UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA – DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

NICOLAS MOURA RODRIGUES

Avaliação do efeito da lavagem com surfactante na biodegradação de um solo
contaminado por óleo diesel

São Paulo
2011

NICOLAS MOURA RODRIGUES

Avaliação do efeito da lavagem com surfactante na biodegradação de um solo contaminado por óleo diesel.

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de mestre
em engenharia

São Paulo
2011

NICOLAS MOURA RODRIGUES

Avaliação do efeito da lavagem com surfactante na biodegradação de um solo contaminado por óleo diesel.

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de mestre
em engenharia

Área de Concentração: Hidráulica e
Saneamento

Orientador: Prof. Dra. Maria Eugenia
Gimenez Boscov

São Paulo
2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues, Nicolas Moura

Avaliação do efeito da lavagem com surfactante na biodegradação de um solo contaminado por óleo diesel / N.M. Rodrigues.
-- São Paulo, 2011.

153 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária.

1.Solos (Contaminação) 2.Óleo diesel 3.Surfactantes 4.Biorremediação I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária II.t.

Dedico esta dissertação àqueles que fizerem bom uso dela.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

À Profa. Maria Eugenia, pela confiança pessoal, orientação e dedicação para a realização deste trabalho;

À Profa. Dione, pela orientação, tão fundamental para moldar este trabalho;

Aos técnicos do laboratório de saneamento, Fabio e Laerte, pelo auxílio prestado;

À Wandréa, por toda a paciência e solicitude;

À EPA Engenharia, em especial ao Sergio Moreno, por todo apoio realizado, o qual foi fundamental para que este trabalho fosse realizado;

À Analytical Technology, pela disponibilização das análises realizadas neste trabalho;

Ao Anderson, por todas as discussões de bar, tão importantes na concepção deste trabalho;

À Rita, pelo apoio e encorajamento.

Ao Watanabe, pela impressão deste;

À minha família Leni, Roberto e Manoela, pelo afeto e amparo.

E em especial à Mari, por toda paciência, leituras, dicas e carinho ao longo desta jornada.

Obrigado!

RESUMO

O óleo diesel é um dos derivados do petróleo mais consumidos no Brasil e responsável com grande número de áreas contaminadas. Enquanto há técnicas consagradas para a remoção do óleo diesel nas fases livre, vapor e dissolvida, as soluções para a remoção da fase residual ainda carecem de maior eficiência e/ou menor custo. Este trabalho mostra os resultados de uma investigação laboratorial da remoção de HPA de amostras indeformadas de um solo contaminado com óleo diesel por meio de ensaios de lavagem com soluções do surfactante Lauril Sulfato de Sódio (LSS) nas concentrações de 0,6, 1,5 e 3 CMC (concentração micelar crítica), seguido de um ensaio de respirometria para avaliar a capacidade de biodegradação aeróbia. Um equipamento foi desenvolvido especialmente para a realização dos ensaios de coluna utilizando os próprios anéis de amostragem. Os resultados mostraram que apenas na concentração de 3 CMC foi possível remover HPA em concentrações acima do limite de detecção da técnica analítica, e que essa remoção foi inferior a 7,6 % da massa residual no solo. Os resultados de respirometria mostraram que o solo sem a adição de surfactante degradou em média 1% do contaminante inicial, por semana. A influência da lavagem na biodegradação não demonstrou um comportamento regular e durou aproximadamente duas semanas. A biodegradação posterior ao período de influência do surfactante apresentou alta correlação linear com a concentração inicial de contaminante.

ABSTRACT

Diesel fuel is one of the most petroleum derivatives consumed in Brazil and responsible with large numbers of contaminated areas. While there are consecrated techniques for the removal of diesel oil-free phases, vapor and dissolved, the solutions to remove the residual phase still need greater efficiency and/or lower cost. This work shows the results of a laboratory investigation of the removal of PAH undisturbed samples of soil contaminated with diesel oil by soil flushing tests with solutions of surfactant Sodium Lauryl Sulfate (SLS) at concentrations of 0,6, 1,5 and 3 CMC (critical micelle concentration), followed by a respirometric test to assess the ability of aerobic biodegradation. A device was developed specifically for the test column using their own sampling rings. The results showed that only the solution with 3 CMC concentration was able to remove PAH concentrations above the detection limit of the analytical technique, and that this removal was less than 7.6% of residual mass in the soil. The results showed in the soil respirometry without the addition of surfactant biodegraded on average 1% per week of the initial contaminant. The influence of flushing on the biodegradation has not established a regular pattern and lasted about two weeks. The biodegradation after the period of influence of the surfactant was highly correlated linearly with the initial concentration of contaminant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Número de áreas contaminadas por tipo de contaminante no Estado de São Paulo	23
Figura 3.2 – Condição de gerenciamento das áreas contaminadas cadastradas no Estado de São Paulo	24
Figura 3.3 – Estrutura de alguns Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	26
Figura 3.4 - Condutividade hidráulica em função do teor de umidade volumétrico ...	32
Figura 3.5 – Permeabilidade de um fluido em função da percentagem em volume no meio	33
Figura 3.6 - Drenagem e imbibição..	34
Figura 3.7 – Histerese na curva de retenção de água de um solo	35
Figura 3.8 – Equilíbrio de tensões entre dois fluidos e um sólido.....	35
Figura 3.9 - Curvas típicas da relação entre a concentração de um dado composto no solo e na água	40
Figura 3.10 – Influência da presença de cátions na adsorção de compostos hidrofóbicos	43
Figura 3.11 – Estrutura básica dos tipos de surfactantes existentes.....	45
Figura 3.12 – Formas do surfactante em meio aquoso na presença ou não de uma superfície	46
Figura 3.13 – Equilíbrio de forças entre três fluidos.	47
Figura 3.14 – Influência da tensão superficial na saturação residual de água no solo	48
Figura 3.15 – Relação entre a saturação residual de água e a saturação residual de óleo no solo	48
Figura 3.16 – Influência da concentração de surfactante na solubilização dos hidrocarbonetos.....	49
Figura 3.17 – Habitat de solo contendo partículas minerais (Sa: areia, Si: silte, C: argila), matéria orgânica (OM), água (W), raízes (R), e microrganismos	

do solo [bactéria (B), actinomicetos (A), esporos de micorrizas e hifas (My), hifas de fungos saprofíticos (H), nematódio (N), protozoário ciliado (CP), e um ácaro (M)].	51
Figura 3.18 – Estágios de formação de biofilme em superfícies	53
Figura 3.19 – Rota metabólica da degradação bacteriana do naftaleno	54
Figura 3.20 – Rota metabólica da degradação por fungos do naftaleno	55
Figura 3.21 – Rotas metabólicas da degradação de antraceno por fungos e bactérias	56
Figura 3.22 – Rotas metabólicas da degradação bacteriana do fenantreno	57
Figura 3.23 – Rotas metabólicas da degradação do fenantreno por fungos	58
Figura 3.24 – Rotas metabólicas da degradação do Benzo(a)pireno por fungos.....	58
Figura 3.25 – Potenciais de oxirredução dos principais aceptores finais de elétrons	59
Figura 3.26 – Curva característica do crescimento microbiano em sistemas fechados	60
Figura 3.27 – Taxa de crescimento celular (μ) em função da concentração de substrato (C): Modelos de Monod e Haldane	61
Figura 3.28 – Efeito da concentração de Alfonic 810-60 (A) e Novel II 1412-56 (B) na dessorção do fenantreno em um solo predominantemente mineral (Lima)	70
Figura 3.29 – Efeito da concentração de Alfonic 810-60 na mineralização de fenantreno nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico).....	71
Figura 3.30 – Efeito da concentração de Novel II 1412-56 na mineralização de fenantreno nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico).....	71
Figura 3.31 - Efeito da concentração de Alfonic 810-60 na mineralização de bifenil nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico).....	72
Figura 3.32 - Efeito da concentração de Novel II 1412-56 na mineralização de bifenil nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico).....	72
Figura 3.33 – Concentrações de HPA no solo contaminado no instante inicial e após duas semanas de tratamento com e sem adição de LSS.....	74

Figura 3.34 – Degradação do LSS no solo contaminado	75
Figura 3.35 – Efeito do LSS na degradação de hidrocarbonetos no solo.	76
Figura 3.36 - Biodegração do LSS no solo.....	77
Figura 3.37 – Concentração de HPA de baixo peso molecular (A) e de alto peso molecular (B) em fase aquosa durante a percolação de 2 x 2,5 mM de Sapogenat T-300.....	78
Figura 3.38 – Comparação do HPA remanescente no solo após a percolação sem surfactante, com 5 mM de Akopal N-300 e 2 x 2,5 mM de Sapogenat T-300.....	79
Figura 3.39 – Saturação residual de óleo lubrificante em lavagens com diferentes concentrações de surfactante, velocidade de fluxo e porosidade para (A) SDS e (B) Tween 80.....	80
Figura 3.40 – Óleo mineral removido na lavagem com varias concentrações de surfactante com vazão de (A) 5 mL/min. e (B) 50 mL/min.....	81
Figura 3.41 – Concentração de fenantreno na água efluente da lavagem e eficiência de remoção em função da vazão de lavagem (concentração de Rhamnolipid = 0,5% (w/v)).....	82
Figura 3.42 - Concentração de fenantreno na água efluente da lavagem e eficiência de remoção em função do tipo de surfactante (concentração de surfactante = 0,5 % (w/v) e vazão = 2 mL/min).....	83
Figura 4.1 – Trado para amostra indeformada da SONDATERRA@.....	86
Figura 4.2 – Trado para coleta de amostra indeformada em utilização.....	87
Figura 4.3 – Amostra indeformada	87
Figura 4.4 – Bureta com tubo de mariotte adaptado	91
Figura 4.5 – Estrutura da célula de fluxo	92
Figura 4.6 – Célula de fluxo montada.....	93
Figura 4.7 – Suporte de apoio das células de fluxo.....	94
Figura 4.8 – Cobertura do sistema com alumínio e a carga hidráulica aplicada	95
Figura 4.9 – Frascos de coleta do solo da lavagem	97

Figura 4.10 – Solo logo antes da mistura após a lavagem.....	98
Figura 4.11 – Solo misturado após as lavagens.....	98
Figura 4.12 – Armazenamento do solo misturado após as lavagens	99
Figura 4.13 – Mistura do solo contaminado sem lavagem (SS-01, 03, 04 e 05)	101
Figura 4.14 – Mistura do solo não contaminado sem lavagem – Controle (SS-31 e 32)	101
Figura 4.15 – Respirômetro.....	104
Figura 4.16 – Incubador a 20°C	104
Figura 5.1 – Produção acumulada de CO ₂ nos respirômetros.....	115
Figura 5.2 – Resultados de biodegradação das triplicatas nas 4 primeiras semanas	116
Figura 5.3 – Variação da taxa de consumo de carbono por biodegradação ao longo do tempo.....	117
Figura 5.4 – Comparação das taxas de consumo de carbono para a lavagem com 1,5 CMC e a condição de SCNA	118
Figura 5.5 – Comparação das massas acumuladas de carbono consumido para a lavagem com 1,5 CMC e a condição de SCNA	118
Figura 5.6 - Comparação das taxas de consumo de carbono para a lavagem com 0,6 CMC e SCNA.....	119
Figura 5.7 - Comparação das massas acumuladas de carbono consumido para a lavagem com 0,6 CMC e SCNA	120
Figura 5.8 – Comparação das massas acumuladas de carbono consumido para a lavagem com 0 CMC, 3 CMC e SCNA	121
Figura 5.9 – Percentual acumulado de biodegradação de carbono ao longo do tempo	124
Figura 6.1 – Cruzamento dos dados de massa biodegradada na 8 primeiras semanas com a concentração de LSS no meio.....	127
Figura 6.2 – Correlação entre a massa biodegradada acumulada nas 8 primeiras semanas e a massa inicial de carbono.....	128

Figura 6.3 – Correlação entre a massa biodegradada acumulada e a massa inicial de carbono para até a 2 ^{aa} semana (A) e entre a 2 ^a e a 8 ^a (B)	129
Figura 6.4 - Correlação entre a Massa biodegradada acumulada (8 ^a – 10 ^a semana) e a massa inicial de carbono	130
Figura 6.5 – Condição de inibição observada como no modelo de Haldane.....	131

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Composição de um óleo diesel comercializado no Brasil.....	25
Tabela 3.2 – Características físico-químicas do óleo diesel.....	26
Tabela 3.3 – Classificação toxicológica dos principais compostos do óleo diesel.....	28
Tabela 3.4 – Compostos controlados nos EUA, Holanda e Brasil.....	29
Tabela 3.5 - Compilação das equações isotérmicas, suas propriedades em baixa e alta concentração e sua classificação de acordo com Giles et al., 1974 (continua).....	41
Tabela 3.6 - Compilação das equações isotérmicas, suas propriedades em baixa e alta concentração e sua classificação de acordo com Giles et al., 1974 (término)	42
Tabela 3.7 – Modelos cinéticos para único substrato.....	62
Tabela 3.8 – Modelos cinéticos de múltiplos substratos	63
Tabela 3.9 – Concentração (ug/L) de HPA de alto peso molecular na água após a lavagem com LSS.....	73
Tabela 3.10 – Eficiência de remoção e biodegradação de PCB	77
Tabela 3.11 – Resumo dos estudos descritos na revisão bibliográfica	84
Tabela 4.1 – Porosidades totais e efetivas.....	96
Tabela 4.2 – Correção de nutrientes e umidade das amostras utilizadas na respirometria.....	103
Tabela 4.3 – Massa de carbono existente nas amostras	107
Tabela 5.1 – Calculo do percentual de saturação do óleo diesel no solo.....	108
Tabela 5.2 – Dados geotécnicos do solo estudado.....	108
Tabela 5.3 – Concentração de TPH e de HPA nas amostras deformadas coletadas nos 5 furos de sondagem estudados.....	109
Tabela 5.4 – Resultados de HPA do solo logo após o termino da lavagem.....	111

Tabela 5.5 – Resultados de HPA da água proveniente da lavagem do solo.....	112
Tabela 5.6 – Percentual de remoção de HPA através da lavagem	113
Tabela 5.7 – Taxa de consumo de carbono por biodegradação nos respirômetros em mg/dia/50g de solo seco	122
Tabela 5.8 – Massa acumulada de carbono consumido na biodegradação nos respirômetros em mg.....	122
Tabela 5.9 – Estatísticas da taxa de consumo de carbono por biodegradação nos respirômetros em mg/dia/50g de solo seco	123
Tabela 5.10 – Estatísticas da massa acumulada de carbono consumido na biodegradação nos respirômetros em mg	123
Tabela 5.11 – Percentual de carbono biodegradado em relação ao carbono inicial da amostra.....	125
Tabela 5.12 – Quantidade de CO ₂ produzida nos respirômetros em Micro Mols ...	125

LISTA DE SIGLAS

ABA	Applied Biotreatment Association
ANP	Agência Nacional do Petróleo
API	Americam Petroleum Institute
CMC	Concentração Micelar Crítica
COT	Carbono Orgânico Total
COV	Carbono Orgânico Volátil
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
EUA	Estados Unidos da América
fco	fração de carbono orgânico
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HS	Humic Substances
HTP	Hidrocarbonetos Totais de Petróleo
IARC	International Agency Research on Cancer
LNAPL	Light Non Aqueous Phase Liquids
LSS	Lauril Sulfato de Sódio
NAPL	Non Aqueous Phase Liquids
PCB	Polychloride Biphenyl
PCR	Polymerase Chain Reaction
PID	Photo Ionization Detector
QPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction
SCNA	Solo Contaminada Não Alterado
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SNC	Solo Não Contaminado
TFLP	Terminal Fragment Length Polymorphism

TTAB	Tetradecyl
	Trimethyl Ammonium Bromide
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
USEPA	United States Environmental Protection Agency

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivo Geral	21
2.2	Objetivos Específicos	21
3	CONCEITUAÇÃO DO PROBLEMA	22
3.1	Contaminação do Solo por Óleo Diesel	22
3.1.1	Caracterização físico-química do óleo diesel	24
3.1.2	Efeitos do óleo diesel na saúde humana	26
3.2	Distribuição de Hidrocarbonetos Menos Densos do que a Água no Meio Ambiente Subterrâneo	29
3.2.1	Mobilidade natural	31
3.2.2	Influência do surfactante na mobilidade natural	44
3.3	Biodegradabilidade de Hidrocarbonetos no Solo	51
3.3.1	Microbiota do solo	51
3.3.2	Metabolização de derivados do petróleo por microrganismos	53
3.3.3	Avaliação da biodegradação	63
3.4	Lavagem de Solos com Surfactantes e Biorremediação	67
4	MATERIAIS E MÉTODOS	85
4.1	Coleta de Amostras em Campo	85
4.2	Análises Preliminares	87
4.2.1	Contaminação	88
4.2.2	Geotécnica	88
4.2.3	Quantificação do grau de saturação de óleo diesel no solo	88
4.3	Organização da Investigação Laboratorial	89
4.4	Lavagem	89
4.4.1	Procedimento	90

4.4.2	Quantificação de HPA extraído por lavagem.....	99
4.5	Respirometria.....	100
4.5.1	Procedimento.....	102
4.5.2	Quantificação da geração de gás carbônico.....	105
5	RESULTADOS.....	108
5.1	Preliminares	108
5.2	Lavagem	110
5.3	Respirometria.....	114
6	DISCUSSÃO	126
7	CONCLUSÕES	132
8	CONSIDERAÇÕES E SUGESTÕES DE CONTINUIDADE DOS ESTUDOS..	133
9	REFERÊNCIAS.....	134

Anexo I - Relatório Fotográfico

1 INTRODUÇÃO

Quando um solo se apresenta contaminado com compostos químicos tóxicos ou carcinogênicos, seu uso pode provocar riscos à saúde humana. Dependendo do tipo de uso, o risco pode ser maior ou menor, sendo o uso residencial um dos mais críticos, devido ao maior período de permanência do indivíduo e à possível presença de crianças e idosos.

A maioria das áreas contaminadas no Estado de São Paulo foi provocada por postos de gasolina e indústrias (Cetesb, 2011), atividades que normalmente se localizam na mancha urbana. Estas contaminações provocam risco à saúde humana, ou impedem que regiões com anterior vocação industrial e que atualmente apresentam grande interesse para o setor residencial possam cumprir sua função social.

As situações provocadas pela contaminação do solo geram conflitos de interesse na sociedade, sendo, portanto, papel do Estado legislar, controlar e fomentar a recuperação de áreas contaminadas. No Brasil, esses conflitos ganharam importância durante o final da década de 90.

Muitos países se depararam com este problema ainda na década de 70. Em 1980, os Estados Unidos da América iniciaram um dos mais audaciosos programas de recuperação de áreas contaminadas do mundo através do ato *Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability* (CERCLA), uma lei federal norte-americana que criou uma taxa especial para consolidar o crédito conhecido como *Superfund*. Este fundo é gerenciado pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) e, desde sua criação, atua não somente na recuperação, mas principalmente no desenvolvimento e consolidação de novas tecnologias aplicáveis à reabilitação de áreas contaminadas. Nos primeiros 25 anos do fundo foram investidos 28 bilhões de dólares, provenientes principalmente das indústrias químicas e de petróleo.

Em outubro de 2007, representantes das agências governamentais dos Estados Unidos, Alemanha, China, Rússia, Moçambique, Quênia, Filipinas e do Banco Mundial formaram o *Global Pollution Remediation Fund* (GPRF) e propuseram-se a remediar 400 áreas altamente contaminadas distribuídas pelo mundo. Estima-se que estas remediações afetarão positivamente a saúde de 10 a 70 milhões de pessoas e custarão entre 350 e 400 milhões de dólares (hpfund, 2010).

Na Holanda, país considerado um dos mais avançados em políticas públicas para a qualidade de vida, o governo federal, através do Ministério da Casa Civil (*Ministry of Housing*), desenvolveu um programa de planejamento e desenvolvimento territorial (*Spatial Planing & Development*) para organizar e coordenar as atividades de recuperação de áreas degradadas com os diversos níveis governamentais e com o setor privado. Na Holanda, atualmente são 60.000 áreas que necessitam ser descontaminadas urgentemente (Ministry of Housing, 2010). De acordo com a Agência Européia do Ambiente (AEA, 2011), estima-se que existam 1,5 milhões de áreas contaminadas na Europa. Estes são alguns exemplos de quão importante é encontrar meios para remediar áreas contaminadas.

No Brasil, assim como na maioria dos países, o princípio básico de custeio da remediação é o do poluidor pagador. Em alguns países, quando se verifica a impossibilidade financeira ou até mesmo a não identificação do poluidor, o governo responsabiliza-se por remediar a área por meio de fundos específicos, situação que ainda não ocorre no Brasil. Apesar de a problemática das áreas contaminadas ter eclodido no Brasil na década de 90, somente em dezembro de 2009 a Federação, pela Resolução CONAMA 420/09, estabeleceu uma política nacional de recuperação de áreas contaminadas. Apesar do atraso brasileiro em relação à legislação e a ferramentas institucionais de fomento à pesquisa de novas tecnologias de remediação, a importância social do problema no país é grande e deve aumentar com a atual expansão do setor imobiliário residencial nas grandes cidades.

Para contribuir com esta demanda da sociedade, atualmente existem diversos estudos científicos (Cynthia *et al.*, 2003; Ying *et al.*, 2004; Aitken *et al.*, 1998; Sandrin *et al.*, 2005) sobre remediação de orgânicos, a maior parte visando a entender os processos envolvidos na interação entre os contaminantes e o meio ambiente subterrâneo. Esta investigação exaustiva vem contribuindo significativamente para a formação de um conhecimento básico sobre o tema. Porém, é necessário transformar esse conhecimento no aperfeiçoamento das tecnologias de remediação existentes, ou até mesmo no desenvolvimento de novas técnicas.

O presente trabalho investiga a viabilidade técnica de uma estratégia de remediação baseada na aplicação da técnica de lavagem do solo com surfactante e posterior

biorremediação para áreas contaminadas com contaminantes orgânicos, por meio de ensaios laboratoriais com um solo contaminado com óleo diesel em fase residual.

A lavagem de solo (*soil flushing*) consiste no fluxo de uma solução aquosa de surfactante através do solo contaminado, esteja ele na zona vadosa ou na zona saturada. Para remover o contaminante é necessário um sistema de bombeamento e tratamento da água subterrânea. A biorremediação consiste na disponibilização de nutrientes e aceptores de elétrons para que microorganismos acelerem a degradação dos compostos alvos.

Alguns estudos referentes à aplicação da lavagem do solo com surfactante mostram que ela pode provocar a inibição do processo biológico (Rouse *et al.*, 1994; Laha e Luthy, 1991 e 1992; Roch e Alexander, 1995; Tsomides *et al.*, 1995), enquanto outros estudos, que tiveram por foco acelerar o processo biológico, verificaram que a dosagem de surfactante no meio pode provocar uma aceleração da biodegradação (Deschênes *et al.*, 1995; Thibault *et al.*, 1995; Aronstein *et al.*, 1991; Aronstein *et al.*, 1992; Jain *et al.*, 1992; Margesin, 1999; Tiehm, 1994; Volkerling, 1998), devido principalmente à maior biodisponibilidade dos contaminantes na água.

Como a maior parte das pesquisas que identificaram inibição não utilizaram solos contaminados *in situ*, isto é, com microbiota já adaptada à presença dos contaminantes, e avaliaram a atividade microbiológica por períodos curtos de tempo (horas) provavelmente insuficientes para uma readaptação dos microorganismos após a lavagem, o presente estudo visa investigar o comportamento biológico por um período maior de tempo após a lavagem de um solo com microbiota adaptada à presença dos contaminantes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

A pesquisa visa avaliar o efeito da lavagem com surfactante na biorremediação aeróbia de um solo contaminado com óleo diesel, tendo como foco investigar se há sinergia ou divergência entre estas duas técnicas de remediação *in situ*.

2.2 Objetivos Específicos

- Promover a lavagem do solo em escala laboratorial em amostras indeformadas.
- Verificar a capacidade de remoção dos HPA com a lavagem do solo em 4 diferentes concentrações de surfactante.
- Determinar a evolução por 8 semanas da taxa de biodegradação dos solos submetidos a lavagem.
- Identificar possíveis correlações entre o comportamento da degradação e as características da lavagem e intrínsecas ao solo.

3 CONCEITUAÇÃO DO PROBLEMA

3.1 Contaminação do Solo por Óleo Diesel

É crescente a utilização de biocombustíveis e outras formas de obtenção de energia, porém o petróleo ainda é a principal fonte energética do mundo, responsável por 34,8% do total da energia consumida no mundo em 2009, o que correspondeu a um volume de 13,4 trilhões de litros (BP, 2010).

Dados fornecidos pela Agência Nacional do Petróleo mostram que em 2008 foram consumidos 108,8 bilhões de litros de derivados de petróleo no Brasil, sendo 44,3 bilhões de óleo diesel (ANP, 2009).

Do total de óleo diesel consumido no Brasil, em média 96% foram utilizados por 3 categorias principais: o transporte, que concentra 75%; a agropecuária, com 16%, e a transformação em energia elétrica, que corresponde a aproximadamente 5% (BiodieselBR, 2011)

Como o principal consumidor de óleo diesel é o transporte de carga, seja ela leve (caminhão) ou pesada (ferrovia e navegação), este combustível encontra-se em situações de armazenamento, transferência e transporte, amplamente espalhado pelo território nacional e, na maioria das vezes, muito próximo das aglomerações humanas.

A Figura 3.1 mostra que, de acordo com os registros da Cetesb (2011), os 3 principais contaminantes do estado de São Paulo são os solventes aromáticos, combustíveis líquidos e HPA (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), sendo os dois últimos diretamente relacionados ao óleo diesel.

Figura 3.1 – Número de áreas contaminadas por tipo de contaminante no Estado de São Paulo

Fonte: Cetesb (2011)

Apesar de a estatística numérica ser relevante, seria fundamental associar algum parâmetro de magnitude e/ou risco das contaminações para se determinar prioridades no desenvolvimento de novas técnicas.

Outra constatação importante consiste na identificação de que 68% das áreas contaminadas ainda não tiveram medidas de remediação implementadas (Figura 3.2), ou seja, ainda existem muitas áreas a serem remediadas.

Figura 3.2 – Condição de gerenciamento das áreas contaminadas cadastradas no Estado de São Paulo

Fonte: Cetesb (2011)

A Cetesb têm 382 áreas industriais contaminadas registradas (Cetesb, 2011). Comparando-se com as 124.651 indústrias de transformação existentes no Estado de São Paulo (IBGE, 2011), é possível concluir que o cadastramento de áreas contaminadas em São Paulo, apesar de ser o mais avançado dentre as outras unidades da Federação, ainda tem muito trabalho pela frente.

Além das áreas já contaminadas e que necessitam de solução, como o uso do óleo diesel não cessará em médio prazo, incidentes de derramamento próximo a populações provavelmente ainda ocorrerão; portanto, o desenvolvimento de técnicas eficazes de remediação continuará contribuindo para a saúde pública.

3.1.1 Caracterização físico-química do óleo diesel

O óleo diesel é um combustível derivado do petróleo, constituído basicamente por uma mistura de hidrocarbonetos formados por cadeias com 8 a 38 átomos de carbono (C8 a C38), dos quais aproximadamente 40% são n-alcenos; 39%, iso e cicloalcenos; 20%, hidrocarbonetos aromáticos; e o restante é formado por isoprenóides como enxofre, oxigênio e nitrogênio.

As características básicas descritas na ficha de segurança do óleo diesel disponibilizada pela Petrobrás apresentam um produto inflamável, medianamente tóxico, volátil, isento de material em suspensão e com odor forte e característico (PETROBRAS, 2003). Contudo, a composição de um óleo diesel específico dependerá da fonte do petróleo, do método de produção e dos processos de destilação. O óleo diesel pode também conter vários aditivos na sua composição final, tais como inibidores de corrosão, surfactantes e aditivos, para melhorar sua estabilidade e viscosidade.

Como a composição do óleo diesel influencia seu comportamento no meio ambiente, em 2003 o CENPES (Centro de Pesquisas Leopoldo Américo Miguez de Mello, da Petrobrás) determinou a composição (Tabela 3.1) e a caracterização físico-química (Tabela 3.2) de um óleo diesel comercial.

Tabela 3.1 – Composição de um óleo diesel comercializado no Brasil

Compostos de Interesse	Fração Molar (Óleo Diesel)	Solubilidade (S_w) ($\frac{mg}{L}$)	Solubilidade Efetiva Calculada ($\frac{\mu g}{L}$)	Solubilidade Efetiva Experimental ($\frac{\mu g}{L}$)
Benzeno	5,50E-03	1780	9790	8580
Tolueno	3,93E-02	515	20239,5	18230
Etilbenzeno	4,54E-02	152	6900,8	4640
Xilenos Totais	6,94E-02	-	-	-
Naftaleno	1,26E-03	31	39,06	145,43
Acenaftileno	2,37E-06	16,1	0,038157	0,04
Acenafteno	3,14E-05	3,8	0,11932	1,09
Fluoreno	1,52E-04	1,9	0,2888	3,89
Fenantreno	4,05E-04	1,1	0,4455	5,37
Antraceno	1,22E-05	0,045	0,000549	0,05
Fluoranteno	1,32E-05	0,26	0,003432	0,03
Pireno	2,37E-05	0,13	0,003081	0,07
Benz(a)antraceno	2,07E-05	0,011	0,0002277	0,004
Criseno	1,52E-05	0,0015	0,0000228	0,006
Benzo(b)fluoranteno	2,30E-06	0,0015	0,00000345	-
Benzo(k)fluoranteno	Na	0,0008	-	-
Benzo(a)pireno	Na	0,0038	-	-

Fonte: Kaipper, 2003

Os compostos apresentados na Tabela 3.1 constituem apenas 16,2% em moles da mistura do óleo diesel, porém estes 16,2% são considerados os de maior interesse ambiental e são todos aromáticos.

Além da caracterização da fração molar dos compostos do óleo diesel, a Tabela 3.1 também apresenta a solubilidade (S_w), a solubilidade efetiva obtida experimentalmente e a solubilidade efetiva calculada a partir da aplicação da Lei de Raoult para os compostos químicos caracterizados.

Tabela 3.2 – Características físico-químicas do óleo diesel

Propriedades	Óleo Diesel
Fórmula	~ C8 a C30
Peso Molecular (g/mol)	200 – 220
Densidade relativa (a 20°C, em mg/L)	0,8376
Viscosidade cinemática (a 40°C, em cSt)	2,88
Pressão de Vapor (mmHg)	10,34
Ponto de Ebulição (°C)	139,1
Ponto de Fulgor (°C)	45
Solubilidade em água (a 20°C, em mg/L)	2,7-3,2
Tensão Superficial óleo/ar (a 15°C, em mN/m)*	27,3
Tensão Interfacial óleo/água (a 15°C, em Mn/m)*	24

Fonte: Paludo, 2007

A Figura 3.2 apresenta a estrutura de alguns dos principais HPA presentes no óleo diesel.

Figura 3.3 – Estrutura de alguns Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Fonte: Mazzuco, 2004

3.1.2 Efeitos do óleo diesel na saúde humana

A Tabela 3.3 apresenta a classificação da IARC (*International Agency Research on Cancer*) e uma compilação dos resultados dos perfis toxicológicos

apresentados pela ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry* dos EUA) para os principais compostos existentes no óleo diesel, do ponto de vista ambiental.

A IARC classificou os compostos e substâncias em uma escala que vai de 1 até 4, onde: 1 significa que o composto é comprovadamente carcinogênico para seres humanos, 2A é provavelmente carcinogênico para humanos, 2B é possivelmente carcinogênico para humanos, 3 é não classificado como carcinogênico para humanos e 4 é possivelmente não carcinogênico para humanos. A compilação realizada nos perfis toxicológicos classifica os resultados das pesquisas existentes em: E.C.H. (Efeitos Confirmados em Humanos), S.E.H. (Sem Efeitos em Humanos), E.C.A. (Efeitos Confirmados em Animais), S.E.A. (Sem Efeitos em Animais), E.I. (Estudos Inconclusivos) e apenas um hífen (-), no caso de inexistência de estudos relacionados. Ressalta-se que os efeitos em animais somente foram apresentados quando os estudos com humanos foram inconclusivos ou não existem, e a classe E.I. é utilizada quando não houve conclusão dos estudos em humanos e animais.

Os estudos toxicológicos existentes ainda são poucos e muitas vezes dependentes de relatos acidentais, no caso de humanos. Apesar disso, a Tabela 3.3 mostra que em geral, os compostos existentes no óleo diesel são tóxicos. A constatação da toxicidade destes compostos somada à significativa frequência com que são encontrados no ambiente subterrâneo motivou o controle das concentrações destes compostos nos solos, a exemplo das regulamentações dos EUA (Estados Unidos da América), Holanda e Brasil, apresentadas na Tabela 3.4. Dentre os compostos listados, apenas o acenaftileno não é controlado nos três países considerados.

Tabela 3.3 – Classificação toxicológica dos principais compostos do óleo diesel

Compostos	Classificação de Carcinogenicidade da IACR	ATSDR																				
		Cancer			Morte			Efeitos sistêmicos (muscular, osseo, dermal, etc.)			Sistema imunológico e linfático			Neurológicos			Reprodutivos			Desenvolvimento do feto		
		Inalação	Oral	Dermico	Inalação	Oral	Dermico	Inalação	Oral	Dermico	Inalação	Oral	Dermico	Inalação	Oral	Dermico	Inalação	Oral	Dermico	Inalação	Oral	Dermico
Benzeno	1	E.C.H.	S.E.A	E.I	E.C.H.	E.C.H.	E.I.	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	E.C.A.	-	E.C.H.	E.C.H.	-	E.I.	E.I.	-	E.C.A.	S.E.A.	-
Tolueno	3	E.I	-	-	E.C.H.	E.C.H.	-	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	E.I.	E.C.A.	-	E.C.H.	E.C.H.	-	E.I.	E.I.	-	E.C.A.	E.C.A.	-
Etilbenzeno	2B	E.C.A.	E.C.A.	-	E.C.A.	E.C.H.	E.C.A.	E.C.H.	E.C.A.	E.C.H.	E.I.	S.E.A.	-	E.C.H.	E.I.	-	E.I.	E.I.	-	E.C.A.	-	-
Xilenos Totais	3	E.I	E.I.	E.I	E.C.H.	E.C.H.	E.C.A.	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	E.I.	E.I.	-	E.C.H.	E.C.A.	E.C.A.	E.I.	S.E.A.	-	E.C.A.	E.C.A.	S.E.A
Naftaleno	2B	E.C.A.	E.I.	-	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	E.C.H.	-	E.C.A.	S.E.A.	E.C.H.	E.C.H.	-	-	E.I.	-	-	E.C.H.	-
Acenaftileno	-	E.C.A.	E.C.A.	S.E.A	E.I.	E.C.A.	-	E.I.	E.C.A.	E.C.A.	E.C.H.	S.E.A.	E.C.A.	-	S.E.A.	-	-	E.C.A.	-	-	E.C.A.	-
Acenafteno	3																					
Fluoreno	3																					
Fenantreno	3																					
Antraceno	3																					
Fluoranteno	3																					
Pireno	3																					
Benz(a)antraceno	2B																					
Criseno	2B																					
Benzo(b)fluoranteno	2B																					
Benzo(k)fluoranteno	2B																					
Benzo(a)pireno	1																					
Indeno(1,2,3 – cd)pireno	2B																					
Benzo(g,h,i)perileno	3																					

Fonte: USEPA, 2010 e IARC, 2009

Tabela 3.4 – Compostos controlados nos EUA, Holanda e Brasil

Compostos	Numero Cas	PRGs (EUA)	Lista Holandesa	CONAMA 420 Brasil
Benzeno	000071-43-2	X	X	X
Tolueno	000108-88-3	X	X	X
Etilbenzeno	000100-41-4	X	X	X
Xilenos Totais	001330-20-7	X	X	X
Naftaleno	000091-20-3	X	X	X
Acenaftileno	000208-96-8	-	-	-
Acenafteno	000083-32-9	X	-	-
Fluoreno	000086-73-7	X	-	-
Fenantreno	000085-01-8	-	X	X
Antraceno	000120-12-7	X	X	X
Fluoranteno	000206-44-0	X	X	-
Pireno	000129-00-0	X	-	-
Benz(a)antraceno	000056-55-3	X	X	X
Criseno	000218-01-9	X	X	X
Benzo(b)fluoranteno	000205-99-2	X	-	-
Benzo(k)fluoranteno	000207-08-9	X	X	X
Benzo(a)pireno	000050-32-8	X	X	X
Indeno(1,2,3 – cd)pireno	000193-39-5	X	X	X
Benzo(g,h,i)perileno	000191-24-2	-	X	X

Segundo a Cetesb (2010), para se definir o risco de um composto presente no ambiente a uma dada população necessita-se avaliar três aspectos: a toxicidade do composto, a concentração deste no ambiente e o caminho de exposição à população. O fato de os compostos presentes no óleo diesel serem tóxicos e o manuseio deste produto ocorrer muito próximo e de forma bastante dispersa na sociedade, demonstra a significância das contaminações por óleo diesel.

3.2 Distribuição de Hidrocarbonetos Menos Densos do que a Água no Meio Ambiente Subterrâneo

Em uma área contaminada com hidrocarbonetos do petróleo, os hidrocarbonetos podem se apresentar em quatro diferentes estados ou fases no subsolo: dissolvidos na água intersticial, sorvidos no solo, volatilizados no ar do solo ou como LNAPL

(*Light Non Aquous Phase Liquid*) em fase residual ou livre (Wiedemeier *et al.*, 1999). Denomina-se fase separada o conjunto das fases residual e livre.

Em geral, a liberação dos hidrocarbonetos de petróleo para o meio sub-superficial ocorre pela migração vertical do líquido imiscível através da zona não saturada do subsolo, em cujos poros é retida parte do LNAPL por capilaridade, criando uma fase denominada residual. A parte que não fica retida e alcança a superfície do lençol freático subterrâneo, por ser menos densa que a água e pouco solúvel, forma a fase livre. A migração vertical de óleo provocada pela infiltração ou pelas flutuações do lençol freático ocasiona a retenção dos hidrocarbonetos nos interstícios do solo, na forma de filmes ou glóbulos entre as fases ar e/ou água, formando a fase residual, que pode ser formada tanto na zona vadosa como na zona saturada (USEPA, 1990).

Na sub-superfície, independentemente se em fase residual ou livre, o LNAPL interage com a água, o ar, o solo e a biota. A partição com a água forma a fase dissolvida, a qual é prioritariamente formada na zona saturada pelo contato da água com a fase livre e residual, mas também forma-se a partir da infiltração da água em uma zona vadosa contaminada com fase residual. A transferência de massa de LNAPL para água formando a fase dissolvida é conhecida como dissolução.

A formação da fase sorvida ocorre da interação da matriz do solo com as fases dissolvida e/ou vapor. O processo de transferência de massa de um composto da fase dissolvida e/ou vapor para uma superfície sólida é denominado sorção (compreendendo a adsorção e a absorção), enquanto que a transferência de massa do composto sorvido para a dissolvida ou vapor é a dessorção.

Quando o ar entra em contato com o LNAPL na fase separada ou na fase dissolvida, forma-se a fase vapor. A transferência direta do LNAPL é conhecida por vaporização e a transferência da fase dissolvida para o ar é a volatilização.

Em uma zona vadosa contaminada, pode-se observar a presença de todas as fases citadas. Segundo Zaman (1989), os principais processos de mobilização de massa de hidrocarbonetos na zona vadosa são:

- Percolação da fase separada (LNAPL);
- Dissolução dos compostos da fase residual/livre na água infiltrante;
- Evaporação dos compostos da fase residual/livre para a fase gasosa do solo;

- Dessorção dos compostos da fase sorvida na água infiltrante;
- Volatilização dos compostos da fase dissolvida para a fase gasosa do solo.

Os processos anteriormente descritos ocorrem naturalmente, mas podem ser acelerados por meio da alteração antrópica do ambiente, como por exemplo, a elevação da temperatura do meio ou a aplicação de surfactante na água infiltrante. A temperatura influencia o processo de vaporização e volatilização, enquanto a existência de um surfactante pode solubilizar os compostos em meio aquoso.

A biodegradação não é um processo que promove a mobilidade da contaminação, e sim a sua transformação em outros compostos. Porém, pode envolver a liberação de biossurfactantes ao ambiente, promovendo uma alteração na transferência de compostos da fase separada e/ou da fase sorvida para a água infiltrante. Este processo, conhecido por solubilização, será analisado nos próximos capítulos.

3.2.1 Mobilidade natural

A percolação de um líquido por um meio poroso foi inicialmente investigada para a situação em que os poros estavam saturados. Em 1856, Darcy formulou a equação da velocidade da água que percola por um meio poroso saturado (Equação 1) e até hoje esta equação é considerada a base dos estudos de fluxo por meios porosos.

$$Q = k i A \quad \text{ou} \quad v = k i \quad \text{Equação 1}$$

Sendo:

Q = vazão

K = coeficiente de permeabilidade (ou condutividade hidráulica)

I = gradiente hidráulico

A = área total da seção transversal de solo

v = velocidade aparente de fluxo

O coeficiente de permeabilidade depende do solo e do fluido (Equação 2).

$$K = k \gamma / \mu$$

Equação 2

Sendo:

K = coeficiente de permeabilidade (ou condutividade hidráulica)

k = permeabilidade intrínseca do solo

γ = peso específico do fluido

μ = viscosidade dinâmica do fluido

Posteriormente, a aplicação desses conhecimentos na percolação da água através da zona vadosa mostrou que o fluxo era menor do que aquele previsto por Darcy e que variava com a quantidade de água presente. Isto porque o coeficiente de permeabilidade da lei de Darcy é na verdade uma função do grau de saturação ou do teor de umidade do solo (Figura 3.4).

Figura 3.4 - Condutividade hidráulica em função do teor de umidade volumétrico

Fonte: Fredlund e Rahardjo, 1993

A função permeabilidade pode também ser expressa por meio do conceito de permeabilidade relativa, segundo o qual a permeabilidade de um determinado fluido em meio poroso é proporcional à percentagem em volume deste fluido no meio (Figura 3.5).

Figura 3.5 – Permeabilidade de um fluido em função da percentagem em volume no meio

Fonte: API, 2004

Quando existe mais de um fluido no meio poroso, a percolação de um deles implica no deslocamento do outro; como o meio possui poros capilares, formam-se pressões que dificultam a percolação dos fluidos. A percolação de dois fluidos em um solo pode ser dividida em dois processos, a imbibição (ou molhagem) e a drenagem. A primeira ocorre quando o fluido de maior molhabilidade ao solo desloca o de menor molhabilidade, como o processo de infiltração da água no solo não saturado (com

ar); na drenagem, ocorre o oposto, como quando o óleo diesel flui na zona saturada, ou quando o nível d'água desce e ocorre entrada de ar no solo (Figura 3.6).

Figura 3.6 - Drenagem e imbibição..

σ_{AS} = tensão interfacial entre a água e o solo, σ_{OS} = tensão interfacial entre o óleo e o solo,
 σ_{OA} = tensão interfacial entre o óleo e a água, P_A = pressão que a água exerce sobre o óleo,
 P_O = pressão que o óleo exerce sobre a água

Fonte: Chatzis, 1983

Durante a drenagem, a pressão capilar é maior do que durante a imbibição, o que acarreta a histerese na curva de retenção de água do solo (Figura 3.7).

Figura 3.7 – Histerese na curva de retenção de água de um solo

Fonte: Modificado de Silva, 2005

A Figura 3.8 apresenta os vetores de tensão que atuam na interface entre as três fases sólida, líquida e gasosa na zona vadosa.

Figura 3.8 – Equilíbrio de tensões entre dois fluidos e um sólido

Fonte: Modificado de Bear, 1972

Analisando o equilíbrio de forças ao longo desta interface, obtém-se a equação de Young (Equação 3).

$$\sigma_{GL} * \cos(\theta) = \sigma_{SG} - \sigma_{LS}$$
Equação 3

Sendo:

σ_{GL} = tensão superficial entre o gás e o líquido (mN/m);

θ = ângulo entre o sólido e o fluido mais aderente (radianos);

σ_{SG} = tensão superficial entre o gás e o sólido (mN/m);

σ_{LS} = tensão interfacial entre o líquido e o sólido (mN/m).

Durante a infiltração do óleo diesel no solo, ocorre o processo de trapeamento, que é a formação de glóbulos praticamente imóveis de óleo (Chatzis, 1983), que indica uma forte tendência de estabilização do óleo no solo. Porém, muitas vezes, algumas alterações no ambiente, como a drenagem ou evaporação da água que ocupava um poro adjacente à bolha, pode promover a mobilização do óleo pela mudança do tipo de fluido que interage com ela.

Existem muitos fatores que influem no trapeamento inicial e subsequente mobilização do óleo, dentre eles: a geometria dos poros do solo; a tensão interfacial e a diferença de densidade entre os dois fluidos percolantes.

Para analisar a capacidade de mobilidade de um fluido em uma zona capilar pode-se utilizar o número capilar total (N_T), que é a soma do número capilar (N_c) e o número Bond (N_B). N_c consiste na razão entre as forças de viscosidade mais hidrostática e a força capilar, e N_B , a razão entre a força gravitacional e a capilar.

$$N_T = N_c + N_B$$
Equação 4

$$N_c = \frac{q * \mu}{\sigma}$$
Equação 5

$$N_E = \frac{\Delta\rho * g * R^2}{\sigma}$$

Equação 6

Sendo:

q = velocidade ou vazão específica da água (m/s);

μ = viscosidade da água (kg/s*m);

σ = tensão interfacial entre os fluidos (mN/m);

$\Delta\rho$ = diferença entre a densidade dos dois fluidos (kg/m³);

g = aceleração da gravidade (m/s²);

R = raio representativo dos grãos (m).

Quanto maior for o valor desses números, maior é a mobilidade entre os fluidos e, portanto, menor será a fase residual. Quando a drenagem ou evaporação da água mobiliza o óleo diesel, ocorre alteração na tensão interfacial entre os fluidos (σ): com a saída da água, o óleo passa a ter contato com o ar, e a tensão interfacial entre ar e óleo é menor do que a entre água e óleo. Com isso, alguns glóbulos trapeados são mobilizados e a saturação residual diminui (Chatzis, 1983).

A passagem de água pela zona vadosa é especialmente diferente dos outros fluidos, pois a água apresenta forte molhabilidade ao solo, tanto em relação ao ar quanto em relação ao óleo diesel. Com isso, a água é transmitida através da conexão entre os filmes que se formam na superfície dos grãos de solo. Ou seja, a fina camada de água presente na superfície dos grãos não fica imóvel, ela transmite água como se fosse uma micro tubulação. Porém, este comportamento não significa que a água não pode ficar imóvel, tudo depende da quantidade de água disponível.

Quando ocorre infiltração de água pelo solo contaminado não saturado, a água escoar pelos filmes que recobrem os grãos próximos aos glóbulos aprisionados. O contato desta água com os glóbulos de óleo diesel trapeados no solo provoca a dissolução preferencial dos hidrocarbonetos de maior solubilidade efetiva (Tabela 3.1) até que se atinja o equilíbrio, caso haja tempo de contato suficiente. A água

contaminada é transmitida para a zona saturada e a região circundante ao óleo é renovada com água limpa. Esta troca da água promove o aumento da diferença de concentração entre a água em contato com o óleo e a concentração de saturação, o que acelera o processo de dissolução.

Igualmente ao processo de dissolução, o contato entre a fase residual e o ar da zona vadosa provoca a vaporização preferencial dos hidrocarbonetos de maior pressão de vapor efetiva, formando assim a fase gasosa. A formação de gradientes de temperatura ao longo do dia e de concentrações de CO_2 faz com que o ar no solo se movimente, renovando-se (Scanlon, 2002). Adicionalmente à vaporização, a volatilização dos compostos presentes na fase dissolvida para o ar do solo contribui para a formação da fase gasosa, porém em magnitude significativamente menor.

A solubilidade de um composto e a taxa de transferência da fase separada para a água variam com a temperatura, presença de cossolventes, intensidade iônica da água, gradiente entre as concentrações dissolvida e de saturação, área de contato e a natureza do solvente e do soluto, o que normalmente é descrito pela solubilidade efetiva do soluto no solvente (Perry *et al.*, 2008).

Os parâmetros que interferem na cinética e no equilíbrio da evaporação de um dado composto existente na fase separada são, principalmente, a temperatura e a pressão de vapor efetiva, área da superfície de contato, pressão do sistema e presença de outras substâncias no ar. Já a volatilização é principalmente descrita pela Lei de Henry, a qual considera que a concentração no ar (pressão parcial de vapor) de um composto químico é diretamente proporcional à concentração deste composto na solução aquosa em equilíbrio, e vice-versa, sendo que a constante de Henry (H) descreve tal relação. Este parâmetro, apesar de ser conhecido como uma constante, varia significativamente com a temperatura, a salinidade e a presença de surfactantes (Tomaz, 1990; MacGillivray e Shiaris, 1994; Munz e Roberts, 1987).

Assim como o contato entre a água infiltrante e a fase separada promove a transferência de massa de hidrocarbonetos através da fase dissolvida, o contato da água com os grãos de solo que apresentam hidrocarbonetos sorvidos também pode promover a mobilização dos mesmos. Este processo de transferência é conhecido como dessorção e sua dinâmica, assim como em outros processos de transferência, é dependente da temperatura e da diferença entre a concentração na fase líquida e

a concentração de equilíbrio com o solo, além da adsorção competitiva que pode ocorrer entre compostos presentes na água infiltrante e outros previamente sorvidos.

A interação e transferência de hidrocarbonetos entre a fase dissolvida na água intersticial do solo e a fase sorvida nas partículas sólidas apresentam grande complexidade e são descritas por curvas denominadas isotermas. Estudos demonstram que a relação entre a concentração que fica sorvida no solo e a que fica dissolvida na água varia tanto em função da concentração de contaminante como também devido a alterações do próprio meio ambiente (Giles et al., 1974; Hinz, 1999), tais como a litologia do solo e o teor de matéria orgânica previamente sorvida.

Diversas equações foram propostas para modelar matematicamente as condições de equilíbrio desta interação, conforme se pode observar na Tabela 3.5, Tabela 3.6 e Figura 3.9.

Figura 3.9 - Curvas típicas da relação entre a concentração de um dado composto no solo e na água

Fonte: Giles, 1974

Tabela 3.5 - Compilação das equações isotérmicas, suas propriedades em baixa e alta concentração e sua classificação de acordo com Giles et al., 1974 (continua)

Nome	Equação	$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{ds}{dc}$	$\lim_{c \rightarrow \infty} S$	$\lim_{c \rightarrow \infty} c$	Classe
Funções racionais					
Langmuir	$s_T \frac{kc}{1 + kc}$	$s_T k$	s_T	na	L2
Langmuir dois sítios	$s_T \left(\frac{f_1 k_1 c}{1 + k_1 c} + \frac{f_2 k_2 c}{1 + k_2 c} \right)$	$s_T (f_1 k_1 + f_2 k_2)$	s_T	na	L2, L4
Langmuir modificado	$s_T \left(\frac{k_1 c}{1 + k_1 c} \right) \left(\frac{1}{1 + k_2 c} \right)$	0	s_T	na	S2
Brunauer-Emmett-Teller	$\left(\frac{k_1 c}{1 + k_2 c} \right) \left(\frac{1}{1 - k_3 c} \right)$	k_1	na	$1/k_3$	L3
Farley-Dzombak-Morel	$\frac{s_T k_1 c}{1 + k_1 c} + \left(\frac{X - s_T}{1 + k_1 c} + \frac{k_1 X_c}{1 + k_1 c} \right) \times \left(\frac{k_2 c}{1 - k_2 c} \right) - \frac{k_2}{k_3} c$	$(X - s_T)k_2 + s_T k_1 - k_2/k_3$	na	$1/k_2$	L3

Fonte: Hinz, 1999

Tabela 3.6 - Compilação das equações isotérmicas, suas propriedades em baixa e alta concentração e sua classificação de acordo com Giles et al., 1974 (término)

Nome	Equação	$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{ds}{dc}$	$\lim_{c \rightarrow \infty} s$	$\lim_{s \rightarrow \infty} c$	Classe
Funções de poder					
Freundlich ^a	$K_F c^\alpha$	∞ (0)	∞	∞	L1, H1 (S1)
General Langmuir Freundlich	$s_T \frac{(kc)^\alpha}{1 + (kc)^\alpha}$	∞	s_T	na	L2, H2
General Freundlich	$s_T \left(\frac{kc}{1 + kc} \right)^\alpha$	∞	s_T	na	L2, H2
Redlich–Peterson	$s_T \frac{kc}{1 + (kc)^\alpha}$	$s_T k$	s_T	na	L2
Tóth	$s_T \frac{kc}{(1 + (kc)^\alpha)^{1/\alpha}}$	$s_T k$	s_T	na	L2
Aranovich–Donohue	$\left(\frac{k_1 c}{1 + k_2 c} \right) \left(\frac{1}{1 - k_3 c} \right)^\alpha$	k_1	na	$1/k_3$	L3
Funções transcendentais					
Temkin	$k_1 \ln c + k_2$	∞	∞	∞	L1, H1
Fowler–Guggenheim	$\frac{s/s_T}{1 - s/s_T}$ $= k_1 \exp(k_2 s/s_T) c$	$s_T k$	s_T	na	S2

^a Para $\alpha > 1$ a equação de Freundlich descreve S1 e tem inclinação zero com $c = 0$ (listada em parênteses)

Estudos mais recentes (Zhang *et al.*, 2008) identificaram que as concentrações de alguns cátions na água (Na, K, Cs e Ca) apresentam influência no equilíbrio de sorção dos HPA (Figura 3.10). Mostraram, também, a significativa influência da presença de matéria orgânica, em especial das substâncias húmicas (HS).

Figura 3.10 – Influência da presença de cátions na adsorção de compostos hidrofóbicos

Fonte: Zang, 2008

Devido à grande influência do meio no processo de adsorção e dessorção, alguns estudos foram desenvolvidos para estimar preliminarmente o K_d (Coeficiente de partição solo/água) de um composto em um dado solo por meio da definição de uma relação empírica entre o K_{ow} (coeficiente de partição octanol/água) e o K_{oc} (coeficiente de partição matéria orgânica/água).

$$\log K_{oc} = a * \log K_{ow} + b$$

Equação 7

Diversos estudos foram desenvolvidos para definir os coeficientes a e b da Equação 7. Segundo Schwarzenbach (2003), os melhores valores para os HPA são $a = 0,98$ e $b = -0,32$.

Para contaminações com PAH onde o f_{oc} (fração de carbono orgânico no solo) for superior a 1%, adota-se como hipótese que a adsorção de compostos orgânicos hidrofóbicos no solo é diretamente proporcional ao K_{oc} , o que permite simplificar a estimativa de K_d (Karickhoff, 1979).

$$K_d = K_{oc} + f_{oc}$$

Equação 8

Ou seja, considera-se que o K_d se comportará como uma constante, como ocorre na classe “C”. Outro aspecto que é ignorado nesta simplificação são as diferentes capacidades de adsorção dos vários tipos de matéria orgânica (ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina) e suas conformações físicas no solo (Pan, 2008)

O entendimento dos processos de sorção e dessorção é fundamental para avaliar a mobilidade da contaminação, pois ocorre tanto no sentido de imobilizar (sorção) como no de mobilizar (dessorção) os poluentes. Quando o solo está contaminado, a infiltração de água na zona vadosa tende a dessorver o contaminante do solo, pois geralmente a água que infiltra apresenta concentrações de poluentes menores do que as de equilíbrio.

3.2.2 Influência do surfactante na mobilidade natural

Surfactantes são compostos constituídos de uma porção hidrofóbica (apolar) e uma porção hidrofílica (polar). A porção apolar é uma cadeia de hidrocarbonetos, enquanto a polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não iônica ou anfótera (Figura 3.11). Alguns exemplos de surfactantes iônicos utilizados comercialmente incluem ésteres sulfatados ou sulfatos de ácidos graxos (aniônicos), sais de amônio (catiônicos), polioxietilenos (não iônicos) e amidoaminas (anfóteros) (Nitschke e Pastore, 2002; Rosen, 2004). Estes compostos podem ser produzidos quimicamente (surfactantes sintéticos) ou biologicamente (biossurfactantes).

Figura 3.11 – Estrutura básica dos tipos de surfactantes existentes

Fonte: Inkline, 2010

A principal característica de um surfactante é sua capacidade de ligar compostos polares aos apolares. Uma das consequências da maior ligação entre as moléculas é a redução da tensão interfacial.

Em baixas concentrações, os surfactantes encontram-se na forma de monômeros, e em altas, os monômeros se agregam formando micelas. A concentração na qual se inicia a formação de micelas é chamada de CMC - Concentração Micelar Crítica (Maniasso, 2006).

As micelas são formadas pela interação entre as cadeias apolares do surfactante e pela repulsão dos grupos polares que formam pontes de hidrogênio com a água. Os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade. A formação de um filme molecular ordenado nas interfaces reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes (Harwell, 1998; Nitschke e Pastore, 2002). A presença de micelas provoca a formação da chamada solubilidade aparente. O processo de formação desta solubilidade aparente é conhecido como solubilização (Volkering, 1998).

A aplicação de energia em um sistema contendo água e óleo provoca a emulsão, que é a formação de pequenas bolhas. Estas bolhas podem ser de água ou de óleo, dependendo do líquido predominante em volume. A emulsão se diferencia da solubilização pelo fato de na solubilização haver apenas uma fase e consequentemente o sistema ser termodinamicamente estável, enquanto na

emulsão naturalmente ocorre a coalescência, que promove a reagregação da fase em emulsão (Rosen, 2004).

Outra forma de organização das moléculas de surfactante são as hemimicelas, as quais constituem formações aderidas a uma superfície, podendo estar ligadas à porção apolar do surfactante, deixando livre sua porção polar, ou à porção polar, disponibilizando a porção apolar ao meio. Nesta última situação, é possível que outras moléculas de surfactante liguem-se às cadeias apolares expostas e organizem-se em uma estrutura conhecida como admicela (Figura 3.12). A ocorrência destas formações é observada em concentrações de surfactante abaixo e acima da CMC (West e Harwell, 1992; Nayyar, 1994).

Figura 3.12 – Formas do surfactante em meio aquoso na presença ou não de uma superfície

Fonte: Volkerling, 1998

A presença de surfactante no solo altera a percolação do LNAPL (mobilização), a dissolução (solubilização) na água e a sorção e dessorção do solo para a água e vice versa (West e Harwell, 1992; Bai *et al.*, 1997).

A mobilização do LNAPL é alterada devido à redução das tensões interfaciais e superficiais, com consequente aumento da relevância da força gravitacional exercida

sobre o LNAPL. As Equações 4, 5 e 6 facilitam o entendimento de que a redução da tensão interfacial (σ) promove um aumento na mobilização da fase residual.

No caso de o óleo estar prioritariamente em contato com o ar, encontrando-se a água apenas como filme sobre as partículas do solo (Figura 3.13), a presença de surfactante na água promove a redução da tensão superficial água/ar e interfacial água/óleo, não alterando significativamente a tensão superficial óleo/ar. Aplicando-se na Equação 3 as tensões mostradas na Figura 3.13, se a diferença entre a tensão superficial água/ar e água/óleo ficar maior com a presença do surfactante, então o óleo tenderá a se espalhar mais. Assim, para que o óleo aumente sua mobilidade, o surfactante deve promover uma maior redução na tensão interfacial entre água/óleo do que na tensão superficial entre água/ar.

Figura 3.13 – Equilíbrio de forças entre três fluidos.

Fonte: Modificado de Bear, 1972

Já no caso de o óleo estar preso pelo contato com a água (zona vadosa ou saturada), a redução da tensão interfacial óleo/água e a redução da tensão interfacial água/ar facilitam a percolação da água e, conseqüentemente, do óleo também. Este fenômeno foi estudado por Jason *et al.* (2003), que verificaram que a redução da tensão interfacial da água com as outras fases provoca uma redução na saturação residual de água no solo (Figura 3.14), a qual promove a mobilidade do óleo (Figura 3.15).

Figura 3.14 – Influência da tensão superficial na saturação residual de água no solo

Fonte: Jason *et al.*, 2003

Figura 3.15 – Relação entre a saturação residual de água e a saturação residual de óleo no solo

Fonte: Jason *et al.*, 2003

O transporte de hidrocarbonetos pela dissolução da fase residual pode ser significativamente acelerado pela presença de um surfactante na água infiltrante. De acordo com Rosen (2004), o surfactante altera a quantidade de hidrocarbonetos solubilizados se estiver em concentrações acima da CMC em água (Figura 3.16). A

magnitude da solubilização é influenciada pela estrutura do surfactante e do produto a ser solubilizado, pela intensidade iônica da solução, pela presença de aditivos monoméricos e poliméricos e pela temperatura do ambiente (Rosen, 2004).

Figura 3.16 – Influência da concentração de surfactante na solubilização dos hidrocarbonetos

Fonte: Rosen (2004)

A notável alteração na solubilização provocada pelo surfactante necessita do contato entre a solução de surfactante e o óleo. No caso da zona não saturada, muito se discute sobre o real contato entre a solução e a fase residual, uma vez que estudos (Oliveira, 1997) mostram que devido ao fato de a fase residual impedir a passagem da água pelo poro em que está aprisionada, o contato da água com a fase residual é mínimo, atuando prioritariamente o processo de difusão. Porém, a infiltração de água na zona vadosa ocorre através da percolação em filmes de água aderidos ao solo, o que permite o contato direto com a fase residual.

A infiltração pela zona vadosa depende do grau de saturação inicial e da função de permeabilidade do solo. Não há como aumentar a vazão efetivamente pela aplicação de pressão hidráulica, como em poços parcial ou totalmente penetrantes no

aquífero. As forças de capilaridade predominam na zona vadosa, resultando em uma fraca correspondência entre aumento de pressão e aumento de fluxo.

Apesar da limitação da velocidade de fluxo aparentemente ser um problema para a aplicação da lavagem com surfactante na zona vadosa, Shin (2003) observou que quanto menor a vazão, maior a concentração de hidrocarbonetos no efluente drenado e maior a eficiência de remoção. Isto é provavelmente devido ao aumento no tempo de contato entre a solução e a fase residual. Portanto, estudos de laboratório que visem investigar a remediação através de lavagem da zona vadosa preferencialmente devem ser desenvolvidos em condições de infiltração próximas das que ocorrem no campo para não subestimar a capacidade de remoção de hidrocarbonetos. No entanto, é difícil reproduzir tais condições em laboratório.

Além da promoção da solubilização e da mobilização, a aderência do surfactante nas superfícies (hemimicelas, Figura 3.12) pode provocar um aumento na capacidade de o meio sólido sorver hidrocarbonetos, uma vez que as superfícies dos argilo-minerais são carregadas eletronegativamente e proporcionam a formação de hemimicelas com a porção apolar exposta ao meio aquoso. Pode também ocorrer a formação das admicelas, que neutralizam este possível aumento na capacidade de sorção de hidrocarbonetos. A porção apolar do surfactante ainda pode se ligar à porção apolar do solo ou aos hidrocarbonetos adsorvidos no solo, ou provocar uma competição entre o surfactante e os hidrocarbonetos pelos sítios ativos apolares.

De acordo com Haigh (1996), o coeficiente de partição (K_d) é dependente da concentração de surfactante, sendo que em concentrações bem acima da CMC, pode-se esperar a ocorrência de um decréscimo no valor do K_d , especialmente para poluentes altamente hidrofóbicos. Já em concentrações abaixo ou perto da CMC, K_d depende das propriedades do solo e do surfactante, ou seja, nem sempre a aplicação de surfactante promove o aumento do processo de dessorção, podendo ocorrer também o aumento da sorção; este comportamento apresenta grande complexidade e conseqüentemente difícil previsibilidade. Ressalta-se que mesmo em condições de redução do K_d , a concentração de hidrocarbonetos sorvidos no solo pode aumentar, uma vez que as concentrações de hidrocarbonetos na água são muito superiores às concentrações sem a presença do surfactante.

3.3 Biodegradabilidade de Hidrocarbonetos no Solo

3.3.1 Microbiota do solo

O solo é um meio que apresenta uma vasta ecologia, a qual tanto é influenciada pelas características do solo, como influencia na própria formação do mesmo. Um diagrama esquemático da biota típica de um solo é mostrado na Figura 3.17.

Figura 3.17 – Habitat de solo contendo partículas minerais (Sa: areia, Si: silte, C: argila), matéria orgânica (OM), água (W), raízes (R), e microrganismos do solo [bactéria (B), actinomicetos (A), esporos de micorrizas e hifas (My), hifas de fungos saprofíticos (H), nematódio (N), protozoário ciliado (CP), e um ácaro (M)].

Fonte: Sylvia *et al.*, 1998

O solo é constituído por compostos inorgânicos e orgânicos. A parte orgânica decorre de plantas, animais, insetos e outros materiais adicionados, os quais são gradualmente transformados em húmus rico em nutrientes. Estes variados componentes formam agregados heterogêneos de vários tamanhos. Em estado avançado de decomposição, a matéria orgânica mineralizada forma os ácidos fúlvico e húmico (Sposito, 1989).

Bactérias e fungos utilizam diferentes estratégias funcionais para aproveitar a complexa matriz física do solo. A maioria das bactérias do solo localiza-se na superfície das partículas do solo, mais frequentemente em zonas de poros de menor diâmetro (2 a 6 mm em diâmetro), onde são menos suscetíveis a tornarem-se alimento de protozoários, e necessitam de água e nutrientes na sua imediata vizinhança para se desenvolver (Prescott *et al.*, 1999; Paul e Clark, 1996).

O local de crescimento permite dividir as bactérias em dois grupos, as planctônicas, que flutuam na água, e as sésseis, que aderem às superfícies e vivem em biofilmes (Figura 3.18). Atualmente sabe-se que bactérias, ao ancorar-se a uma superfície, ligam diferentes tipos de genes, os quais as transformam efetivamente em diferentes organismos. Recentes estudos têm revelado que existem significativas diferenças no nível da expressão dos genes quando as bactérias estão em biofilmes (Maier *et al.*, 2000 e CBE, 2011).

Figura 3.18 – Estágios de formação de biofilme em superfícies

Fonte: CBE, 2011

Os biofilmes podem ser formados por bactérias de uma única espécie, porém, mais freqüentemente, consistem de muitas espécies, assim como também de fungos, algas, protozoários, detritos e produtos de corrosão. Essencialmente, biofilmes podem se formar em qualquer superfície exposta a bactérias e um pouco de umidade. O comportamento dos biofilmes bacterianos é muito mais complexo que o das células em suspensão, pois as bactérias que vivem no biofilme apresentam inter-relações de dependência muito mais fortes do que as que vivem em suspensão. Dentro dessas comunidades, aparentemente cada célula tem uma função diferente; enquanto algumas células utilizam a energia disponível para acionar rotas metabólicas que degradam compostos orgânicos, outras células adjacentes, da mesma população, utilizam os produtos degradados para produzir novas células que são adicionadas ao ambiente (Maier *et al.*, 2000; CBE, 2011).

3.3.2 Metabolização de derivados do petróleo por microrganismos

A estrutura química dos poluentes orgânicos tem uma profunda influência na habilidade dos microrganismos metabolizarem estas moléculas, especialmente com

respeito às taxas e extensão da biodegradação. Alguns compostos orgânicos são rapidamente biodegradados enquanto outros são recalcitrantes, sendo os hidrocarbonetos com baixo a médio peso molecular e alcoóis exemplos de compostos facilmente biodegradáveis, enquanto os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos tendem a ser resistentes à biodegradação (Alexander, 1994). Contudo, vários autores (Wiedemeier *et al.*, 1999; Cerniglia e Heitkamp, 1989) demonstraram que os hidrocarbonetos de anéis aromáticos fundidos, como os HPA, podem ser metabolizados por bactérias, algas e fungos. Conforme se pode observar na sequência da Figura 3.19 à Figura 3.24, estudos não somente provaram tal degradação com identificaram as rotas metabólicas dos principais HPA para diferentes microorganismos.

Figura 3.19 – Rota metabólica da degradação bacteriana do naftaleno

Fonte: Cerniglia e Heitkamp, 1989

Figura 3.20 – Rota metabólica da degradação por fungos do naftaleno

Fonte: Cerniglia e Heitkamp, 1989

Figura 3.21 – Rotas metabólicas da degradação de antraceno por fungos e bactérias

Fonte: Cerniglia e Heitkamp, 1989

Figura 3.22 – Rotas metabólicas da degradação bacteriana do fenantreno

Fonte: Cerniglia e Heitkamp, 1989

Figura 3.23 – Rotas metabólicas da degradação do fenantreno por fungos

Fonte: Cerniglia e Heitkamp, 1989

Figura 3.24 – Rotas metabólicas da degradação do Benzo(a)pireno por fungos

Fonte: Cerniglia e Heitkamp, 1989

A comunidade microbiana envolvida na degradação de compostos xenobióticos pode ser dividida em microrganismos primários e secundários. Os primários são aqueles capazes de metabolizar o substrato principal fornecido ao sistema, enquanto os secundários não utilizam o substrato principal, mas os produtos liberados pelos microrganismos primários. A comunidade científica em geral aceita que nenhuma espécie de microrganismo degrada completamente nenhum óleo em particular (Colwell e Walker, 1977; Crapez *et al.*, 2002).

As rotas metabólicas apresentadas ocorrem na presença dos múltiplos aceptores finais de elétrons, sendo que os microrganismos usam o acceptor termodinamicamente mais favorável até que este tenha sua concentração ou disponibilidade reduzida e permita que outros sejam utilizados seqüencialmente, em ordem de preferência. Comumente, a ordem de preferência é: $O_2 > NO_3^- > MnO_2 > FeOOH > SO_4^{2-} > CO_2$, conforme ilustra a Figura 3.25 (Christensen *et al.*, 2000).

Figura 3.25 – Potenciais de oxirredução dos principais aceptores finais de elétrons

Fonte: Modificada de Stumm e Morgan, 1981

O processo de metabolização de compostos orgânicos que utiliza o oxigênio como receptor final de elétrons é chamado de respiração aeróbia e origina, como produtos, o dióxido de carbono, a água e a biomassa celular (Chapelle, 1993). Tipicamente, o óleo diesel e outros hidrocarbonetos de petróleo são biodegradados (catabolizados) mais rapidamente em condições aeróbias do que anaeróbias (Parker e Burgos, 1999; Moller *et al.*, 1996; Stout e Lundergard, 1998; Widrig e Manning, 1995).

Além de um aceptor de elétrons, os microorganismos necessitam de nutrientes para formar as estruturas moleculares necessárias ao seu crescimento. Os nutrientes necessários são divididos em dois grupos: os macro nutrientes, que são o nitrogênio (N) e o fósforo (P), e os micronutrientes, K (potássio), Ca (cálcio), Mg (manganês), S (enxofre), Mn (magnésio), Fe (ferro), Cu (Cobre) e Zn (Zinco).

O processo de crescimento microbiano em um ambiente com recursos limitados é tipicamente descrito pela curva de crescimento apresentada na Figura 3.26, com a ressalva de que o tempo de ocorrência de cada fase varia significativamente com o ambiente e o tipo de microorganismo.

Figura 3.26 – Curva característica do crescimento microbiano em sistemas fechados

Fonte: Modificado de UNB, 2010

Os modelos cinéticos de crescimento celular, iniciados por Monod em 1942, descrevem de que forma a taxa de crescimento celular se relaciona com a

concentração dos substratos (fontes de carbono) ou possíveis inibidores (compostos tóxicos à biota). Os modelos comumente usados para descrever o crescimento celular provenientes da degradação de compostos orgânicos são os desenvolvidos por Monod e Andrews Haldane, apresentados na Figura 3.27, sendo que Monod descreve a degradação de um substrato não inibidor e Haldane de um substrato inibidor. No caso dos hidrocarbonetos, ambos os modelos podem ocorrer, dependendo do meio em que se estuda e das concentrações aplicadas.

**Figura 3.27 – Taxa de crescimento celular (μ) em função da concentração de substrato (C):
Modelos de Monod e Haldane**

Fonte: Modificado de Costa (S.D.)

Outros modelos cinéticos de crescimento celular têm sido desenvolvidos, os quais podem ser classificados em dois grupos, os que descrevem o crescimento celular em um único substrato, como é o caso dos modelos de Monod e Haldane, e os que descrevem o crescimento em múltiplos substratos, consideravelmente mais complexos do que os primeiros, podendo chegar a dezenas de variáveis. A Tabela 3.7 e a Tabela 3.8 apresentam os modelos existentes para descrever os processos com um ou múltiplos substratos, respectivamente.

Tabela 3.7 – Modelos cinéticos para único substrato

Modelo	Equação	Referência
Limitação e Inibição pelo substrato	$\mu_x = \frac{\mu_{max}}{1 + \frac{K_s}{S} + \left(\frac{S}{K_i}\right)^n}$	WU <i>et al.</i> (1988) <i>apud</i> LIMA <i>et al.</i> (2001)
Limitação pelo substrato	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S}$	MONOD (1942) <i>apud</i> REARDON <i>et al.</i> (2000)
	$\mu_x = \mu_{max} (1 - e^{-KS})$	TESSIER (1942) <i>apud</i> BAILEY & OLLIS (1986)
	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S^n}{K_s + S^n}$	MOSER (1958) <i>apud</i> BAILEY & OLLIS (1986)
	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S}{K_{xy} X + S}$	CONTOIS (1959) <i>apud</i> BAILEY & OLLIS (1986)
Inibição pelo substrato	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S \left(1 + \frac{S}{K}\right)}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$	WEBB (1963) <i>apud</i> NUHOGLU & YALCIN (2005)
	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S}{\left(K_s + S + \frac{S^2}{K_i}\right) \left(1 + \frac{S}{K}\right)}$	YANO <i>et al.</i> (1966) <i>apud</i> NUHOGLU & YALCIN (2005)
	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$	ANDREWS (1968) <i>apud</i> REARDON <i>et al.</i> (2000)
	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} e^{\left(\frac{-S}{K_i}\right)}$	AIBA (1968) <i>apud</i> NUHOGLU & YALCIN (2005)
	$\mu_x = \frac{\mu_{max} S}{\left(K_s + S + S \sum_{j=1}^p \left(\frac{S}{K_i}\right)^j\right)}$	YANO & KOGA (1969) <i>apud</i> SHALABY (2003)
	$\mu_x = \mu_{max} \left[e^{\left(\frac{-S}{K_i}\right)} - e^{\left(\frac{-S}{K_s}\right)} \right]$	EDWARDS (1970) <i>apud</i> NUHOGLU & YALCIN (2005)

x = biomassa, μ = taxa de crescimento celular, μ_{max} = taxa específica de crescimento, K_s = constante de saturação, S = concentração de substrato, K_i = constante de inibição

Fonte: Trigueiro, 2008

Tabela 3.8 – Modelos cinéticos de múltiplos substratos

Modelo	Equação	Referência
Limitação por múltiplos substratos	$\mu_x = \frac{\mu_{\max} S_1 S_2}{(K_{S_1} + S_1)(K_{S_2} + S_2)}$ (utilização simultânea de S_1 e S_2)	MEGEE <i>et al.</i> (1972) <i>apud</i> LIMA <i>et al.</i> (2001)
	$\mu_x = \left(\mu_0 + \frac{\mu_{\max 1} S_1}{K_{S_1} + S_1} + \frac{\mu_{\max 2} S_2}{K_{S_2} + S_2} \right) \left(\frac{S_3}{K_{S_3} + S_3} \right)$ (utilização simultânea de S_1 e S_2)	TSAO & HANSON (1975) <i>apud</i> LIMA <i>et al.</i> (2001)
Inibição Não-Competitiva	$\mu_{x_i} = \frac{\mu_{\max_i} S_i}{\left(K_{S_i} + S_i + S_j \left(\frac{K_{S_i}}{K_{S_j}} \right) + \frac{S_i S_j}{K_{S_j}} \right)}$	SEGEL (1975) <i>apud</i> REARDON <i>et al.</i> (2000)
Inibição Acompetitiva	$\mu_{x_i} = \frac{\mu_{\max_i} S_i}{\left(K_{S_i} + S_i + \frac{S_i S_j}{K_{S_j}} \right)}$	
Inibição Competitiva	$\mu_{x_i} = \frac{\mu_{\max_i} S_i}{\left(K_{S_i} + S_i + S_j \left(\frac{K_{S_i}}{K_{S_j}} \right) \right)}$	YOON <i>et al.</i> (1977) <i>apud</i> REARDON <i>et al.</i> (2000)
SKIP	$\mu_{x_i} = \frac{\mu_{\max_i} S_i}{(K_{S_i} + S_i + S_j I_{ji})}$	
Limitação e Inibição por múltiplos substratos	$\mu_x = \frac{\mu_{\max 1} S_1}{K_{S_1} + S_1} + \frac{\mu_{\max 2} S_2}{K_{S_2} + S_2 + \frac{S_1^2}{K_i}}$ (utilização preferencial de S_1)	DUNN <i>et al.</i> (1992) <i>apud</i> LIMA <i>et al.</i> (2001)

x = biomassa, μ = taxa de crescimento celular, $\mu_{\max}$ = taxa específica de crescimento,

K_s = constante de saturação, S = concentração de substrato, K_i = constante de inibição

Fonte: Trigueiro, 2008

3.3.3 Avaliação da biodegradação

A avaliação da biodegradação de poluentes orgânicos tóxicos existentes num determinado solo pode ser realizada por algumas técnicas de laboratório e em campo.

A técnica de laboratório mais difundida e utilizada para determinar a biodegradação aeróbia em um solo é a respirometria, a qual consiste na avaliação da produção de CO_2 ou de consumo de O_2 em um ambiente fechado. Uma das principais limitações desta técnica refere-se à impossibilidade de avaliar a biodegradação de compostos

específicos, principalmente em contaminações que envolvem misturas de compostos, como o caso do óleo diesel; porém, ela permite avaliar o comportamento microbiológico de forma global com um teste relativamente simples e barato. Para determinar a evolução da concentração de cada composto de interesse separadamente, utiliza-se o biorreator, o qual normalmente apresenta um volume de solo maior do que o da respirometria, permitindo que ao longo do tempo sejam coletadas amostras de solo e/ou água suficientes para analisar cada composto.

Analogamente ao teste com o biorreator, o monitoramento da concentração no solo *in situ* ao longo do tempo, desconsiderando as perdas por processos físico-químicos, também permite a determinação da taxa de biodegradação. No entanto, é um método pouco prático para avaliações preliminares ou investigações de diferentes condições.

Pode-se também avaliar o potencial de biodegradação de um solo devido à presença de microorganismos heterotróficos pela contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), técnica amplamente utilizada em saneamento, mas que apresenta grandes limitações na avaliação de poluentes tóxicos, uma vez que o substrato utilizado no crescimento não equivale ao contaminante, ocasionando grande variação de comportamento entre os resultados de ensaios e de campo.

Outra forma de avaliação é a medição da concentração de desidrogenases, que são enzimas que catalisam o processo de oxidação da matéria orgânica através da transferência do hidrogênio desta para o aceptor final de elétrons (Paul e Clark, 1989). No entanto, a desidrogenase pode estar reagindo rapidamente com a matéria orgânica o que impede seu acúmulo, não havendo assim correspondência entre sua concentração no meio e a real capacidade de biodegradação do solo.

Para alguns contaminantes já conhecidos, é possível avaliar a biodegradação que ocorre na área contaminada a partir da determinação da concentração dos compostos intermediários de degradação, comparando-se suas concentrações às do composto original. Esta técnica é uma forma grosseira de avaliação, pois o processo de degradação de grande parte dos compostos ocorre rapidamente, não ocorrendo grande acúmulo de compostos intermediários.

Pode-se ainda primariamente avaliar a evolução da degradação pela comparação entre a relação de certos compostos na mistura original de hidrocarbonetos e as

observadas no solo contaminado. No caso dos hidrocarbonetos, os alcanos ramificados e isoprenóides são degradados mais lentamente do que os alcanos lineares, ou seja, a relação entre alcanos ramificados e lineares tende a aumentar ao longo da biodegradação (Wang, 1994; Prichard e Costa, 1991; Kennicutt, 1988).

Mais recentemente, a biodegradação vem sendo estimada através de técnicas biomoleculares como o TFLP (Terminal Fragment Length Polymorphism), o DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), o PCR (Polymerase Chain Reaction) e o QPCR, que são capazes de realizar uma análise quantitativa de espécies bacterianas. O fato de apenas aproximadamente 1% das bactérias serem cultiváveis (Amann *et al.*, 1995) e a forma indireta de avaliação da biomassa pelas técnicas tradicionais (desidrogenase, respirometria e biorreator) representavam uma limitação na determinação do comportamento microbiano, a qual vem sendo superada com a aplicação das técnicas biomoleculares, que extraem diretamente o material genético existente no meio. As técnicas biomoleculares permitem avaliar as variações na ecologia microbiana e quantificar a biomassa em número de células de um determinado tipo de bactérias, o que permite determinar a presença e a quantidade de biota capaz de degradar certo grupo de compostos com uma amostra de uma área contaminada. No entanto, estas técnicas ainda são caras e pouco difundidas.

Uma das preocupações levantadas por vários estudos *in vitro* tem sido a possível produção de certos intermediários da degradação dos HPA, particularmente di-hidrodióis, os quais são mais tóxicos do que o composto original (Cerniglia, 1984). No entanto, estudos da degradação de HPA em sedimentos sugerem que estes compostos não acumulam no ambiente, pois são rapidamente transformados em outros compostos (Herbes e Schwall, 1978).

Em uma revisão sobre estudos ecológicos de bactérias que degradam hidrocarbonetos, Rosenberg e Gutnick (1981) verificaram que microrganismos capazes de degradar hidrocarbonetos estão potencialmente localizados em todas as áreas naturais, embora apresentem grandes variações em suas concentrações celulares, sendo que esta população aumenta após a adição do substrato (hidrocarboneto) no solo (Pinholt *et al.*, 1979). Assim, a proporção de microrganismos hidrocarbonoclásticos dentro da comunidade microbiana depende do grau de exposição do ambiente ao poluente. De acordo com Riser-Roberts (1992), em ecossistemas não poluídos estes microrganismos constituem menos de

1% da comunidade microbiana e em ecossistemas poluídos podem chegar a constituir 100% da comunidade.

Estudos com bactérias reconhecidamente degradadoras de HPA em solos naturais mostraram que os consórcios de bactérias naturais do solo são mais eficazes na remoção de HPA do que bactérias isoladas, possivelmente devido à existência de uma grande gama de espécies que metabolizam os subprodutos da degradação dos HPA, evitando seu acúmulo e conseqüentemente a inibição por toxicidade aos metabolitos (Mueller *et al.*, 1989; Wiesel *et al.*, 1993).

A evolução no tempo da degradação de um substrato pode ser descrita por uma equação exponencial de primeira, segunda ou subseqüentes ordens, sendo que a de primeira ordem é que mais se aplica para hidrocarbonetos do petróleo. A equação de primeira ordem comumente utilizada é descrita por:

$$C = C_0 * e^{-\lambda t} \quad \text{Equação 8}$$

Sendo:

C = Concentração do contaminante

C_0 = Concentração inicial do contaminante

λ = Taxa específica de biodegradação

t = Tempo

Geralmente, as taxas de primeira ordem são expressas em termos de meia vida ($t_{1/2}$) do composto, a qual é definida como o tempo necessário para reduzir a concentração inicial a 50%:

$$t_{\frac{1}{2}} = \ln \frac{2}{\lambda} \quad \text{Equação 9}$$

O modelo de decaimento de primeira ordem (Equação 8) adota a hipótese de que a taxa de biodegradação do soluto (variação da concentração no tempo) é

proporcional à sua concentração. Ou seja, um aumento na concentração provoca aumento na taxa de degradação, o que não obrigatoriamente é verdade, porém tal extrapolação tem sido aceita e esse modelo é geralmente usado para determinar a taxa de biodegradação de hidrocarbonetos dissolvidos na água subterrânea (Mazzuco, 2004).

Muitos estudos consideram que os microorganismos apenas conseguem absorver os compostos (substrato) dissolvidos (Alvarez-Cohen *et al.*, 1993; Ogram *et al.*, 1985; Rijnaarts *et al.*, 1990; Scow e Alexander, 1992), entretanto outros mostram que compostos adsorvidos e em fase separada (livre e/ou residual) estão até certo ponto disponíveis para os microorganismos sem a necessidade de dissolução (Gordon e Millero, 1985; Guerin e Boyd, 1992; Hermannson e Marshall, 1985). Apesar disso, mesmo quando os compostos adsorvidos e em fase separada estão disponíveis para a absorção direta, eles são menos biodisponíveis do que os compostos dissolvidos (Gordon e Millero, 1985; Bury e Miller, 1993; Hommel, 1990), ou seja, a dessorção e a dissolução representam processos essenciais na biodegradação de substratos inicialmente adsorvidos e em fase separada.

3.4 Lavagem de Solos com Surfactantes e Biorremediação

De acordo com Beck e Jones (1995), Erickson *et al.* (1993), Luthy *et al.* (1994), Weissenfels *et al.* (1992) e Würdemann *et al.* (1995), o principal fator limitante da biodegradação em solos contaminados com compostos hidrofóbicos geralmente é a taxa de transferência dos compostos sorvidos no solo e em fase separada para a fase aquosa. Assim, a inserção de surfactante num solo contaminado com hidrocarbonetos pode aumentar a taxa de biodegradação através do aumento do processo de dissolução e possivelmente de dessorção. Outra forma pela qual os surfactantes podem aumentar a taxa de biodegradação é através da dispersão de glóbulos de fase separada, aumentando assim a superfície disponível para a dissolução e absorção direta pelos microorganismos.

Devido à grande utilização de surfactantes na produção de detergentes, sua toxicidade em microorganismos foi amplamente estudada, sendo que os dois principais efeitos tóxicos observados foram: (i) ruptura da membrana celular através

da interação com componentes lipídicos e (ii) reação com enzimas fundamentais para o funcionamento das células (Helenius e Simons, 1975). Em solos a inibição pode ocorrer também pelo desprendimento das bactérias sésseis, aderidas ao solo. Este desprendimento pode ser explicado por três mecanismos: (i) pela alteração da carga superficial das bactérias (ii) pela prevenção da flocculação e (iii) pela dissolução dos polímeros extracelulares responsáveis pela formação do biofilme (Marchesi *et al.*, 1991; Jackson *et al.*, 1994). Como a aderência dos microorganismos pode alterar o meio e sua própria atividade, este efeito dos surfactantes pode ser importante no processo de remediação, especialmente na biorremediação *in situ*, que tem a distribuição da capacidade de degradação como um fator crucial.

Em condições de pH 7 ou superior, os surfactantes catiônicos apresentam maior toxicidade, enquanto que em ambientes ácidos os aniônicos apresentam maior toxicidade. No entanto, independentemente do pH do meio, os surfactantes não iônicos são menos tóxicos do que os iônicos (Volkerling, 1998). De acordo com Laha e Luthy (1991 e 1992), Roch e Alexander (1995) e Tsomides *et al.* (1995), surfactantes em concentrações superiores à CMC promovem inibição em microorganismos degradadores de hidrocarbonetos hidrofóbicos, o que até hoje não é totalmente explicado.

A biodegradabilidade dos surfactantes pode representar fatores positivos e negativos. Os negativos são principalmente a possível preferência dos microorganismos na degradação do surfactante em relação aos hidrocarbonetos, o que promoveria uma redução na disponibilidade de aceptores finais de elétron e de nutrientes, e a possível toxicidade de subprodutos de degradação dos surfactantes (Holt *et al.*, 1992; Tiehm, 1994), enquanto que os positivos consistem na remoção do surfactante do meio, evitando impactos ambientais posteriores à remediação. Outra condição positiva é a degradação do surfactante como substrato primário, enquanto os hidrocarbonetos são degradados cometabolicamente (Lee *et al.*, 1995).

Diversos estudos relacionados à lavagem e biorremediação de solo contaminado com compostos orgânicos através da utilização de surfactantes vêm sendo realizados ao longo dos últimos 20 anos.

Os estudos sobre lavagem com surfactantes tiveram sua origem na recuperação de petróleo em jazidas em fase final de exploração. Na década de 80 iniciaram-se os

estudos aplicados à remediação de solo contaminado (Ellis *et al.*, 1985; Nash *et al.*, 1987; Dworkin *et al.*, 1988; Vigon e Rubin, 1989; Wilson, 1989). Durante a década de 90 a continuidade dos trabalhos de pesquisa e a realização de diversos estudos em campo demonstraram a efetividade do uso da lavagem com surfactante na remediação de solo contaminado com compostos orgânicos hidrofóbicos, especialmente aqueles com significativa percentagem de saturação de fase separada (Abdul *et al.*, 1990; Ang e Abdul, 1991; Wilson e Clarke, 1991; West, 1992; Black *et al.*, 1992; Abriola *et al.*, 1993¹; Abriola *et al.*, 1993²; Clarke *et al.*, 1993).

Concomitantemente, iniciaram-se os estudos sobre a influência do surfactante no aumento da biodisponibilidade de compostos orgânicos hidrofóbicos presentes em solos contaminados (Wilson, 1985; Dworkin *et al.*, 1988; Oberbremer *et al.*, 1990; Aronstein *et al.*, 1991; Zang e Miller, 1992; Edwards, 1992; West, 1992; Bury e Miller, 1993; Rasiah e Voroney, 1993; Ducreux, 1993 e 1995).

Diferentemente das pesquisas relativas à lavagem, que consolidaram esta técnica como efetiva e mundialmente difundida, os estudos com surfactantes encontraram resultados muitas vezes conflitantes, variando entre a estimulação da biodegradação (Deschenes *et al.*, 1995; Thibault *et al.*, 1996; Aronstein *et al.*, 1991; Aronstein *et al.*, 1992; Jain *et al.*, 1992; Margesin, 1999; Tiehm, 1994) e sua inibição (Laha e Luthy, 1991 e 1992; Roch e Alexander, 1995; Rouse *et al.*, 1994; Tsomides, 1995).

No intuito de evitar a toxicidade dos surfactantes sintéticos, alguns pesquisadores (Zang e Miller, 1992) utilizaram biosurfactantes e obtiveram resultados positivos, porém sua aplicação em grande escala ainda é bastante limitada economicamente.

Em 1991, Aronstein *et al.* conduziram um estudo que investigou a dessorção e a mineralização (biodegradação) de fenantreno e bifenil por meio da aplicação de dois surfactantes (Alfonic 810-60 e Novel II 1412-56) em dois solos, um predominantemente mineral (Lima) e outro orgânico (Edwards). Os contaminantes foram estudados independentemente. As concentrações iniciais de fenantreno e bifenil no solo eram de 1 µg/g.

Nos ensaios de dessorção, os solos foram esterilizados e as concentrações de surfactantes aplicadas foram 0,01, 0,1, 1, 10 e 100 µg/mL. Apenas o fenantreno no solo predominantemente mineral apresentou aumento da dessorção, para ambos os

surfactantes em suas máximas concentrações (Figura 3.28). Não ocorreu aumento na dessorção do bifenil nos dois solos e do fenantreno no solo orgânico.

Figura 3.28 – Efeito da concentração de Alfonic 810-60 (A) e Novel II 1412-56 (B) na dessorção do fenantreno em um solo predominantemente mineral (Lima)

Fonte: Aronstein *et al.*, 1991

Os solos não foram esterilizados nos ensaios de mineralização, a qual foi aferida pela técnica de respirometria. As concentrações de surfactantes aplicadas foram 1, 10 e 100 µg/ml. Para o fenantreno, a concentração intermediária de surfactante (10 µg/ml) promoveu um aumento significativo da biodegradação para ambos os solos e surfactantes testados, enquanto que a adição de uma concentração superior dos surfactantes causou inibição da mineralização para o solo mineral com ambos os surfactantes aplicados (Figura 3.29 e Figura 3.30).

Figura 3.29 – Efeito da concentração de Alfonic 810-60 na mineralização de fenantreno nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico)

Fonte: Aronstein *et al.*, 1991

Figura 3.30 – Efeito da concentração de Novel II 1412-56 na mineralização de fenantreno nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico)

Fonte: Aronstein *et al.*, 1991

Nos testes com bifenil o estímulo à biodegradação foi bem menos acentuado do que o observado com o fenantreno (Figura 3.31 e Figura 3.32).

Figura 3.31 - Efeito da concentração de Alfonic 810-60 na mineralização de bifenil nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico)

Fonte: Aronstein *et al.*, 1991

Figura 3.32 - Efeito da concentração de Novel II 1412-56 na mineralização de bifenil nos dois solos (Lima/Mineral e Edwards/Orgânico)

Fonte: Aronstein *et al.*, 1991

Dos resultados obtidos concluiu-se que o estímulo à biodegradação não depende do aumento da dessorção e que o aumento tanto da dessorção quanto da biodegradação dependem do tipo de contaminante, de solo e de surfactante (Aronstein *et al.*, 1991).

Deschenes *et al.* (1995) investigaram a dessorção e a biorremediação de um solo contaminado com creosoto proveniente de uma planta de tratamento de madeira após a adição de LSS ou SDS em concentrações abaixo e acima da CMC. Alinhado a pesquisas que demonstraram maior capacidade de degradação dos consórcios microbianos naturalmente adaptados, este estudo utilizou um solo contaminado *in situ*.

Apesar de o creosoto apresentar dezenas de compostos orgânicos, apenas os HPA foram avaliados. A dessorção dos HPA aumentou com a concentração de LSS (Tabela 3.9), porém a degradação diminuiu com a presença do surfactante em relação à degradação natural.

Tabela 3.9 – Concentração (ug/L) de HPA de alto peso molecular na água após a lavagem com LSS

PAH	SDS concentration (%)					
	0 to 0.075 ^a	0.10	0.25	0.50	0.75	1.0
benzo(a)anthracene	ND ^b	29	83	284	1179	4271
chrysene	ND	29	91	328	1300	4020
benzo(b)fluoranthene	ND	28	89	244	838	2490
benzo(k)fluoranthene	ND	21	65	178	634	1946
benzo(a)pyrene	ND	17	60	153	581	1801
indeno(1,2,3-cd)pyrene	ND	6	47	96	272	851
dibenzo(a,h)anthracene	ND	ND	ND	43	ND	343
benzo(g,h,i)perylene	ND	8	46	83	216	708

^a 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.075 % SDS; ^b ND: not detectable (detection limit: 15 µg l⁻¹).

Fonte: Deschenes *et al.*, 1995

Figura 3.33 – Concentrações de HPA no solo contaminado no instante inicial e após duas semanas de tratamento com e sem adição de LSS

Fonte: Deschenes *et al.*, 1995

A inibição observada aparentemente não se deve à toxicidade advinda diretamente do surfactante, uma vez que o mesmo apresentou razoável degradação (Figura 3.34), mas sim da alta dissolução de compostos tóxicos (Deschenes *et al.*, 2009).

Figura 3.34 – Degradação do LSS no solo contaminado

Fonte: Deschenes *et al.*, 1995

Além dos HPA, o creosoto contém outros compostos que conhecidamente são mais tóxicos aos microorganismos do que os HPA, como por exemplo o carbazole. Com isso, entende-se que a escolha de um solo contaminado com creosoto para investigar o efeito da aplicação de um surfactante na biorremediação de HPA não é a mais acertada, pois a dissolução do carbazole pode estar provocando a toxicidade observada.

Bramwell e Laha, em 2000, estudaram a influencia da adição de 4 diferentes surfactantes (Tween 20, TTAB, LSS e Citrikleen) na solubilização e na biodegradação de fenantreno existente em um sistema solo-água e em um sistema somente aquoso, ambos com inoculação de *Pseudomonas aeruginosa*, espécie conhecidamente capaz de degradar fenantreno. Foram adicionadas concentrações de surfactantes que variaram de muito baixa (<0,001%) até muito alta (>>CMC). Os resultados demonstraram que apenas em concentrações muito baixas houve um pequeno aumento na mineralização do fenantreno e em concentrações altas houve inibição da biodegradação. Após investigar a toxicidade dos surfactantes e verificar que os mesmos não apresentam suficiente toxicidade para tal inibição, os autores sugerem que o fator de inibição foi o aumento da concentração de fenantreno na água, solubilizado pelo surfactante.

Margesin e Schinner (1999) avaliaram a biodegradação de óleo diesel em um solo natural à temperatura de 10°C e em um sistema aquoso com e sem a adição de LSS ou SDS a concentrações abaixo da CMC. No solo a biodegradação apresentou-se mais efetiva sem a adição de LSS, sendo progressivamente inibida com concentrações maiores de LSS (Figura 3.35).

Figura 3.35 – Efeito do LSS na degradação de hidrocarbonetos no solo.

Fonte: Margesin, 1999

Adicionalmente foi investigada a biodegradação do surfactante LSS ao longo do tempo e verificou-se que em aproximadamente 15 dias todo o surfactante foi consumido (Figura 3.36).

Neste estudo não foi apresentado um motivo claro para a inibição da biodegradação dos hidrocarbonetos, porém a rápida degradação do surfactante sugere que o mesmo não apresenta toxicidade, podendo a inibição ter ocorrido pela dissolução de compostos mais tóxicos do óleo diesel, ou até mesmo por substituição de substrato. Neste último caso, a biota degrada preferencialmente o substrato mais acessível, reduzindo a degradação do substrato mais difícil.

Figura 3.36 - Biodegradação do LSS no solo

Fonte: Margesin, 1999

A remediação de solo contaminado por PCB (Polychloride Biphenyl) através da lavagem seguida de biorremediação por *Pseudomonas sp.* LB400 foi investigada por Billingsley *et al.* (2002). Investigou-se a solubilização de PCB através da lavagem com agitação (*shaker*) aplicando-se 8 surfactantes diferentes, inclusive o LSS. Posteriormente à solubilização, a solução de PCB foi submetida a um período de incubação de 48h. Os surfactantes não iônicos apresentaram maior capacidade de solubilizar o PCB do que os aniônicos, enquanto os aniônicos estimularam mais a biodegradação do PCB do que os não iônicos (Tabela 3.10).

Tabela 3.10 – Eficiência de remoção e biodegradação de PCB

Surfactant	% PCB removal in soil washing	Starting PCB in degradation test (ng ml ⁻¹)	Amount degraded (ng ml ⁻¹) in				% PCB degradation (48 h) in wash
			6 h	12 h	24 h	48 h	
Hostapur SAS 60	63	4242	1172	1406	2019	2235	52
Nansa LSS38/AS	61	4139	1799	2086	2737	2775	67
Genapol X-080	68	4601	396	612	1342	1733	38
Igepal CO-630	89	6030	892	1322	1624	2063	32
Igepal CO-850	74	5000	936	1253	1471	1652	33
Sorbax PMO-20	82	5538	910	1216	2028	2285	41
Naxchem Dispersant K	77	5220	312	609	593	814	16
Witcomul 3235	36	2456	226	438	754	921	38

Fonte: Billingsley, 2002

Ressalta-se que o surfactante que apresentou maior porcentagem de remoção por biorremediação foi o LSS, sendo sua remoção mais acentuada nas primeiras horas de incubação.

De acordo com Tiehm *et al.* (1997), a inserção de surfactante num sistema de recirculação em coluna proporcionou um aumento significativo na remoção de HPA via solubilização seguida de biodegradação (Figura 3.37).

Figura 3.37 – Concentração de HPA de baixo peso molecular (A) e de alto peso molecular (B) em fase aquosa durante a percolação de 2 x 2,5 mM de Sapogenat T-300.

Fonte: Tiehm *et al.*, 1997

O surfactante foi introduzido no sistema após 200 horas de recirculação e provocou a solubilização dos HPA. Disponibilizados na fase aquosa, os HPAs passaram a ser degradados e consequentemente sua concentração diminuiu.

Ao término da recirculação o solo foi analisado e o resultado da influência da inserção de surfactantes no meio claramente demonstrou sua eficácia na aceleração da remediação do solo contaminado (Figura 3.38).

Figura 3.38 – Comparação do HPA remanescente no solo após a percolação sem surfactante, com 5 mM de Akopal N-300 e 2 x 2,5 mM de Sapogenat T-300.

Fonte: Tiehm, 1997

Cho e Kim (2002) avaliaram a influência da variação de tipo de surfactante, de velocidade de fluxo, de porosidade do solo e da concentração do surfactante aplicado na remoção de óleo lubrificante de motor de um solo contaminado. A saturação inicial dos poros com óleo lubrificante foi de 100%.

Os ensaios realizados em colunas de solo compactados demonstraram que, quanto maior a velocidade e a concentração de surfactante e menor a porosidade do solo, maior é a remoção de óleo (Figura 3.39).

Figura 3.39 – Saturação residual de óleo lubrificante em lavagens com diferentes concentrações de surfactante, velocidade de fluxo e porosidade para (A) SDS e (B) Tween 80.

Fonte: Cho, 2002

Este resultado permitiu aos autores estabelecer um modelo cinético de lavagem; porém, atenta-se para o fato de que as frações de saturação de LNAPL são elevadas, em nível de fase livre e não fase residual.

Estudos similares com saturação residual de óleo inicial de 25% demonstraram exatamente o contrário em relação à velocidade de fluxo.

Duffield e Campanelli (2003) investigaram a lavagem de um solo com diferentes concentrações de surfactante LSS (0; 0,5; 1 e 2 CMC) com duas vazões diferentes (5 e 50 mL/min) e com saturação inicial de NAPL aproximadamente de 25%. Os resultados demonstraram uma tendência clara de aumento da remoção com o uso

de soluções de surfactante para a lavagem com vazão de 50 mL/min (Figura 3.40-B), mas não para a vazão de 5 mL/min (Figura 3.40-A).

Figura 3.40 – Óleo mineral removido na lavagem com varias concentrações de surfactante com vazão de (A) 5 mL/min. e (B) 50 mL/min.

Fonte: Duffield e Campanelli, 2003

Apesar de o acréscimo na concentração de surfactante ter demonstrado influência na remoção somente com vazão de 50 mL/min, a lavagem com vazão menor (5mL/min) apresentou maior capacidade de remoção, mesmo sem a adição de

surfactante, o que é explicado pelo maior tempo de contato e consequente solubilização do NAPL na vazão menor.

Shin e Kim (2003) estudaram a lavagem de um solo contaminado com óleo diesel com dois biosurfactantes (Rhamnolipid e Tween 80) em duas concentrações e duas vazões de lavagem distintas (2 e 5 mL/min). Ao longo do estudo foram avaliadas as concentrações de óleo diesel e de fenantreno. Os resultados do estudo se assemelham aos obtidos por Duffield e Camapanelli (2003), pois o principal fator que influenciou a remoção foi a velocidade de lavagem, sendo removido mais contaminante com a menor velocidade aplicada (Figura 3.41).

Figura 3.41 – Concentração de fenantreno na água efluente da lavagem e eficiência de remoção em função da vazão de lavagem (concentração de Rhamnolipid = 0,5% (w/v))

Fonte: Shin, 2003

A variação de concentração de surfactante (0,3 e 0,5%) não demonstrou influência na remoção dos contaminantes enquanto o tipo de surfactante apresentou influência significativa, sendo o Rhamnolipid o que apresentou melhor remoção dos contaminantes (Figura 3.42).

Figura 3.42 - Concentração de fenantreno na água efluente da lavagem e eficiência de remoção em função do tipo de surfactante (concentração de surfactante = 0,5 % (w/v) e vazão = 2 mL/min).

Fonte: Shin, 2003

A grande influência da vazão de fluxo na remoção obtida na lavagem demonstra que estudos de bancada podem apresentar resultados significativamente diferentes dos verificados em campo. Ressalta-se que em campo, normalmente, os fluxos são menores do que os ensaiados em testes de coluna, o que pode representar resultados melhores em campo do que em testes de coluna para condições de saturação menores (<25%) ou piores em condições de saturação maiores (~100%).

A Tabela 3.11 apresenta um resumo das características principais dos estudos acima apresentados.

Tabela 3.11 – Resumo dos estudos descritos na revisão bibliográfica

Publicação	Estudo	Pesquisadores	Metodo de lavagem	Se em coluna, amostra indeformada ou compactada?	Se em coluna, quantos poros totais?	Se em coluna, qual o grau de saturação de fase separada?	Análises durante ou só no final da lavagem?	Contaminado artificialmente ou contaminação já existente?	Contaminante único ou múltiplo?	Qual (is) contaminante (s)?	Biossurfactante ou surfactante sintético?	Concentração do surfactante abaixo ou acima da CMC?	Metodo de medição da biodegradação?	Condições biológicas do estudo (introdução de cultura específica/solo esterelizado/solo natural - não contaminado/solo com biota adaptada à degradação)	Foram dadas condições de N e P para o crescimento microbiano?	Consequencia da Lavagem com surfactante na remoção	Obserevações	Consequencia na degração com o uso do surfactante?	Observações
Environmental Geochemistry and Health, Outubro de 2003	A biosurfactant-enhanced soil flushing for the removal of phenanthrene and diesel in sand	Kyung-Hee Shin & Kyoung-Woong Kim	Coluna	Solo Compactado	20 - 25 poros totais	~10% de saturação de fase separada (considerando a densidade total do solo a 1,7 g/cm³)	Análises durante a lavagem	Solo Contaminado artificialmente	Único e Múltiplos contaminantes	NAPL (Diesel) / fenantreno	Biossurfactante (Rhamnolipd) / Surfactante sintético (Tween 80)	Acima da CMC (100 x)	X	X	X	Aumento da remoção	Maior remoção quanto menor foi a vazão	X	X
Water, Air, and Soil Pollution, 2003	Surfactant enhanced mobilization of mineral oil within porous media	A. R. Duffield, R. S. Ramamurthy & J. R. Campanelli	Lavagem em Coluna	Solo Compactado	2 poros totais	25% de saturação de fase separada	Análises durante a lavagem	Solo Contaminado artificialmente	Contaminante Único	NAPL (óleo mineral "branco")	Surfactante sintético (Triton X-100)	Abaixo e acima da CMC	X	X	X	Inconclusivo	Maior remoção com vazão menor	X	X
Korean J. Chem. Eng, 2002	Kinetics of in situ Surfactant Soil Flushing at Moderate Washing Conditions	Daechul Cho† and Hyun-Su Kim	Lavagem em Coluna	Solo Compactado	2 poros totais	100% de saturação de fase separada	Análises durante a lavagem	Solo Contaminado artificialmente	Contaminante Único	NAPL ()	Surfactante sintético (LSS ou SDS e Tween 80)	Abaixo e acima da CMC	X	X	X	Aumento da remoção	Maior remoção quanto maior foi a vazão	X	X
Enviromental Sciency Technology, 1997	Surfactant-Enhanced Mobilization and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Manufactured Gas Plant Soil	Andreas Tiehm, Michaels Tieber Peterwerner e Fritz H . Frimmel	Lavagem em coluna	Solo Compactado	~500 poros totais	Não Apresentado	Análises durante a lavagem	Contaminação já existente no solo	Múltiplos contaminantes	PAH	Surfactante sintético	Acima da CMC	Análises químicas	Introdução de cultura específica	Não	Aumento da remoção	X	Aumento da biodegradação para todos PAHs	Os PAHs de menor peso molecular apresentaram maior biodegradação.
Biotechnology Letters, 2002	Remediation of PCBs in soil by surfactant washing and biodegradation in the wash by Pseudomonas sp. LB400	K.A. Billingsley, S.M. Backus, S. Wilson, A. Singh &O.P.Ward	Shaker	X	X	X	Análise apenas no final da lavagem	Contaminado artificialmente	Múltiplos contaminantes	PCB	Surfactantes sintéticos (diversos)	Abaixo e acima da CMC	Análises químicas	Introdução de cultura específica	Não	Aumento da remoção	Apenas para surfactantes iônicos, os aniônicos não apresentaram aumento na remoção	Aumento da biodegradação	Apenas para surfactantes aniônicos, os iônicos não apresentaram estimulação da biodegradação.
Environmental Sciency Technology, 1991	Effect of surfactant at low concentration on the desorption and biodegradation of sorbed aromatic compounds in soil	Boris N. Aronstein, Yolanda M. Calvillo e Martin Alexander	Shaker	X	X	X	Análise apenas no final da lavagem	Solo Contaminado artificialmente	Contaminante Único	Fenantreno e Bifenil	Surfactante Sintético Alfonic 810-60 e Novel 11. 1412-56	Abaixo e acima da CMC	Respirometria	Solo com biota natural mas não adaptada a contaminação	Não	Aumentou dessorção de fenantreno e de Bifenil não	O Aumento da dessorção foi mais significativo para concentrações acima da CMC	Aumento da biodegradação para o fenantreno / Variou entre aumento e inibição para o bifenil	O aumento da degradação para o fenantreno veio em concentrações intermediárias de surfactante e para o bifenil em concentrações altas / Os resultados da diodegradação apresentaram significativa diferença para os dois tipos de solo testados.
Hydrological Sciences Journal, 1995	The effect of an anionic surfactant on the mobilization and biodegradation of PAHs in a creosote-contaminated soil	L. Deschênes; P. Lafrance; J. P. Villeneuve; R. Samsonb	Lixiviação	X	X	X	Análise apenas no final da lavagem	Contaminação já existente no solo	Múltiplos contaminantes	Creosoto (PAH)	Surfactante Sintético / LSS ou SDS	Abaixo e acima da CMC	Análises químicas	Solo com biota naturalmente adaptada a contaminação	Sim	Aumentou a dessorção	Houve aumento em concentrações acima da CMC, observando aumento diretamente proporcional ao aumento de tal concentração.	Houve inibição à concentrações altas de surfactante e não houve inibição para baixas concentrações	Não avaliou-se o motivo da inibição, mas provavelmente ocorreu pela toxicidade de compostos do creosoto, dissolvidos pela ação do surfactante.
Biodegradation, Agosto de 2000	Effects of surfactant addition on the biomineralization and microbial toxicity of phenanthrene	Debbie-Ann P. Bramwell & Shonali Laha	X	X	X	X	X	Solo Contaminado Artificialmente	Contaminante Único	Fenantreno	Surfactantes Sintéticos (Tween 20; LSS ou SDS; TTAB)	Abaixo e acima da CMC	Respirometria	Introdução de cultura específica	Sim	X	X	Houve inibição à concentrações superiores à CMC e não houve nem inibição nem estímulo em concentrações abaixo da CMC	A inibição observada foi decorrente da toxicidade do composto solubilizado e não do surfactante em si
Chemospher, 1999	Biodegradation of diesel oil by cold-adapted microorganisms im presence of sodium dodecyl silfate	R. Margesin and F. Schinner	X	X	X	X	X	Solo Contaminado Artificialmente	Múltiplos contaminantes	Óleo Diesel	Surfactante Sintético (LSS ou SDS)	Abaixo do CMC	Análises químicas	Introdução de cultura específica na sistema aquoso / solo natural (não contaminado)	Sim (100:10:2)	X	X	Houve inibição da biodegradação quanto maior foi a concentração de surfactante aplicada.	Não houve estudo sobre os motivos da inibição.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A investigação experimental deste trabalho consistiu na realização de ensaios de lavagem, com surfactante (LSS ou SDS), de amostras indeformadas de solo coletadas em área contaminada com óleo diesel, seguidos de ensaios de respirometria para avaliar a biodegradação, além de ensaios de respirometria em amostras indeformadas não submetidas a ensaios prévios de lavagem. Procurou-se avaliar o efeito da lavagem na remoção do contaminante (HPA) e sua influência na posterior biodegradação. O método utilizado visou simular as condições naturais de degradação, preservando a biota já desenvolvida no ambiente contaminado.

4.1 Coleta de Amostras em Campo

A coleta das amostras foi planejada para ser realizada em um ponto do terreno reconhecidamente contaminado por óleo diesel, a 1,5 m de profundidade, correspondente à metade da espessura da camada superficial de 3 m de solo usualmente considerada nas análises de risco.

Foram coletadas amostras indeformadas para determinação das características geotécnicas e para a realização dos testes de lavagem de solo, e amostras deformadas para análise química do solo.

Para garantir que as amostras representassem o ponto selecionado, decidiu-se executar 5 furos de sondagem dentro de uma área circular de 1 metro de raio, retirando-se de cada furo 1 amostra deformada e 5 amostras indeformadas de 5 cm de altura cada, totalizando assim 5 amostras deformadas e 25 amostras indeformadas.

As amostras de solo foram coletadas em junho de 2009 nos 5 furos de sondagens (SS-01; 02; 03; 04 e 05) a profundidades que variaram entre 1,7 e 2,0 m, dada a impossibilidade mecânica de coleta de amostra indeformada na profundidade de 1,5 m devida à presença de pedregulhos. O método de sondagem foi o de trado helicoidal manual de 2 polegadas de diâmetro.

A coleta de amostras indeformadas foi realizada com o trado para amostragem indeformada da SONDATERRA® (Figura 4.1 e Figura 4.2). As amostras foram coletadas em anéis metálicos de 50 mm de diâmetro por 53 mm de comprimento (Figura 4.3). Para garantir vedação e consequente manutenção da umidade e dos contaminantes, as amostras foram envolvidas com filme plástico, parafina e papel alumínio. Após a coleta, todas as amostras foram mantidas em recipiente com gelo ou refrigerador, para que sua temperatura se mantivesse abaixo dos 4°C.

Para a coleta de amostras deformadas foi utilizado um amostrador tubular aberto de 1,00 metro de comprimento e 2" de diâmetro com *liner* descartável. Assim que coletado, o solo foi transferido do *liner* para frascos de vidro com vedação em teflon e então transportado para o laboratório em recipiente térmico resfriado à temperatura máxima de 4°C.

Figura 4.1 – Trado para amostra indeformada da SONDATERRA®

Figura 4.2 – Trado para coleta de amostra indeformada em utilização

Figura 4.3 – Amostra indeformada

4.2 Análises Preliminares

Logo após a coleta do solo nos 5 furos de sondagem as amostras deformadas foram analisadas para parâmetros de contaminação e geotécnicos.

4.2.1 Contaminação

Logo após a coleta em campo, as amostras deformadas dos 5 pontos de sondagem foram submetidas às análises de HTP Fracionado (USEPA 8260B e 8015C) e HPA (USEPA 8270D).

4.2.2 Geotécnica

Uma das 5 amostras indeformadas coletadas no ponto de sondagem SS-02 foi submetida a análises geotécnicas: f_{oc} (fração de carbono orgânico) ou COT (carbono orgânico total) do solo, matéria orgânica, densidade de partículas, densidade do solo, porosidade efetiva, porosidade total, condutividade elétrica, condutividade hidráulica, umidade natural, água disponível, conteúdo de água, pH (H_2O), pH (KCl), pH ($CaCl_2$) e granulometria, segundo os métodos de Kiehl (1979) e Embrapa (1999).

Outras duas amostras indeformadas coletadas no SS-02 foram submetidas às análises de condutividade hidráulica, porosidade efetiva e total, e granulométrica.

4.2.3 Quantificação do grau de saturação de óleo diesel no solo

Para obter-se a massa de TPH total por quilograma de solo foram somados os resultados das diferentes frações de TPH medidas. Com a massa total de TPH e a densidade média do TPH, $0,8376 \text{ g/cm}^3$, determinou-se o volume de óleo diesel existente em 1 kg de solo para as 5 amostras analisadas. Como o solo apresentou $1,64 \text{ g/cm}^3$ de densidade e porosidade de 0,25, tem-se que 1 kg de solo corresponde a um volume de 609,8 mL e, portanto, a um volume de vazios de 152,4 mL. Assim, dividindo-se o volume de óleo diesel existente pelo volume de vazios obteve-se o percentual de saturação de óleo diesel no solo.

4.3 Organização da Investigação Laboratorial

Como o solo se mostrou consideravelmente heterogêneo tanto na observação de campo durante a execução das sondagens, como nos resultados das análises geotécnicas preliminares, decidiu-se organizar a investigação laboratorial de maneira a reduzir a influência da heterogeneidade.

Dezesseis amostras indeformadas, coletadas em 4 furos de sondagem, foram separadas em 4 grupos, cada qual relacionado a uma condição de lavagem. Cada grupo foi composto por 4 amostras, sendo cada amostra proveniente de um furo de sondagem. Assim, cada condição de lavagem foi testada 4 vezes, ou seja, foram realizados 4 ensaios para cada condição de lavagem, utilizando-se uma amostra de cada furo de sondagem. Procurou-se evitar assim que alguma característica intrínseca a um dos pontos de sondagem interferisse na interpretação dos resultados dos ensaios de lavagem.

Ao término dos ensaios de lavagem foi coletada uma alíquota de cada amostra para determinar a concentração de HPA. O solo restante das amostras de um mesmo grupo foi misturado e submetido ao ensaio respirométrico, em triplicata.

Realizaram-se também ensaios de respirometria com uma mistura de 4 amostras indeformadas provenientes das sondagens SS-01, 03, 04 e 05 (neste caso, o solo contaminado não sofreu o processo de lavagem) e com uma mistura de solo não contaminado e sem lavagem coletado nas sondagens SS-31 e 32, que serviu de controle para a respirometria.

4.4 Lavagem

Ensaio de lavagem foram realizados com amostras indeformadas coletadas nos pontos de sondagem SS-01, 03, 04 e 05. A lavagem foi realizada em ensaios de coluna com quatro fluidos percolantes: água deionizada e três soluções de LSS em água deionizada em diferentes concentrações.

O surfactante utilizado foi o LSS ou SDS tipo USP da marca Cinética (Anexo I – Foto 1). Este surfactante apresenta grau de pureza de pelo menos 90%, o que não representa um alto grau de pureza. A escolha de um produto com baixo grau de

pureza visou avaliar o impacto da lavagem do solo com um produto o mais próximo possível da realidade de aplicação, uma vez que em uma lavagem *in situ* o uso de um produto com alto grau de pureza se tornaria financeiramente proibitivo.

As concentrações utilizadas foram de 0 CMC (apenas água deionizada), 0,6 CMC, 1,5 CMC e 3 CMC. A concentração micelar crítica do LSS considerada foi de 0,0082 M, ou seja, 2,36 g/L (Rose, 2008).

4.4.1 Procedimento

O teste de coluna foi realizado com fluxo ascendente, carga constante e em sistema fechado, para evitar perdas por volatilização.

O equipamento para os ensaios de lavagem foi desenvolvido especialmente para esta pesquisa. O sistema de lavagem foi composto por três partes principais: reservatório para a solução de lavagem, célula de fluxo e recipiente para coleta do efluente.

O reservatório para a solução de lavagem consistiu de uma bureta com um tubo de Mariotte adaptado (Figura 4.4) para que a carga hidráulica na bureta se mantivesse constante. Da bureta a solução foi transferida para a célula de fluxo por mangueiras de PEBD (Polietileno de Baixa Densidade) (Anexo I – Foto 2).

Figura 4.4 – Bureta com tubo de mariotte adaptado

O anel metálico de amostragem foi utilizado como o corpo principal da célula de fluxo, evitando assim qualquer interferência na estrutura da amostra. Para proporcionar uma melhor distribuição do fluxo de entrada, pedras porosas de diâmetro igual ao do anel de amostragem (Anexo I – Foto 3) foram acopladas às amostras por meio de fitas de teflon (Anexo I – Foto 4). Colocou-se um disco de papel filtro de 45 μm entre a pedra porosa e a amostra, e também na parte superior da amostra. Ressalta-se que para evitar qualquer tipo de contaminação cruzada, foram utilizadas pedras porosas diferentes para a lavagem de cada amostra.

A célula de fluxo é composta pelo corpo central constituído pelo anel metálico da amostragem, por dois funis de vidro (Anexo I – Foto 5 e Figura 4.6) e dois anéis de teflon (Anexo I – Foto 6) acoplados para direcionar o fluxo da solução para o corpo principal da célula, e de uma estrutura para unir essas peças. Essa estrutura é constituída por um par de peças de madeira de seção circular vazada, formando o topo e a base da célula, unidas por parafusos tipo rosca sem fim nas quatro

extremidades (Figura 4.5). Uma figura da célula de fluxo montada está apresentada na Figura 4.6.

Figura 4.5 – Estrutura da célula de fluxo

Figura 4.6 – Célula de fluxo montada

Foi confeccionado um suporte de madeira para apoiar até 4 células de fluxo, permitindo a realização de 4 ensaios de lavagem simultâneos (Figura 4.7).

Figura 4.7 – Suporte de apoio das células de fluxo

Por fim, a solução foi direcionada da parte superior da célula de fluxo até um kitassato de 250 ml (Anexo I – Foto 7), também através de mangueira de PEBD. Para evitar a perda de contaminante por volatilização, o sistema foi fechado através da conexão entre a parte superior do kitassato, vedado com uma rolha de borracha (Anexo I – Foto 8), ao topo do tubo de Mariotte por uma mangueira de PEBD. Utilizou-se fita de teflon para garantir a vedação da mangueira de PEBD no contato com o vidro do tubo de Mariotte no topo da bureta. Para a conexão entre a mangueira e o kitassato, foram utilizados pequenos pedaços de mangueira de silicone (Anexo I – Foto 9).

Tendo em vista que os HPA podem ser fotodegradados, durante a realização da lavagem, as partes do sistema a jusante da célula de fluxo foram cobertas com papel alumínio (Figura 4.8).

Figura 4.8 – Cobertura do sistema com alumínio e a carga hidráulica aplicada

Durante a realização da lavagem o ambiente foi mantido em temperatura constante de 20°C através de um ar condicionado digital (Anexo I – Foto 10).

O ensaio de lavagem iniciou-se com a limpeza dos equipamentos (vidrarias) com detergente neutro (Anexo I – Foto 11), enxágue com água deionizada seguida de uma lavagem com diclorometano (Anexo I – Foto 12) e novamente enxágue com água deionizada.

As soluções de LSS utilizadas nas lavagens foram preparadas através da mistura direta do LSS devidamente pesado (Anexo I – Foto 13) com água deionizada e armazenadas em balões volumétricos de 1 L (Anexo I – Foto 14) a 20°C.

Com os materiais limpos e as soluções preparadas, retirou-se a amostra do refrigerador (Anexo I – Foto 15) e abriu-se a vedação realizada em campo.

Antes da montagem da célula de fluxo, a pedra porosa foi submetida à saturação através de um fluxo ascendente de água deionizada, com carga de

aproximadamente 3 cm de coluna d'água. A amostra foi então colocada entre uma pedra porosa (na sua base) e um papel filtro (no topo), formando assim o corpo principal da célula de fluxo. A seguir, também para evitar o acúmulo de ar no sistema, com o papel filtro já posicionado sobre a pedra porosa, a mangueira e o funil inferior da célula de fluxo foram preenchidos com a solução de lavagem.

Uma vez montado o sistema de lavagem, a bureta foi posicionada de forma que o tubo de Mariotte ficasse apenas 1 cm acima do nível superior da amostra. Nesta posição, a bureta foi aberta e aguardou-se o preenchimento da parte superior da amostra. Em média este processo de saturação durou 10 horas.

Terminado o processo de saturação da amostra, a parte superior da célula de fluxo e a mangueira que conecta a célula de fluxo e o kitassato foram preenchidas com a mesma solução da lavagem. Então a bureta foi reposicionada a 20 cm acima da entrada do kitassato, formando assim uma diferença de carga hidráulica de 20 cm (Figura 4.8).

Uma vez iniciado, o processo de lavagem somente foi interrompido quando apresentava risco de ultrapassar o volume meta durante a noite ou fim de semana, períodos em que não era possível acompanhar o ensaio.

Considerando-se as porosidades médias totais e efetivas das 3 amostras indeformadas analisadas (Tabela 4.1), todas as amostras lavadas foram submetidas à passagem de um volume de aproximadamente 3 poros totais ou 34 poros efetivos.

Tabela 4.1 – Porosidades totais e efetivas

	Amostra 01	Amostra 02	Amostra 03 (amostra avaliada na época da sondagem)
Porosidade Total %	30,2	39,0	25,0
Porosidade Efetiva %	2,5	1,7	4,0

Após a lavagem, a amostra era retirada da célula de fluxo. Toda a água existente na parte superior e inferior da célula de fluxo e mangueiras, a montante e jusante da lavagem, assim como a acumulada no kitassato, foi coletada e enviada para análise de HPA (USEPA 8270D), em frasco âmbar de 500 mL (Anexo I – Foto 16). A água

coletada nos casos de necessidade de readequação da vedação foi adicionada à coleta final. Antes de enviar a amostra para a análise de HPA, mediu-se o volume de água coletada em provetas de 200 mL.

Logo após a abertura da célula de fluxo, a amostra indeformada de solo foi mantida na posição horizontal para evitar a drenagem da água existente no seu interior e pesada ainda com o anel de coleta, o qual foi então removido, limpo, seco e pesado. Assim que retirada a amostra do anel metálico, coletou-se um torrão, o qual foi pesado e encaminhado para a estufa (Anexo I – Foto 17) por pelo menos 20 horas. Logo que retirado da estufa, o torrão de solo foi resfriado em um dessecador (Anexo I – Foto 18) por pelo menos 10 minutos e, então, novamente pesado.

Após a coleta do torrão, o restante da amostra de solo foi rapidamente homogeneizado e dividido em dois frascos (Figura 4.9), um com aproximadamente 30 gramas e que foi encaminhado para análise de HPA (USEPA 8270D) e o outro armazenou o restante do solo para os ensaios de respirometria.

Figura 4.9 – Frascos de coleta do solo da lavagem

Uma vez terminada a lavagem dos 4 grupos de amostras, correspondentes às 4 soluções pesquisadas, aproximadamente 70g de solo de cada uma das amostras (Figura 4.10) foram misturados com as amostras do mesmo grupo (Figura 4.11) e então armazenados (Figura 4.12).

Figura 4.10 – Solo logo antes da mistura após a lavagem

Figura 4.11 – Solo misturado após as lavagens

Figura 4.12 – Armazenamento do solo misturado após as lavagens

4.4.2 Quantificação de HPA extraído por lavagem

Para cada contaminante e cada ensaio foi realizado um balanço de massa para avaliar a porcentagem de HPA extraído pela lavagem, segundo as Equações 10 e 11. Para realizar este balanço utilizaram-se as concentrações de HPA no solo e na água após a lavagem, o volume de água utilizado na lavagem e o peso de solo da amostra.

$$M_{ic} = M_s * C_s * V_a * C_a \quad \text{Equação 10}$$

Sendo:

M_{ic} = Massa inicial de um dado composto na amostra (ug);

M_s = Massa de solo da amostra em base seca (g);

C_s = Concentração de um dado composto no solo (ug/g);

V_a = Volume de água utilizada na lavagem (litro);

C_a = Concentração de um dado composto na água (ug/litro);

$$P_R = V_a * C_a / M_{ic}$$

Equação 11

Sendo:

P_R = Percentual Removido;

Devido à variação de procedimento (mudança no volume de solvente para extração) por parte do laboratório que realizou as análises de HPA, os limites de quantificação diferiram entre as amostras, o que dificultou a interpretação dos resultados.

4.5 Respirometria

O método de respirometria realizado teve como base a NBR 14.283/1999, porém, com algumas modificações apresentadas a seguir.

Foram realizados ensaios respirométricos para cada mistura de amostras submetidas à lavagem com mesma concentração de LSS, portanto, com 4 misturas de solos lavados; para uma amostra proveniente da mistura de amostras coletadas nas sondagens SS-01, 03, 04 e 05 (Figura 4.13), que se apresentavam contaminadas, mas que não sofreram o processo de lavagem; e também para uma mistura de solo não contaminado e sem lavagem que foi coletado nas sondagens SS-31 e 32 e que serviu de controle para a respirometria (Figura 4.14). Portanto, a respirometria foi realizada em 6 amostras, incluindo o controle (solo não contaminado).

Tendo em vista a aparência esbranquiçada da amostra SS-32, apesar de todas as descrições geológicas não terem reportado presença de carbonato de cálcio na área, adicionou-se HCl 0,2N à amostra para verificar se ela continha esse composto, o qual poderia gerar uma elevada produção de CO_2 . O teste não provocou o desprendimento de bolhas, o que indica que a descrição geológica estava correta.

Figura 4.13 – Mistura do solo contaminado sem lavagem (SS-01, 03, 04 e 05)

Figura 4.14 – Mistura do solo não contaminado sem lavagem – Controle (SS-31 e 32)

4.5.1 Procedimento

Após a homogeneização de cada amostra, uma alíquota foi enviada para análise de Nitrogênio Kjeldahl Total (SM 4500 B e C), Fósforo Total (USEPA 6010C), COT (Embrapa 1999) e umidade (Embrapa 1999). Com os resultados dessas análises, avaliou-se a necessidade de balanceamento da relação C:N e C:P, que para o método respirométrico aplicado foi de 60 e 300, respectivamente, além da necessidade de adição de água. Os resultados mostraram que o solo apresenta fósforo em abundância, mas necessitou de adição de nitrogênio e água. A correção de nitrogênio foi realizada através da adição de Sulfato Amônio PA da marca Cinética (Anexo I – Foto 19) em solução na água destilada adicionada.

Cada uma das 6 amostras foi dividida de 3 amostras de 50 g de solo seco cada (triplicatas). Como o solo não poderia ser aquecido, o estabelecimento da massa de solo úmido correspondente a 50 g de solo seco foi definida com base nos resultados de umidade determinados anteriormente.

As amostras de solo contaminado apresentavam-se com umidade próxima da saturação, conclusão obtida pela comparação entre o volume de poros calculado de 152,4 mL/Kg de solo e a umidade em % em massa observada para cada amostra (Tabela 4.2). Considerando-se que a NBR 14.283/1999 estabelece que a umidade deve ficar entre 50 e 70% da capacidade de campo, o que significa uma umidade significativamente menor do que a já observada nas amostras, arbitrariamente escolheu-se corrigir a umidade das amostras para 30% em massa, uma vez que era necessário adicionar uma solução às amostras e não seria possível secar as amostras, pois as mesmas perderiam os contaminantes existentes.

Ressalta-se que na norma o contaminante é adicionado após a secagem do solo e correção da sua umidade. No entanto, este trabalho visa avaliar a biodegradação da biota previamente existente, impossibilitando assim a secagem do solo.

Os resultados de umidade, massa de solo úmido e concentrações de nitrogênio, fósforo e COT, assim como a quantidade de nitrogênio e água adicionados para se atingir 30% de umidade e a relação C:N desejada em cada amostra estão apresentados na Tabela 4.2. Além do N e P adicionados à água, para os

respirômetros lavados com surfactante, foi adicionado surfactante na água para manter a concentração de surfactante.

Tabela 4.2 – Correção de nutrientes e umidade das amostras utilizadas na respirometria

	SNC	SCNA	0 CMC	0,6 CMC	1,5 CMC	3 CMC
Umidade (%) (m de água/m solo seco)	2,6	15,2	16,3	18,0	17,7	16,7
Massa de solo Umido Natura de cada amostra (Medida) g	51,3	57,6	58,1	59,0	58,8	58,4
COT (%) (m de Carbono/m solo seco)	0,5	1,6	1,5	1,8	1,3	1,5
Concentração de Nitrogenio Kjeldal medida no solo (m de N/m solo seco) (mg/kg)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Concentração de Fosforo Total medida no solo (m de fósforo/m de solo seco) (mg/kg)	683,9	699,1	800,4	671,2	750,1	574,6
Volume de água a ser adicionada ml	13,7	7,4	6,9	6,0	6,2	6,6
Concentração de Sulfato de Amonio na água a ser adicionada (g/litro)	1,5	8,2	8,5	11,9	8,5	9,1

Uma vez preparadas, as 18 amostras foram colocadas nos seus respectivos respirômetros vedados com fita de teflon e silicone (Figura 4.15). A montagem do respirômetro foi realizada conforme determina a NBR 14.283/1999, exceto pela utilização de cal sodada em substituição à ascarita, devido à não regulamentação da ascarita por parte da ANVISA. Esta substituição vem sendo utilizada com bons resultados por outros pesquisadores (Coraucchi *et al.*, 1997).

A preparação dos reagentes necessários à operacionalização dos testes foi realizada de acordo com o estabelecido na NBR 14.283/1999. O método respirométrico utilizado consistiu em adicionar 10 mL de KOH 0,2N ao respirômetro para reagir com o CO₂ produzido durante a incubação a 20°C (Figura 4.16), temperatura inferior à definida pela norma, mas que representa mais fielmente as condições de degradação em subsuperfície.

Figura 4.15 – Respirômetro

Figura 4.16 – Incubador a 20°C

A cada período de uma semana em incubação os respirômetros foram retirados do incubador um a um, para minimizar o tempo exposto a temperatura superior a 20°C. Coletou-se o KOH para titulação com HCl 0,1N e então determinou-se a quantidade de CO₂ produzida no respirômetro.

Este procedimento se manteve até a 8ª semana de incubação, quando se encerrou o período de incubação previsto. Decidiu-se investigar se o comportamento anômalo observado nas duas primeiras semanas de incubação se repetiria caso fossem adicionados 5 mL de água com as respectivas concentrações de surfactante a todos os respirômetros.

4.5.2 Quantificação da geração de gás carbônico

A produção de CO₂ foi avaliada semanalmente para permitir a visualização do desenvolvimento da biodegradação ao longo do tempo.

O HCl utilizado na titulação foi padronizado contra carbonato de cálcio (padrão primário) e seu fator de padronização foi considerado nos cálculos que determinaram a quantidade de CO₂ produzida nos respirômetros.

Na reação entre o KOH e CO₂, cada molécula de CO₂ consome duas moléculas de KOH:

Na reação entre o KOH e o HCl que ocorre durante a titulação, a relação entre consumo de HCl e KOH é de um para um:

Portanto, para cada duas moléculas de HCl não consumidas na titulação (diferença entre o titulado em um dado respirômetro e o titulado no branco) existe uma molécula de CO₂ produzida no respirômetro.

O cálculo da quantidade de mols de CO₂ produzido em um determinado respirômetro, tendo como base os volume de HCl utilizado na titulação, foi realizado conforme a Equação 14.

$$\text{Mols de CO}_2/50\text{g de solo seco} = (A-B) * M * f_{\text{HCl}} * (1000 * 2) \quad \text{Equação 14}$$

Sendo:

A = o volume de HCl gasto para titular o branco, em mililitro;

B = o volume de HCl gasto para titular o respirômetro a ser avaliado, em mililitro;

M = molaridade teórica do HCl;

f_{HCl} = fator de padronização do HCl (volume de Na₂CO₃ 0,1N / volume de HCl 0,1N);

1000 = correção do volume da solução HCl de mililitro para litro;

2 = relação entre número de moléculas de HCl titulado e CO₂ produzido.

Calculando-se o número de moléculas de CO₂ produzidas em cada respirômetro e dele subtraindo o número de moléculas de CO₂ produzidas no controle foi possível determinar quantos mols de CO₂ foram produzidos pela biodegradação do óleo diesel. De acordo com a norma aplicada, a quantidade de C degradada pela biota é o dobro da quantidade de C produzida em forma de CO₂, sendo que a outra parte do carbono degradado fica retida como massa celular resultante do crescimento dos microorganismos (NBR 14.283/1999), ou seja, a quantidade C biodegradada é duas vezes a quantidade de CO₂ produzida.

Como foram realizadas análises de COT antes do início da respirometria para cada uma das 6 amostras iniciais, pode-se correlacionar a taxa de biodegradação e o carbono inicial proveniente da contaminação. Para determinar a quantidade de carbono referente à contaminação nas amostras de campo, descontou-se a quantidade de carbono existente no solo não contaminado e adicionou-se a massa adicionada na correção de nutriente do solo (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 – Massa de carbono existente nas amostras

	Solo não Contaminado	SCNA	0 CMC	0,6 CMC	1,5 CMC	3 CMC
COT (%) (m de Carbono/m solo seco)	0,53	1,55	1,48	1,82	1,34	1,53
Massa de carbono existente em cada amostra de 50 mg após a lavagem (mg)	265	775	740	910	670	765
Massa de carbono referente à contaminação por óleo diesel e pelo LSS em cada amostra de 50g após a lavagem (mg)	-	510	475	645	405	500
Massa de carbono referente ao LSS adicionado na correção de nutriente do solo (mg)	0	0	0	9	22	47
Massa de carbono referente à contaminação por óleo diesel e pelo LSS em cada amostra de 50g no início da respirometria (mg)	0	510	475	654	427	547

A verificação da existência de correlação entre biodegradação e massa inicial de carbono é importante, pois a taxa de produção de CO₂ pode ser influenciada pela massa inicial de C e não apenas pelas condições de interesse do experimento.

Como as titulações foram realizadas com diferença de algumas horas de uma semana para outra, os resultados foram calculados de forma a expressar a biodegradação em mg/dia e em massa acumulada.

Nos respirômetros lavados com surfactante, a massa de carbono biodegradada considerada (com o desconto do controle) tem duas possíveis origens: os hidrocarbonetos provenientes do óleo diesel e o próprio surfactante. A análise dos resultados considerou a possível degradação do surfactante inserido, no início e na 8ª semana de incubação.

A análise dos dados foi realizada de forma estatística, considerando como variação um intervalo de confiança de 90%, tendo como base a variação dos resultados dos três respirômetros de cada grupo.

5 RESULTADOS

5.1 Preliminares

Amostras deformadas dos 5 pontos de sondagem foram submetidas às análises de HTP Fracionado (USEPA 8260B e 8015C) e HPA (USEPA 8270D).

Pode-se observar significativa heterogeneidade nas concentrações medidas e das características geotécnicas (Tabela 5.2 e Tabela 5.3), o que determinou o método de cruzamento das amostras para os ensaios de lavagem e respirometria, conforme no capítulo 4.3.

Considerando o método exposto no item 4.2.3, foi calculado o percentual de saturação de óleo diesel nos 5 furos de sondagem (Tabela 5.1 e Tabela 5.3).

Tabela 5.1 – Calculo do percentual de saturação do óleo diesel no solo

	Unidade	SS-01	SS-02	SS-03	SS-04	SS-05
Volume de óleo Diesel	ml/Kg	6,2	19,3	3,2	40,6	50,6
Percentual de Saturação de Óleo diesel no solo	v/v	4,0%	12,7%	2,1%	26,6%	33,2%

Tabela 5.2 – Dados geotécnicos do solo estudado

	Amostra 01	Amostra 02	Amostra 03 (amostra avaliada na época da sondagem)
Porosidade Total %	30,2	39,0	25,0
Porosidade Efetiva %	2,5	1,7	4,0
Condutividade Hidráulica (cm/h)	0,3	1,7	0,3
Argila %	11,3	28,0	15,6
Silte %	20,8	4,5	25,5
Cascalho %	2,1	3,1	18,2
Areia Muito Grossa %	6,1	5,7	
Areia Grossa %	15,5	13,9	
Areia Média %	17,0	16,3	12,5
Areia Fina %	6,1	15,1	28,2
Areia Muito Fina %	20,9	13,1	

Tabela 5.3 – Concentração de TPH e de HPA nas amostras deformadas coletadas nos 5 furos de sondagem estudados

Composto	Unidade	SS-01	SS-02	SS-03	SS-04	SS-05
HPA						
Naftaleno	µg/Kg	2.669	792	657	2.465	3.946
Acenaftileno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Acenafteno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Fluoreno	µg/Kg	1.093	454	504	2.359	1.801
Fenantreno	µg/Kg	2.604	726	829	2.486	3.166
Antraceno	µg/Kg	572	139	149	545	642
Fluoranteno	µg/Kg	241	130	60	321	349
Pireno	µg/Kg	464	148	95	432	554
Benz(a)antraceno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Criseno	µg/Kg	341	<38,31	<37,88	355	517
Benzo(b)fluoranteno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Benzo(k)fluoranteno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Benzo(a)pireno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Indeno(1,2,3-cd)pireno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Dibenzo(a,h)antraceno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
Benzo(g,h,i)perileno	µg/Kg	<38,31	<38,31	<37,88	<39,22	<92,59
HPA Total (2)	µg/Kg	6.425	1.787	1.694	6.171	8.620
HTPH						
Aromaticos > C8-C10	µg/Kg	2.724	1.877	241	2.011	2.059
Aromaticos > C10-C12	µg/Kg	89.912	56.379	42.448	174.039	120.857
Aromaticos > C12-C16	µg/Kg	371.817	204.035	283.450	1.308.780	791.352
Aromaticos > C16-C21	µg/Kg	549.205	245.874	460.472	1.451.494	958.454
Aromaticos > C21-C32	µg/Kg	651.689	152.153	399.178	1.195.388	695.185
Alifáticos C6-C8	µg/Kg	1.508	<1149,4	128	1.114	1.076
Alifáticos > C8-C10	µg/Kg	39.712	27.751	3.570	28.684	11.982
Alifáticos > C10-C12	µg/Kg	182.931	1.796.616	49.418	2.455.802	4.611.207
Alifáticos > C12-C16	µg/Kg	1.035.617	7.117.935	563.015	13.412.594	19.308.892
Alifáticos > C16-C21	µg/Kg	1.132.945	5.145.888	731.036	10.971.759	15.412.660
Alifáticos > C21-C32	µg/Kg	1.107.282	1.458.206	176.495	2.963.628	484.183
HTP Total (soma das faixas)	µg/Kg	5.165.342	16.206.714	2.709.452	33.965.295	42.397.905

5.2 Lavagem

A realização do procedimento de lavagem teve por objetivo principal simular o procedimento em campo e com isso promover os possíveis impactos em uma posterior biorremediação. Porém, adicionalmente, foram realizadas análises de HPA no solo e na água, o que permitiu avaliar a capacidade de remoção dos HPA em fase residual através da lavagem.

Os resultados das análises de solo após a lavagem estão apresentados na Tabela 5.4 e demonstram significativa variação entre amostras de diferentes furos de sondagens e até mesmo entre as amostras de um mesmo furo de sondagem. Observa-se que não foram identificados compostos em diversas amostras de solo em limites detectáveis pela técnica analítica.

Calculando-se o percentual de remoção dos HPA através da lavagem segundo a Equação 11, que considera tanto os resultados de concentração no solo quanto os resultados de concentração na água proveniente da lavagem do solo (Tabela 5.5), obtiveram-se os percentuais de remoção apresentados na Tabela 5.6. Os vazios na tabela correspondem aos casos em que não foi identificado o composto na análise de solo. Os percentuais que são precedidos do sinal “<” significam que foi detectado o composto no solo, porém sua concentração na água ficou abaixo do limite de quantificação da técnica analítica, ou seja, calculou-se o limite máximo de remoção. Enquanto que o percentual precedido de “>” significa que foi detectado composto na água, porém não foi detectado no solo, estabelecendo-se assim, um limite inferior do percentual de remoção.

A lavagem realizada não promoveu a remoção de 13 dos 16 compostos estudados e removeu pouco significativamente o naftaleno e o fenantreno. A remoção desses dois compostos ocorreu principalmente na lavagem com concentração de surfactante de 3 CMC. O fluoreno de uma das amostras lavadas com 3 CMC apresentou remoção mínima de 7,6%. Apesar da aparente relação entre a remoção e a concentração de surfactante, não pode-se correlacionar o percentual de remoção com a variação da concentração de LSS de forma consistente.

Tabela 5.4 – Resultados de HPA do solo logo após o termino da lavagem

		0 CMC				0,6 CMC				1,5 CMC				3 CMC			
		SS-01/1	SS-03/2	SS-04/3	SS-05/4	SS-01/2	SS-03/3	SS-04/4	SS-05/1	SS-01/3	SS-03/4	SS-04/1	SS-05/2	SS-01/4	SS-03/1	SS-04/2	SS-05/3
Massa de solo em base umida	Kg	0,19654	0,19141	Amostra perdida por ressecamento durante o período dearmazenamento	0,20587	0,202	0,19019	0,18783	0,17797	0,19915	0,21709	0,19161	Amostra perdida por ressecamento durante o período dearmazenamento	0,19367	0,1951	0,18289	0,18581
Naftaleno	µg/Kg	1409,2	141,9		5119,2	2637,4	48,08	1679,4	3939,2	1000,1	< 12,17	746,1		2404	470,5	279,8	3038,8
Acenaftileno	µg/Kg	< 11,59	34,83		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	< 12,17	<11,78		<11,52	<11,64	<12,02	< 248,1
Acenafteno	µg/Kg	< 11,59	76,27		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	32,24	<11,78		<11,52	<11,64	<12,02	< 248,1
Fluoreno	µg/Kg	3960,7	93,02		679,4	1157,6	145,4	1387,9	2822,3	771,6	70,95	<11,78		<11,52	<11,64	<12,02	3321,1
Fenantreno	µg/Kg	5235,3	147,5		2088,1	3264,5	296,1	3480,8	6830,9	2574,8	102,3	177,5		500,3	300,1	218,4	6067,5
Antraceno	µg/Kg	732,3	< 11,95		211,7	907,4	< 12,38	< 121,7	2303,7	666	29,23	<11,78		<11,52	<11,64	<12,02	< 248,1
Fluoranteno	µg/Kg	603,7	< 11,95		227,1	170,7	< 12,38	219,7	512,4	131,2	50,19	29,91		50,11	23,14	39,43	522
Pireno	µg/Kg	1043,8	< 11,95		338,1	454,1	15,76	305,4	854,9	361,8	65,46	48,82		85,72	18,95	38,6	756,8
Benz(a)antraceno	µg/Kg	< 11,59	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	< 12,17	<11,78		<11,52	<11,64	<12,02	< 248,1
Criseno	µg/Kg	< 11,59	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	< 12,17	50,56		<11,52	59,12	163,2	< 248,1
Benzo(b)fluoranteno	µg/Kg	< 11,59	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	< 12,17	24,03		<11,52	<11,64	<12,02	< 248,1
Benzo(k)fluoranteno	µg/Kg	< 11,59	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	13,05	<11,78		22,64	<11,64	17,83	< 248,1
Benzo(a)pireno	µg/Kg	22,69	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	31,15	<11,78		19,39	<11,64	<12,02	< 248,1
Indeno(1,2,3-cd)pireno	µg/Kg	< 11,59	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	< 12,17	<11,78		<11,52	<11,64	<12,02	< 248,1
Dibenzo(a,h)antraceno	µg/Kg	< 11,59	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	< 12,17	<11,78		15,79	<11,64	<12,02	< 248,1
Benzo(g,h,i)perileno	µg/Kg	< 11,59	< 11,95		< 26,74	< 115,2	< 12,38	< 121,7	< 245,7	< 114,5	< 12,17	<11,78		<11,52	<11,64	<12,02	< 248,1

Tabela 5.5 – Resultados de HPA da água proveniente da lavagem do solo.

		0 CMC				0,6 CMC				1,5 CMC				3 CMC			
		SS-01/1	SS-03/2	SS-04/3	SS-05/4	SS-01/2	SS-03/3	SS-04/4	SS-05/1	SS-01/3	SS-03/4	SS-04/1	SS-05/2	SS-01/4	SS-03/1	SS-04/2	SS-05/3
Volume de Água	L	0,162	0,180	Amostra perdida por ressecamento durante o período de armazenamento	0,169	0,279	0,292	0,151	0,169	0,134	0,186	0,113	Amostra perdida por ressecamento durante o período de armazenamento	0,166	0,125	0,118	0,144
Naftaleno	µg/L	<0,15	<0,15		FALSO	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		2,92	<0,6	<0,6	<1,03
Acenaftileno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Acenafteno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Fluoreno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		1,11	<0,6	<0,6	<1,03
Fenantreno	µg/L	<0,15	<0,15		0,395	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		3,07	2,16	0,819	1,2
Antraceno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Fluoranteno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Pireno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Benz(a)antraceno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Criseno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Benzo(b)fluoranteno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Benzo(k)fluoranteno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Benzo(a)pireno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Indeno(1,2,3-cd)pirer	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Dibenzo(a,h)antraceno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03
Benzo(g,h,i)perileno	µg/L	<0,15	<0,15		<0,15	<0,6	<0,15	<0,6	<0,882	<0,6	<0,6	<0,6		<0,6	<0,6	<0,6	<1,03

Tabela 5.6 – Percentual de remoção de HPA através da lavagem

		0 CMC				0,6 CMC				1,5 CMC				3 CMC			
		SS-01/1	SS-03/2	SS-04/3	SS-05/4	SS-01/2	SS-03/3	SS-04/4	SS-05/1	SS-01/3	SS-03/4	SS-04/1	SS-05/2	SS-01/4	SS-03/1	SS-04/2	SS-05/3
Naftaleno	%	<0,009%	< 0,099%	Amostra perdida devido a ressecamento durante o período de armazenamento.	< 0,002%	< 0,0314	< 0,477%	< 0,029%	< 0,021%	< 0,040%	-	< 0,047%	Amostra perdida devido a ressecamento durante o período de armazenamento.	0,104%	< 0,082%	< 0,138%	0,026%
Acenaftileno	%	-	< 0,403%		-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
Acenafteno	%	-	< 0,185%		-	-	-	-	-	-	< 1,569%	-		-	-	-	-
Fluoreno	%	< 0,003%	< 0,151%		< 0,018%	< 0,072%	< 0,158%	< 0,035%	< 0,030%	< 0,052%	< 0,719%	-		>7,607%	-	-	< 0,0240%
Fenantreno	%	< 0,002%	< 0,096%		0,015%	< 0,025%	< 0,078%	< 0,014%	< 0,012%	< 0,016%	< 0,500%	< 0,199%		0,522%	0,459%	0,241%	0,015%
Antraceno	%	< 0,017%	-		< 0,058%	< 0,091%	-	-	< 0,036%	< 0,060%	< 1,727%	-		-	-	-	-
Fluoranteno	%	< 0,020%	-		< 0,054%	< 0,483%	-	< 0,219%	< 0,163%	< 0,306%	< 1,013%	< 1,169%		< 1,013%	< 1,63%	< 0,972%	< 0,1524%
Pireno	%	< 0,012%	-		< 0,036%	< 0,182%	< 1,44%	< 0,158%	< 0,098%	< 0,111%	< 0,779%	< 0,720%		< 0,595	< 1,987%	< 0,993%	< 0,105%
Benzo(a)antraceno	%	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
Criseno	%	-	-		-	-	-	-	-	-	-	< 0,696%		-	< 0,646%	< 0,237%	-
Benzo(b)fluoranteno	%	-	-		-	-	-	-	-	-	-	< 1,451%		-	-	-	-
Benzo(k)fluoranteno	%	-	-		-	-	-	-	-	-	< 3,788%	-		< 2,215%	-	< 2,125%	-
Benzo(a)pireno	%	< 0,542%	-		-	-	-	-	-	-	< 1,623%	-		<2,576	-	-	-
Indeno(1,2,3-cd)pireno	%	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
Dibenzo(a,h)antraceno	%	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-		< 3,145%	-	-	-
Benzo(g,h,i)perileno	%	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-

5.3 Respirometria

Os resultados da quantidade em mols de CO₂ gerados nas 8 primeiras semanas de incubação estão apresentados na Figura 5.1 e na Tabela 5.12, as quais incluem também os resultados obtidos nas semanas seguintes à 8ª semana, quando foram adicionados a cada respirômetro 5 mL da solução correspondente.

Estes resultados demonstraram significativa consistência, tendo em vista que os resultados dos respirômetros em triplicata ficaram razoavelmente próximos uns dos outros (Figura 5.2). Este comportamento, além da consistência do método, demonstra que as amostras que foram separadas em triplicatas têm suficiente homogeneidade do ponto de vista de biodegradação.

Figura 5.1 – Produção acumulada de CO₂ nos respirômetros

Figura 5.2 – Resultados de biodegradação das triplicatas nas 4 primeiras semanas

Observando-se a taxa de biodegradação nos ensaios respirométricos ao longo do tempo (Figura 5.3), em geral a maior taxa ocorreu no início do teste, em especial no solo lavado com solução à concentração de 1,5 CMC.

Figura 5.3 – Variação da taxa de consumo de carbono por biodegradação ao longo do tempo

Na primeira semana, a biodegradação na condição de lavagem com concentração de surfactante de 1,5 CMC foi 2 vezes superior à observada na condição sem lavagem (SCNA). Na segunda semana, a biodegradação nos respirometros lavados com solução de 1,5 CMC de surfactante ainda se apresentou superior aos demais. Nas 3 semanas seguintes, igualou-se à condição SCNA, tornando-se novamente ligeiramente maior nas últimas 3 semanas de respirometria (Figura 5.3 e Figura 5.4).

Figura 5.4 – Comparação das taxas de consumo de carbono para a lavagem com 1,5 CMC e a condição de SCNA

Comparando-se a evolução da massa acumulada de carbono consumido por biodegradação na condição de 1,5 CMC e de SCNA é possível confirmar que a superioridade da degradação promovida na primeira condição (Figura 5.5).

Figura 5.5 – Comparação das massas acumuladas de carbono consumido para a lavagem com 1,5 CMC e a condição de SCNA

Diferentemente dos resultados obtidos no solo lavado com 1,5 CMC, os respirômetros com solo lavado com 0,6 CMC apresentaram degradação inferior à condição de SCNA ao longo de quase todo o período de incubação (Figura 5.6).

Figura 5.6 - Comparação das taxas de consumo de carbono para a lavagem com 0,6 CMC e SCNA

Este comportamento resultou em uma biodegradação final inferior à obtida na condição de SCNA (Figura 5.7).

Figura 5.7 - Comparação das massas acumuladas de carbono consumido para a lavagem com 0,6 CMC e SCNA

As outras condições de lavagem (0 CMC e 3 CMC) resultaram em degradações ligeiramente inferiores às observadas na condição de SCNA, porém sem ser possível afirmar tal comportamento de forma estatística (Figura 5.8).

Figura 5.8 – Comparação das massas acumuladas de carbono consumido para a lavagem com 0 CMC, 3 CMC e SCNA

Os resultados de massa de carbono biodegradada nos respirômetros e correspondentes estatísticas, incluindo os resultados observados após a 8ª semana, estão apresentados na Tabela 5.7, Tabela 5.8, Tabela 5.9 e Tabela 5.10.

Tabela 5.7 – Taxa de consumo de carbono por biodegradação nos respirômetros em mg/dia/50g de solo seco

	SCNA - A	SCNA - B	SCNA - C	0 CMC - A	0 CMC - B	0 CMC - C	0,6 CMC - A	0,6 CMC - B	0,6 CMC - C	1,5 CMC - A	1,5 CMC - B	1,5 CMC - C	3 CMC - A	3 CMC - B	3 CMC - C
1ª semana	1,10	1,14	0,91	0,89	0,44	0,57	0,85	0,89	0,83	1,92	2,07	2,05	0,82	0,72	0,83
2ª semana	0,79	0,75	0,60	0,77	0,55	0,68	0,42	0,70	0,57	0,98	0,98	1,07	0,68	0,70	0,75
3ª semana	0,76	0,74	0,52	0,80	0,56	0,62	0,16	0,44	0,24	0,52	0,78	0,68	0,44	0,66	0,66
4ª semana	0,74	0,76	0,46	0,76	0,61	0,61	0,38	0,53	0,38	0,63	0,74	0,82	0,68	0,72	0,68
5ª semana	0,74	0,70	0,45	0,76	0,70	0,62	0,37	0,47	0,27	0,58	0,84	0,74	0,43	0,58	0,54
6ª semana	0,85	0,74	0,52	0,81	0,55	0,61	0,47	0,68	0,48	0,76	1,00	0,98	0,61	0,67	0,75
7ª semana	0,67	0,61	0,48	0,70	0,40	0,48	0,33	0,48	0,23	0,67	0,82	0,70	0,25	0,35	0,46
8ª semana	0,82	0,63	0,51	0,85	0,42	0,55	0,44	0,63	0,38	0,78	0,99	0,91	0,51	0,47	0,68
9ª semana	0,93	0,84	0,66	0,74	0,36	0,51	0,57	0,63	0,47	1,38	1,52	1,45	0,32	0,68	0,41
10ª semana	0,84	0,71	0,61	0,77	0,38	0,55	0,51	0,57	0,55	1,18	1,21	1,23	0,44	1,08	0,59

Tabela 5.8 – Massa acumulada de carbono consumido na biodegradação nos respirômetros em mg

	SCNA - A	SCNA - B	SCNA - C	0 CMC - A	0 CMC - B	0 CMC - C	0,6 CMC - A	0,6 CMC - B	0,6 CMC - C	1,5 CMC - A	1,5 CMC - B	1,5 CMC - C	3 CMC - A	3 CMC - B	3 CMC - C
1ª semana	7,73	8,00	6,40	6,27	3,07	4,00	6,00	6,27	5,87	13,47	14,53	14,40	5,73	5,07	5,87
2ª semana	13,38	13,38	10,71	11,78	6,98	8,84	8,98	11,24	9,91	20,44	21,51	22,04	10,58	10,04	11,24
3ª semana	18,81	18,68	14,54	17,48	11,08	13,34	10,41	14,54	11,88	24,28	27,08	26,94	13,88	14,81	16,01
4ª semana	24,05	24,05	17,79	22,85	15,39	17,65	13,12	18,32	14,59	28,72	32,32	32,72	18,72	19,92	20,85
5ª semana	29,12	28,85	20,85	28,05	20,19	21,92	15,65	21,52	16,45	32,72	38,05	37,79	21,65	23,92	24,59
6ª semana	35,35	34,26	24,63	34,01	24,23	26,38	19,09	26,52	19,95	38,27	45,37	44,97	26,11	28,85	30,06
7ª semana	40,17	38,67	28,08	39,10	27,14	29,83	21,45	29,98	21,64	43,08	51,28	50,06	27,93	31,35	33,38
8ª semana	46,03	43,17	31,76	45,24	30,14	33,78	24,59	34,48	24,36	48,68	58,37	56,61	31,61	34,76	38,29
9ª semana	52,48	49,08	36,44	50,46	32,64	37,38	28,59	38,88	27,68	58,40	69,05	66,81	33,84	39,58	41,20
10ª semana	58,39	54,04	40,72	55,83	35,28	41,24	32,18	42,88	31,54	66,63	77,55	75,45	36,88	47,13	45,34

Tabela 5.9 – Estatísticas da taxa de consumo de carbono por biodegradação nos respirômetros em mg/dia/50g de solo seco

	Media SCNA	Desvio Padrão SCNA	Minimo SCNA	Maximo SCNA	Media 0 CMC	Desvio Padrão 0 CMC	Minimo 0 CMC	Maximo 0 CMC	Media 0,6 CMC	Desvio Padrão 0,6 CMC	Minimo 0,6 CMC	Maximo 0,6 CMC	Media 1,5 CMC	Desvio Padrão 1,5 CMC	Minimo 1,5 CMC	Maximo 1,5 CMC	Media 3 CMC	Desvio Padrão 3 CMC	Minimo 3 CMC	Maximo 3 CMC
1ª semana	1,05	0,12	0,94	1,17	0,63	0,24	0,52	0,75	0,86	0,03	0,75	0,98	2,02	0,08	1,90	2,14	0,79	0,06	0,68	0,91
2ª semana	0,72	0,10	0,62	0,81	0,67	0,11	0,57	0,76	0,56	0,14	0,47	0,66	1,01	0,05	0,92	1,10	0,71	0,04	0,62	0,81
3ª semana	0,73	0,13	0,60	0,85	0,71	0,12	0,59	0,84	0,33	0,14	0,21	0,46	0,71	0,13	0,59	0,84	0,64	0,13	0,51	0,77
4ª semana	0,66	0,17	0,50	0,82	0,66	0,09	0,50	0,82	0,44	0,09	0,27	0,60	0,73	0,10	0,57	0,89	0,70	0,02	0,54	0,86
5ª semana	0,63	0,16	0,48	0,78	0,70	0,07	0,55	0,85	0,37	0,10	0,22	0,52	0,72	0,13	0,57	0,87	0,52	0,08	0,37	0,67
6ª semana	0,72	0,18	0,55	0,89	0,68	0,14	0,51	0,84	0,56	0,12	0,39	0,72	0,94	0,14	0,77	1,10	0,70	0,07	0,53	0,86
7ª semana	0,61	0,10	0,51	0,70	0,55	0,16	0,45	0,64	0,36	0,13	0,26	0,45	0,76	0,08	0,66	0,85	0,37	0,11	0,27	0,46
8ª semana	0,67	0,16	0,52	0,82	0,62	0,23	0,47	0,77	0,49	0,13	0,34	0,64	0,92	0,11	0,77	1,07	0,57	0,11	0,42	0,72
9ª semana	0,81	0,13	0,68	0,94	0,54	0,19	0,41	0,66	0,56	0,08	0,43	0,68	1,45	0,07	1,32	1,58	0,47	0,19	0,34	0,60
10ª semana	0,72	0,12	0,61	0,83	0,56	0,20	0,45	0,68	0,55	0,03	0,43	0,66	1,21	0,03	1,10	1,32	0,70	0,34	0,59	0,81

Tabela 5.10 – Estatísticas da massa acumulada de carbono consumido na biodegradação nos respirômetros em mg

	Media SCNA	Desvio Padrão SCNA	Minimo SCNA	Maximo SCNA	Media 0 CMC	Desvio Padrão 0 CMC	Minimo 0 CMC	Maximo 0 CMC	Media 0,6 CMC	Desvio Padrão 0,6 CMC	Minimo 0,6 CMC	Maximo 0,6 CMC	Media 1,5 CMC	Desvio Padrão 1,5 CMC	Minimo 1,5 CMC	Maximo 1,5 CMC	Media 3 CMC	Desvio Padrão 3 CMC	Minimo 3 CMC	Maximo 3 CMC
1ª semana	7,38	0,86	6,56	8,19	4,44	1,65	2,88	6,01	6,04	0,20	5,85	6,24	14,13	0,58	13,58	14,69	5,56	0,43	5,15	5,96
2ª semana	12,49	1,54	11,03	13,95	9,20	2,42	6,90	11,50	10,04	1,14	8,96	11,13	21,33	0,81	20,56	22,11	10,62	0,60	10,05	11,19
3ª semana	17,34	2,43	15,04	19,65	13,97	3,25	10,88	17,05	12,28	2,10	10,29	14,27	26,10	1,58	24,60	27,60	14,90	1,07	13,88	15,91
4ª semana	21,97	3,62	18,53	25,40	18,63	3,83	15,00	22,27	15,34	2,68	12,80	17,89	31,25	2,20	29,16	33,35	19,83	1,07	18,82	20,85
5ª semana	26,28	4,70	21,82	30,74	23,39	4,13	19,46	27,31	17,88	3,18	14,85	20,90	36,19	3,01	33,33	39,04	23,39	1,54	21,93	24,85
6ª semana	31,41	5,90	25,81	37,02	28,21	5,14	23,33	33,09	21,85	4,07	17,99	25,71	42,87	3,99	39,08	46,66	28,34	2,03	26,42	30,27
7ª semana	35,64	6,59	29,38	41,90	32,02	6,27	26,07	37,98	24,35	4,87	19,73	28,98	48,14	4,42	43,94	52,34	30,89	2,76	28,27	33,51
8ª semana	40,32	7,55	33,15	47,49	36,39	7,88	28,91	43,87	27,81	5,78	22,32	33,29	54,55	5,16	49,65	59,46	34,89	3,34	31,71	38,06
9ª semana	45,96	8,47	37,92	54,01	40,12	9,22	31,36	48,87	31,67	6,22	25,77	37,58	64,63	5,61	59,31	69,96	38,17	3,86	34,50	41,83
10ª semana	51,01	9,23	42,24	59,77	44,07	10,56	34,05	54,09	35,49	6,37	29,44	41,54	73,09	5,79	67,59	78,59	43,08	5,46	37,89	48,26

Os resultados de massa biodegradada nos respirômetros expressos em porcentagem de remoção em relação à massa inicial de carbono na forma de óleo diesel e surfactante LSS em cada ensaio estão apresentados na Figura 5.9 e na Tabela 5.11.

Figura 5.9 – Percentual acumulado de biodegradação de carbono ao longo do tempo

Como no ensaio com lavagem à concentração de 1,5 CMC a amostra tinha a menor quantidade inicial de carbono (Tabela 4.3) e a taxa de biodegradação foi a maior (Figura 5.5), os resultados em percentual se destacam ainda mais como a biodegradação mais significativa. O mesmo ocorreu de forma inversa para o ensaio com lavagem à concentração de 0,6 CMC (amostra com maior quantidade inicial de carbono e menor taxa de biodegradação).

Tabela 5.11 – Percentual de carbono biodegradado em relação ao carbono inicial da amostra

	SCNA - A	SCNA - B	SCNA - C	0 CMC - A	0 CMC - B	0 CMC - C	0,6 CMC - A	0,6 CMC - B	0,6 CMC - C	1,5 CMC - A	1,5 CMC - B	1,5 CMC - C	3 CMC - A	3 CMC - B	3 CMC - C
1ª semana	1,52%	1,57%	1,25%	1,32%	0,65%	0,84%	0,92%	0,96%	0,90%	3,15%	3,40%	3,37%	1,05%	0,93%	1,07%
2ª semana	2,62%	2,62%	2,10%	2,48%	1,47%	1,86%	1,37%	1,72%	1,52%	4,79%	5,04%	5,16%	1,93%	1,84%	2,06%
3ª semana	3,69%	3,66%	2,85%	3,68%	2,33%	2,81%	1,59%	2,23%	1,82%	5,69%	6,34%	6,31%	2,54%	2,71%	2,93%
4ª semana	4,72%	4,72%	3,49%	4,81%	3,24%	3,72%	2,01%	2,80%	2,23%	6,73%	7,57%	7,66%	3,42%	3,64%	3,81%
5ª semana	5,71%	5,66%	4,09%	5,91%	4,25%	4,61%	2,40%	3,29%	2,52%	7,66%	8,91%	8,85%	3,96%	4,37%	4,49%
6ª semana	6,93%	6,72%	4,83%	7,16%	5,10%	5,55%	2,92%	4,06%	3,05%	8,96%	10,63%	10,53%	4,77%	5,27%	5,49%
7ª semana	7,88%	7,58%	5,51%	8,23%	5,71%	6,28%	3,28%	4,59%	3,31%	10,09%	12,01%	11,73%	5,10%	5,73%	6,10%
8ª semana	9,03%	8,47%	6,23%	9,52%	6,35%	7,11%	3,76%	5,28%	3,73%	11,40%	13,67%	13,26%	5,78%	6,35%	7,00%

Tabela 5.12 – Quantidade de CO₂ produzida nos respirômetros em Micro Mols

	SNC - A	SNC - B	SNC - C	SCNA - A	SCNA - B	SCNA - C	0 CMC - A	0 CMC - B	0 CMC - C	0,6 CMC - A	0,6 CMC - B	0,6 CMC - C	1,5 CMC - A	1,5 CMC - B	1,5 CMC - C	3 CMC - A	3 CMC - B	3 CMC - C
1ª semana	311	333	472	694	706	639	633	500	539	622	633	617	933	978	972	611	583	617
2ª semana	311	339	411	589	578	533	583	517	556	478	561	522	644	644	672	556	561	578
3ª semana	215	244	278	472	467	406	483	417	433	306	383	328	406	478	450	383	444	444
4ª semana	294	300	350	533	539	450	539	494	494	428	472	428	500	533	556	517	528	517
5ª semana	300	294	339	522	511	439	528	511	489	417	444	389	478	550	522	433	478	467
6ª semana	289	294	372	572	539	472	561	483	500	458	522	461	544	617	611	500	519	542
7ª semana	311	294	339	511	494	456	522	433	456	411	456	383	511	556	522	389	417	450
8ª semana	256	239	306	506	450	417	517	389	428	394	450	378	494	556	533	417	406	467
9ª semana	294	300	333	572	550	500	522	411	456	472	489	444	706	744	725	400	506	428
10ª semana	183	183	244	444	406	378	422	311	361	350	367	361	539	550	556	328	511	372

6 DISCUSSÃO

O intuito de preservar as condições biológicas adaptadas à contaminação *in situ* para uma avaliação mais realista acarreta a impossibilidade de controlar alguns parâmetros, como as características geotécnicas e a distribuição de contaminante nas amostras. Isto torna o trabalho de interpretação dos resultados muito complexo, pois não é possível isolar apenas uma variável. Apesar dessa dificuldade, entende-se que é fundamental realizar alguns estudos de biodegradação com ensaios em solos naturalmente contaminados, para verificar se as tendências de comportamento se assemelham àquelas obtidas em estudos com contaminação artificial e/ou inoculação de culturas bacterianas específicas.

Como os experimentos deste trabalho foram realizados com solo naturalmente adaptado à contaminação, o intuito principal foi identificar uma possível tendência de comportamento da biodegradação após a lavagem do solo com um surfactante.

Os resultados da lavagem (Tabela 5.6) demonstraram que até 1,5 CMC não houve nenhum aumento da remoção de HPA, enquanto que para a lavagem com 3 CMC houve um aumento na remoção de fenantreno em todas as amostras lavadas e para naftaleno em uma das amostras. No entanto, o aumento de remoção foi insignificante do ponto de vista prático; a remoção máxima observada de fluoreno, de 7,6%, não indica a técnica de lavagem com surfactante para a remoção de HPA residual. Apesar disso, o ensaio cumpriu seu principal objetivo, que foi o de simular a lavagem do solo para permitir a avaliação de seu efeito na posterior biorremediação.

Em contrapartida, a biodegradação mostrou-se bastante efetiva para a remoção dos compostos do óleo diesel residual, pois se observou biodegradação de 8% de HPA nos respirômetros com solo contaminado mas não submetido à lavagem, no período de 8 semanas.

O cruzamento dos dados de massa de carbono biodegradada nas 8 primeiras semanas e da concentração de LSS aplicada na lavagem (Figura 6.1) não demonstra nenhuma tendência clara.

Figura 6.1 – Cruzamento dos dados de massa biodegradada na 8 primeiras semanas com a concentração de LSS no meio.

Uma análise superficial destes resultados pode induzir a conclusão de que a lavagem com surfactante na concentração de 1,5 CMC promoveu um aumento da biodegradação dos hidrocarbonetos presentes no solo. No entanto, conforme já discutido anteriormente, os ensaios não têm como única variável a concentração de surfactante aplicada, mas também a variação de substrato (contaminante) presente na amostra (Tabela 4.3) e a existência de LSS como substrato para a biodegradação.

Investigando-se a correlação entre a massa biodegradada acumulada até a 8ª semana e a massa inicial de carbono das amostras, observa-se uma razoável correlação linear inversamente proporcional (Figura 6.2), o que sugere um comportamento tipicamente de substrato com toxicidade, que inibi a degradação.

Figura 6.2 – Correlação entre a massa biodegradada acumulada nas 8 primeiras semanas e a massa inicial de carbono

Verificou-se que as duas primeiras semanas (Figura 6.3 - A) apresentaram comportamento significativamente diferente das 6 semanas seguintes (Figura 6.3 - B).

Figura 6.3 – Correlação entre a massa biodegradada acumulada e a massa inicial de carbono para até a 2ª semana (A) e entre a 2ª e a 8ª (B)

Lembrando que o estudo de Margesin (1999) mostrou que o surfactante LSS foi degradado nos 15 primeiros dias (Figura 3.36), sugere-se que a influência do surfactante ocorreu somente nas duas primeiras semanas. Esta conclusão foi reforçada pela falta de correlação observada nos resultados obtidos após a adição

de 5 mL de solução de LSS nas respectivas concentrações em cada respirômetro após a oitava semana. (Figura 6.4).

Figura 6.4 - Correlação entre a Massa biodegradada acumulada (8ª – 10ª semana) e a massa inicial de carbono

No período após a adição dos 5 mL, na 8ª semana, novamente as amostras na condição de 1,5 CMC apresentaram um aumento significativo na taxa de degradação. Com isto, a sugestão de que a presença de surfactante a 1,5 CMC promove um aumento na biodegradação dos hidrocarbonetos aparentemente mostrou-se verdadeira. No entanto, a massa de carbono adicionalmente biodegradada após a dosagem inicial de surfactante foi inferior à massa de carbono adicionada na forma de surfactante; ou seja, o aumento da biodegradação parece ter ocorrido pela degradação do surfactante e não dos hidrocarbonetos.

Os resultados mostram claramente que a inserção de surfactante no meio promove uma alteração na biodegradação, variando entre o estímulo e a inibição, porém não permitem uma avaliação mais aprofundada desta influência.

Ressalta-se que o comportamento subsequente ao período de influência do surfactante foi claramente governado pela concentração inicial de substrato, sendo

que para as amostras com menor quantidade de substrato observou-se maior biodegradação de HPA, o que é o comportamento típico do modelo de Haldane, em especial em relação ao intervalo de concentrações que provocam inibição (Figura 6.5).

Figura 6.5 – Condição de inibição observada como no modelo de Haldane

A curva obtida na Figura 6.3 – B representaria, portanto, o intervalo de concentrações do substrato de inibição do modelo de Haldane.

Além da observação do fenômeno de inibição nas condições de contaminação do solo, é possível prever que com o tempo e a consequente redução da quantidade de substrato presente, existe a tendência de a biodegradação aumentar, atingindo a taxa de biodegradação máxima (μ_{max}), para então reduzir novamente.

7 CONCLUSÕES

- A lavagem do solo contaminado com óleo diesel por solução de surfactante LSS a concentrações até 3 CMC não acarretou remoção significativa de HPA residual.
- A biodegradação de óleo diesel no solo sem a adição de surfactante apresentou uma taxa de biodegradação média de 1% do carbono inicial por semana.
- A influência do surfactante na biodegradação aparentemente limitou-se a aproximadamente 14 dias após sua adição, sendo que em geral o mesmo provocou um aumento na massa de carbono biodegradada, porém não superior à massa de carbono adicionada na forma de surfactante.
- No intervalo de tempo em que a presença do surfactante aparentemente não mais apresentou influência na biodegradação (2ª a 8ª semana de incubação), observou-se uma correlação linear significativa ($R^2 = 0,9551$ - Figura 6.3 - B) entre a taxa de biodegradação e a massa inicial de contaminante.
- A correlação observada foi inversamente proporcional, o que demonstrou que o óleo diesel apresenta cinética de biodegradação condicionada pela inibição da degradação com o aumento da concentração do próprio substrato (contaminante), como descrito por Haldane.

8 CONSIDERAÇÕES E SUGESTÕES DE CONTINUIDADE DOS ESTUDOS

As dificuldades de interpretação dos resultados de biodegradação neste estudo seriam reduzidas caso a biodegradação tivesse sido avaliada por meio de ensaios em biorreator, com análises específicas dos compostos presentes no solo. Isto não foi possível pela restrição de volume de solo das amostras indeformadas, mas é uma sugestão para próximas pesquisas.

Apesar da possibilidade de ocorrer um acréscimo na biodegradação com a aplicação do surfactante, a biodegradação naturalmente observada é significativamente alta, em especial em regiões tropicais como o Brasil. No entanto, são poucas as referências nacionais de investigações sobre taxas de biodegradação natural de poluentes orgânicos no solo. A obtenção e a organização desse conhecimento são fundamentais ao balizamento das técnicas a serem aplicadas em áreas contaminadas por poluentes orgânicos.

Estudos que visem investigar a biodegradação natural de um determinado contaminante no solo devem preferencialmente utilizar amostras de solo previamente contaminado, ou seja, com a biota já adaptada à contaminação. Tendo em vista os resultados observados neste estudo, sugere-se que futuras investigações sejam realizadas com uma faixa mais larga de concentrações iniciais, de modo a possibilitar a determinação dos parâmetros cinéticos de degradação (Haldane ou Monod).

9 REFERÊNCIAS

- Agência Europeia do Ambiente (AEA); <http://www.eea.europa.eu/pt>. Acessado em abril de 2011.
- Agência Nacional do Petróleo (ANP); **Anuário estatístico**. Brasil, 2008.
- Aitken M. D. et. al.; **Characteristics of phenanthrene-degrading bacteria isolated from soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons**. E.U.A. 1998.
- Alexander, M.; **Biodegradation and Bioremediation**. E.U.A. 1994.
- Alexander, M.; **How are toxic chemicals in soil**. E.U.A. 1995.
- Alvarez-Cohen, L.; McCarthy, P. L.; Roberts, P. V.; **Sorption of trichloroethylene onto a zeolite accompanied by methanotrophic biotransformation**. 1993.
- Amann, R. I. et. al.; **Microbiol**. 1995.
- American Petroleum Institute (API); **LNAPL guide**. 2004
- APS – Applied Biotreatment Association; **Case history compendium**. E.U.A. 1989.
- APS – Applied Biotreatment Association; **The role of biotreatment of oil spills**. Appl. Biotreat. Assoc., E.U.A.. 1990.
- Aronstein B. N. et. al.; **Effect of Surfactants at Low Concentrations on the Desorption and Biodegradation of Sorbed Aromatic compounds in Soil**. Environ. Sci. Technol., pag. 1728-1731. E.U.A.1991.
- Aronstein B. N. Et. al.; **Surfactants at low concentrations stimulate biodegradation of sorbed hydrocarbons in samples of aquifer sands and soil slurries**. Environ. Toxic. And Chem., pag. 1227-1233. E.U.A. 1992.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. Resíduos em solo – **Determinação da biodegradação pelo método respirométrico**. NBR 14283. Rio de Janeiro, 1999.
- Bai G. Y.; Mark L. B. e Raina M. M.; **Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil**. J. Contamint. Hydrol. pag. 157–170. 1997.
- Balba, M. T. et. al.; **Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation**. Kuwait. 1998.
- Bear, J.; **Dynamics of Fluids in Porous Materials**. American Elsevier, E.U.A. 1972.
- Beck, A. J. e Jones, K. C.; **Limitations to the in situ remediation of soils contaminated with organic chemicals in relation to the potential to achieve clean-up criteria**. Holanda. 1995.

Bediente, P.B.; Rifai, H.S.; Newell, C.J.; **Ground Water Contamination: Transport and remediation**. E.U.A. 1994.

Billingsley, K. A. et. al.; **Remediation of PCBs in soil by surfactant washing and biodegradation in the wash by Pseudomonas sp. LB400**. Canadá. 2002.

BiodieselBR; www.biodieselbr.com/biodiesel/diesel/diesel-combustivel.htm. Acessado em março de 2011.

Bramwell, D. A. P. e Lara, S.; **Effects of surfactant addition on the biomineralization and microbial toxicity of phenanthrene**. E.U.A. 2000.

British Petroleum (BP); **BP Statistical Review of World Energy, June 2010**.

Bury, S.J. e Miller, C.A.; **Effect of micellar solubilization on biodegradation rates of hydrocarbons**. 1993.

Carrara, S. M. C. M.; **Biorremediação de áreas contaminadas por plastificantes: caso do ftalato de di-2-etilhexila**. São Paulo, 2003.

Caryna, et. al.; **Aplicação “in situ” de surfactantes no solo contaminado com petróleo e tratamento da água residual com oxidante**. Campinas. 2007.

CBE – Center for Biofilm Engineering. www.erc.montana.edu. Acessado em março de 2011.

Cerniglia, C. E.; **Microbial Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons**. 1984.

Cerniglia, C. E. e Heitkamp, M. A.; **Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic environment**. E.U.A..1989.

Chapelle, F.H.; **Ground-Water Microbiology and Geochemistry**. E.U.A. 1993.

Chatzis, I.; **Visualization of oil displacement mechanisms and enhanced oil recovery**. Ontario. 1983.

Cho, D.; Kim, H.S.; **Kinetics of *in situ* Surfactant Soil Flushing at Moderate Washing Conditions**. Korea. 2002.

Christensen, T. H. et. at.; **Characterization of Redox Conditions in Groundwater Contaminant Plumes**. 2000.

Colwell, R. R.; Walker, J. D.; **Ecological aspects of microbial degradation of petroleum in the marine environment**. 1977.

Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb¹); http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/texto_areas_cont_nov_09_.pdf. Acessado em março de 2011.

Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb²); **Manual de gerenciamento de áreas contaminadas**. São Paulo. 2010.

Coraucchi, B. F. et. al.; **Avaliação da biodegradação de lodo de industria cítrica no solo através do ensaio de respirometria.** Brasil. 1997.

Costa, R. H. R., Sales, R. e Bassani, L.; **Cinética de degradação de efluente têxtil por biofilme em leito fluidizado trifásico aeróbio.** (S.D.)

Crapez, M. A. et al.; **Biorremediação – Tratamento para o derrame de petróleo.** 2002.

Cynthia, D. et. al.; **Effects of heterogeneity and experimental scale on the biodegradation of diesel.** E.U.A. 2003.

Deschênes L. et. al.; **The effect of an anionic surfactant on the mobilization and biodegradation of PAHs in a creosote-contaminated soil.** Hydrological Sciences Journal, 40: 4, 471 — 484. Canadá.1995.

Duffield, A. R. et. al.; **Surfactant Enhanced Mobilization os Mineral Oil Withing Porous Media.** Water, Air and Soil Polution. Holanda. 2002.

Dullien, F. A. L.; **Porous Media - Fluid Transport and Pore Structure.** E.U.A. 1992.

Erickson, D. C.; Loehr, R. C. e Neuhauser, E. F.; **PAH loss during bioremediation of manufactured gas plant site soils.** 1993.

Fredlund, D. G. e Rahardjo, H.; **Soil Mechanics for Unsaturated Soils.** 1993.

Giles, C. H.; Smith, D. e Huitson, A.; **A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm.** I: Theoretical. J. Colloid Interface Sci. pag 755–765. Escócia.1974.

Gordon, A. S. e Millero, F. J.; **Adsorption mediated decrease in the biodegradation rate of organic compounds.** 1985.

Guerin, W. F. e Boyd, S. A.; **Differential bioavailability of soil sorbed naphthalene for two bacterial species.**1992.

Gusmão, A. D.; **Águas Subterrâneas Aspectos de Contaminação e Remediação.** EDUPE, 193p. Pernambuco. 2002.

Grady, C. P. L.; **Biodegradation: its measurement and microbiological basis.** 1985.

Haigh, S. D.; **A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil.** Ucrânia.1996.

Harwell, J. e Sabatini, D.; Knox, R. C.; **Colloids and Surfaces: A physicochemical and angineering aspects.** 1998.

Health and Pollution Fund (hpfund); <http://www.hpfund.org/docs/bp1.pdf>. Acessado em março de 2011.

- Helenius, A. e Simons, K.; **Solubilization of membranes by detergents**. 1975.
- Herbes, S. E. e Schwall, L. R.; **Microbial transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in pristane and petroleum contaminated sediments**. 1978.
- Hermannson, M.; Marshall, K. C.; **Utilisation of surface localized substrate by non-adhesive marine bacteria**. 1985.
- Hinz, C.; **Description of sorption data with isotherm equations**. Austrália. 1999.
- Holt, M. S.; Mitchel, G. C. e Watkinson, R. J.; **The environmental chemistry, fate and effects of nonionic surfactants**. 1992.
- Hommel, R. K.; **Formation and physiological role of biosurfactants produced by hydrocarbon-utilizing microorganisms**. 1990.
- Houghton, J. E. e Shanley, M. S.; **Catabolic potencial of pseudomonads: A regulatory perspective**. E.U.A. 1994.
- Inkline; <http://www.inkline.gr/inkjet/newtech/tech/dispersion/>. Acessado em março de 2010.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE); <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=sp&tema=estruturaempresarial2008>. Acessado em: março de 2011.
- Internacional Agency for Research on Cancer (IARC); **Agents reviewed by the IARC monographs**: volumes 1-100. 2009.
- Jackson, A.; Roy, D. e Breitenbeck, G.; **Transport of a bacterial suspension through a soil matrix using water and an anionic surfactant**. 1994.
- Jain, D. K.; Lee, H.; Trevors, J. T.; **Effect of addition of Pseudomonas aeruginosa UG2 inocula or biosurfactants on biodegradation selected hydrocarbons in soil**. J. Industrial Microbiology, pag 87-93. E.U.A. 1992.
- Jason E. F. et al.; **Surfactant Effects on Residual Water and Oil Saturations in Porous Media**. E.U.A. 2003.
- Kaipper, B. I. A.; **Influência do Etanol na Solubilidade de Hidrocarbonetos Aromáticos em Aquíferos Contaminados por Óleo Diesel**. Brasil. 2003.
- Karickhoff S. W.; Brown D. S. e Scott T. A.; **Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments**. E.U.A. 1979.
- Laha, S. e Luthy, R. G.; **Effects of nonionic surfactants on the mineralization of phenanthrene in soil-water systems**. 1992.
- Laha, S. e Luthy, R. G.; **Inhibition of phenanthrene mineralization by nonionic surfactants in soil-water systems**. 1991.

Lee, M. D. et. al.; **Surfactant-enhanced anaerobic bioremediation of a carbon tetrachloride DNAPL**. 1995.

Luthy, R.G. et. al.; **Remediating tar-contaminated soils at manufactured gas plant sites**. 1994.

MacGillivray A. R. e Shiaris M. P.; **Microbial ecology of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation in coastal sediments**. E.U.A. 1994.

Maier, R. M.; Pepper, I. L. e Gerba, C. P.; **Environmental microbiology**. E.U.A. 2000.

Maniasso, N.; **Ambientes micelares em química analítica**. Brasil. 2006.

Marchesi, J. R.; Russell, N. J.; White, G. F. e House, G. A.; **Effects of surfactant adsorption and biodegradability on the distribution of bacteria between sediments and water in a freshwater microcosm**. 1991.

Margesin, R. e Schinner, F.; **Biodegradation of diesel oil by cold adapted microorganisms in presence of sodium dodecyl sulfate**. Alemanha. 1998

Mariano, A. P.; **Avaliação do potencial de biorremediação de águas subterrâneas contaminadas com óleo diesel**. Rio Claro. 2006.

Mazzuco, L. M.; **Atenuação natural de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados com óleo diesel**. Brasil. 2004.

Mello, G. S. L.; **Avaliação da Viabilidade da utilização do teste respirométrico de Batha para determinar a biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em solo tropical: caso do fenantreno**. São Paulo. 2005.

Miller, R. M.; Bartha, R.; **Evidence from liposome encapsulation for transport-limited microbial metabolism of solid alkanes**. 1989.

Ministry of Housing; <http://www.vrom.nl/pagina.html?id=37600>. Acessado em maio de 2010.

Moller, J.; Winther, B.; Lund, K.; Kirkebjerg, K. e Westermann, P.; **Bioventing of diesel oil-contaminated soil: Comparison of degradation rates in soil based on actual oil concentration and on respirometric data**. Dinamarca. 1996.

Mueller, J. G.; Chapman, P. J. e Pritchard, P. H.; **Action of a fluoranthene-utilizing bacterial community on polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote**. 1989.

Munz, C. e Roberts, P. V.; **Air-water phase equilibria of volatile organic solutes**. E.U.A. 1987.

Murielle et. al.; **Efficiency of defined strains and of soil consortia in the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) mixtures**. 2000.

Nayyar, S. P.; Sabatini D.A. e Harwell J.A.; **Surfactant adsorption and modified adsorption of nonpolar, polar, and ionizable organic contaminants**. E.U.A. 1994.

Nitschke, M. e Pastore, G. M.; **Biossurfactantes: Propriedades e aplicações**. Brasil. 2002.

Oberbremer, A.; Müller-Hurting, R. e Wagner, F.; **Effect of the addition of microbial surfactants on hydrocarbon degradation in a soil population in a stirred reactor**. 1990.

Ogram, A. V.; Jessup, R. E.; Ou, L. T. e Rao, P. S. C.; **Effects of sorption on biochemical degradation rates of (2,4 dichlorophenoxy)acetic acids in soil**. 1985.

Oliveira, E.; **Ethanol flushing of gasoline residuals - microscale and field scale experiments**. Canadá. 1997.

Paludo, D.; **Intemperização de fontes de contaminação de óleo diesel em águas subterrâneas na presença e ausência de etanol**. Brasil. 2007.

Pan B.; Ning P. e Xing B.; **Part IV – Sorption hydrocarbon organic contaminants**. E.U.A. 2008.

Parker, E.F. e Burgos, W.D.; **Degradation patterns of fresh and aged petroleum-contaminated soils**. E.U.A. 1999.

Paul, E. A. e Clark, F. E.; **Soil microbiology and biochemistry**. E.U.A. 1996.

Perry, R. H. et al.; **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. 8ª ed. E.U.A. 2008.

PETROBRAS. <http://www.petrobras.com.br>. Acesso em 12 março de 2011.

Pinholt, Y.; Struwe, S. e Kjoller, A.; **Microbial changes during oil decomposition in soil**. 1979.

Prescott, L. M.; Harley, J. P. e Klein, D. A.; **Microbiology**. E.U.A. 1999.

Pritchard, P. H. e Costa, C. F.; **Alaska oil spill bioremediation project**. 1991.

Rijnaarts, H. M.; Bachmann, A.; Jumelet, J. C. e Zehnder, A. J. B.; **Effect of desorption and intraparticle mass transfer on the aerobic biomineralization of hexachlorocyclohexane in a contaminated calcareous soil**. 1990.

Riser-Roberts, E.; **Bioremediation of petroleum contaminated sites**. 1992.

Roch, F. e Alexander, M.; **Biodegradation of hydrophobic compounds in the presence of surfactants**. 1995.

Rosenberg, M. e Gutnick, D. L.; **The hydrocarbon-oxidizing bacteria**. E.U.A. 1981.

Rosen, M. J.; **Surfactants and interfacial phenomena**. 3ª ed. E.U.A. 2008.

- Rouse, J. D. et. al.; **Influence of surfactants on microbial degradation of organic compounds**. CRC Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 24, 325-370. Japão. 1994
- Sandrin T. R. et. al.; **Influence of a nonaqueous phase liquid (NAPL) on biodegradation of phenanthrene**. E.U.A. 2005.
- Scanlon B. R.; Nicot J. P. e Massmann J. W.; **Soil gas movement in unsaturated systems**. 2002.
- Schwarzenbach, R. P. et al.; **Environmental Organic Chemistry** . E.U.A. 2003.
- Scow, K. M. e Alexander, M.; **Effect of diffusion on the kinetics of biodegradation: experimental results with synthtic aggregates**. 1992.
- Silva, A. M.; **Banco de dados de curva de retenção de água de solos brasileiros**. São Carlos. 2005.
- Shin, K. H. e Kim K. W.; **A Biosurfactant-Enhanced Soil Flushing for the Removal of Phenanthrene and Diesel in Sand**. Environmental Geochemistry and Health. Holanda. 2003.
- Spinelli, L. F.; **Biorremediação, toxicidade e lesão celular em derrames de gasolina**. Porto Alegre. 2005.
- Sposito, G.; **The chemistry of soils**. E.U.A. 1989.
- Stout, S. A. e Lundergard, P. D.; **Intrinsic biodegradation of diesel fuel in an interval of separate phase hydrocarbons**. E.U.A. 1998.
- Stumm, W. e Morgan, J. J.; **Aquatic Chemistry: an Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Waters**. Canadá. 1981.
- Sylvia, D. M. et. al.; **Principle and applications of soil microbiology**. E.U.A. 1998.
- Thibault, S. L. et al.; **Influence of Surfactants on Pyrene Desorption and Degradation in Soils**. Applied and Environmental Microbiology, p. 283–287. E.U.A. 1996.
- Tiehm, A.; **Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the presence of synthetic surfactants**. 1994.
- Tomaz E.; **Desenvolvimento de método experimental para estudo cinético da reação de dessulfuração com amônia**. Brasil. 1990.
- Trigueiro, D. E. G.; **Avaliação da cinética de biodegradação dos compostos tóxicos: benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno (BTEX) e fenol**. 2008.
- Tsomides, H. J. et. al.; **Effect of surfactant addition on phenanthrene biodegradation in sediments**. 1995.
- U. S. Environmental Protection Agency (USEPA¹); <http://www.epa.gov>. Acessado em 02 de março de 2010.

U. S. Environmental Protection Agency (USEPA²); **Laboratory investigation of residual liquid organics from spills, leaks, and disposal of hazardous wastes in groundwater**. EPA/600/6-90/004. 1990.

Universidade de Brasilia (UNB);

<http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/crescimento/crescimento.html>. Acessado em abril de 2010.

Volkerling, F.; Breure, A. M. e Rulkens, W. H.; **Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation**. Holanda. 1998.

Weissenfels, W. D.; Klewer, H. J. e Langhoff, J.; **Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradability and biotoxicity**. 1992.

West, C.C. e Harwell, J.H.; **Surfactants and subsurface remediation**. Environ. Sci. Technol. pag. 2324–2330. E.U.A. 1992.

Wiedermeier, T. H.; Rifai, H. S.; Newell, C. J. e Wilson, J. T.; **Natural attenuation of fuels and chlorinated solvents in the subsurface**. E.U.A. 1999.

Wiesel, I.; Wübker S. M.e Rehm, H. J.; **Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by an immobilized mixed bacterial culture**. 1993.

Widrig, D. L. e Manning, J. F.; **Testing bioremediation in the field**. In: *In-Situ Bioremediation: When Does it Work?*. E.U.A. 1995.

Würdemann, H.; Lund, N. C. e Gudehus, G.; **Assessment of a biological in situ remediation**. 1995.

Ying, X. et. al.; **Isolation and characterization of phenantrene-degrading *Sphingomonas paucimobilis* strain ZX4**. China. 2004.

Zhang, Y.; Zhu, D. e Yu, D.; **Sorption of Aromatic Compounds to Clay Mineral and Model Humic Substance–Clay Complex: Effects of Solute Structure and Exchangeable Cation**. China. 2008.

Zaman, M. R.; **Experimental and theoretical study volatilization for hydrocarbon removal in unsaturated porous media**. E.U.A. 1989.

Foto 1 – Lauril Sulfato de Sódio utilizado

Foto 2 – Mangueira de PEBD

Foto 3 – Pedra porosa

Foto 4 – Fixação e vedação da pedra porosa e dos papeis filtros com fita teflon

Foto 5 – Funil de vidro

Foto 6 – Anel de teflon

Foto 7 – Kitassato de 250 ml

Foto 8 – Rolha de borracha do kitassato

Foto 9 – Conexão com mangueira de silicone

Foto 10 – Manutenção da temperatura ambiente à 20°C

Foto 11 – Detergente neutro

Foto 12 - Diclorometano

Foto 13 – Pesagem do LSS

Foto 14 – Armazenamento das soluções de LSS

Foto 15 – Refrigerador para conservação da amostra

Foto 16 – Frasco âmbar utilizado para coleta de água

Foto 17 – Estufa

Foto 18 – Dessecador

Foto 19 – Sulfato de amônio