáticos são os principais componentes da fração saturada e os aromáticos sulfurosos policíclicos o são da fração aromática. Torna-se importante ressaltar que a composição destes óleos depende da origem, de modo que óleos brasileiros são, geralmente, parafínicos.

A indústria petrolífera tem empregado a degradação em solo, destinando áreas para este fim, desde que foram determinados em estudos laboratoriais que hidrocarbonetos podem ser metabolizados pela microbiota do solo em estudos de microcosmos ou experimentos de campo (CHAÎNEAU *et al.*, 1999; CHAÎNEAU *et al.*, 1996; CHAÎNEAU *et al.*, 1995).

Citam-se os hidrocarbonetos alifáticos como sendo mais suscetíveis à biodegradação que os aromáticos. Do mesmo modo, cadeias lineares são degradadas mais facilmente que cadeias ramificadas. Hidrocarbonetos insaturados são mais persistentes que os saturados. Cadeias longas são mais prontamente degradadas que moléculas menores, uma vez que cadeias de tamanho menor que 9 carbonos são tóxicas aos microrganismos. Alguns microrganismos são hábeis para degradar moléculas pequenas, entretanto o tamanho ideal de cadeias está entre 10 e 20 átomos de carbono (BAKER & HERSON, 1994). Segundo Baker e Herson (1994), a degradação de hidrocarbonetos se dá principalmente por oxidação, assim, tem-se a inclusão de oxigênio no carbono terminal, formando-se um álcool. Este álcool é subsequente oxidado ao aldeído correspondente e finalmente a um ácido, conforme esquema de oxidação a seguir:

Para a utilização de microrganismos na degradação de moléculas orgânicas que são consideradas poluidoras é essencial saber se o composto presente no meio ambiente é susceptível à degradação. A diversidade da

composição química de óleos, juntamente com a variabilidade das condições climáticas e outros fatores ambientais (umidade, fósforo disponível, fonte de nitrogênio e potássio, pH do meio, entre outros) são fatores importantes que devem ser considerados para que o uso da biorremediação seja eficiente (BORONIN *et al.*, 1997).

Recentemente, diversos acidentes, com conseqüente derramamento de óleos de diversas características, bem como o aumento na atenção despendida pela comunidade, levou ao desenvolvimento de pesquisas mais efetivas e com menores custos para a mitigação das condições advindas de derramamentos. Uma das técnicas mais empregadas tem sido a biorremediação, que é efetuada, principalmente, em três formas distintas, quais sejam: (i) o enriquecimento de ambientes com limitada concentração de nutrientes; (ii) adição de nutrientes e de microrganismos, para ambientes que não apresentam organismos nativos com atividade sobre os compostos investigados; e (iii) adição de surfactantes para aumentarem a área superficial do óleo e sua biodisponibilidade (ROQUES *et al.*, 1994).

A Tabela 4.4 apresenta alguns estudos em que a biodegradação ou biorremediação de óleos minerais tem sido empregada "*in situ*" ou "*in vitro*". Estudo sobre a degradação de alguns hidrocarbonetos sugere que o processo anaeróbio ocorre em menor velocidade que a degradação aeróbia. Além disto, a coexistência de hidrocarbonetos não acarretou diferença na degradação estudada para cada um deles isoladamente. Demonstrou-se, ainda neste estudo, que variações grandes de salinidade, como as sofridas em estuários, não proporcionam diminuição ou aumento na biodegradação de tais compostos (YAMANE *et al.*, 1997a).

A existência de resíduos não degradados após a biorremediação pode ser explicada por: (i) comunidade microbiológica inadequada; (ii) limitações fisiológicas (carência de nutrientes ou oxigênio, por exemplo); (iii) biodisponibilidade insuficiente do óleo; (iv) produção de metabólitos tóxicos; ou (v) existência de composto persistente (WANG *et al.*, 1995). Aos compostos que são de difícil degradação (ou que não se degradam) chamam-se

marcadores ou biomarcadores. Estes compostos são empregados no sentido de se relacionar a presença de um determinado composto (no ambiente ou em tecidos animais ou vegetais) com a origem da contaminação, uma vez que alguns deles são de origem bem definida (WANG *et al.*, 1994).

TABELA 4.4. Estudos de biodegradação de óleos "*in situ*" ou "*in vitro*".

Local	Matriz	Tipo de degradação	Referência
Tóquio	Hidrocarbonetos de petróleo (hexadecano, fenantreno e antraceno)	<i>In vitro</i> (aeróbia e anaeróbia em sedimentos)	Yamane <i>et al.</i> , 1997 ^a
Tóquio	Asfaltenos	<i>In vitro</i> (em sedimentos)	Yamane <i>et al.</i> , 1997b
Várias origens	Óleo cru	<i>In vitro</i>	Murakami <i>et al.</i> , 1985
Baía Chedabucto	Triterpanos, alcanos, HPA* e esteranos	Envelhecimento (degradação natural <i>in locu</i>) água do mar	Wang <i>et al.</i> , 1994
-	Óleo diesel	Envelhecimento em solo	Riis <i>et al.</i> , 1996
-	Óleo diesel	Envelhecimento em solo e água	Eriksson <i>et al.</i> , 1998
Círculo Ártico	Óleo cru	Envelhecimento em água do mar	Wang <i>et al.</i> , 1995
-	Naftaleno, o-xileno e m-xileno	<i>In vitro</i> (bactéria redutora de sulfato) processo anaeróbio	Morasch <i>et al.</i> , 2001
-	Hidrocarbonetos de petróleo	Biopilhas (solo)	Jørgensen <i>et al.</i> , 2000
-	m-toluato	<i>In vitro</i> (uso de vegetais) em solo	Suominen <i>et al.</i> , 2000
Montmirail (Marne, França)	Frações saturadas, aromáticas, e polar de óleos combustíveis.	<i>In situ</i> (estudo do potencial de degradação oferecido por fungos e bactérias em solos agriculturáveis)	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
Bertioga – SP	Benzeno, tolueno, xileno (provenientes de gasolina)	<i>In situ</i> (aqüífero contaminado) tratamento por aeração	Spilborgs, 1997

*HPA: hidrocarbonetos poliaromáticos.

Para o tratamento de aqüíferos, a tecnologia mais empregada consiste na injeção de ar, favorecendo a degradação dos compostos por ação dos microrganismos locais. Estudos de degradação de benzeno, tolueno e xileno comprovaram a total degradação destes três compostos após 126 dias (SPILBORGH, 1997).

4.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O crescimento da população mundial e, conseqüentemente, das necessidades de produção de alimentos e bens de consumo tem levado à geração de resíduos e a poluição com fontes difusas ou pontuais do solo e dos corpos d'água. Esta poluição levou ao desenvolvimento de diversas tecnologias para o tratamento destes ambientes no sentido de recuperá-los. A busca constante por novas tecnologias encontra base, inicialmente, nos processos de metabolismo e catabolismo naturais e na necessidade de se obter a melhor relação custo/benefício, bem como nas características do ambiente a ser tratado e nas limitações de cada técnica.

Devido a isto, o estudo da biodegradação fornece relevantes informações para o desenvolvimento de técnicas de biorremediação, considerada adequada e de baixo custo, principalmente para serem adotados no tratamento de ambientes sensíveis. Entretanto, o comportamento de cada poluente no solo difere consideravelmente em função das características químicas de cada molécula. Alguns podem sofrer principalmente degradação biológica, enquanto outros são degradados por fotólise, hidrólise ou outros mecanismos. A interação com a matéria orgânica e com os sítios inorgânicos de ligação no solo ou nos corpos aquáticos podem diminuir a disponibilidade dos poluentes para as vias de degradação biológicas ou abióticas.

Para o melhor entendimento dos processos envolvidos na biodegradação e biorremediação de ambientes contaminados, faz-se necessário um estudo interdisciplinar, devido à complexidade das relações que existem entre os diferentes organismos, o meio abiótico, os poluentes, principalmente se estes se encontram em misturas. Tais estudos envolvem desde a química, a microbiologia, a ecologia, a geologia até a engenharia (BAKER & HERSON, 1994). O presente estudo é um passo inicial na busca por métodos analíticos exatos e precisos e entendimento da dinâmica de lubrificantes, no intuito de nortear programas de monitoramento que visem o estabelecimento de normas jurídicas que regulamentem limites adequados para manuseio e tratamento de solos e águas contaminados.

5 - CARACTERIZAÇÃO DOS FLUIDOS DE CORTE – ANÁLISE CROMATOGRÁFICA E ESPECTROSCOPIA

5.1 - INTRODUÇÃO

Na usinagem de metais, os fluidos utilizados para a refrigeração e lubrificação da região de corte são responsáveis por um grande volume de rejeito que, ao entrar em contato com o ambiente, pode vir a contaminar o solo, os mananciais e as águas subterrâneas. Além disto, tais fluidos podem ser prejudiciais à saúde dos operários que têm contato prolongado com os mesmos, dos moradores de regiões afetadas pelo descarte dos efluentes das indústrias que os utilizam, bem como afetam os ecossistemas em que são inseridos (AMARANTE Jr. *et al.*, 2002). Estima-se que sejam despejados em torno de 600.000 tonéis de lubrificantes todos os anos na união européia (BATTERSBY & MORGAN, 1997). No Brasil, são gerados entre 250 e 300.000 m³ de óleos lubrificantes usados, dos quais 70% em veículos automotivos. Do total deste resíduo, apenas 16% são rerefinados (LUBRIFICANTES, [on line], 2001).

A diversidade de lubrificantes disponíveis no mercado leva à produção de rejeitos complexos, constituídos de diferentes poluentes orgânicos que podem afetar o ambiente. Embora existam estudos para entender a dinâmica e destino de óleos minerais derivados de petróleo em diferentes matrizes (WANG *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1995; RIIS *et al.*, 1996; BURNS & CODI, 1999; EI-TOKHI & MOSTAFA, 2001; WANG *et al.*, 2001), existem poucos relacionados aos fluidos de corte (RELLA *et al.*, 2001) que apresentam peculiaridades, uma vez que levam em sua composição, além dos óleos base, diferentes aditivos, como emulsificantes, tensoativos, corantes, anti-oxidantes, biocidas, entre outros (TEXACO, 1986; AMARANTE Jr. *et al.*, 2002). A Tabela 5.1 apresenta alguns dos principais aditivos usados nos fluidos de usinagem.

TABELA 5.1. Aditivos usados em fluidos de corte (Adaptada da revista de Lubrificação, 1986).

Tipo de aditivo	Compostos empregados	Propósito	Mecanismo de ação
Antioxidantes ou inibidores de oxidação.	Compostos orgânicos contendo enxofre, fósforo e nitrogênio, como aminas, sulfetos e hidroxissulfetos.	Impedir a corrosão e a formação de verniz e borra na superfície metálica.	Decompõem os hidróxidos e impedem a formação de radicais livres.
Preventivos de corrosão.	Sufonatos, aminas, óleos graxos e alguns ácidos graxos, ácidos de cera oxidada, fosfatos, derivados de alguns ácidos graxos.	Evitar a corrosão durante paralisações das atividades, transporte e armazenamento.	Adsorvem sobre a superfície ativa tipo polar. Formam película que impede o ataque da água e de ácidos corrosivos.
Agentes de oleosidade, resistência de película, extrema pressão e antidesgaste.	Compostos orgânicos contendo cloro, fósforo e enxofre, como ceras cloradas, fosfatos e fosfitos orgânicos (i.e. tricresilfosfato e ditiofosfato de zinco).	Reduzir o atrito, impedir escoamento metálico, escoriação e grimpamento. Reduz o desgaste.	Forma-se uma película sobre a superfície metálica que é menos resistente ao cisalhamento que o metal, reduzindo o atrito.
Cargas sólidas.	Grafite, talco, argila, carbonato de cálcio, silicato de sódio.	Impedir o agarramento ou caldeamento do metal.	Formam um espaçador físico que impede o contato metálico.
Passivadores metálicos.	Compostos contendo complexos de nitrogênio e enxofre, como algumas aminas e sulfetos complexos.	Passivar, impedir ou neutralizar o efeito catalítico dos metais na oxidação.	Formam película inativa por adsorção ou absorção. Formam complexos inativos com os cátions metálicos solúveis ou insolúveis.
Agentes de elasticidade e aderência.	Polímeros de elevado peso molecular e sabões de alumínio de ácidos graxos não-saturados.	Aumentar adesividade do lubrificante formando uma película protetora.	Aumentam a viscosidade do lubrificante.
Emulsificantes.	Sabões de gorduras e ácidos graxos, ácidos sulfônicos ou ácidos naftênicos.	Formar emulsão do óleo com a água para uso como refrigerante e lubrificante.	Reduzem a tensão superficial, de forma que o óleo possa ser disperso na água.
Bactericidas ou desinfetantes.	Álcoois, aminas, aldeídos, fenóis e compostos contendo cloro.	Controlar a degradação de matéria orgânica com conseqüente formação de odor, manchas nos metais e quebra de emulsão.	Reduzem a atividade bacteriana.
Agentes controladores de odor.	Perfumes sintéticos solúveis em óleos.	Mascarar odores desagradáveis ou conceder odor agradável.	Substâncias odoríferas fornecem odor agradável ao fluido.
Inibidores de espuma.	Polímeros de silicone.	Impedir a formação de espuma estável.	Reduzem a tensão interfacial, permitindo o agrupamento de pequenas bolhas de ar, formando bolhas grandes que se separam.

A técnica analítica mais empregada na análise de óleos é a cromatografia gasosa (WANG *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1995; RIIS *et al.*, 1996; BURNS & CODI, 1999; EI-TOKHI & MOSTAFA, 2001; WANG *et al.*, 2001), devido à volatilidade e estabilidade térmica destes compostos, além da alta resolução oferecida pela própria técnica. Os detectores empregados têm sido o de ionização em chama (DIC), o qual se mostra como detector universal e é empregado em estudos quantitativos, e a espectrometria de massas (EM), que é empregada na identificação dos constituintes dos óleos. Alguns estudos citam o emprego de detectores de infravermelho (IV) que auxiliam na identificação dos compostos quando usado em conjunto com a EM, uma vez que fornece informações adicionais (JIROVETZ *et al.*, 1992a; JIROVETZ *et al.*, 1992b; RIIS *et al.*, 1996; RELLA *et al.*, 1999). Diversas fases estacionárias têm sido desenvolvidas com o objetivo específico de separar e determinar constituintes de óleos (BETTS, 2001).

Estudos que empregam apenas a IVTF têm sido citados na literatura especialmente quando não se dispõe de equipamentos de alto custo como no caso da CG-IVTF. Nestas pesquisas são destacados os grupamentos funcionais presentes na mistura, avaliando-se a degradação (DONG *et al.*, 2001) ou a presença de tais óleos em diferentes matrizes (WANG *et al.*, 1999).

A espectrofluorimetria também têm sido empregada como detector, neste caso para a cromatografia líquida de diferentes frações do petróleo, incluindo os lubrificantes (KRAHN & YIITALO, 1993), podendo-se empregar esta técnica nos estudos de derramamentos (PATRA & MISHRA, 2002). A análise espectrofluorimétrica também tem sido empregada para estudos de derramamentos de petróleo ou seus derivados (GEORGE *et al.*, 2002). Ela pode ser realizada no modo chamado *Excitation Emission Matrix Fluorescence (EEMF)* em que são variados os comprimentos de onda de excitação e emissão, podendo-se relacionar os resultados com a presença ou ausência de diferentes cromóforos na amostra (LIU *et al.*, 2003). Neste tipo de estudo, varia-se o comprimento de onda de excitação, obtendo-se um resultado tridimensional, onde são relacionados os comprimentos de onda de excitação e emissão com as intensidades de emissão. Dados da literatura sugerem que a

excitação de hidrocarbonetos com dois ou três anéis aromáticos resultam em picos de emissão em uma estreita faixa entre 300 e 350 nm ou 350 e 400 nm, enquanto compostos mais polares e asfaltenos apresentam bandas largas de emissão quando excitados em 260 nm (HE *et al.*, 2003).

Devido à diversidade de características dos lubrificantes empregados na região de São Carlos, destinados às indústrias de usinagem de metais, escolheram-se sete fluidos de corte, de origem mineral, vegetal, sintética ou combinada sintética com mineral, analisando-se por CG-DIC e CG-EM, no intuito de obter informações sobre sua composição, de modo que estas possam auxiliar em estudos posteriores para a degradação destes compostos em locais contaminados.

5.2 - MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 - Sistema cromatográfico

Os sistemas cromatográficos empregados foram (i) CG HP 5890, utilizando coluna HP-5 (25 m x 0,22 mm D.I. x 0,33 µm de filme) com detector de ionização em chama (DIC) e (ii) CG MS 5970, com coluna HP-1 (50 m x 0,22 mm D.I. x 0,33 µm de filme) e detecção por espectrometria de massas. Em ambos os casos, empregou-se programação de temperatura em que se iniciava a análise em 50°C, mantendo-se por 2 min, aumentando-se 5°C/min até 300°C, mantendo-se por 25 min. O injetor e o detector foram mantidos a 300°C.

5.2.2 - Infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

O equipamento empregado foi proveniente da BOMEN, modelo MB102. Foram preparadas pastilhas de KBr, formando-se um filme do óleo na superfície da pastilha.

5.2.3 - Espectrômetro de Fluorescência

O equipamento empregado foi proveniente da HITACHI, modelo F4500. As amostras foram solubilizadas em água ou em uma mistura n-hexano/diclorometano (1:1, v/v) de acordo com a solubilidade de cada produto. O branco foi feito com o referido solvente.

5.2.4 - Reagentes e Preparação das Amostras

Os solventes empregados, n-hexano, diclorometano e metanol (Mallinckrodt), foram de grau cromatográfico. Os fluidos empregados foram cedidos pelo Núcleo de Manufatura Avançada (NUMA) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC – USP), sendo de diferentes naturezas, como mostrado na Tabela 5.2 e na Figura 5.1. Cada amostra teve uma alíquota de 100 µL retirada e solubilizada em n-hexano. Aquelas que apresentaram uma parcela insolúvel neste solvente tiveram seus resíduos solubilizados em diclorometano e aquelas que permaneceram com frações insolúveis foram solubilizadas com metanol.

TABELA 5.2. Denominação dada a cada amostra de fluido de corte, sua natureza e solubilidade.

Denominação	Natureza	Solubilidade em água
A	Vegetal	Solúvel
B	Sintético	Solúvel
C	Semi-sintético (sintético + mineral)	Emulsionável
D	Sintético	Insolúvel
E	Sintético	Insolúvel
F	Mineral	Insolúvel
G	Mineral	Insolúvel

FIGURA 5.1. Aspecto dos fluidos de corte empregados neste estudo.

5.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frações obtidas para cada fluido são mostradas na Tabela 5.3. Assim, observou-se que os lubrificantes de D a G foram completamente solúveis em n-hexano; os lubrificantes A e C apresentaram parte solúvel em n-hexano e parte em diclorometano; enquanto o fluido B apresentou resíduo mesmo após tratamento com estes dois solventes, sendo necessário tratá-lo também como metanol e obtendo-se três frações.

TABELA 5.3. Frações obtidas para cada fluido de corte estudado.

Denominação	F ₁ (n-hexano)	F ₂ (diclorometano)	F ₃ (metanol)
A	X	X	-
B	X	X	X
C	X	X	-
D	X	-	-
E	X	-	-
F	X	-	-
G	X	-	-

Os cromatogramas obtidos para os fluidos em estudo estão apresentados nas Figuras de 5.2 a 5.8. Os óleos de origem mineral apresentam perfil cromatográfico bastante característico de n-parafinas (Figuras 5.5 a 5.8). Para os fluidos vegetais e sintéticos, observam-se perfis mais variados, alguns bastante complexos. Com o intuito de se investigar as composições destes óleos, foram feitas as análises por CG com detecção por EM. Os resultados referentes à identidade dos compostos são apresentados na Tabela 5.4.

FIGURA 5.2 - Cromatograma obtido para o fluido A, dissolvendo-se 100 μ L deste em 1 mL de metanol, obtido em sistema CG-DIC.

FIGURA 5.3 - Cromatogramas obtidos para o fluido B, fracionando-se 100 μ L deste em 1 mL do solvente: (A) n-hexano, (B) diclorometano, (C) metanol, obtidos em sistema CG-DIC.

FIGURA 5.4 - Cromatogramas obtidos para o fluido B, fracionando-se 100 μ L deste em 1 mL do solvente: (A) n-hexano, (B) diclorometano, obtidos em sistema CG-DIC.

FIGURA 5.5 - Cromatograma obtido para o lubrificante D, dissolvendo-se 100 μ L deste em 1 mL de n-hexano, obtido em sistema CG-DIC.

FIGURA 5.6 - Cromatograma obtido para o lubrificante E, dissolvendo-se 100 μ L deste em 1 mL de n-hexano, obtido em sistema CG-DIC.

FIGURA 5.7 – Cromatograma obtido para o lubrificante F, dissolvendo-se 100 μ L deste em 1 mL de n-hexano, obtido em sistema CG-DIC.

FIGURA 5.8 - Cromatograma obtido para o lubrificante G, dissolvendo-se 100 μ L deste em 1 mL de n-hexano, obtido em sistema CG-DIC.

TABELA 5.4 – Componentes dos fluidos estudados.

Óleo	Natureza	Compostos encontrados	Tamanho das cadeias (átomos de carbono)
A	Vegetal	Ésteres com alceno cíclico	22 átomos de carbono
		Ésteres alifáticos	20-26 átomos de carbono
		silicones	Estruturas não determinadas
B	Sintético	Glicol	3 átomos de carbono
		Aminas terciárias	8- átomos de carbono
		Ésteres do ácido ftálico	12-16 átomos de carbonos

		silicones	Estruturas não determinadas
C	Semi-sintético (sintético + mineral)	n-parafinas Amida graxa Álcool com duplas ligações conjugadas	10-21 átomos de carbono 16-23 átomos de carbono 8 átomos de carbono
D	Sintético	Hidrocarbonetos insaturados Silicones	21 átomos de carbono Estruturas não determinadas
E	Sintético	Hidrocarbonetos insaturados	17 átomos de carbono
F	Mineral	n-parafinas Hidrocarbonetos ramificados Silicones	15-25 átomos de carbono Estruturas não determinadas
G	Mineral	Hidrocarbonetos insaturados, saturados e ramificados.	16-24 átomos de carbono

Os grupos funcionais esperados, de acordo com a origem e características físicas, foram confirmados através da técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Deste modo, para fluidos de origem mineral, foram encontradas n-parafinas ou hidrocarbonetos insaturados, alguns dos quais com cicloalcenos ou anéis aromáticos. Para alguns fluidos sintéticos (D e E) foram encontrados hidrocarbonetos insaturados, enquanto para o fluido B observou-se a presença de glicol, aminas terciárias e ésteres do ácido ftálico. Para o fluido vegetal, detectaram-se ésteres alifáticos e de alcenos cíclicos. Para o fluido C, semi-sintético, foram observados n-parafinas (provenientes de óleos minerais), amidas graxas e álcool com duplas ligações conjugadas. Para a maioria dos lubrificantes foram observados silicones como aditivos, não sendo possível elucidar a estrutura molecular destes compostos.

A avaliação de fragmentogramas de substâncias provenientes de misturas totalmente desconhecidas é de difícil execução, sendo necessário aliar outras informações, como o espectro de infravermelho (IV). Este dado pode ser obtido facilmente para a mistura, mas não dispusemos de cromatógrafos acoplados a detector de IV, não sendo possível aliar estes dados a cada pico.

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) são apresentados nas Figuras 5.9 e 5.10. As principais bandas de absorção na região do infravermelho constam na Tabela 5.5.

FIGURA 5.9. Espectros de IVTF para os fluidos A, B e C.

Observou-se, para o fluido A, de origem vegeto-animal, bandas características de ésteres e de álcoois ou fenóis, este último confirmado por bandas de compostos aromáticos. A presença de ésteres é comum em fluidos de origem animal ou vegetal, em que os ácidos carboxílicos são levados ao éster correspondente. Grupos fenólicos podem estar presentes como agentes antioxidantes, visto que produtos de origem animal ou vegetal têm elevada tendência a sofrer processo oxidativo. Para o produto B, fluido sintético, observaram-se bandas características de álcoois e de aminas. Diversos fluidos sintéticos são baseados em glicóis e aminas terciárias. A inexistência de bandas de compostos aromáticos sugere que os radicais $-OH$ presentes não estão relacionados a fenóis, sugerindo a possibilidade de álcoois alifáticos. Quanto às aminas, a inexistência de bandas $N-H$ sugere a presença de aminas terciárias. Para o produto C, observam-se bandas características de grupos fenólicos ($-OH$ e $C=C$) e de amidas, além daquelas relacionadas às aminas.

FIGURA 5.10. Espectros de IVTF para os fluidos D, E, F e G.

Observou-se, para os fluidos D e E, sintéticos, bandas características de hidrocarbonetos de cadeia aberta, com indícios de ramificações. Bandas que sugerem cadeias ramificadas não foram observadas para os fluidos F e G.

TABELA 5.5. Atribuições de bandas de absorção na região IV.

Frequência (cm⁻¹)	Atribuições	Fluido
3500-3100	Deformação axial –OH	A, B, C
3007	Deformação axial assimétrica de C-H em HC=C	D
2928 e 2854	Deformação axial simétrica e assimétrica de –CH em –CH ₂ e –CH ₃	A, B, C, D, E, F, G
2125	Deformação axial de C=O em éster	B, C
1745	Deformação angular simétrica de C-H em –CH ₂ e –CH ₃	D, E, G
1735	Deformação axial de C=O em éster	A
1625	Deformação axial de C=C em aromáticos	A, B, C
1560-1461	Deformação angular assimétrica de –C-H em –CH ₂ e –CH ₃	A, B, C, D, E, F, G
1377-1097	Deformação angular simétrica de –C-H em –CH ₂ e –CH ₃ denotando a existência de estruturas ramificadas	D, E, F, G
1068	Deformação axial de –C-O em ésteres	A, B, C
721	Deformação angular no plano de –C-H em –CH ₂ e –CH ₃	B, C, D, E, F, G
720-400	Deformação angular simétrica fora do plano em –N-H de amidas	C

Fonte: PRETSCH *et al.*, 2000; PAVIA *et al.*, 1996.

Das análises por fluorescência, obtiveram-se os espectros apresentados nas Figuras de 5.11 a 5.17. Estes espectros não trazem informações com relação à estrutura dos compostos que constituem os óleos, mas podem ser empregados no monitoramento deste tipo de poluição, principalmente por apresentarem resultados bastante diferentes entre si. Entretanto, cita-se na literatura que compostos com um anel aromático ou com cadeias lineares apresentam máximo de fluorescência em menores comprimentos de onda (maior energia). Com o aumento no número de anéis aromáticos os máximos de emissão são deslocados para maiores comprimentos de onda, tendo sua banda de emissão alargada. Compostos mais polares e os asfaltenos apresentam bandas de emissão larga, com máximos de fluorescência tendendo para a região do visível (LIU *et al.*, 2003). É possível avaliar até mesmo características ácido-base das moléculas

constituintes da amostra em estudo pela variação do pH do meio e observação do espectro resultante (MIGUEL *et al.*, 2001).

FIGURA 5.11. Espectros de fluorescência do fluido A, obtidos para diferentes comprimentos de onda de excitação (310, 380 e 410 nm).

Percebe-se que a maior intensidade de fluorescência é observada quando o fluido A é excitado em 410 nm. Para o fluido B, a maior intensidade de emissão observada está relacionada à excitação em 310 nm, embora todos os três espectros tenham sido obtidos com bastante ruído. Para o fluido C, observa-se um espectro de fluorescência bastante diferente dos anteriores com máximos de emissão quando a excitação se dá em 380 nm.

As diferenças nos espectros de fluorescência não acrescentam informações com relação à estrutura, entretanto, considerando-se que estes óleos são solúveis (A e B) ou emulsionável (C) e que os espectros apresentaram visível diferença, pode-se empregar a fluorescência para investigar águas naturais contaminadas por tais compostos, sendo possível distingui-los.

FIGURA 5.12. Espectros de fluorescência do fluido B, obtidos para diferentes comprimentos de onda de excitação (310, 380 e 410 nm).

FIGURA 5.13. Espectros de fluorescência do fluido C, obtidos para diferentes comprimentos de onda de excitação (310, 380 e 410 nm).

Para os demais lubrificantes não foi possível realizar a análise espectrofluorimétrica em meio aquoso, visto que são insolúveis em água. Assim, a determinação foi efetuada em meio não aquoso, diluindo-se os óleos em uma mistura n-hexano/diclorometano (1:1, v/v). Esta informação foi considerada relevante, uma vez que, em monitoramentos ambientais, podem-se extrair os constituintes destes fluidos com esta mistura de solventes, realizando-se a análise por fluorescência (Figuras 5.14, 5.15 e 5.16). Na Figura 5.14 observa-se a emissão do fluido G em um pico mais estreito e intenso, enquanto os demais se apresentam mais largos e de menor intensidade. Nas Figuras 5.15 e 5.16 podem ser observados os picos ainda mais intensos do fluido G, embora se apresentem como uma banda mais larga que o observado para energia de excitação maior (menor comprimento de onda). Observa-se, ainda, nestes espectros, que a emissão não se dá em comprimentos de onda muito distantes daqueles da excitação indicando pouca perda de energia em processos paralelos, como energia cinética ou térmica. Todos os espectros obtidos com excitação em 250 nm são apresentados na Figura 5.17. Observa-se que neste comprimento de onda de excitação apenas os fluidos A e B exibem alguma emissão.

FIGURA 5.14. Espectros de fluorescência dos Fluidos D, E, F e G excitados em 310 nm.

FIGURA 5.15. Espectros de fluorescência dos fluidos D, E, F e G após excitação em 380 nm.

FIGURA 5.16. Espectros de fluorescência dos fluidos D, E, F e G excitados em 410 nm.

FIGURA 5.17. Espectros de fluorescência obtidos para os fluidos investigados, após excitação em 250 nm.

Para o melhor entendimento destes processos, e para facilitar a comparação entre os resultados obtidos para cada lubrificante, realizou-se a leitura na forma 3-D, em que se variam os comprimentos de onda de excitação, observando-se a intensidade de emissão. Estes resultados são apresentados nas Figuras de 5.18 a 5.20. Percebe-se, na Figura 5.18, as características dos lubrificantes A e B, com fluorescência dispersa em todo o espectro, quando excitados em níveis elevados de energia (comprimentos de onda entre 250 e 300 nm). Para excitação entre 300 e 340 nm, observa-se uma emissão similar àquela observada para os demais lubrificantes. O fluido C apresenta um resultado bastante característico, sendo observadas bandas em todo o espectro para excitação entre 290 e 470 nm. Para os fluidos D, E, F e G observou-se um comportamento mais similar entre si, de modo que os máximos de emissão foram observados numa faixa em torno de 380 nm, quando excitados, principalmente, na faixa próxima a 340 nm.

FIGURA 5.18. Espectro de fluorescência 3-D dos fluidos A e B.

FIGURA 5.19. Espectro de fluorescência 3-D do fluido C.

FIGURA 5.20. Espectros de fluorescência 3-D dos fluidos D, E, F e G.

Não foram observadas emissões após a excitação em baixos comprimentos de onda para a maioria dos fluidos. Isto está em desacordo com o apresentado na literatura para alguns tipos de lubrificantes, embora nos estudos citados sejam observadas baixas intensidades para alguns tipos de óleos (HE *et al.*, 2003). Estas diferenças podem ser atribuídas a baixa concentração dos óleos no presente trabalho ou a diferenças estruturais, tais como ausência de duplas ligações conjugadas em alguns dos óleos.

Para os fluidos A, B e C foram observadas faixas diagonais aos eixos, que estão provavelmente relacionadas ao espalhamento da luz ocasionado pela presença de partículas na forma coloidal, isto é, embora estes óleos sejam solúveis (A e B), apresentam a formação de emulsões capazes de difratar a luz, levando-a ao detector, posicionado a 90° do feixe incidente, causando um falso sinal, que na realidade consiste na detecção do mesmo comprimento de onda incidente.

Outra possibilidade de análise destes compostos seria a separação por cromatografia em colunas ou em camada delgada preparativa, realizando-se determinações por ressonância magnética nuclear de ^1H ou ^{13}C . Entretanto, estes métodos são laboriosos e aumentam o custo total da análise, principalmente, considerando-se a complexidade de alguns dos fluidos (Figuras 5.4 a 5.8). O isolamento de constituintes destes óleos pode ser economicamente inviável.

5.4 - CONCLUSÕES

Os lubrificantes empregados na usinagem de metais, na região de São Carlos, são constituídos de óleo base mineral, vegetal ou fluido sintético. Estas diferenças de origem causam distinções não só na constituição básica, mas também nas propriedades, tais como lubricidade e capacidade de refrigeração. Os óleos minerais ou semi-sintéticos (que contém óleo mineral) possuem uma constituição mais complexa, no sentido de possuir vários compostos n-parafínicos de difícil separação, embora de mais fácil identificação por CG-EM. Fluidos de corte sintéticos possuem menos constituintes, geralmente o composto base, cargas e aditivos (como anti-oxidantes, biocidas e silicones), mais fáceis de separar, porém mais difíceis de serem identificados pelas técnicas empregadas. Óleos vegetais são basicamente ésteres ou amidas de ácidos graxos de cadeia longa. Nestes, a adição de anti-oxidantes é feita para aumentar a vida de prateleira.

Os espectros de infravermelho apresentam sinais característicos de diferentes grupos funcionais, possibilitando a diferenciação dos diversos tipos de fluidos de corte. Para fluidos minerais, são observadas bandas características de hidrocarbonetos, alguns dos quais observou-se a presença de duplas ligações. Para fluidos sintéticos foi possível observar bandas relacionadas a hidroxilas, carbonilas, aminas terciárias e amidas, entre outros. Estas informações devem ser aliadas a outras técnicas para que se possa elucidar a estrutura molecular dos constituintes destes lubrificantes. Entretanto, podem ser empregadas na diferenciação e detecção destes produtos em matrizes ambientais. Do mesmo modo, através da fluorimetria, pode-se distinguir cada um dos lubrificantes, podendo-se empregar esta técnica na detecção de compostos provenientes deste tipo de contaminação ou em experimentos de degradação, no sentido de se observar a completa mineralização dos mesmos. Entretanto, tal técnica não traz muitas informações com relação à estrutura dos compostos.

6. DETERMINAÇÃO DE FLUIDOS DE CORTE EM AMOSTRAS DE SOLO E ÁGUAS SUPERFICIAIS

6.1 - INTRODUÇÃO

Após a usinagem de metais, os fluidos que são utilizados circulando-os dentro da máquina em vários ciclos chegam à exaustão, sendo necessário o seu descarte, podendo ser descartados diretamente no solo ou nos mananciais, e contaminá-los e às águas subterrâneas (AMARANTE Jr. *et al.*, 2002).

Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de se determinar óleos em amostras de águas e solos (Capítulo 3, Tabela 3.1). Entretanto, poucos têm como foco os fluidos de corte, além de não termos encontrado informações sobre os procedimentos de validação para os métodos dispostos na literatura. Devido a isto, avaliaram-se os métodos empregados para outros tipos de óleo no sentido de se desenvolver um método aplicável aos lubrificantes empregados na usinagem. Observa-se que a principal técnica empregada é a cromatografia gasosa (CG) devido a sua elevada resolução, sendo utilizado, principalmente, o detector de ionização em chama (DIC) por ser um detector universal (WANG *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1995; WANG *et al.*, 1998; SETTI *et al.*, 1999; OUDOT, 2000).

O acoplamento com a espectrometria de massas (EM) tem sido efetuado, uma vez que pode fornecer informações sobre a identidade dos compostos investigados (KRAHN *et al.*, 1993; WANG *et al.*, 1994; RIIS *et al.*, 1996; WANG *et al.*, 1998; ERIKSSON *et al.*, 1998; CHAÎNEAU *et al.*, 1999). Ainda no sentido de obter informações sobre a identidade das substâncias que compõem os óleos são empregados detectores de infravermelho com transformada de Fourier (DIVTF) (RIIS *et al.*, 1996).

É utilizada, ainda, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), empregando-se a detecção por fluorescência (KRAHN *et al.*, 1993) ou acoplada à espectrometria de massas (RIIS *et al.*, 1999). Entretanto, a cromatografia líquida não apresenta resolução suficiente para a completa separação de todos os constituintes.

6.2 - MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 - Sistema cromatográfico

Os sistemas cromatográficos empregados e as condições analíticas foram descritos no item 5.2.1 do Capítulo 5.

6.2.2 - Reagentes e Amostras

Os solventes empregados, n-hexano, diclorometano e metanol (Mallinckrodt), foram de grau cromatográfico. Os fluidos empregados foram cedidos pelo NUMA – EESC – USP, sendo de diferentes naturezas, como mostrado na Tabela 5.1, Capítulo 5.

Buscou-se a determinação dos constituintes de fluidos de corte em amostras de solo e água. Para tanto, coletaram-se amostras de água na região de nascente do córrego Água Clara (Itirapina, SP) e de solo nas proximidades da represa do Lobo (Itirapina, SP), mostrada na Figura 6.1. Foi realizada a fortificação destas amostras para se determinar a exatidão e a precisão em estudos de recuperação, bem como os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), no intuito de validar o método desenvolvido (AMARANTE Jr *et al.*, 2001; BRITO *et al.*, 2002; BRITO *et al.*, 2003). Estas amostras foram coletadas entre os meses de agosto e outubro de 2002. Amostras de solo e de água fluvial e pluvial (após a lavagem da rodovia) da região da represa do Ribeirão do Lobo foram coletadas para analisar a presença de óleos, com a finalidade de observar a aplicação do método desenvolvido.

FIGURA 6.1 – Localização da represa do Ribeirão do Lobo. Imagem de satélite obtida da EMBRAPA entre 48° e 47°52'30"W e entre 22°07'30" e 22°15'S, escala correspondente a 1:25.000).

6.2.2.1 - Amostras de solo

As amostras de solo foram coletadas com trado metálico até a profundidade de 20 cm, sendo homogeneizadas em balde metálico. Após a coleta, o solo foi seco à temperatura ambiente e ao abrigo da luz em dessecador contendo gel de sílica desidratado. Peneirou-se o solo em peneira com abertura de 48 mesh para remoção de restos de folhas e raízes, e armazenados sob refrigeração (4° C).

As amostras de solo foram submetidas ao procedimento de extração com uma mistura de solventes n-hexano:diclorometano (1:1, v/v), adicionando-se 20 mL da mistura a cada 5 g de amostra, levando-se a sistema ultra-sônico por 20 min, repetindo-se este passo. Os dois extratos foram combinados e filtrados em celite® e em sulfato de sódio anidro, evaporados em evaporador rotatório até aproximadamente 1 mL, levando-se à secura sob uma suave corrente de N₂. Retomou-se com 1 mL da mistura de solventes, efetuando-se a determinação em sistemas cromatográficos com DIC e EM como detectores de acordo com as condições já descritas. Foram analisadas amostras testemunha (sem fortificação) e fortificadas nos níveis de 100, 500 e 1000 µL kg⁻¹. Estes níveis foram escolhidos de acordo com a resposta do equipamento utilizado,

uma vez que não temos limites estabelecidos em legislação para solo, nem valores de referência na literatura. Para os estudos de recuperação, preparou-se solução de comparação pela dissolução de volume correspondente de cada fluido de corte na mistura de solventes, analisando-se por CG-DIC e CG-EM.

6.2.2.2 - Amostra de água

As amostras de água superficial foram coletadas em frascos de vidro âmbar, em uma distância de 2 m a partir da margem e em uma profundidade de 30 cm a partir da película d'água. Os frascos foram vedados adicionando-se papel alumínio nas tampas para evitar adsorção dos compostos orgânicos ao material da tampa. As amostras foram mantidas sob refrigeração (4° C) até a análise, não aguardando tempo superior a dois dias.

Para os fluidos A, B e C, alíquotas de 50 mL de cada amostra de água foram filtradas em membrana de fibra de vidro com poros de 0,45 µm. Os fluidos foram adsorvidos pela passagem em cartuchos de C18 (5 mg) previamente condicionados, sendo eluídos com 1 mL de metanol. Efetuou-se a determinação em sistemas cromatográficos com detectores de ionização em chama (DIC) e espectrometria de massas (EM) como detectores de acordo com as condições já descritas. Foram analisadas amostras testemunha (sem fortificação) e fortificadas nos níveis de 100, 500 e 1000 µL L⁻¹. Estes valores foram escolhidos de acordo com a resposta do equipamento, uma vez que a Resolução CONAMA nº 20, de 18 de junho de 1986, apenas estabelece que os óleos e graxas devem estar “virtualmente ausentes” para as águas de classes 1, 2, 3, 5, 6, 7 e 8, e que “toleram-se iridicências” para águas de classe 4, não trazendo valores limites. Para os estudos de recuperação, preparou-se solução de comparação pela dissolução de volume correspondente de cada fluido de corte na mistura de solventes, analisando-se por CG-DIC e CG-EM.

As amostras de água (50 mL) fortificadas com os fluidos D, E, F e G, foram filtradas em membrana de fibra de vidro com poros de 0,45 µm. Procedeu-se a extração com 20 mL de uma mistura de solventes n-hexano:diclorometano (1:1, v/v), agitando-se por 20 min, repetindo-se este

passo. Os dois extratos foram combinados e filtrados em Celite® e em sulfato de sódio anidro, evaporados em evaporador rotatório até aproximadamente 1 mL, levando-se à secura sob uma suave corrente de N₂. Retomou-se com 1 mL da mistura de solventes. Seguiu-se a análise cromatográfica como descrito para os fluidos anteriores. A amostra de água de chuva, após a lavagem da rodovia, foi coletada no mês de fevereiro de 2003, com frasco âmbar na região da represa do Ribeirão do Lobo, sendo tratada e acondicionada como as amostras de água superficial, com a finalidade de se observar se há o arraste de óleos da rodovia para o solo arenoso próximo a ela.

6.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação dos constituintes foi realizada por CG-DIC através da construção de curvas analíticas a partir da dissolução de cada fluido na mistura de solventes n-hexano:diclorometano (1:1, v/v), no intervalo de trabalho de 100 µL L⁻¹ até 10 mL L⁻¹. Os cromatogramas obtidos para cada fluido são apresentados nas Figuras de 6.2 a 6.8. As identidades destes compostos foram confirmadas comparando-se os fragmentogramas obtidos na análise das amostras fortificadas com aqueles obtidos para os fluidos diluídos na mistura de solventes.

FIGURA 6.2. Cromatograma obtido para a análise do fluido “A” na concentração de 500 µL L⁻¹ injetando-se 1 µL em sistema CG-DIC nas condições descritas.

FIGURA 6.3. Cromatograma obtido para a análise do fluido “B” na concentração de $500 \mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se $1\mu\text{L}$ em sistema CG-DIC nas condições descritas.

FIGURA 6.6. Cromatograma obtido para a análise do fluido “E” na concentração de $500 \mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se $1\mu\text{L}$ em sistema CG-DIC nas condições descritas.

FIGURA 6.6. Cromatograma obtido para a análise do fluido “F” na concentração de $500 \mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se $1\mu\text{L}$ em sistema CG-DIC nas condições descritas.

FIGURA 6.8. Cromatograma obtido para a análise do fluido “G” na concentração de $500 \mu\text{L L}^{-1}$ injetando-se $1\mu\text{L}$ em sistema CG-DIC nas condições descritas.

Embora alguns cromatogramas pudessem ser melhorados com a mudança na taxa de variação de temperatura, a manutenção de um esquema de análise única para todos os fluidos foi escolhida uma vez que pode favorecer a determinação de qualquer um destes óleos em amostras reais, e

que não se tem informação prévia de qual destes pode ter sido descartado, sendo possível, ainda, a detecção de uma mistura deles em amostras ambientais. A extração e injeção das amostras testemunhas, tanto de água quanto de solo, não apresentaram picos nos tempos de retenção dos constituintes dos fluidos de corte investigados, como mostrado na Figura 6.9.

FIGURA 6.9. Cromatograma obtido para a análise de amostra de água do córrego Água Clara (Itirapina, SP), injetando-se 1 μ L em sistema CG-DIC nas condições descritas.

As curvas analíticas obtidas relacionando-se a área total dos cromatogramas (após a subtração das áreas dos picos atribuídos aos solventes) *versus* a concentração de cada um dos fluidos de corte são apresentadas nas Figuras de 6.10 a 6.16.

FIGURA 6.10. – Curva analítica obtida para o Fluido A.

FIGURA 6.11. – Curva analítica obtida para o Fluido B.

FIGURA 6.12. – Curva analítica obtida para o Fluido C.

FIGURA 6.13. – Curva analítica obtida para o Fluido D.

FIGURA 6.14. – Curva analítica obtida para o Fluido E.

FIGURA 6.15. – Curva analítica obtida para o Fluido F.

FIGURA 6.16. – Curva analítica obtida para o Fluido G.

Observou-se boa relação linear para o intervalo estudado, uma vez que o coeficiente de correlação esteve superior a 0,99. A sensibilidade, definida como a capacidade do método em distinguir duas concentrações próximas, foi considerada excelente, visto que se obtiveram variações acima de 100 unidades de área para cada unidade de concentração variada (AMARANTE Jr. *et al.*, 2002; BRITO *et al.*, 2002; BRITO *et al.*, 2003). Este parâmetro é medido pelo coeficiente angular da curva.

Os resultados de recuperação, tanto para amostras de água quanto de solo são apresentados na Tabela 6.1, mostrando-se as concentrações das soluções de comparação e as médias das recuperações, comparando-se cada pico obtido na amostra fortificada com o correspondente no cromatograma do fluido, tendo sido realizadas 5 determinações.

TABELA 6.1 – Recuperações e coeficientes de variação obtidos para a análise dos diferentes fluidos de corte em amostras de solo e água.

NÍVEL DE FORTIFICAÇÃO	MÉDIA DE RECUPERAÇÃO (%) (COEFICIENTE DE VARIAÇÃO - %)						
	A	B	C	D	E	F	G
solo							
100 $\mu\text{L kg}^{-1}$	99 (13)	102 (16)	105 (12)	100 (11)	98 (18)	109 (14)	102 (11)
500 $\mu\text{L kg}^{-1}$	101 (8)	95 (12)	100 (9)	98 (15)	111 (10)	101 (7)	99 (15)
1000 $\mu\text{L kg}^{-1}$	107 (5)	89 (16)	101 (5)	96 (12)	107 (13)	103 (11)	105 (4)
Água							
100 $\mu\text{L L}^{-1}$	91 (17)	93 (12)	96 (15)	99 (19)	101 (12)	98 (15)	105 (12)
500 $\mu\text{L L}^{-1}$	95 (13)	97 (14)	89 (12)	101 (7)	95 (10)	102 (8)	99 (6)
1000 $\mu\text{L L}^{-1}$	89 (9)	99 (8)	91 (19)	102 (5)	94 (5)	92 (11)	101 (11)

Considerando-se que o limite de detecção é distinto para cada um dos constituintes dos fluidos de corte, este parâmetro não foi avaliado individualmente, mas foi determinado para o componente majoritário de cada fluido, uma vez que esta informação garante a presença deste lubrificante na amostra, ainda que não possa ser quantificado. Estes valores estão apresentados na Tabela 6.2. Os limites de quantificação foram considerados iguais ao menor nível de fortificação, uma vez que concentrações inferiores a esta não foram estudadas e, conseqüentemente, não se conhece a exatidão e precisão do método, de acordo com o recomendado na literatura (AMARANTE Jr. *et al.*, 2001; BRITO *et al.*, 2002; BRITO *et al.*, 2003).

TABELA 6.2 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos.

Lubrificante	LD ($\mu\text{L L}^{-1}$ ou $\mu\text{L kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{L L}^{-1}$ ou $\mu\text{L kg}^{-1}$)
A	10	100
B	1,0	
C	5,0	
D	50	
E	50	
F	5,0	
G	5,0	

Foram analisadas amostras de solo nas proximidades da represa do Ribeirão do Lobo, bem como da água desta represa (no município de Itirapina, SP). A amostra da água da represa não apresentou resíduos de nenhum dos constituintes de óleo lubrificante analisado nos níveis de concentração estudados. A água pluvial que lava a rodovia próxima a este reservatório foi coletada e analisada sendo detectados alguns constituintes dos óleos lubrificantes. Os cromatogramas são apresentados nas Figuras 6.17 e 6.18. A amostra de água pluvial apresentou resíduos de óleos com concentração inferior ao LQ. Os resíduos foram quantificados em $330 (\pm 20) \mu\text{L kg}^{-1}$ para as amostras de solo. Obviamente estes resíduos se devem não à indústria mecânica e sim aos veículos que trafegam na região. Entretanto, tais análises foram efetuadas no intuito de se avaliar a aplicabilidade do método.

6.4 - CONCLUSÕES

Considerando-se as elevadas recuperações pode-se considerar o método descrito como exato. Quanto à precisão, os coeficientes de variação foram inferiores a 20%. De acordo com Wood (1999), os coeficientes de variação desejáveis para concentrações no nível entre mL L^{-1} e $\mu\text{L L}^{-1}$ devem ser de 16 e 45%, respectivamente. Na análise de resíduos, é comum coeficientes de variação inferiores a 20% (BRITO *et al.*, 2002). Deste modo, consideraram-se satisfatórios os valores obtidos neste estudo, principalmente levando-se em conta que as médias foram obtidas para diferentes substâncias que compõem cada óleo, e que, portanto, apresentam dinâmica e interações variadas, esperando-se uma maior dispersão dos dados quando comparados com resultados obtidos para apenas uma substância.

Os limites de detecção e quantificação foram determinados de forma conceitual. Considerando-se que o limite de detecção (LD) é o menor valor que pode garantir a presença do contaminante, ainda que não seja possível determinar a quantidade em que este se encontra, determinou-se o LD como sendo a menor concentração do componente majoritário que produz um sinal distinto do ruído. Para o limite de quantificação (LQ), considerou-se que o menor nível de fortificação estudado seria o valor dentro do qual o procedimento daria uma resposta possível de se quantificar, uma vez que é a menor concentração em que se conhecem a exatidão e precisão do método.

A principal contribuição deste estudo consistiu na validação de um método analítico para a determinação dos fluidos lubrificantes nestas matrizes, uma vez que não existem na literatura dados similares. A partir da presente pesquisa, estudos que apresentem informações sobre LD e LQ, bem como exatidão e precisão, poderão ser comparados com os resultados ora apresentados.

7. ESTUDO DA MOBILIDADE DE FLUIDOS DE CORTE EM AMOSTRAS DE SOLO.

7.1. INTRODUÇÃO

A avaliação do potencial de acúmulo e transporte de poluentes no solo, é um estudo relevante para o entendimento da dinâmica e destino destes compostos no ambiente, podendo ser efetuada pelo estudo da mobilidade. Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente, IBAMA, este tipo de ensaio pode ser feito utilizando-se substâncias radiomarcadas (^{14}C) (IBAMA, 1990). Tal método demonstra ser eficiente, porém, apresenta como desvantagem o emprego de substâncias radioativas, em geral importadas a elevado custo. Segundo Lanças *et al.* (1994), uma alternativa que apresenta menor custo e maior segurança é proceder ao estudo de mobilidade fazendo-se uso de técnicas cromatográficas. Este teste tem sido empregado no estudo da dinâmica de pesticidas (AMARANTE Jr. *et al.*, 2003), mas pode ser empregado para o entendimento do destino final de outros poluentes.

A mobilidade é uma informação de fundamental importância no estudo da dinâmica de poluentes orgânicos, servindo na avaliação da capacidade de movimento do composto através do solo, utilizada para avaliar o potencial de contaminação das águas superficiais e subterrâneas (BRITO *et al.*, 2001).

O estudo da mobilidade é efetuado com base no movimento descendente do poluente através do solo, realizando-se de modo análogo às análises cromatográficas em colunas, substituindo-se as fases estacionárias comumente empregadas, como sílica e alumina, modificadas ou não, pelo solo sob investigação, utilizando-se a água como fase móvel (AMARANTE Jr. *et al.*, 2003).

Compostos orgânicos com características hidrofóbicas, geralmente, tendem a ser retidos na fração argilosa do solo, apresentando baixa mobilidade em solos ricos em matéria orgânica e maior mobilidade em solos arenosos. De modo análogo, compostos com características mais polares tendem a interagir com as partículas de sílica ou com os óxidos e silicatos de metais, apresentando, assim, maior mobilidade quando estes materiais estão presentes em menores quantidades (NAAMATALA & SUCUPIRA, 1999).

A coluna cromatográfica é, em geral, dividida em faixas ou zonas. O tamanho das zonas deve ser estabelecido em intervalos de fator de retenção (R_f) definidos de acordo com a distância percorrida pelo poluente, servindo para sua classificação como pouco, médio ou muito móvel, no caso:

Zona 1 – R_f 0,00 a 0,10: Imóvel;

Zona 2 – R_f 0,10 a 0,35: Pouco móvel;

Zona 3 – R_f 0,35 a 0,65: Mobilidade média;

Zona 4 – R_f 0,65 a 0,90: Móvel;

Zona 5 – R_f 0,90 a 1,00: Bastante móvel.

7.2. MATERIAIS E MÉTODOS

7.2.1. Reagentes e amostra

Os solventes empregados, n-hexano, diclorometano e metanol (Mallinckrodt), foram de grau cromatográfico. Os fluidos empregados foram cedidos pelo NUMA – EESC – USP, sendo os mesmos de diferentes naturezas, como apresentado no Capítulo 6.

As amostras de solo foram coletadas nas proximidades da represa do Ribeirão do Lobo (Itirapina, SP), em região coberta por vegetação nativa, entre a superfície e até a profundidade de 40 cm utilizando-se, para isso, trado metálico. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em balde metálico, sendo depois secas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Foi feito o

peneiramento para a retirada de restos de raízes, trabalhando-se com o restante do material coletado.

7.2.2. Sistema cromatográfico

Os sistemas cromatográficos empregados e as condições analíticas foram descritos no item 5.2.1 do Capítulo 5.

7.2.3. Estudo da mobilidade

Para avaliar a mobilidade dos fluidos, preparou-se uma coluna de vidro (50 cm x 5 cm) com solo. Foi feita a eluição com água desionizada (obtida em sistema Mili-Q®), numa vazão de 1 mL min⁻¹, até a obtenção de 10 mL de eluato. Esta porção foi filtrada em papel de filtro, procedendo-se a extração pela adição (em duas etapas) de 10 mL de n-hexano:diclorometano (1:1, v/v), combinando-se os dois extratos, filtrando-se em sulfato de sódio anidro e celite®, evaporando-se em evaporador rotatório até 1 mL, analisando-se por CG-DIC e CG-EM conforme condições descritas anteriormente.

O recheio da coluna foi separado de modo a obter as zonas correspondentes da cromatografia em camada delgada descritas na literatura, sendo removido com espátula e, posteriormente, submetido à extração a partir de uma porção de 5 g de solo, adicionando-se 20 mL da mistura de solventes N-hexano:diclorometano (1:1, v/v), em sistema ultrassônico por 20 min, repetindo-se este passo. Os dois extratos foram combinados, filtrados e evaporados como descrito para as amostras aquosas. A determinação foi efetuada por CG-DIC e CG-EM nas condições descritas anteriormente.

Este procedimento foi realizado, também, empregando-se como recheio da coluna o mesmo solo após a adição de turfa em uma quantidade correspondente a 20% da massa total. Todos os testes foram realizados em triplicata.

7.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a melhor compreensão da dinâmica dos fluidos no solo, a amostra de solo foi caracterizada no Instituto de Química de São Carlos de acordo com os procedimentos citados na literatura (AMARANTE Jr., 2002). Os resultados são apresentados na Tabela 7.1.

TABELA 7.1. - Propriedades químicas do solo.

Parâmetro	Valores
pH	4,02
Matéria orgânica (%)	11,97
Potássio (mg/g)	0,6
Cálcio (mg/g)	5,2
Magnésio (mg/g)	1,3
Alumínio (mg/g)	2,1
Ferro (mg/g)	29,9
Manganês (mg/g)	0,8

O pH do solo é relativamente baixo, o que sugere alto teor de matéria orgânica. Confirmou-se isto na análise do teor de matéria orgânica, o que foi considerado de valor elevado. Este teor pode proporcionar a retenção de componentes hidrofóbicos diminuindo a mobilidade de tais compostos no solo investigado (AMARANTE Jr., 2002).

A elevada concentração de metais, como ferro, pode diminuir a mobilidade de compostos com características polares, como ácidos carboxílicos, devido à formação de sais pouco solúveis. Outra possibilidade é a complexação de aminas com tais metais, o que pode favorecer a solubilidade de tais substâncias. Desta forma, percebe-se que a complexidade do solo, suas propriedades físicas e químicas e suas interações com compostos orgânicos de origem natural ou antrópica podem mudar a dinâmica dos constituintes dos fluidos de corte na matriz investigada.

A turfa foi caracterizada de acordo com os procedimentos padrão encontrados na literatura e os ácidos húmicos analisados seguindo os procedimentos recomendados pela *International Society of Substances Humic* (ISSH). O valor de pH encontrado foi de 4,21. Este valor baixo é explicado pelo alto teor de ácido húmico, o qual contém grupamentos carboxílicos, OH-fenólico (de acordo com análise por IVTF), em comparação com estruturas alifáticas, como os hidrocarbonetos, predominantes nos ácidos húmicos provenientes de solos. Os grupamentos carboxílicos e fenólicos são os principais responsáveis pelas interações que ocorrem entre as substâncias húmicas e as moléculas orgânicas, tais como os constituintes dos óleos. A análise espectrofotométrica indicou (através do índice E_4/E_6) maior número de estruturas aromáticas em comparação a estruturas alifáticas, em decorrência de um alto grau de humificação (FALONE, 2003).

O resultado para o estudo de mobilidade em solo, sem a adição de turfa, é apresentado na Figura 7.1, enquanto aquele obtido após a adição de turfa é apresentado na Figura 7.2.

Para os testes de mobilidade feitos com coluna contendo o solo (Figura 7.1), observou-se elevada mobilidade para alguns componentes dos fluidos A, B e C. Alguns dos constituintes A e C foram considerados de mobilidade considerável. Componentes dos fluidos B e D foram considerados de mobilidade mediana, o fluido C apresentou componentes sem mobilidade, enquanto os fluidos E, F e G foram considerados imóveis. Estes óleos são constituídos principalmente por hidrocarbonetos, que são compostos com baixa solubilidade em água.

FIGURA 7.1. - Resultado do teste de mobilidade realizado em coluna com solo.

Após a adição de turfa, observou-se diminuição de mobilidade para quase todos os constituintes estudados com exceção do fluido B, confirmando que a presença de matéria orgânica no solo pode favorecer a retenção destes poluentes (Figura 7.2).

ZONAS	FLUIDOS DE CORTE	CLASSIFICAÇÃO
0-10%	C, D, E, F, G	Imóvel
10-35%	B, D	Pouco móvel
35-65%	A, C	Mobilidade mediana
65-90%	A, C	Móvel
	B	Bastante móvel

FIGURA 7.2. - Resultado do teste de mobilidade realizado em coluna com solo após adição de turfa.

7.4. CONCLUSÃO

Fluidos de corte de origem mineral ou sintética, que tem como base hidrocarbonetos pouco solúveis apresentaram baixa mobilidade não sendo facilmente lixiviados no solo estudado.

Lubrificantes solúveis ou emulsionáveis apresentaram constituintes mais móveis, podendo atingir as camadas mais inferiores do solo ou ser completamente eluídos através da coluna de solo, o que corresponde a uma lixiviação capaz de levar à contaminação de lençóis subterrâneos. A adição de material orgânico de origem natural (turfa) diminui a mobilidade dos constituintes da maioria dos fluidos, com exceção do lubrificante B. Este estudo

se apresenta bastante relevante quando se pretende avaliar a degradação dos constituintes de tais lubrificantes, uma vez que a perda de parte do material se dará por lixiviação e não por degradação. Embora a mobilidade do composto possa favorecer a degradação microbiológica, uma vez que está na fase dissolvida e, portanto, disponível, ela pode desfavorecer os processos aeróbios, já que o composto é transportado para regiões inferiores do solo. Além disto, a fotólise é inibida, visto que a ação da luz só é observada nas camadas mais superiores do solo.

8. INTERAÇÃO ENTRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS PROVENIENTES DE TURFA E FLUIDOS DE CORTE SOLÚVEIS DETERMINADA POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA.

8.1 - INTRODUÇÃO

Uma das formas de remoção de poluentes da fase solúvel, quer seja nos ambientes aquáticos, quer seja na solução do solo, é pela interação com a matéria orgânica presente nestes meios. A matéria orgânica das turfas consiste em uma mistura de compostos em vários estágios de decomposição, produtos da degradação biológica de resíduos de plantas e animais, além de metabólitos gerados na atividade da microbiota (JORDÃO *et al.*, 1993; SILVA, *et al.*, 1995). Este material é considerado um dos mais complexos existentes na natureza. Segundo Falone (2002), a matéria orgânica “*contém compostos que podem ser convenientemente agrupados em substâncias não-húmicas e húmicas*”. As Substâncias chamadas “não-húmicas” são aquelas que possuem características químicas definidas, geralmente representadas no ambiente por: carboidratos, proteínas, aminoácidos, gorduras e ácidos orgânicos de baixo peso molecular. As Substâncias Húmicas (SH) são aquelas chamadas de compostos orgânicos refratários (ARAÚJO *et al.*, 2003), sendo de difícil transformação e que podem ser classificadas em função de sua solubilidade em meio aquosos ao se variar os valores de pH (TAVARES *et al.*, 1996). Assim, segundo Landgraf *et al.* (1998), pode-se classificar as SH como:

- ✓ Ácido húmico (AH): fração solúvel em meio alcalino;
- ✓ Ácido fúlvico (AF): fração solúvel nos dois meios; e
- ✓ Humina: fração insolúvel tanto em meio ácido quanto em meio alcalino.

As SH adsorvem moléculas orgânicas sintéticas como os pesticidas, afetando a biodegradabilidade destas moléculas (KIEHL, 1985; BARROS *et al.*, 1994). Este mesmo fenômeno já foi observado para outros poluentes orgânicos, como é o caso dos explosivos (FALONE *et al.*, 2003). Tal interação entre os poluentes e as SH pode ocorrer de formas distintas, sendo as mais importantes: a adsorção (passagem do soluto de uma solução para a superfície de um material adsorvente), a partição (processo reversível em que um dado composto se distribui entre duas fases) ou a fixação química (reações irreversíveis entre tais moléculas e o solo) (VIEIRA *et al.*, 1999).

O processo de adsorção é importante para o entendimento da mobilidade e biodisponibilidade de um dado poluente (AMARANTE Jr.*et al.*, 2003). A avaliação do processo de adsorção é feita por meio de isotermas que seguem o modelo matemático apresentado na Equação 1.

$$\log\left(\frac{x}{m}\right) = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Eq. 1.}$$

Onde: x é a massa (mg) do poluente adsorvida na fase sólida; m é a massa (g) do adsorvente, K_f é a constante de distribuição do fenômeno observado, determinando a capacidade adsortiva; $1/n$ é um parâmetro que avalia o tipo de interação; e C_e é a concentração do poluente na fase aquosa quando o sistema está em equilíbrio.

O valor da constante de distribuição (K_f) define a capacidade adsortiva do material empregado. Para solos, o IBAMA (1990), estabelece os padrões mostrados na Tabela 8.1.

TABELA 8.1 – Classificação da adsorção (IBAMA, 1990).

Valor de K_f	Adsorção
0 a 24	Pequena adsorção
25 a 49	Média adsorção
50 a 149	Grande adsorção
A partir de 150	Elevada adsorção

Deste modo, estudou-se a interação de dois fluidos de corte solúveis e um emulsionável, denominados A, B e C, com ácido húmico (AH) extraído de turfa, obtida no município de Matão, SP. O método de determinação da concentração dos fluidos de corte foi a espectroscopia de fluorescência, uma vez que esta foi descrita como sendo rápida e eficiente para a análise de amostras aquosas contaminadas com estes lubrificantes (AMARANTE Jr. *et al.*, 2004).

8.2 -MATERIAIS E METODOS

Os lubrificantes empregados são aqueles denominados e caracterizados como A, B e C nos capítulos anteriores. Estes fluidos foram escolhidos para este estudo por serem solúveis ou emulsionáveis, sendo aqueles que podem ser removidos da fase aquosa pela interação com as SH. Os estudos de interação foram efetuados em um sistema como o apresentado na Figura 8.1. Uma alíquota de 30 mL da solução de AH em uma concentração de 20 g L⁻¹ foi posta em sacos de diálise (com poros de 900 Dalton). Os contatos entre as soluções ou emulsões do lubrificante (em diferentes concentrações) e os sacos de diálise foram mantidos por 24 h sob agitação constante. Este sistema foi empregado devido ao fato de que as SH de tamanho maior que o poro dos sacos de diálise não podem migrar para fora dos mesmos. Em contra-partida, as moléculas dos constituintes dos lubrificantes, de tamanho muito inferior, podem ser transportadas para dentro dos sacos, interagindo com as SH presentes. A concentração remanescente foi determinada em espectrômetro de fluorescência (modelo F4500, Hitachi), após

construção de curva analítica pela diluição dos fluidos de corte em água desionizada.

FIGURA 8.1. - Equipamento empregado no estudo de interação (Adaptada de MELO, 2002).

8.3. - RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas analíticas são apresentadas nas Figuras de 8.2 a 8.4. Observa-se o caráter não linear destes gráficos analíticos, embora apresentem excelentes coeficientes de correlação quando um modelo logarítmico é assumido. Deste modo, foi possível determinar as concentrações dos fluidos de corte em equilíbrio com a fase adsorvida.

FIGURA 8.2. – Curva analítica obtida para o fluido A. Excitação em 270 nm e emissão em 540 nm.

FIGURA 8.3. – Curva analítica obtida para o fluido B. Excitação em 250 nm e emissão em 490 nm.

FIGURA 8.4. – Curva analítica obtida para o fluido C. Excitação em 250 nm e emissão em 350 nm.

Na Figura 8.5, pode-se observar a interação entre os fluidos de corte estudados e os AH. Foram encontrados valores de k_f iguais a 398, 21 e 10 para os fluidos A, B e C, respectivamente. Assim, o fluido A foi considerado de elevada interação com os AH investigados, enquanto os fluidos B e C apresentaram baixa interação com este material. Isto pode ser devido ao fato dos ésteres que constituem o fluido A serem de cadeia longa (em torno de 20 átomos de carbono), o que pode favorecer a interação com as estruturas hidrofóbicas das SH. O fluido B é constituído de aminas terciárias e ésteres do ácido ftálico, ambos com características mais hidrofílicas e com tamanhos moleculares menores, o que pode favorecer a permanência destes constituintes na fase aquosa. O fluido C é constituído de n-parafinas, que possivelmente interagem fortemente com as SH, mas que podem não ser o constituinte fluorescente do fluido, sendo possível que a amida graxa e os álcoois com duplas ligações conjugadas desenvolvam este papel, interagindo pouco com os AH e, portanto, causando uma subestimação do processo adsortivo.

FIGURA 8.5 – Isotermas de adsorção obtidas para cada fluido após 24 h de interação com AH de turfa.

8.4 -CONCLUSÕES

De acordo com o presente estudo, o óleo lubrificante A (de origem vegetal), constituído por ésteres, apresentou a maior interação com os AH da turfa. Estes resultados sugerem que o fluido A pode ser removido da fase aquosa pela interação com as SH. O mesmo não pôde ser observado para os outros fluidos de corte B (constituído de aminas e ésteres do ácido ftálico) e C (amidas graxas, n-parafinas e álcoois com duplas ligações conjugadas).

A análise por fluorescência mostrou-se com uma técnica eficiente para o monitoramento destes experimentos por ser de fácil operação e não exigir pré-concentração ou procedimentos de extração. No entanto, alguns componentes podem não ser detectados por este meio.

9. DEGRADAÇÃO DE FLUIDOS DE CORTE DURANTE O USO NA USINAGEM DE METAIS.

9.1 - INTRODUÇÃO

Devido às modificações ocorridas nos fluidos de corte durante o processo de usinagem de metais, fazem-se necessárias análises de rotina que definam quando os lubrificantes devem ser substituídos. Estudos que visam a análises rápidas não são raros, onde se observa o desenvolvimento de sensores ou métodos analíticos para a determinação do grau de “envelhecimento” do lubrificante devido ao uso, conforme citado na literatura (WANG, 2001).

Deste modo, efetuou-se análise em espectrofluorímetro no modo 3-D com o intuito de verificar, através de um procedimento rápido, as mudanças ocorridas nos óleos em estudo. Para confirmar tais modificações, foram realizadas análises de infravermelho, no intuito de se verificarem mudanças estruturais, visto que esta técnica disponibiliza informações sobre os grupos funcionais.

Para averiguar a eficiência deste procedimentos, compararam-se os resultados obtidos por estas técnicas, realizaram-se análises cromatográficas, uma vez que esta técnica é a mais empregada na análise de óleos lubrificantes e outros produtos de petróleo.

9.2 -MATERIAIS E METODOS

Os lubrificantes empregados são aqueles denominados e caracterizados como A, B, C e F nos capítulos anteriores. Estes lubrificantes foram selecionados devido ao fato de se ter obtido tanto o produto novo quanto aquele após o uso de seis meses. Os estudos foram desenvolvidos submetendo-se as amostras antes do uso e após seis meses de utilização a diferentes métodos analíticos, quais sejam: (i) fluorimetria; (ii) infravermelho (IV); (iii) cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG-DIC) e acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

Uma alíquota de 0,1 mL do óleo foi dissolvida em solvente apropriado (metanol para os fluidos A, B e C; e diclorometano/n-hexano, 1:1, v/v, para o fluido F) para a análise cromatográfica. As condições e equipamentos cromatográficos foram empregados de acordo com o descrito no item 5.2.1, no Capítulo 5. Como a fluorimetria é uma técnica que necessita de soluções bastante diluídas, foram efetuadas diluições para a análise por esta técnica. O espectrofluorímetro empregado foi do modelo F4500, da marca Hitachi. Para a análise por IV, o óleo foi distribuído na forma de um filme fino sobre a superfície de uma pastilha de KBr. O equipamento utilizado foi do modelo MB102, da marca Bomen.

9.3. - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos espectros de fluorescência, observaram-se as variações para os três fluidos solúveis após seis meses de uso (Figuras 9.1 a 9.4). Observa-se a mudança de bandas de emissão para regiões mais energéticas (menor comprimento de onda), aproximando-se das bandas de excitação. Isto indica a modificação dos grupos cromóforos, pela precipitação ou volatilização de alguns constituintes, bem como pela fotólise e oxidação térmica dos mesmos. Para o lubrificante mineral tais modificações não foram observadas, com exceção das intensidades de emissão, sugerindo apenas modificações na concentração dos grupos fluorescentes. Estas mudanças podem ocorrer devido

à volatilidade dos constituintes que varia de acordo com o tamanho molecular e a presença de ramificações.

Figura 9.1. Espectro de fluorescência para fluido vegetal novo (1) e após seis meses de uso (2).

Figura 9.2. Espectro de fluorescência para fluido sintético novo (1) e após seis meses de uso (2).

(1)

(2)

Figura 9.3. Espectro de fluorescência para fluido semi-sintético novo (1) e após seis meses de uso (2).

(1)

(2)

Figura 9.4. Espectro de fluorescência para fluido mineral novo (1) e após seis meses de uso (2).

As variações observadas nas Figuras 9.1 a 9.4 foram confirmadas através de IVTF (Figuras 9.5 a 9.8). Para o fluido A, observou-se uma modificação menos acentuada que para os demais fluidos solúveis. O óleo mineral apresentou maior estabilidade não sendo observadas grandes mudanças no espectro de fluorescência ou de IVTF.

Figura 9.5. Espectro de IVTF para fluido A novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho).

Figura 9.6. Espectro de IVTF para fluido B novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho).

Figura 9.7. Espectro de IVTF para fluido C novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho).

Figura 9.8. Espectro de IVTF para fluido F novo (preto) e após seis meses de uso (vermelho).

Tabela 9.1 - Atribuições de bandas de absorção na região IV.

Frequência (cm⁻¹)	Atribuições	Fluido
3500-3100	Deformação axial –OH	A novo e usado B novo e usado C novo
2928 e 2854	Deformação axial simétrica e assimétrica de –CH em –CH ₂ e –CH ₃	A novo e usado B novo C novo F novo e usado
2300-2240	Banda de baixa intensidade para C≡N	A novo B usado C usado F usado
2125	Deformação axial de C=O em éster	B novo C novo
1745	Deformação angular simétrica de C-H em –CH ₂ e –CH ₃	F novo e usado
1735	Deformação axial de C=O em éster	A usado
1625	Deformação axial de C=C em aromáticos	A novo e usado B novo e usado
1560-1461	Deformação angular assimétrica de –C-H em –CH ₂ e –CH ₃	A usado B novo e usado C novo F novo e usado
1068	Deformação axial de –C-O em ésteres	A novo e usado C novo e usado
~700	Deformação angular no plano de –C-H em –CH ₂ e –CH ₃ (cadeia longa)	F novo
720-400	Deformação angular simétrica fora do plano em –N-H de amidas	A novo e usado B novo e usado C novo

Fonte: PRETSCH *et al.*, 2000; PAVIA *et al.*, 1996.

Observaram-se modificações nas transmitâncias, e também que algumas bandas são observadas apenas nos fluidos novos enquanto outras se apresentam apenas para os usados. O fluido mineral apresentou menores modificações que os demais lubrificantes, mostrando, desta forma, uma maior estabilidade. Os demais fluidos foram considerados pouco estáveis, embora não se possa sugerir quais processos foram capazes de transformá-los, pois estão sujeitos à ação da temperatura, que varia bruscamente durante o uso, uma vez que a operação gera calor. Tais lubrificantes também estão sujeitos à

ação da luz; da capacidade oxidativa do ar; ou de microrganismos (EISENTRAEGER *et al.*, 2002). Segundo Cerny *et al.* (2001), os processos oxidativos ou termoxidativos ocorrem em três etapas: (i) inibição, período lento de modificações sutis que dura até que os agentes anti-oxidantes sejam removidos, esta fase é extremamente influenciada pela temperatura; (ii) fase de degradação dos constituintes do óleo base, onde ocorre a degradação dos constituintes do lubrificante; (iii) baixa degradação causada pelo aumento da viscosidade, alguns produtos de oxidação podem formar polímeros e, com isto, há um aumento na viscosidade, dificultando o acesso do oxigênio do ar.

Os resultados puderam ser comprovados pela análise cromatográfica, como apresentado nas Figuras de 9.9 a 9.12. A cromatografia têm sido empregada em estudos desta natureza, mesmo empregando CLAE-EM, com a finalidade de observar as modificações ocasionadas pelo uso sobre os lubrificantes. Têm-se reportado mudanças significativas, especialmente para fluidos a base de ésteres, como os ésteres do ácido ftálico (KOHLER & HEEB, 2001).

FIGURA 9.9. Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “A” novo (A) e após seis meses de uso (B).

FIGURA 9.10. Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “B” novo (A) e após seis meses de uso (B).

FIGURA 9.11. Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “C” novo (A) e após seis meses de uso (B).

FIGURA 9.12. Cromatograma obtido para a análise do fluido denominado “F” novo (A) e após seis meses de uso (B).

Observa-se, nos cromatogramas obtidos para os fluidos A, B e C uma grande modificação com o uso, comprovando os testes anteriores. Muitos dos componentes destes óleos foram removidos completamente da composição do fluido, por degradação ou por volatilização. Na análise por CG-MS, observou-se que os silicones, geralmente empregados como cargas, não foram encontrados após seis meses de uso, e podem ter sido removidos por precipitação uma vez que se formam borras nestes óleos usados. Segundo a literatura, os óleos lubrificantes usados podem apresentar produtos como ácidos orgânicos, compostos aromáticos polinucleares (potencialmente carcinógenos), resinas, lacas, entre outros contaminantes (ÓLEO LUBRIFICANTE USADO, *on line*, 2001). Mesmo para o óleo semi-sintético, que contém hidrocarbonetos, foram observadas grandes modificações. Tal degradação dos componentes provenientes de óleo mineral podem ter sido mais prontamente degradados pelo fato de estarem na forma de emulsão e na presença de tensoativos, permanecendo mais acessíveis ao oxigênio do ar. O lubrificante mineral não apresentou mudanças nos seus componentes

majoritários apenas alguns picos menores foram perdidos, enquanto outros de igual tamanho foram observados após o uso. Como estes componentes se apresentaram em pequenas proporções, eles não puderam ser detectados pelo espectrômetro de massas, não sendo possível agregar informações que tornassem possível a identificação dos mesmos.

9.4 -CONCLUSÕES

Nos óleos lubrificantes solúveis em águas, foram observadas grandes modificações, porém o óleo mineral sofreu poucas mudanças. Isto pode ser devido às variações térmicas sofridas pelo material durante o uso (ADHVARYU *et al.*, 1999a; ADHVARYU *et al.*, 1999b), que todos os lubrificantes estão sujeitos. Entretanto, mudanças devido à oxidação causada por materiais solúveis presentes na água, bem como pelo oxigênio do ar, são mais observadas para o meio aquoso, enquanto o óleo insolúvel é menos susceptível a estes agentes. Substâncias orgânicas oxidadas como álcoois, fenóis, ésteres, entre outras, são mais facilmente oxidados a CO₂, podendo ser a via preferencial de modificação destes materiais. Isto sugere que os resultados obtidos estão de acordo com o esperado.

De acordo com estes resultados, os óleos solúveis ou emulsionáveis são mais suscetíveis a alterações durante o uso, tendo um menor tempo de vida útil que aqueles imiscíveis, que são empregados sem a mistura com a água.

10. FOTODEGRADAÇÃO DE FLUIDOS DE CORTE SOLÚVEIS OU EMULSIONÁVEIS EMPREGANDO TiO₂.

10.1 - INTRODUÇÃO

Em muitos dos trabalhos empregados no tratamento de resíduos, a fotocatalise heterogênea vem sendo utilizada, com o semicondutor TiO₂ como fotocatalisador, devido ao fato de não apresentar efeitos deletérios à saúde humana e ao ambiente, devido à sua estabilidade química em uma ampla faixa de pH e pela fotoestabilidade (NOGUEIRA & JARDIM, 1998). Este catalisador tem sido empregado na descontaminação de atmosferas contaminadas por microrganismos (KONDO *et al.*, 1999) e águas com elevado teor de poluentes orgânicos de diferentes naturezas (FERNANDES, 2002) com bons resultados, constituindo-se de um método promissor para o tratamento de efluentes.

A contaminação por hidrocarbonetos de petróleo, destacando-se aqui os efeitos deletérios apresentados por estes à saúde humana e ao equilíbrio dos ecossistemas, leva ao estudo de métodos que removam tais compostos dos diferentes compartimentos ambientais nos quais se encontre. A presença de tais compostos em águas naturais ou potáveis levou ao estudo de procedimentos de descontaminação que associasse as propriedades dos poluentes e as facilidades de manuseio do meio aquoso. Assim, a degradação fotocatalítica se mostrou como um método promissor, com grande eficiência na remoção de matérias orgânicas de soluções aquosas, principalmente devido à formação de radicais hidroxila neste meio e à presença de oxigênio dissolvido, que funciona como um aceptor de elétrons (GRZETCHULSKA *et al.*, 2000). Neste estudo, investigou-se a degradação fotocatalítica de fluidos de corte

solúveis ou emulsionáveis em meio aquoso, empregando-se TiO_2 em suspensão.

10.2. - MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho, preparou-se uma suspensão com $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de TiO_2 (Degussa P 25), em amostras contendo 118 mg L^{-1} , 58 mg L^{-1} e 49 mg L^{-1} de carbono orgânico dissolvido, dos fluidos de corte de diferentes marcas, denominados A, B e C, respectivamente, estudando-se a influência do pH em valores de 4,0; 8,0 e 11,0.

Os experimentos fotocatalíticos foram realizados em um reator cilíndrico (Figura 10.1), com o catalisador mantido em suspensão. As amostras de fluido de corte foram mantidas sob agitação, saturadas com oxigênio a temperatura de 25°C e sob iluminação de uma fonte artificial, irradiada com lâmpadas com potência 15W cujo comprimento de onda predominante é de 365 nm. Em intervalos de tempo variados foram retiradas alíquotas (10 mL) da amostra. Para os experimentos em suspensão essas alíquotas foram filtradas com membranas de $0,22 \mu\text{m}$ (Millipore) e a taxa de degradação foi medida por Analisador de Carbono Orgânico Total, TOC- V_{CPH} da Shimadzu.

FIGURA 10.1. Reator empregado para a degradação fotocatalítica.

10.3. - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de fotodegradação catalisada dos fluidos estudados em função do tempo de irradiação em pH 4,0 são apresentados na Figura 10.2. Nota-se um tempo de ativação inicial de aproximadamente 1 h e que, após esse tempo, o desempenho do TiO_2 para decompor o fluido classificado como C é muito superior ao desempenho observado para os demais. Após 2 h de irradiação a atividade para decompor a espécie C é cerca de 3 vezes a atividade para decompor os outros, ou seja, neste tempo ocorreu uma decomposição de cerca de 70% da carga orgânica da espécie C contra apenas 25% da carga das outras soluções. Após esse tempo ocorreu uma ligeira desativação do catalisador para decompor a espécie C, observada pela inclinação da curva de decomposição enquanto que se mantém o mesmo

desempenho para decompor as espécies A e B. Ao final de 4 h de irradiação, houve uma degradação de 90% e 70% para estes fluidos, respectivamente.

FIGURA 10.2. Fotodegradação catalisada por TiO_2 em pH 4,0 em função do tempo de irradiação, sob Luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$) e em atmosfera de oxigênio, com agitação constante.

O desempenho do catalisador em pH 11 necessitou de 1 h para a ativação, como em meio ácido. A atividade para decompor a espécie B aumentou exponencialmente, enquanto que para as outras espécies teve-se apenas uma pequena atividade. Neste valor de pH, a degradação ao final de 4 h foi em torno de 70% para a espécie B e inferior a 30% para as demais espécies (Figura 10.3).

FIGURA 10.3. Fotodegradação catalisada por TiO_2 em pH 11,0 em função do tempo de radiação. Luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$), sob atmosfera de oxigênio e agitação constante.

Na Figura 10.4 podem ser vistos os resultados do mesmo estudo conduzido em pH 8,0. Neste meio, obteve-se o melhor desempenho do catalisador para todos os fluidos estudados. Observou-se um perfil sigmoidal para todas as curvas de degradação sendo que a etapa de ativação para degradação da espécie C inicia-se nos primeiros instantes de irradiação e, após 1 h, é duas vezes superior à atividade para degradar as outras espécies. Porém, depois de 4 h a degradação é cerca de 90% para as espécies A e C e em torno de 80% para a espécie B.

FIGURA 10.4. Fotodegradação dos óleos em pH 8,0, em função do tempo de radiação, luz UV ($\lambda = 365$ nm), sob agitação e atmosfera de oxigênio. Catalisador em suspensão TiO_2 .

A Figura 10.5 mostra a fotodegradação dos fluidos após 4 h de irradiação em função do pH. Pôde-se observar que para a espécie B não houve alteração no desempenho do catalisador nos diferentes valores de pH estudados. Contudo para as espécies A e B esse desempenho se mostrou variável em função do pH, tendo uma melhor degradação entre o pH 4,0 e 8,0 e muito menor em meio alcalino. Isto pode estar relacionado às interações entre a superfície do catalisador e os constituintes dos lubrificantes.

FIGURA 10.5. Fotodegradação catalisada de TiO_2 dos óleos em valores distintos de pH, após 4 h de irradiação sob luz UV ($\lambda = 365\text{nm}$), e em atmosfera de oxigênio, com agitação.

Deve-se levar em conta as dissociações sofridas pelo TiO_2 em função do pH. Este material apresenta dois valores de pK_a , quais sejam: 2,4 e 8,0. O grau de dissociação é mostrado na Figura 10.6. A dissociação desta superfície é mostrada nas equações seguintes:

FIGURA 10.6. Grau de dissociação da superfície de TiO_2 em função do pH do meio, destacando-se as faixas de predominância de cada uma de suas formas.

Percebe-se que em pH 4,0, a superfície do catalisador se apresenta neutra. Em pH 8,0, tem-se 50% das espécies na forma neutra e 50% na forma negativa. Em pH 11,0, observa-se a predominância da forma negativa, o que pode ocasionar repulsão eletrostática entre os constituintes dos fluidos de corte e a superfície do catalisador, uma vez que ésteres e amidas são susceptíveis a hidrólise alcalina e dissociação, mantendo-se na forma negativamente carregada. A hidrólise ácida é possível, entretanto, neste caso, observam-se moléculas de ácido carboxílico e álcoois como produtos de transformação, os quais se apresentam na forma neutra ou negativa, não ocorrendo efeito de repulsão com relação ao material catalisador.

No caso das amidas, um produto possível é a amina terciária correspondente, que se apresenta positivamente carregada tanto em pH 4,0 quanto 8,0, não sendo observados fenômenos de repulsão. Em pH 11,0 é possível que se observe alguma desprotonação destas aminas, entretanto,

como a superfície se encontra neutra, ocorre uma diminuição na interação entre estas substâncias e a superfície catalítica.

10.4 - CONCLUSÕES

Observou-se que, devido às características distintas dos fluidos estudados, suas decomposições se apresentaram bastante complexas, entretanto, o procedimento desenvolvido, baseado em fotocatalise heterogênea, que empregou TiO_2 em suspensão, apresentou degradação satisfatória dos lubrificantes estudados em solução aquosa. Deste modo, este procedimento pode ser empregado para a descontaminação de efluentes aquosos gerados na atividade de usinagem de metais.

Esta degradação foi investigada sob diferentes valores de pH, quais sejam: pH 4,0; 8,0; e 11,0; observando-se que em pH 8,0 foram obtidos os maiores valores de remoção do conteúdo orgânico das soluções. É preciso ressaltar que para o fluido denominado B o pH não apresentou qualquer efeito. As variações observadas na eficiência do processo foram atribuídas às mudanças tanto na superfície do catalisador quanto nas espécies químicas presentes no meio aquoso. Embora a eficiência do processo tenha sido considerada excelente, o método apresenta a limitação de empregar o catalisador em suspensão, sendo necessário que se desenvolvam estudos que possam fixá-lo em uma superfície, eliminando a necessidade da etapa de filtração após o tratamento.

11. DEGRADAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE FLUIDOS DE CORTE EM AMOSTRAS DE SOLO

11.1. - INTRODUÇÃO

O ambiente do solo apresenta um amplo conjunto de microrganismos que participam da dinâmica e definem o destino final de diversos poluentes. As reações bioquímicas observadas estão relacionadas ao desgaste das rochas, à nutrição das plantas e à degradação de moléculas orgânicas sintéticas ou naturais. A diversidade de espécies e a quantidade de microrganismos presentes no solo estão diretamente relacionadas com o nível de matéria orgânica, a qual está associada às camadas superiores, até 30 ou 40 cm de profundidade (TANCK, 1992).

Efluentes oleosos são descartados no solo pela indústria petroquímica desde que foi reconhecida a capacidade de degradação dos hidrocarbonetos por microrganismos. Este tipo de degradação tem sido investigado tanto em escala laboratorial (microcosmos) quanto em estudos de campo. Os principais microrganismos identificados nestes processos são: bactérias (dos gêneros *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Sphingomonas*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, entre outros) ou fungos (dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Beauveria*, *Acremonium*, *Cledosporium*, *Fusarium* e *Trichoderma*) (SULIMAN *et al.*, 1997; CHAÎNEAU *et al.*, 1999).

A microbiota nativa do solo pode ser capaz de efetuar a biodegradação dos poluentes inseridos no meio, mecanismo denominado atenuação natural. Neste caso, é importante entender as relações ecológicas e seus efeitos sobre esta degradação, bem como a influência de fatores físicos e químicos sobre a mesma. O estudo deste tipo de degradação é interessante

para que se evite a inserção de microrganismos exóticos sem necessidade o que poderiam acarretar em prejuízo para a eficiência da biodegradação (ROMANTSCHUK *et al.*, 2000).

Os fungos são a maior parte do material microbiano em muitos dos solos agriculturáveis e com boa aeração, sendo importantes agentes decompositores em ambientes ácidos. Os fungos filamentosos formam grandes redes (micélios) e apresentam grande diâmetro, estando diretamente ligados aos agregados do solo (TANCK, 1992).

As bactérias são microrganismos considerados com boa capacidade de degradar uma grande variedade de compostos recalcitrantes. Estes microrganismos se apresentam como predominantes quando se trabalha com faixas mais profundas dos solos. Isto está associado ao fato destes organismos poderem empregar aceptores de elétrons diferentes do oxigênio gasoso (BOOPATHY, 2000). Em vários casos o consórcio de microrganismos é exigido para que se tenha uma degradação eficiente. Deste modo, é possível que bactérias iniciem o processo degradativo, levando os compostos a uma forma mais prontamente absorvida ou metabolizada por fungos, que completam o trabalho de mineralização do composto de interesse (ROMANTSCHUK *et al.*, 2000).

É importante, portanto, o entendimento das diferentes interações entre os microrganismos, quais sejam: (i) neutralismo; (ii) simbiose; (iii) protocooperação; (iv) comensalismo; (v) competição; (vi) amensalismo; entre outras (TANCK, 1992).

A biodegradação de poluentes orgânicos pode se dar tanto por via aeróbia quanto anaeróbia. Estes processos podem ser limitados tanto pelas características tóxicas dos poluentes e dos seus produtos de degradação, quanto pela disponibilidade de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, por condições físicas desfavoráveis (temperatura baixa, por exemplo), ou pela competição entre microrganismos (LANGWALDT & PUHAKKA, 2000), como discutido anteriormente. Temperaturas mais elevadas e a umidade do ar

também podem favorecer o processo de degradação por serem fatores que podem acelerar o crescimento de microrganismos (CHUNG *et al.*, 2000). Assim, o processo de degradação depende de fatores ambientais e da estrutura das moléculas que se pretende remover do meio (DEL'ARCO & FRANÇA, 2001).

Pode-se ter, então, segundo Romantschuk *et al.* (2000), como fatores limitantes da biodegradação: (i) baixas temperaturas, uma vez que desfavorece o desenvolvimento de microrganismos; condições anaeróbicas, em que se tem reações de redução dos compostos, o que leva a uma degradação parcial e à formação de compostos tóxicos; (iii) baixos níveis de nutrientes; (iv) biodisponibilidade, tanto espacial quanto química, isto é, é necessário o contato dos microrganismos com os poluentes e a sua absorção pelas células; (v) potencial de biodegradação, existência de um caminho metabólico nos microrganismos ou possibilidade de mutação que cause este metabolismo (ROMANTSCHUK *et al.*, 2000).

De forma resumida, pode-se dizer que a biodegradação de hidrocarbonetos em solos contaminados é altamente dependente de quatro fatores, quais sejam: (i) um ambiente com condições ótimas para estimular a atividade microbiológica; (ii) o tipo de hidrocarboneto predominante na matriz contaminada; (iii) o tamanho das cadeias orgânicas; e (iv) a biodisponibilidade dos contaminantes (MÁRQUEZ-ROCHA *et al.*, 2001). A degradação de hidrocarbonetos de petróleo é também afetada pela sua composição (tamanho molecular, complexidade, etc), uma vez que esta característica está intimamente ligada à biodisponibilidade destes compostos e, como consequência, com a taxa de degradação destes (Huesemann, 1995).

A degradação microbiológica aeróbia ocorre com a oxidação da matéria orgânica, sendo observada a diminuição da concentração de hidrocarbonetos totais e um conseqüente aumento na fração polar do material orgânico em estudos de campo (RIIS *et al.*, 1996). Os microrganismos são naturalmente capazes de degradar uma infinidade de compostos orgânicos naturais ou sintéticos no solo, entretanto, eles, em geral, apresentam maior

facilidade para executar este papel se estes poluentes se apresentam dissolvidos na solução do solo ou nas águas naturais (TORTORA *et al.*, 2000).

O metabolismo primário é aquele em que a molécula de interesse é utilizada pelos microrganismos como fonte de carbono e energia (BOOPATHY, 2000). Isto nem sempre é observado, principalmente para hidrocarbonetos de cadeia longa. A degradação de óleos minerais pode ser dificultada pela baixa taxa de transferência destes para o interior da célula. Hidrocarbonetos de óleo cru são de difícil degradação devido à sua baixa disponibilidade (CHOI *et al.*, 1999). Entretanto, isto pode garantir um menor efeito tóxico e favorecer processos degradativos que ocorram fora da célula. Assim, enzimas e outras substâncias excretadas pelos microrganismos podem oxidar tais hidrocarbonetos. Cabe lembrar que outra limitação para a biodegradação de produtos de petróleo é a baixa disponibilidade de nutrientes a base de nitrogênio e fósforo, assim, uma forma de aumentar a sua degradabilidade é pelo suprimento desta carência (TORTORA *et al.*, 2000).

Segundo Boopathy (2000), o co-metabolismo ocorre quando a molécula não serve como fonte de carbono ou de energia na forma como ela se apresenta. Assim, o organismo precisa de uma outra fonte energética e de carbono e, quando do seu crescimento, excreta substâncias capazes de reagir com o poluente, transformando-o em uma fonte viável de nutrientes.

Os hidrocarbonetos de petróleo são considerados os contaminantes mais freqüentemente encontrados no ambiente (MARGESIN *et al.*, 2000). Deste modo, cabe procurar métodos de remoção destes compostos do meio. Neste aspecto, pode-se afirmar que a descontaminação do ambiente depende da composição do óleo, bem como dos microrganismos envolvidos no processo (PREMUZIC *et al.*, 1997). A elevada concentração destes poluentes além de apresentar efeito tóxico pode favorecer o acúmulo de metabólitos tóxicos no meio (MORASCH *et al.*, 2001).

Estudo realizado com óleo diesel em solo e água demonstrou a degradação total dos hidrocarbonetos em três semanas, para o solo, e cinco semanas, para a água, após a adição de surfactantes. O acompanhamento foi

realizado pela área total dos picos do cromatograma (ERIKSSON *et al.*, 1998). A degradação microbiológica de xileno e naftaleno foi investigada sendo observado um tempo máximo de 36 dias para a eliminação completa do componente mais persistente (MORASCH *et al.*, 2001).

11.2 - MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho, prepararam-se reatores cilíndricos preenchidos com solo coletado na região da represa do Ribeirão do Lobo. Foram divididos quatro grupos de reatores: (i) controle, contendo apenas o solo contaminado na concentração de 1 mL kg^{-1} (para cada um dos fluidos de corte foi montado um reator independente); (ii) tratamento com turfa, contendo o solo contaminado e adicionando-se turfa na quantidade correspondente a 10% da massa do solo ; (iii) microrganismos de solo, contendo o solo contaminado e adicionando-se borra retirada de um fluido de corte vegetal obtida após o uso do mesmo, devendo conter os microrganismos responsáveis por sua degradação; (iv) compostagem, contendo o solo contaminado e microrganismos obtidos de um sistema de compostagem. Estes reatores e o esquema de montagem são apresentados na Figura 11.1.

Os experimentos foram conduzidos, expondo-se os reatores às intempéries por um período de 186 dias, retirando-se duas amostras de cada reator com uma periodicidade de aproximadamente 30 dias. Foram realizadas as análises cromatográficas em sistema e condições descritos no Capítulo 5 (item 5.2.1). As áreas totais dos cromatogramas obtidos foram relacionadas à concentração remanescente de óleo, observando-se a degradação de cada lubrificante. Neste estudo, cabe ressaltar que os óleos estavam sujeitos à ação da temperatura, da luz, das chuvas, além da degradação microbiológica.

Para avaliar o efeito de tais fatores, foram obtidos os dados meteorológicos da região, medidos na estação climatológica situada no Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA – SHS – EESC – USP). Foram efetuados, também, estudos de degradação em estufa, com a temperatura mantida em 20°C . Assim, frascos contendo 20 g de solo

contaminado com cada um dos lubrificantes foram mantidos nestas condições por 30 dias, sendo analisados por CG após este tempo. Deste modo, pôde-se observar a degradação dos fluidos de corte apenas por ação dos microrganismos, uma vez que os demais parâmetros foram mantidos sob controle. Sendo possível uma perda por volatilização, como via alternativa, considerando-se que o material foi mantido sob aquecimento.

FIGURA 11.1. Reatores e esquema de montagem do experimento de degradação.

11.2.1 - Reagentes e amostras

Os fluidos empregados foram obtidos no NUMA – EESC – USP, sendo de diferentes naturezas, como mostrado nos capítulos anteriores.

11.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os gráficos relacionando a concentração relativa em função do tempo estão apresentados nas Figuras 11.2, 11.4, 11.6, 11.8, 11.10, 11.12 e 11.14. Os cromatogramas obtidos antes e após a degradação são mostrados nas Figuras 11.3, 11.5, 11.7, 11.9, 11.11, 11.13 e 11.15. As equações obtidas pela regressão não-linear são mostradas nas Tabelas 11.1 a 11.7. Pôde-se perceber, para a maioria dos fluidos e dos tratamentos, uma degradação que acompanha um modelo de reação irreversível de primeira ordem, como é descrito na literatura para degradações microbiológicas efetuadas por bactérias de diversos poluentes (BROWN, 1989; SILVEIRA, 1996). Alguns processos não puderam ser descritos por este modelo, apresentando equações de segundo ou quarto grau, denotando a possibilidade de fenômenos paralelos ocorrendo no processo de recuperação do solo contaminado, tais como o efeito da degradação fotolítica, por exemplo, ou devido a uma biodegradação sob ação de fungos, que têm um crescimento diferente do bacteriano (ALEXANDER, 1999).

FIGURA 11.2. Degradação do fluido A em função do tempo de exposição às intempéries.

FIGURA 11.3. Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido A: solo contaminado (a) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias (b).

TABELA 11.1. Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido A.

Tratamento	Equação	R ²
Controle	$y = 98,17e^{-0,0094x}$	0,9804
Turfa	$y = 115,18e^{-0,02x}$	0,9708
MO óleo	$y = 98,596e^{-0,0057x}$	0,9976
composto	$y = 128,15e^{-0,0279x}$	0,9803

Observou-se para este fluido uma degradação acompanhando o modelo da reação irreversível de primeira ordem para todos os tratamentos, sugerindo a ação de bactérias sobre esta degradação. Percebeu-se, também, um aumento na eficiência da degradação quando se adiciona turfa e microrganismos provenientes da compostagem. Isto pode ocorrer por que, no caso da turfa, tem-se um aumento na concentração de carbono orgânico, bem como outros nutrientes, de outra fonte que não o óleo, favorecendo a degradação microbiológica. No caso da compostagem, tem-se a entrada de outros microrganismos que podem agir em consórcio com os nativos, acelerando o processo degradativo (BENTHAM *et al.*, 1997). Além disto, a entrada de outras espécies, especialmente aquelas nitrificantes, pode fornecer o conteúdo de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, necessários para a completa degradação dos óleos (TORTORA *et al.*, 2000). O mesmo foi observado para os fluidos B e C. Entretanto, para o fluido B, o tratamento com microrganismos da compostagem apresentou resultados favoráveis, mas que não seguem o modelo assumido. Isto sugere que outros mecanismos de degradação podem estar se fazendo presentes ou que a degradação microbiológica ocorra em um número diferente de etapas (pela ação de fungos ou pela associação destes com bactérias em um consórcio).

Nos estudos conduzidos para os três óleos solúveis observou-se a remoção de uma parcela dos seus constituintes por lixiviação. A água percolada através dos reatores foi removida e analisada. Desta forma, observou-se que as substâncias mais solúveis foram removidas do solo contaminado por este mecanismo e não estavam presentes no solo após as primeiras chuvas nos meses de outubro e novembro de 2003. Estes compostos

consistem nos tensoativos presentes nas formulações. Tais compostos são de extrema relevância ambiental, pois podem ocasionar diversos impactos sobre os ecossistemas e sobre a saúde humana. Eles têm sido reportados como biodegradáveis. Entretanto, esta biodegradação se dá principalmente em condições aeróbias e depende da estrutura do surfactante. Ésteres de ácidos graxos e sais de álcoois graxos, como os encontrados nos fluidos de corte em estudo são prontamente degradados em ambientes aerados (EISENTRAEGER *et al.*, 2002). Surfactantes catiônicos tendem a se ligar fortemente às partículas do solo por apresentarem cargas positivas, sendo menos disponíveis à ação dos microrganismos (SCOTT & JONES, 2000).

Os resultados de degradação são similares aos encontrados na literatura para lubrificantes empregados na usinagem de metais (EISENTRAEGER *et al.*, 2002).

FIGURA 11.4. Degradação do fluido B em função do tempo de exposição às intempéries.

FIGURA 11.5. Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido B: solo contaminado (a) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias (b).

TABELA 11.2. Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido B.

Tratamento	Equação	R ²
Controle	$y = 100,71e^{-0,0055x}$	0,9796
Turfa	$y = 91,051e^{-0,0091x}$	0,9321
MO óleo	$y = 99,877e^{-0,0025x}$	0,961
composto	$y = 0,0039x^2 - 1,2456x + 97,142$	0,9943

O uso de dispersante tem sido estudado como um fator que favorece a remoção de constituintes de óleos no ambiente (DUKE *et al.*, 2000; YANG *et al.*, 2000). Entretanto, cabe questionarmos se esta remoção ocorre pelo aumento da biodegradabilidade, uma vez que a biodisponibilidade é aumentada, ou se ocorre um fenômeno físico de dispersão, que embora ocasione a eliminação dos microrganismos degradadores, também leva à diluição e transporte dos contaminantes para outras áreas, diminuindo a concentração detectada.

FIGURA 11.6. Degradação do fluido C em função do tempo de exposição às intempéries.

FIGURA 11.7. Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido C: solo contaminado (a) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias (b).

TABELA 11.3. Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido C.

Tratamento	Equação	R ²
Controle	$y = 109,53e^{-0,0107x}$	0,9888
Turfa	$y = 117,22e^{-0,0303x}$	0,9296
MO óleo	$y = 96,329e^{-0,0052x}$	0,965
composto	$y = 134,17e^{-0,037x}$	0,979

Para os fluidos sintéticos os processos apresentaram-se bastante diferentes entre si. O óleo D apresentou uma degradação bastante eficiente em todos os tratamentos, entretanto, para a adição de microrganismos de compostagem e turfa os processos não puderam ser descritos como uma reação de primeira ordem, como já descrito anteriormente para o fluido B. Para o fluido E, mesmo a amostra controle apresentou este comportamento. Cabe lembrar que estes lubrificantes são constituídos de hidrocarbonetos com insaturações. Tais compostos são, em geral, mais voláteis que aqueles que apresentam cadeia linear, sendo uma possível rota de perda do material. Além disto, as substâncias insaturadas podem ser absorvedores de radiação eletromagnética, podendo ocorrer degradação por ação da luz solar mais prontamente que compostos que não as possuem.

FIGURA 11.8. Degradação do fluido D em função do tempo de exposição às intempéries.

FIGURA 11.9. Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido D: solo contaminado (a) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias (b).

TABELA 11.4. Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido D.

Tratamento	Equação	R ²
Controle	$y = 103,54e^{-0,0118x}$	0,9517
Turfa	$y = 0,004x^2 - 1,2798x + 100,95$	0,993
MO óleo	$y = 141,64e^{-0,0181x}$	0,9192
composto	$y = 0,0045x^2 - 1,3582x + 99,241$	0,9958

FIGURA 11.10. Degradação do fluido E em função do tempo de exposição às intempéries.

FIGURA 11.11. Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido E: solo contaminado (a) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias (b).

TABELA 11.5. Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido E.

Tratamento	Equação	R ²
Controle	$y = 0,0022x^2 - 0,9852x + 103,76$	0,9877
Turfa	$y = 0,0034x^2 - 1,1564x + 99,356$	0,9983
MO óleo	$y = -0,547x + 103,09$	0,9821
composto	$y = 0,004x^2 - 1,2777x + 101,03$	0,9948

Compostos ramificados tendem a ser mais facilmente degradados, uma vez que a ação dos microrganismos se dá a partir das extremidades da molécula. Assim, o fluido F apresentou degradação de acordo com o modelo das reações irreversíveis de primeira ordem. Tanto o efeito físico, como a

lixiviação de alguns constituintes, quanto à degradação microbiológica ocorreu como visto em outros estudos de degradação de hidrocarbonetos de petróleo (OUDOT *et al.*, 1998; CHUNG *et al.*, 2000; MARGESIN *et al.*, 2000; OUDOT, 2000).

FIGURA 11.12. Degradação do fluido G em função do tempo de exposição às intempéries.

FIGURA 11.13. Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido F: solo contaminado (a) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias (b).

TABELA 11.6. Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido G.

Tratamento	Equação	R ²
Controle	$y = 142,76e^{-0,0174x}$	0,9119
Turfa	$y = 188,08e^{-0,0318x}$	0,9484
MO óleo	$y = 132,35e^{-0,0177x}$	0,9693
composto	$y = 175,68e^{-0,0378x}$	0,9602

Para o óleo mineral G, a degradação apresentou-se bastante complexa, uma vez que este óleo é constituído de hidrocarbonetos de cadeias normal, ramificada e insaturada. A volatilidade dos compostos ramificados, em geral, é superior àquela observada para os compostos insaturados, que é superior à dos compostos de cadeia normal. Assim, este processo pode ter

influenciado o perfil de perda diferenciada dos constituintes do lubrificante (PELTOLA & SALKINOJA-SALONEN, 2003). De acordo com o explicado para os fluidos D e E, as insaturações podem favorecer a degradação por ação da luz solar, embora compostos insaturados tenham uma característica recalcitrante. Ou seja, compostos com a presença de duplas ou triplas ligações costumam ser de difícil degradação microbiológica.

FIGURA 11.14. Degradação do fluido G em função do tempo de exposição às intempéries.

FIGURA 11.15. Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do fluido G: solo contaminado (a) e tratado com microrganismo de compostagem após 186 dias (b).

TABELA 11.7. Equações e coeficientes de correlação obtidos para regressão não-linear no estudo de degradação do fluido F.

Tratamento	Equação	R ²
Controle	$y = -4E-07x^4 + 0,0001x^3 - 0,0097x^2 - 1,0312x + 100,54$	0,9942
Turfa	$y = -7E-07x^4 + 0,0003x^3 - 0,0352x^2 + 0,4056x + 99,446$	0,9947
MO óleo	$y = -3E-07x^4 + 0,0002x^3 - 0,0263x^2 + 0,5784x + 98,512$	0,9618
composto	$y = -3E-07x^4 + 9E-05x^3 - 0,0011x^2 - 1,4897x + 100,4$	0,9968

É importante entender que a degradação de óleos não pode ser estudada como um sistema de um único constituinte. A complexidade deste sistema deve ser considerada, pois existe uma superposição de efeitos e fenômenos, aumentando as variáveis a serem investigadas (NOCENTINI *et al.*, 2000). Investigando-se os resultados de todos os fluidos com o auxílio do

programa SYSTAT® versão 9.0, puderam-se comparar as amostras e os tratamentos a fim de se determinar se, estatisticamente, os fluidos de corte são diferentes entre si no que diz respeito à degradabilidade e, também, se os tratamentos apresentam diferenças significativas. Para tanto, realizou-se análise com múltiplas variáveis, considerando-se, neste estudo, as condições climáticas.

Diante desta análise, observou-se que o modelo estatístico que considera o efeito do tempo, da temperatura média do ar, da temperatura média do solo, bem como da precipitação responde em 95,7% dos casos, sendo adequado para explicar a degradação dos fluidos de corte no solo. Estes parâmetros foram considerados, portanto, os fatores que levaram aos resultados observados. Ainda neste estudo, é possível observar diferenças significativas entre todos os tratamentos (Figura 11.16). O tratamento com adição de microrganismos provenientes de compostagem foi o mais eficiente na remoção dos constituintes dos lubrificantes das amostras de solo. A adição de turfa também favoreceu os processos de degradação dos lubrificantes. Os microrganismos presentes em borras de óleos usados na usinagem de metais não se mostraram eficientes, ou por não se adaptarem às condições do campo, ou por interações com os microrganismos nativos, como a predação, que desfavoreceram sua eficácia na degradação dos óleos.

Com relação aos óleos, pôde-se observar que o fluido B apresenta comportamento diferente dos demais, sendo o mais lentamente degradado. Os fluidos A e E não apresentam diferenças significativas entre si. O lubrificante D apresenta comportamento similar aos fluidos C, E, F e G. Entretanto, o fluido F apenas apresentou comportamento similar aos dos óleos D e G (Figura 11.17).

FIGURA 11.16. Resultado da análise estatística para os tratamentos. Onde: 1) controle; 2) solo tratado com adição de turfa; 3) solo tratado com borra de óleo usado; 4) solo tratado com microrganismos de compostagem. DEGRAD representa a média da concentração relativa.

FIGURA 11.17. Resultado da análise estatística para os óleos. Onde os fluidos de A a G são representados com números decrescentes.

DEGRAD representa a média da concentração remanescente relativa.

Para maior entendimento do efeito dos parâmetros climáticos, as Figuras de 11.18 a 11.22 apresentam aqueles que foram considerados neste estudo. Estes resultados foram obtidos na estação climatológica do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA – SHS – EESC – USP), tendo sido cedidas pelo Núcleo de Estudos Meteorológicos daquele centro. A região de Itirapina, onde foram realizados os testes, é de clima mesotérmico de inverno seco. Para comparação com os dados ora apresentados, a precipitação entre os meses de setembro de 1999 e agosto de 2000 foi de 1190,5 mm, com variação entre 5 e 103 mm na época seca (entre os meses de abril a novembro) e de 154,5 a 257,5 mm na época chuvosa (entre os meses de dezembro a março). As temperaturas médias foram de 16,4 a 22,2°C no período seco e 24,2 a 24,8°C no chuvoso, naquele mesmo período (LABORATÓRIO DE ECOLOGIA E EVOLUÇÃO DE VERTEBRADOS, 2004).

Percebeu-se que o período investigado apresentou menor precipitação que o período correspondente entre os anos de 1999 e 2000, enquanto a temperatura média permaneceu dentro da média do ano de comparação.

FIGURA 11.18. Radiação solar na região onde o estudo foi realizado.

FIGURA 11.19. Precipitação na região onde o estudo foi realizado.

FIGURA 11.20. Umidade relativa do ar na região onde o estudo foi realizado.

FIGURA 11.21. Temperatura do ar na região onde o estudo foi realizado.

FIGURA 11.22. Temperatura do solo na região onde o estudo foi realizado.

Para investigar a degradação dos fluidos sem a influência dos fatores climáticos, os mesmos foram acondicionados em frascos de vidro contendo 20 g de solo contaminado e mantidos a 20°C ao abrigo da luz em estufa por 30 dias. Observou-se que após este período os fluidos A, B e C apresentaram uma baixa taxa de degradação, inferior a 20%, enquanto os lubrificantes D, E, F e G não apenas apresentaram maior degradação (Figura 11.23), como também se pôde observar o crescimento de colônias de microrganismos.

FIGURA 11.23. Percentual remanescente de cada fluido após 30 dias de degradação em estufa a 20°C.

A degradação observada nestas condições controladas pode ser associada à ação dos microrganismos, bem como à volatilidade dos compostos. Deste modo, observou-se que os fluidos A, B e C não são tão prontamente degradados quanto os fluidos sintético e mineral. Isto foi confirmado em estudos microbiológicos em que os microrganismos do solo contaminado foram transferidos para placas de Petri. Foram usados como meio de cultura os óleos de corte como única fonte de carbono. Também foram empregados meios de cultura com fonte alternativa de carbono pela adição de

extrato de batata ao meio já contendo o lubrificante de interesse. Os resultados do estudo microbiológico são apresentados no Capítulo 12.

11.4 - CONCLUSÕES

Devido às características distintas dos diferentes fluidos de corte, observou-se uma dinâmica diferenciada para cada um dos lubrificantes, com taxas de remoção variáveis dos seus constituintes. Do mesmo modo, dos tratamentos propostos, a adição de turfa e de microrganismos provenientes de compostagem mostraram considerável melhora na remoção de todos os fluidos, dos quais o último se mostrou o melhor. A adição de microrganismos degradadores de um tipo de fluido de corte não se mostrou eficiente neste estudo. Possivelmente ocorreram fenômenos de interação entre os organismos, pois no ambiente têm-se a competição por recursos e a predação, como fatores limitantes para o crescimento de uma determinada espécie.

Os fatores ambientais podem influenciar positiva ou negativamente os mecanismos de remoção dos poluentes. As chuvas podem acarretar na lixiviação, e conseqüente transporte de alguns constituintes para as camadas mais profundas do solo. A temperatura elevada pode favorecer a volatilização, enquanto dias mais frios podem impedir a ação dos microrganismos. A radiação solar pode ocasionar a degradação fotolítica das substâncias que apresentem grupos absorvedores de energia radiante (MAKI *et al.*, 2001).

A disponibilidade dos constituintes dos lubrificantes pode, também, apresentar efeitos sinérgicos ou antagônicos. A solubilidade em água pode ser um indício de degradabilidade de uma substância, uma vez que esta pode ser mais facilmente transferida para o interior da célula, entretanto, se esta taxa é muito elevada e se a substâncias apresenta efeitos tóxicos os microrganismos podem ser eliminados do meio não sendo observada a biodegradação. Os compostos insolúveis não são transferidos para o interior da célula, mas podem ser degradados por via indireta, além de apresentarem menos efeitos tóxicos.

12. ESTUDO DOS MICRORGANISMOS DE SOLO ENVOLVIDOS NA DEGRADAÇÃO DOS FLUIDOS

12.1 - INTRODUÇÃO

O aumento na produção de compostos pouco degradáveis, como plásticos, detergentes, bem como a necessidade de remediação de eventos de elevado impacto, como o derramamento de hidrocarbonetos de petróleo em regiões sensíveis, têm levado ao estudo da biodegradação destes poluentes, quer sejam por organismos nativos, ou pelo desenvolvimento de novas cepas a partir do melhoramento genético (PRENAFETA-BOLDÚ *et al.*, 2004; SALMINEN *et al.*, 2004). Linhagens de microrganismos capazes de degradar diferentes poluentes, incluindo-se os óleos combustíveis ou lubrificantes, têm sido desenvolvidas por empresas de grande porte e buscam a geração de produtos que tenha um uso definido. Muitas vezes o emprego pretendido é na alimentação animal, utilizando as proteínas produzidas por bactérias no processo degradativo, entretanto, a presença de toxinas ou de ácidos nucleicos podem ocasionar problemas renais nos animais alimentados com estas “rações”. Assim, tem-se um longo caminho a ser percorrido até que se possam empregar os produtos da biodegradação de forma economicamente viável e sem os problemas que hoje eles apresentam (AZEVEDO, 1998; TORTORA *et al.*, 2000).

Existem mais de 27.000 espécies de bactérias conhecidas. Muitas das quais são capazes de degradar hidrocarbonetos, componentes de óleo cru ou de seus produtos. Os gêneros mais comumente encontrados em estudos de degradação de óleos são *Pseudomonas* e *Bacillus*. Estas bactérias são descritas como oleofílicas, pois são amplamente encontradas em locais onde

os hidrocarbonetos estão presentes, empregando-os como fonte de carbono, embora o mecanismo de degradação não seja facilmente entendido. Estes microrganismos, em geral, transformam os compostos originais em metanol, água e dióxido de carbono (AG-WEST BIOTECH, 1999). Em estudos com óleos de corte, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* foram identificadas como a mais abundante de quatorze espécies de *Pseudomonas* identificadas como degradadoras destes óleos. Além disto, tem sido reportado que o crescimento de tais bactérias leva a uma sucessão, onde fungos participam da etapa final de descontaminação. Outros organismos isolados em estudo destes óleos foram dos gêneros *Acinetobacter*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Actinobacillus*, *Citrobacter*, *Pantoea* e *Salmonella* (van der GAST *et al.*, 2001). Em outro estudo, foram encontradas dez espécies diferentes de bactérias, sendo as mais abundantes: *Pseudomonas*, *Citrobacter diversus* e *Enterobacter sakazakii* (SULIMAN *et al.*, 1997).

Organismos do gênero *Micrococcus* e *Pseudomonas* foram estudados na degradação de óleo mineral, tendo sido identificados como capazes de crescer tendo este material como fonte de carbono, sendo estudados também os efeitos de metais pesados na capacidade degradativa destes microrganismos (BENKA-COKER & EKUNDAYO, 1998).

Em estudo recente, foi investigada a influência da adição de bactérias fotosintetizantes (*Rhodobacter capsulata* e *Rhodocyclus gelatinosa*) sobre a degradação de produtos de petróleo presentes em solos. Foi observado que estes microrganismos agem em consórcio com bactérias que oxidam os hidrocarbonetos, aumentando o número de colônias destes microrganismos no meio e favorecendo a degradação dos poluentes (TEM *et al.*, 2004).

O emprego de fungos também é encontrado na literatura. Em condições neutras a presença destes microrganismos pode não causar aumento significativo na biodegradação de poluentes, entretanto, em condições mais ácidas, quando a atividade de muitas bactérias é afetada, pode-se perceber o crescimento de alguns fungos. A inoculação de *Cladophialophora*

sp. foi empregada para aumentar a degradação de BTEX em amostras de solo (PRENAFETA-BOLDÚ *et al.*, 2004).

Devido aos diferentes resultados observados na degradação de fluidos de corte, durante o uso ou no ambiente, fez-se necessário o estudo dos microrganismos envolvidos neste processo, no intuito de se conhecer quais os gêneros de microrganismos participaram da degradação dos mesmos.

12.2 - MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo contaminadas com os sete diferentes lubrificantes foram tomadas e 1 g de cada uma foi misturado com 10 mL de água desionizada estéril. De cada uma das soluções de microrganismos foi retirada uma alíquota de 1 mL, sendo diluído em mais 9 mL de água desionizada estéril. Estes passos foram efetuados até que se obtivesse uma diluição de 10^{-4} e 10^{-5} para a solução de microrganismos de cada amostra de solo. Foram preparados meios de cultura com ágar (1,5%) e óleo (20%), inoculando-os com os microrganismos de cada amostra correspondente. Meios de cultura contendo fonte de carbono alternativa também foram preparados, utilizando-se batata (20%), dextrose (2%), ágar (1,5%) e óleo (5%), chamado DBA (dextrose-batata-ágar), inoculando-se com os microrganismos da amostra correspondente. O esquema empregado para as diluições e inoculação é melhor visualizado na Figura 12.1.

Os meios de cultura foram mantidos em temperatura ambiente e foi observado o crescimento de colônias de bactérias e fungos, os quais foram separados para os meios adequados para estudos posteriores. Assim, para bactérias, foi preparado meio contendo extrato de levedura (0,5%), peptona (1%), NaCl (1%), ágar (1,5%). Após a separação das colônias de bactérias e suas purificações, efetuou-se o teste de coloração de Gram e estudo morfológico. Para os fungos, o mesmo meio, contendo batata e dextrose, produzido anteriormente foi empregado, adicionando-se sulfeto de

estreptomicina como agente bactericida. Após a purificação das linhagens de fungos, efetuou-se o estudo morfológico.

FIGURA 12.1 – Esquema de diluições e inoculação.

12.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas quaisquer colônias nas placas de cultivo do fluido A, sem fonte alternativa de carbono. No meio contendo batata ou dextrose como fonte de carbono, observou-se o crescimento de bactéria após dois meses de observação (Figura 12.2). Os fluidos B e C não apresentaram desenvolvimento de nenhum microrganismo nos dois meses de estudo (Figuras 12.3 e 12.4). Estes fluidos se apresentaram tóxicos ao desenvolvimento de microrganismos confirmando o pressuposto nos capítulos anteriores de que as suas solubilidades poderiam torná-los mais prontamente absorvidos pelas células, eliminando-as antes que as mesmas pudessem efetuar a degradação de seus constituintes.

FIGURA 12.2 – Meios de cultura contendo o fluido A sem a adição de fonte alternativa de carbono (a) e com batata e dextrose (b).

FIGURA 12.3 – Meios de cultura contendo o fluido B sem a adição de fonte alternativa de carbono (a) e com batata e dextrose (b).

FIGURA 12.4 – Meios de cultura contendo o fluido C com a adição de fonte alternativa de carbono (a) e sem a mesma (b).

As amostras de fluido D, sintético, apresentou o crescimento de bactérias mesmo quando não havia fonte alternativa de carbono em uma semana de observação, mostrando que este lubrificante é prontamente degradado pelos microrganismos do solo (Figura 12.5). Os fluidos E, F e G apresentaram muitas colônias de bactérias quando na presença de fonte alternativa de carbono (Figuras 12.6 a 12.8). Para o fluido E, observou-se, também, o desenvolvimento de bactérias filamentosas. Para o fluido G, alguns fungos cresceram após o desenvolvimento de bactérias em um sistema de sucessão. Neste estudo encontraram-se bactérias, principalmente bacilos gram positivos, sendo observados também estreptococcus, estafilococcus, coccus e vibrião. Das bactérias, as encontradas são, principalmente dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*; e fungos dos gêneros *Fusarium* e *Penicillium*.

FIGURA 12.5 – Meios de cultura contendo o fluido D sem a adição de fonte alternativa de carbono (a) e com batata e dextrose (b).

FIGURA 12.6 – Meios de cultura contendo o fluido E com a adição de fonte alternativa de carbono (a) e sem a mesma (b).

FIGURA 12.7 – Meios de cultura contendo o fluido F sem a adição de fonte alternativa de carbono (a) e com batata e dextrose (b).

FIGURA 12.8 – Meios de cultura contendo o fluido G com a adição de fonte alternativa de carbono (a) e sem a mesma (b).

12.4 - CONCLUSÕES

Os fluidos solúveis em água se mostraram tóxicos para os microrganismos de modo que os lubrificantes B e C não permitiram o crescimento de fungos ou bactérias mesmo quando foram empregadas outras fontes de carbono. Para o lubrificante A, observou-se apenas o crescimento de bactérias após dois meses de experimento quando na presença de outras fontes de carbono.

Os demais fluidos, minerais e sintéticos, mostraram-se mais toleráveis aos fungos e bactérias, desenvolvendo-se colônias na primeira semana de estudo, entretanto, apenas o lubrificante D (sintético) foi degradado mesmo quando não foram empregados suplementos de carbono. Quando tais suplementos foram empregados houve o crescimento de um número maior de colônias e uma maior diversidade de gêneros de microrganismos, mostrando a possibilidade de uma maior degradação, uma vez que fenômenos de interação entre os microrganismos, como o comensalismo e a simbiose, podem ser favorecidos. As interações entre os organismos garantem, muitas vezes, uma degradação mais pronunciada dos poluentes no meio. Estes resultados confirmam aqueles obtidos nos estudos apresentados nos capítulos anteriores.

13. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ambiente tem recebido continuamente efluentes da indústria mecânica, na forma de descartes irregulares ou como derramamentos acidentais. Tais contaminantes são principalmente os fluidos de corte que são empregados como lubrificantes ou líquidos refrigerantes. Estes fluidos podem ser constituídos de óleos minerais, principalmente n-parafinas, lubrificantes vegeto-animais, compostos por ésteres de ácidos graxos, álcoois, entre outras substâncias, ou fluidos sintéticos, de composição menos complexa, embora mais difícil de ser determinada. Todos estes produtos comerciais são acrescidos de biocidas, cargas, tensoativos entre outros tipos de substâncias, adicionadas para melhorar as suas propriedades lubrificantes, refrigerantes, seu tempo de prateleira ou de vida útil.

Considerando a complexidade de tais compostos, coube-nos avaliar a dinâmica e destino de sete diferentes fluidos de corte empregados na usinagem de peças metálicas na região de São Carlos, SP. Destes lubrificantes, dois foram solúveis em água, um emulsionável e quatro insolúveis. Dos lubrificantes insolúveis, dois foram de origem mineral e os outros sintéticos. Os fluidos solúveis e emulsionáveis foram de origem vegetal, sintética ou semi-sintética (óleo mineral acrescido de constituintes sintéticos), sendo constituídos de ésteres, aminas, amidas, glicol, álcoois e silicones. Os fluidos sintéticos insolúveis foram constituídos de hidrocarbonetos insaturados, enquanto os fluidos minerais foram misturas de n-parafinas, de hidrocarbonetos ramificados e, também, insaturados.

Estas diferenças de composição ocasionam uma dinâmica diferenciada dos óleos de corte no ambiente. Alguns destes fluidos são

facilmente degradados durante o uso, principalmente os solúveis que são misturados a grandes quantidades de água. Outros são mais persistentes, não sofrendo degradação durante a operação a que se propõe. De outra forma, quando no ambiente, sujeitos aos fatores climáticos e a diferentes interações com moléculas orgânicas e inorgânicas, bem como à ação dos microrganismos, os fluidos de corte podem apresentar dinâmica e destino diferenciado.

Os microrganismos do solo, quer sejam fungos ou bactérias, são, em geral, capazes de degradar os hidrocarbonetos em um período inferior a seis meses. Entretanto, a degradação microbiológica pode ser favorecida por temperaturas adequadas ao crescimento celular, ou desfavorecidas por temperaturas consideradas baixas. As temperaturas mais elevadas podem favorecer, ainda, a perda para a atmosfera dos constituintes mais voláteis. Outro fator importante na remoção dos constituintes dos óleos é a luz solar que pode degradar principalmente moléculas com grupos absorvedores de radiação eletromagnética. Cabe ainda ressaltar que a degradação depende da disponibilidade das substâncias em estudo, geralmente relacionada à solubilidade em água, mas que isto pode ser um fator negativo, uma vez que compostos mais prontamente transferidos para o interior da célula podem apresentar efeitos tóxicos aos microrganismos.

Devido a esta complexidade, foram investigadas as dinâmicas destes fluidos sob diferentes condições, observando-se que os fluidos solúveis apresentam, por isto mesmo, uma maior lixiviação, podendo ser mais facilmente transportados para os lençóis subterrâneos. Os óleos hidrocarbonetos são menos móveis e interagem mais fortemente com a matéria orgânica do solo. Constituintes mais polares de alguns lubrificantes podem interagir mais fortemente com os constituintes inorgânicos do solo, como os silicatos, principalmente se possuírem em sua molécula cargas elétricas positivas, que, em geral, dependem do pH da solução do solo.

Em estudos de campo, onde os óleos são submetidos à ação de microrganismos de solo e de fatores ambientais, observa-se a degradação de

todos os lubrificantes estudados, embora melhores resultados tenham sido observados para os fluidos contendo hidrocarbonetos. Estes resultados sugerem que a ação de fatores ambientais e microrganismos sobre estas substâncias apresentou maior efeito. Isto sugere que a principal via de degradação não é baseada na absorção dos contaminantes pelos microrganismos, o que teria um efeito tóxico, mas pelo uso de outra fonte de carbono com a conseqüente produção de enzimas ou outras substâncias capazes de oxidar os componentes dos lubrificantes. A adição de microrganismos provenientes de compostagem aceleraram a degradação de todos os fluidos, bem como a adição de turfa como fonte alternativa de carbono.

Em estudos de laboratório, com a temperatura controlada, observou-se maior degradação dos hidrocarbonetos que das demais substâncias em amostras de solo. Quando os microrganismos foram inoculados em meios de cultura contendo os fluidos como única fonte de carbono apenas nos fluidos insolúveis foi possível observar a formação de algumas poucas colônias. O acréscimo de outra fonte de carbono favoreceu o desenvolvimento de diversas colônias de fungos e bactérias para os mesmos óleos. Para os fluidos solúveis não foram observadas colônias mesmo em meios contendo fonte alternativa de carbono. Isto confirma a tese de que os microrganismos sofrem efeito tóxico dos fluidos quando estes são prontamente absorvidos pelas células, o que leva à eliminação dos organismos degradadores.

Outra contribuição importante deste estudo foi a adaptação de método cromatográfico para a determinação dos constituintes dos fluidos de corte em amostras de solo e água. Tal procedimento analítico apresentou resultados suficientemente exatos e precisos, com bons limites de detecção e quantificação, podendo ser empregado em estudos de monitoramento. Um procedimento baseado em espectrofluorimetria também foi desenvolvido e empregado no estudo de interação com a matéria orgânica natural, mas que também pode ser empregado para estudos de degradação ou em monitoramentos ambientais

14. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se que sejam realizados os seguintes estudos:

- ✓ Determinação da toxicidade dos constituintes dos fluidos de corte, solúveis ou não, para organismos de solo e água, nos diferentes níveis tróficos;
- ✓ Estudos de degradação com microrganismos provenientes de outros ambientes, como de efluentes domésticos, de sedimentos em regiões de manguezais, entre outros;
- ✓ Estudos para a identificação das espécies envolvidas nos processos de biodegradação destes fluidos em amostras de solo.

Anexo 1 – Resultados obtidos pelo Systat 9.0 quando alimentado com todos os parâmetros climáticos e com os dados de degradação.

Effects coding used for categorical variables in model.

Categorical values encountered during processing are:

TRATAMENTO\$ (4 levels)

1, 2, 3, 4

OLEO\$ (7 levels)

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

1 case(s) deleted due to missing data.

Dep Var: DEGRAD N: 336 Multiple R: 0.957 Squared multiple R: 0.916

Estimates of effects $B = (X'X)^{-1} X'Y$

DEGRAD		
CONSTANT		381.253
TRATAMENTO\$ 1		4.594
TRATAMENTO\$ 2		-6.280
TRATAMENTO\$ 3		14.292
OLEO\$ 1		1.515
OLEO\$ 2		13.380
OLEO\$ 3		-1.036
OLEO\$ 4		-3.285
OLEO\$ 5		-1.229
OLEO\$ 6		-5.869
TEMPO		0.304
TAME		-5.787
TSME		-6.645
UMED		-0.680
PRECIPITA		-0.145

Analysis of Variance					
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TRATAMENTO\$	35594.293	3	11864.764	104.192	0.000
OLEO\$	11579.234	6	1929.872	16.947	0.000
TEMPO	770.780	1	770.780	6.769	0.010
TAME	833.467	1	833.467	7.319	0.007
TSME	510.815	1	510.815	4.486	0.035
UMED	182.745	1	182.745	1.605	0.206
PRECIPITA	1254.792	1	1254.792	11.019	0.001

Error	36553.576	321	113.874

Adjusted least squares means.

	Adj. LS Mean	SE	N
TRATAMENTO\$ =1	48.795	1.164	84
TRATAMENTO\$ =2	37.921	1.164	84
TRATAMENTO\$ =3	58.493	1.164	84
TRATAMENTO\$ =4	31.594	1.164	84

Least Squares Means

OLEO\$	=1	45.716	1.540	48
OLEO\$	=2	57.581	1.540	48
OLEO\$	=3	43.165	1.540	48
OLEO\$	=4	40.916	1.540	48
OLEO\$	=5	42.972	1.540	48
OLEO\$	=6	38.331	1.540	48
OLEO\$	=7	40.726	1.540	48

Least Squares Means

 -
 Durbin-Watson D Statistic   0.666
 First Order Autocorrelation   0.666

Residuals have been saved.

 -

SYSTAT Rectangular file C:\Program Files\SYSTAT 9\res.SYD,
 created Sun Jun 27, 2004 at 15:49:30, contains variables:

ESTIMATE	RESIDUAL	LEVERAGE	COOK	STUDENT	SEPRE

RESIDUAL	
N of cases	336
Minimum	-27.673
Maximum	31.880
Range	59.552
Sum	0.000
Median	0.124
Mean	0.000
95% CI Upper	1.121
95% CI Lower	-1.121
Std. Error	0.570
Standard Dev	10.446
Variance	109.115
C.V.	1.12318E
	+14
Skewness(G1)	0.091
SE Skewness	0.133
Kurtosis(G2)	0.259
SE Kurtosis	0.265

Anexo 2 – Resultados obtidos pelo Systat 9.0 quando alimentado retirando-se a unidade do modelo adotado.

Effects coding used for categorical variables in model.

Categorical values encountered during processing are:

OLEO\$ (7 levels)

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

TRATAMENTO\$ (4 levels)

1, 2, 3, 4

1 case(s) deleted due to missing data.

Dep Var: DEGRAD   N: 336   Multiple R: 0.957   Squared multiple R: 0.915

Estimates of effects $B = (X'X)^{-1} X'Y$

DEGRAD		
CONSTANT		358.346
TRATAMENTO\$ 1		4.594
TRATAMENTO\$ 2		-6.280
TRATAMENTO\$ 3		14.292
OLEO\$ 1		1.515
OLEO\$ 2		13.380
OLEO\$ 3		-1.036
OLEO\$ 4		-3.285
OLEO\$ 5		-1.229
OLEO\$ 6		-5.869
TEMPO		0.393
TAME		-3.201
TSME		-10.269
PRECIPITA		-0.189

Analysis of Variance					
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TRATAMENTO\$	35594.293	3	11864.764	103.997	0.000
OLEO\$	11579.234	6	1929.872	16.916	0.000
TEMPO	1988.786	1	1988.786	17.432	0.000
TAME	2856.322	1	2856.322	25.036	0.000
TSME	7246.339	1	7246.339	63.515	0.000
PRECIPITA	5562.485	1	5562.485	48.756	0.000

Error 36736.321 322 114.088

Adjusted least squares means.

	Adj. LS Mean	SE	N
TRATAMENTO\$ =1	48.795	1.165	84
TRATAMENTO\$ =2	37.921	1.165	84
TRATAMENTO\$ =3	58.493	1.165	84
TRATAMENTO\$ =4	31.594	1.165	84

Least Squares Means

OLEO\$	=1	45.716	1.542	48
OLEO\$	=2	57.581	1.542	48
OLEO\$	=3	43.165	1.542	48
OLEO\$	=4	40.916	1.542	48
OLEO\$	=5	42.972	1.542	48
OLEO\$	=6	38.331	1.542	48
OLEO\$	=7	40.726	1.542	48

Least Squares Means

 -
 Durbin-Watson D Statistic   0.669
 First Order Autocorrelation   0.664

Residuals have been saved.

 -
 SYSTAT Rectangular file C:\Program Files\SYSTAT 9\res.SYD,
 created Sun Jun 27, 2004 at 15:57:44, contains variables:

ESTIMATE	RESIDUAL	LEVERAGE	COOK	STUDENT	SEPREP

RESIDUAL	
N of cases	336
Minimum	-27.734
Maximum	31.042
Range	58.775
Sum	0.000
Median	-0.078
Mean	0.000
95% CI Upper	1.124
95% CI Lower	-1.124
Std. Error	0.571
Standard Dev	10.472
Variance	109.661
C.V.	6.00171E+13
Skewness(G1)	0.095
SE Skewness	0.133
Kurtosis(G2)	0.215
SE Kurtosis	0.265

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADHVARYU, A.; PEREZ, J. M.; SINGH, I. D. Application of quantitative NMR spectroscopy to oxidation kinetics of base oils using a pressurized differential scanning calorimetry technique. **Energy and Fuels**, v. 13, p. 493-498, 1999a.

ADHVARYU, A.; SHARMA, Y. K.; SINGH, I. D. Studies on the oxidative behavior of base oils and their chromatographic fractions. **Fuel**, v. 78, p. 1293-1302, 1999b.

AG-WEST BIOTECH INC. Bacteria biotech: development environmental alternatives in the oil industry (part I). **The AGBiotech Inforsource**, v. 42, p. 1-2, 1999.

ALEXANDER, M. **Biodegradation and bioremediation**. New York: Academic Press, 1999.

AMARANTE Jr., O. P. de. **Avaliação do potencial de contaminação por herbicidas – determinação do 2,4-D e do seu principal produto de degradação em solos de campos de cultivo de eucaliptos**. [Dissertação de mestrado em Química Analítica]. São Luís: UFMA, 2002. 125p.

AMARANTE Jr., O. P. de; BRITO, N. M.; RIBEIRO, A. B.; VIEIRA, E. M. Caracterização de diferentes fluidos empregados na usinagem de metais. Parte I: perfil cromatográfico e espectrometria de massas **Anais Assoc. Bras. Quím.**, v. 52, n. 2, p. 83-87, 2003.

AMARANTE Jr., O. P. de; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R. dos; RIBEIRO, M. L. Estudo da adsorção/dessorção de 2,4-D em solos usando técnica cromatográfica. **Eclética Química**, v. 27, n. Esp, p. 253-261, 2002.

AMARANTE Jr., O. P. de; BRITO, N. M.; VIEIRA, E. M. Avaliação preliminar do perfil cromatográfico de diferentes fluidos de corte. In: VIII Workshop de pós-graduação, 2002, São Carlos. **Resumos**. São Carlos: IQSC, 2002. p.70.

AMARANTE Jr., O. P. de; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R. dos; VALE, M. L. B. F. Validação de métodos analíticos: breve revisão. **Cad. Pesq.**, v. 12, p. 116-131, 2001.

AMARANTE Jr., O. P. de; SANTOS, T. C.R. dos; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Estudo da mobilidade de 2,4-D em solos por cromatografia líquida. **Cad. Pesq.**, 2003. [no prelo].

AMERICAN Society for Metals (ASM). **Metals Handbook**, Desk Ed. Metals Park, Ohio, v. 27, p. 14, 1984.

ARAÚJO, A. B.; FÉLIX, E. P.; BRITO, N. M.; AMARANTE Jr., O. P. de. Interação e destino de pesticidas no ambiente. **Ciências da Engenharia Ambiental**. v. 3: Ciências Ambientais: diversas abordagens para bacia hidrográfica. São Carlos: RiMa, 2004. [no prelo].

ARAÚJO, A. B.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C. Distribuição de metais e caracterização da constante de troca entre espécies metálicas e frações húmicas aquáticas de diferentes tamanhos moleculares. **Quím. Nova**, v.25, p. , 2002.

AZEVEDO, J. L. de. **Genética de microrganismos**. Goiânia: UFG, 1998.

BAKER, K. H.; HERSON, D. S. **Bioremediation**. New York: McGraw-Hill, 1994.

BARROS, M. C. P.; PAULA, J. R.; REZENDE, M. O. O. Caracterização físico-química do ácido húmico de solo da Ilha de Cananéia e de sua interação com Fe(III), Cu(II) e Cd(II). **Quím. Nova**, v. 17, p. 376-380, 1994.

BATTERSBY, N. S.; MORGAN, P. A note on the use of the CEC L-33-A-93 test to predict the potencial biodegradation of mineral oil based lubricants in soil. **Chemosphere**, v.33, n. 8, p. 1773-1779, 1997.

BENKA-COKER, M. O.; EKUNDAYO, J. A. Effects of heavy metals on growth of species of *Micrococcus* and *Pseudomonas* in a crude oil/mineral salts medium. **Bioresource Technology**, v. 66, p. 241-245, 1998.

BENTHAM, R.; McCLURE, N.; CATCHESIDE, D. Biotreatment of an industrial waste oil condensate. **Wat. Sci. Tech.**, v. 36, n. 10, p. 125-129, 1997.

BETTS, T. J. Chemical characterization of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. **J. Chromatogr. A**, v. 936, p. 33-46, 2001.

BOOIJ, K.; van DROOGE, B. L. Polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene in atmosphere, sea-surface microlayer, and water measured with semi-permeable membrane devices (SPMDs). **Chemosphere**, v. 44, p. 91-98, 2001.

BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 63-67, 2000.

BOOTHROYD, G.; KNIGHT, W. A., **Fundamentals machining and machine tools**, New York, 2 (1989).

BORONIN, A. M.; GRISHCHENKOV, V. G.; KARPOV, A. V.; SELEZNEV, S. G.; TOKAREV, V. G.; ARINBASAROV, M. U.; GAJAZOV, R. R.; KUZMIN, N. P. Degradation of mazut by selected microbial strains in model systems. **Process Biochemistry**, v. 32, n. 1, p. 13-19, 1997.

BRASIL. Agência Nacional do Petróleo (ANP). Portaria N° 127, de 30 de julho de 1999. Regulamenta a atividade de coleta de óleo lubrificante usado ou contaminado a ser exercida por pessoa jurídica sediada no País, organizada de acordo com as leis brasileiras. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 ago 1999.

BRASIL. Agência Nacional do Petróleo (ANP). Portaria N° 129, de 30 de julho de 1999. Estabelece o Regulamento Técnico ANP n° 004/99, que especifica os óleos lubrificantes básicos de origem nacional ou importado para comercialização em território nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 ago 1999.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução N° 9, de 31 de agosto de 1993.. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 out 1993.

BRASIL. Portaria Interministerial N° 19, de 29 de janeiro de 1981. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 ago 1999.

BRITO, N. M.; AMARANTE Jr., O. P. de; ABAKERLI, R.; SANTOS, T. C. R. dos; RIBEIRO, M. L. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar.. **Pesticidas Rev. Ecotoxicol. Meio Ambiente**. Curitiba, v.11, p.93 - 114, 2001.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P. de; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas R. Ecotoxicol. Meio Ambiente**, v. 13, p. , 2003.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P. de; POLESE, L.; SANTOS, T. C. R. dos; RIBEIRO, M. L. Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de recuperação. **Pesticidas R. Ecotoxicol. Meio Ambiente**, v. 12, p. 155-168, 2002.

BROWN, C. E.; FINGAS, M. F. Review of the development of laser fluorosensors for oil spill application. **Marine Pollution Bulletin**, v. 47, p. 477-484, 2003.

BROWN, M. Biodegradation of oil in freshwater. In: GREEN, J.; TRETT, M. W. **The fate and effects of oil in freshwater**. New York: Elsevier Science, 1989. p.197-213.

BURNS, K. A.; CODI, S. Non-volatile hydrocarbon chemistry studies around a production platform on Australia's Northwest shelf. **Estuarine, Coastal and Shelf Sci.**, v. 49, p. 853-876, 1999.

CAJARAVILLE, M. P.; BEBIANNO, M. J.; BLASCO, J.; PORTE, C.; SARASQUETE, C.; VIARENGO, A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **Sci. Total Environm.**, v. 247, p. 295-311, 2000.

CERNY, J.; STRNAD, Z.; SEBOR, G. Composition and oxidation stability of SAE 15W-40 engine oil. **Tribology International**, v. 34, p. 127-134, 2001.

CHAÎNEAU, C. H.; MOREL, J.; DUPONT, J.; BURY, E.; OUDOT, J. Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. **Sci. Total Environ.**, v. 227, p. 237-247, 1999.

CHOI, D. H.; HORI, K.; JANJI, K.; UMNO, H. Microbial degradation kinetics of solid alkane dissolved in nondegradable oil phase. **Biochemical Engineering J.**, v. 3, p. 71-78, 1999.

CHUNG, Y. C.; CHEN, H. C.; SHYU, Y. T.; HUA, J. Temperature and water effects on the biodeterioration for marine fuel oil. **Fuel**, v. 79, p. 1525-1532, 2000.

CONSELHO Nacional do Meio Ambinete (CONAMA). Resolução nº 20, de 18 de junho de 1986. Dispõe sobre a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 jun 1986.

DEL'ARCO, J. P.; FRANÇA, F. P. Influence of oil contamination levels on hydrocarbon biodegradation in sandy sediment. **Environmental Pollution**, v. 110, p. 515-519, 2001.

DONG, D.; TASAKA, S.; INAGAKI, N. Thermal degradation of monodisperse polystyrene in bean oil. **Polymer Degradation Stability**, v. 72, p. 345-351, 2001.

DUKE, N. C.; BURNS, K. A.; SWANNELS, R. P. J.; DALHAUS, O.; RUPP, R. J. Dispersant use and a bioremediation strategy as alternate means of reducing impacts of large oil spills on mangroves: the Gladstone field trials. **Marine Pollution Bulletin**, v. 41, n. 7-12, p. 403-412, 2000.

EISENTRAEGER, A.; SCHMIDT, M.; MURRENHOFF, H.; DOTT, W.; HAHN, S. Biodegradability testing of synthetic ester lubricants - effects of additives and usage. **Chemosphere**, v. 48, p. 89-96, 2002.

EL BARADIE, M. A. Cutting Fluids: Part I. Characterisation. **J. Materials Processing Technology**, v. 56, p. 786-798, 1996.

EL HARFI, K.; MOKHLISSE, A.; CHANÂA, M. B.; OUTZOURHIT, A. Pyrolysis of the Moroccan (Tarfaya) oil shales under microwave irradiation. **Fuel**, v. 79, p. 733-742, 2000.

EL-TOKHI, M. M.; MOSTAFA, Y. M. Heavy metals and petroleum hydrocarbons contamination of botton sediments of El Sukhna area, Gulf of Suez, Egypt. **Petroleum Sci. Tech.**, v. 19, p. 481-494, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. [on line]. Disponível em: <<http://www.embrapa.gov.br>>. Acesso em 01 jul 2004.

ERIKSSON, M.; SWARTLING, A.; DALHAMMAR, G. Biological degradation of diesel fuel in water and soil monitored with solid-phase microextraction and GC-MS. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.50, p. 129-134, 1998.

EWEIS, J. B.; ERGAS, S. J.; CHANG, D. P. Y.; SCHROEDER, E. D. **Bioremediation principles**. Boston: McGraw-Hill, 1998.

FALONE, S. Z. **Estudo da interação de explosivos com substâncias húmicas de diferentes procedências**. [Dissertação de mestrado em Química Analítica]. São Carlos: USP, 2002. 104f.

FALONE, S. Z.; AMARANTE Jr., O. P. de; VIEIRA, E. M. Interação do explosivo HMX com turfa na presença e na ausência de matéria orgânica. In: WENDLAND, E.; SCHALCH, V. **Pesquisas em meio ambiente**: subsídios para a gestão de políticas públicas. São Carlos: RiMa. p. 155-164, 2003.

FERNANDES, R. **Modelação de derrames de hidrocarbonetos**. [Trabalho final de curso]. Lisboa: Instituto Superior Técnico, 2001.

GEORGE, S. C.; RUBLE, T. E.; DUTKIEWICZ, A.; EADINGTON, P. J. Reply to comment by Oxtoby on "Assessing the maturity of oil trapped in fluid inclusions using molecular geochemistry data and visually-determined fluorescence colours. **Applied Geochemistry**, v. 17, p. 1375-1378, 2002.

GERSTEN, J.; FAINBERG, V.; HETSRONI, G.; SHINDLER, Y.; **Fuel**, v. 79, p. 1679, 2000.

GIBSON, D. T., **Microbial Degradation of Organic Compounds**, v. 13, p. 29, 1984.

GRAY, M. R.; BANERJEE, D. K.; DUDAS, M. J.; PICKARD, M. A. Protocols to enhance biodegradation of hydrocarbon contaminants in soil. **Bioremediation J.**, v. 4, n. 4, p. 249-257, 2000.

GREEN, D. A.; NAIMIMOHASSES, R.; SMITH, P. R.; THOMASON, H. In-situ measurement and classification of oil pollution. **Environment Int.**, v. 21, n. 2, p. 245-250, 1995.

GREER, C. W.; FORTIN, N.; ROY, R.; WHYTE, L. G.; LEE, K. Indigenous sediment microbial activity in response to nutrient enrichment and plant growth following a controlled oil spill on a freshwater wetland. **Bioremediation J.**, v. 7, n. 1, p. 69-80, 2003.

GRZECHULSKA, J.; HAMERSKI, M.; MORAWSKI, A. W. Photocatalytic decomposition of oil in water. **Wat. Res.**, v. 34, n. 5, p. 1638-1644, 2000.

HAIMI, J. Decomposer animals and bioremediation of soils. **Environm. Pollution**, v. 107, p. 233-238, 2000).

HE, L. M.; KEAR-PADILLA, L. L.; LIEBERMAN, S. H.; ANDREWS, J. M. Rapid in situ determination of total oil concentration in water using ultraviolet fluorescence and light scattering coupled with artificial neural networks. **Anal. Chim. Acta**, v. 478, p. 245-258, 2003.

HUSAIN, S.; NARSIMHA, R.; RAO, R. N. Separation, identification and determination of sanguinarine in argemone and other adulterated edible oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 863, p. 123-126, 1999.

INDÚSTRIA Petroquímica do Sul. **Decreto Federal nº 3179/99**. [on line]. Disponível em: <<http://www.petroquimicasul.com.br/1317999.htm>>. Acesso em: 14 fev 2001.

INDÚSTRIA Petroquímica do Sul. **Lei Federal nº 9605/98**. [on line]. Disponível em: <<http://www.petroquimicasul.com.br/1960598.htm>>. Acesso em: 14 fev 2001.

INSTITUTO Brasileiro do Meio Ambiente. **Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos**: E.2 - Teste para a avaliação da mobilidade. IBAMA: Brasília, DF, 1990.

JØRSENSEN, K. S.; PUUSTINEN, J.; SUORTTI, A.-M. Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. **Environm. Pollution**, v. 107, p. 245-254, 2000.

JAIN, V. K.; SHUKLA, D. S. The role of fatty materials and water soluble inorganic solids in synthetic metal working fluid. **Wear**, v. 208, p. 11-16, 1997.

JIROVETZ, L.; JÄGER, W.; REMBERG, G.; ESPINOSA-GONZALEZ, J.; MORALES, R.; WOIDICH, A.; NIKIFOROV, A. Analysis of the volatiles in the seed oil of *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) by means of GC-MS and GC-FTIR. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p. 1186-1187, 1992.

JIROVETZ, L.; KOCH, H. P.; JÄGER, W.; REMBERG, G. Investigations of German onion oil by GC-FID, GC-MS and GC-FTIR. **Pharmazie**, v. 47, p. 455-456, 1992.

JORDÃO, C. P.; COSTA, E. D.; BRUNE, W.; GOULART, A. T. Adsorção de cátions metálicos em ácidos húmicos de latossolo. **Quím. Nova**, v. 16, p. 517-520, 1993.

JYONOSONO, K.; IMATO, T.; IMAZUMI, N.; NAKANISHI, M.; YAGI, J.-I. Spectrophotometric flow-injection analysis of the total base number in lubricants by using acid-base buffers. **Anal. Chim. Acta**, v. 438, p. 83-92, 2001.

KALPAKJIAN, S., **Manufacturing process for engineering materials**, New York, 1991.

KASSFELDT, E.; DAVE, G. Environmentally adapted hydraulic oils. **Wear**, v. 207, p. 41-45, 1997.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1985. 492p.

KLOCKE, F.; EISENBLÄTTER, G., **Production Engineering**, v. 4, p. 19, 1997.

KOHLER, M.; HEEB, N. V. Characterization of ageing products of ester-based synthetic lubricants by liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry and by electrospray ionization (tandem) mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, v. 926, p. 161-165, 2001.

KOT, A.; ZABIEGATA, B.; NAMIESNIK, J. Passive sampling for long-term monitoring of organic pollutants in water. **Trends Anal. Chem.**, v. 19, n. 7, p. 446-459, 2000.

KRAHN, M. M.; YIITALO, G. M.; BUZITIS, J.; CHAN, S.-L.; VARANASI, U.; WADE, T. L.; JACKSON, T. J.; BROOKS, J. M.; WOLFE, D. A.; MANEN, C.-A.. Comparison of high-performance liquid chromatography/fluorescence screening and gas chromatography/mass spectrometry analysis for aromatic compounds in sediments sampled after Exxon Valdez oil spill. **Environ. Sci. Technol.**, v. 27, p. 699-708, 1993.

KUSTAS, F. M.; FEHREHNBACHER, L. L.; KOMANDURI, R., **CIRP Annals**, v. 46, p. 39, 1997.

LABORATÓRIO DE Ecologia e Evolução de Vertebrados. Universidade de São Paulo. [on line]. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/labvert/Siteltirapina/estacao.htm>>. Acesso em: 10 jun 2004.

LANÇAS, F. M.; VILEGAS, J. H. Y.; GALHIANE, M. S. Uso de técnicas cromatográficas para a avaliação de propriedades físico-químicas de pesticidas

em solos. Parte I. Determinação da mobilidade. **Pesticidas R. Téc. Cient.**, Curitiba, v. 4, n. 4, p. 39-56, 1994.

LANDGRAF, M. D.; SILVA, S. C.; REZENDE, M. O. O. Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. **Anal. Chim. Acta**, v. 368, p. 155-164, 1998.

LANGWALDT, J. H.; PUHAKKA, J. A. On-site biological remediation of contaminated groundwater: a review. **Environm. Pollution**, v. 107, p. 187-197, 2000.

LIU, K.; EADINGTON, P.; COGHLAN, D. Fluorescence evidence of polar hydrocarbon interaction on mineral surfaces and implications to alteration of reservoir wettability. **J. Petroleum Sci. Engineering**, v. 39, p. 275-285, 2003.

LIU, Q.-T.; KINDERLERER, J. Preparative thin-layer chromatographic separation and subsequent gas chromatographic-mass spectrometry analysis of monoacylglycerols derived from butter oil by fungal degradation. **J. chromatogr. A.**, v. 855, p. 617-624, 1999.

LUBRIFICANTES. [on line]. Disponível em: <<http://www.sucatas.com/lubrificante.html>>. Acesso em 07 out 2001.

MAKI, H.; SASAKI, T.; HARAYAMA, S. Photo-oxidation of biodegraded crude oil and toxicity of the photo-oxidized products. **Chemosphere**, v. 44, p. 1145-1151, 2001.

MANSFIELD, C. T.; BARMAN, B. N.; THOMAS, J. V.; MEHROTRA, A. K.; McCANN, J. M. Petroleum and coal. **Anal. Chem.**, v. 71, p. 81R-107R, 1999.

MARGESIN, R.; ZIMMERBAUER, A.; SCHINNER, F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. **Chemosphere**, v. 40, p. 339-346, 2000.

MÁRQUEZ-ROCHA, F. J.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, V.; LAMELA, M. T. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 128, p. 313-320, 2001.

MEDVEDOVICI, A.; DAVID, F.; SANDRA, P. Analysis of sterols in vegetable oils using off-line SFC/Capillary GC-MS. **Chromatographia**, v. 44, n. 1-2, p. 37-42, 1997.

MIGUEL, M. da G.; BURROWS, H. D.; PEREIRA, M. A. E.; VARELA, A. P. Probing solute distribution and acid-base behaviour in water-in-oil microemulsions by fluorescence techniques. **Colloids and Surfaces**, v. 176, p. 85-99, 2001.

MOELEY, S., **Engineering**, v. 235, p. 25, 1994.

MORASCH, B.; ANNWEILER, E.; WARTHMAN, R. J.; MECKENSTOCK, R. U. The use of a solid adsorber resin for enrichment of bacteria with toxic substrates and to identify metabolites. **J. Microbiological Methods**, v. 44, p. 183-191, 2001.

MORET, S.; CONTE, L. S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. **J. Chromatogr. A**, v. 882, p. 245-253, 2000.

MOSKVIN, A. L.; MOSKVIN, L. N.; MOSZHUCHIN, A. V.; FOMIN, V. V. Extraction-chromatographic preconcentration with chromatomembrane separation of extract from aqueous phase for luminescence determination of oil products and phenols in natural water by flow injection analysis. **Talanta**, v. 50, p. 113-120, 1999.

NAAMATALLA, N. R. B.; SUCUPIRA, A. R. **Guia de interpretação de análise de solos**. Niterói: UFF, 1999. 71p.

NARUTAKI, N.; YAMANE, Y.; TASHIMA, S.; KUROKI, H., **CIRP Annals**, v. 46, p. 43, 1997.

NASH, J. F.; GETTINGS, S. D.; DIEMBECKS, W.; CHUDOWSKI, M.; KRAUS, A. L. A toxicological review of topical exposure to white mineral oils. **Fd. Chem. Toxic.**, v. 34, n. 2, p. 213-225, 1996.

NOCENTINI, M. PINELLI, D.; FAVA, F. Bioremediation of a soil contaminated by hydrocarbon mixtures : the residual concentration problem. **Chemosphere**, v. 41, p. 1115-1123, 2000.

O MERCADO dos óleos sintéticos. [on line]. Disponível em:<http://planeta.clix.pt/projetozh2s/capitalo_1.htm>. Acesso em 01 mar 2002.

O'NIELL, W. L.; NZENGUNG, V. A.; NOAKES, J. E.; BENDER, J.; PHILLIPS, P. C. Biosorption and transformation of tetrachloroethylene and trichloroethylene using mixed-species microbial mats. **J. Hazardous Substance Research**, v. 2, p. 2.1-2.16, 1999.

ÓLEO lubrificante usado. [on line]. Disponível em:<<http://www.petroquímicasul.com.br/impusados.htm>>. Acesso em 14 dez 2001.

OUDOT, J. Biodégradabilité du fuel de l'Erika. **Life Sciences**, v. 323, p. 945-950, 2000.

OUDOT, J.; MERLIN, F. X.; PINVIDIC, P. Weathering rates of oil components in a bioremediation experiment in estuarine sediments. **Marine Environmental Research**, v. 45, n. 2, p. 113-125, 1998.

OVERTON, S. V.; MANURA, J. J. Analysis of volatile organics in cooking oils by thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, p. 1314-1320, 1995.

PATRA, D.; MISHRA, A. K. Study of diesel fuel contamination by excitation emission matrix spectral subtraction fluorescence. **Anal. Chim. Acta**, v. 454, p. 209-215, 2002.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**: a guide for students of organic chemistry. Fort Worth: Saunders College, 1996.

PELTOLA, R. J.; SALKINOJA-SALONEN, M. S. Improving biodegradation of VOCs in soil by controlling volatilization. **Bioremediation J.**, v. 7, n. 2, 129-138, 2003.

PETTY, J. D.; JONES, S. B.; HUCKINS, J. N.; CRANOR, W. L.; PARRIS, J. T.; McTAGUE, T. B.; BOYLE, T. P. An approach for assessment of water quality using semipermeable membrane devices (SPMDs) and bioindicator tests. **Chemosphere**, v. 41, p. 311-321, 2000a.

PETTY, J. D.; ORAZIO, C. E.; HUCKINS, J. N.; GALE, R. W.; LEBO, J. A.; MEADOWS, J. C.; ECHOLS, K. R.; CRANOR, W. L. Considerations involved with the use of semipermeable membrane devices for monitoring environmental contaminants. **J. Chromatogr. A.**, v. 879, p. 83-95, 2000b.

POLLARD, S. J. T.; FARMER, J. G.; KNIGHT, D. M.; YOUNG, P. J. Matrix effects in applying mono- and polyclonal ELISA systems to the analysis of weathered oils in contaminated soil. **Environm. Pollution**, v. 117, p. 5-8, 2002.

PREMUZIC, E. T.; LIN, M. S.; ZHOU, W. M.; YABLON, J. The use of chemical markers in the evaluation of crude oil bioconversion products, technology, and economic analysis. **Fuel Processing Technology**, v. 52, p. 207-223, 1997.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; BALLERSTEDT, H.; GERRITSE, J.; GROTENHUIS, J. T. C. Bioremediation of BTEX hydrocarbons: effect of soil inoculation with the toluene-growing fungus *Cladophialophora* sp. strain T1. **Biodegradation**, v. 15, p. 59-65, 2004.

PREST, H. F.; HUCKINS, J. N.; PETTY, J. D.; HERVE, S.; PAASIVIRTA, J.; HEINONEN, P. A survey of recent results in passive sampling of water and air by semipermeable membrane devices. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, n. 4-12, p. 306-312, 1995.

PRETSCH, E.; BÜHLMANN, P.; AFFOLTER, C. **Structure determination of organic compounds**. New York: Springer, 2000.

RANTALAINEN, A.-L.; CRETNEY, W.; IKONOMOU, M. G. Uptake rates of semipermeable membrane device (SPMDs) for PCDDs, PCDFs and PCBs in water and sediment. **Chemosphere**, v. 40, p. 147-158, 2000.

RANTALAINEN, A.-L.; PAASIVIRTA, J.; HERVE, S. Uptake of chlorohydrocarbons from soil by liquid-containing semipermeable membrane device (SPMDs). **Chemosphere**, v. 36, n. 6, p. 1415-1427, 1998.

RAO, R. N. Computer-assisted analytical techniques in quality assurance of fuels and lubricants. **Trends Anal. Chem.**, v. 21, n. 3, p. 175-186, 2002.

REITER, B.; LECHNER, M.; LORBEER, E.; AICHHOLZ, R. Isolation and characterization of wax esters in fennel and caraway seed oils by SPE-GC. **J. High Resol. Chromatogr.**, v. 22, n. 9, p. 514-520, 1999.

RELLA, R.; STURARO, A.; PARVOLI, G.; FERRARA, D.; DORETTI, L. An unusual and persistent contamination of drinking water by cutting oil. **Water Research**, v. 37, n.3, p. 656-660, 2001.

RICHARDSON, B. J.; ZHENG, G. J.; TSE, E. S. C.; LUCA-ABBOTT, S. B. De; SIU, S. Y. M.; LAM, P. K. S. A comparison of polycyclic aromatic hydrocarbon and petroleum hydrocarbon uptake by mussels (*Perna viridis*) and semi-permeable membrane devices (SPMDs) in Hong Kong coastal waters. **Environmental Pollution**, v. 122, p. 223-227, 2003.

RIIS, V.; MIETHE, D.; MÖDER, M. Analytical characterization of the persistent residues after microbial degradation of mineral oils. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 356, p. 378-384, 1996.

ROBOTHAM, P. W. J.; GILL, R. A. Input, behaviour and fates of petroleum hydrocarbons. In: GREEN, J.; TRETT, M. W. **The fate and effects of oil in freshwater**. New York: Elsevier Science, 1989. p.41-79.

ROMANTSCHUK, M.; SARAND, I.; PETÄNEN, T.; PELTOLA, R.; JUNSSON-VIHANNE, M.; KOIVULA, T.; YRJÄLÄ, K.; HAAHTELA, K. Means to improve the effect of in situ bioremediation of contaminated soil: an overview of novel approaches. **Environm. Pollution**, v. 107, p. 179-185, 2000.

ROQUES, D. E.; OVERTON, E. B.; HENRY, C. B. Using gas chromatography/mass spectroscopy fingerprint analyses to document process of oil degradation. **J. Environm. Qual.**, v. 23, p. 851-855, 1994.

SABALIUNAS, D.; LAZUTKA, J. R.; SABALIUNIENE, I. Acute toxicity and genotoxicity of aquatic hydrophobic pollutants sampled with semipermeable membrane devices. **Environm. Pollution**, v. 109, p. 251-265, 2000.

SALMINEN, J. M.; TUOMI, P. M.; SUORTTI, A.-M.; JØRGENSEN, K. S. Potential for aerobic and anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in boreal subsurface. **Biodegradation**, v. 15, p. 29-39, 2004.

SCHROEDER, J. C.; TOLBERT, P. E.; EISEN, E. A.; MONSON, R. R.; HALLOCK, M. F.; SMITH, T. J.; WOSKIE, S. R.; HAMMOND, S. K.; MILTON, D.K., **American Journal of Industrial Medicine**, v. 31, p. 525, 1997.

SCOTT, M. J.; JONES, M. N. The biodegradation of surfactants in the environment. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1508, p. 235-251, 2000.

SEPIC, E.; TRIER, C.; LESKOVSEK, H. Biodegradation studies of selected hydrocarbons from diesel oil. **Analyt.**, v. 121, p. 1451-1456, 1996.

SETTI, L.; MAZZIERI, S.; PIFFERI, P. G. Enhanced degradation of heavy oil in an aqueous system by a *Pseudomonas sp.* in the presence of natural and synthetic sorbents. **Bioresource Technology**, v. 67, p. 191-199, 1999.

SHAW, M. C., **Production Engineering Division**, v. 30, p. 133, 1998.

SILVA, W. T. L.; VIEIRA, E. M.; REZENDE, M. O. O. Comportamento do ácido húmico frente à radiação gama. **Quím. Nova**, v. 18, p. 541-543, 1995.

SILVEIRA, B. I. da. **Cinética química das reações homogêneas**. São Paulo: Edgard Blücher, 1996.

STOJANOVIC, K.; JOVANCICEVIC, B.; PEVNEVA, G. S.; GOLOVKO, J. A.; GOLOVKO, A. K.; PFEND, P. Maturity assessment of oils from the Sakhalin oil fields in Russia: phenanthrene content as a tool. **Organic Geochemistry**, v. 32, p. 721-731, 2001.

SULIMAN, S. M. A.; ABUBAKR, M. I.; MIRGHANI, E. F. Microbial contamination of cutting fluids and associated hazards. **Tribology International**, v. 30, n. 10, p. 753-757, 1997.

SULIMAN, S. M. A.; ABUBARKR, M. I.; MIRGHANI, E. F. Microbial contamination of cutting fluids and associated hazards. **Tribology Int.**, v. 30, p. 753-757, 1997.

SUOMINEN, L.; JUSSILA, M. M.; MÄKELÄINEN, K.; ROMANTSCHUK, M.; LINDSTROM, K. Evaluation of the *Galega-Rhizobium galegae* for the bioremediation of oil-contaminated soil. **Environm. Pollution**, v. 107, p. 239-244, 2000.

TANCK, C. B. Microrganismos do solo: estudo preliminar dos principais grupos para avaliação de toxicidade de agrotóxicos. **Pesticidas Rev. Téc. Cient.**, v. 2, n. 2, p. 67-78, 1992.

TAVARES, M. C. H.; LANDGRAF, M. D.; VIEIRA, E. M.; REZENDE, M. O. O. Estudo da adsorção-dessorção da trifluralina em solo e em ácido húmico. **Quím. Nova**, v. 19, p. 605-608, 1996.

TEN, Kh.; KIRIENKO, O. A.; IMRANOVA, E. L. Effect of photosynthetic bacteria and compost on degradation of petroleum products in soil. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 181-185, 2004.

TEXACO BRASIL S.A. **LUBRIFICAÇÃO**: uma publicação técnica dedicada à escolha e uso de lubrificantes. v. 70, n. 1, p. 1-14, 1986.

TOLBERT, P. E.; EISEN, E. A.; POTHIER, L. J.; MONSON, R. R.; HALLOCK, M. F.; SMITH, T. J. **Scandinavian Journal Work Environmental Health**, v. 18, p. 351, 1992.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

TRENT, E. M., Metal Cutting, 2 (1984).

TRETT, M. W. Introduction. In: GREEN, J.; TRETT, M. W. **The fate and effects of oil in freshwater**. New York: Elsevier Science, 1989. p.1-10.

van der GAST, C. J.; KNOWLES, C. J.; WRIGHT, M. A.; THOPSON, I. P. Identification and characterization of bacterial populations of an in-use metal-working fluid by phenotypic and genotypic methodology. **Int. Biodeterioration Biodegradation**, v. 47, p. 113-123, 2001.

VIEIRA, E. M.; ONUSKA, F. I. Extraction and determination of RDX and HMX in water. **Water Qual. Res. J. Canada**, v. 34, p. 533-541, 1999.

VIEIRA, J. M., *Influência de fluidos de corte no fresamento ao aço NB 8640*, [Dissertação de mestrado]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 1997. 123p.

VOELKEL, A.; FALL, J. Inverse gas chromatography for the examination of fractions separated from oil vacuum distillation residues. **J. Chromatogr. A.**, v. 768, p. 271-281, 1997.

VREULS, J. J.; JONG, G. J. de; BRINKMAN, U. A. Th. On-line coupling of liquid chromatography, capillary gas chromatography and mass spectrometry for the determination and identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. **Chromatographia**, v. 31, n. 3-4, p. 113-118, 1991.

WANG, S. S. Road tests of oil conditions sensor and sensing technique. **Sensors and Actuators B**, 73, p. 106-111, 2001.

WANG, Z.; FINGAS, M. Study of the effects of weathering on the chemical composition of a light crude oil using GC/MS GC/FID. **J. Microcolumn Separations**, v. 7, p. 617-639, 1995.

WANG, Z.; FINGAS, M.; BLENKINSOPP, S.; SERGY, G.; LANDRIAULT, M.; SIGOUIN, L.; FOGHT, J.; SEMPLE, K.; WESTLAKE, D. W. S. Comparison of oil composition changes due to biodegradation and physical weathering in different oils. **J. Chromatogr. A.**, v. 809, p. 89-107, 1998.

WANG, Z.; FINGAS, M.; LANDRIAULT, M.; SIGOUIN, L.; XU, N. Identification of alkylbenzenes and direct determination of BTEX and (BTEX + C₃-benzenes) in oils by GC/MS. **Anal. Chem.**, v. 67, p.3491-3500, 1995.

WANG, Z.; FINGAS, M.; PAGE, D. S. Oil spill identification. **J. Chromatogr. A.**, v. 843, p. 369-411, 1999.

WANG, Z.; FINGAS, M.; SERGY, G. Study of 22-year-old arrow oil samples using biomarker compounds by CG/MS. **Environ. Sci. Tech.**, v. 28, n. 9, p. 1733-1746, 1994.

WANG, Z.; FINGAS, M.; SERGY, G. Chemical characterization of crude oil residues from an Arctic Beach by GC/MS and GC/FID. **Environ. Sci. Tech.**, v. 29, p. 2622-2631, 1995.

WANG, Z.; FINGAS, M.; SIGOUIN, L. Characterization and identification of a "mystery" oil spill from Quebec (1999). **J. Chromatogr. A.**, v. 909, p. 155-169, 2001.

WILLIAMS, J. B. Phytoremediation in wetland ecosystems: progress, problems, and potential. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 21, n. 6, p. 607-635, 2002.

WOOD, R. How to validation analytical methods. **Trends Anal. Chem.**, v. 18, p. 624-632, 1999.

YANG, L.; LAI, C.-T.; SHIEH, W. K. Biodegradation of dispersed diesel fuel under high salinity conditions. **Wat. Res.**, v. 34, n. 13, p.3303-3314, 2000.

Young, L. Y.; Cerniglia, C. E., *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals*, (1995) 77.

YOUNG, P.; BYRNE, G.; COTTERELL, M., **Int. J. Advanced Manufacturing Technology**, v. 13, p. 488, 1997.

ZIMMERMAN, L. R.; THURMAN, E. M.; BASTIAN, K. C. Detection of persistent organic pollutants in the Mississippi Delta using semipermeable membrane devices. **Sci. Total Environm.**, v. 248, p. 169-179, 2000.