ANDRÉ NEGRÃO DE MOURA

REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS COM METAIS PESADOS
UTILIZANDO *ACIDITHIOBACILLUS sp*

São Paulo
2006

ANDRÉ NEGRÃO DE MOURA

REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS COM METAIS PESADOS
UTILIZANDO *ACIDITHIOBACILLUS sp*

Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em
Engenharia.

São Paulo

2006

ANDRÉ NEGRÃO DE MOURA

REMEDIÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS COM METAIS PESADOS
UTILIZANDO *ACIDITHIOBACILLUS* sp

Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em
Engenharia.

Área de Concentração: Engenharia
Hidráulica e Sanitária.

Orientadora: Profª Drª Dione Mari Morita

São Paulo

2006

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor com a anuência de sua orientadora.

São Paulo, 13 de Dezembro de 2006.

Assinatura do autor:

Assinatura da orientadora:

FICHA CATALOGRÁFICA

Moura, André Negrão de
Remediação de áreas contaminadas com metais pesados
utilizando *Acidithiobacillus sp* / A.N. de Moura. -- São Paulo,
2006.
251 p.

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

1.Contaminação 2.Solo tropical 3.Lixiviação 4. Chumbo
5.Zinco I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica.
Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária II.t.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos e amados pais João e Maria por me trazerem a este mundo e nele me ensinar a lutar.

À minha querida e amada esposa Adriana pelo incentivo, ajuda, apoio e paciência, que foram de fundamental importância na execução deste trabalho.

Aos meus queridos e amados filhos Henry, Erik e Kenzo que, mais do que ninguém, sofreram com minha ausência durante a execução deste trabalho: saibam que tudo que faço é pensando em vocês e este trabalho não foi exceção.

AGRADECIMENTOS

Por certo a execução deste trabalho contou com a colaboração de muitas pessoas que, por vezes, deixaram de lado seus afazeres para auxiliar seu desenvolvimento e, as quais sou grato. No entanto, não seria justo nem possível citar nominalmente todas elas sob pena de, traído pela memória, me esquecer de alguém.

Portanto, o autor limita-se a expressar seu agradecimento à pessoa e às instituições que viabilizaram e contribuíram do início ao fim para o desenvolvimento desta pesquisa:

Prof^a Dr^a Dione Mari Morita; mestra de profundos e inquestionáveis conhecimentos da ciência; pela paciência e habilidade nata em ensinar, pela perseverança em buscar a perfeição em tudo que faz e, por trazer luz para iluminar o intelecto de todos aqueles que tem a honra de poder compartilhar sua experiência e sabedoria. Meus mais sinceros agradecimentos àquela que perde um aluno mas ganha um amigo.

Fundo Setorial de Recursos Hídricos (CT-Hidro), pela concessão da bolsa de doutorado, processo nº 140915/2002-8, que permitiu ao autor dedicar-se em tempo integral para o desenvolvimento desta pesquisa.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio pesquisa, processo nº 04/08039-4, que permitiu a execução deste pesquisa.

A curiosidade é a força motriz do conhecimento, pois lança-nos em direção ao desconhecido, onde a ausência de certezas e a busca por respostas inquietam o espírito humano. Nosso conhecimento contemporâneo é fruto de inquietações ancestrais e será ampliado até o fim de nossa raça, pois o Homem é curioso por natureza e sua sede por respostas insaciável.

André Negrão de Moura

RESUMO

A "Região dos Lagos" de Santa Gertrudes é um exemplo das muitas áreas contaminadas com metais pesados existentes no Estado de São Paulo e no Brasil. O pólo de Revestimentos Cerâmicos de Santa Gertrudes dispôs inadequadamente seus resíduos sólidos e águas residuárias diretamente no solo por mais de três décadas, contaminando uma área de 1,5 km². Apesar das incertezas que cercam e que prejudicam a plena compreensão de um processo de bioremediação de um solo contaminado, esta pesquisa avalia a influência do pH inicial e da adição de inoculo e nutrientes sobre a eficiência de remoção de chumbo (Pb) e zinco (Zn) de um latossolo vermelho, submetido à biolixiviação com *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*. Este solo apresenta elevados teores de óxidos de ferro (8,3 %) e alumínio (16,8 %), argila (57 %), chumbo (717 mg/kg) e zinco (181 mg/kg). Os experimentos foram conduzidos em reatores em batelada, monitorados durante 30 dias e resultaram na solubilização de até 3,6 mgPb/L e 50,0 mgZn/L. Constatou-se que para este solo e sob as condições experimentais utilizadas, não foi necessária a redução inicial do pH; a solubilização do chumbo foi inexpressiva, provavelmente, devido à sua precipitação na forma de PbSO₄; a do zinco decorreu, principalmente, da liberação de íons H⁺, produzidos durante a dissociação dos nutrientes, em particular o FeSO₄, que promoveram a acidificação do meio. Embora a lixiviação química tenha sido o principal mecanismo de solubilização do zinco, a biolixiviação devido a *Acidithiobacillus ferrooxidans* indígenas foi registrada e incrementou em até 17 % a lixiviação deste elemento, a partir do décimo dia de experimentação.

Palavras-chave: Contaminação. Solo tropical. Biolixiviação. Chumbo. Zinco.

ABSTRACT

The "Lake Region" of Santa Gertrudes is one of several contaminated sites with heavy metals in São Paulo State, Brazil. As in other regions of this country, in the 1970's the ceramic industries of Santa Gertrudes disposed their solid wastes and wastewaters directly in soil and contaminated an area of 1.5 km². Biological solubilization of lead (Pb) and zinc (Zn) from soil of the Lake Region was tested in batch reactors. The biological process used the leaching capacity of *Acidithiobacillus ferroxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. Tests were performed to determine the influence of initial pH, the percentage of inoculum and the addition of nutrients on the efficiency of removal of these metals. The soil contained high concentration of iron oxides (8.3 %) and aluminum (16.8 %), clay (57 %), lead (717 mg/kg) and zinc (181 mg/kg). It was not necessary to reduce the initial pH of soil. Solubilization of lead (up to 3.6 mg/L) and zinc (up to 50 mg/L) was obtained, but the solubilization of Pb was low, probably because the element was precipitated as PbSO₄. The solubilization of zinc was strongly correlated with the release of H⁺ ions produced from nutrient dissociation, particularly FeSO₄, which promoted the acidification of solution. Although chemical solubilization was the main mechanism of Zn removal, biological solubilization by indigenous *Acidithiobacillus ferroxidans* was detected, reaching up to 17 % of the total element leached after 10 days of testing.

Keywords: Contamination. Tropical soil. Bioleaching. Lead. Zinc.

SUMÁRIO

	página
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	
3.1 Conceituação de termos e expressões.....	17
3.2 Efeitos dos metais pesados ao Homem	19
3.3 Dinâmica e comportamento dos metais pesados no solo.....	23
3.3.1 Química do solo.....	24
3.3.2 Formação da fase sólida.....	28
3.3.3 Reações de superfície.....	29
3.3.3.1 Matéria orgânica	29
3.3.3.2 Argilominerais, óxidos, hidróxidos e carbonatos.....	32
3.3.4 Isotermas de adsorção.....	37
3.4 Tecnologias de remediação de áreas contaminadas com metais pesados.....	38
3.4.1 Dessorção térmica.....	42
3.4.2 Lavagem.....	45
3.4.3 Lavagem por aspersão.....	48
3.4.4 Estabilização e solidificação.....	51
3.4.5 Vitrificação.....	56
3.4.6 Sistema eletrocinético.....	58
3.4.7 Fitoremediação.....	61
3.4.8 Biolixiviação.....	66
3.4.8.1 Estudos de casos.....	76
3.5 Tratamento do lixiviado.....	84
3.5.1 Processos físicos.....	84
3.5.1.1 Leitos de filtração.....	85
3.5.1.2 Evaporação.....	85
3.5.1.3 Eletrodialise.....	86
3.5.1.4 Osmose reversa.....	87

3.5.2 Processos químicos.....	88
3.5.2.1 Óxido-redução.....	88
3.5.3 Processos físico-químicos.....	90
3.5.3.1 Adsorção.....	90
3.5.3.2 Precipitação e sedimentação.....	94
3.5.3.3 Troca iônica.....	98
3.5.4 Processos biológicos.....	98
3.5.4.1 Bioacumulação.....	99
3.5.4.2 Bioadsorção.....	100

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição do local objeto do estudo: Região dos Lagos de Santa Gertrudes.....	106
4.2 Resíduos gerados pela indústria de revestimento cerâmico.....	110
4.2.1 Resíduos sólidos.....	110
4.2.2 Despejos líquidos.....	115
4.2.3 Emissões atmosféricas.....	119
4.3 Coleta de solo contaminado.....	120
4.4 Caracterização geológica do solo.....	121
4.5 Análises químicas.....	122
4.6 Análises microbiológicas.....	123
4.7 Produção das suspensões bacterianas.....	125
4.7.1 Meio de cultivo para crescimento de <i>A. ferrooxidans</i>	126
4.7.2 Meio de cultura para <i>A. thiooxidans</i>	127
4.7.3 Purificação e concentração de células.....	128
4.8 Experimentos de biolixiviação.....	129
4.8.1 Experimento nº 1.....	131
4.8.2 Experimento nº 2.....	132
4.8.3 Experimento nº 3.....	133
4.8.4 Experimento nº 4.....	135
4.8.5 Experimento nº 5.....	135
4.8.6 Experimento nº 6.....	136
4.8.7 Experimento nº 7.....	137
4.8.8 Experimento nº 8.....	138

5 RESULTADOS

5.1 Classificação pedológica do solo.....	140
5.2 Caracterização geotécnica do solo.....	142
5.2.1 Composição mineralógica.....	142
5.2.1.1 Latossolo roxo.....	142
5.2.1.2 Latossolo vermelho.....	146
5.2.2 Massa específica dos grãos e curvas granulométricas.....	149
5.3 Experimentos de biolixiviação.....	154
5.3.1 Experimento nº 1.....	156
5.3.2 Experimento nº 2.....	158
5.3.3 Experimento nº 3.....	160
5.3.4 Experimento nº 4.....	171
5.3.5 Experimento nº 5.....	177
5.3.6 Experimento nº 6.....	182
5.3.7 Experimento nº 7.....	193
5.3.8 Experimento nº 8.....	200
6 CONCLUSÕES	208
REFERÊNCIAS.....	210
REFERÊNCIAS CONSULTADAS.....	226
APÊNDICE A.....	227

1 INTRODUÇÃO

A contaminação do solo com os mais diferentes resíduos acompanha a história da civilização humana desde seu imemorable início. Todavia, ao longo do tempo, o Homem foi descobrindo novos materiais e, conseqüentemente, gerando novos tipos de resíduos.

Os processos de industrialização, que transformaram o mundo desde meados do século XVIII, e a exploração não sustentável dos recursos naturais deles decorrentes legaram à humanidade um conjunto de “passivos ambientais”, pelos quais ela sofre as conseqüências hoje e, se nada for feito, também sofrerão as gerações futuras.

A geração de resíduos é inerente a qualquer processo produtivo, todavia, estes foram inadequadamente dispostos por décadas e, no Estado de São Paulo, somente a partir de 1975, surgiram as primeiras leis ambientais, que regulamentaram o uso do solo para proteção de mananciais, caracterizaram poluição, contaminação, bem como impuseram padrões para emissão de efluentes, critérios para acondicionamento e disposição de resíduos sólidos.

Até então, os resíduos gerados pelas indústrias brasileiras tinham um destino certo: se líquidos, eram lançados *in natura* no corpo d'água mais próximo ou se sólidos, simplesmente eram enterrados no solo. Esta “modalidade” de disposição de resíduos industriais foi sendo gradativamente banida e atualmente, permite-se somente aquela que atenda as exigências legais quanto à segurança do meio ambiente.

Como conseqüência direta do aprimoramento da legislação ambiental brasileira, a qual atualmente é restritiva para a disposição de resíduos sólidos no solo – principalmente os perigosos - as indústrias que os geram são obrigadas a estocá-los ou promover seu tratamento e posterior destinação final. A estocagem de resíduos perigosos é uma solução temporária para o problema de sua destinação, todavia, caminha para tornar-se um novo problema, pois onde estocar tanto resíduo? Segundo MORITA (2001), foram gerados no Estado de São Paulo, somente em 2000, 342.455 toneladas de resíduo Classe I (perigoso).

Assimilada a necessidade de proteção dos recursos hídricos e da atmosfera, pois estes dois compartimentos ambientais possuem a água e o oxigênio, que são imprescindíveis à manutenção da vida na Terra, na década de 1990, a preocupação passou a ser o solo.

O compartimento solo tem sido explorado impiedosamente há séculos e ao contrário dos rios, onde se pode enxergar os peixes mortos em suas águas imundas e sentir o fedor dos gases que delas emanam, e do ar, onde se pode sentir, fisiologicamente, os efeitos provocados pela poluição atmosférica, não é possível, na maioria dos casos, observar e inferir que o mesmo esteja contaminado e que possa causar qualquer dano à biota e ao Homem.

Devido às características peculiares do compartimento solo de não “transparecer” a contaminação nele disposta, ele funciona há séculos como um verdadeiro sumidouro, pois tem sido utilizado como destino final para todo tipo de resíduos sólidos e líquidos. A condição de sumidouro do solo só recentemente passou a ser questionada e tem razões óbvias: o subsolo armazena mais água doce do que os mananciais superficiais e, tais reservas estão sendo contaminadas e a produção de alimentos, afetada pela contaminação dos solos agricultáveis.

A legislação ambiental brasileira, a despeito de suas imperfeições, assegura níveis mínimos de proteção ao meio ambiente contra futuras agressões que possa vir a sofrer, entretanto, sobre os atos insanos cometidos no passado, somente é aplicável nos casos onde se conhecem os responsáveis pela degradação, que então, são responsabilizados pelo passivo ambiental gerado. Entretanto, não se conhecem os responsáveis pela contaminação de muitas áreas, logo, não existem culpados e, muito menos os responsáveis para promover sua remediação, ou seja, estas áreas, com seus solos, águas e sedimentos contaminados, constituem-se, certamente, no maior passivo ambiental contemporâneo.

Nos doze países da União Européia, até 2000, tinham sido identificadas cerca de 300 mil áreas contaminadas e estimadas 1.500.000 potencialmente contaminadas, ou seja, áreas onde estão sendo ou foram desenvolvidas atividades potencialmente poluidoras. Na Alemanha, uma estimativa de 1993 apontou que a remediação de 23.600 sítios contaminados poderia ter um custo de €\$ 92 bilhões a €\$ 462 bilhões, dependendo da tecnologia a ser empregada (EEA, 2000). Na Holanda, existem cerca de 100 mil locais contaminados, com custo previsto para remediação de US\$ 50 bilhões (EEA, 2000).

Segundo o OTA (1983) *apud* PAGE (1997), os Estados Unidos da América (EUA) tinham aproximadamente 600.000 áreas contaminadas com substâncias tóxicas até 1983, embora muitas não representassem riscos à saúde humana. Até 1993, as áreas contaminadas com metais pesados, associados ou não com compostos orgânicos, representavam 22 % do total (USGAA, 1993 *apud* PAGE, 1997). Especialistas previram que os EUA deveriam investir de US\$ 400 bilhões a US\$ 1,7 trilhões nas próximas três décadas para promover a remediação destas áreas (RUSSEL *et alii*, 1991 *apud* PAGE, 1997). O passivo ambiental norte americano é incalculável, pois não se conhece, nacionalmente, o número total de áreas contaminadas, embora os principais programas governamentais já tenham realizado a remediação, completa ou parcial, em 2.255 das 4.500 consideradas prioritárias (USEPA, 2003a).

Um diagnóstico preliminar do Ministério da Saúde, realizado entre 2001 e 2003, indicou a existência de 15.237 áreas potencialmente contaminadas no país, entretanto, um diagnóstico confirmatório identificou a existência de 689 áreas potenciais e efetivas com populações expostas ou sob risco de exposição a solos contaminados. Atualmente, este número é de 703 áreas (BRASIL, 2006).

Regionalmente, um panorama da situação foi apresentado em maio de 2002, quando a CETESB tornou pública a primeira relação de áreas contaminadas do Estado de São Paulo, na qual figuravam 255 sítios contaminados. A última atualização desta relação, divulgada em novembro de 2005, apontou a existência de 1.596 áreas, das quais 564 tinham algum processo de remediação em andamento, 144 possuíam proposta e apenas 29 já haviam concluído a descontaminação (CETESB, 2005b). Dentre as diversas espécies e substâncias químicas encontradas nestas áreas, os metais pesados eram os responsáveis, isolados ou não, pela contaminação de aproximadamente 217 sítios. Todavia, a necessidade de estudos mais detalhados sobre 859 das 1.596 áreas contaminadas, que ainda não possuem proposta de remediação, poderá apontar a presença de metais em outros sítios.

Dentre as 564 áreas contaminadas paulistas que realizavam alguma atividade de remediação até novembro de 2005 e dentre as 217 contaminadas com metais pesados, inclui-se o pólo cerâmico de Santa Gertrudes, que constitui um exemplo típico das equivocadas práticas de tratamento e destinação final de resíduos industriais utilizadas até um passado recente.

A região tem suportado, há mais de três décadas, a extração de argila por parte das indústrias de revestimento cerâmico, o que provocou a formação de cavas, originando o que se convencionou chamar de região dos lagos, que, por sua vez, vieram a ser contaminados pelo lançamento de resíduos da linha de esmaltação das cerâmicas, contendo boro e metais pesados, entre eles, cádmio, chumbo, níquel e zinco.

A região dos lagos de Santa Gertrudes está inserida na microbacia do Córrego da Fazenda Itaqui, um afluente do Ribeirão Claro, que por sua vez, é afluente do Rio Corumbataí, o qual abastece sete municípios do interior paulista e beneficia aproximadamente 650 mil habitantes. A área contaminada está situada na porção mais à montante da bacia hidrográfica e possui aproximadamente 1,5 km².

A experimentação e a utilização de microrganismos capazes de promover a biolixiviação de metais pesados, aqui considerados como sendo todos os metais reconhecidamente ou potencialmente capazes de provocar efeitos deletérios à saúde humana e à biota, é uma linha de pesquisa recente, pois a existência de microrganismos com tais habilidades foi pouco pesquisada no passado; admitia-se que a recuperação de áreas contaminadas por estes metais somente fosse possível através de métodos físicos e/ou químicos.

A descoberta de microrganismos, notadamente fungos e bactérias, capazes de biolixiviar metais pesados, a partir da degradação de compostos associados a estes, tem possibilitado o uso destes agentes biológicos como ferramenta de remoção ou biolixiviação de espécies metálicas contidas em matrizes sólidas ou semi-sólidas. O conhecimento do tema, até aqui restrito às atividades de mineração, deve ser repassado e ampliado pelas diversas áreas envolvidas com meio ambiente e, em particular, aplicado na remediação de áreas contaminadas com metais pesados.

Os reconhecidos efeitos e potenciais riscos representados pelos metais pesados à saúde humana e à biota, aliados à necessidade de buscar novas alternativas tecnológicas para a remediação de solos contaminados com tais elementos químicos, motivou o desenvolvimento desta pesquisa, para investigar a aplicação da bioremediação utilizando bactérias do gênero *Acidithiobacillus* sp. A extensão da contaminação por metais pesados na Região dos Lagos de Santa Gertrudes culminou com a escolha da mesma para a realização de um estudo de caso.

2 OBJETIVOS

Esta pesquisa teve como objetivos principais, a experimentação e a avaliação do desempenho das espécies de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* utilizados como agentes biológicos, para a biolixiviação de chumbo (Pb) e zinco (Zn) presentes no solo de uma área contaminada.

Os objetivos específicos para o processo de biolixiviação foram:

- ✓ Determinar as máximas solubilizações dos elementos Zn e Pb;
- ✓ Verificar os mecanismos de remoção destes metais;
- ✓ Verificar a influência de: pH, substrato, teor de solo, adição de inóculo e duração do experimento;
- ✓ Verificar o pH como indicador;
- ✓ Avaliar o impacto da biolixiviação sobre a microbiota natural do solo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Após a introdução do leitor ao contexto ambiental em que se insere esta pesquisa, pretende-se neste capítulo, discorrer sobre o tema objeto do trabalho. Para tanto, a revisão bibliográfica foi separada em três assuntos interrelacionados: os efeitos deletérios que os metais pesados causam ou podem causar ao Homem, a dinâmica e o comportamento destes elementos no solo e, finalmente, as tecnologias em uso ou em desenvolvimento destinadas à remediação de solos contaminados com estes poluentes.

O capítulo intitulado “Técnicas de remediação de solos contaminados com metais pesados” não se limitou a discutir a biolixiviação bacteriana, que é o foco central da pesquisa, pois a carência de bibliografia nacional sobre este tema motivou a inclusão de todos os métodos e técnicas aplicáveis à remediação de solos contaminados por tais elementos.

3.1 Conceituação de termos e expressões

Antes de prosseguir, é de fundamental importância a compreensão dos principais conceitos que serão discutidos a seguir. O manual de áreas contaminadas elaborado pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB - em colaboração com o Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit -GTZ - (CETESB; GTZ, 2001), apresenta as seguintes definições para os termos de interesse nesta pesquisa:

- Área contaminada: Área onde há comprovadamente poluição causada por quaisquer substâncias ou resíduos que nela tenham sido depositados, acumulados, armazenados, enterrados ou infiltrados, e que determina impactos negativos sobre os bens a proteger;
- Área potencialmente contaminada: Área onde estão sendo desenvolvidas ou onde foram desenvolvidas atividades potencialmente contaminadoras;

- Área suspeita de contaminação: Área na qual, após a realização de uma avaliação preliminar, foram observadas indicações que induzem a suspeitar da presença de contaminação;
- Atividade potencialmente contaminadora: É aquela em que ocorre o manejo de substâncias cujas características físico-químicas, biológicas e toxicológicas podem acarretar danos aos bens a proteger, caso entrem em contato com os mesmos;
- Bens a proteger: São considerados como bens a proteger:
 - ✓ saúde e bem-estar da população;
 - ✓ fauna e flora;
 - ✓ qualidade do solo, das águas e do ar;
 - ✓ interesses de proteção à natureza/paisagem;
 - ✓ ordenação territorial e planejamento regional e urbano;
 - ✓ segurança e ordem pública.
- Valores de intervenção: São valores–limite usados para induzir medidas de remediação imediata;
- Valores de investigação: São valores–limite para uma investigação simplificada que poderá indicar a necessidade de uma investigação mais detalhada na área avaliada;
- Valores – limite: Teor máximo de determinado elemento ou substância no meio avaliado, que ao ser ultrapassado implica a adoção de ações específicas;
- Valores naturais: São as concentrações observadas naturalmente no solo, água subterrânea e outros meios.

A remediação, que pode ser definida como o conjunto de técnicas utilizadas para reduzir ou eliminar a contaminação do solo, da água superficial ou subterrânea de áreas contaminadas, é uma atividade recente que vem sendo realizada em muitos países ao redor do mundo (PAGE, 1997; GROUDEV *et alii*, 2001; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001; GENÇ *et alii*, 2002; RIVETT *et alii*, 2002). Sua complexidade e elevado custo tem motivado a busca por tecnologias mais simples e de menor custo, que assegurem resultados similares ou melhores às tecnologias já disponíveis.

Diante das diferentes definições sobre o termo metal pesado, faz-se necessário esclarecer que para efeito deste trabalho, tal termo empregar-se-á tão

somente aos elementos químicos, reconhecidamente ou potencialmente, capazes de provocar efeitos deletérios à saúde humana e aos ecossistemas.

3.2 Efeitos dos metais pesados ao Homem

O breve resumo, apresentado a seguir, sobre os metais pesados Cd, Pb, Ni e Zn, que são as espécies químicas presentes em teores considerados nocivos no solo da área contaminada em estudo, tem por objetivo ilustrar as graves implicações de saúde pública que representam estes elementos, presentes em grande número de áreas contaminadas, haja vista a vasta gama de aplicação destes metais nas mais diferentes atividades industriais desenvolvidas no Brasil e em outros tantos países.

A citação dos danos à saúde humana e aos animais tem caráter puramente informativo, pois os efeitos da exposição a qualquer substância perigosa dependem da dose, duração, forma de exposição, hábitos e peculiaridades das pessoas, animais e ambientes e da presença de outros elementos químicos. Informações detalhadas sobre os efeitos de metais sobre os genes podem ser obtidas em BEYERSMANN (2002).

Investigações toxicológicas e biológicas indicam que metais pesados, como o cádmio (Cd) e o chumbo (Pb), não são essenciais ou benéficos aos organismos vivos, nem mesmo em dosagens consideradas extremamente baixas. Outros metais como níquel (Ni) e zinco (Zn), embora não tipicamente tóxicos, podem assim tornar-se, quando em concentrações elevadas. Outro agravante está no fato de estas espécies químicas poderem ser cumulativas em organismos vivos.

O Homem pode ser exposto aos metais pesados através da respiração, ingestão de água e alimentos, contato com mucosas, etc. Estudos recentes relatam a exposição de humanos através da ingestão de frutas e vegetais, produzidos em solos contaminados com metais pesados e sugerem sua associação com o crescimento endêmico de casos de câncer gastrointestinal (TÜRKDOGAN *et alii*, 2002). Mesmo os recém-nascidos já sofrem os efeitos nocivos da contaminação com metais pesados, pois desde sua gestação, estão expostos através da dieta alimentar

da mãe e, após o nascimento, a todas as fontes ambientais existentes (PATRIARCA *et alii*, 2000).

O cádmio (Cd) é um elemento químico altamente tóxico ao ser humano, já sendo reconhecido como um elemento carcinógeno pela International Agency for Research on Cancer (BEYERSMANN, 2002; WAISBERG *et alii*, 2003). Estudos já concluídos (IPCS, 1992; ATSDR, 1999a) apresentaram os seguintes resultados sobre a exposição ao cádmio:

➤ Para cobaias (ratos e coelhos):

- ✓ Exposição através da inalação de 5 a 20 mg/m³ por 50 a 120 min: edema pulmonar letal, fibroses e aparecimento de eczemas;
- ✓ Doses a partir de 200 mg/L em água, administradas por via oral, por um período de onze meses: danos à mucosa gástrica intestinal, elevação da pressão arterial, anemia, doenças do fígado, dano no sistema nervoso;
- ✓ Injeções de 2 a 4 mg/kg de massa corpórea: necrose nos testículos, ovários, fígado e pequenos danos arteriais.

➤ Para o Homem:

- ✓ Exposição prolongada através da inalação (a partir de 5 mg/m³ por um período de oito horas): pneumonites aguda com edema pulmonar, que pode ser letal;
- ✓ Ingestão de 16 mg de cádmio por litro de água: severa irritação estomacal, indução ao vômito e diarreia;
- ✓ Exposição prolongada através da ingestão de sais solúveis de cádmio (a partir de 2,0 µg/kg/dia durante 70 anos): gastroenterite grave; acúmulo de cádmio nos rins, acarretando doenças renais, danos nos pulmões e fragilização dos ossos;
- ✓ Exposição ocupacional prolongada através da inalação (3 a 15 mg/m³ durante 20 anos): severos efeitos crônicos, predominantemente nos pulmões e rins;
- ✓ Efeitos renais crônicos também foram observados entre a população comum.

Segundo WAISBERG *et alii* (2003), o Cd é um potente carcinógeno e tem sido associado com câncer de pulmão, próstata, pâncreas e rim. Dos efeitos da exposição ao Cd, os problemas renais são os mais comuns na população não ocupacionalmente exposta (BEYERSMANN, 2002). Uma análise profunda sobre os mecanismos celular e molecular da carcinogenicidade do Cd pode ser encontrada em WAISBERG *et alii* (2003).

O chumbo (Pb) apresenta-se, na natureza, na forma de compostos inorgânicos, tais como sulfetos e óxidos; forma sais com ácidos orgânicos (e. g. láctico e acético) e também compostos orgânicos estáveis (e. g. chumbo tetrametila e chumbo tetraetila). A Agency For Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR, 1999b) e a United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2003b) apresentaram informações sobre os efeitos do chumbo sobre a saúde humana, tomando como base a concentração do metal no sangue. Dentre os principais efeitos incluem-se:

- Decréscimo de quociente de inteligência (QI) a partir de 0,02 mg/dL;
- Efeitos sobre o sistema nervoso, com déficit nas funções cognitivas, a partir de 0,03 mg/dL;
- Diminuição das funções sensoriais motoras, nervosas involuntárias e renais a partir de 0,03 mg/dL;
- Retardamento do crescimento e problemas na audição em crianças a partir de 0,02 mg/dL;
- Possibilidade de partos prematuros e de nascimento de bebês com baixo peso a partir de 0,01 mg/dL;
- Inibição da formação de hemoglobina, provocando um bloqueio metabólico e aumentando as concentrações de PbS no sangue;
- Ataxia, convulsões e até coma.

ORLOV *et alii* (1991) realizaram um estudo de saúde ocupacional em uma fábrica de PVC (policloreto de vinila), cujos trabalhadores tinham sido expostos a aerossóis e poeira contaminada com Pb, em concentrações de 12,8 mg Pb/m³ de ar a 1,0 mg Pb/m³ de ar (valor médio de 0,86 mg Pb/m³ de ar). Estes autores constataram elevado teor de Pb nos dentes (166 mg Pb/kg a 57,7 mg Pb/kg) da população de estudo em relação à de controle (6,2 mg Pb/kg). Foi observada significativa redução das funções motora e sensorial dos trabalhadores sujeitos à contaminação de 12,8 mg Pb/m³, cuja concentração de Pb no sangue alcançava 1,8 µmolPb/L (valor médio de 0,59 µmol Pb/L).

Estudos efetuados em seres humanos não comprovaram a carcinogenicidade do Pb, entretanto, roedores expostos a altas doses do metal desenvolveram tumores. Existe a suspeita do acetato e do fosfato de chumbo serem carcinógenos (ATSDR, 1999b; USEPA, 2003b).

O níquel (Ni) apresenta-se, naturalmente, na forma de óxidos e sulfetos e é amplamente utilizado na produção de ligas metálicas, as quais são empregadas na fabricação de moedas, jóias e peças metálicas em geral. Embora o Ni seja considerado um micronutriente, estudos da ATSDR (1997) apresentaram os seguintes resultados sobre a exposição ao níquel:

- Em cobaias (doses a partir de 0,02 mg/kg.d):
 - ✓ Danos nas mucosas;
 - ✓ Reação inflamatória no trato respiratório;
 - ✓ Hiperplasia epitelial;
 - ✓ Pneumoconiose;
 - ✓ Inibição na síntese do DNA;
 - ✓ Mutação cromossômica;
 - ✓ Danos aos rins e fígado;
 - ✓ Fibrose pulmonar, etc.
- Em seres humanos:
 - ✓ Sintomas da intoxicação ao carbonil níquel: cefaléia frontal, vertigem, náusea, vômito, insônia, irritabilidade, seguidos por sintomas similares a da pneumonia (doses a partir de 0,02 mg/kg);
 - ✓ A maioria dos efeitos adversos de saúde provocados pelo níquel no Homem é de origem alérgica;
 - ✓ As pessoas sensíveis ao níquel podem apresentar erupções na pele e ataques de asma após o contato com o metal ($2,0 \mu\text{g}/\text{m}^3$);
 - ✓ Efeitos crônicos: rinite, sinusite, perfuração do septo nasal, asma, fibrose pulmonar, etc (doses e tempo de exposição variáveis, tipicamente 0,020 mg/kg.dia).

As principais fontes de contaminação da população não ocupacionalmente exposta ao Ni são a ingestão de alimentos e água, além do uso de tabaco contaminado com o metal. O Ni foi considerado carcinógeno pela Organização Mundial da Saúde em 1998.

O zinco (Zn) é elemento essencial para seres humanos, animais e vegetais superiores, sendo também considerado micronutriente das plantas. Não há comprovação científica da carcinogenicidade do Zn para animais ou seres humanos, embora tenha sido demonstrado que ele inibe a ação mutagênica de alguns carcinógenos genotóxicos, por outro lado, há evidências que apontam que ele

também pode ser um co-carcinógeno (USEPA, 1992; WHO, 2001). Estudos da WHO (2001) apresentaram os seguintes resultados sobre a exposição ao Zn:

- Em cobaias (exposição prolongada):
 - ✓ Via oral: efeitos no sistema hematopoético, rins e pâncreas, efeitos sobre a reprodução (doses a partir de 150 mg/kg/dia nos alimentos administradas durante cinco meses). No geral, o aumento da ingestão de zinco provocou danos à reprodução.
- Em seres humanos:
 - ✓ Intoxicação (exposição única e breve ao zinco presente na água ou em bebidas em concentrações de 1000 a 2500 mg/L): mal estar gastrointestinal, náuseas e diarreia;
 - ✓ Ingestão desproporcional de zinco em relação ao cobre induz deficiência deste último (doses a partir de 0,3 mg/kg.dia);
 - ✓ Ingestão de fármacos contendo zinco tem sido associada a efeitos que vão desde leucopenia e/ou anemia microcítica hipocrômica até a diminuição de concentração de proteínas. Todavia, este quadro foi revertido ao interromper-se a terapia com zinco e administrar suplemento de cobre.

3.3 Dinâmica e comportamento dos metais pesados no solo

Segundo MCLEAN; BLEDSOE (1992), a mobilidade do metal no solo é determinada pelo tipo e pela quantidade de solo superficial presente, pelo teor do metal de interesse, pelo teor e tipo de íons competitivos e de agentes ligantes (orgânicos e inorgânicos), pelo pH e pelo potencial redox do solo.

Estes autores ressaltaram que a generalização pode servir apenas como um guia grosseiro do comportamento dos metais no solo e que o uso de dados de literatura ou de laboratório, que não retratem adequadamente as características do solo e dos contaminantes da área de interesse, não é adequado para a descrição ou a previsão do comportamento esperado para um dado metal.

Outros fatores que precisam ser considerados sobre a mobilidade de metais no solo são os efeitos de longa duração, que incluem a degradação de compostos orgânicos e a mudança, através de alterações naturais ou decorrentes da atividade

antrópica, do pH ou do potencial redox do solo (MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992; LAL; STEWART, 1994; EVANGÉLOU, 1998). O transporte de material particulado coloidal e o carbono orgânico dissolvido também afetam a mobilidade dos metais no solo.

Importante salientar que a simples presença de metais no solo não é indicativa de contaminação, pois pode ser devido à sua formação geológica, ou seja, é originária da matriz pedológica parental (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; LAL; STEWART, 1994; EVANGÉLOU, 1998).

3.3.1 Química do solo

Segundo CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE (2001), a aplicação do conhecimento dos princípios químicos gerais, que podem afetar as reações dos metais no solo, é um caminho eficaz para o entendimento dos processos envolvidos em sua mobilidade e comportamento.

Seguindo esta abordagem, é importante notar que no solo, os cálculos de equilíbrio de reações químicas são normalmente executados na solução do solo, o qual pode apresentar considerável salinidade ou mesmo tão baixa concentração iônica quanto à da água destilada. Logo, faz-se necessário calcular o equilíbrio em ampla faixa de concentração do íon de interesse.

As forças interiônicas de atração entre partículas de cargas elétricas opostas prejudicam significativamente sua mobilidade na solução, além de alterar sua capacidade de manifestar plenamente sua concentração (Teoria de Debye-Hückel) (STUMM, 1992; EVANGÉLOU, 1998). A intensidade do comportamento de uma espécie iônica em meio aquoso é resultado de todas estas influências, logo, a concentração efetiva deve ser distinta da concentração verdadeira.

Quando uma solução iônica está muito diluída, a concentração efetiva se aproxima da verdadeira e, teoricamente, quando a diluição for infinita (caso em que os íons estariam tão distantes entre si que não exerceriam influência elétrica uns sobre os outros), os valores numéricos de ambas as concentrações seriam iguais (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; EVANGÉLOU, 1998; CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001). Os autores alertam que embora o procedimento de utilizar a

concentração verdadeira (e. g. mol/L) seja mais freqüente, há situações em que tal procedimento introduz erros grosseiros, que resultam em sérios desvios das manifestações químicas (atividades) daquelas mostradas pelos valores das concentrações.

Portanto, cabe ressaltar que, terminologicamente, a concentração termodinâmica ou atividade deve ser diferenciada da concentração química (ou apenas concentração). A Equação 1 mostra a relação existente entre a atividade do íon (concentração efetiva) e sua concentração verdadeira:

$$\gamma_i = a_i / c_i \quad (1)$$

Onde:

a_i = atividade do íon (concentração efetiva)

c_i = concentração verdadeira (e. g. mol/L)

γ_i = coeficiente de atividade (representa o fator de correção da condição ideal para a real)

Importante notar que soluções iônicas com baixa concentração, onde os íons podem manifestar sua atividade sem interferências, $a_i = c_i$ e $\gamma_i = 1$. Já para soluções com alta concentração iônica, $a_i < c_i$ e $\gamma_i < 1$.

Durante o processo de distribuição de cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e zinco (Zn) nas camadas do solo, os raios iônicos exercem um importante papel nesta separação.

Há correlação positiva entre a quantidade de metal extraída e o teor de argila das amostras em função da diminuição dos raios iônicos dos elementos, sendo esta relação linear para elementos com número de coordenação seis (Cu, Cr e Zn). Uma explicação para tal comportamento é que, durante os processos de intemperismo e de formação do solo, estes elementos são aprisionados em posições octaédrais nos minerais secundários e são mais fortemente retidos quanto menores forem seus tamanhos (CAMARGO, ALLEONI, CASAGRANDE, 2001).

Os elementos Cd e Pb, cujos números de coordenação são maiores que seis, são muito grandes para ocupar as posições octaédrais e são mais bem correlacionados com a quantidade de matéria orgânica, o que evidencia sua ligação com o material húmico (STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998; CAMARGO, ALLEONI, CASAGRANDE, 2001).

Enfim, diversas são as variáveis que afetam a mobilidade de metais no solo e para o entendimento destes fenômenos, é fundamental o conhecimento e a compreensão da química da solução do solo, a qual será abordada, sucintamente, nos próximos parágrafos.

Os metais podem existir sob várias formas químicas na solução do solo, tanto como íons livres (e.g. Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+}), complexos orgânicos e inorgânicos solúveis (e. g. ZnCl^+ , CdCl_3^-), associados à matéria orgânica coloidal e compostos inorgânicos móveis (MCLEAN; BLEDSOE, 1992; LAL; STEWART, 1994; EVANGELOU, 1998).

A Figura 1 mostra os processos que controlam a concentração dos metais na solução do solo.

Um complexo é definido como uma unidade na qual o íon metálico central é ligado por um número de átomos ou moléculas associadas de forma definida (e.g. ZnSO_4 , CdHCO_3^+ , Cr(OH)_4^-). Já o átomo ou molécula associado(a) é denominado(a) ligante. A concentração total de metal no solo é a soma das concentrações do íon livre, dos complexos orgânicos ou inorgânicos solúveis e do metal associado com a matéria orgânica coloidal ou com compostos inorgânicos (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; EVANGELOU, 1998).

Figura 1 - Principais reações de metais na solução do solo.
Fonte: MATTIGOD *et alii* (1981) apud MCLEAN; BLEDSOE (1992).

Os metais formam complexos solúveis tanto com ligantes orgânicos quanto com inorgânicos. Dentre estes, incluem-se SO_4^{2-} , Cl^- , OH^- , PO_4^{3-} , NO_3^- e CO_3^{2-} (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; EVANGELOU, 1998). Os compostos alifáticos de baixo peso molecular, os aromáticos, aminoácidos e constituintes solúveis de ácidos fúlvicos estão entre os ligantes orgânicos (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; LAL; STEWART, 1994; EVANGELOU, 1998).

A complexação orgânica de metais não é tão bem definida quanto a inorgânica, fato que decorre da dificuldade de identificar o elevado número de ligantes orgânicos que podem estar presentes no solo (LAL; STEWART, 1994; MCLEAN; BLEDSOE, 1992).

A presença de espécies complexas na solução do solo pode afetar significativamente o transporte de metais através do mesmo, em relação ao íon metálico. Com a complexação, a espécie metálica resultante pode adquirir uma carga elétrica positiva, negativa ou neutra - CdCl_3^- , CdCl^+ , CdCl_2 (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998). O complexo metálico pode ser mais fracamente ou mais fortemente adsorvido na superfície dos constituintes minerais do solo em relação ao íon metálico livre.

A especiação do metal não afeta apenas sua mobilidade no solo como também sua biodisponibilidade e toxicidade. O íon metálico livre é, em geral, a forma mais biodisponível e tóxica (MCLEAN; BLEDSOE, 1992; EVANGELOU, 1998).

Segundo MCLEAN; BLEDSOE (1992), os métodos de previsão baseados na química da solução e da fase sólida não simulam adequadamente o transporte de metais sob condições de campo, pois a química do solo descreve a interação entre as espécies dissolvidas, termo definido como as substâncias que passam por um filtro com diâmetro de poro de $0,45 \mu\text{m}$.

Entretanto, os metais podem estar associados com partículas coloidais móveis, que incluem óxidos de ferro e manganês, argilominerais e matéria orgânica, cujas superfícies têm elevada capacidade para sorver metais (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; LAL; STEWART, 1994). Este acréscimo do transporte de contaminantes associado com material coloidal tem sido denominado de transporte facilitado.

3.3.2 Formação da fase sólida

Dentre as reações e processos químicos que os metais estão sujeitos na solução do solo incluem-se a formação da fase sólida (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; MCLEAN; BLEDSOE, 1992; EVANGELOU, 1998).

De modo geral, os metais podem precipitar e formar uma fase sólida tridimensional, cujo precipitado pode ser um sólido puro (e. g. CdCO_3 , Pb(OH)_2 , ZnS_2) ou misto (e. g. $\text{Fe}_x\text{Cr}_{1-x}(\text{OH})_3$, $\text{Ba(CrO}_4, \text{SO}_4)$). Estes últimos são formados quando os diferentes elementos presentes no sistema co-precipitam.

Íons como fosfato, sulfato, sulfeto e carbonato podem interferir nas relações de solubilidade dos elementos metálicos e formar precipitados pouco solúveis. A maior parte dos metais divalentes forma fosfato com fórmula geral $\text{M}_3(\text{PO}_4)_2n\text{H}_2\text{O}$, onde M é o metal e n o número de moléculas de água (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001).

O íon fosfato é o único estado oxidado estável. Os íons H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} são, respectivamente, predominantes em soluções ácidas e básicas. Em solos ácidos, o fosfato está associado com o cálcio. O fosfato, quando adicionado ao solo, é primeiro adsorvido rapidamente e depois é fixado, provavelmente, por precipitação, em formas menos solúveis. Sua fixação é apreciável em todos os tipos de solo, mas principalmente elevada naqueles ricos em hidróxidos de ferro e alumínio amorfos (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985).

Há diversos tipos de co-precipitação: inclusão, adsorção e formação da fase sólida, as quais são distinguidas pelo tipo de associação entre o elemento traço e o mineral hospedeiro. A formação da fase sólida ocorre quando o elemento traço é compatível com o do mineral hospedeiro, que então pode substituí-lo uniformemente.

Os mecanismos de retenção: adsorção superficial, precipitação superficial, co-precipitação e formação da fase sólida pura são difíceis de distinguir experimentalmente. Portanto, o termo sorção é utilizado quando não se sabe qual é o mecanismo responsável pela remoção do metal da solução do solo (LAL; STEWART, 1994).

O comportamento esperado para espécies catiônicas é a redução de sua solubilidade com o aumento do pH (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; STUMM,

1992; EVANGELOU, 1998). A atividade da solução de Cd é consideravelmente maior do que a do Pb, comportamento que indica que o primeiro pode ser mais móvel no ambiente.

A formação da fase sólida pode não ser um importante mecanismo comparado com a adsorção em solos naturais, devido às baixas concentrações de elementos-traço nestes sistemas. Todavia, reações de precipitação podem ter importância significativa em sistemas onde as concentrações de metais são elevadas, caso de áreas contaminadas.

Na fase sólida, pode ocorrer o acúmulo de elementos químicos mediante diferentes vias, com diversos níveis energéticos, que estabelecem a maior ou menor reversibilidade de suas reações de precipitação, dissolução, adsorção e de óxido-redução. Tais reações é que determinam a quantidade do elemento que estará disponível na solução do solo (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001).

3.3.3 Reações de superfície

A adsorção difere da precipitação, pois o metal não forma uma nova fase sólida tridimensional; ao invés disso, associa-se à superfície das partículas de solo (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998). A matriz do solo inclui matéria orgânica; argilominerais; óxidos de ferro, alumínio e manganês; hidróxidos; carbonatos e aluminossilicatos amorfos.

3.3.3.1 Matéria orgânica

A fração orgânica do solo é composta de organismos vivos, plantas mortas e resíduos de animais. Em massa, a fração orgânica é a porção mais quimicamente ativa do solo; funciona como um reservatório de vários elementos essenciais; confere uma boa estrutura ao solo; é uma fonte de capacidade de troca catiônica e

de tamponamento de pH; promove boa relação ar-água; é a maior fonte geoquímica de carbono no solo (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985).

Sob a ótica estritamente química, a matéria orgânica do solo é formada basicamente por dois grupos de compostos principais, os compostos não nitrogenados; formados principalmente por carboidratos; e os compostos nitrogenados; derivados principalmente de proteínas (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; EVANGELOU, 1998). Outra subdivisão grosseira da matéria orgânica é entre fração húmica e não húmica (VERNET, 1991).

Dentre os compostos que integram a matéria orgânica do solo inclui-se: sacarídeos, aminoácidos, aminoácidos, aminoácidos heterocíclicos, amidos. Tais compostos surgem da decomposição da matéria orgânica vegetal, promovida por microrganismos e que tem como produto final, o humus. A matéria orgânica encontrada nos solos é composta, principalmente, por substâncias húmicas e pode atingir expressiva participação na composição do solo, mas raramente atinge até 75 % em massa (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; VERNET, 1991; EVANGELOU, 1998).

Substâncias húmicas são definidas como polímeros condensados de compostos aromáticos e alifáticos, produzidos pela decomposição de resíduos de plantas e animais, mediada pela síntese microbiológica. São substâncias amorfas, de cor escura, hidrofílicas, têm ampla variação de peso molecular e com base em seu comportamento de solubilidade, são divididas em três principais grupos: a) ácidos húmicos, solúveis em álcali diluído, mas precipitados em solução ácida; b) ácidos fúlvicos, solúveis em solução alcalina e ácida; c) humina, insolúvel em solução alcalina e ácida (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; VERNET, 1991; EVANGELOU, 1998).

As substâncias húmicas exibem: polifuncionalidade devido a ampla faixa de reatividade do grupo funcional; carga molecular negativa, devido à dissociação de prótons dos vários grupos funcionais; hidrofília, devido à formação de fortes ligações de hidrogênio com a água das moléculas; confiabilidade estrutural, devido à associação intramolecular e mudanças da conformação molecular em resposta às alterações de pH, potencial redox, concentração de eletrólito e ligação com grupos funcionais (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; VERNET, 1991; EVANGELOU, 1998).

Em pH baixo, as moléculas de ácido húmico são agregadas sob a forma de partículas coloidais de baixa ou nenhuma carga, que precipitam. Nesta condição, os ácidos húmicos e fúlvicos podem ser separados (VERNET, 1991).

Ligações de metais com matéria orgânica envolvem um contínuo de sítios reativos, variando de forças fracas de atração até fortes ligações químicas. As substâncias bioquímicas e húmicas fornecem sítios – grupos funcionais ácidos, tais como o carboxílico, o fenólico, o alcoólico e o amino - para adsorção do metal. Nos solos não contaminados, as substâncias húmicas são de origem natural, mas em solos contaminados, os polímeros podem ter como origem o descarte de resíduos ou águas residuárias no solo (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; VERNET, 1991; MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992).

Segundo CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE (2001), embora a ligação entre metal e matéria orgânica possa ser vista como do tipo troca iônica entre o íon H^+ dos grupos funcionais e os íons metálicos, o alto grau de seletividade exibido pelas substâncias húmicas por certos metais sugere que eles coordenem diretamente com aqueles grupos, formando complexos de esfera interna.

As reações químicas de superfície produzem cargas elétricas que dependem do grau de ionização e do pH da solução e estão associadas com as bordas dos argilominerais, com as superfícies de óxidos, hidróxidos e carbonatos e com a matéria orgânica (grupos funcionais ácidos). As cargas surgem da associação e dissociação de prótons da superfície de grupos funcionais. O desenvolvimento de cargas na matéria orgânica é inteiramente dependente do pH e está principalmente associada com a dissociação do H^+ dos grupos carboxílico e fenólico (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985).

Segundo SPOSITO (1989), quando as moléculas de solvatação de um cátion na solução do solo se orientam e estabelecem interações de ordem eletrostática com os grupos funcionais da matéria orgânica, é formado um complexo de esfera externa. Quando as moléculas de água que solvata um cátion são trocadas pelos grupamentos funcionais e o cátion passa a se coordenar diretamente aos mesmos por meio de ligações covalentes, é formado um complexo chamado de esfera interna. A Figura 2 mostra, de forma esquemática, os complexos de esfera interna e externa.

Complexo superficial de esfera interna: K^+ em vermiculita

Complexo superficial de esfera externa: $Ca(H_2O)_6^{2+}$ em montmorilonita

Figura 2 - Representação esquemática entre complexos de esferas interna e externa com cátions metálicos e cavidades ditrigonais siloxane 2:1 de argilominerais.

Fonte: SPOSITO (1984) *apud* EVANGELOU (1998).

3.3.3.2 Argilominerais, óxidos, hidróxidos e carbonatos

As partículas inorgânicas coloidais do solo são compostas, basicamente, por argilominerais e óxidos e hidróxidos de ferro, de alumínio e de manganês. O grupo dos argilominerais inclui a caulinita, a haloisita, a montmorilonita, a illita, a clorita e a vermiculita com hidróxido de alumínio entre camadas. Estes argilominerais sofrem modificações estruturais durante o processo de intemperismo, que provocam o aparecimento de cargas negativas em suas superfícies (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001).

Segundo STUMM (1992), as superfícies das partículas sólidas podem desenvolver cargas elétricas através de três vias principais: a) reações químicas de superfície; b) imperfeições na superfície sólida causada por substituições isomórficas internas; c) adsorção de espécies hidrofóbicas ou surfactantes.

De maneira geral os óxidos de Fe e Mn são os principais componentes do solo, que controlam a mobilidade dos metais. Em solos áridos, carbonatos minerais podem imobilizar metais, provendo uma superfície de adsorção e nucleação (MCLEAN; BLEDSOE, 1992).

Os óxidos metálicos e outros não silicatos ou silicatos minerais exibem cargas, devido à protonação e à desprotonação do oxigênio coordenado ao metal (Fe^{3+} , Mn^{3+} , Mn^{4+} , Al^{3+} e Si^{4+}) e de grupos funcionais de superfície. Tais cargas,

positivas ou negativas, são dependentes do pH e podem variar de 1mmol/100 g de solo a 30 meq/100g de solo (EVANGELOU, 1998).

Tanto as cargas negativas ou positivas geradas nestas condições são chamadas de dependentes, pois são modificadas pelo pH, pela força iônica da solução e pela valência do íon predominante. Sob condições mais ácidas, a maioria das superfícies estará carregada positivamente e sob condições mais alcalinas, negativamente (STUMM, 1992, CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001).

Os óxidos minerais de ferro, alumínio, titânio, manganês e magnésio não possuem carga permanente, conseqüentemente, sua capacidade de troca catiônica ou aniônica depende do pH do sistema. Soluções de solo que contenham grande quantidade de óxidos de ferro e alumínio têm cargas com forte dependência do pH e valores muito variáveis de capacidade de troca catiônica (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985).

As imperfeições na superfície sólida, causadas por substituições isomórficas internas, produzem cargas elétricas superficiais permanentes nas partículas, ou seja, tais cargas não dependem do pH ou da concentração iônica da solução que as rodeia. As cargas negativas permanentes nas superfícies resultam da substituição isomórfica (ou iônica) do Si^{4+} pelo Al^{3+} em camadas tetraédricas e/ou na substituição do Al^{3+} pelo Mg^{2+} , Fe^{2+} e outros cátions divalentes nas camadas octaédricas de argilas de aluminosilicatos (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; STUMM, 1992; MCLEAN; BLEDSOE, 1992; CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001).

A adsorção de uma espécie hidrofóbica ou um surfactante pode estabelecer uma carga elétrica superficial em uma partícula, pois a adsorção preferencial de uma superfície iônica ativa pode surgir de uma ligação hidrofóbica, de uma ligação do tipo ponte de hidrogênio ou de forças de London-van der Waals. Espécies iônicas, carregando um radical hidrofóbico, podem ligar-se intra ou extra esfericamente na superfície hidratada de uma partícula (STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998).

Como descrito anteriormente, diferentes tipos de cargas de superfície contribuem para a carga total das partículas, logo, o estado elétrico da superfície depende da distribuição das cargas livres – eletrônica ou iônica – em sua vizinhança. Tal distribuição é normalmente idealizada como uma dupla camada elétrica; uma camada é imaginada como uma carga fixa ou uma carga superficial anexa à superfície da partícula sólida, enquanto a outra é distribuída mais ou menos

difusamente no líquido em contato. A Figura 3 mostra uma representação esquemática da dupla camada.

Figura 3 – Representação esquemática da dupla camada.
Fonte : QMCWEB (2006).

Tal modelo é conhecido como de Gouy-Chapman (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; STUMM, 1992). Para contornar as dificuldades deste modelo, devido às pequenas distâncias e elevado potencial de superfície, condição que resulta em concentração muito elevada de íons próximos à superfície, Stern sugeriu que esta fosse dividida em duas partes: a primeira, constituída de uma camada compacta de íons adsorvidos na superfície e, a segunda, de uma camada difusa. No tratamento de Stern, o H^+ e OH^- são incorporados no sólido e os íons adsorvidos especificamente são alocados em um plano separado do sólido por uma curta distância. No modelo de formação de complexos superficiais, tanto os íons

adsorvidos quanto o H^+ e OH^- pertencem à fase sólida (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; STUMM, 1992).

A capacidade de troca catiônica é uma medida da capacidade de adsorção de cátions pelos sítios de carga negativa do solo. Este fenômeno possui as seguintes características: é reversível; é controlado pela difusão iônica; é estequiométrico; na maioria dos casos, há seletividade ou preferência de um íon por outro, que está relacionada com o raio iônico hidratado e com a energia de hidratação dos cátions de mesma valência. Um íon de raio iônico hidratado grande é retido com menor intensidade, enquanto que um íon de raio menor chega mais perto da superfície (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE 2001).

Diversos tipos de complexos podem ser formados entre o metal e os grupos funcionais da superfície do solo. Metais em associação com um íon difuso ou em um complexo externo estão rodeados por água de hidratação e não estão diretamente ligados à superfície do solo. Estes íons acumulam-se na interface das superfícies carregadas em resposta às forças eletrostáticas. Estas reações são rápidas e reversíveis, com uma fraca dependência da configuração eletrônica da superfície do grupo e do íon adsorvido.

Estas duas interações metal-superfície também têm sido denominadas de reações de troca, devido à introdução de outros cátions no sistema. Em concentrações suficientes, estes causam a substituição ou troca do cátion original. Metais associados com sítios de troca podem, dependendo do ambiente, ser relativamente móveis.

Na complexação de esfera interna, o metal está ligado diretamente à superfície do solo e não há água de hidratação, o que é distinguido do estado trocável, pela ligação ter um caráter iônico e/ou covalente entre o metal e a superfície. Uma energia de ligação muito maior está envolvida do que em reações de troca e esta depende da configuração eletrônica do metal e da superfície do solo. Este mecanismo de adsorção é chamado de específica.

O termo “específica” implica que existem diferenças na energia de adsorção entre cátions, tais que outros íons, incluindo o Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , não competem efetivamente pelos sítios ativos. Cátions metálicos especificamente adsorvidos são relativamente imóveis e não são afetados por altas concentrações dos principais

cátions, em virtude de grande diferença de suas energias de adsorção (MCLEAN; BLEDSOE, 1992).

A afinidade relativa da superfície do solo por um cátion metálico cresce com a tendência deste em formar ligações fortes, isto é, complexos internos nas esferas com as superfícies. A ordem geral de preferência por cátions monovalentes pela montmorilonita é $Cs > Rb > K = NH_4 > Na > Li$ (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998). Para os metais alcalinos terrosos, a ordem é: $Ba > Sr > Ca > Mg$. A série de preferência indica uma maior atração do cátion menos hidratado pela superfície.

Para metais de transição, o tamanho do cátion hidratado não pode ser usado como único modo de prever a tendência à adsorção, pois a configuração eletrônica do metal desempenha um papel importante neste fenômeno. A Tabela 1 mostra a afinidade relativa da sorção de alguns metais para alguns tipos de solos e minerais. Embora exista uma elevada afinidade destas superfícies por Pb e Cu, comparado com Zn e Cd, a ordem específica da afinidade de sorção depende das propriedades dos metais, tipo de superfície e condições experimentais.

Tabela 1 – Afinidade relativa de sorção de metais em alguns tipos de solo e minerais.

Solo ou constituinte do solo	Ordem relativa de sorção
Goethita	$Cu > Pb > Zn > Co > Cd$
Óxido de ferro	$Pb > Cu > Zn > Cd$
Montmorilonita	$Cd = Zn > Ni$
Caulinita	$Cd > Zn > Ni$
Solos	$Pb > Cu > Zn > Cd > Ni$
Solos	$Zn > Ni > Cd$
Solos minerais	$Pb > Cu > Zn > Cd$
Solos orgânicos	$Pb > Cu > Cd > Zn$
Solo	$Pb > Cu > Zn > Ni$

Fonte: MCLEAN; BLEDSOE (1992).

3.3.4 Isotermas de adsorção

A capacidade de adsorção do solo é determinada pelo número e pelo tipo de sítios disponíveis. A adsorção do cátion metálico tem sido correlacionada com propriedades do solo como pH, potencial de óxido-redução, conteúdo de argila, matéria orgânica, óxidos de Fe e Mn e carbonato de cálcio. Os processos de adsorção são afetados por diversos destes fatores, além da forma do metal adicionado ao solo e do solvente introduzido junto com o metal. Os resultados destas interações podem aumentar ou diminuir o movimento dos metais na água do solo (EVANGELOU, 1998).

Estudos de sorção são normalmente conduzidos para avaliar a extensão da retenção de um metal por um solo ou um de seus constituintes. Podem, ainda, ser utilizados como uma tentativa de gerar o coeficiente de distribuição no equilíbrio e também para a comparação da retenção relativa de diversos metais por um solo ou pela retenção relativa de um metal por diversos tipos de solo. Tais estudos também são usados para avaliar o efeito causado por mudanças em parâmetros da solução do solo (e. g. pH, força iônica, adição de cátions competitivos, adição de ligantes orgânicos ou inorgânicos) sobre a retenção do metal (STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998).

As equações mais freqüentemente usadas, por sua relativa simplicidade, para descrever o comportamento da sorção de metais em solo são as de Langmuir e de Freundlich (STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998).

A equação de Langmuir foi desenvolvida para modelar a adsorção de um gás sobre superfícies sólidas. A derivação desta equação foi baseada na suposição que a adsorção é independente da cobertura da superfície, que não existe interação entre íons adsorvidos e que, somente uma monocamada de adsorção é formada. Estas condições não são tipicamente encontradas na sorção de metais no solo. A equação de Freundlich é uma equação derivada empiricamente para descrever a redução logarítmica na energia de adsorção com relação ao aumento da superfície coberta (STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998).

As expressões das isotermas de Langmuir e de Freundlich têm provado serem valiosas na interpretação do comportamento de metais em solos. As equações das isotermas de adsorção foram, entretanto, desenvolvidas para modelar

a adsorção de gás em sólidos. Entretanto, a sorção de metais por sólidos viola muitas das suposições associadas com tais equações. Também, o mecanismo descrito por estas equações é adsorção, mas é impossível distinguir entre reações de adsorção e de precipitação no solo (MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998).

Equações de isotermas de adsorção não deveriam ser utilizadas para indicar mecanismos sem evidências adicionais, mas elas podem ser usadas para a descrição empírica de dados. Portanto, a aplicabilidade de equações de isotermas de adsorção para a interpretação do fenômeno químico do solo é um assunto controverso.

3.4 Tecnologias de remediação de áreas contaminadas com metais pesados

A seleção da(s) técnica(s) a ser(em) utilizada(s) em um projeto de remediação de solo contaminado apresenta como fatores comuns à maioria das referências bibliográficas consultadas: características do sítio, teores e tipos de poluentes, uso futuro da área, efetividade na redução do risco oferecido pelo contaminante, aplicabilidade ao tipo de contaminante; disponibilidade e custo (MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001; RIVETT *et alii*, 2002).

A revisão da literatura consultada permitiu concluir que diversos países têm investido no aprimoramento das tecnologias já dominadas e no desenvolvimento de novas alternativas, que possibilitem a efetiva remediação de áreas contaminadas com metais pesados. A distinta abordagem dada à questão da contaminação de solos em cada país decorre das diferentes interpretações quanto à importância do problema – o que pode ser “associado” à presença ou ausência de eventos envolvendo a contaminação e morte de seres humanos – que se refletem na legislação local e nas ações dos órgãos executores e fiscalizadores incumbidos de sua aplicação.

As diferentes posturas, quanto à questão da importância e da necessidade de remediação de áreas contaminadas, podem ser ilustradas através de casos de contaminação como os de Minamata - Japão, 1959 (TED, 1996; ALLCHIN, 2006; BOYES; ELLIOTT, 2006); Love Canal - EUA, 1978 (PAGE, 1997; STOSS; FABIAN,

2000; TSFAA, 2001); Lekkerkerk, Holanda, 1980 (PAGE, 1997); Santo Amaro da Purificação - Brasil, 1975 (CARAVALHO *et alii*, 1987; CARAVALHO *et alii*, 2003; MAZONI; CUIUMJIAN, 2002).

A contaminação da baía de Minamata foi provocada pela Corporação Chisso, que descartou, a partir de 1932, resíduo com mercúrio. Este foi incorporado na cadeia alimentar, sob a forma de cloreto de metil-mercúrio e contaminou peixes e ostras, que foram consumidos pela população local. Apesar da epidemia ter se iniciado em 1953, somente em 1959, ela foi associada à contaminação com o mercúrio. Até março de 2000, a “doença de Minamata” tinha oficialmente afetado 2.264 pessoas, que se considerados os casos não oficiais, pode ter atingido 10.000 indivíduos. Oficialmente, durante a epidemia, morreram 43 pessoas e aproximadamente 700 sobreviventes ainda carregam severas seqüelas permanentes (TED, 1996; ALLCHIN, 2006; BOYES; ELLIOTT, 2006).

No caso do Love Canal, a empresa Hooker Chemical armazenou em sua área, no período de 1942 a 1953, aproximadamente 21.000 toneladas de resíduos acondicionados em tambores ou mesmo em forma líquida, que incluíam os compostos: lindano, diversos solventes clorados, benzeno, tolueno, pesticidas e dioxinas. Após fortes chuvas e nevascas nos anos de 1975 e 1976, partes do antigo aterro da Hooker se romperam e a contaminação atingiu a população do Love Canal. Embora os primeiros efeitos sobre a população local tenham sido a redução de peso e sérios defeitos congênitos dos recém nascidos, somente em abril de 1978, quando a contaminação já tinha afetado até as estruturas das casas, 237 famílias foram removidas do site e mais de 100 foram retiradas em 1979 (STOSS; FABIAN, 2000; TSFAA, 2001).

O episódio de contaminação de Lekkerkerk originou-se na década de 1970, quando resíduos industriais contaminados foram utilizados como material de aterro para a construção de 268 casas, em uma área de 8,9 hectares. Metais pesados e compostos orgânicos, particularmente hidrocarbonetos aromáticos, álcoois, acetonas e ésteres, foram encontrados no solo e nas águas superficial e subterrânea da vizinhança. Foram identificados os compostos xileno e tolueno, em concentrações de até 1000 ppm, na atmosfera do interior das residências (PAGE, 1997).

Em 1980, as autoridades evacuaram a área e iniciaram sua remediação. O solo contaminado, aproximadamente 153.000 toneladas, foi escavado, removido e tratado em incinerador. A água superficial foi captada e tratada antes de ser

devolvida ao Rio Lek. A remediação deste sítio teve custo de US\$ 65 milhões (PAGE, 1997).

Os eventos que envolvem a contaminação de Santo Amaro da Purificação tem origem em 1960; quando entrou em operação neste município baiano uma fundição primária de chumbo; e estendem-se até os dias atuais, embora o processamento de minério tenha sido interrompido em 1993. O minério de Pb utilizado na fundição tinha como principal contaminante o cádmio.

Até 1980 estima-se que tenha sido descartado no ambiente 400 toneladas de Cd que em conjunto com resíduos de Pb; foram utilizados até para pavimentar vias públicas e quintais de casas; expuseram o meio ambiente e a população aos seus efeitos nocivos. A poluição foi intensa na bacia do Rio Subaé, que atravessa o terreno da empresa, e o passivo ambiental inclui 500.000 toneladas de escória espalhadas pela área da empresa e pela cidade (MAZONI; CUIUMJIAN, 2002; CARVALHO *et alii*, 2003)

Estudo realizado com 555 crianças de um a nove anos de idade, que residiam num raio de até 900 metros da chaminé da fundição, mostraram que 16 % delas apresentavam PbS no sangue superior a $3,36 \mu\text{mol/L}$ (ou $70 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$) concentração esta que denotava risco eminente à saúde, podendo demandar tratamento quelante imediato. Quanto ao CdS no sangue, das 396 crianças avaliadas, 96 % apresentaram CdS igual ou superior a $0,0089 \mu\text{mol/L}$ (ou $1,0 \mu\text{g/L}$), que é tomado comumente como valor de referência (CARVALHO *et alii*, 1987).

Em 1998, novo estudo com 47 crianças de 1 a 4 anos mostrou que 88 % delas apresentavam concentração de Pb no sangue maior do que 10 mg/dL , e que em 32 % excediam 20 mg/dL (CARVALHO *et alii*, 2003).

Outros estudos evidenciaram elevadas concentrações de Pb e Cd em sedimentos e moluscos de todo o ecossistema ao norte da Baía de Todos os Santos, local onde desagua o Rio Subaé (CARVALHO *et alii*, 2003).

Estes eventos trágicos forçaram a mudança da legislação e da postura destes e de outros países frente à questão da contaminação do solo e da água subterrânea, que passaram então, a desempenhar um papel mais pró-ativo em relação às ações de identificação e remediação de áreas contaminadas.

A ausência de casos graves de contaminação em seres humanos, o reconhecimento da gravidade da questão, aliados às particularidades culturais e

políticas de uso do solo, surgem como fatores possíveis para explicar a abordagem dada à questão do gerenciamento de áreas contaminadas em alguns países.

O Brasil segue atualmente um caminho já trilhado pela Grã-Bretanha, que abordou a questão reativamente, isto é, a área contaminada somente era descoberta e remediada quando fosse destinada a projetos de desenvolvimento do local ou fosse alvo de reclamações por parte da sociedade. A Inglaterra deu início às mudanças da abordagem desta questão com a implantação do primeiro conjunto de regulamentos do Environmental Act de 1995, por meio do “The Contaminated Land (England) Regulations” de 2000 (RIVETT *et alii*, 2002).

No outro extremo, estão os países que simplesmente não consideram prioritário o problema do manejo e do gerenciamento de áreas contaminadas, seja pela “inexistência” das mesmas ou pela irrelevância conferida à questão.

O Brasil não pode e nem deve passar décadas simplesmente discutindo e desenvolvendo modelos de gestão de áreas contaminadas; há certamente necessidade destas discussões, todavia, não é nada proveitoso e nem produtivo a reinvenção de modelos de gerenciamento, que já demonstraram sua efetividade e eficácia em outros países, embora seja necessária a adequação daqueles às necessidades e peculiaridades brasileiras.

Esforços devem ser concentrados na identificação e no desenvolvimento de técnicas e de processos de remediação de áreas contaminadas (incluindo solo, sedimentos e água subterrânea), que possibilitem a destruição dos contaminantes alvos, embora seja uma realidade latente que métodos de transferência ainda continuarão em uso por longo espaço de tempo.

As técnicas e processos de transferência de contaminantes são uma abordagem simplista para solução do problema, pois se constituem em uma solução temporária e de curto prazo. Em particular, no caso dos metais pesados, visto que não há como destruí-los, apenas modificar seu estado de oxidação e/ou transferi-los, há necessidade do desenvolvimento de tecnologias mais eficientes e eficazes que garantam seu aproveitamento em produtos ou aprisionamento em matrizes de elevada vida útil.

As técnicas tradicionais de remediação de solos contaminados com metais pesados são baseadas em processos físicos, químicos, térmicos ou uma combinação entre eles e, pela utilização de plantas (fitoremediação).

O uso de microrganismos para o tratamento de solos e resíduos contaminados com metais pesados é uma alternativa tecnológica que tem sido estudada e avaliada somente nas duas últimas décadas e os resultados obtidos em experimentos em escala laboratorial e piloto permitem concluir que tal abordagem é possível e viável (KREBS *et alii*, 1997; BROMBACHER; BACHOFEN; BRANDL, 1998; STEED *et alii*, 2000; BRANDL, 2001; BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN, 2001; LLOYD, 2002).

Segundo a USEPA (1997c), as tecnologias úteis e eficazes para a remediação de solos contaminados com os metais pesados podem ser divididas em três grupos:

- Contenção: encapsulamento e barreiras (vertical e horizontal);
- Estabilização/solidificação: encapsulamento com resina ou cimento e vitrificação;
- Separação/concentração: lavagem, aspersão, dessorção térmica e eletrocinética.

Em face de carência de bibliografia nacional sobre as tecnologias disponíveis para a remediação de solo contaminado com metais pesados, optou-se por apresentar uma descrição geral dos principais métodos e técnicas empregadas para solos, assim como para o lixiviado produzido. Além da descrição das diferentes técnicas disponíveis, serão fornecidos exemplos de aplicações reportadas na literatura consultada.

3.4.1 Dessorção térmica

A dessorção térmica é uma técnica *ex situ*, que utiliza energia calorífica para aquecer solo e/ou resíduo contaminado até obter a volatilização dos compostos orgânicos, água e metais de baixo ponto de sublimação. Um sistema de arraste com gás ou vácuo transporta o material volatilizado para um sistema de tratamento de gases, que remove os contaminantes através de processos físicos e/ou químicos. Baseado na temperatura do forno, os processos de dessorção podem ser agrupados em dois grupos: de alta temperatura, 320 °C a 560 °C, e baixa temperatura, 90 °C a 320 °C (FREEMAN; HARRIS, 1995; PAGE, 1997; WATTS, 1997; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

Embora a dessorção térmica seja uma técnica eficiente para a remoção de compostos orgânicos, sua eficiência para a remoção de metais é limitada, exceto para o Hg e o Pb. A temperatura utilizada no processo geralmente não oxida os metais presentes no meio contaminado; outra fonte de interferência é a presença de compostos clorados, que podem afetar a volatilização de alguns metais (e.g. chumbo). Portanto, não é uma alternativa para a remediação de áreas contaminadas exclusivamente por metais, todavia, pode ser aplicada em áreas contaminadas com compostos orgânicos e metais e, neste caso, poderá ocorrer a remoção parcial de espécies metálicas com baixo ponto de sublimação. As emissões geradas durante o processo de remediação devem ser tratadas, sendo a adsorção em carvão ativado, uma das alternativas empregadas (WATTS, 1997).

A Figura 4 mostra as principais unidades e processos envolvidos em um projeto de remediação de solo utilizando dessorção térmica.

A Federal Remediation Technologies Roundtable - FRTR (2000) e a USEPA (2003c) relataram a utilização da dessorção térmica para a remediação de solo contaminado por compostos orgânicos e metais em dois sítios. O primeiro caso, o Letterkenny Army Depot. Superfund Site teve seu solo remediado entre setembro/1993 a outubro/1994. Os principais contaminantes da área eram o tricloroetileno (TCE) e o chumbo, cujos teores máximos no solo eram de 30 g/kg e 10 g/kg, respectivamente. Os objetivos do projeto eram reduzir os teores de TCE para 0,05 mg/kg e o de Pb (não foi especificada a meta para este elemento no artigo).

Neste projeto de remediação, foram tratados 13.106 m³ de solo contaminado, com umidade de 15 % a 25 %, a temperaturas de até 232 °C. Embora 3.500 m³ de solo não tenham atendido a redução desejada para o Pb (na referência, não foi citada a meta) e tenha sido necessária sua estabilização para disposição em aterro externo, foi atingida a meta para a redução do TCE. O custo desta aplicação, em escala real, foi de US\$ 287,70/m³ de solo tratado.

A USEPA (1997d) relatou a utilização da dessorção térmica no Arlington Blending and Packaging Superfund Site, onde os trabalhos de remediação foram executados entre janeiro a julho de 1996, em uma área de 0,93 ha, cujo solo estava contaminado com até 390 mg clordano/kg, até 70 mg endrin/kg, até 130 mg pentaclorofenol/kg e até 370 mg As/kg. Os objetivos deste projeto, fixados pelo Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act

(CERCLA), eram reduzir os teores dos contaminantes no solo para os seguintes valores: 3,3 mg clordano/ kg; 0,608 mg endrin/kg; 0,3 mg heptacloro/kg; 0,635 mg pentaclorofenol/kg; 0,2 mg epóxido de heptacloro/kg e 25 mg a 100 mg As/kg.

Figura 4 – Esquema genérico de um processo de dessorção térmica aplicada à remediação de solo contaminado.

Fonte: USEPA (1997a).

Nesta aplicação em escala real, foram escavados até uma profundidade média de 2,10 m e processados em temperaturas de 304 °C a 399 °C, 42.095 t (11.470 m³) de solo contaminado (areno siltoso, 17 % de umidade e pH = 6,8) e, deste total, apenas 500 t não atenderam o limite máximo imposto para o As e tiveram de ser dispostas em aterro externo ao sítio. Os gases da queima foram submetidos a tratamento (sistema composto por ciclones e colunas de carvão ativado) para remoção do As volatilizado. O monitoramento dos gases revelou que a eficiência de remoção de As foi superior a 99,99 %. Os objetivos de redução dos compostos orgânicos foram atingidos, embora tenha havido a necessidade de realizar o reprocessamento de uma parcela da massa total de solo. O custo desta aplicação foi de cerca de US\$ 105/t de solo tratado.

A USEPA (2002a) e a FRTR (2002) relataram a aplicação da dessorção térmica no aterro sanitário Lipari, durante o período de setembro/1994 a setembro/1999, onde 72.576 t de solo foram remediados a temperaturas de 390 °C a 454 °C. Este continha os seguintes teores de poluentes (USEPA, 1988): 11 mg

Sb/kg, 30 mg As/kg, 35 mg Ba/kg, 1,6 mg Be/kg, 50 mg Cd/kg, 251 mg Cr/kg, 13 mg Co/kg, 763 mg Cu/kg, 56 mg Pb/kg, 1,4 mg Hg/kg, 19 mg Ni/kg, 1 mg Ag/kg, 94 mg V/kg e 278 mg Zn/kg. Neste projeto, 95 % da massa de solo atingiu os objetivos de remoção desejados (10 mg Sb/kg, 20 mg As/kg, 400 mg Ba/kg, 1 mg Be/kg, 3 mg Cd/kg, 100 mg Cr/kg, 170 mg Cu/kg, 500 mg Pb/kg, 4 mg Se/kg, 1 mg Mb/kg, 1 mg Hg /kg, 100 mg Ni/kg, 5 mg Ag/kg, 5 mg Tl/kg, 100 mg V/kg, 35 mg Zn/kg), sendo que o custo da aplicação foi de US\$ 75,00/t de solo tratado.

Outro caso de aplicação da tecnologia, reportado por FRTR (2002) e USEPA (2003d), foi o de Cape Fear Wood Preserving, cujo solo tinha sido contaminado com hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, benzeno e metais (As, Cr e Cu). O solo da área foi contaminado, durante décadas, por descargas provenientes da preservação de madeira.

A despeito da referência bibliográfica não citar os teores iniciais dos poluentes, a tecnologia foi aplicada de julho/1998 a abril/1999, em temperatura de 455 °C, para o tratamento de 154.496 t (86.400 m³) de solo contaminado e mostrou-se eficiente na remoção dos contaminantes presentes, tendo reduzido o teor de metais a 94 mg As/Kg e 88 mg Cr/kg. O custo desta aplicação foi de US\$ 64,00/t de solo tratado.

3.4.2 Lavagem

A lavagem é uma técnica de tratamento que pode ser desenvolvida *in situ* ou *ex situ*. A alternativa *ex situ* envolve a remoção do solo ou do sedimento contaminado e o seu processamento em uma unidade de tratamento. Este processo pode incluir a separação e lavagem somente da fração de finos (argila e silte) ou de todo o material contaminado. A tendência de concentração dos metais pesados, assim como de outros contaminantes, nas menores partículas de solo justifica sua segregação e possibilita que um menor volume de material seja submetido ao tratamento e, por consequência, o processo tenha menor custo final (USEPA, 1991; WATTS, 1997).

O agente químico utilizado neste tipo de lavagem deve possuir a capacidade de dessorver e mobilizar as espécies metálicas adsorvidas nas partículas de solo e,

dentre as substâncias que possuem tais características, incluem-se ácidos, quelantes e surfactantes. A escolha do agente a ser empregado depende tanto de sua disponibilidade e custo, quanto das características físico-químicas do solo e da presença de espécies ou substâncias químicas com as quais ele possa reagir e formar subprodutos indesejados.

O uso de ácido durante a etapa de lavagem deve-se à sua capacidade de reduzir o pH até valores que permitam a solubilização das diferentes espécies metálicas presentes no meio, entretanto, seu uso acarreta alterações químicas e físicas no solo, devido à dissolução dos minerais presentes, o que acaba por reduzir a sua fertilidade. Solos com pH acima de 7,0 podem demandar considerável quantidade de ácidos e, neste caso, torna-se mais viável o uso de um quelante. A utilização de EDTA, o agente quelante mais comum, deve ser cuidadosamente analisado face às suas implicações de saúde e segurança, pois é um composto de baixa e lenta degradação, além de ser difícil a separação do metal pesado contido no complexo organometálico formado (HONG; TOKUNAGA; TAJIUCHI, 2002).

HONG; TOKUNAGA; TAJIUCHI (2002) investigaram o uso da saponina, um biosurfactante extraído de vegetais, para a remediação de três diferentes tipos de solos contaminados com metais pesados (solo A: 1484 mg Cd/kg, 2155 mg Cu/kg, 7288 mg Pb/kg, 692 mg Zn/kg; solo B: 1026 mg Cd/kg, 2181 mg Cu/kg, 7161 mg Pb/kg, 551 mg Zn/kg e solo C: 701 mg Cd/kg, 1521 mg Cu/kg, 5253 mg Pb/kg, 472 mg Zn/kg) e concluíram que a remoção dos metais variava em função da concentração de saponina e do pH do meio. Neste estudo, obteram-se remoções acima de 99,99 % de Cd (pH ~ 3,0, solos B e C), 60 % de Cu (pH = 4,0, solo C), 50 % Pb (pH = 3,5, solo C) e 50 % de Zn (pH ~ 4,0, solos A, B e C).

Após a lavagem, o solo pode retornar à área sob intervenção ou receber outra destinação. A água de lavagem, que contém os íons metálicos, pode ser tratada através de processos físico-químicos tradicionais (precipitação, oxidação) ou de processos mais avançados (e.g. membranas), decisão que depende da viabilidade ou não da recuperação dos metais presentes.

Dentre os fatores que afetam negativamente o desempenho e a aplicabilidade desta técnica incluem-se:

- Fração de finos: quanto maior sua quantidade, menor será a eficiência do processo, pois os contaminantes tendem a ficar fortemente adsorvidos e são difíceis de remover;

- Presença de outros contaminantes: a presença de contaminantes orgânicos ou inorgânicos com propriedades distintas dos metais pesados requer uma abordagem diferente do problema, pois pode haver a necessidade da utilização de surfactante ou de solventes orgânicos para sua remoção prévia, antes da lavagem ácida do material e, ainda, requerer etapas adicionais no tratamento da água de lavagem e das emissões gasosas eventualmente produzidas.

A USEPA (1995a) reportou a aplicação da lavagem *ex situ* na área do King of Prussia Technical Corporation Superfund Site, executada durante o período de junho/1993 a outubro/1994. A contaminação era exclusivamente devida aos metais prata (Ag), As, berílio (Be), Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, selênio (Se), Zn, que se concentravam no sedimento – 8,01 g Cr/kg, 9,07 g Cu/kg, 0,10 g Hg/kg - e no lodo – 11,30 g Cr/kg, 16,30 g Cu/kg, 11,10 g Ni/kg, 0,39 g Hg/kg - de antigas lagoas de tratamento existentes no local.

A Figura 5 mostra os principais processos envolvidos na aplicação da técnica de lavagem *ex situ*.

Figura 5 - Lavagem de solo aplicável de acordo com a faixa de tamanho de partícula.

Fonte: USEPA (1991).

O sistema de tratamento era composto por peneiras, tanques de flotação e tratamento de lodo, conforme mostra a Figura 6, e tinha por objetivo reduzir os teores dos metais no solo para os seguintes valores: 5 mg Ag/kg, 190 mg As/kg, 485 mg Be/kg, 107 mg Cd/kg, 483 mg Cr/kg, 3.571 mg Cu/kg, 1,0 mg Hg/kg, 1.935 mg Ni/kg, 500 mg Pb/kg, 4 mg Se/kg, 3.800 mg Zn/kg. Foram tratadas 17.418 t de solo e

sedimento e, ao final do processo, todos os objetivos foram atingidos. O custo final desta aplicação, em escala real, foi de US\$ 442,10/t, valor que incluiu a disposição externa em aterro de resíduos.

Nota: alimentação de solo (1), peneira (2), reservatório da suspensão de água de lavagem + sólidos (3), material limpo retido na peneira (4), hidrociclone multi-estágio (5), surfactante (6), lavagem de material sólido (7), tanques de flotação (8), sólidos desaguados (9), água (vai para 16) (10), água reciclada (11), água contendo finos em suspensão (12) polímeros (13), decantador lamelar (14), reposição de água (15), reservatório de água (16), filtro prensa (17), lodo desaguado (18), peneira fina para areia (19), areia limpa (20), reservatório da suspensão da água de lavagem + sólidos finos (21), água (vai para 16) (22).

Figura 6 – Esquema geral da unidade de tratamento empregada na lavagem de solo do sítio King of Prússia Technical Corporation Superfund.

Fonte: USEPA (1995a).

3.4.3 Lavagem por aspersão

A lavagem por aspersão ou *flushing* é uma técnica *in situ* de remediação de solo, na qual um agente de lavagem é aspergido sobre a superfície da área contaminada, de modo a carrear os contaminantes presentes para a água subterrânea, a qual é coletada por um sistema de drenagem e recalçada para a superfície, onde é tratada e reciclada no processo (FREEMAN; HARRIS, 1995; ROOTE, 1997).

A lavagem por aspersão emprega ácidos, biosurfactantes, agentes quelantes ou redutores para a remoção de metais pesados e está sujeita a

interferência de outros contaminantes presentes no meio, especialmente de substâncias orgânicas. Segundo MULLIGAN; YONG; GIBBS (2001), uma melhoria necessária para esta tecnologia é o desenvolvimento de aditivos não tóxicos, para minimizar os riscos de contaminação do aquífero subterrâneo.

Embora esta técnica possa ser utilizada para a remoção de diversos contaminantes, a viabilidade de sua aplicação está intimamente vinculada à permeabilidade do solo, logo, solos com coeficiente de condutividade hidráulica (K) baixos ($K < 1,0 \cdot 10^{-5} \text{ cm/s}$) podem exigir muito tempo para a infiltração da solução de lavagem, o que pode inviabilizar o uso da técnica. Solos com $K > 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ cm/s}$ são considerados ideais para o emprego desta técnica, embora solos de menor condutividade hidráulica também possam ser remediados, isto é, aqueles com valores de K maiores do que $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ cm/s}$ e menores do que $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ cm/s}$ (FREEMAN; HARRIS, 1995; ROOTE, 1997).

A lavagem por aspersão, ao contrário da *ex situ*, demanda longos períodos de tempo para a descontaminação de uma área qualquer, pois é um processo que reduz gradativamente o teor do poluente no solo. Um desafio desta técnica é impedir que os contaminantes carregados para a água subterrânea não contaminem o aquífero. Desta forma, é fundamental o conhecimento da hidrologia da área, assim como garantir que o sistema de drenagem colete e recalque toda a água contaminada.

O tratamento da água subterrânea é, normalmente, realizado através de processo físico-químico e a água tratada é utilizada novamente na lavagem do solo. A Figura 7 mostra, esquematicamente, um sistema de lavagem por aspersão.

Segundo ROOTE (1997), a solução de lavagem remove os contaminantes através das seguintes vias:

- Solubilização;
- Formação de emulsão e
- Reações químicas.

Nota: 1 – aplicação da água de lavagem por aspersão, 2 – coleta do lixiviado, 3 – poço de extração da água subterrânea, 4 e 7 – sistemas de recalque, 5 – tratamento da água subterrânea, 6 – adição dos produtos químicos de lavagem.

Figura 7 – Esquema básico de um sistema de lavagem por aspersão para remediação de solo contaminado.

Fonte: Adaptado de FREEMAN; HARRIS (1995).

A lavagem por aspersão apresenta as seguintes vantagens e limitações (ROOTE, 1997):

➤ Vantagens:

- ✓ Elimina a necessidade de escavação, carregamento e transporte do material contaminado;
- ✓ Se comparada apenas à percolação de água através do solo, este sistema apresenta uma maior velocidade do processo de remediação e abrevia seu término;
- ✓ Pode ser utilizado em conjunto com outras tecnologias ou em estágios, para casos complexos.

➤ Limitações:

- ✓ Potencial de espalhar o contaminante ao redor da área de captura, lateralmente e/ou verticalmente, se o sistema de extração não for adequadamente projetado ou construído ou se o controle hidráulico não for mantido ou se houver vazamento de água contaminada da zona de tratamento para a de descarga;
- ✓ Incertezas envolvidas na previsão do desempenho e no tempo necessário para a lavagem atingir os objetivos do projeto;

- ✓ Condições geológicas do sítio (e.g. baixa permeabilidade do solo, altos teores de argila ou matéria orgânica, elevado grau de heterogeneidade ou permeabilidade secundária, proximidade de área de recarga de aquífero);
- ✓ A solução de lavagem pode ficar aderida ao solo, acelerar o crescimento de microrganismos, causar precipitação ou outras reações com o solo ou a água subterrânea, resultando na redução de sua porosidade;
- ✓ A incapacidade de separar o aditivo de lavagem do concentrado pode resultar em alto consumo de produtos químicos e elevar o custo final do processo.

STURGES JR; MCBETH JR; PRATT (1991) relataram a utilização da lavagem por aspersão para a remoção de Cr total no United Chrome Products Superfund Site, onde a contaminação no solo atingia até 60 g/kg e na água subterrânea até 19 g/L, sendo 5 g/L de Cr^{6+} . A remediação do solo contaminado teve início em 1988 e somente nos primeiros 2,5 anos de tratamento, a concentração de Cr^{6+} na água subterrânea foi reduzida de 5 g/L para 50 mg/L, sendo que a média da pluma de contaminação baixou de 1,9 g/L para 207 mg/L após o tratamento dos primeiros 15.000 m³.

3.4.4 Estabilização e solidificação

Segundo a USEPA (2000), estabilização é a técnica que reduz quimicamente o potencial de periculosidade do resíduo através da conversão do contaminante para uma forma menos solúvel ou tóxica, sem necessariamente modificar as características físicas do material contaminado. Já, a solidificação é definida como a técnica que encapsula os resíduos, formando um material sólido e não necessariamente envolve uma interação química entre o contaminante e o agente solidificante. A solidificação pode ser complementada por processos mecânicos ou reações químicas entre o agente solidificante e o resíduo. O produto da solidificação pode tomar a forma de um bloco ou um material granular (LaGREGA; BUCKINGHAM; EVANS, 1994; FREEMAN; HARRIS, 1995; WATTS, 1997; USEPA, 2000; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

Ambos os processos, estabilização e solidificação, podem ser aplicados *in situ* ou *ex situ* e tem por objetivos a redução da toxicidade, da solubilidade e da

mobilidade dos contaminantes no solo, além de melhorar as propriedades do material estabilizado (LaGREGA; BUCKINGHAM; EVANS, 1994).

A despeito de serem técnicas distintas, a solidificação e a estabilização são empregadas freqüentemente em conjunto, pois combinam resíduo e/ou solo e/ou lodo com agentes de tratamento para imobilizar física e quimicamente os contaminantes perigosos contidos em tais materiais (USEPA, 2000). LaGREGA; BUCKINGHAM; EVANS (1994) consideraram a estabilização/solidificação como uma solução de remediação mais permanente do que outras alternativas. Segundo MULLIGAN; YONG; GIBBS (2001), os métodos de descontaminação de metais têm se concentrado em processos na fase sólida, tal como a estabilização/solidificação, devido à baixa mobilidade dos poluentes.

Segundo a USEPA (2000), a estabilização/solidificação foi utilizada na remediação de 167 sítios nos EUA entre 1982 a 1998 e deste total, 56 % estavam contaminados exclusivamente com metais pesados. Se considerada a contaminação com metais associados a compostos orgânicos e/ou radionuclídeos, o percentual dos sítios contaminados com metais alcançava 90 % das áreas remediadas. Esta tecnologia já foi o segundo tipo de tratamento mais empregado pelo Superfund, mas tem sido substituída por técnicas alternativas desde 1998. As razões apontadas para a substituição da aplicação da estabilização/solidificação incluem:

- A diminuição do volume de material contaminado está inviabilizando a aplicação da tecnologia;
- Possibilidade de não atingir os padrões legais requeridos para os contaminantes do sítio;
- Elevado custo;
- A tecnologia havia sido originalmente selecionada para o tratamento de resíduos já submetidos a outros processos de tratamento, logo, quando pouco ou nenhum resíduo é gerado, a estabilização/solidificação deixa de ser necessária;
- Preocupação da comunidade;
- Problemas de implantação e
- Possibilidade de não reduzir significativamente a mobilidade de resíduos específicos.

Os processos de estabilização/solidificação utilizam os seguintes mecanismos, para atingir seus objetivos (LaGREGA; BUCKINGHAM; EVANS, 1994):

- Absorção;

- Adsorção;
- Desintoxicação, consequência das reações químicas e físico-químicas que reduzem a toxicidade do metal, tais como reações de redução ou oxidação, formação de compostos inorgânicos ou complexação com substâncias orgânicas;
- Macroencapsulamento;
- Microemcapsulamento e
- Precipitação.

Diversos tipos de agentes ligantes podem ser utilizados nos processos de estabilização/solidificação, entretanto, as características dos contaminantes presentes no solo, sejam orgânicos e/ou inorgânicos, determinarão a escolha do(s) ligante(s) a ser(em) utilizado(s). Dentre os agentes que já comprovaram sua efetividade para a estabilização/solidificação de material (solo e lodo) contaminado com metais pesados, incluem-se (LaGREGA; BUCKINGHAM; EVANS, 1994; USEPA, 2000; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001):

- Cimento: efetivo, sob determinadas condições, para todos os metais pesados, mas a presença de compostos orgânicos pode interferir no processo de hidratação do cimento, o que refletirá na resistência mecânica do material solidificado;
- Pozolana: efetividade demonstrada para Cd, Cr e Pb;
- Material termoplástico (asfalto, betume, polietileno, polipropileno, etc): efetividade demonstrada para As, Cr e Cu. A presença de compostos orgânicos no solo contaminado demanda a coleta e o tratamento dos vapores produzidos durante o processo e
- Polímeros orgânicos: efetividade demonstrada para As.

Outros materiais que já demonstraram potencial em experimentos de bancada e/ou projetos de demonstração de campo, de serem utilizados para estabilização/solidificação de solos contaminados com metais pesados, incluem fosfatos, cinza resultante da queima de carvão mineral, cal virgem, enxofre, zeólita (sintetizada a partir de cinza de carvão), lama vermelha do processamento de bauxita, etc. (CICCU *et alii*, 2003; DERMATAS; MENG, 2003; LIN *et alii*, 1998; WANG *et alii*, 2001). Um dos problemas relatados durante o uso de cinza de carvão associada com cal virgem foi a formação excessiva de etringita na presença de sulfato, material expansivo que causa dilatação da matriz sólida, deteriorando-a.

Entretanto, este problema pode ser evitado mediante a adição de hidróxido de bário (DERMATAS; MENG, 2003).

A aplicabilidade da estabilização/solidificação é baseada na capacidade do ligante de imobilizar o metal. A cinética de equilíbrio solo-contaminante-ligante é complicada, já que muitos são os fatores que influenciam a mobilidade do metal. Logo, não é possível generalizar a aplicação de um dado ligante ou dos resultados que podem ser produzidos para diferentes metais (USEPA, 1997c).

A despeito da inexistência de dados sobre o desempenho da estabilização/solidificação em longo prazo, as condições ambientais as quais o material tratado está exposto podem afetar sua estabilidade e, segundo KLICH *et alii* (1999), os resíduos estabilizados com cimento são vulneráveis aos mesmos processos químicos e físicos de degradação do concreto e de outros materiais de cimento, logo, tem o potencial de se desintegrarem após um período de 50 a 100 anos.

Cabe ressaltar que os experimentos de laboratório e/ou testes de lixiviação que utilizam soluções ácidas (a partir de ácidos fracos, como o ácido acético) para avaliar a mobilidade de contaminantes aprisionados na matriz sólida, produzida pelo processo de tratamento de estabilização/solidificação, não representam adequadamente os efeitos dos agentes ambientais (sol, chuva, poluição, etc) sobre a matriz sólida, assim, os “ótimos” resultados reportados sobre a redução da lixiviação de metais pesados e de outros contaminantes, deve ser objeto de criteriosa avaliação.

HIRATA (1997) realizou ensaios de lixiviação utilizando corpos de prova moldados com sedimento contaminado com metais pesados e estabilizados/solidificados com cimento Portland. Os resultados obtidos demonstraram as deficiências e a falta de representatividade do método de lixiviação utilizado para avaliação do desprendimento de contaminantes, sob a ação dos agentes ambientais, confinados na matriz de cimento.

Os ensaios de lixiviação conduzidos por HIRATA (1997) foram realizados conforme a norma brasileira NBR 10005/87 e, visto que esta norma não define a dimensão mínima das partículas do sólido a ser lixiviado, esta autora triturou os corpos de prova até a obtenção de partículas com dimensão $\leq 9,5$ mm. As principais características dos ensaios foram: elevado consumo de ácido acético 0,5 M (até 1L), necessário para ajustar o pH durante os ensaios; a estabilização do pH abaixo de

9,0, após a adição de 223 mL de ácido durante as 2 primeiras horas; e valores iniciais e finais do pH, respectivamente, de 10,8 e de 6,2, não atingindo o valor de $5,0 \pm 0,2$, estabelecido pela norma.

Segundo esta autora, os altos valores de pH e repetidos ajustes em curtos intervalos de tempo durante todo o ensaio, sugeriram a inadequabilidade do ensaio de lixiviação para resíduos estabilizados/solidificados com cimento Portland e, que uma melhor reprodução das condições ambientais que atuam sobre materiais estabilizados/solidificados com cimento Portland, poderia ser obtida com o uso dos ácidos nítrico ou sulfúrico nos ensaios de lixiviação.

Outra constatação importante de HIRATA (1997), a partir de ensaios de lixiviação realizados somente com cimento Portland, foi de que este continha teores de Cd, Cr, Ni e Zn superiores àqueles presentes no sedimento contaminado e de Hg, Cu e Pb, da mesma ordem de magnitude desta matriz.

A partir dos resultados obtidos por esta autora, é razoável considerar que o ácido acético não é suficientemente forte para atacar a matriz sólida e apenas lixivia sua alcalinidade e, portanto, apenas uma pequena parcela dos metais é lixiviada. Os elevados teores de metais presentes na própria constituição do cimento Portland permitiram supor que grande parte dos metais lixiviados (se não todos) provinha do próprio cimento e não do material contaminado estabilizado/solidificado com o mesmo.

As Figuras 8 e 9 mostram, respectivamente, os processos básicos envolvidos em aplicações *in* e *ex situ* das técnicas de estabilização e solidificação.

A FRTR (2001) relatou a realização de projetos de demonstração entre fevereiro a junho de 1998, utilizando tecnologia de estabilização/solidificação para a remediação de solo contaminado com Pb, na Massachusetts Military Reservation, Training Range and Impact Area. O uso da área como campo de tiro entre 1935 a 1940 causou a contaminação do solo com teores de até 12.200 mg Pb/kg. Visando reduzir ao máximo a contaminação e a recuperação de Pb, as atividades de descontaminação foram realizadas tanto *in situ* quanto *ex situ*.

O agente de estabilização utilizado para imobilizar o Pb foi o MAECTITE[®], que é um líquido que reage com o elemento e produz um cristal mineral sintético geoquimicamente estável, cujo princípio ativo não foi informado na referência. Foram processados 17.713 m³ de solo (13.600 m³ *ex situ* e 4.113 m³ *in situ*), que

possibilitaram reduzir a concentração de Pb no lixiviado para menos do que 0,5 mg Pb/L, ou seja, o resultado obtido foi muito superior à meta (< 5,0 mg Pb/L). O custo do tratamento foi de US\$ 197,50/m³ de solo tratado.

Figura 8 – Elementos genéricos de um processo típico de estabilização/solidificação *ex situ* de solos contaminados.
Fonte: FREEMAN; HARRIS (1995).

Figura 9 – Elementos genéricos de um processo típico de estabilização/solidificação *in situ* de solos contaminados.
Fonte: FREEMAN; HARRIS (1995).

3.4.5 Vitrificação

A vitrificação é uma técnica de tratamento baseada no uso de energia calorífica, obtida através da energia elétrica, para promover a fusão do material

sólido contaminado, seja solo, sedimento ou resíduo industrial. Sua aplicação na remediação de áreas contaminadas é usualmente *in situ*, apesar de poder ser aplicado *ex situ*. A vitrificação é um método de remediação de alto custo, mas é uma alternativa aplicável ao tratamento de solos contaminados por múltiplos poluentes, tendo sido utilizada em casos onde há poucas alternativas de tratamento disponíveis (LaGREGA; BUCKINGHAM; EVANS, 1994; FREEMAN; HARRIS, 1995; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

A vitrificação do solo é obtida mediante a passagem de uma corrente elétrica, através de uma malha de eletrodos instalados em determinada profundidade e arranjo, no solo contaminado. A corrente elétrica aplicada aquece o solo a temperaturas de 1600 °C a 2000 °C, o que é suficiente para fundir a grande maioria dos minerais presentes, e obtém-se como produto final um bloco sólido quimicamente inerte (FREEMAN; HARRIS, 1995; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

A presença de compostos orgânicos, notadamente os inflamáveis e explosivos, é uma limitação para a aplicação desta técnica; por outro lado, outros compostos orgânicos podem ser volatilizados durante o processo, o que demanda tratamento dos gases emitidos.

A vitrificação não é conveniente para solos saturados, pois demanda o rebaixamento do lençol freático ou uma maior necessidade de energia para promover a fusão do material. A profundidade da contaminação no solo é outro fator limitante, pois a técnica tem mostrado resultados até a profundidade de 5,8 m (LaGREGA; BUCKINGHAM; EVANS, 1994; FREEMAN; HARRIS, 1995).

A USEPA (1995b) relatou a aplicação da vitrificação *in situ* no Parsons Chemical/ETM Enterprises Superfund Site, executada entre maio/1993 a maio/1994. Os contaminantes presentes neste sítio incluíam pesticidas, ftalatos, hidrocarbonetos aromáticos polinucleares e metais pesados (até 10 mg As/kg, até 47 mg Cr/kg, 34 mg Hg/kg, < 50 mg Pb e 150 mg Zn/kg). Este projeto, em escala real, contava com um sistema composto por 9 células de fundição de 7,9 m x 7,9 m x 4,9 m (comprimento x largura x profundidade) e tratou um volume de 2.294 m³ de solo silto argiloso. O objetivo deste projeto era reduzir o teor de Hg no solo para 12 mg/kg.

A Figura 10 mostra as três etapas básicas do processo de vitrificação *in situ*, que tem início com a introdução dos eletrodos de grafite e fritas de vidro no solo (A); a seguir, este sofre subsidência, formando um monólito (B) e é concluído com o recobrimento deste e a recomposição da superfície da área (C).

Os resultados deste projeto indicaram que seu objetivo foi alcançado e que as concentrações de todos os metais nos testes de lixiviação ficaram abaixo de 5 mg/L. O tempo requerido para a fundição variou de 10 a 19,5 dias, consumiu de 559 a 1.100 MW/hora e o custo final foi de US\$ 768/m³ de solo tratado.

Figura 10: Diagrama básico de um processo de vitrificação *in situ* para remediação de solos contaminados.

Fonte: MULLIGAN; YONG; GIBBS (2001).

3.4.6 Sistema eletrocinético

A eletrocinética baseia-se na passagem de uma corrente elétrica de baixa intensidade entre um cátodo e um ânodo introduzidos no solo contaminado. Íons metálicos e pequenas partículas carregadas eletricamente são atraídos pelos eletrodos: cátions para o ânodo e ânions para o cátodo. Para que o transporte ocorra, é fundamental que os íons estejam em solução aquosa. São utilizadas soluções para manter o pH no poço onde estão localizados os eletrodos e, assim, evita-se a precipitação e prejuízos à operação do sistema.

Tais soluções são continuamente recicladas para a remoção dos contaminantes. Um gradiente hidráulico inicia o movimento por eletromigração (elementos químicos com carga elétrica), passa pela eletrosmose (movimento do fluido), pela eletroforese (movimento de partículas carregadas) e termina com a eletrólise - reações químicas devido ao campo magnético formado (MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

Teoricamente, metais, sob a forma de íons solúveis e ligados ao solo como óxidos, hidróxidos e carbonatos, são passíveis de serem removidos por essa técnica, mesmo em solos argilosos e, tem se mostrado mais eficiente para solos saturados. A eletrocinética tem sido pouco utilizada nos EUA, embora já seja empregada em escala real na Europa. É uma alternativa promissora para a remediação de solo argiloso e profundidade moderada de contaminação, todavia, há a necessidade de melhorar os fluidos de extração e a configuração dos eletrodos (MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

Segundo a USEPA (2002b), os principais fatores que afetam o desempenho do sistema eletrocinético são:

- Propriedade do contaminante: a aplicabilidade da técnica depende da solubilidade das espécies químicas. Pode ser utilizada para compostos polares solúveis em ácido, mas não é aplicável a metais insolúveis neste solvente;
- Salinidade e capacidade de troca de cátions: a técnica é mais eficiente quando estes parâmetros são baixos, a redução do íon cloreto pelo processo também pode resultar na produção de gás cloro;
- Mistura do solo (água intersticial): requer uma umidade do solo adequada, entretanto, a adição de algum fluido para o preenchimento dos poros pode ser necessária para solos que não atendam às condições operacionais indicadas pelo fabricante do equipamento. É mais indicado para solos saturados;
- Polaridade e magnitude da carga iônica: afetam a direção e o sentido do movimento do contaminante e
- pH: afeta o processo e causa a precipitação do contaminante e de outras espécies presentes no solo, reduzindo sua permeabilidade e inibindo a recuperação do contaminante alvo. A deposição da precipitação de sólidos pode ser prevenida mediante a lavagem do cátodo com água ou ácido.

A Figura 11 mostra, esquematicamente, os mecanismos e unidades existentes em um sistema eletrocinético.

A FRTR (2001) relatou a realização de um projeto de demonstração, utilizando esta tecnologia entre dezembro/1997 a junho/1998, em Alameda Naval Air Station Point, uma área contaminada com teores de até 2,06 g Cr/kg de solo, devido à disposição de despejos de galvanoplastia.

Foi utilizado um volume de 38,4 m³ de solo alcalino contaminado e, o objetivo do projeto de demonstração era reduzir o teor de Cr para 30 mg/kg. O

sistema atingiu o objetivo na maioria das camadas de solo, entretanto, na interface solo/cimento do piso, que era a mais contaminada, a meta não foi atingida.

Durante o experimento, o nível do lençol freático abaixou além do limite estabelecido e houve a necessidade de usar bentonita para manter o nível da solução de extração no poço onde estavam localizados os eletrodos; estimou-se que tal modificação reduziu em 50 % a eficiência do sistema. Ao final do projeto de demonstração e com base nos dados coletados antes e após o tratamento, concluiu-se que 12 % do Cr total foi removido. O custo foi de US\$118,00/m³ de solo tratado.

Figura 11 – Esquema básico de um sistema eletrocinético para remoção de compostos inorgânicos de solos contaminados.

Fonte: USEPA (1997c).

A USAEC (2003a) e a FRTR (2002) reportaram um caso de aplicação desta tecnologia, em um experimento demonstrativo em uma área de 2.023 m², para a remediação de solo arenoso contaminado com metais - até 25.100 mg Cr/kg e até 1.810 mg Cd/kg - no sítio da Naval Air Weapons Station Point Mugu. A contaminação do solo tinha como origem o lançamento de resíduos da unidade de galvanoplastia e tratamento de superfícies metálicas.

O objetivo do projeto de demonstração era reduzir a contaminação do solo a 2.500 mg Cr/kg e 100 mg Cd/kg. Testes de laboratório, realizados previamente ao

projeto de demonstração, indicaram que a tecnologia poderia ser utilizada com sucesso, entretanto, após 22 semanas, o projeto foi suspenso, pois os objetivos não haviam sido atingidos em campo.

O baixo desempenho da tecnologia não permitiu sequer quantificar os contaminantes eletrocineticamente mobilizados. Relatou-se ainda, que houve aumento do teor de compostos orgânicos voláteis no solo, primeiramente devido à formação de trihalometanos resultante da geração de Cl_2 no ânodo, pela presença de cloretos na água subterrânea, associada ao prolongamento do tempo requerido para a extração dos contaminantes do solo.

Os resultados fornecidos pelos testes de laboratório não refletiram adequadamente os efeitos das condições do sítio, o que ditou o fracasso deste projeto de demonstração. O custo do tratamento para um projeto em escala real, extrapolado a partir dos resultados obtidos em campo, seria de US\$ 1560,00/m³ de solo tratado.

Outros projetos de demonstração, utilizando o sistema eletrocinético, incluem os realizados nos sítios da Active Power Substation (verão/1998) e da Sandia National Laboratories (maio-novembro/1996) (FRTR, 2000).

Os resultados adversos obtidos nestes projetos permitiram concluir que a eletrocinética precisa ser aprimorada antes de sua aplicação em escala real e, como ressalta o USAEC (2003), problemas como a geração de trihalometanos, os efeitos sobre íons de ocorrência natural, a metodologia de previsão de desempenho da tecnologia, o projeto do eletrodo e seu efeito sobre a forma e a intensidade do campo magnético e a metodologia para determinar a configuração dos eletrodos sob condições de campo precisam ser resolvidos antes de a tecnologia tornar-se viável.

3.4.7 Fitoremediação

A fitoremediação é a tecnologia baseada no emprego de espécies vegetais capazes de capturar, transportar, armazenar e imobilizar elementos químicos durante seu ciclo de vida. Os elementos capturados pelas plantas restringem-se à sua fração biodisponível, que é passível de ser transportada através das raízes das plantas durante os processos de nutrição destas. O armazenamento dos elementos

químicos dá-se nas fibras vegetais, podendo-se concentrar mais em determinadas partes da planta (e.g. raiz, caule, folha), o que depende das características do composto químico e da espécie vegetal utilizada no processo de tratamento (MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

A resistência para sobreviver em solos contaminados com altos teores de metais e a habilidade de removê-los desta matriz são características naturais ou geneticamente modificadas que certas espécies vegetais exibem e são a essência da fitoremediação, que, em última análise, é apenas mais uma alternativa para transferência e concentração de metais e não uma solução definitiva para o problema.

A USEPA (1997b) define a fitoremediação como o uso de plantas para remoção, contenção ou transformação, para formas inofensivas, de contaminantes ambientais. Esta definição aplica-se a todos os processos biológicos, físicos e químicos, que são influenciados por plantas e que contribuem para a remoção de contaminantes presentes no solo.

São características gerais da fitoremediação (USEPA, 1997b; USEPA, 2001):

- Indicada para sítios com baixa a moderada dispersão de metais e com solo capaz de suportar o crescimento de plantas;
- A aplicação é limitada à profundidade da zona de raiz da planta e
- Requer muito tempo – geralmente anos – quando comparada com outras tecnologias.

A aplicação da fitoremediação depende do tipo e biodisponibilidade do contaminante alvo, do clima da região e das características hidrogeoquímicas e agronômicas do solo do sítio, pois tais fatores determinam a escolha da(s) espécie(s) vegetal(is) - que possui(em) mecanismo(s) específico(s) de ação - capaz(es) de promover(em) a remediação desejada. Os principais mecanismos de ação utilizados pelas plantas, sobre os quais se apóiam a fitoremediação de solos contaminados com metais, incluem (USEPA, 1997b; USEPA, 2001; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001):

- Fitoextração: emprega plantas hiperacumuladoras - que contenham em seu tecido mais de 0,1 % (em massa seca) de Ni, Co, Cu, Cr ou qualquer percentual de Zn e Mn - para absorver espécies metálicas do solo e concentrá-las nas

raízes, caule/ramos e folhas e que são parcial ou totalmente removidas do solo após terem atingido a capacidade máxima de acumulação;

- Fitoestabilização: emprega plantas capazes de tolerar elevados teores de metais no solo e que são capazes de imobilizá-los por sorção, precipitação, complexação ou redução do seu estado de oxidação. Tais plantas limitam a mobilidade e a biodisponibilidade dos metais no solo, mas devem exibir baixos níveis de acumulação nas raízes, para eliminar a possibilidade da massa vegetal vir a tornar-se resíduo perigoso. Esta abordagem da fitoremediação utiliza espécies de plantas arbóreas de ciclo longo ao invés de culturas de ciclo curto;
- Rizofiltração: emprega plantas, cujas raízes sejam capazes de concentrar e precipitar os metais sob formas menos tóxicas. Esta variação da fitoremediação usa plantas para remover metais por sorção e não envolve processos biológicos. Todavia, a bioremediação pode ser associada com plantas para otimizar a degradação microbiológica na rizosfera e
- Fitovolatilização: emprega plantas capazes de remover metais do solo, como Se, Hg, compostos orgânicos voláteis e eliminá-los de seus tecidos durante a evapotranspiração.

Segundo MULLIGAN; YONG; GIBBS (2001), a fitoremediação é uma tecnologia em desenvolvimento, mas pode ser útil para a remediação de solos contaminados com baixos teores de metais, que possam ser tratados em longo prazo. Para estes autores, dentre os problemas que ainda precisam ser resolvidos desta tecnologia incluem-se: melhorar o acúmulo de metais nas plantas e o desenvolvimento de técnicas de extração para determinação de metais na massa vegetal.

A Tabela 2 apresenta um resumo dos mecanismos de ação que as plantas utilizam para sobreviver em um solo contaminado, bem como os poluentes passíveis de serem removidos através de cada um deles.

A FRTR (2000) relatou a aplicação de fitoremediação para a remoção de metais de solos contaminados. O primeiro caso citado foi o de um teste de bancada, realizado na Argonne National Laboratory West, entre maio a outubro de 1998. Foram utilizadas espécies de *canola*, *kochia* e salgueiro híbrido (*Prairie cascade*) para o tratamento de solo contaminado com 44,85 mg Cr/kg, < 1,5 mg Hg/kg e 56,32

mg Zn/kg. Foram empregados EDTA e ácido cítrico para melhorar a eficiência da técnica.

Este estudo apontou o salgueiro como sendo a mais eficiente na captura de metais entre as três plantas avaliadas, pois fora capaz de remover do solo 4 % a 5 % de Zn e 2 % de Cr e, portanto, poderia ser utilizado em campo para a remoção destes metais, podendo alcançar, anualmente, reduções de até 14 % de Zn e 3 % a 4 % de Cr, em períodos de 6 a 7 anos para a remoção do Zn e de 9 anos para a do Cr.

A USACE (2003b) relatou os resultados obtidos com o uso da fitoremediação em um projeto de demonstração, realizado na Twin Cities Army Ammunition Plant, de 1998 a 1999. Este teste utilizou plantas de milho (cultivo 1) e de mostarda branca (cultivo 2) para remoção de metais em duas áreas de 809 m², contaminadas com Sn, As, Be, Ba, Cr e Pb, embora o principal contaminante fosse o Pb, com valores médios, na camada de 0,00 m a 0,15 m, de 358 ppm e 2.610 ppm, respectivamente. Foram utilizados EDTA e ácido acético para aumentar a solubilidade dos metais e otimizar sua captura pelas plantas.

Tabela 2 – Aplicações da fitoremediação em solos contaminados.

Aplicação	Descrição	Poluentes	Tipos de plantas
Fitotransformação	Sorção, absorção e transporte de poluentes	Compostos orgânicos, incluindo nitroaromáticos e alifáticos clorados	Árvores e gramas
Biodegradação na rizosfera	Biodegradação na rizosfera estimulada por plantas	Compostos orgânicos (e.g. PAHs, hidrocarbonetos do petróleo, TNT, pesticidas)	Gramas, alfafa, muitas outras espécies incluindo plantas)
Fitoestabilização	Estabilização de poluentes por ligação e/ou redução da lixiviação	Metais e compostos orgânicos	Várias plantas com sistema radicular profundo ou fibroso
Fitoextração	Absorção de poluentes do solo para as raízes ou para os galhos e ramos que podem ser ceifados	Metais, compostos orgânicos e radionuclídeos	Variedades naturais selecionadas de plantas hiperacumuladoras (e. g. <i>Thlaspi</i> sp, <i>Alyssum</i> sp, <i>Brassica</i> sp)

Fonte: Adaptado de SCHNOOR (2002).

Este projeto de demonstração não atingiu os resultados esperados, pois experimentos em estufa indicaram que a cultura de milho (em massa seca) poderia concentrar 0,85 % de Pb, mas no campo obteve-se apenas 0,65 % de Pb para um sítio e 0,13 % para outro, enquanto que a cultura de mostarda branca (em massa seca) poderia concentrar 1,5 % de Pb, mas o projeto de demonstração resultou em apenas 0,083 % de Pb para um sítio e 0,034 % de Pb para outro. O custo estimado para a implantação em escala real desta tecnologia, admitindo duas culturas por ano (um cultivo de milho e outra de mostarda branca), condições sub-ótimas de crescimento das plantas, teor médio de 2.500 ppm de Pb e duração de cinco anos, é de US\$ 9,70/m³ de solo tratado/ano.

Um outro caso citado por FRTR (2000) é a aplicação em escala real da fitorremediação na Ensign-Bickford Company, realizada entre abril e outubro de 1998. Este projeto utilizou três cultivos de mostarda indiana e de girassol para a redução da contaminação de Pb (média de 635 mg Pb/kg e valor máximo de 4.000 mg Pb/kg) em uma área contaminada de 0,95 ha.

Este projeto apresentou bons resultados e possibilitou a redução do teor médio de chumbo para 478 mg/kg. A remoção de Pb pela mostarda indiana (em massa seca) variou de 342 mg Pb/kg (cultivo 1) até 3.252 mg Pb/kg (cultivo 3), enquanto que a remoção de Pb pelo girassol manteve-se em média em 1.000 mg Pb/kg (cultivo 1 a 3).

A FRTR (2002) relatou a aplicação da fitorremediação em dois projetos demonstrativos para a remoção de metais pesados do solo. No primeiro caso, o solo da área do Magic Marker estava contaminado com teores de até 57,11 g Pb/kg, decorrente da produção de baterias e para remover o metal da camada superficial do solo foram realizados três cultivos, de maio/1997 a novembro/1998, utilizando espécies de mostarda indiana (*Brassica juncea*, dois cultivos) e girassol (*Helianthus annuus*, um cultivo).

O experimento foi realizado em uma área de 23,5 m x 15,20 m x 0,15 m (comprimento x largura x profundidade). Ao final do ciclo de vida, as plantas exibiram os seguintes teores (em base seca) de Pb: cultivo 1 (*B. juncea*) = 830 mg Pb/kg, cultivo 2 (*B. juncea*) = 2.300 mg Pb/kg e cultivo 3 (*H. annuus*) = 400 mg Pb/kg. O tratamento possibilitou a redução de 17 % do teor de Pb em massa seca de solo, onde este excedia 400 mg Pb/kg.

O segundo caso, relatado pelo FRTR (2002), diz respeito à demonstração da tecnologia realizada em Fort Dix, cuja área foi contaminada com Pb em decorrência da produção de armas. A fitorremediação foi utilizada, neste caso, como um tratamento complementar à lavagem do solo e tinha por objetivo reduzir o teor de contaminação de 516 mg Pb/kg para 400 mg Pb/kg. O experimento *ex situ* foi realizado em uma célula de 1 ha, onde foram feitos três cultivos, entre abril a outubro de 2000, utilizando espécies de mostarda indiana (*B. juncea*, cultivo 1), girassol (*H. annuus*, cultivo 2) e uma mistura de centeio e cevada (*Secale cereale* e *Hordeum vulgare*, cultivo 3). O teor de Pb no tecido das plantas - em base seca - atingiu 437 mg Pb/kg (cultura 1), 1.675 mg Pb/kg (cultivo 2) e 4.395 mg Pb/kg (cultivo 3). O teor médio de Pb no solo foi reduzido para 182 mg Pb/kg de 0,00 m a 0,15 m e para 398 mg Pb/kg de solo, de 0,15 m a 0,30 m de profundidade. Cabe ressaltar que ambos os casos reportados por FRTR (2002) superaram as expectativas iniciais dos envolvidos com o projeto.

3.4.8 Biolixiviação

A seguir, é apresentada a discussão teórica e o estado da arte sobre biolixiviação, sobre a qual se assenta a investigação científica proposta neste trabalho.

Devido à recente reclassificação de algumas espécies do gênero *Thiobacillus sp* para um novo gênero denominado *Acidithiobacillus sp*, proposta por KELLY e WOOD (KELLY; WOOD, 2000), *T. ferrooxidans*, *T. thiooxidans*, *T. albertensis* e *T. caldus* foram apresentadas como as quatro espécies com descrição válida para o *Acidithiobacillus sp*. Portanto, no presente trabalho, as espécies supracitadas são apresentadas como membros do *Acidithiobacillus sp*, mesmo onde as referências bibliográficas consultadas as identificavam como sendo do gênero *Thiobacillus sp*.

Muitos centros de pesquisa internacionais e alguns nacionais têm voltado seus esforços para o estudo e o desenvolvimento de processos biológicos de remediação de solos e sedimentos contaminados com metais pesados, que até a década de 1990, eram considerados como impraticáveis (FREEMAN; HARRIS,

1995; ROULIER *et alii*, 1989). Contrariando os preconceitos até então vigentes, KUYUCAK *et alii* (1991) e DVORAK *et alii* (1992) identificaram as bactérias sulfato redutoras como um meio economicamente viável para remover metais pesados das águas de drenagem de minas ácidas.

Os estudos e pesquisas sobre o tema já possibilitaram o desenvolvimento de diversas tecnologias para remoção de contaminantes do solo, particularmente de compostos orgânicos, e.g. hidrocarbonetos (FREEMAN; HARRIS, 1995; PAGE, 1997). Entretanto, apesar do conhecimento acumulado no último século, quando se identificaram as primeiras espécies de *Acidithiobacillus sp*, foi limitado o avanço obtido sobre o conhecimento da habilidade de determinadas espécies de fungos e bactérias de promoverem a mobilização, mediante a biolixiviação de metais presentes em materiais sólidos.

Atualmente, ainda são poucas as técnicas disponíveis para a extração microbiológica de metais, estando limitadas a processos baseados na biolixiviação e na bio-oxidação (MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

A biolixiviação pode ser definida como a dissolução de metais de sua fonte mineral por certos organismos de ocorrência natural ou como o uso de microrganismos para modificar o estado de oxidação química destes elementos, de modo que estes possam ser extraídos de um material, quando a água é filtrada através dele (ATLAS; BARTHA, 1997 e PARKER, 1992 *apud* BRANDL 2001).

Embora a biolixiviação seja confundida com a bio-oxidação, há de se deixar claro que são processos distintos, pois a primeira refere-se à conversão de um metal em sua forma cristalina para a sua forma solúvel, mediante a ação de um microrganismo, enquanto que a segunda, a oxidação microbiológica do mineral hospedeiro, que contém os metais de interesse e que resulta na concentração destes metais no resíduo sólido remanescente. Termos como biomineração, bioextração e biorecuperação também são aplicados para descrever a mobilização de metais de materiais sólidos através de bactérias e fungos (BRANDL, 2001).

O primeiro setor a se beneficiar do conhecimento sobre a biolixiviação foi a mineração, pois permitiu-lhe ampliar a extração de metais nobres, embora ela tenha sido praticada inconscientemente na Europa desde o Império Romano (BRANDL, 2001). Apesar de a biolixiviação poder ser aplicada para a extração de muitos metais, dentre os quais: cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), estanho (Sn) magnésio (Mg), níquel (Ni), prata (Ag), ouro (Au) e urânio (U), apenas

Au, Cu, Ni e U são industrialmente recuperados de rejeitos ou de minério bruto. Outra aplicação industrial da biolixiviação é a remoção de sulfeto de ferro do carvão mineral (KREBS *et alii*, 1997).

O processo de biolixiviação ou biomineração, quando aplicado em larga escala para a recuperação de metais de minérios ou de outras fontes, é coberta pela área de biohidrometalurgia, um campo interdisciplinar que engloba e combina a microbiologia, a geoquímica, a biotecnologia, a hidrometalurgia, a mineralogia, a geologia, a engenharia química e a engenharia de minas (BRANDL, 2001).

Uma grande variedade de microrganismos é conhecida por realizar a biolixiviação de metais, principalmente em depósitos de minérios e em paredes e tetos de minas. A mobilização de metais em minas constitui-se em um grande problema ambiental em qualquer parte do mundo (HERBERT JR, 1999; EEA, 2000; ESPOSITO *et alii*, 2001; GROUDEV *et alii*, 2001; CICCUCI *et alii*, 2003, etc), pois a atividade biológica, aeróbia ou anaeróbia, provoca a acidificação e a conseqüente contaminação com metais pesados das águas superficiais e subterrâneas adjacentes.

Portanto, o grave impacto ambiental provocado pela acidificação das águas presentes nas minas ensejou o aprofundamento do estudo sobre as causas de sua ocorrência e possíveis meios de controle. O conhecimento acumulado sobre o tema tem sido gradativamente incorporado e aplicado para a remediação de áreas contaminadas com metais pesados (HERBERT JR, 1999; BRANDL, 2001; MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001).

Embora os microrganismos não possam destruir os metais, eles são capazes de alterar suas propriedades químicas através de vários mecanismos, alguns dos quais podem ser usados para a remediação de áreas contaminadas. Em alguns casos, estes mecanismos envolvem vias bioquímicas altamente específicas para proteger a célula da toxicidade dos metais pesados (LLOYD, 2002).

A extração do metal retido no solo somente é possível em baixos valores de pH (MULLIGAN; YONG; GIBBS, 2001). A biolixiviação de metais ocorre através de processos biológicos de dissolução oxidativa de sulfetos metálicos e de íons ferrosos e pode ser realizada através da via aeróbia, onde o oxigênio é o aceptor de elétrons; ou anaeróbia, onde o aceptor de elétrons pode ser o íon Fe^{3+} ou NO_3^- (HERBERT JR, 1999; BRANDL, 2001).

Na oxidação de misturas complexas de sulfetos, as interações galvânicas têm efeitos significativos na biolixiviação por *A. ferrooxidans*. Presume-se que tais bactérias sustentem estas interações não somente pela oxidação do íon ferroso para íon férrico, mas também, pela oxidação do enxofre elementar para ácido sulfúrico, mantendo a superfície do material exposta (LIZAMA; SUZUKI, 1991).

A mobilização de um metal pesado presente no solo decorre da sua solubilização por um ácido, tal como o H_2SO_4 , produzido durante processos de oxidação (atmosférica e biológica) de sulfeto mineral ou pela redução biológica do enxofre. Logo, a mobilização de metais pesados somente é possível de ser obtida por microrganismos que produzam ácidos e/ou metabólitos capazes de promover sua lixiviação de materiais sólidos que os contenham.

Dentre todos os microrganismos capazes de biolixiviar metais, espécies de bactérias e fungos são descritas na literatura (HERBERT JR, 1999; BRANDL, 2001), todavia, espécies de leveduras, flagelados, amebas e protozoários também já foram encontradas em água ácida de minas de cobre (BRANDL, 2001), constatação que reforça a tese de que a biolixiviação de metais não se deve exclusivamente a uma única espécie, mas a um consórcio microbiano formado por diversas espécies de microrganismos.

Uma mostra da grande diversidade de espécies de microrganismos presentes em um processo de biolixiviação de solo contaminado com metais pesados e radionuclídeos foi relatada por GROUDEV *et alii* (2001), a qual é apresentada na Tabela 3.

As espécies de *Acidithiobacillus* estão entre os microrganismos mais estudados, pois são capazes de suportar condições ambientais extremamente agressivas (e.g. pH = 1); produzem uma solução muito ácida, que é capaz de dissolver a maioria dos metais; são tolerantes a elevadas concentrações de metais pesados; utilizam uma fonte de energia de baixo custo, se comparado com outros microrganismos quimiorganotróficos e mantêm sua atividade biológica, mesmo em condições anaeróbias (HERBERT JR, 1999; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001).

A bactéria *A. ferrooxidans* pertence ao grupo dos organismos quimiotróficos, tem a forma de bastonete, mede entre 0,5 – 1,0 μm , não produz esporos, é gram-negativa, é flagelada e tem mobilidade, é acidófila, sua fisiologia é baseada na fixação do CO_2 , de onde retira o carbono para a síntese de novo material celular, obtém energia a partir da oxidação do Fe^{2+} ou de compostos reduzidos ou

parcialmente reduzidos de enxofre (incluindo sulfeto, enxofre elementar e tiosulfato) presentes no meio; o sulfato é o produto final da oxidação dos compostos de enxofre. Embora tenha sido caracterizada originalmente como uma espécie estritamente aeróbia, constatou-se, posteriormente, que também pode se desenvolver em ambiente anóxico (BOSECKER, 1997; HERBERT JR, 1999; BRANDL, 2001). A Figura 12 mostra uma microfotografia do *A. ferrooxidans*.

Tabela 3 – Densidade de vários grupos fisiológicos de microrganismos presentes em um solo durante a bioremediação de uma área contaminada, sob condições de campo.

Microrganismo	Horizonte A do solo (0-25 cm), nº células / g de solo seco	Horizonte B do solo (26-80 cm), nº células/g de solo seco
Bactéria heterotrófica aeróbia	$10^6 - 10^8$	$10^4 - 10^6$
Oligocarbófilas	$10^3 - 10^7$	$10^2 - 10^5$
Microrganismos degradadores de celulose	$10^6 - 10^6$	$10^2 - 10^4$
Bactérias fixadoras de nitrogênio	$10^3 - 10^5$	$10^2 - 10^4$
Bactéria nitrificante	$10^2 - 10^5$	$10^1 - 10^3$
Bactéria quimiolitotrófica oxidante de enxofre	$10^3 - 10^7$	$10^2 - 10^5$
Bactéria quimiolitotrófica oxidante de ferro	$1 - 10^1$	$0 - 10^1$
Bactéria heterotrófica anaeróbia	$10^3 - 10^6$	$10^3 - 10^7$
Bactéria desnitrificante	$10^3 - 10^5$	$10^3 - 10^5$
Bactéria anaeróbia fermentadora de carboidratos com produção de gás	$10^3 - 10^5$	$10^3 - 10^6$
Bactéria redutora de sulfato	$10^3 - 10^5$	$10^4 - 10^7$
Bactéria redutora de Fe^{3+}	$10^2 - 10^4$	$10^2 - 10^5$
Bactéria redutora de Mn^{4+}	$10^1 - 10^3$	$10^2 - 10^4$
Bactéria metanogênica	$0 - 10^2$	$1 - 10^5$
Streptomicetos	$10^3 - 10^6$	$10^2 - 10^4$
Fungos	$10^3 - 10^6$	$10^2 - 10^4$
Número total de células	$1.10^8 - 6.10^8$	$1.10^6 - 5.10^7$

Fonte: GROUDEV *et alii* (2001).

O crescimento de *A. thiooxidans* em partículas de enxofre é suportado pela excreção de metabólitos que atuam como biosurfactantes, os quais facilitam a oxidação do enxofre elementar. Na presença de biosurfactantes, que modificam a tensão superficial do mineral, a dessorção do metal da superfície sólida pode ser

melhorada e resulta no aumento de mobilidade em meio poroso (BRANDL, 2001). A Figura 13 mostra uma microfotografia do *A. thiooxidans*.

Figura 12 – Microfotografia de *A. ferrooxidans* em suspensão (ampliação de 30.000 vezes).

Fonte: COLORADO SCHOOL OF MINES (2003).

Figura 13 - Microfotografia de *A. thiooxidans* em suspensão (ampliação de 12.000 vezes).

Fonte: UMBREIT; ANDERSON (1941).

A despeito das muitas vantagens exibidas pelos *Acidithiobacillus sp*, seu crescimento é lento, se comparado com bactérias quimiorganotróficas, o que se deve à sua menor produção de energia em relação ao consumo de substrato. Deve-se considerar ainda que condições de cultivo sub-ótimas podem reduzir ainda mais

as taxas de crescimento e, por conseguinte, prolongar a duração do processo de biolixiviação (KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001).

A lixiviação e mobilização dos metais presentes em materiais sólidos pelos microrganismos compreendem três princípios: reações de oxidação, formação de ácidos orgânicos ou inorgânicos e excreção de agentes complexantes.

A mediação pelas reações de redução é baseada na transferência de elétrons dos minerais para os microrganismos; em caso de contato físico entre os sólidos e os microrganismos; ou pela oxidação do Fe^{2+} para Fe^{3+} , onde o íon férrico catalisa a solubilização do metal (KREBS *et alii*, 1997; BRANDL, 2001). BOON; RAS; HEIJNEN (1999) e BOON *et alii* (1999) estudaram profundamente a cinética da oxidação do Fe^{2+} pelo *A. ferrooxidans*, o que torna esta literatura uma referência para aqueles que desejem aprofundar os conhecimentos sobre o tema.

Inicialmente, foi proposto um modelo de dois mecanismos envolvidos na mobilização de metais. Segundo este modelo, pelo mecanismo direto, os microrganismos poderiam oxidar um sulfeto metálico, obtendo elétrons diretamente do mineral reduzido e para tanto, haveria a necessidade das células estabelecerem um contato físico com a superfície do mineral. Pelo mecanismo indireto, a oxidação do metal reduzido seria mediada pelo Fe^{3+} , originado da oxidação do Fe^{2+} presente no mineral, que sendo um agente oxidante, promoveria a oxidação química do sulfeto metálico. O Fe^{3+} seria reduzido para Fe^{2+} , que por sua vez, seria biologicamente oxidado para Fe^{3+} . Este mecanismo supostamente não exigiria um contato físico entre a célula e a superfície do metal (BRANDL, 2001).

A reação de oxidação de um sulfeto metálico genérico através o mecanismo direto poderia ser representada pela Reação (1) e através do mecanismo indireto, pelas Reações (2), (3) e (4) (BOSECKER, 1997):

A Figura 14 mostra, esquematicamente, a ação dos mecanismos direto e indireto envolvidos na oxidação de sulfetos metálicos.

Figura 14 - Rotas alternativas na oxidação de sulfetos minerais sujeitas às condições ambientais.

Fonte: HERBERT JR. (1999).

Portanto, a ação bacteriana sobre sulfetos metálicos resulta na formação dos sulfatos metálicos correspondentes, já a ação sobre o enxofre elementar resulta em ácido sulfúrico e sobre o íon ferroso, em íon férrico. A ação bacteriana catalisa em até 10^6 vezes a reação de oxidação química em meio ácido. Para que a oxidação bacteriana do enxofre e do ferro ocorra no ambiente, as reações precisam ser termodinamicamente possíveis e, embora os microrganismos não possam mudar as relações termodinâmicas, eles atuam como aceleradores das taxas de catálise das reações químicas (HERBERT JR, 1999).

Segundo BRANDL (2001), os conceitos dos mecanismos direto e indireto estão sendo revistos e substituídos por outros que não dependem desta definição "restrita". Os novos mecanismos são os seguintes:

- A célula tem que estar ligada ao mineral e em contato físico com a superfície deste;
- A célula produz e excreta polímeros, este exopolímero contém Fe^{3+} , que é complexado com ácido glicônico, o exopolímero faz parte do primeiro mecanismo de fixação;
- Formação de tiosulfato como intermediário durante a oxidação dos compostos de enxofre e

- Formação de enxofre ou grânulos de politionato no espaço periplasmático ou na membrana celular.

Visto que não se encontraram evidências para um processo mediado enzimaticamente, foram propostos dois novos mecanismos de biolixiviação dos sulfetos minerais: tiosulfato e polissulfeto; todavia, é a estrutura do mineral quem dita qual será o mecanismo de lixiviação que prevalecerá.

No mecanismo tiosulfato, este composto é o principal produto intermediário da oxidação (e. g. oxidação da pirita molibdenita). No mecanismo polissulfeto, este e o enxofre elementar são os principais produtos da oxidação (e. g. oxidação da galena, esfarelita). A presença de Fe^{3+} no início da degradação mineral é um requisito importante. As Reações (5) e (6) representam o mecanismo tiosulfato, válido para FeS_2 , MoS_2 e WS_2 , as Reações (7), (8) e (9) representam o mecanismo polissulfeto, válidas para PbS , CuFeS , ZnS , MnS , As_2S_3 e As_3S_4 :

Uma discussão profunda sobre o tema foi realizada recentemente por SAND *et alii* (2001) e TRIBUTSCH (2001) e mostrou que a controvérsia sobre os mecanismos envolvidos na biolixiviação de metais ainda persiste.

As transformações enzimáticas catalisadas pelos microrganismos envolvem artifícios bioquímicos destinados a proteger suas próprias células da toxicidade dos metais pesados que, em última instância, podem ser úteis para aplicações de bioremediação. Muitos processos de desintoxicação microbiana envolvem o lançamento ou excreção dos íons metálicos de suas células, que em muitos casos, resulta em elevadas concentrações locais de metal na superfície da célula, onde eles podem reagir com ligantes biogênicos e precipitar (LLOYD, 2002).

BROMBACHER; BACHOFEN; BRANDL (1998) utilizaram a solução ácida resultante do crescimento bacteriano, mas isento de células, para a condução dos ensaios de lixiviação, os quais apresentaram melhores resultados do que a solução contendo células, mas que foi submetida à autoclave. Estes resultados indicaram que compostos envolvidos no transporte de elétrons, como rusticianina (proteína

contendo cobre), citocromos e proteínas ferro-enzofre, presentes no espaço periplasmático das células, são excretados por elas e catalisam a oxidação de compostos metálicos reduzidos e que tais enzimas foram inativadas no meio autoclavado.

Segundo BRANDL (2001), em muitos ambientes de lixiviação, as condições, especialmente as concentrações de Fe^{2+} e Fe^{3+} , variam com a duração do processo de lixiviação, o que torna difícil avaliar a importância e o efeito da presença de um dado microrganismo.

Tanto fatores físico-químicos quanto microbiológicos do ambiente de lixiviação afetam a taxa e a eficiência do processo. As propriedades do sólido a ser lixiviado também são de importância capital. A atividade do próprio microrganismo, a fonte de energia, a composição mineralógica do material a ser lixiviado, a densidade de polpa, a temperatura e o tamanho da partícula, são fatores que afetam adversamente a lixiviação (BRANDL, 2001). A Tabela 4 apresenta os principais fatores que influenciam a oxidação biológica de minerais e a mobilização de seus metais.

Segundo BRANDL (2001), a oxidação microbiológica pode ser inibida por diversos fatores, e. g. compostos orgânicos, agentes com superfície ativa, solventes, metais específicos e agentes de extração ou flotação. Biocidas podem ser utilizados como inibidores seletivos para impedir o crescimento de microrganismos indesejáveis e, deste modo, reduzir a competição das espécies de microrganismos e melhorar a eficiência da biolixiviação. Compostos gasosos também podem exibir efeitos inibitórios, e. g. CO_2 na fase aquosa em concentração superior a 10 mg/L inibe o crescimento de *A. ferrooxidans* em minério de pirita-arsenopirita-pirrotita; a concentração ótima de CO_2 está na faixa de 3 mg/L a 7 mg/L.

A co-precipitação de metais durante o processo de biolixiviação pode reduzir a eficiência do processo, pois a precipitação dos presentes no lixiviado sobre a superfície do mineral pode torná-lo inacessível à lixiviação bacteriana.

A solubilização do metal pode ser facilitada por metabólitos biológicos excretados por outros microrganismos além do *Acidithiobacillus sp*, que fazem parte do consórcio microbiano encontrado nas operações de lixiviação. Dentre as substâncias que podem melhorar o processo incluem-se aminoácidos (cistina), fosforo-lipídeos e lipídeos neutros.

Tabela 4 – Fatores e parâmetros que influenciam a oxidação biológica de minerais e a mobilização de seus metais.

Fator	Parâmetro
Parâmetros físico-químicos de um ambiente de biolixiviação	Temperatura, pH, potencial redox, conteúdo e disponibilidade de água, conteúdo de CO ₂ , transferência de massa, disponibilidade de nutrientes, concentração de Fe ³⁺ , luz, pressão, tensão superficial e presença de inibidores.
Parâmetros microbiológicos de um ambiente de biolixiviação	Diversidade microbiana, densidade populacional, atividade microbiana, distribuição espacial dos microrganismos, tolerância ao metal e capacidade de adaptação.
Propriedades do mineral a ser biolixiviado	Tipo de mineral, composição mineralógica, disseminação do mineral, tamanho dos grãos, área superficial, hidrofobicidade, interações galvânicas e formação de minerais secundários.
Processo de biolixiviação	Modo de lixiviação (<i>in situ</i> , em pilha, aterro ou reator), densidade de polpa, taxa de agitação (caso seja em reator) e geometria (caso seja em pilha).

Fonte: BRANDL (2001).

3.4.8.1 Estudos de casos

Os estudos de caso serão apresentados em ordem cronológica, pois visam expressar o rumo tomado nas pesquisas sobre biolixiviação.

CHARTIER; COUILLARD (1997) relataram a execução de experimentos de biolixiviação, utilizando sedimentos contaminados com metais e *A. ferrooxidans* e *Thiobacilli sp* como agentes biológicos. Tais experimentos foram executados em reatores de 500 mL, em bateladas, que tiveram duração máxima de 96 hs. Este estudo teve por objetivo averiguar se o processo por eles desenvolvido para lodos de esgoto poderia ser aplicado para sedimentos. Os experimentos avaliaram a

influência do pH inicial, da quantidade de inóculo introduzido e da adição de nitrogênio e fosfato sobre a eficiência do processo de biolixiviação.

O sedimento utilizado nos experimentos apresentava a seguinte composição: 3 % areia; 57 % de silte; 40 % de argila; 10,2 % de matéria orgânica; 7,7 % de carbono total; 0,67 % de Nitrogênio Total Kjeldahl; 0,48 % de enxofre total e os seguintes teores de metais: 367 mg/kg Pb; 2.667 mg/kg Zn; 97 mg/kg Cu; 863 mg/kg Mn; 79 mg/kg Ni; 173 mg/kg Cr e 4 mg/kg Cd.

Foi utilizada uma linhagem pura de *A. ferrooxidans*, mas os autores consideraram provável o desenvolvimento de uma cultura mista durante os experimentos, pois essa foi adaptada gradativamente ao sedimento contaminado durante um mês. Para favorecer o crescimento desta bactéria, foi adicionado como substrato 20 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ /100 g de sedimento seco e para reduzir o custo deste substrato, ele foi obtido de um resíduo industrial contaminado com: 20,3 mg/kg Pb; 620 mg/kg Zn; 2,5 mg/kg Cu; 350 mg/kg Mn; 50 mg/kg Ni; 7,5 mg/kg Cr.

Todos os experimentos foram executados em duplicata e com suspensão a 3 %. Para diluição do sedimento, utilizou-se água destilada e o H_2SO_4 para correção do pH. Os frascos foram mantidos a 20 °C, em 100 rpm, por um período de quatro dias.

Nos quatro experimentos executados para avaliar o efeito inicial do pH, adicionou-se variada quantidade de inóculo (volume/volume): 0 %, 10 %, 20 % e 30 %, além de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e fosfato. O substrato foi utilizado sempre na razão de 20 % sobre a massa seca de sedimento no reator.

Nos cinco experimentos executados para averiguar a presença de linhagens indígenas no sedimento, utilizou-se:

- a) sedimento acidificado (pH = 4,0) + 20 % em massa de substrato;
- b) 02 reatores com sedimento sem acidificar (pH = 7,0): 01 reator com 20 % em massa de substrato e 01 reator sem substrato;
- c) 01 reator com sedimento esterilizado em autoclave acidificado (pH = 4,0) + 20 % em massa de substrato;
- d) 01 reator acidificado (pH = 4,0) + 20 % em massa de substrato + 20 % volume/volume de inóculo.

O arranjo experimental resultou na solubilização de 80 % a 90 % para o Zn, de 60 % a 80 % para o Cu e não atingiu 30 % para o Pb. Segundo estes autores, a solubilização do Zn foi estritamente dependente do pH ; para o Cu, ela foi função do

pH e do potencial de óxido redução; para o Pb, o pH afetou sua solubilidade e, nos ensaios que utilizaram elevado percentual de inóculo, o Pb precipitou. Dentre outros fatores, os autores sugeriram que a presença de sulfato interferiu/controlou a solubilidade do Pb (CHARTIER; COUILLARD, 1997).

GROUDEV; SPASOVA; GEORGIEV (2001) reportaram a realização de experimentos de bioremediação *in situ* de solos agrícolas contaminados, em decorrência de atividades de mineração, com radionuclídeos (U e Ra) e metais pesados (Cd, Cu e Zn), os quais se concentravam principalmente na camada superior do solo (0 cm a 30 cm).

Os experimentos foram conduzidos em duas áreas de 20 m x 10 m, sendo cada uma submetida a um método diferente de tratamento, embora tivessem em comum a solubilização inicial dos contaminantes, proporcionada através de solução de água acidificada até pH = 3,5 a 4,5 com H₂SO₄.

O primeiro método de tratamento baseava-se na lavagem ácida por aspersão e a remoção dos contaminantes dissolvidos no lixiviado. O segundo era baseado na estimulação da atividade de bactérias sulfato redutoras, que deveriam promover a transferência dos contaminantes dissolvidos para a camada subsuperficial (31 cm – 80 cm) do solo e, a sua desintoxicação e imobilização na base desta camada. A atividade das bactérias sulfato redutoras foi estimulada mediante a injeção de água e compostos orgânicos. Ambos os lixiviados foram submetidos ao tratamento em *wetlands* e o efluente do tratamento foi reutilizado no tratamento do solo.

A análise da microfauna do solo contaminado revelou uma rica variedade de microrganismos. As bactérias acidófilas mesofílicas *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* e *Leptospiridium ferrooxidans* foram os microrganismos mais prevalentes na camada superior do solo (0 cm a 30 cm), mas algumas espécies basofílicas quimiolitotróficas (principalmente *T. thioparus* e *T. denitrificans*) e algumas espécies heterotróficas também estavam presentes em elevado número.

Os experimentos evidenciaram que, em condições naturais, a oxidação bacteriana dos sulfetos minerais no solo era contínua, mas lenta. O número e a atividade dos microrganismos quimiolitotróficos acidófilos no solo foram limitados por alguns fatores ambientais essenciais, tais como o elevado valor de pH (4,4 a 4,6), o déficit de oxigênio no solo, a insuficiência de umidade durante longos períodos de tempo e a ausência de nutrientes importantes, tais como nitrogênio e fósforo. A

deficiência de nutrientes foi solucionada mediante a adição de zeólita saturada com fosfato de amônio, que forneceu íons fosfato e amônio para a comunidade microbológica e melhorou as propriedades físicas e mecânicas do solo.

Segundo os autores, a solubilização dos contaminantes na área submetida ao tratamento com aspersão foi resultado, principalmente, da atividade da microfauna indígena do solo. Todavia, a acidificação do meio resultou no aumento do número de bactérias quimiolitotróficas e uma pequena redução do número de espécies heterotróficas. Os resultados obtidos por este método, para o tratamento da camada superficial (0 cm a 30 cm) são apresentados na Tabela 5. Na área submetida ao tratamento, apenas uma pequena fração dos contaminantes foi lixiviada, sendo que a maioria foi convertida para a forma de sulfetos insolúveis e o urânio, a UO_2 , que se concentraram na base da camada subsuperficial (31 cm a 80 cm).

Tabela 5 – Elementos tóxicos no horizonte A (0 cm a 30 cm) do solo, antes a após a bioremediação.

Parâmetros	U	Ra	Cu	Zn	Cd
Teor do elemento tóxico (ppm)					
Antes do tratamento	82	640	230	170	3,5
Após o tratamento	23	23	68	51	1,2
Fração biolixiviada (ppm)					
a) Pela lixiviação com DTPA					
Antes do tratamento	12	120	41	35	0,7
Após o tratamento	3,2	25	2,8	2,4	0,02
b) Pela lixiviação com EDTA					
Antes do tratamento	2,8	45	17	14	0,3
Após o tratamento	0,5	10	1,2	1,2	0,01
Fração trocável + carbonato facilmente lixiviados (ppm)					
Antes do tratamento	14	140	59	48	1,0
Após o tratamento	3,0	25	3,7	5,0	0,03
Fração inerte (ppm)					
Antes do tratamento	24	260	91	82	1,9
Após o tratamento	16	170	59	41	0,9
Elementos solubilizados durante o teste de toxicidade (ppm)					
Antes do tratamento	1,45	0,35	6,40	7,10	0,12
Após o tratamento	0,28	0,10	0,32	0,28	0,01

Nota: O conteúdo de Ra é apresentado em Bq/kg de solo seco ou Bq/L.

Fonte: GROUDEV; SPASOVA; GEORGIEV (2001).

BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN (2001) conduziram experimentos para avaliar a capacidade de bactérias (*A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*) e fungos (*Aspergillus niger* e *Penicillium simplicissimum*) em biolixiviar metais pesados

contidos em sucatas de equipamentos elétricos e eletrônicos, cujos teores de metais no material fino (sucata triturada) utilizado nos experimentos eram de 237 mg Al /kg, 80 mg Cu /kg, 20 mg Pb /kg, 15 mg Ni/kg, 23 mg Sn /kg e 26 mg Zn/kg.

Os experimentos utilizando culturas mistas de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*, conduzidos a temperatura de 30 °C, resultaram na mobilização de mais de 90 % de Al, Cu, Ni e Zn para concentração de 5 g sucata/L e 10 g/L e 22 % Cu, 60 % Ni e 95 % Zn para concentração de 100 g sucata/L. *A. niger* foi capaz de mobilizar 90 % de Al, 40 % de Cu, 80 % de Ni, 45 % de Pb, 40 % de Sn e 65 % de Zn para concentração de 1 g sucata/L. e *P. simplicissimum*, 60 % de Al, 10 % de Cu, > 99 % de Ni, > 98 % de Pb, 60 % de Sn e > 99 % de Zn em concentração de 1 g sucata/L. O Pb precipitou sob a forma $PbSO_4$ e Sn sob a forma de SnO em todos os experimentos realizados.

A sucata mostrou-se tóxica às culturas expostas a partir de 100 g/L e, embora não tenha sido determinada a causa ou os mecanismos de toxicidade envolvidos, os autores especularam que ela poderia ser decorrente do elevado teor de Al no resíduo. Entretanto, após um período de adaptação (sete dias para as bactérias e de pelo menos seis semanas para os fungos), o crescimento microbiano pôde ser conduzido sem inibição até 100 g sucata/L.

BOSSHARD; BACHOFEN; BRANDL (1996) e BROMBACHER; BACHOFEN; BRANDL (1998) sugeriram a divisão do processo de biolixiviação em duas etapas: crescimento bacteriano (na ausência do substrato contaminado) e biolixiviação; como forma de melhorar o rendimento do processo, além de proporcionar as seguintes vantagens:

- A biomassa não entra em contato direto com o material contaminado com o metal, permitindo sua reciclagem;
- O resíduo do processo não é contaminado pela biomassa e
- Podem ser aplicadas altas concentrações do material contaminado em relação ao processo em uma só etapa, o que resulta no aumento da recuperação do metal.

KREBS; BACHOFEN; BRANDL (2001) avaliaram a estimulação do crescimento de bactérias oxidantes de enxofre, para a otimização da eficiência de lixiviação de metais contidos em material particulado, resultante da incineração de resíduo sólido urbano, que apresentava os seguintes teores de metais: 70,00 g Al/kg; 0,49 g Cd/kg; 0,70 g Cr/kg; 1,10 g Cu/kg; 0,14 g Ni/kg; 8,90 g Pb/kg; 9,30 g

Sn/kg; 12,00 g Ti/kg; 31,00 g Zn/kg. Este estudo avaliou o uso *A. thiooxidans* em associação com lodo de esgoto (anóxico) e concluiu que a adição do lodo aumentava a acidificação da suspensão e, como consequência, reduzia o tempo de processamento em 50 %.

Segundo estes autores, o uso do lodo de esgoto apresenta as vantagens de conter muitos nutrientes (e.g. elementos traço e amônio); ser disponível em grande quantidade a baixo custo; conter compostos adicionais de enxofre reduzido, que podem ser utilizados como fontes de energia pelos *Acidithiobacillus sp* e de possuir diversas espécies indígenas deste gênero de bactérias, que também eram capazes de biolixiviar metais pesados e assim contribuir para acentuar a acidificação da solução de biolixiviação. O uso do lodo nos experimentos permitiu a redução de 50 % no tempo de duração do processo de biolixiviação, entretanto, não resultou em aumento da eficiência do processo, se comparado ao resultado final obtido pelos experimentos que não o utilizaram.

Estes autores reportaram ter alcançado eficiências de remoção de 60 % de Al; mais de 80 % de Cd, Cu e Zn; 10 % de Cr; 30 % de Ni e menos de 5 % de Pb, para as condições do experimento (concentração de cinza de 0,5 % a 4,0 % - peso/volume, pH = 1,0 a 1,5 e duração do experimento = 22 semanas).

Muitos dos ensaios e experimentos reportados pela literatura (HERBERT JR, 1999, BROMBACHER; BACHOFEN; BRANDL, 1998; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001; KREBS *et alii*, 2001; FRANÇA, 2003) concluíram que o uso de suspensões mistas de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* resultaram em maior eficiência na remoção de metais, quando comparada à obtida por tais espécies isoladamente.

Embora usualmente não seja(m) determinada(s) a(s) causa(s) ou o(s) mecanismo(s) da toxicidade exercida pelos diversos resíduos ou solos contaminados com metais pesados sobre os microrganismos utilizados nos processos de biolixiviação reportados na literatura, há consenso que os principais parâmetros que governam a biolixiviação são o pH, a temperatura, a afinidade da espécie de *Acidithiobacillus sp* ao(s) metal(is) alvo(s), a capacidade de tamponamento do material contaminado, a presença de espécies indígenas de *Acidithiobacillus sp* no meio, a disponibilidade de compostos reduzidos de enxofre e de alguma fonte de carbono no meio (KREBS *et alii*, 1997; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001; BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN, 2001; DOBLER *et alii*, 2001).

O efeito tampão, exercido pelo material contaminado com metal sobre a solução submetida à biolixiviação, requer que uma quantidade adicional de ácido seja produzida para neutralizá-lo, o que resulta em maior quantidade de substrato e em maior duração do processo. Por conseguinte, o pH é um dos parâmetros chave na biolixiviação, estando sua cinética estreitamente relacionada às reações de óxido-redução do enxofre e seus compostos presentes no meio e, também afeta a duração do processo (KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001).

Embora a duração de um processo de biolixiviação possa ser reduzida mediante o uso de uma fonte adicional de energia e de espécies indígenas de *Acidithiobacillus sp* (e.g. adição de lodo de esgoto), há um limite máximo para a eficiência do processo, não sendo este citado na referência (KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001).

ZAGURY *et alii* (2001) relataram o uso de reatores semi-contínuos para a biolixiviação de solos contaminados com Cu, Mn e Zn. Estes pesquisadores utilizaram como inóculo, microrganismos indígenas do solo, previamente adaptados e adição dos substratos $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5 g /L) e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (3 g/L). Obtiveram a solubilização (após 2 dias) de até 47% de Cu, 34 % de Mn e 40 % de Zn, numa suspensão de solo de 100 g/L. O solo utilizado neste experimento apresentava os seguintes teores de metais: 39 ± 1 mg/kg Cu, 840 ± 47 mg/kg Mn e 163 ± 3 mg/kg Zn.

ZAGURY *et alii* (2001) conseguiram reduzir a duração do processo de biolixiviação de 10 dias (reatores em batelada) para 2 dias e ainda aumentar a eficiência da solubilização dos elementos de interesse. Eles citaram, ainda, os resultados de outra pesquisa em que utilizaram reatores em batelada com concentração de solo de 15 g/L e concluíram que o aumento desta de 15 g/L para 100 g/L teve pouco efeito sobre a solubilização do metal. Nos experimentos executados em batelada, o pH inicial era de 4,02 e o final, 2,34. Nos reatores semi-contínuos, estes valores foram de 2,81 e 2,45, respectivamente.

ZAGURY *et alii* (2001) observaram oxidação do Fe^{2+} para Fe^{3+} , o que resultou no aumento do potencial de óxido-redução (POR). A oxidação foi associada com o aumento do POR e com a acidificação da suspensão. Quanto ao pH, os autores consideraram que a faixa de pH = 2 era uma condição favorável para a solubilização de metais em solos, entretanto, além do pH e do POR da suspensão, o particionamento do metal no solo poderia explicar as baixas eficiências obtidas para

cada um dos elementos. Ressalta-se ainda, que tais pesquisadores reconheceram a forte influência das condições iniciais, principalmente o pH, na solubilização dos metais, pois registraram solubilização de 24 % de Cu, 11 % de Mn e 15 % de Zn, no início do experimento, usando reatores semi-contínuos.

LORS; TIFFREAU; LABOUDIGUE (2004) avaliaram a influência da atividade bacteriana na solubilização de metais pesados presentes em sedimentos contaminados. Também investigaram a ocorrência de bactérias indígenas oxidantes de sulfato e seu potencial de lixiviar metais tóxicos de materiais dragados e, o impacto na acidificação do meio na solubilização do metal.

O sedimento utilizado nos experimentos apresentava os seguintes teores dos elementos de interesse: 50.000 ± 4.000 mg Ca/kg, 6.600 ± 300 mg Zn/kg, 770 ± 15 mg Pb/kg, 190 ± 10 mg Cd/kg, 150 ± 10 mg Cu/kg, 273 ± 5 mg Mn/kg, 3.600 ± 200 mg P/kg, 18.000 ± 1.000 mg Fe/kg, $6,5 \pm 0,5$ mg carbono orgânico total/kg. O sedimento natural apresentava pH = $7,2 \pm 0,1$ e umidade de 53 ± 6 %.

Estes experimentos foram conduzidos com sedimentos anóxicos frescos e esterilizados por radiação gama. Os ensaios foram executados em batelada, em frascos de 250 mL, que foram mantidos em temperatura de 20 °C e em agitação constante num agitador horizontal, por período de até 98 dias. Foram utilizadas 72 amostras divididas nas quatro condições de estudo: esterilizada, não esterilizada, solução neutra e solução ácida.

Este trabalho evidenciou que o principal papel no processo de mobilização de metais coube aos microrganismos indígenas do sedimento dragado. Para os ensaios em meio neutro, a solubilização de Zn e Cd decorreu principalmente da ativação bacteriana das fases sulfídricas. A participação de bactérias oxidantes de sulfato, como o *A. thiooxidans*, no processo foi claramente evidenciada, sendo que outras espécies, como o *T. thioparus*, também podem ter desempenhado alguma função, ainda que nos primeiros estágios da oxidação.

A acidificação para pH = 4 nos experimentos com sedimento esterilizado não apresentou influência sobre a liberação de Zn ou Cd, devido ao efeito de tamponamento promovido pela calcita presente no sedimento. Para as amostras com sedimento não estéril, a acidificação resultou em uma redução no pH da solução, mas que também foi rapidamente ajustada pela presença da calcita no sedimento. Esta acidificação inicial foi suficiente para aumentar em 10 vezes a

cinética de liberação do Cd e do Zn. Com base neste comportamento, os autores sugeriram atenção para as condições usadas nos experimentos de resuspensão e seu uso em avaliação de risco, caso o sedimento estudado exiba uma elevada capacidade de tamponamento.

Outro fato relevante deste estudo é o efeito da esterilização sobre a cinética de liberação do Cu, pois a esta resultou na liberação de grande quantidade de carbono orgânico dissolvido e Cu, cujas concentrações apresentaram correlação linear. Esta constatação evidenciou a forte associação entre o Cu e a matéria orgânica presente no sedimento.

3.5 Tratamento do lixiviado

O tratamento do lixiviado, contendo os íons metálicos, removidos do material contaminado submetido à descontaminação/tratamento, pode visar dois objetivos distintos: o tratamento da água residuária para o atendimento da legislação aplicável, ou o tratamento da água residuária associada com a recuperação dos metais em solução.

A recuperação de metais depende de seu valor comercial e da viabilização técnica e econômica do processo de recuperação. Embora seja tecnicamente possível, a recuperação da grande maioria dos íons metálicos, normalmente, não é o objetivo principal do tratamento do lixiviado produzido em um processo de remediação de solo.

A remoção de íons metálicos do lixiviado pode ser realizada através de processos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos e, uma revisão da literatura deste assunto é apresentada a seguir.

3.5.1 Processos físicos

Os processos físicos capazes de remover íons metálicos da água podem ser agrupados em três categorias: a) leitos de filtração, b) evaporação e c) membranas.

3.5.1.1 Leitos de filtração

Os leitos de filtração, a exemplo dos filtros lentos para tratamento de água, tem seu funcionamento baseado em mecanismos de transporte e aderência, ou seja:

- Transporte:
 - ✓ Ação de coar;
 - ✓ Difusão Browniana;
 - ✓ Sedimentação;
 - ✓ Intercepção;
 - ✓ Ação hidrodinâmica; e
 - ✓ Impacto inercial.
- Aderência:
 - ✓ Forças eletrostáticas;
 - ✓ Forças de Van der Waals;
 - ✓ Adsorção mútua; e
 - ✓ Reações de hidratação.

Todavia, dado que os metais estão em solução no lixiviado, somente os mecanismos de aderência serão atuantes no leito filtrante, assim, a capacidade de troca do meio filtrante e sua afinidade com os íons metálicos presentes no lixiviado são fundamentais para o adequado funcionamento do sistema.

MARQUEZ *et alii* (2003) reportaram o uso da filtração em leito de argila (esmectita/caulinita) como sendo uma alternativa tão ou mais eficiente que a adsorção em carvão ativado, para a remoção de Ni em solução sintética. A alternativa indicada para o destino final da argila contaminada foi a fabricação de telhas.

3.5.1.2 Evaporação

A grande diferença entre as pressões de vapor da água e dos íons metálicos permite que estes sejam segregados da solução através da evaporação da água. Os

dois principais métodos empregados são lagoas de evaporação e evaporadores mecânicos (WEF, 1994).

Lagoas de evaporação dependem somente de condições climáticas (taxa de evaporação, precipitação e temperatura). O uso de lagoas de evaporação é viável somente em regiões onde a taxa de evaporação supera a de precipitação, haja disponibilidade de área e represente uma alternativa técnica e econômica competitiva com outras alternativas técnicas de remoção dos metais.

Evaporadores mecânicos são equipamentos muito eficientes para a concentração e remoção de íons metálicos e são de uso corrente em muitos processos industriais. Apesar de constituir-se em uma alternativa técnica, a literatura consultada não apresentou nenhum exemplo da aplicação que utilizasse tal tecnologia.

3.5.1.3 Eletrodiálise

A eletrodiálise é um processo eletroquímico contínuo de separação que emprega membranas, carregadas eletricamente, e uma diferença de potencial para separar espécies iônicas e outros componentes não carregados presentes em uma solução aquosa.

Na eletrodiálise, os eletrólitos são transferidos de uma solução menos concentrada para outra mais concentrada com a ajuda da energia elétrica. A purificação do solvente é obtida através da passagem pela membrana.

A direção e a velocidade do fluxo iônico depende da corrente e da densidade de potência assim como das características da solução das câmaras do ânodo e do cátodo. A taxa de transporte do soluto do líquido adjacente para a membrana pode ser controlada pela difusão através da membrana (USEPA, 1994).

A membrana utilizada possui a habilidade de permitir a passagem de determinados íons e de impedir outras espécies. São capazes, ainda, de distinguir tanto as espécies de carga positiva das de carga negativa quanto os íons de mesma carga. Determinadas membranas tem a habilidade de transportar preferencialmente íons monovalentes ao invés de íons divalentes (AWWARF; LE; WRCSA, 1996).

Apesar desta tecnologia não ser explicitamente citada, para o tratamento do lixiviado produzido em nenhum dos estudos de caso contidos na bibliografia consultada, ela é apresentada como uma alternativa quando se pretende recuperar os metais em solução.

3.5.1.4 Osmose reversa

Osmose reversa explora uma propriedade termodinâmica de cada solução: a pressão osmótica, que é a exata pressão que precisa ser aplicada sobre o lado da solução, contida em um compartimento dividido por uma membrana semipermeável, para interromper o fluxo do solvente para o compartimento de solvente puro. A osmose reversa nada mais é que a aplicação de uma força maior que a osmótica sobre a solução, de forma a inverter o fluxo e direcionar o solvente do lado da solução para o lado do solvente puro (PAREKH, 1988). Ou seja, é um processo no qual a transferência de massa de íons através das membranas é controlada pela difusão (AWWARF; LE; WRCSA, 1996).

Diversas forças de condução são possíveis em transporte por membrana, os principais são: pressão, concentração, potencial elétrico e temperatura (PAREKH, 1988). Os arranjos típicos de instalações de osmose reversa empregam grande quantidade de módulos de filtração, os quais são agregados em conjuntos de menor número de módulos (AWWARF; LE; WRCSA, 1996).

Embora a aplicação de sistemas de membranas estejam em expansão e seja uma alternativa técnica para o tratamento do lixiviado produzido no processo de remediação de solo contaminado com metais e outros compostos orgânicos e inorgânicos, seu uso ainda é restrito a aplicações específicas na indústria e na potabilização de água para abastecimento público.

Um aspecto crítico dos processos que utilizam membranas é a escolha destes elementos, pois fatores como durabilidade, resistência às condições do tratamento físico-químico, estabilidade em altas temperaturas e baixa resistência elétrica, são fundamentais para o sucesso na remoção dos cátions e ânions de interesse. Fatores operacionais também afetam o desempenho de um sistema de

membranas e são tão importantes quanto a escolha das membranas, entre tais fatores incluem-se pH e a turbulência do fluxo (USEPA, 1994).

3.5.2 Processos químicos

3.5.2.1 Óxido-redução

Reações de óxido-redução implicam na transferência de elétrons entre as diferentes espécies, substâncias e compostos químicos envolvidos em uma reação química, que por sua vez, resultam na mudança do estado de oxidação dos participantes da reação. Tanto a oxidação quanto a redução ocorrem em toda e qualquer reação química onde haja a troca de elétrons, pois se uma substância é oxidada, a outra obrigatoriamente é reduzida (FREEMAN; HARRIS, 1995).

O tratamento do lixiviado através de processos de óxido-redução tem por objetivo reduzir ou eliminar a toxicidade exibida pelos íons metálicos presentes, a qual está diretamente relacionada aos seus estados de oxidação e, é definido em função das peculiaridades de cada íon, visto que tanto cátions quanto ânions podem ser oxidados ou reduzidos, o que depende unicamente do estado de oxidação de cada espécie química.

No processo de oxidação química, o estado de oxidação do íon metálico é aumentado enquanto o do agente oxidante é diminuído. O produto deste processo é o óxido do metal presente, o qual precipita facilmente da solução. Dentre os principais agentes oxidantes incluem-se: ozônio, peróxido de hidrogênio, cloro e dióxido de cloro. Apesar do processo de oxidação não ser seletivo, o agente oxidante é, portanto, os ânions presentes no lixiviado determinarão a escolha do agente oxidante passível de oxidá-los.

Ao contrário do processo de oxidação, no processo de redução, o estado de oxidação do contaminante é reduzido enquanto o do reagente é aumentado, ou seja, os íons metálicos são convertidos, mediante o uso de um agente redutor, para as formas elementares de seus metais, permitindo sua reciclagem. (FORD, 1992, HAAS; VAMOS, 1995).

Embora os processos de óxido-redução sejam passíveis de serem aplicados a todos os compostos metálicos possíveis de serem oxidados ou reduzidos quimicamente, tais processos são aplicados apenas em situações em que se deseje reduzir a toxicidade e/ou a mobilidade do composto metálico original, afim de evitar a propagação do contaminante, a contaminação de subprodutos do processo de tratamento ou mesmo facilitar sua remoção do lixiviado.

Um exemplo desta situação é o caso da redução do Cr^{6+} , que é mais tóxico e móvel do que o Cr^{3+} , logo, é desejável, primeiro reduzir o Cr^{6+} antes de proceder sua remoção do lixiviado, por exemplo, através da precipitação química (USEPA, 1997c, USEPA, 1999). Outro exemplo desta situação é a oxidação do As^{3+} para As^{5+} , que é menos solúvel que As^{3+} e, portanto, proporciona melhores resultados quando se utiliza processos de precipitação química para a remoção de As do lixiviado (USEPA, 2002b).

São características comuns aos processos de óxido-redução (FREMAN; HARRIS, 1995):

- Não seletividade: todo material passível de ser oxidado ou reduzido reagirá com o agente oxidante/redutor;
- Mistura: o agente oxidante/redutor precisa ser adequadamente misturado ao lixiviado para garantir que as reações sejam homogêneas em toda a massa líquida;
- pH: precisa ser controlado e mantido na faixa de valores ideal para a reação do agente oxidante/redutor e o contaminante alvo;
- Escolha do agente oxidante/redutor: depende das características e propriedades químicas do agente e do contaminante presentes no lixiviado;
- Limitações:
 - ✓ Caso as reações não sejam completadas: permanência de residual do contaminante no lixiviado tratado e/ou a formação de compostos intermediários que podem ser mais tóxicos que o contaminante original; e
 - ✓ Causas das reações incompletas: a adição de quantidade insuficiente do agente oxidante/redutor, a inibição das reações de oxidação/redução devido ao valor do pH (abaixo ou acima dos valores ótimos para a reação), a força do agente oxidante/redutor, a presença de compostos interferentes que consomem o agente oxidante/redutor ou, ainda, mistura ou tempo de contato inadequados entre o agente oxidante/redutor e o contaminante.

O monitoramento das concentrações do residual do agente oxidante/redutor, do contaminante e dos produtos gerados é fundamental para garantir que as reações de oxidação/redução sejam completas.

Os processos de óxido-redução, apesar de serem métodos de destruição de contaminantes, não são viáveis para o tratamento de lixiviado contendo elevada concentração de íons metálicos (ou contaminantes orgânicos), visto que demanda grande quantidade de agente oxidante/redutor, logo, é uma alternativa de elevado custo operacional.

3.5.3 Processos físico-químicos

3.5.3.1 Adsorção

A adsorção envolve a separação de compostos em solução e sua deposição sobre a superfície de um material adsorvente. É uma técnica originalmente utilizada para a remoção de compostos orgânicos, embora haja relatos na literatura sobre sua utilização na remoção de metais pesados, particularmente de mercúrio orgânico e inorgânico (FAUST; ALY, 1999).

A sorção é um fenômeno de equilíbrio em que atuam três mecanismos: eletrostático, físico e químico. O mecanismo eletrostático ocorre como o resultado de forças atrativas associadas entre o adsorvato e o adsorvente e é o principal mecanismo na adsorção de metais. O mecanismo de atração física é atribuído a processos de ligações fracas causadas por forças de atração intermoleculares, tais como as pontes de hidrogênio e forças de Van der Waals. O mecanismo químico é caracterizado por uma ligação forte e mais permanente que o mecanismo físico e tem todas as características de uma verdadeira ligação química (WATTS, 1997).

Dentre os diversos tipos de adsorventes conhecidos, o carvão ativado em pó (sob a forma L-carbono) e a alumina são os materiais com maior capacidade de adsorver íons metálicos (BAE *et alii*, 2000).

WASAY, BARRINGTON; TOKUNAGA (1999) avaliaram a eficiência de carvão ativado granular (CAG), de alumina ativada granular (AAG), de solução de

cloreto férrico (SCF) (a 5 %) e de hidróxido de sódio, para o tratamento de lixiviado contaminado com os metais Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb e Zn. O solo utilizado nos experimentos estava contaminado com teores de metais que variavam de 840 mg/kg a 2,8 g/kg e, o lixiviado resultante da lavagem, utilizando soluções de EDTA e DTPA, possuía as seguintes características: 36,4 mg Cd/L, 15,0 mg Cr/L, 7,4 mg Cu/L, 2,5 mg Hg/L, 32,5 mg Mn/L, 76,3 mg Pb/L e 13,8 mg Zn/L, totalizando 184 mg metais/L; pH da solução = 4,4.

A Tabela 6 apresenta os parâmetros ótimos para a remoção de quelatos metálicos, bem como, os resultados obtidos com a sua utilização. Os resultados evidenciaram o melhor desempenho do CAG na remoção dos quelatos metálicos. Para os autores, os resultados obtidos sugeriram que a adsorção de metais pesados à superfície do CAG podia ser governada pela presença de complexos metálicos ao invés de íons metálicos livres.

Tabela 6 – Condições para a máxima remoção de quelato metálico usando diferentes adsorventes/precipitantes.

Adsorvente/ precipitante	Parâmetro de tratabilidade	Cd	Cr	Cu	Hg	Mn	Pb	Zn
CAG	pH	> 7,7	5,4-6,2	> 7,7	5,4-6,9	>7,7	6,9-7,7	>7,7
	Tempo (h)	7	6	6	5	6	6	7
	% de remoção	89	75-77	87	96-97	78	92-95	84
AGA	pH	8,1-8,9	8,1-8,9	8,1-8,9	8,1-8,9	8,1-8,9	8,1-8,9	8,1-8,9
	Tempo (h)	12	12	12	12	12	12	12
	% de remoção	23-34	25-33	9-17	58-64	22-24	27-41	27-34
SCF	pH	3,3-6,8	3,3-6,8	3,3-6,8	3,3-6,8	3,3-6,8	3,3-6,8	3,3-6,8
	Tempo (h)	12	12	12	12	12	12	12
	% de remoção	7-11	11-15	23-40	82-92	13-16	16-18	10-14
NaOH	pH	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5
	Tempo (h)	12	12	12	12	12	12	12
	% de remoção	16	10	9	52	15	15	12

Nota: CAG = carvão ativado granular; AAG = alumina ativada granular; SCF = solução de cloreto férrico.

Fonte: WASAY; BARRINGTON; TOKUNAGA (1999).

Estes autores concluíram que o CAG poderia ser utilizado para adsorver quelatos metálicos dissolvidos em lixiviado gerado durante o processo de lavagem de solo com ácidos orgânicos fracos e/ou seus sais, EDTA e DTPA. Sugeriram, ainda, que o CAG fosse utilizado em um sistema de três tanques em série, onde o conteúdo do primeiro deveria ser mantido em pH = 6,9 para a remoção do Hg; o do segundo em pH = 7,7 para a remoção de Cd, Cu, Mn, Pb e Zn e do terceiro em pH = 5,4 para a remoção de Cr. O CAG poderia ser regenerado com solução de HCl e os

metais recuperados poderiam ser utilizados pela indústria para a fabricação de ligas metálicas.

A Figura 15 mostra um esquema geral de um sistema em série de colunas de carvão ativado granular, utilizado para a remoção de contaminantes contidos no lixiviado. A configuração de unidades em série do sistema tem por objetivo maximizar a remoção dos contaminantes alvo, especialmente quando há competitividade entre os contaminantes pelos sítios ativos do material adsorvente (neste caso o carvão ativado), logo, as diferentes unidades (colunas de carvão ativado) do sistema podem remover seletivamente os contaminantes alvo do lixiviado.

Figura 15 – Colunas de carvão ativado.
Fonte: USEPA (2001).

A identificação de materiais naturais, de baixo custo, de fácil disponibilidade e de aceitável capacidade de adsorção é um desafio que fomenta a experimentação dos mais diversos materiais disponíveis na natureza ou provenientes de diferentes processos industriais.

MEUNIER; BLAIS; TYAGI (2002) realizaram um estudo para selecionar um material natural capaz de adsorver íons de metais pesados do lixiviado produzido durante a remediação de solo e avaliar o efeito da composição do metal e do tamanho da partícula sobre a capacidade de remoção.

O solo utilizado nos experimentos estava contaminado com diversos metais (1,9 mg Cd/kg, 120 mg Cr/kg, 175 mg Cu/kg, 457 mg Mn/kg, 80 mg Ni/kg, 817 mg Pb/kg e 565 mg Zn/kg), os quais foram transferidos para o lixiviado (pH=1,97; 0,061 mg Cd/L; 3,910 mg Cu/L; 0,237 mg Ni/L; 28,400 mg Pb/L e 10,040 mg Zn/L) após lavagem com HCl. Cascas de árvores (pinho, cedro e abeto) e de fruto (cacau) e

minerais (rocha vulcânica e vermiculita) foram utilizados como adsorventes. A Tabela 7 mostra a capacidade de adsorção exibida por cada um destes materiais.

Este trabalho concluiu que o melhor adsorvente para a remoção de Pb foi a casca de cacau, que apresentou uma capacidade máxima de fixação de 2,60 mg Pb/g (pH inicial = 1,59; 45,4 mg Pb/L) para o lixiviado. Foi reportado, ainda, que a presença de vários metais e cátions no lixiviado resultou na redução da capacidade de remoção do Pb, o que pode ser explicado pela competição entre os diferentes íons pelos sítios disponíveis na superfície do adsorvente que, é um fenômeno reportado por outros autores citados ao longo do presente texto.

A busca por novos materiais, para a produção de membranas, intensificou-se na última década e, desde então, foram produzidas e avaliadas diversas membranas de materiais orgânicos (GENÇ *et alii*, 2002). Estes pesquisadores avaliaram a eficiência da membrana quelante composta de polihidroximetacrilato-quitosan MX 5 BR, também conhecida como membrana de rede interpenetrante, produzida pela empresa norte-americana Procion Brown, para a remoção de íons de Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} ; em diversas concentrações (30 a 400 mg/L), valores de pH de 2 a 6, temperatura controlada em 20 °C, velocidade de agitação de 600 min^{-1} e tempo de adsorção de 1 hora; e concluíram, que sob as condições de ensaio, a máxima capacidade de adsorção da membrana foi de 18,5 mg Cd^{2+} /g, 22,7 mg Pb^{2+} /g e 68,8 mg Hg^{2+} /g.

Tabela 7 – Concentração de metais solúveis no lixiviado do solo após 24 h de adsorção usando 20 g/L de cada material adsorvente.

Adsorvente	pH	POR (mV)	Concentração de metais solúveis (mg/L)				
			Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Controle	1,97	525	0,061	3,91	0,237	28,4	10,04
Casca de cacau	3,00	307	0,059	1,31	0,232	2,7	8,69
Vermiculita	2,05	428	0,060	3,69	0,228	25,9	9,47
Rocha vulcânica	1,95	517	0,058	3,84	0,236	27,5	9,85
Casca de pinho	2,08	409	0,057	3,26	0,217	20,0	9,73
Casca de cedro	2,12	390	0,058	2,22	0,227	12,5	9,48
Casca de abeto	2,34	390	0,060	2,92	0,219	16,8	9,74

Nota: POR = potencial de óxido-redução.

Fonte: Adaptado de MEUNIER; BLAIS; TYAGI (2002).

Este estudo também avaliou a capacidade de adsorção da membrana sob condição de competição (adsorção de suas soluções ternárias), neste caso, os

experimentos utilizaram soluções de 196,70 mg Cd^{2+}/L , 362,25 mg Pb^{2+}/L e 351,05 mg Hg^{2+}/L e culminaram nos seguintes resultados, para $\text{pH} = 5,0$ e temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ constantes: 1,8 mg Cd^{2+}/g , 2,2 mg Pb^{2+}/g e 52,6 mg Hg^{2+}/g . A lavagem da membrana com HNO_3 (0,01 M) resultou em dessorção superior à 95 % de todas os íons, após cinco ciclos de lavagens.

A membrana, como adsorvente ideal, deve possuir estruturas de micro ou macroporos, disponibilidade de grupos reativos para ligação com os íons metálicos e estabilidade física e química, sob condições extremas (GENÇ *et alii*, 2002).

Segundo HUANG; HUANG; MOREHART (1991), íons de H^+ , Na^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} competem com os íons metálicos pelos sítios ativos do adsorvente, entretanto, H^+ e Na^+ mantém uma ligação mais fraca com o sítio ativo do que o metal e o Na^+ , em condição de competição com o íons metálicos, pode não afetar significativamente a adsorção destes, conclusão esta, obtida a partir de resultados de experimentos onde a concentração de Na^+ era 1000 maior do que a de Cu^{2+} . Já os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} mantém uma ligação mais forte com o adsorvente e podem afetar significativamente a adsorção de íons metálicos quando em condição de competição.

3.5.3.2 Precipitação e sedimentação

A precipitação de espécies metálicas em solução no lixiviado baseia-se na redução da solubilidade dos metais presentes na solução ou na formação de seus compostos insolúveis sob determinadas condições do meio. A redução de solubilidade de íons metálicos é obtida mediante a variação do valor do pH , que é conduzida através da adição de um agente acidificante e/ou alcalinizante, o qual é definido em função dos íons presentes. A formação de compostos metálicos insolúveis envolve a adição de coagulantes na solução, que também é definido em função dos íons presentes na solução.

O precipitado formado, seja a própria espécie metálica ou o composto metálico, pode então ser separado da água através de um processo físico, como filtração ou sedimentação. A adição de agentes coagulantes ou floculantes tem o

objetivo de agregar os cristais formados e de melhorar sua separação da fase líquida (HAAS; VAMOS, 1995).

Íons metálicos presentes no lixiviado sob a forma de complexos organometálicos, tais como os formados durante a lavagem do solo com EDTA e NTA, podem ser removidos da solução mediante a acidificação do meio (exceto o Hg) ou sua precipitação sob a forma de hidróxido, sulfeto ou oxalato. Ácidos minerais podem causar a dissociação do complexo metal-EDTA, mas a precipitação do EDTA somente poderá ocorrer se a concentração da espécie de EDTA protonada for superior à sua solubilidade. Em meio alcalino ($\text{pH} > 9,0$) o complexo poderá ser dissociado pela precipitação do metal sob a forma de seu hidróxido (USEPA, 1994).

Os íons metálicos são precipitados sob a forma de hidróxidos ou sulfetos dos metais correspondentes, que então concentram-se no lodo gerado. A precipitação não é um processo destrutivo, mas sim uma técnica de transferência dos íons metálicos e de outros contaminantes de um meio líquido para um sólido, portanto, não constitui uma solução definitiva para o problema.

Os metais Cd, Pb, Ni e Zn podem ser precipitados tanto sob a forma de hidróxido quanto de sulfeto; Cd, Pb e Ni também podem ser precipitados sob a forma de carbonato (FORD, 1992; HAAS; VAMOS, 1995).

O Cd precipita melhor sob a forma de hidróxido e sulfeto e pode ser co-precipitado usando sais de Al. O Pb não precipita eficientemente sob as formas de hidróxido e de sulfeto, sendo mais eficiente sob a forma de carbonato. O Ni precipita-se eficientemente sob a forma de hidróxido mas, em águas fortemente complexadas, a precipitação sob a forma de sulfeto oferece melhor resultado. O Zn é precipitado eficientemente sob a forma de hidróxido e oferece limitada eficiência sob a forma de sulfeto (FORD, 1992).

A precipitação sob a forma de hidróxido é obtida mediante a adição de um reagente alcalino (e.g. cal hidratada), que eleva o pH da solução até que o limite de solubilidade do metal seja excedido, quando então, o mesmo precipita.

A precipitação sob a forma de sulfeto envolve a reação do metal dissolvido com o íon sulfeto (S^{2-}), para formar um sulfeto metálico relativamente insolúvel, que então precipita. O uso de sulfeto para a precipitação de metais deve ser considerado com cuidado, pois pode haver produção de gás sulfídrico, principalmente em meio básico, que é letal em baixas concentrações em ambientes fechados. Outras

características do uso do sulfeto incluem o maior custo do processo em relação à precipitação via hidróxido, a necessidade de controle contínuo do processo e a elevada produção de lodo (WEF, 1994).

A precipitação sob a forma de carbonato metálico demanda a adição de uma base para elevar o pH da solução e, caso não haja carbonato livre, de um carbonato inorgânico (e.g. Na_2CO_3). Embora o processo requeira um meio alcalino sua eficiência é reduzida em pH acima de 10, devido a formação de complexos de hidróxidos metálicos (HAAS; VAMOS, 1995).

A precipitação é influenciada por diversos fatores, que incluem (FORD, 1992):

- pH da solução;
- Sal formado;
- Cinética de formação;
- Agentes complexantes;
- Formação de co-precipitantes; e
- Eficiência de remoção de sólidos em suspensão.

A precipitação química em meio alcalino apresenta como principais desvantagens: a elevada demanda de álcali para elevar o pH até atingir a faixa de valor ótimo para a precipitação dos hidróxidos metálicos e a elevada produção de lodo. Em meio ácido, os metais podem ser arrastados e precipitados através dos ânions sulfeto (S^{2-}) e oxalato ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2^-$), sendo que o sulfeto apresenta a desvantagem de ser incapaz de precipitar alguns metais em pH baixo (para $\text{pH} \leq 5$ somente se formam e precipitam os sulfetos de Ag, Cd, Pb e Zn, cuja solubilidade (mg/L) em $\text{pH} = 5$ é, respectivamente, 10^{-8} , 10^{-3} , 10^{-3} e 10^{-2}), o que não ocorre com o oxalato, logo, o oxalato é mais adequado para tal aplicação (ZIELINSKI; BUCA; FAMULSKI, 1998 e HAAS; VAMOS, 1995).

ZIELINSKI; BUCA; FAMULSKI (1998) avaliaram o uso do D2EPA (ácido di(2-etilexil) fosfórico) diluído em querosene como agente de extração de metais (Ni^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} e Pb^{2+}), contidos em uma solução ácida. Apesar da elevada eficiência obtida no arraste e precipitação dos metais das soluções sintéticas contendo apenas um metal, utilizando solução de D2EPA a 30% em querosene, 30 g $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (97 % para Cu^{2+} e Zn^{2+} e 87 % para o Pb^{2+}), não se obteve o mesmo resultado tanto para os sistemas contendo dois e três metais quanto para a água residuária industrial contendo metais (69,50 g Cu/L; 230 g Cr(II e VI)/L; 0,02 g Fe/L;

42,5 g Ni/L e 162 g Zn/L). Neste caso, utilizando solução de D2EPA a 10 % em querosene e pH = 3,2, os autores relataram ter obtido eficiência de arraste de 92 % para Cu^{2+} e maior que 77 % para Zn^{2+} e Ni^{2+} e 30 % para o Cr; a eficiência da precipitação foi de 68 % para Zn^{2+} e inferior a 20 % para Ni^{2+} , Cu^{2+} e Cr.

As conclusões principais deste trabalho foram de que o D2EPA é um composto eficiente para a extração de íons metálicos contidos em solução ácida e, que ajuste do pH, através da adição de oxalato, permite a separação parcial e a efetiva recuperação do metal. Os autores também concluíram os resultados obtidos para o sistema monometal não podem ser extrapolados para o tratamento do lixiviado produzido durante a remediação de solos contaminados com metais, que, tipicamente, possui mais de uma espécie metálica. Entretanto, o uso do D2EPA pode ser uma alternativa interessante para a extração de metais em solução no lixiviado oriundo de solos contaminados.

A Figura 15 mostra a variação da eficiência da extração de metais pela solução D2EPA a 30 % em querosene em função do pH. O comportamento homogêneo dos metais permite que sejam seletivamente extraídos da solução.

Figura 16 - Eficiência de extração (N) *versus* pH da solução de extração: solução 30 % de D2EHPA em querosene.

Fonte: ZIELINSKI; BUCA; FAMULSKI (1998).

3.5.3.3 Troca iônica

Os processos de troca iônica baseiam-se na utilização de resinas, orgânicas ou inorgânicas, trocadoras de íons. A troca de íons ocorre entre a fase sólida do trocador de íons e o lixiviado submetido ao dispositivo de tratamento, que pode ser uma coluna ou um reator recheado com resina (FORD, 1992, HAAS; VAMOS, 1995, AWWA; ASCE, 1998).

As resinas são sólidos homogêneos e a troca de íons da fase líquida para a sólida ocorre na sua superfície. Os íons, então, espalham-se através do polímero solvatado, de um sítio de troca de íon para outro em direção ao centro da resina(AWWA; ASCE, 1998).

O conhecimento dos íons presentes no lixiviado é fundamental para a escolha da resina adequada, pois estas são seletivas a determinado íon, ou conjunto de íons. Após o uso, a resina pode ser regenerada, todavia, sua vida útil é finita e decresce ao longo do tempo, logo, é um processo indicado para o tratamento de lixiviado contendo baixa concentração de íons, o que permite um maior tempo de operação do sistema e uma menor frequência de regeneração da resina, que por sua vez, reflete no aumento da vida útil da unidade.

3.5.4 Processos biológicos

Os processos biológicos de tratamento de metais pesados utilizam os diferentes mecanismos de desintoxicação que certas espécies de microrganismos utilizam quando seu hábitat é contaminado por eles. A impossibilidade de biodegradação dos metais força os microrganismos a recorrer à outros meios de promover a sua imobilização, solubilização ou inertização e, dentre os mecanismos empregados neste intento, incluem-se (KING; LONG; SHELDON, 1998):

- Adsorção ;
- Troca iônica;
- Precipitação extracelular;

➤ Formação de complexos organometálicos.

A toxicidade que um metal exibe para o organismo exposto não limita-se somente ao seu estado de oxidação, mas também o pH do meio, todavia, a redução ou a oxidação das espécies metálicas elimina ou reduz a toxicidade dos metais. A redução das espécies metálicas permite que as mesmas sejam convertidas para formas metálicas estáveis e insolúveis (Hg e Se podem ser reduzidos para sua forma metálica; Pb e Zn para a forma de seus sulfetos) ou permaneçam como íons menos tóxicos (redução de Cr^{6+} para Cr^{3+}) (KING; LONG; SHELDON, 1998).

Os quatro mecanismos supracitados podem ser agrupados em dois processos biológicos básicos: bioacumulação e biotransformação.

3.5.4.1 Bioacumulação

A bioacumulação é a capacidade, natural ou conferida intencionalmente, dos organismos vivos de acumularem substâncias específicas no interior ou na superfície de suas células. Pesquisas utilizando engenharia genética já demonstraram, em escala de laboratório, que bactérias geneticamente modificadas ampliaram sua capacidade de bioacumular íons metálicos (BAE *et alii*, 2000).

Os organismos superiores respondem à presença de metais pesados com a produção de peptídios ricos em cisteína, tal como glutathiona, fitoquelatinas e metalotioneínas, que se ligam a íons metálicos e os transformam em formas biologicamente inativas. A possibilidade de modificar geneticamente organismos que abrigam genes sintéticos, que codificam proteínas análogas a fitoquelatinas, com comprimento de cadeia precisamente definida, permitiram a BAE *et alii* (2000) demonstrarem, pela primeira vez, a capacidade de ligação a metais de qualquer fitoquelatina ou organismo modificado contendo até 20 cisteínas.

No estudo realizado por BAE *et alii* (2000) foram introduzidas alterações genéticas em culturas de *E. coli* - modificadas através da técnica de transferência de fragmentos de DNA chamada *plasmídeos*, que também é citada por KING; LONG; SHELDON (1998) para a remoção de compostos orgânicos clorados - que resultaram na ampliação da capacidade de remoção de Cd^{2+} de aproximadamente 4 nmol Cd^{2+} /mg célula em base seca (controle) para quase 35 nmol Cd^{2+} /mg célula em

base seca no perioplasma e aproximadamente 55 nmol Cd^{2+} /mg célula em base seca na superfície da célula. Segundo estes autores, a acumulação de metal é fortemente dependente da afinidade de ligação da superfície exposta do peptídeo e a quantidade deste na superfície da célula.

KING; LONG; SHELDON (1998) reportaram, ainda, a possibilidade da remoção e recuperação de Cd e Cu através de sua concentração em biopolímeros produzidos por microrganismos.

A aplicação da engenharia genética na melhoria de microrganismos naturalmente capazes de adsorver íons metálicos, tem o potencial de desenvolver espécies que exibam elevada afinidade de ligação à determinado elemento ou grupo de elementos metálicos, o que pode torná-la uma alternativa economicamente viável para a recuperação e reutilização de metais.

3.5.4.2 Bioadsorção

A capacidade de sorção não é exclusividade de elementos abióticos, pois também é exibida por diversas espécies de microrganismos, que possuem ainda, a vantagem de serem seletivos a determinados íons de metais pesados, mesmo que em soluções com elevada concentração de íons de metais alcalinos e alcalinos terrosos (ESPOSITO *et alii*, 2001). A bioadsorção pode ser definida como um metabolismo independente da sorção (ou seja seus mecanismos de ação não dependem dos mecanismos eletrostático, físico e químico que governam a sorção) de metais pesados à biomassa. A superfície da célula possui cargas negativas em $\text{pH} = 7,0$, devido à presença de grupos carboxila, amino, hidroxila, fosfatos e sulfidril e pode adsorver cátions metálicos (LLOYD, 2002).

Certos microrganismos, quando em presença de metais tóxicos, são capazes de secretar proteína, lipoproteína ou polissacarídeo, sob a forma de uma camada que recobre a célula e que é uma ligação para a superfície externa de sua membrana celular e tem por objetivo atrair e capturar os íons metálicos (KING; LONG; SHELDON, 1998). Segundo estes autores, esta ação defensiva da célula serve, aparentemente, para:

- Fornecer um sítio de ligação que retira o íon metálico da solução;

- Isolar o íon metálico, impedindo-o de atravessar a membrana celular; e
- Trazer o íon metálico para junto da célula para combiná-lo com outros ligantes orgânicos para a formação de complexos organometálicos, que podem reduzir a toxicidade do metal ou fornecer um mecanismo para mobilizá-lo para longe do organismo.

A bioadsorção de metais pesados é afetada por diversos fatores que incluem o pH, a força iônica, a concentração de biomassa, a temperatura e a presença de diferentes íons metálicos na solução, que competem pelos sítios ativos existentes na superfície do adsorvente (ESPOSITO *et alii.*, 2001).

A Figura 17 mostra um esquema que sintetiza os vários meios pelos quais a bactéria reage com a presença de metais (Me^{2+}) no meio, com relação ao compartimento celular que abriga a resposta celular. Estes mecanismos incluem as ligações intra e extracelulares (e assim a imobilização) do metal com a proteína cognata (frequentemente uma metalotioneína) ou um ânion compatível, a biotransformação de um íon tóxico para uma forma menos tóxica ou mais volátil e a conseqüente redução do metal (VALLS; LORENZO, 2002).

Figura 17 – Resposta bacteriana à concentração tóxica de íons metálicos.

Fonte: VALLS; LORENZO (2002).

HUANG; HUANG; MOREHART (1991) estudaram a remoção de Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+} utilizando *Aspergillus oryzae* (células vivas, regeneradas e mortas), em escala de laboratório, sob as seguintes condições:

- Reatores em batelada;
 - Água residuária artificial;
 - Concentração de metais: $2 \cdot 10^{-6}$ M a $1 \cdot 10^{-4}$ M (para valores constantes de pH);
- e

- pH: 2 a 9 (experimentos com concentração constante de metais = $5 \cdot 10^{-5}$ M, a força iônica foi de $5 \cdot 10^{-2}$ M adicionado como NaClO_4).

Estes pesquisadores relataram ter obtido remoções de 90% de Cd^{2+} (pH = 9,0 e biomassa reutilizada após lavagem ácida); > 95 % de Cu^{2+} (pH = 6,5, biomassa reutilizada após lavagem ácida); 90 % de Ni^{2+} (pH = 8,5 e biomassa reutilizada após lavagem ácida); > 95 % de Pb^{2+} (pH = 7,0 e biomassa morta) e > 90 % de Zn^{2+} (pH = 8,0 e biomassa reutilizada após lavagem ácida); em experimentos conduzidos com concentração fixa de metais ($5 \cdot 10^{-2}$ M) e pH variável. Em termos relativos, as capacidades máximas de adsorção de *A. oryzae* obtidas, para as condições do experimento (pH = $5,0 \pm 0,02$; concentração de metais = $5 \cdot 10^{-5}$ M e *A. oryzae* = 5 g/L), foram de:

- 514 ± 7 $\mu\text{mole Cd}^{2+}/\text{g}$ base seca (C/N 10, biomassa tratada com lavagem ácida);
- 536 ± 15 $\mu\text{mole Cu}^{2+}/\text{g}$ base seca (C/N 10, biomassa tratada com lavagem ácida);
- 382 ± 9 $\mu\text{mole Ni}^{2+}/\text{g}$ base seca (C/N 10, biomassa tratada com lavagem ácida);
- 560 $\mu\text{mole Pb}^{2+}/\text{g}$ base seca (C/N 3, biomassa tratada com lavagem ácida); e
- 420 ± 9 $\mu\text{mole Zn}^{2+}/\text{g}$ base seca (C/N 3, biomassa tratada com lavagem ácida).

Este estudo concluiu que a remoção de íons metálicos era determinada por diversos fatores, mas que o mais importante era o pH. Os experimentos demonstraram, ainda, que a relação C/N afetava a adsorção dos íons e que a abundância de N no meio de cultivo resultava no crescimento de micelas com maior quantidade deste elemento na superfície da célula e por conseguinte, no aumento de sítios de ligação para os íons metálicos.

O uso de biomassa confinada em reatores, mediante o uso de membranas de micro e/ou ultrafiltração, é outra alternativa para a remoção de íons metálicos (BARBA; BEOLCHINI; VEGLIÒ, 2001, VEGLIÒ *et alii*, 2002). BARBA; BEOLCHINI; VEGLIÒ (2001) desenvolveram um modelo, cujo objetivo foi simular o efeito das principais condições operacionais no processo; perfil dos metais no fluxo de saída e remoção cumulativa dos íons; de modo a predizer com 95 % de confiabilidade os resultados experimentais. A calibração do modelo foi realizada através de experimentos utilizando *Arthrobacter sp.*, para a remoção de Cu^{2+} (concentração no afluente = 10 mg Cu^{2+} /L, vazão = 3,5 mL/min, concentração de biomassa = 1 g/L, volume de reação = 500 mL).

Estes autores relataram que as simulações, fornecidas pelo modelo calibrado com os dados experimentais, possibilitaram alcançar os objetivos pretendidos, entretanto, os resultados deveriam ser verificados por outros estudos.

VEGLIÒ *et alii* (2002), utilizaram *Sphaerotilus natans*, também confinadas em reatores isolados por membranas de ultra e microfiltração, para a remoção de Cu^{2+} e Pb^{2+} em um sistema binário, cujo objetivo final era avaliar o comportamento destes metais que apresentavam diferentes afinidades em relação ao bioadsorvente utilizado.

O comportamento dos metais foi avaliado em condições de competitividade, simulado com base nos parâmetros de equilíbrio da isoterma de Langmuir (determinados em testes do tipo batelada), de modo que, segundo os autores, foi possível reproduzir qualitativamente o comportamento experimental da bioadsorção multimetal em reatores em série. Os resultados produzidos por este estudo indicaram que em condições de competitividade, o metal de menor afinidade ao adsorvente desorve deste para a liberação do sítio ativo para o metal de maior afinidade, o que resulta em maior eficiência de remoção deste em relação àquele.

A alternativa proposta pelos autores para a melhora do desempenho do sistema estudado foi a utilização de estágios adicionais, o que poderia melhorar a eficiência de remoção, principalmente, dos metais de baixa afinidade ao adsorvente.

ESPOSITO *et alii* (2001) também estudaram *S. natans* e investigaram o efeito do pH e da concentração da biomassa sobre a bioadsorção de Cu^{2+} e Cd^{2+} em solução. Os resultados experimentais evidenciaram que a parede celular da espécie em estudo continha dois principais grupos ácidos, que por hipótese e com base em dados bibliográficos, foram admitidos serem constituídos pelos grupos carboxílico e fosfato, com um total de 5 meq/g.

Os experimentos conduzidos por estes autores avaliaram o efeito do pH entre os valores de 3 a 6 e da concentração da biomassa (liofilizada) entre 0,5 g/L a 2,0 g/L. Os valores máximos de adsorção obtidos, expressos como o número de miliequivalentes de OH, foram de 1,81 meq Cu^{2+} /g e de 0,78 meq Cd^{2+} /g para a seguinte condição operacional: pH = 6; 25 °C; concentração afluenta = 0,5 g Cu^{2+} /L a 1,0 g/L; concentração de biomassa = 0,0 g/L a 1,0 g/L.

As Tabelas 8 e 9 mostram outros bioadsorventes, com suas respectivas capacidades de adsorção, para remoção de Cu^{2+} e Cd^{2+} citados na literatura.

Tabela 8 – Bioadsorventes para remoção de cobre.

Bioadsorvente	Q _{max} (meq/g)	Condições operacionais			
		pH	T (°C)	C (mg/L)	X (g/L)
<i>Arthrobacter sp.</i>	1,42	6	25	0-100	2
Casca de pinheiro	1,00	ND	25	0-400	ND
<i>Chlorella vulgaris</i>	1,15	4	25	0-250	2
<i>Rhizopus arrhizus</i>	1,11	4	25	0-200	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,72	5	25	0-250	1-2
<i>Zoogloea ramigera</i>	1,13	4	25	0-200	1
<i>Ascophyllum nodosum</i>	1,95	4,5	25	0-350	ND
<i>Streptomyces noursei</i>	0,36	5,5	30	180	0,4
<i>Pseudomonas syringae</i>	0,85	ND	22	0,6-65	3,5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,01	4	25	3,2	2
<i>Galoderna lucidum</i>	0,84	5	ND	5-50	ND
<i>Aureobasidium pullulans</i>	0,24	5,5	25	1-320	1
<i>Aureobasidium pullulans</i>	0,24	5,5	25	1-320	1
<i>Cladosporium resinae</i>	0,54	5,5	25	1-320	1
<i>Rhizopus arrhizus</i>	0,35	5,5	25	0,6-25	ND
<i>Zoogloea ramigera</i>	8,51	5,5	ND	25-125	ND

Nota: q_{max} = capacidade máxima de adsorção do íon metálico; C = concentração do metal na solução de alimentação; X = concentração de biomassa; ND = não disponível.

Fonte: Adaptado de ESPOSITO *et alii* (2001).

Tabela 9 – Bioadsorventes para remoção de cádmio.

Bioadsorvente	Q _{max} (meq/g)	Condições operacionais			
		pH	T (°C)	C (mg/L)	X (g/L)
<i>Arthrobacter sp.</i>	0,001	6	25	0-100	2
Casca de pinheiro	0,30	ND	25	0-400	ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,76	6	25	0-250	1-2
<i>Sargassum fluitans</i>	1,81	4,5	25	ND	ND
<i>Ascophyllum nodosum</i>	1,49	4,5	25	0-350	ND
<i>Streptomyces noursei</i>	0,06	6	30	1-110	3,5
<i>Rhizopus arrhizus</i>	0,44	3,5	26	10-400	ND
<i>Rhizopus arrhizus</i>	0,48	6-7	ND	10-600	3
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,01	5	25	5,6	2
<i>Sargassum natans</i>	2,04	3,5	26	10-400	ND
Bactéria gram-positiva	0,33	6,6	30	10	0,2
Bactéria gram-negativa	0,24	6,6	30	10	0,2
<i>Ascophyllum nodosum</i>	3,47	4,9	26	10-600	2-5

continua...

conclusão.

Bioadsorvente	$Q_{\max}$ (meq/g)	Condições operacionais			
		pH	T (°C)	C (mg/L)	X (g/L)
<i>Arthrobacter globiformis</i>	0,003	7	20	1	0,6
<i>Arthrobacter viscosus</i>	0,01	7	20	1	0,6
<i>Exopolisacarídeos de Arthrobacter viscosus</i>	0,06	7	20	1	0,6
<i>Alcaligenes sp.</i>	0,18	4-8	25	10	0,38

Nota: $q_{\max}$ = capacidade máxima de adsorção do íon metálico; C = concentração do metal na solução de alimentação; X = concentração de biomassa; ND = não disponível.

Fonte: Adaptado de ESPOSITO *et alii* (2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição do local objeto do estudo: Região dos Lagos de Santa Gertrudes

O afloramento da Formação Corumbataí propiciou a instalação de muitas indústrias cerâmicas na região que abrange os municípios de Araras, Cordeirópolis, Ipeúna, Iracemápolis, Limeira, Piracicaba, Rio Claro e Santa Gertrudes e que forma o maior pólo cerâmico do país, responsável por 50 % da produção nacional de revestimentos (CETESB, 2001b, BNDES, 2001).

As indústrias deste pólo utilizam tecnologia de produção denominada “via seca”. Com 39 empresas, sua produção em 2004 foi de aproximadamente 250 milhões de metros quadrados de revestimentos, mantendo mais de 5.000 empregos diretos. Este pólo respondeu por 22 % do volume de exportação nacional de revestimentos cerâmicos em 2003, sendo os países americanos (do Norte e Latina) e africanos, os principais mercados consumidores (CARIDADE; TORKOMIAN, 2001; BNDES, 2001; ASPACER, 2005).

A abundância de argila, matéria-prima básica da indústria cerâmica, no município de Santa Gertrudes, viabilizou a instalação da maior parte das indústrias do pólo nesta cidade: vinte e duas (CETESB, 2002b). Particularmente, a região dos lagos foi utilizada para a extração de argila e quando esta se exauria, a lavra era suspensa e as cavas abandonadas, passando-se a exploração para áreas no entorno (CETESB, 2001b).

As cavas abandonadas foram, com o passar do tempo, sendo preenchidas pela água do aquífero freático e pelos resíduos líquidos e sólidos gerados pelas indústrias cerâmicas, formando assim, os lagos atualmente existentes nesta região.

As Figuras 19 e 20 mostram, respectivamente, a localização geográfica do pólo cerâmico de Santa Gertrudes no Estado de São Paulo e uma vista aérea da “Região dos Lagos”.

Figura 19 - Localização geográfica do pólo cerâmico de Santa Gertrudes no Estado de São Paulo.

Fonte: Adaptado de SILVA (2001).

Os primeiros indícios de contaminação do solo da região resultaram de análises de amostras de solo realizadas pela CETESB em 1997, as quais apresentavam teores de até 2,24 g Pb/kg, até 4 mg Cd/Kg e até 820 mg Zn/kg. A confirmação da contaminação da área (uma vez que as investigações foram realizadas também nas águas subterrâneas e nos sedimentos) decorreu, em parte, da pesquisa realizada por SILVA (2001) e de novas análises de solo feitas pela CETESB e pela empresa GEO-INF. Estas apresentaram resultados indicando a

existência de “focos” de contaminação na área dos lagos (CETESB, 2001a; GEO-INF, 2002).

O processo de avaliação da contaminação na área dos lagos passou por todas as fases previstas pelo manual de gerenciamento de áreas contaminadas da CETESB (CETESB; GTZ, 2001): avaliação preliminar, investigação confirmatória, investigação detalhada, avaliação de risco, investigação para remediação, projeto de remediação e remediação (CETESB, 2001a; CETESB, 2001b). Entretanto, o projeto de remediação e a remediação não foram executados para todos os focos de contaminação da área.

A magnitude da contaminação do solo da região pode ser avaliada mediante simples comparação dos resultados das análises já realizadas e os valores orientadores de contaminantes para o solo atualmente utilizado pela CETESB (Tabela 10).

Figura 20 - Vista área da Região dos Lagos de Santa Gertrudes.
Fonte: SÃO PAULO (2003).

Além das análises de solo, a CETESB realizou, em 2001, análises de amostras de sedimentos dos lagos, que também apontaram contaminação, e da água do aquífero subterrâneo, onde foi detectada a presença de diversos contaminantes, sendo Cd e B os principais elementos que se apresentavam em concentrações muito acima dos padrões de potabilidade nacionais e internacionais (0,005 mg Cd/L e 5,0 mg B/L). Este estudo constatou que o aquífero artesiano

(amostra coletada em poço de 280 m de profundidade) já apresentava contaminação por B (CETESB, 2001a).

Diante da gravidade da contaminação nesta área, a CETESB desaconselhou o uso do solo para atividades agro-pastoris, bem como o da água do aquífero freático e artesianos para consumo humano, dessedentação de animais e irrigação (CETESB, 2001a). A contaminação do aquífero subterrâneo (freático e profundo) levou, em junho de 2002, a Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, através da DIR XV de Piracicaba, a interditar os poços da região dos lagos, a fim de impedir o uso da água subterrânea para o consumo humano (SÃO PAULO, 2003).

Tabela 10 – Análises de amostras de solo da região dos lagos e comparação dos teores de contaminantes com os valores orientadores para solos no Estado de São Paulo.

Elemento	Contaminação do solo – teores máximos determinados para as amostras (mg/kg)			Valores orientadores para solos (mg/kg)			
	Profundidade de amostragem			Referência de qualidade	Prevenção	Intervenção	
	0,0 m	0,5 m	0,0 m			Agrícola ****	Industrial
	a 0,2 m *	a 0,6 m *	a 3,6 m **				
Pb	529	2.890	27.129	17	72	180	900
Cd	-	-	3,22	< 0,5	1,3	3	20
Co	30,7	28,4	-	13	25	35	90
Cu	91,6	127	-	35	60	200	600
Na	3150	1060	-	-	-	-	-
Zn	77,2	453	2627	60	300	450	2000
B	8,8 ***	3,5***	2345	-	-	-	-

Nota: * análises executadas por CETESB, ** análises realizadas por GEO-INF, *** resultado referente ao boro solúvel expressa como mg/L, **** área de proteção máxima.

Fonte: Adaptado de CETESB (2001a), CETESB (2005a) e GEO-INF (2002).

Apesar da CETESB proibir desde 1995 o descarte de resíduos nos lagos e ter obrigado as cerâmicas do município de Santa Gertrudes a armazenarem e destinarem adequadamente os mesmos, o quadro de degradação ambiental instalado na região ainda hoje permanece sem uma solução final (CETESB, 2002a). Embora já tenham sido iniciadas ações para remoção do solo contaminado visando a remediação do local, este sítio ainda integra, sob a classificação de área em

processo de remediação, a lista de áreas contaminadas, publicada pela CETESB em Novembro de 2005 (CETESB, 2005b).

4.2 Resíduos gerados pela indústria de revestimento cerâmico

A produção de revestimentos cerâmicos utiliza em seu processo produtivo elementos potencialmente tóxicos como Ba, Cd, Cr, Ni, Pb e Zn, que são empregados na elaboração de fritas, esmaltes, corantes, pigmentos e fundentes.

A seguir é apresentado um resumo dos três fluxos de subprodutos originários da produção de revestimento cerâmico.

4.2.1 Resíduos sólidos

Os resíduos sólidos gerados pela indústria de revestimentos cerâmicos podem ser divididos em duas categorias: perdas do processo e subprodutos dos sistemas de tratamento e, segundo MONFORT *et alii* (1994), *apud* MORAIS; SICHIERI; PAWLICKA (2001), os principais resíduos gerados por esta indústria compreendem:

- Lodo (raspa): resultante do tratamento das águas de barbotina, operações de limpeza e preparo de esmaltes;
- Produtos acabados: peças queimadas fora de especificação, defeituosas ou quebradas;
- Resíduos de depuração de gases; e
- Restos de matérias-primas, aditivos e peças cruas.

A Tabela 11 mostra os principais resíduos sólidos gerados pela indústria de revestimentos cerâmicos agrupados de acordo com as etapas de produção.

Tabela 11 - Identificação e classificação dos resíduos gerados pela indústria de revestimentos cerâmicos, segundo sua origem e etapa produtiva.

Produto	Etapa	Resíduos	
		Produção	Depuração
Revestimentos cerâmicos	Preparo da matéria-prima para suporte	-	Poeira retida nos equipamentos de controle de material particulado
	Conformação (prensagem)	Rejeito cru não esmaltado	Poeira retida nos equipamentos de controle de material particulado
	Secagem	Rejeito cru não esmaltado	-
	Preparo do esmalte e esmaltação	Rejeito cru (esmalte cru com suporte cru); rejeito cru (esmalte cru e suporte cozido); calda de rejeitos das fritas, esmaltação, etc; raspas do esmalte	Poeira retida nos equipamentos de controle de controle de material particulado; lodo do sistema de tratamento; solução concentrada de boro (do processo de troca iônica e/ou do processo de membranas)
	Queima	Rejeito queimado (*)	Cal exaurida do sistema de tratamento de gases
	Esmaltação e polimento	Rejeito cozido (*)	Poeira retida nos equipamentos de controle de controle de material particulado; lodo do sistema de tratamento
Produtos por esmaltação (coloridos)	Produção de fritas		Poeira retida nos equipamentos de controle de controle de material particulado;
	Produção de corantes e compostos	Calda de produção	Cal exaurida do sistema de tratamento de gases

Nota: (*) = inclui as peças defeituosas descartadas na etapa de produção.

Fonte: Adaptado de BUSANI *et alii* (1995), *apud* SOARES *et alii* (2002).

Perdas de produtos químicos e o material estéril proveniente da jazida também convertem-se em resíduos da indústria, embora este último não ofereça risco ambiental visto que não ingressa no processamento, logo, não é contaminado, exceto se for acondicionado em conjunto com material contaminado. As peças

danificadas, que já receberam o acabamento superficial mas não foram submetidas à queima e as perdas de produtos químicos, compõem a parcela desta categoria que apresenta o maior potencial de contaminação, pois os metais pesados nestes materiais não estão inertes.

A quantidade de resíduos gerados pela indústria é variável, pois depende do controle de processamento, da qualidade das matérias-primas, do nível e controle de qualidade dos produtos, podendo ser estimada entre 1 % a 20 % da produção nas indústrias brasileiras (MORAIS; SICHIERI; PAWLICKA, 2001; MORAIS; SICHIERI, 2002). Segundo CETESB (2002a), a produção de resíduos é de aproximadamente 6 %, em massa, das matérias-primas utilizadas no processo.

No pólo de Santa Gertrudes a geração de lodo é estimada em 40 g/m² de piso produzido e, considerando a produção registrada em dezembro de 2001 (18 x 10⁶ m²), foram gerados 720 t deste resíduo naquele mês (CETESB, 2001c).

Segundo MONFORT *et alii* (1994), *apud* MORAIS; SICHIERI (2002), a composição dos resíduos sólidos é avaliada como sendo correspondente, em massa, à: 10 % em lodo, da estação de tratamento de água residuária industrial - ETARI; 11,6 % em partículas de purificação do ar; 49 % em resíduos crus e 29,4 % em resíduos queimados (cacos e peças fora de especificação ou defeituosas).

Segundo reportado por MORAIS; SICHIERI; PAWLICKA (2001) e CETESB (2001b), algumas indústrias de revestimentos cerâmicos do pólo de Santa Gertrudes, por utilizarem o processo via seca, já incorporam em seus processos produtivos todos os resíduos gerados em suas ETARI, procedimento este, que é padrão nas indústrias cerâmicas européias (SOARES *et alii*, 2002). Os resíduos queimados são utilizados como material de revestimento de estradas de terra, como substituto da brita na pavimentação de vias ou são vendidos a preços baixos e/ou doados para serem utilizados como ladrilho.

Segundo levantamento realizado em 2001 pela CETESB (CETESB, 2001b), as indústrias do pólo de Santa Gertrudes utilizam-se das seguintes alternativas para o gerenciamento do lodo:

- 42 % a incorporam à massa crua;
- 22 % a incorporam ao material de cobertura (esmalte/engobe);
- 16 % armazenam;
- 6 % enviam para serem processadas por terceiros;
- 6 % não geram raspas;

- 8 % não informaram suas políticas sobre a questão.

MORAIS; SICHIERI; PAWLICKA (2001) realizaram a caracterização química e térmica e, determinaram a composição mineralógica e a distribuição granulométrica da massa crua, dos resíduos queimados e do lodo de ETARI, produzidos pelas indústrias de revestimentos cerâmicos do pólo de Santa Gertrudes.

O estudo revelou a seguinte caracterização mineralógica, realizada através de difração de raios-x:

- Massa crua: quartzo, ilita, caulinita e albita;
- Resíduo queimado: complexo vítreo (característica de argilas queimadas), fases cristalinas quartzo e mulita;
- Lodo: quartzo, ilita, caulinita, anatase, calcita e material amorfo (componente dos insumos vidrados).

Dentre os resíduos gerados, o lodo, por resultar, basicamente, do preparo do esmalte, foi classificado como um material tóxico a partir dos ensaios de lixiviação (realizados de acordo com a NBR 10004 - resíduos sólidos e NBR 1005 - lixiviação de resíduos), pois as concentrações de Pb inorgânico e Cr total nos lixiviados excederam os valores máximos permitidos pela legislação brasileira (5 mg Pb/L e 5 mg Cr/L). Os demais resíduos são, normalmente, considerados inertes; apesar dos ensaios de lixiviação realizados terem classificado o resíduo queimado como sendo tóxico, pois este também excedeu a concentração de Cr total no lixiviado; e podem ser utilizados como *chamote*, atuando no controle dimensional das peças (MORAIS; SICHIERI, 2002).

Segundo a CETESB (CETESB 2001c; CETESB 2002a) o lodo de ETARI foi classificado como resíduo Classe I na década de 1980, mas devido a atuação da companhia, houve substituição de matérias-primas e, já na década de 1990, o lodo passou a ser enquadrado na Classe II. A divergência entre a classificação obtida por MORAIS; SICHIERI (2002) e as realizadas pela CETESB podem indicar, admitindo a equivalência da metodologia dos ensaios e ausência de erros experimentais, que indústrias da região talvez não tenham eliminado completamente o uso de metais pesados de seus processos produtivos.

A Tabela 12 mostra o resultado de ensaios de lixiviação, utilizando amostras coletadas em todas as indústrias do pólo de Santa Gertrudes, realizados por MORAIS; SICHIERI (2002).

Tabela 12 - Análise de lixiviação de resíduos.

Elemento	Resíduo da ETARI Extrato (mg/L)		Resíduo queimado Extrato (mg/L)	
	Determinação experimental	Limite máximo	Determinação experimental	Limite máximo
Ca	5.677	Ni	5.493	Ni
Mg	16,97	Ni	1.800	Ni
Fe	30,9	Ni	Ab	Ni
Zn	44,7	Ni	102,6	Ni
Pb inorg.	38,6	5,0	Ab	5,0
Cd	ab	0,5	Ab	0,5
Mn	209,8	Ni	Ab	Ni
Cu	4,63	Ni	37,8	Ni
Ni	20,1	Ni	16,2	Ni
Al	ab	Ni	1.755	Ni
Cr total	4,63	5,0	5,2	5,0

Nota: ab = abaixo do limite de detecção do equipamento e ni = não informado pela norma.

Fonte: MORAIS; SICHIERI (2002).

A Tabela 13 mostra a variação de teores, dos diversos elementos químicos presentes no lodo de ETARI, observada nas análises químicas realizadas por SILVA (2001) com amostras de lodo provenientes de três indústrias de revestimento cerâmico do pólo de Santa Gertrudes.

Tabela 13 - Características químicas do lodo de ETARI.

Elemento	Variação do Teor (g/kg)	Elemento	Variação do Teor (g/kg)
Pb	0,67- 6,34	Ba	0,25 – 14,49
Zn	0,35 – 12,59	Ag	ab -1,3
Ni	0,02 – 0,47	Cd	ab – 0,76
Cu	0,015 – 0,064	Mo	ab – 0,01
Co	0,001 – 0,070	Zr	8,57 – 38,09
Cr	0,002 – 2,12	B	8,36 – 29,70
Se	ab – 0,007	As	0,007 – 0,042

Nota: ab = abaixo do limite de detecção do equipamento.

Fonte: Adaptado de SILVA (2001).

A apresentação da caracterização química dos resíduos sólidos supracitados tem por finalidade apenas ilustrar o assunto, pois tais características variam de acordo com o tipo de peça produzida, das matérias-primas utilizadas e das características e condições operacionais dos processos envolvidos, portanto,

tais informações não podem e nem devem ser generalizadas para caracterização de tais resíduos.

4.2.2 Despejos líquidos

A produção de revestimento cerâmico produz pequena quantidade de água residuária, visto que a demanda de água no processo produtivo é relativamente pequena. O consumo de água, para o processo via seca, pode assumir valores de 2,10 L/m² a 7,32 L/m² de piso produzido (CETESB, 2002a). Segundo BUSANI *et alii* (1995) *apud* SOARES *et alii* (2002), a demanda água para o processo de moagem a úmido pode variar de 7 L/m² a 15 L/m² de piso produzido e, a demanda para o preparo de esmaltes e esmaltação pode variar de 7 L/m² a 15 L/m² de piso produzido, sendo o limite inferior um valor mais realístico para as indústrias modernas. O consumo de água está intimamente relacionado com as características do processo produtivo.

A geração de água residuária decorre de perdas no processo, notadamente durante a produção de esmaltes, esmaltação, polimento e coloração, produção de fritas, corantes e compostos (SOARES *et alii*, 2002). A Tabela 14 mostra os principais pontos de geração de efluentes no processo industrial da produção de revestimentos cerâmicos.

Considerando que o principal insumo do processo é a argila, é natural que esteja presente em grande quantidade no efluente, entretanto, diversos outros minerais utilizados no processo; tais como sílica, caulim e feldspato; também podem estar presentes. Os diversos óxidos utilizados como pigmentos e fundentes também estão presentes na água residuária.

A água de lavagem dos equipamentos, particularmente os da linha de esmaltação, é a principal fonte de água residuária da indústria cerâmica e, a despeito de seu volume reduzido, carrega a maior parcela dos insumos, a base de metais pesados, perdidos durante o processo.

Tabela 14 - Uso de água e geração de efluentes na indústria de revestimentos cerâmicos.

Produto	Etapa	Principais operações	Função da água Matéria-prima	Forma de emissão da água		
				Fluido de processo	Vapor	Efluente
Revestimento cerâmico	Preparo da matéria-prima para suporte	Moagem à seco -	X	-	-	-
		umidificação				
		Moagem à úmido	X	L	-	-
	Conformação (prensagem)	Atomização	-	L	X	-
		-	-	R	-	-
		Secagem	-	-	X	-
	Preparo de esmaltes e esmaltação	Moagem do esmalte	X	L	-	X
		Esmaltação	-	L	-	X
		Secagem do revestimento	-	-	X	-
	Queima	Grés porcelanato			X	-
Biscoito		-	-			
Vidrado						
Produtos por esmaltação		Monoqueima				
	Corte e polimento	-	-	R L	-	X
	Produção de fritas	-	-	R	X	X
	Produção de corantes e compostos	Moagem de óxidos	X	L	-	X
		Secagem e atomização	-	L	X	X

Nota: R = resfriamento e L= lavagem.

Fonte: Adaptado de BUSANI *et alii* (1995), *apud* SOARES *et alii* (2002).

FERRARI (2000), caracterizou a água residuária gerada em diversas partes do processo produtivo da indústria cerâmica. A Figura 21 mostra o processo produtivo avaliado e apresenta os pontos de amostragem. A Tabela 15 mostra as características químicas dos efluentes gerados nas diferentes etapas do processo.

Nota : B-1 = efluente do setor de moagem de matéria-prima natural; B-2 = efluente do setor de preparo de esmaltes e vidrado (PTV); B-3 = efluente da linha de decoração da monoqueima; B-4 = efluente final do setor de biqueima; B-5 = efluente da linha de decoração da monoqueima e do laboratório de controle de qualidade; B-6 = água de abastecimento; B-7 = efluente do laboratório de controle de qualidade; B-8 = efluente da linha de decoração do setor de biqueima.

Figura 21 – Localização e identificação dos pontos de amostragem de água residuária.

Fonte: Adaptado de FERRARI (2000).

Tabela 15 – Caracterização química da água residuária em cada etapa do processo produtivo via úmida.

Elemento	Concentração (mg/L)							
	Pontos							
	B-1	B-2	B-3	B-4	B-5	B-6	B-7	B-8
Cd	0,01- 0,02	0,01- 0,02	0,01- 0,03	0,02- 1,50	<0,01- 0,02	<0,01- 0,01	0,02- 0,09	<0,01- 0,10
Pb	ab-0,40	2,00- 41,0	1,30- 6,70	0,90- 45,60	0,60- 4,00	ab- 0,15	6,00- 60,0	0,07- 0,50
Zn	0,40- 0,59	6,00- 33,80	8,00- 12,10	1,00- 7,00	3,00- 11,80	0,40- 2,10	26,0- 107,6	1,40- 34,0
Ni	0,02- 0,20	0,10- 0,29	0,20- 0,30	ab- 0,20	ab- 0,20	ab- 0,20	0,05- 0,13	Ab- 0,20
Ba	0,24- 1,80	1,16- 10,6	0,80- 2,90	0,21- 2,50	0,60- 3,20	ab- 0,05	1,30- 29,0	0,40- 13,0

continua..

conclusão.

Elemento	Concentração (mg/L)							
	Pontos							
	B-1	B-2	B-3	B-4	B-5	B-6	B-7	B-8
Ca	14,9-	33,0-	23,0-	18,4-	12,6-	1,40-	72,9-	5,90-
	74,6	52,9	65,5	22,0	39,0	4,10	343	17,0
Cr	0,01-	ab-0,14	ab-	0,01-	0,01-	ab-	0,06-	Ab-
	0,13		0,12	0,11	0,04	0,03	0,19	0,03
Cu	0,05-	ab-0,05	ab-	0,61-	ab-	ab-	0,04-	Ab-
	0,11		0,16	1,90	0,02	0,01	0,43	0,20
V	ab-0,70	ab-0,70	ab-	ab-	0,13-	0,06-	ab-	0,10-
			0,90	1,10	1,10	0,28	0,35	0,20
Co	ab-0,10	ab-0,10	ab-	ab-	ab-	ab-	ab-	Ab-
			0,21	0,40	0,15	0,02	0,22	0,30

Nota: a faixa de valores do pH das amostras analisadas variou de 7,0 a 9,7 e a temperatura variou de 12 °C a 25 °C; ab = abaixo do limite de detecção do equipamento.

Fonte: Adaptado de FERRARI (2000).

SILVA (2001) reportou a caracterização química da água residuária somente no final do processo produtivo e, tais dados são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Caracterização química da água residuária coletada no tanque de decantação da ETARI.

Elemento	Concentração (mg/L)
B	43,5-55,0
Ba	<0,1
Cd	<0,01
Cr	<0,01
Pb	0,4-9,3
Zn	0,11-0,23

Nota: o valor do pH das amostras analisadas variou de 9,3 a 11,5.

Fonte: Adaptado de SILVA (2001).

Testes de toxicidade aguda, utilizando *Daphnia similis*, para identificar a concentração de efluente que causa a imobilidade de 50 % dos organismos (concentração efetiva - CE_{50%}), realizados por FERRARI (2000), apontaram toxicidade positiva para o efluente do setor de biqueima (B-4).

4.2.3 Emissões atmosféricas

A matriz energética utilizada pela indústria cerâmica depende de seu custo, disponibilidade e eficiência. A lenha foi utilizada como fonte de energia nas indústrias de revestimento cerâmico até a segunda metade do século XX e, no Brasil, apenas após a década de 1970 passou a ser substituída por óleo combustível (SOARES *et alii*, 2002). O óleo combustível também foi gradativamente substituído por gás liquefeito de petróleo - GLP e, mais recentemente, por gás natural.

A queima de combustível fóssil, assim como a queima das peças cerâmicas, acarreta a emissão de diversos gases (CO , SO_x , NO_x), todavia, os compostos de maior preocupação ambiental são justamente determinadas espécies químicas presentes nas peças cerâmicas, pois a elevada temperatura de queima provoca a volatilização, mesmo que parcial, de metais como Pb, Zn, Zr, Cd e Ni, utilizados no processo e a formação de fluoretos a partir de compostos de flúor (F) naturalmente presentes na argila (CETESB, 2002a).

O processo de queima de peças cerâmicas resulta na produção e emissão de gases, pois muitas das espécies químicas utilizadas no processo industrial ou que ocorrem naturalmente na argila possuem ponto de sublimação inferior à temperatura de queima utilizada no processo industrial, que pode superar $1100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (MORAIS; SICHIERI, 2002). Os elementos volatilizados de maior preocupação são o Pb e o F.

A maioria das argilas possui compostos F em teores que variam de 0,03 % a 0,06 %, que a partir de $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ são liberados para a atmosfera sob a forma de fluoretos, principalmente sob a forma de fluoreto de hidrogênio (HF), mas que também podem ser lançados sob a forma de ácido fluossilícico ou tetrafluoreto de silício, em sua forma gasosa e, como fluoreto de cálcio (CaF_2) sob a forma particulada. O teor de F nos minerais oscilam de 200 mg/kg a 1,6 g/kg, existindo minerais como flogopita e tremolita que apresentam, respectivamente, teores de 2,8 mg/kg e 2,4 g/kg (CETESB, 2002a; SOARES *et alii*, 2002). Avaliações realizadas pela CETESB em 15 indústrias de revestimento cerâmico indicaram que a concentração média de fluoretos nos gases de chaminé era de 60 mg/Nm^3 , o que representava uma taxa de emissão de $2\text{ kg F}/1000\text{ m}^2$ de piso produzido (CETESB, 2001c).

A quantidade de F^- lançado na atmosfera não depende exclusivamente da quantidade de F nas matérias-primas, pois a temperatura de queima e o teor de carbonatos alcalinos terrosos são parâmetros que afetam dramaticamente a formação de F^- . Quanto maior for a temperatura de queima e menor a duração do processo, maior será a produção de F^- , a queima rápida em temperatura menor tende a reduzir sua geração. Quanto maior o teor de carbonato alcalino terroso, menor tende a ser a geração de F^- (SOARES *et alii*, 2002).

Tal qual os gases emitidos durante o processo de queima, a emissão de material particulado é uma importante fonte de poluição, pois juntas formam as fontes básicas de emissões atmosféricas da indústria de revestimentos cerâmicos. O material particulado é gerado nos setores de preparo da massa (moagem, classificação granulométrica, dosagem e homogeneização) e conformação (CETESB, 2002b).

A emissão de material particulado é da ordem de 38 kg/t de argila processada e, somente para o setor de preparo da massa/conformação (prensas) a emissão é da ordem de 17 kg/t de argila processada, mas o uso de sistemas de filtros possibilita recuperar acima de 90 % do material em suspensão, o qual pode ser reintroduzido no processo produtivo (CETESB, 2002b).

4.3 Coleta de solo contaminado

Foram executadas duas coletas de solo, conforme os seguintes procedimentos:

a) Coleta 1

Utilizou-se trado manual, de 0,15 m de diâmetro, e procedeu-se a extração de amostras em um perfil de solo de um metro e meio de profundidade. Tendo em vista que o objetivo da avaliação preliminar foi utilizar o solo de um local que apresentasse a maior contaminação pelos metais de interesse, foram selecionados aleatoriamente três pontos na área de estudo (antiga empresa Polyglass), para a realização da coleta. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e neles mantidas até a realização dos experimentos.

b) Coleta 2

Face aos baixos teores dos elementos alvo da pesquisa presentes no solo proveniente da coleta 1, optou-se por executar uma nova coleta de material em outro ponto da área contaminada. O item 5.3 apresenta os resultados das análises que ampararam a decisão de efetuar uma nova coleta de solo.

Utilizou-se pá e procedeu-se a coleta de solo proveniente da escavação e limpeza das nascentes existentes na área de estudo. Optou-se por utilizar este material, visto que as nascentes em questão estão situadas na base do talude da área de estudo e como ocorreu o transporte dos contaminantes alvo pelo escoamento superficial, haveria um maior teor destes na parte baixa do terreno em relação às cotas mais elevadas. Para garantir um suprimento de solo ao longo de toda a pesquisa, foi coletado aproximadamente 1 t de material, que foi transportado e acondicionado em reservatório de polietileno até sua utilização.

4.4 Caracterização geológica do solo

A caracterização geológica do solo da área em estudo foi executada através dos seguintes ensaios:

- Composição mineralógica, executada através de análises semi-quantitativas por difração e fluorescência de raios-x.;
- Massa específica dos grãos, executada de acordo com a NBR 6508 (ABNT, 1984a);
- Análise granulométrica, executada de acordo com a NBR 7181 (ABNT, 1984b) e
- Densidade aparente, umidade residual e capacidade de campo, executadas de acordo com a Norma CETESB L6.350 (CETESB, 1990).

A preparação das amostras de solo para os ensaios de compactação e de caracterização foi realizada de acordo com a NBR 6457 (ABNT, 1986).

4.5 Análises químicas

As amostras de solo bruto, de solo tratado e de lixiviado utilizadas/geradas durante os experimentos de lixiviação seguiram a seguinte sistemática, quanto à sua coleta e preparo, antes de serem encaminhadas para análise:

- Solo bruto: toda amostra de solo bruto utilizado nos experimentos foi destorroada e peneirada em peneira com malha de 2 mm para a remoção de material grosseiro. O material resultante foi homogeneizado e procedeu-se a coleta de amostras após seu quarteamento. Das amostras coletadas, determinou-se a umidade, a fim de permitir a expressão dos resultados das análises químicas em relação à massa de solo seco a $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- Solo tratado: o solo tratado (sob a forma de lama) foi coletado em diversas profundidades dos reatores, neste procedimento utilizou-se pipeta de vidro com a ponta quebrada e aspiração por pipetador automático. Em todas as coletas foi controlado o volume e a massa da amostra de lama, a qual recebeu o seguinte tratamento:
 - a) Centrifugação por 15 min, a 4000 rpm, em temperatura ambiente: o objetivo da centrifugação foi o de promover a separação das fases sólida e líquida da amostra.
 - b) Fração líquida: após a centrifugação, procedeu-se a coleta do sobrenadante dos tubos de centrífuga e determinou-se seu volume e massa. A amostra líquida foi filtrada em membrana de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ de porosidade, recebeu 2 % v/v de HNO_3 concentrado para sua preservação e foi mantida sob refrigeração a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até ser analisada;
 - c) Fração sólida: após a remoção do sobrenadante, a fração sólida foi removida dos tubos de centrífuga com espátula metálica e procedeu-se a determinação de sua massa úmida e seca. Na determinação da massa, utilizou-se cápsula de porcelana, que foi seca em estufa a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Após a determinação da massa seca, a amostra foi triturada em almofariz e acondicionada em saco plástico, tipo *zip lock*, até o momento da análise.

A Espectrometria de Emissão Atômica em Plasma de Argônio Acoplado Indutivamente (ICP-AES) foi utilizada para determinar os teores/concentrações dos

elementos boro (B), cádmio (Cd), chumbo (Pb), fósforo (P), enxofre (S) e zinco (Zn) no solo bruto, no solo tratado e no lixiviado produzido. Os métodos 3050B e 6010B, propostos pelo órgão ambiental norte americano; Environmental Protection Agency – EPA; (USEPA, 1996a; USEPA, 1996b), foram empregados nas amostras de solo para a determinação de metais.

A Análise Elementar foi empregada para determinar os teores de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N) no solo bruto e tratado (tempos inicial e final do processo de biolixiviação).

O pH foi determinado com potenciômetro Mettler Toledo SevenEasy equipado com eletrodo combinado Mettler Toledo Inlab 420. Todas as medições foram executadas simultaneamente com a homogeneização da suspensão de solo.

4.6 Análises microbiológicas

A fim de avaliar o comportamento da microbiota e a evolução da população de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* durante os experimentos de biolixiviação, foram executadas três determinações microbiológicas:

- Contagem do número mais provável (NMP) de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* (CETESB, 1991);
- Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias heterotróficas (CETESB, 1996);
- Contagem de bactérias através de microscopia:
 - ✓ Contagem utilizando hemocitômetro de Neubauer: procedimento utilizado para contagem de células *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* em suspensões bacterianas, para determinar as curvas de crescimento de cada uma destas espécies e o número de células utilizadas como inóculo nos experimentos. Este procedimento seguiu o seguinte protocolo:
 - Homogeneização da amostra: a amostra foi homogeneizada por 10 min em agitador de tubos tipo vortex e mantida em repouso (para sedimentação de sólidos) por 10 min;
 - Coleta da amostra: utilizou-se pipeta com ponteira descartável para coleta do sobrenadante e sua alocação sobre o hemocitômetro de Neubauer;

- Contagem no microscópio: utilizou-se o contraste de fases (fase 3), filtro de luz amarelo e aumento de 1000 vezes durante o processo de contagem, o qual foi executado em duplicata para cada amostra, pois o hemocitômetro de Neubauer possui duas câmaras para contagem. O hemocitômetro de Neubauer possui um volume definido de 0,1 μL , para a área restrita da câmara, que foi utilizada para a contagem das células. A densidade de células foi determinada pelas seguintes expressões:

$$\text{Fator final} = \frac{\text{fator de diluição} \times 10}{\text{área contada em mm}^2}$$

$$\text{Células / mL} = \text{fator final} \times \text{células contadas} \times 1000$$

- ✓ Contagem utilizando marcador de DNA: procedimento utilizado para contagem do número total de células bacterianas durante o processo de biolixiviação, onde se utilizou o marcador de DNA 4-6 diamidino-2-phenylindole - DAPI (PORTER; FEIG, 1980; ALEF; NANNIPIERI, 1995) para a marcação das células. Este procedimento seguiu o seguinte protocolo:
 - Homogeneização da amostra: mesmo processo descrito para a contagem no hemocitômetro de Neubauer;
 - Preparo da lâmina: a lâmina foi previamente limpa e revestida por uma fina película de gelatina, cuja função é auxiliar a fixação da amostra. Tomou-se uma alíquota da amostra (2 μL ou 10 μL , que dependeu do tamanho da câmara da lâmina utilizada no procedimento) e com o auxílio da ponteira da pipeta, procedeu-se ao seu espalhamento sobre a superfície da câmara;
 - Secagem da amostra: após a deposição e o espalhamento da amostra sobre a câmara da placa, a mesma foi mantida em estufa, a 37 °C, por 45 min, para a secagem e fixação;
 - Marcação com o DAPI: após a secagem, cada câmara da placa recebeu uma alíquota de 9 μL de água destilada e 1 μL de solução de DAPI (1 mg/mL), que foram homogeneizadas com o auxílio da ponteira da pipeta;
 - Incubação: após a aplicação do marcador de DNA, a lâmina foi mantida em temperatura ambiente, em local escuro por 10 min. Este intervalo de tempo é necessário para que ocorram as reações químicas/bioquímicas entre o marcador e o material celular;

- Finalização do preparo da lâmina: após o período de incubação, a lâmina foi lavada com água destilada e mantida em temperatura ambiente até sua completa secagem. Depois de seca, cada câmara recebeu 3 µL de glicerol e PBS (fosfato salino tamponado) para a fixação da lamínula sobre a lâmina;
- ✓ Contagem no microscópio: empregou-se o microscópio Axiovert S100, da marca Zeiss, no modo epifluorescência, com conjunto de filtro nº 451366 e aumento de 1000 vezes. Como a contagem de células foi executada através de uma série de imagens capturadas por uma câmera acoplada ao microscópio, cuja área fotografada é 4 vezes inferior à visualizada pela ocular do microscópio, fez-se necessário utilizar a seguinte relação para determinar o número de células na amostra:

$$\text{Nº de células na amostra} = \frac{(\text{média de células por imagem} \times 4) \times \text{área da câmara (mm}^2\text{)}}{0,0283 \text{ mm}^2 \text{ (área visualizada pela ocular)}}$$

4.7 Produção das suspensões bacterianas

O material biológico utilizado constituiu-se de culturas de *A. ferrooxidans* (linhagem LR) e *A. thiooxidans* (linhagem FG01) (GARCIA JR, 1991). As cepas isoladas destas bactérias foram gentilmente fornecidas pelo Prof. Dr. Oswaldo Garcia Júnior, do Laboratório de Biohidrometalurgia do Instituto de Química da UNESP de Araraquara.

A suspensão bacteriana foi produzida de acordo com os seguintes procedimentos:

- Pré-fermentação - nesta etapa, adicionou-se em um frasco Erlenmeyer de 250 mL, 10 mL de inóculo e 100 mL de meio de cultura e manteve-se o frasco incubado a 30 °C, sob agitação de 200 rpm, até que fosse observado o crescimento da cultura (período de cinco a sete dias), o que pôde ser constatado pela mudança da cor do meio (a suspensão de *A. ferrooxidans* passa de incolor para laranja avermelhado e a de *A. thiooxidans*, de incolor e límpido para turvo e levemente amarelado);
- Crescimento – Tendo em vista que foram executados diversos experimentos, que utilizaram diferentes volumes de suspensão bacteriana, segue a descrição do

procedimento genérico utilizado. Em um recipiente de vidro, adicionou-se o meio de cultivo e 10 % (v/v) de suspensão pré-fermentada como inóculo, que foi incubado entre 25°C a 30°C, sob aeração fornecida por bomba de aquário, por período de tempo de 3 a 5 dias.

Estes procedimentos foram aplicados para ambas as espécies de *Acidithiobacillus sp* utilizadas no estudo.

4.7.1 Meio de cultivo para crescimento de *A. ferrooxidans*

O meio de cultivo utilizado foi o “9K” proposto por SILVERMAN; LUNDGREN (1959), preparado de acordo com o seguinte procedimento:

- Solução A - dissolveu-se 3,00 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,50 g de KH_2PO_4 , 0,50 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ e 0,10 g de KCl em 700 mL de água destilada, com pH previamente ajustado em 2,8, mediante adição de solução de H_2SO_4 0,5M. A solução foi esterilizada em autoclave em temperatura de 120 °C por 20 min;
- Solução B – 44,22 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foi dissolvido em 300 mL de água destilada e a solução foi posteriormente filtrada em membrana com diâmetro de poro de 0,45 μm .

As soluções A e B, quando não foram utilizadas imediatamente após seu preparo, foram armazenadas por um período máximo de 15 dias sob refrigeração (4 °C). A Figura 22 mostra uma cultura de *A. ferrooxidans* após a oxidação do íon Fe^{2+} .

Figura 22 – Cultura de *A. ferrooxidans* (linhagem LR).

4.7.2 Meio de cultura para *A. thiooxidans*

O meio de cultivo utilizado foi o “TK” (TUOVINEN; KELLY, 1973), o qual é composto pela solução A e pelo enxofre, preparado de acordo com o seguinte procedimento:

- ✓ Solução A - dissolveu-se 0,4 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,40 g de KH_2PO_4 , 0,40 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em 1 L de água destilada, com pH previamente ajustado em 1,8, mediante adição de H_2SO_4 . A solução foi esterilizada em autoclave em temperatura de 120 °C por 20 min;
- ✓ Enxofre elementar – 10 g de enxofre (S^0) foi embrulhado em papel alumínio e esterilizado em autoclave, em temperatura de 110 °C por 1 hora. O enxofre foi adicionado à solução A, na proporção de 1 g/100 mL, somente no momento do uso do meio de cultura.

A solução A, quando não foi utilizada imediatamente após seu preparo, foi armazenada por um período máximo de 15 dias sob refrigeração (4 °C). A Figura 23 mostra uma cultura de *A. thiooxidans* em estágio final de crescimento.

Figura 23 – Cultura de *A. thiooxidans* (linhagem FG01).

4.7.3 Purificação e concentração de células

Devido à elevada acidez das suspensões bacterianas de *A. ferrooxidans* e de *A. thiooxidans*, ao final dos respectivos períodos de crescimento, optou-se por utilizar um procedimento para minimizar o efeito desta acidez sobre os experimentos e, deste modo, permitir uma avaliação mais precisa da influência destas bactérias sobre o processo de biolixiviação.

O protocolo utilizado baseou-se na metodologia adotada por SILVERMAN; LUNDGREN (1959):

- ✓ Concentração 1: acondicionamento do volume desejado de suspensão bacteriana no tubo de centrífuga, seguido por centrifugação por 30 min (4000 rpm e temperatura ambiente);
- ✓ Lavagem 1: o sobrenadante do tubo foi cuidadosamente removido com o auxílio de uma pipeta e descartado; o centrifugado foi transferido para um frasco tipo FALCON de 50 mL, o qual recebeu água destilada fria. O volume adicionado de água destilada variou de acordo com o volume de suspensão bacteriana centrifugada; todavia, não excedeu 40 mL para cada frasco FALCON. Após

adição da água destilada, o frasco foi agitado vigorosamente por pelo menos 2 min e mantido em repouso na câmara fria (4 °C) por pelo menos 6 horas;

- ✓ Lavagem 2: transcorrido o período de repouso, coletou-se cuidadosamente o sobrenadante do frasco com o auxílio de uma pipeta e transferiu-se o material para o tubo da centrífuga, que foi centrifugado por 30 min (4000 rpm e temperatura ambiente). Sempre que necessário, foi utilizada água destilada fria (pH = 2,6; 4 °C) para homogeneizar os volumes de todos os tubos submetidos à centrifugação. A seguir, repetiram-se todos os passos da Lavagem 1;
- ✓ Concentração 2: após o período de repouso, coletou-se cuidadosamente o sobrenadante do frasco com o auxílio de uma pipeta e, transferiu-se o material para o tubo da centrífuga, que foi centrifugado por 30 min (4000 rpm e temperatura ambiente). Sempre que necessário, foi utilizada água destilada fria (pH = 2,6; 4 °C) para homogeneizar os volumes de todos os tubos submetidos à centrifugação. Finda esta etapa, o sobrenadante foi cuidadosamente removido e descartado, de modo a restar no tubo somente o centrifugado e o volume de líquido desejado para a concentração das células.

Toda suspensão bacteriana submetida ao processo de concentração e de purificação foi utilizada imediatamente após o procedimento ser finalizado.

4.8 Experimentos de biolixiviação

Embora a metodologia utilizada não tenha sido idêntica para todos os experimentos, buscou-se resguardar os objetivos desta pesquisa e obter o maior número de respostas para as questões que, gradativamente, surgiram durante o desenvolvimento deste trabalho. Portanto, a abordagem metodológica adotada visou explorar de diversas maneiras o processo de biolixiviação aplicada a solos, de modo a obter o máximo de informações sobre este processo ao final da pesquisa. A Figura 24 mostra um fluxograma dos experimentos de biolixiviação executados e, de maneira resumida, os objetivos de cada um deles.

Figura 24 – Fluxograma dos experimentos de biolixiviação.

4.8.1 Experimento nº 1

Este experimento foi executado em equipamento de banho termostático, a $26,4 \pm 0,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$, em reatores de vidro de 5 L contendo 500 mL de água destilada e quantidades variadas de latossolo roxo (seco ao ar), de tal forma a obter concentrações de 50 g/L, 100 g/L e 200 g/L. A umidade do solo utilizado foi determinada em 10,6 % (material seco a $103 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ até peso constante).

A suspensão bacteriana de *A. ferrooxidans*, utilizada como inóculo, não recebeu qualquer tratamento para a concentração e purificação de células. Todos os reatores inoculados receberam $5,9 \times 10^9 \pm 1 \times 10^9$ células.

A Figura 25 mostra as partes constituintes do equipamento de banho termostático utilizado nos experimentos de biolixiviação nº 1, nº 6, nº 7 e nº 8.

Legenda:

- 1 – potenciômetro
- 2 – eletrodo para suspensões
- 3 – controle de temperatura
- 4 – controle da rotação
- 5 – reator de 5 L (capacidade para 4 unidades)
- 6 – banho termostático
- 7 – paleta para mistura
- 8 – controle do sistema de aquecimento
- 9 – controle do sistema de resfriamento

Figura 25 – Equipamento de banho termostático utilizado na investigação experimental.

4.8.2 Experimento nº 2

Este experimento foi executado em equipamento de “*jar test*”, em temperatura ambiente (20 °C), em reatores de 1 L (copos Griffin de vidro) contendo 500 mL de água destilada e quantidades de latossolo roxo variadas, de tal forma a obter concentrações de 100 g/L, 200 g/L, 300 g/L, 400 g/L, 500 g/L e 600 g/L. A umidade do solo utilizado foi determinada em 10,6 % (material seco a 103 °C $\pm$ 2 °C até peso constante).

Neste experimento, foram realizadas três adições de suspensão de *A. ferrooxidans*:

- ✓ Reator 1 (100 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 2 dias e 14 dias), totalizando $9,24 \times 10^{10} \pm 1,6 \times 10^{10}$ células.
- ✓ Reator 2 (200 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 2 dias e 14 dias), totalizando $9,54 \times 10^{10} \pm 1,65 \times 10^{10}$ células;
- ✓ Reator 3 (300 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 2 dias e 14 dias), totalizando $9,85 \times 10^{10} \pm 1,71 \times 10^{10}$ células;
- ✓ Reator 4 (400 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 2 dias e 14 dias), totalizando $1,02 \times 10^{11} \pm 1,76 \times 10^{10}$ células;
- ✓ Reator 5 (500 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 2 dias e 14 dias), totalizando $1,05 \times 10^{11} \pm 1,81 \times 10^{10}$ células;
- ✓ Reator 6 (600 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 2 dias e 14 dias), totalizando $1,08 \times 10^{11} \pm 1,87 \times 10^{10}$ células.

A Figura 26 mostra o equipamento de *jar test* em operação.

Nota: 1 – Reator (copo Griffin de 1 L); 2 – Agitador; 3 – Paleta do misturador; 4 – Mostrador de rotação; 5 – Controle de rotação.

Figura 26 – Reatores contendo diferentes concentrações de solo.

4.8.3 Experimento nº 3

O experimento nº 3 foi executado em frascos Erlenmeyer de 250 mL, que foram mantidos sob agitação (180 rpm) em equipamento de agitação mecânica, sob temperatura ambiente (27 °C). Neste experimento, avaliou-se a eficiência da biolixiviação na remoção dos elementos B, Cd, Pb e Zn, para as concentrações de latossolo roxo (seco ao ar) de 50 g/L, 100 g/L, 200 g/L, 300 g/L, 400 g/L e 500 g/L, utilizando, isoladamente, as bactérias *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*. A umidade do solo utilizado foi determinada em 10,6 % (material seco a 103 °C $\pm$ 2 °C até temperatura constante).

Os reatores utilizados no ensaio com o *A. ferrooxidans* receberam um volume de 200 mL de água destilada e os empregados no ensaio do *A. thiooxidans*, 150 mL. Além da suspensão bacteriana, os reatores receberam substratos aos 45 dias (ensaio com *A. ferrooxidans*) e 34 dias (ensaio com *A. thiooxidans*).

Neste experimento, foram realizadas três adições de suspensão de *A. ferrooxidans*:

- ✓ Reator 1 (50 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 45 dias), totalizando $8,09 \times 10^9 \pm 1,4 \times 10^9$ células.
- ✓ Reator 2 (100 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 45 dias), totalizando $8,66 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^9$ células;
- ✓ Reator 3 (200 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 45 dias), totalizando $9,43 \times 10^9 \pm 1,63 \times 10^9$ células;
- ✓ Reator 4 (300 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 45 dias), totalizando $1,02 \times 10^{10} \pm 1,77 \times 10^9$ células;
- ✓ Reator 5 (400 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 45 dias), totalizando $1,1 \times 10^{10} \pm 1,91 \times 10^9$ células; e
- ✓ Reator 6 (500 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 45 dias), totalizando $1,18 \times 10^{10} \pm 2,04 \times 10^9$ células;

Assim como nos experimentos com *A. ferrooxidans*, nos com *A. thiooxidans*, foram realizadas três adições de suspensão bacteriana:

- ✓ Reator 1 (50 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 34 dias), totalizando $1,72 \times 10^9 \pm 3,25 \times 10^8$ células.

- ✓ Reator 2 (100 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 34 dias), totalizando $1,8 \times 10^9 \pm 3,41 \times 10^8$ células;
- ✓ Reator 3 (200 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 34 dias), totalizando $1,97 \times 10^9 \pm 3,72 \times 10^8$ células;
- ✓ Reator 4 (300 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 34 dias), totalizando $2,13 \times 10^9 \pm 4,03 \times 10^8$ células;
- ✓ Reator 5 (400 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 34 dias), totalizando $2,29 \times 10^9 \pm 4,34 \times 10^8$ células; e
- ✓ Reator 6 (500 g solo/L): três adições de células (tempo inicial, 23 dias e 34 dias), totalizando $2,46 \times 10^9 \pm 4,65 \times 10^8$ células;

Cabe ressaltar que as suspensões bacterianas utilizadas como inóculo nestes ensaios não receberam nenhum tratamento, visando sua concentração ou purificação. As Tabelas 17 e 18 mostram, respectivamente, as massas de substratos utilizadas nos experimentos com *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*.

Tabela 17 – Substratos utilizados nos reatores do experimento nº 3 utilizando *A. ferrooxidans*.

Substrato	Massa utilizada (mg)					
	Concentração de solo (g/L)					
	50	100	200	300	400	500
MgSO ₄ . 7H ₂ O	16,8	17,6	19,2	20,8	24	22,4
K ₂ HPO ₄	16,8	17,6	19,2	20,8	24	22,4
(NH ₄) ₂ SO ₄	16,8	17,6	19,2	20,8	24	22,4
FeSO ₄ . 7H ₂ O	1398,6	1465,2	1598,4	1731,6	1998	1864,8

Tabela 18 – Substratos utilizados nos reatores do experimento nº 3 utilizando *A. thiooxidans*.

Substrato	Massa utilizada (mg)					
	Concentração de solo (g/L)					
	50	100	200	300	400	500
MgSO ₄ . 7H ₂ O	12,56	13,2	14,4	15,6	16,8	18
K ₂ HPO ₄	12,56	13,2	14,4	15,6	16,8	18
(NH ₄) ₂ SO ₄	12,56	13,2	14,4	15,6	16,8	18
S ⁰	314	330	360	390	420	450

4.8.4 Experimento nº 4

O experimento nº 4 foi executado em frascos Erlenmeyer de 250 mL, sem agitação e com temperatura ambiente (23,0 °C). Neste experimento, avaliou-se a adaptação do *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* ao solo natural (**com acidificação prévia**) esterilizado.

No processo de esterilização, utilizou-se solo peneirado em malha de 2 mm, que foi acondicionado em um frasco Becker, vedado com papel alumínio, e autoclavado a 120°C por 1 hora.

Neste experimento, utilizou-se a concentração de solo de 300 g/L (60 g latossolo vermelho com umidade de 8,4% + 200 mL de água de torneira), adição de substratos e de suspensão bacteriana concentrada para cada um dos reatores (adição total: $1,43 \times 10^8 \pm 1,65 \times 10^7$ células de *A. ferrooxidans*/reator inoculado e $2,17 \times 10^8 \pm 6,4 \times 10^7$ células de *A. thiooxidans*/reator inoculado).

Os reatores receberam os seguintes substratos:

- a) Reator com *A. ferrooxidans*: 0,6 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g K_2HPO_4 , 0,1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 8,84 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;
- b) Reator com *A. thiooxidans*: 0,08 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,08 g K_2HPO_4 , 0,08 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 g S^0 .

O experimento foi executado em triplicata e contou com três reatores de controle: branco (água + solo); controle para o *A. ferrooxidans* (água + solo + substratos utilizados no crescimento do *A. ferrooxidans*) e controle para o *A. thiooxidans* (água + solo + substratos utilizados no crescimento do *A. thiooxidans*).

4.8.5 Experimento nº 5

O experimento nº 5, a exemplo do nº 4, foi executado em frascos Erlenmeyer de 250 mL, sem agitação e em temperatura ambiente (23,0 °C). Neste experimento, avaliou-se a adaptação do *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* ao solo natural (**sem acidificação prévia**) esterilizado.

No processo de esterilização, utilizou-se solo peneirado em malha de 2 mm, que foi acondicionado em um frasco Becker, vedado com papel alumínio e autoclavado a 120°C por 1 hora.

Neste experimento, utilizou-se a concentração de solo de 300 g/L (60 g latossolo vermelho com umidade de 8,4% + 200 mL de água de torneira), adição de substratos e de suspensão bacteriana concentrada para cada um dos reatores (adição total: $1,43 \times 10^8 \pm 1,65 \times 10^7$ células de *A. ferrooxidans*/reator inoculado e $2,17 \times 10^8 \pm 6,4 \times 10^7$ células de *A. thiooxidans*/reator inoculado).

Os reatores receberam os seguintes substratos:

c) Reator com *A. ferrooxidans*: 0,6 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g K_2HPO_4 , 0,1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 8,84 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;

d) Reator com *A. thiooxidans*: 0,08 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,08 g K_2HPO_4 , 0,08 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 g S^0 .

O experimento foi executado em triplicata e contou com três reatores de controle: branco (água + solo); controle para o *A. ferrooxidans* (água + solo + substratos utilizados no crescimento do *A. ferrooxidans*) e controle para o *A. thiooxidans* (água + solo + substratos utilizados no crescimento do *A. thiooxidans*). As Figuras 24 e 25 mostram, respectivamente, os reatores utilizados nos experimentos com *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*.

4.8.6 Experimento nº 6

A partir deste experimento, todos os ensaios de biolixiviação foram executados no equipamento de banho termostático. Este experimento, assim como os próximos, foi executado simultaneamente em quatro reatores que obedeceram a seguinte configuração:

- Reator 1 (R1): água de torneira desclorada + solo + substratos;
- Reator 2 (R2): água de torneira desclorada + solo + substratos + H_2SO_4 (utilizado para acidificar a polpa);
- Reator 3 (R3): água de torneira desclorada + solo + substratos + H_2SO_4 + suspensão bacteriana;

- Reator 4 (R4): água de torneira desclorada + solo + substratos + H_2SO_4 + suspensão bacteriana (duplicata).

O experimento de nº 6 possuiu as seguintes características:

- Reator: frasco retangular em polipropileno com capacidade para 4,5 L;
- Massa de água: 2,8 kg;
- Massa de solo contaminado: 1,2 kg (428 g solo seco/L de água);
- Umidade do solo: 4,08 %
- Volume de inóculo de *A. ferrooxidans*: 800 mL, (a suspensão bacteriana purificada e concentrada em 10 mL);
- Densidade de células no inóculo concentrado (10 mL): $7,96 \times 10^8 \pm 2,24 \times 10^8$ células/mL;
- Densidade de células nos reatores R3 e R4 no tempo 0: $6,91 \times 10^6 \pm 1,95 \times 10^6$ células/g solo seco (admitindo a massa de solo de 1,151 kg, já considerada a umidade de 4,08 %);
- Massas de substratos: 8,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,28 g KCl, 1,4 g K_2HPO_4 , 1,4 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,028 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 123,8 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;
- Rotação: 174 rpm $\pm$ 9 rpm;
- Temperatura: 30 °C $\pm$ 1,6 °C;
- Duração do experimento: 30 dias.

4.8.7 Experimento nº 7

O experimento nº 7 possuiu as seguintes características:

- Reator: frasco retangular em polipropileno com capacidade para 4,5 L;
- Massa de água: 3,2 kg;
- Massa de solo contaminado: 0,8 kg (250 g solo seco/L de água);
- Umidade do solo: 3,36 %
- Volume de inóculo de *A. ferrooxidans*: 800 mL, (a suspensão bacteriana foi lavada três vezes e concentrada em 10 mL);
- Densidade de células na inóculo concentrado (10 mL): $1,31 \times 10^{10} \pm 8,16 \times 10^8$ células/mL

- Densidade de células nos reatores R3 e R4 no tempo 0: $1,7 \times 10^8 \pm 1,06 \times 10^7$ células/g solo seco (admitindo a massa de solo de 0,77 kg, já considerado a umidade de 3,36 %);
- Massas de substratos: 8,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,28 g KCl, 1,4 g K_2HPO_4 , 1,4 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,028 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 123,8 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;
- Rotação: 205 rpm $\pm$ 4 rpm;
- Temperatura: 30,2 °C $\pm$ 1,3 °C;
- Duração do experimento: 30 dias.

4.8.8 Experimento nº 8

O experimento nº 8 possuiu as seguintes características:

- Reator: frasco retangular em polipropileno com capacidade para 4,5 L;
- Massa de água: 3,2 kg;
- Massa de solo contaminado: 0,8 kg (250 g solo seco/L água);
- Umidade do solo: 3,18 %
- Volume de inóculo de *A. ferrooxidans*: 800 mL, (a suspensão bacteriana foi lavada três vezes e concentrada em 40 mL);
- Densidade de células no inóculo concentrado (40 mL): $3,03 \times 10^7 \pm 4,75 \times 10^6$ células/mL;
- Densidade de células nos reatores R3 e R4 no tempo 0: $3,12 \times 10^7 \pm 4,91 \times 10^6$ células/ g solo seco (admitindo a massa de solo de 0,77 kg, já considerada a umidade de 3,18 %);
- Massas de substratos: 9,6 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 16 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;
- Rotação: 200 rpm $\pm$ 3 rpm;
- Temperatura: 30,4 °C $\pm$ 0,5 °C;
- Duração do experimento: 30 dias.

O experimento nº 8 foi realizado com a mesma concentração de solo utilizada no experimento nº 7, mas apresentou duas diferenças: o inóculo foi concentrado em 40 mL (ao invés de 10 mL como nos experimentos nº 6 e nº 7), a composição dos substratos foi modificada (não foram adicionados: KCl; K_2HPO_4 ;

MgSO_4 e $\text{Ca}_2(\text{NO}_3)$ e a massa de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ foi aumentada de 8,4 g para 9,6 g e reduzida a de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ de 123,8 g para 16 g).

O objetivo do aumento do volume do inóculo foi o de permitir um melhor contato entre as bactérias e o solo nos reatores e o da modificação nos substratos, reduzir o impacto que eles exercem sobre o pH (particularmente o $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e, desta maneira, possibilitar uma avaliação mais precisa e acurada do processo de biolixiviação.

5 RESULTADOS

5.1 Classificação pedológica do solo

Segundo o Atlas Ambiental da Bacia do Rio Corumbataí, elaborado pelo CENTRO DE ANÁLISE E PLANEJAMENTO AMBIENTAL (CEAPLA, 2005), o solo da região de estudo esta em área de influência de latossolo roxo. A Figura 27 mostra a ocorrência e a distribuição dos diferentes tipos de solo da bacia do Rio Corumbataí.

Entretanto, ressalta-se que a atividade antropogênica na Região dos Lagos de Santa Gertrudes não mais permite, a rigor, enquadrar pedologicamente o material geológico utilizado nos experimentos aqui reportados como sendo solo, uma vez que ocorreu a mistura de resíduos sólidos com o mesmo. Todavia, **para efeito exclusivo de identificação dos dois materiais geológicos utilizados nos experimentos**, a classificação pedológica original foi mantida neste trabalho.

Figura 27- Mapa de solos da bacia hidrográfica do Rio Corumbataí.
Fonte: CEAPLA (2005).

5.2 Caracterização geotécnica do solo

Tendo em vista que foram utilizados dois tipos diferentes de solo para a execução dos experimentos de biolixiviação, eles foram caracterizados separadamente.

5.2.1 Composição mineralógica

5.2.1.1 Latossolo roxo

A Tabela 19 permite visualizar os resultados da análise de fluorescência de raios-x. As Figuras 28 e 29 mostram, respectivamente, o difratograma de uma amostra composta do solo coletado em três diferentes pontos da área de estudo e as fases nele identificadas. A Tabela 20 indica os minerais correspondentes a cada uma das fases identificadas na Figura 29.

Tabela 19 - Resultados em % de óxidos, normalizados a 100 %, de amostras de latossolo roxo.

Óxidos	Amostras			
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Amostra composta (P1+ P2 + P3)
MgO	0,61	0,45	0,47	0,45
Al ₂ O ₃	22,6	24,3	23,4	22,8
SiO ₂	36,5	38,6	42,2	40,2
P ₂ O ₅	0,16	0,13	0,11	0,13
SO ₃	0,04	0,05	0,05	0,05
K ₂ O	0,38	0,12	0,10	0,18
CaO	0,18	0,17	0,22	0,18
TiO ₂	5,69	6,99	9,11	7,5
V ₂ O ₅	0,09	0,11	0,09	0,08
Cr ₂ O ₃	<<	<<	<<	<<
MnO	0,12	0,11	0,12	0,11

Continua...

				Conclusão.
Óxidos	Amostras			Amostra composta (P1+ P2 + P3)
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	
Fe ₂ O ₃	23,0	17,6	14,7	18,2
NiO	nd	<<	nd	Nd
CuO	0,02	0,02	0,02	0,03
ZnO	0,03	0,01	0,01	0,02
Ga ₂ O ₃	nd	<<	nd	<<
SrO	<<	<<	<<	<<
Y ₂ O ₃	<<	0,01	<<	<<
ZrO ₂	0,09	0,09	0,12	0,10
Nb ₂ O ₅	<<	0,01	0,01	0,02
PbO	nd	nd	nd	<<
PF	10,6	11,2	9,28	10,1

Nota:

<< = Traços (menor que 0,01 %)

nd = Elemento não detectado

PF = Perda ao fogo

Figura 28 – Difractograma da amostra composta de latossolo roxo da área de estudo.

Figura 29 – Fases identificadas no difratograma da Figura 28.

Tabela 20 – Minerais identificados através das fases mostradas na Figura 29.

ICDD	Nome do composto	Fórmula química	Mineral
01-086-1629	Quartzo	SiO ₂	Quartzo
00-029-1488	Caulinita	Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄	Caulinita
01-089-8104	Hematita	Fe ₂ O ₃	Hematita
01-075-0519	Ilmenita	FeTiO ₃	Ilmenita
01-074-1910	Magnetita	Fe ₃ O ₄	Magnetita
01-071-1167	Anatásio	TiO ₂	Anatásio

Os minerais listados na Tabela 20 permitem associar a amostra do solo à uma área de influência de latossolo roxo.

Embora haja aproximadamente 2000 espécies minerais conhecidas, apenas algumas ocorrem com elevada frequência. Os seis minerais primários predominantes na crosta terrestre são: feldspatos, quartzo, piroxênio, anfibólios, micas e olivina. Estes integram o grupo dos silicatos que ocupa aproximadamente 93 % do volume da litosfera, logo, é de longe o mais importante (DANA, 1969; GANDOLFI; BJONBERG; PARAGUASSU, 1999).

O quartzo é um importante mineral constituinte das rochas ígneas que possuem excesso de sílica, tais como o granito, o riólito e o pegmatito. É um mineral extremamente resistente, tanto ao ataque químico quanto ao físico, e assim, a desintegração das rochas ígneas que o contém produz grãos de quartzo, que podem

se acumular e formar a rocha sedimentar granito. Tal mineral também ocorre em rochas metamórficas, como os gnaisses e os xistos, formando praticamente o único mineral dos quartzitos. Nas rochas, está associado principalmente com o feldspato e a muscovita. Ocorre, ainda, em grande quantidade como areia nos leitos dos rios e praias e como constituinte dos solos (DANA, 1969).

A caulinita é um mineral de ocorrência ampla e o principal constituinte do caulim e das argilas. Sempre um mineral de origem supérgena, sendo derivado, por alteração, dos silicatos de alumínio, particularmente o feldspato. Como um dos produtos de alteração comum da decomposição das rochas, encontra-se nos solos e, sendo transportado pela água, deposita-se sob a forma de camadas de argila, misturada com quartzo e outros materiais, nos sedimentos aquáticos (DANA, 1969).

A caulinita possui estrutura atômica, formada por uma repetição sucessiva de pacotes constituídos de uma camada de tetraedros de sílica e de uma camada de octaedros de alumina, sendo que estes pacotes estão ligados por força atômica do tipo hidrogênio.

A hematita é um mineral amplamente distribuído em rochas de todas as idades e forma o minério de ferro mais abundante e importante. Pode ter como origem, a sublimação das atividades vulcânicas. Ocorre em depósitos metamórficos de contato e como mineral acessório nas rochas ígneas feldspáticas, como o granito (DANA, 1969).

A hematita pode ser encontrada desde a forma de escamas microscópicas até de massas muito grandes, em comparação com as rochas metamórficas regionais, onde pode ter se originado pela alteração da limonita, siderita e magnetita. Tal como a limonita, pode ser formada em massas ou camadas irregulares como resultado da ação do intemperismo. Seu uso principal é como minério de ferro, mas também é empregado como fonte dos pigmentos ocre e vermelho (DANA, 1969).

A ilmenita ocorre em camadas e em massas lenticulares encaixadas no gnaiss e em outras rochas metamórficas cristalinas. É encontrada, freqüentemente, em filões ou massas, como um produto de segregação magmática associada com magnetita. Ocorre também como mineral acessório nas rochas ígneas e é um dos constituintes das areias pretas, associado com a magnetita, o rutílico, o zircão e a monazita. É empregado como fonte de titânio e o dióxido de titânio extraído é utilizado como pigmento em substituição aos compostos de chumbo (DANA, 1969).

Considerando as informações do parágrafo anterior e o fato de que a área de estudo foi utilizada como local de descarte de resíduos sólidos e despejos líquidos das indústrias cerâmicas da região e, comparando o teor médio de $1,89 \pm 0,78 \text{ mg TiO}_2 / \text{kg}$, determinado pelo CEAPLA para os solos da Bacia do Rio Corumbataí (CEAPLA, 2005), com os dados das Tabelas 19 e 21, é lícito afirmar que a presença de ilmenita e anatásio, observada nas amostras de latossolo roxo, pode ter origem antrópica, embora SILVA (2001) tenha analisado o latossolo não contaminado da região e determinado um teor médio de 6,12 % de TiO_2 .

A magnetita é um minério de ferro comum e encontra-se distribuída, sob a forma de um mineral acessório, em muitas rochas magmáticas. Está associada, mais comumente, com rochas metamórficas cristalinas, embora ocorra também, freqüentemente, em rochas ricas em minerais ferromagnesianos – dioritos, gabros, peridotitos (DANA, 1969).

A ilmenita, a magnetita e a hematita integram o grupo dos minerais denominados secundários, pois são resistentes à ação das intempéries. O anatásio, geralmente, encontra-se associado ao rutilo e à hematita.

5.2.1.2 Latossolo vermelho

Apesar dos diagnósticos preliminar e confirmatório da área indicarem a contaminação por Pb, Zn, Cd, Ni e B, estes elementos foram encontrados em baixos teores nas amostras do latossolo roxo. Portanto, optou-se por nova coleta, em local onde haviam sido dispostos sedimentos contaminados oriundos dos lagos da região. Portanto, não é possível comparar a composição mineralógica dos dois latossolos utilizados nesta pesquisa.

A Tabela 21 mostra o resultado fornecido pela análise de fluorescência de raios-x. As Figuras 30 e 31 permitem a visualização, respectivamente, do difratograma de uma amostra composta do solo coletado na área de estudo e das fases cristalinas nele identificadas. A Tabela 22 indica os minerais correspondentes a cada uma das fases identificadas na Figura 31.

Tabela 21 – Resultados em % de óxidos, normalizados a 100 %, de amostra de latossolo vermelho.

Óxidos	%	Óxidos	%
Na ₂ O	0,32	Fe ₂ O ₃	8,31
MgO	1,30	CO ₃ O ₄	0,02
Al ₂ O ₃	16,8	CuO	0,03
SiO ₂	61,7	ZnO	0,06
P ₂ O ₅	0,12	Rb ₂ O	0,03
SO ₃	0,04	SrO	0,01
K ₂ O	2,58	Y ₂ O ₃	0,01
CaO	0,42	ZrO ₂	0,07
TiO ₂	1,00	Nb ₂ O ₅	0,00
V ₂ O ₅	0,01	BaO	0,08
Cr ₂ O ₃	0,02	PbO	0,16
MnO	0,07	PF	6,90

Nota:
PF: Perda ao fogo.

Figura 30 – Difratoograma de amostra de rosa da área de estudo.

Figura 31 – Fases identificadas no difratograma da Figura 30.

A muscovita é um mineral formador de rocha muito comum. É característico de rochas ígneas silicosas, situadas profundamente, como o granito e o sienito. Muito comum também nas rochas metamórficas, como o gnaiss e o xisto, formando o constituinte principal de certos mica-xistos. A muscovita origina-se também como produto de alteração de diversos outros minerais: topázio, cianita, espodumênio, andaluzita e escapolita. Nos pegmatitos graníticos, ela ocorre associado com o quartzo e o feldspato, com a turmalina, o berilo, a granada, a apatita e a fluorita (DANA, 1969).

Tabela 22 – Minerais identificados através das fases da Figura 31.

ICDD	Nome do composto	Fórmula química	Mineral
01-086-1629	Quartzo	SiO_2	Quartzo
01-086-1385	Muscovita	$\text{K}_{0,86}\text{Al}_{1,94}(\text{Al}_{0,965}\text{Si}_{2,895}\text{O}_{10}((\text{OH})_{1,744}\text{F}_{0,256}))$	Muscovita
01-089-8104	Hematita	Fe_2O_3	Hematita
00-008-0048	Ortoclásio	$\text{K}(\text{Al},\text{Fe})\text{Si}_2\text{O}_8$	Ortoclásio
01-071-1167	Anatásio	TiO_2	Anatásio
00-029-1488	Caulinita	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	Caulinita

O ortoclásio é um dos minerais mais comuns, forma-se durante a cristalização das rochas ígneas e pelas atividades hidrotermais nos diques

pegmatíticos e nas drusas das rochas. Mais raramente, origina-se da cristalização a partir de soluções aquosas, em baixa temperatura, nos filões. De distribuição ampla, ocorre em muitos tipos de rochas ígneas, especialmente granitos, sienitos e nefelina sienitos; nas rochas sedimentares, está presente no arcózio e em certos arenitos e conglomerados; nas rochas metamórficas, nos gnaisses (DANA, 1969).

A muscovita (mica), o ortoclásio (feldspato), o quartzo e as zeólitas são denominados de minerais primários. Estes são os últimos a serem formados no processo de cristalização magmática, ou seja, no processo de resfriamento do magma, e dão origem aos minerais hidrotermais (GANDOLFI; BJONBERG; PARAGUASSU, 1999).

Outro mineral, a rigor, uma associação de minerais, que freqüentemente ocorre nos latossolos, sobretudo na fração pedregulho, é a laterita ou concreção laterítica, constituída essencialmente de óxidos hidratados de ferro e alumínio. A essa substância, se associam, freqüentemente, a magnetita, a ilmenita, a hematita e, sobretudo, o quartzo.

SILVA (2001) concluiu que nesta área ocorre a gênese de solos lateríticos típicos, com remoção de Na, K, Si, Mg, Ca e concentração de Fe, Al, Mn e Ti.

5.2.2 Massa específica dos grãos e curvas granulométricas

Os ensaios para determinação da massa específica dos grãos e da curva granulométrica foram executados de acordo com a NBR 7181 (ABNT, 1984a). Os resultados dos ensaios para os latossolo roxo e vermelho são apresentados, na íntegra, no Apêndice A.

A massa específica para o latossolo roxo é de 2,92 g/cm³ e de 2,57 g/cm³, para o vermelho. As Figuras 32 e 33 mostram, respectivamente, as distribuições granulométricas das duas amostras de solo.

Figura 32 - Distribuição granulométrica do latossolo roxo coletado na área de estudo.

Figura 33 - Distribuição granulométrica do latossolo vermelho coletado na área de estudo

Além dos ensaios geotécnicos, conduzidos na Escola Politécnica, foi executada análise granulométrica do latossolo vermelho no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), na qual se obteve o seguinte resultado: 6 % de areia grossa (diâmetro dos grãos = 1 a 0,5 mm), 12 % de areia fina (0,25 a 0,1 mm), 27 % de silte (0,05 a 0,002 mm) e 55 % de argila (< 0,002 mm). O solo foi classificado como argiloso.

A presença de quartzo é muito freqüente nestes e noutros tipos de solos e freqüentemente predominante nas frações areia e pedregulho. Os grãos de quartzo, quando presentes na fração areia dos latossolos, estão envoltos por uma película de óxidos, que é a responsável pela tonalidade avermelhada, arroxeada ou amarelada do conjunto (NOGAMI, 1995).

Similarmente ao caso da fração areia, a constituição mineralógica da fração silte é quase sempre muito simples, sendo nítida a predominância do quartzo. É bastante freqüente a presença de torrões de argila; a laterita também pode ocorrer nesta fração, contudo é difícil sua distinção dos primeiros.

Os principais constituintes da fração argila, ou seja, da parte formada por grãos de diâmetro inferior a 0,002 mm, são os argilominerais, óxidos e hidróxidos de ferro e/ou alumínio e húmus ou ácidos húmicos.

Os argilominerais caracterizam-se por possuírem uma série de propriedades peculiares, das quais se destacam (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992; NOGAMI, 1995):

- a) Elevada superfície específica decorrente, sobretudo, de suas dimensões diminutas (da ordem de micrômetros a nanômetros) e de sua forma lamelar e/ou alongada;
- b) Cargas elétricas predominantemente negativas, o que lhes confere capacidade de troca catiônica, quando em meio aquoso e, também, condiciona o pH do solo;
- c) Adsorção de cátions devido à elevada área superficial específica e predominância de cargas elétricas negativas na superfície de suas partículas.

A carga de superfície do solo foi determinada no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ, segundo metodologia proposta por TAN (1993), para o qual a carga de superfície pode ser determinada através do diferencial do pH de uma solução de solo com água destilada e de solo com solução de cloreto de

potássio. Neste caso, se o $\Delta\text{pH} < 0$, as cargas de superfície são predominantemente positivas e vice-versa. Quando $\Delta\text{pH} = 0$, tem-se o ponto de carga zero.

Obteve-se o seguinte resultado para a carga de superfície da amostra de latossolo vermelho:

$$\Delta\text{pH} = \text{pH}(\text{H}_2\text{O}) - \text{pH}(\text{H}_2\text{O} + \text{KCl}) = (7,6 \pm 0) - (6,63 \pm 0,06) = 0,97 \pm 0,06$$

Portanto, o valor positivo do diferencial de pH indica que as cargas de superfície do solo são negativas, logo, possuem capacidade de adsorção de espécies catiônicas, que incluem os metais pesados.

A capacidade de troca catiônica também foi determinada no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ e resultou em $132,20 \pm 7,12$ mmol/kg, ou seja, o latossolo vermelho possui capacidade de trocar seus cátions Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ e H^+ + Al^{3+} por outros, inclusive metais pesados. Este resultado está de acordo com o diferencial de pH, mencionado no parágrafo anterior, e com o comportamento descrito por STUMM (1992) sobre a dependência das cargas elétricas superficiais com o pH.

A presença de óxidos de Al, Fe, Mn, hidróxidos, carbonatos, fosfatos e argilominerais influenciam fortemente na concentração dos metais pesados na solução do solo, pois podem remover cátions da solução, através de reações de adsorção, precipitação e complexação. Outras importantes fontes de troca iônica de metais na solução do solo são as argilas, que possuem carga elétrica negativa e não dependente do pH (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992).

As propriedades físicas, como o tamanho das partículas, cargas elétricas e capacidade de adsorção e, químicas, como raio iônico de seus constituintes minerais, força iônica da solução do solo, pH e potencial redox determinam o grau de contaminação do solo por metais pesados. Partículas finas são naturalmente mais reativas, pois possuem maior área superficial do que as partículas grosseiras, que tendem a expor a superfície da partícula a um maior grau de hidratação. Como resultado, a fração fina do solo, notadamente a argila, geralmente, concentra a maior parcela da contaminação de metais no solo (MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998).

5.3 Experimentos de biolixiviação

Foram executados oito experimentos, que tiveram por objetivos: avaliar a eficiência do processo de biolixiviação com *Acidithiobacillus sp* na solubilização dos elementos B, Cd, Pb e Zn, presentes no solo contaminado da área de estudo e, determinar as variáveis limitantes do processo.

A Tabela 23 mostra os teores dos elementos químicos, determinados pela técnica ICP-AES e pela análise elementar, para a amostra de latossolo roxo, que foi utilizada nos experimentos de biolixiviação nº 1, nº 2 e nº 3.

Os resultados das determinações químicas da amostra de latossolo roxo revelaram que, segundo os critérios adotados pela agência ambiental paulista, ela não estava contaminada, pois os teores de B, Cd, Pb e Zn eram da mesma ordem de magnitude dos valores de referência admitidos pela CETESB (CETESB, 2005a) para solos naturais: Pb (17 mg/kg); Cd (< 0,5 mg/kg), Zn (60 mg/kg).

Tabela 23 – Teores dos elementos químicos de interesse no solo contaminado.

Elemento	Teor (mg/kg)
B	55,82 ± 1,19
Pb	23,2 ± 0,29
Cd	< 0,1
Zn	56,2 ± 3,58
P	384,75 ± 1,63
S	6600 ± 141,42
C	8100 ± 152
H	9125 ± 1096
N	800 ± 230

A análise elementar indicou a presença de 8100 ± 152 mg/kg de carbono no solo, sendo o teor de matéria orgânica estimada entre 0,7 % a 1,3 %, condizente com os teores geralmente encontrados em solos tropicais da América do Sul (ALLOWAY, 1995).

Como os teores dos contaminantes no latossolo roxo foram baixos, executou-se uma nova coleta de solo, denominada nº 2.

A Tabela 24 apresenta os teores dos elementos químicos, determinados pela técnica ICP-AES e pela análise elementar, para a amostra de latossolo vermelho, que foi utilizada em todos os demais experimentos de biolixiviação.

A análise elementar indicou a presença de 4.890 ± 766 mg/kg de carbono no solo, sendo o teor de matéria orgânica de $4,66 \pm 1,15$ g/kg. SILVA (2001) analisou amostras de solo nesta área, que continham matéria orgânica na proporção de $0,5\% \pm 0,2\%$, ou seja, $5,0 \pm 2,0$ g/kg.

Os resultados obtidos na investigação de SILVA (2001) divergem significativamente dos obtidos por CETESB (2001b), em particular com relação aos teores máximos observados para Zn e Pb no solo da área da Região dos Lagos de Santa Gertrudes. SILVA (2001) relatou valores máximos de 34.706 mg Pb/kg e 17.300 mg Zn/kg, enquanto CETESB (2001b), 2.890 mg Pb/kg e 453 mg Zn/kg.

Tabela 24 – Teores dos elementos químicos de interesse na amostra de latossolo vermelho contaminado.

Elemento	Teor (mg/kg)
B	$16,08 \pm 8,74$
Pb	$634,77 \pm 41,81$
Cd	$< 0,003$
Zn	$182,76 \pm 13,30$
P	$270,22 \pm 17,11$
S	$< 0,05$
C	4890 ± 766
H	6600 ± 1020
N	660 ± 501

Os teores de Pb e Zn, relatados por CETESB (2001b), são da mesma ordem de grandeza dos observados nesta pesquisa (Tabela 24), ou seja: Pb de 270 mg/kg a 702 mg/kg e Zn de 83 mg/kg a 213 mg/kg.

A massa de íon metálico adsorvido pela superfície de um sólido cresce com o aumento do pH, devido às substâncias húmicas, argilas ou misturas de argilas e ácido húmico. A massa de íons metálicos adsorvidos em meio ácido cresce com o pH até que um valor limite, requerido para a dissolução parcial do sólido e a formação de complexos humato-metálicos solúveis, seja excedido (EVANGELOU, 1998).

Os complexos organometálicos experimentam três tipos de interações, as quais determinam a solubilidade aparente dos metais em função do pH: a) prótons competem com cátions pelos sítios ativos; b) OH^- compete com substâncias húmicas pelos íons metálicos; c) metais moles competem com metais duros pelos grupos funcionais (VERNET, 1991; EVANGELOU, 1998).

O material húmico não forma somente complexo com íons metálicos, como também é capaz de reduzir a valência destes cátions. Isto é independente dos fatores ambientais do solo e microrganismos que são conhecidos por terem a mesma capacidade (VERNET, 1991).

As substâncias húmicas também formam complexos fortes com argila. Os mecanismos mais conhecidos de formação destes complexos são (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; VERNET, 1991; EVANGELOU, 1998):

- ✓ Pelo ânion e ligante de troca para as extremidades da argila;
- ✓ Pelo cátion ou pontes de água pelas superfícies basal da argila;
- ✓ Pela ligação de hidrogênio ao siloxano ou a gipsita;
- ✓ Por forças de van der Waals;
- ✓ Por confinamento nos poros do cristal;
- ✓ Por adsorção nos espaços intercamadas.

A contribuição relativa dos mecanismos de formação dos complexos argilo-húmicos é diferente para cada argilomineral (EVANGELOU, 1998).

A matéria orgânica do solo pode ser a principal fonte da capacidade de troca catiônica do mesmo, contribuindo com mais de 200 meq/100 g em solos superficiais. Como o conteúdo de matéria orgânica decresce com o aumento da profundidade, o solo superficial é o mais importante em termos de sorção (BOHN; MCNEAL; O'CONNOR, 1985; MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992).

5.3.1 Experimento nº 1

A Figura 34 mostra o monitoramento do pH para todos os reatores que receberam inóculo de *A. ferrooxidans* e a Figura 35, para dois reatores com mesma concentração de solo, onde apenas um deles recebeu o inóculo.

Figura 34 – Resultados do ensaio para avaliação do desempenho da biolixiviação, utilizando *A. ferrooxidans*, em diferentes concentrações de solo, realizado em temperatura ambiente.

Figura 35 – Comportamento do pH em reatores de 100 g solo/L com e sem a introdução de suspensão bacteriana (controle).

Inicialmente, o pH do solo foi ajustado para 4,5, pois a literatura (CHARTIER; COUILLARD, 1997; BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN, 2001; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001; ZAGURY; NARASIAH; TYAGI, 2001) recomendava este valor. Em seguida, foi adicionado o inóculo e verificou-se que o pH do solo sofreu uma redução, passando a 2,5.

A partir deste momento, se houvesse um crescimento do *A. ferrooxidans*, segundo a literatura (BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN, 2001; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001; ZAGURY; NARASIAH; TYAGI, 2001; etc), verificar-se-ia uma redução do pH ao longo do tempo, o que não ocorreu (Figuras 34 e 35).

Diante dos resultados obtidos neste experimento, admitiram-se as seguintes hipóteses, a serem verificadas nos próximos ensaios:

a) Não havia substrato disponível para suportar o crescimento bacteriano: Fe^{2+} , sulfetos ou enxofre elementar. Se havia substrato, a produção de H_2SO_4 não tinha sido suficiente para causar um abaixamento no valor do pH;

b) A quantidade de células adicionada foi insuficiente.

A abrupta redução do pH após a inoculação, provavelmente, deveu-se ao H_2SO_4 presente na suspensão bacteriana, pois esta foi utilizada sem qualquer tratamento para separar as células do ácido produzido durante o crescimento celular. Com relação à redução do pH ao longo do tempo, decidiu-se avaliar melhor seu comportamento.

5.3.2 Experimento nº 2

No experimento nº 2, foram testadas as hipóteses admitidas no nº 1, quais sejam: adição múltipla de inóculo e do substrato enxofre (S^0).

A adição do enxofre não resultou em alteração perceptível no valor do pH dos reatores que o receberam. Este fato poderia ter como causas: a quantidade reduzida de enxofre introduzida ou a curta duração do experimento. Mesmo que o enxofre tivesse sido integralmente convertido em H_2SO_4 , este poderia não produzir um rebaixamento significativo nos valores do pH dos conteúdos dos reatores, uma vez que estes já estavam abaixo de 2,5.

As três adições de suspensão bacteriana, apesar de terem sido de mesmo volume e conterem a mesma densidade de células, resultaram em reduções decrescentes nos valores do pH. Este comportamento corroborou as observações do experimento nº 1, quanto à redução imediata do pH devido ao H_2SO_4 presente na suspensão bacteriana e indicou que à medida que o pH se aproximava do valor 2,0 era necessário uma maior quantidade de ácido para a sua redução.

As Figuras 36 e 37 mostram o comportamento do pH ao longo do tempo para as diferentes concentrações de solo utilizadas neste experimento.

Figura 36 - Resultados do ensaio para avaliação do desempenho da biolixiviação, utilizando *A. ferrooxidans* em diferentes concentrações de solo.

A partir da observação do comportamento do pH nos experimentos nº 1 e nº 2 e da constatação de que a adição sucessiva de inóculo resultava em reduções de pH decrescentes, decidiu-se determinar a curva de ajuste de pH da amostra de latossolo roxo. A Figura 38 mostra tal curva, que comprova a necessidade de uma grande quantidade de ácido para produzir uma pequena redução no valor do pH a partir de 2,0.

Figura 37 – Comportamento do pH ao longo do tempo nos reatores contendo 300 g solo/L e 600 g solo/L, com e sem a introdução de suspensão bacteriana.

Figura 38 – Curva de ajuste de pH da amostra de latossolo roxo.

A Figura 38 comprova a hipótese considerada no experimento nº 1, de que a produção de H_2SO_4 é insuficiente para abaixar o pH aquém de 2,5. O solo utilizado no presente estudo possui baixa capacidade de tamponamento para ácidos até pH = 3,0, o que não ocorre abaixo deste valor. Portanto, as bactérias deveriam produzir uma grande quantidade de H_2SO_4 para abaixar o pH da amostra de solo a valores inferiores a 2,5.

5.3.3 Experimento nº 3

Há consenso que os principais parâmetros que governam e afetam a biolixiviação são o pH, o potencial redox, a temperatura, a densidade da polpa, a composição mineralógica do material a ser lixiviado, a afinidade da espécie de *Acidithiobacillus sp* ao(s) metal(is) alvo(s), a atividade do próprio microrganismo, a capacidade de tamponamento do material contaminado, a presença de espécies indígenas de *Acidithiobacillus sp* no meio, a disponibilidade de compostos reduzidos de enxofre e de alguma fonte de carbono no meio (CHARTIER; COUILLARD, 1997; KREBS *et alii*, 1997; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001; BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN, 2001; DOBLER *et alii*, 2001).

Assim, o experimento nº 3 foi realizado com a adição de nutrientes, com e sem inóculo, com diferentes concentrações de solo, com as duas espécies de

Acidithiobacillus sp e monitoramento do pH por 60 dias, este último em função da dúvida sobre a duração do ensaio, mencionada no item anterior.

As Figuras 39 e 40 mostram, respectivamente, a evolução do pH ao longo do tempo para as diferentes concentrações de solo e a comparação da evolução do pH nos reatores com mesma concentração de solo, onde apenas um deles recebeu a suspensão bacteriana. Ambas as figuras referem-se aos experimentos com *A. ferrooxidans*.

As Figuras 41 e 42 mostram, respectivamente, a evolução do pH ao longo do tempo para as diferentes concentrações de solo e a comparação da evolução do pH nos reatores com mesma concentração de solo, onde apenas um deles recebeu suspensão bacteriana. Ambas as figuras referem-se aos experimentos com *A. thiooxidans*.

O pH, tanto nos reatores do experimento com *A. ferrooxidans* quanto nos com *A. thiooxidans*, apresentou o mesmo comportamento observado no experimento nº 2, ou seja, a múltipla adição da suspensão bacteriana resultou em reduções cada vez menores no valor do pH.

A influência da concentração de solo na suspensão, submetida ao processo de biolixiviação, independente da espécie de *Acidithiobacillus sp* utilizada, é evidenciada nas Figuras 39 e 41.

Figura 39 - Evolução do pH ao longo do tempo durante o processo de biolixiviação com *A. ferrooxidans* – experimento nº 3.

Figura 40 – Comportamento do pH dos reatores com 300 g solo/L ao longo do tempo, com e sem a introdução de suspensão bacteriana de *A. ferrooxidans*.

Figura 41 - Evolução do pH ao longo do tempo durante o processo de biolixiviação com *A. thiooxidans* – experimento nº 3.

Figura 42 – Comportamento do pH dos reatores com 300 g solo/L ao longo do tempo, com e sem a introdução de suspensão bacteriana de *A. thiooxidans*.

O efeito da adição dos nutrientes é evidenciado na Figura 39, onde se pode observar uma abrupta redução no valor do pH do reator controle após a introdução dos mesmos. Nesta mesma figura, observou-se um decréscimo muito menor no valor do pH do reator com *A. ferrooxidans*, sendo que tal decréscimo deve-se ao efeito combinado dos nutrientes e do ácido presente na suspensão bacteriana. A razão deste menor decréscimo foi a dificuldade de reduzir o pH a valores abaixo de 2,0, característica intrínseca da amostra de solo utilizada no presente estudo.

As reações de hidrólise, o pH e as condições de óxido-redução são fatores que tendem a alterar, às vezes, sensivelmente, o equilíbrio das reações de dissolução/precipitação (CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001). Íons como fosfato, sulfato, sulfito e carbonato podem interferir nas relações de solubilidade dos elementos metálicos e formar precipitados pouco solúveis (STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998).

A maior parte dos metais divalentes forma fosfato com fórmula geral $M_3(PO_4)_2nH_2O$, onde M é o metal e n o número de moléculas de água. Em meio ácido, pode ocorrer a Reação 10 (CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001):

Além disso, os nutrientes utilizados no experimento nº 3 podem ter sofrido as seguintes reações de hidrólise:

a) Sulfato de magnésio:

b) Sulfato ferroso heptahidratado

A oxidação do Fe^{2+} pode ocorrer naturalmente na presença do ar ou ser catalisada biologicamente (SIENKO, 1974; CHARTIER; COUILLARD, 1997).

Já o Fe^{3+} sofre as seguintes reações com a água:

c) Sulfato de amônio

d) Ácido sulfúrico

O efeito dos nutrientes sobre o pH, embora evidente nos reatores do experimento com *A. ferrooxidans*, não pôde ser avaliado para os reatores do experimento com *A. thiooxidans*, pois estes não foram adicionados.

O prolongamento da duração do experimento nº 3 (em relação aos nº 1 e nº 2) possibilitou observar uma tendência de redução no valor do pH, comportamento este que pode ser constatado na Figura 39. Esta tendência de decréscimo no valor do pH pode sugerir um aumento da atividade bacteriana, pois ele somente pode ser explicado pela geração de H_2SO_4 pela atividade do *Acidithiobacillus sp.*

Este foi o primeiro experimento, onde foram executadas análises químicas do solo tratado e do lixiviado. A análise dos resultados permite concluir que houve algum tipo de erro nas determinações do elemento B, pois seus teores foram maiores no solo tratado do que no natural. A lixiviação do B dos frascos de vidro,

utilizados como reatores-testes, poderia explicar o maior teor deste elemento ao final do experimento. Entretanto, a pequena quantidade de solo utilizada não permitiu a repetição das determinações químicas. As Tabelas 25 e 26 mostram, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o lixiviado e o solo tratado produzidos ao final do experimento nº 3 com *A. ferrooxidans*.

Tabela 25 – Concentrações dos elementos químicos de interesse no lixiviado produzido ao final do experimento nº 3 com *A. ferrooxidans*.

Elemento	Concentração do elemento no lixiviado (mg/L)						
	Concentração de solo (g/L)						
	50	100	200	300	300 *	400	500
B	22,39	8,3	12,59	0,359	0,657	0,419	0,219
Pb	< 0,0043	< 0,0043	< 0,0043	< 0,0043	< 0,0043	< 0,0043	< 0,0043
Cd	< 0,0014	< 0,0014	< 0,0014	0,005	0,013	0,003	0,009
Zn	0,866	0,976	1,43	1,213	1,491	1,462	1,388

Nota:

* = Reator controle – não recebeu inóculo de *A. ferrooxidans*.

Tabela 26 – Teores dos elementos químicos de interesse no solo tratado produzido ao final do experimento nº 3 com *A. ferrooxidans*.

Elemento	solo natural	Teor do elemento (mg/kg)						
		Concentração de solo (g/L)						
		50	100	200	300	300*	400	500
B	55,82	187,6	94,3	108,15	20,3	54,9	15,65	14,9
Pb	23,2	15,85	17,4	16,8	21,65	23,15	22,3	23,75
P	384,75	669,65	554,4	550	424	384,75	408	372
Cd	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Zn	56,2	47,3	41,1	41,3	41,4	53,9	41,45	55,2
S	6600	29700	16250	20450	7200	6600	7400	6850
C	8100	16050	9800	9950	7550	7500	7300	7600
H	9125	8850	8900	10050	8400	8700	9200	7850
N	800	2900	1100	1200	1150	1000	900	950

Nota:

* = Reator controle – não recebeu inóculo de *A. ferrooxidans*.

As Tabelas 27 e 28 apresentam, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o lixiviado e o solo tratado produzidos ao final do experimento nº 3 com *A. thiooxidans*.

Os teores observados para os elementos Pb e Zn no solo da região dos lagos situaram-se muito abaixo dos limites legais vigentes (CETESB, 2005a) para prevenção de contaminação do solo, ou seja, 72 mg Pb/kg e 300 mg Zn/kg.

Oportuno citar que os valores de prevenção são inferiores aos fixados para intervenção, logo, a amostra de latossolo roxo utilizado neste experimento não é legalmente considerado contaminado, como já exposto anteriormente. Este foi o último experimento a utilizar o latossolo roxo, todos os executados posteriormente usaram o latossolo vermelho, que apresentava teores mais elevados dos elementos alvos.

A solubilização de cada elemento pode ser afetada pela concentração de solo na suspensão, pois quanto maior a quantidade de solo, maior poderá ser a concentração do elemento na fase líquida, a qual será limitada pelo produto de solubilidade das possíveis substâncias formadas por cada elemento nas mesmas condições físico-químicas.

Tabela 27 – Concentrações dos elementos químicos de interesse no lixiviado ao final do experimento nº 3 com *A. thiooxidans*.

Elemento	Concentração do elemento no lixiviado (mg/L)						
	Concentração de solo (g/L)						
	50	100	200	300	300 *	400	500
B	21,19	41,74	22,76	4,72	3,059	1,031	24,68
Pb	0,292	0,667	0,695	1,006	0,42	1,093	< 0,0043
Cd	< 0,0014	< 0,0014	0,003	0,005	0,01	0,006	< 0,0014
Zn	1,303	2,336	1,58	2,008	1,689	2,405	1,3

Nota:

* = Reator controle – não recebeu inóculo de *A. thiooxidans*.

Conforme mostram as Tabelas 26 e 28, a eficiência na remoção do Zn dependeu da concentração de solo na suspensão e atingiu valores máximos de 1,49 mg/L para o experimento com *A. ferrooxidans* (reator controle e teor de sólidos de 300 g/L).

A lixiviação biológica foi ligeiramente mais eficiente na remoção do Zn do que a lixiviação química. Entretanto, as reduzidas diferenças de eficiência de remoção obtidas pelos dois tipos de lixiviação não permitem afirmar conclusivamente qual dos processos foi mais eficiente.

Análogo ao obtido no experimento com *A. ferrooxidans*, a eficiência da biolixiviação com *A. thiooxidans* na remoção de metais foi dependente da concentração de solo na suspensão. Entretanto, o *A. thiooxidans* foi mais eficiente na remoção do Zn do que o *A. ferrooxidans*, pois se conseguiu a solubilização de 2,4 mg/L no reator com 400 g solo/L.

Tabela 28 – Teores dos elementos químicos de interesse no solo tratado ao final do experimento nº 3 com *A. thiooxidans*.

Elemento	solo natural	Teor do elemento (mg/kg)						
		Concentração de solo (g/L)						
		50*	100	200	300	300 **	400	500
B	55,82	-	210,65	157,65	62,7	56,75	28,75	10,55
Pb	23,2	-	15,05	19,3	21,8	23,25	21,7	25
P	384,75	-	651,15	516,7	479,2	316,55	476,2	436,65
Cd	< 0,1	-	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Zn	56,2	-	40,85	54,6	62,4	58,5	53,15	56,1
S	6600	-	42150	21350	15750	6900	19250	35450
C	8100	-	16950	10350	8800	8200	9200	5800
H	9125	-	12550	11600	9900	8850	10500	11750
N	800	-	1100	1750	800	600	1050	4850

Nota:

* = A massa final de solo do reator não foi suficiente para a realização das determinações químicas.

**= Reator controle – não recebeu inóculo de *A. thiooxidans*.

Os resultados fornecidos pelo experimento nº 3 mostram que houve solubilização parcial dos metais. A análise das eficiências de remoção dos elementos Pb e Zn, nos experimentos que utilizaram *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*, não permitiu identificar uma faixa ótima de teor de sólidos nem qual das duas espécies seria a mais eficiente para estes elementos.

Fato que merece citação é a eficiência de remoção obtida nos reatores controle, pois mesmo sem a presença do *Acidithiobacillus sp*, observou-se significativa eficiência de remoção para todos os elementos, se comparada à obtida nos reatores de mesmo teor de sólidos que receberam inóculos.

De modo geral, apesar da ocorrência da solubilização dos elementos, as eficiências de remoção foram baixas, em particular a do Pb, mesmo em meio estritamente ácido. Esta constatação suscitou questionamentos sobre os mecanismos envolvidos na solubilização dos elementos de interesse deste trabalho, especialmente o Pb.

O Pb, sob a forma Pb^{2+} , é a mais comum e é capaz de substituir os elementos Ca, Sr, Ba e K do solo. Sua velocidade de migração no solo é baixa, pois matéria orgânica e óxidos de ferro e alumínio possuem elevado potencial de adsorção, que resultam em sua retenção (MULLIGAN *et alii*, 2001). A pequena quantidade de matéria orgânica, presente no solo utilizado (0,81 %), não indica ser

esta uma importante fonte para complexação do Pb, já os óxidos de ferro e alumínio, ao contrário, estão presentes em expressiva quantidade (respectivamente 18,2 % e 22,8 %) e devem desempenhar um papel importante na retenção do Pb no solo.

Visto que os experimentos foram conduzidos em meio ácido, não é possível que o Pb tivesse precipitado sob a forma de hidróxido, carbonato, óxido ou fosfato, pois a precipitação de tais formas somente seria possível em condições alcalinas ($\text{pH} > 7$). Além disso, a dissolução destes precipitados metálicos é dependente do pH.

Caso o Pb estivesse presente no solo sob a forma de sulfeto, o mesmo seria utilizado como fonte de energia pelo *A. ferrooxidans*, e mesmo que nem todo o enxofre fosse utilizado durante o processo, este elemento seria liberado na solução, fenômeno este que não foi evidenciado em nenhum dos experimentos.

Outra possibilidade seria que o Pb estivesse adsorvido em óxidos hidratados de ferro e manganês, que sabidamente desempenham um papel importante na retenção de metais no solo. Todavia, esta possibilidade também pode ser descartada, pois a solubilidade de tais óxidos é dependente do pH e em um valor menor que 6,0, estes se dissolvem e liberam os íons metálicos neles adsorvidos para a solução (MCLEAN; BLEDSOE, 1992).

Em meio redutor, o Pb é pouco solúvel e bastante estável na forma de PbS (galena) e de PbSO_4 (anglesita). Em meio oxidante; $\text{pH} \geq 7$; o Pb ocorre como PbCO_3 (cerusita) (FETTER, 1993).

Segundo SILVA (2001), no sistema Pb-OH^- , à medida que o pH aumenta, há passagem, na solução, de Pb^{2+} para $[\text{Pb}(\text{OH})]^+$, sendo esta espécie predominante no intervalo de pH de 6 a 10. Em meio alcalino, há formação de $\text{Pb}(\text{OH})_2$, $[\text{Pb}(\text{OH})_3]^-$ e $[\text{Pb}(\text{OH})_4]^{2-}$, este predominante em $\text{pH} > 11,5$. O íon Cl^- pode ser um agente complexante importante, e competir com os compostos orgânicos. A especiação do sistema Pb-Cl^- é função da concentração de Cl^- , predominando Pb^{2+} em baixas concentrações. À medida que a concentração de Cl^- aumenta, são formados $[\text{PbCl}]^-$, PbCl_2 , $[\text{PbCl}_3]^-$ e $[\text{PbCl}_4]^-$ (ADRIANO, 1986).

Em solos não originários de rochas carbonáceas, a solubilidade do Pb pode ser regulada por $\text{Pb}(\text{OH})_2$, $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Pb}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ ou $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, dependendo do pH (ADRIANO, 1986).

Segundo PORTER *et alii* (2004), em pH elevado, os complexos de carbonato acentuam a tendência do mineral ser anfótero e, certamente, um sistema

com elevada concentração de íons cloreto ou fosfato pode resultar em um forte incremento na solubilidade do Pb, conduzindo à precipitação de formas mais estáveis deste elemento.

O PbS e PbSO₄ podem coexistir em equilíbrio em valor constante de $(\text{pH} + \text{pe}) = 5,055$. Virtualmente, todo o enxofre na solução destes dois minerais, na condição de equilíbrio, está sob a forma preferencial de sulfato e não de sulfeto. Se $(\text{pH} + \text{pe}) > 5,055$, então somente o PbSO₄ será estável, enquanto o PbS permanecerá sem oxidação abaixo de 5,055 (PORTER *et alii*, 2004).

A Tabela 29 mostra o produto de solubilidade para alguns sais de Pb e, as Figuras 43 e 44, o diagrama de fases para o sistema Pb-S-C-O-H e as principais espécies de Pb em função do pH, respectivamente.

Segundo a Figura 44, existem quinze espécies de chumbo, entretanto, apenas treze aparecem em quantidade suficiente para constar no gráfico. Destas, cinco são íons complexos de fosfato e cloreto, que em concentrações mais elevadas, pode aumentar a solubilidade substancialmente, mesmo quando estão presentes minerais de Pb muito insolúveis. Os dois complexos de carbonatos são importantes em pH elevado e forçam os minerais de Pb a terem um caráter anfótero (PORTER *et alii*, 2004).

Tabela 29 – Constantes do produto de solubilidade de sais de Pb.

Composto	PbCO ₃	PbCl ₂	Pb(OH) ₂	PbSO ₄	PbS
K _{sp}	$3,3 \times 10^{-14}$	$1,6 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-16}$	$1,6 \times 10^{-8}$	$7,0 \times 10^{-28}$

Fonte: EVANGELOU (1998).

Figura 43 – Diagrama Eh/pH para o Sistema Pb-S-C-O-H (25°C, 1 bar)
 Fonte: BROOKINS (1988).

Figura 44 – Hidroxipiromorfita ($\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) com anglesita (PbSO_4): atividades de importantes espécies de soluto de Pb versus pH. Fonte: PORTER *et alii* (2004).

5.3.4 Experimento nº 4

A Figura 45 mostra a curva de ajuste de pH da amostra de latossolo vermelho.

Figura 45 – Curva de ajuste de pH da amostra de latossolo vermelho.

As quantidades de ácido necessárias para se atingir os valores de pH de 2 a 7 do solo, mostradas na Figura 45, são de mesma ordem de grandeza que os obtidos por OLIVEIRA (2006), que conduziu investigação paralela a esta e utilizou o mesmo latossolo vermelho; conforme mostra a Figura 46.

Figura 46 – Consumo de ácido sulfúrico concentrado por quilo de solo seco.

Fonte: OLIVEIRA (2006).

OLIVEIRA (2006) avaliou a eficácia da remoção dos metais Pb e Zn através da lavagem do solo com os agentes oxidantes: ácido sulfúrico concentrado, peróxido de hidrogênio a 30% e solução de ácido clorídrico 0,1 M. Esta pesquisadora chegou as seguintes conclusões sobre sua investigação:

- ✓ A lixiviação do Pb com ácido sulfúrico não se mostrou eficiente, pois foi produzido sulfato de chumbo, cuja solubilidade em água é baixa. Por esta razão, a massa de chumbo do solo tratado com o ácido aumentou com o decréscimo de pH;
- ✓ Obteve-se remoção de Zn, através da lavagem do solo com ácido sulfúrico, de até 50%, sendo o teor remanescente igual a 117 mg/Kg, valor abaixo do limite de prevenção determinado pelo órgão de controle ambiental do Estado de São Paulo, que indica que houve alteração das condições naturais do solo, porém a adoção de medidas corretivas não é necessária;
- ✓ O consumo de ácido sulfúrico concentrado por quilo de solo tratado foi de 6,5 g;
- ✓ A oxidação da suspensão com peróxido de hidrogênio foi ineficaz na remoção de Pb e Zn, devido à transferência da massa dos metais da fase sólida para

os sólidos em suspensão da fase líquida. A quantidade da solução de peróxido de hidrogênio a 30% utilizada para tratamento do solo, conforme dosagens, esteve entre 151 gH₂O₂/Kg solo seco (dosagem 4,53%) e 1.666 g H₂O₂/Kg solo seco (dosagem 50%);

- ✓ A lixiviação dos metais do solo produzida pela solução de ácido clorídrico 0,1 M reduziu os teores de Pb e Zn em 15 e 10%, respectivamente, tendo sido consumido 196 g de HCl por quilo de solo tratado. Os teores remanescentes de chumbo e zinco, próximos de 806 mg Pb/Kg e 213 mg Zn/Kg, estão abaixo do limite estabelecido como valor de intervenção em áreas industriais, o que produziu a reclassificação da área de estudo como não contaminada.

A Figura 47 mostra o monitoramento do pH durante o experimento com *A. ferrooxidans*.

Reatores: Controle 1 - água de torneira + solo + H₂SO₄; Controle 2 - água de torneira + solo + substrato + H₂SO₄; R1, R2 e R3 - água de torneira + solo + substrato + H₂SO₄ + suspensão bacteriana de *A. ferrooxidans*.

Figura 47 – Variação do pH durante o experimento de biolixiviação nº 4 – reatores com *A. ferrooxidans*.

A Figura 47 mostra comportamentos distintos do pH nos reatores controles 1 e 2. O reator controle 2, cujo único diferencial em relação ao 1 foi ter recebido os nutrientes, apresentou contínua redução no valor do pH ao longo do tempo, fato que indica o efeito dos nutrientes sobre o processo de biolixiviação ou mesmo sua utilização por microrganismos indígenas do solo.

Os reatores R1, R2 e R3, que receberam inóculo de *A. ferrooxidans*, exibiram um pequeno efeito aditivo sobre a redução do pH em relação aos valores deste parâmetro registrados no reator Controle 2. Todavia, este efeito aditivo pode

estar relacionado à adição das células de *A. ferrooxidans* ou mesmo à solução ácida utilizada como veículo aquoso do inóculo (a suspensão bacteriana foi concentrada em 4 mL e adicionada aos reatores teste).

O efeito da adição de suspensão bacteriana sobre o pH foi relatado por CHARTIER; COUILLARD (1997), que observaram este mesmo fenômeno, acompanhado da elevação do potencial de óxido redução (POR), em seus experimentos e concluíram que ele deveu-se às condições ácidas da suspensão de *A. ferrooxidans*.

A Figura 48 mostra a evolução do pH ao longo do ensaio com *A. thiooxidans* nos reatores controles e testes.

Reatores: Controle 1- água de torneira + solo + H₂SO₄; Controle 2- água de torneira + solo + substrato + H₂SO₄; R1, R2 e R3 - água de torneira + solo + substrato + H₂SO₄ + suspensão bacteriana de *A. thiooxidans*.

Figura 48 – Variação do pH durante o experimento de biolixiviação nº 4 - reatores *A. thiooxidans*.

A Figura 48 mostra que o comportamento do pH ao longo do tempo nos reatores controles foi muito similar. Entretanto, o reator Controle 2, cujo único diferencial em relação ao 1 foi ter recebido nutrientes, apresentou uma leve tendência de redução no valor do pH a partir de 45 dias, fato que não atesta o efeito daqueles sobre o processo de biolixiviação, nem descarta sua utilização por microrganismos indígenas do solo.

Os reatores R1, R2 e R3, que receberam inóculo de *A. thiooxidans*, exibiram um efeito aditivo constante sobre a redução do pH, em relação aos valores deste parâmetro registrados nos reatores Controles 1 e 2. Todavia, este efeito aditivo estático descarta sua relação com a adição das células de *A. thiooxidans*, pois é evidente que se deveu à adição da solução ácida utilizada como veículo aquoso do

inóculo (a suspensão bacteriana foi concentrada em 4 mL e adicionada aos reatores teste).

As Figuras 49 e 50 mostram, respectivamente, a evolução das populações de bactérias heterotróficas nos experimentos com *A. ferrooxidans* e com *A. thiooxidans*.

Figura 49 – Evolução da população de bactérias heterotróficas durante o experimento nº 4 – reatores *A. ferrooxidans*.

A Figura 49 mostra que somente o reator Controle 1, que só recebeu o ácido, manteve uma população estável de bactérias heterotróficas. Todos os demais apresentaram uma tendência contínua de redução destas, que pode estar estritamente relacionada ao decréscimo do pH durante o experimento, pois este também é uma variável importante que afeta seu desenvolvimento (ALEF; NANNIPIERI, 1995; LORS; TIFFREAU; LABOUDIGUE, 2004).

A Figura 50 mostra que a densidade de bactérias heterotróficas se manteve estável apenas para o reator Controle 1 e apresentou tendência de redução para os demais reatores. Ao contrário do mostrado na Figura 49, não se observou um acentuado decréscimo na densidade de bactérias heterotróficas ao longo do tempo. Tal fato pode estar associado ao pH, que se manteve em 4,0, enquanto que no experimento com *A. ferrooxidans*, este valor alcançou 2,0 após 60 dias.

A contagem de bactérias heterotróficas nestes experimentos mostrou que o solo contaminado utilizado, embora tenha sido esterilizado, oferecia diferentes condições para o crescimento celular, as quais se mostraram estreitamente relacionadas ao nível de acidificação do meio e ao tempo de exposição submetido ao ambiente agressivo.

Figura 50 – Evolução da população de bactérias heterotróficas durante o experimento nº 4 – reatores *A. thiooxidans*.

As Figuras 51 e 52 mostram, respectivamente, a evolução das populações de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* nos reatores do experimento 4.

No ensaio com *A. ferrooxidans*, as populações nos reatores testes não apresentaram variação ao longo do tempo e permaneceram praticamente constantes. O contrário foi observado nos reatores testes inoculados com *A. thiooxidans*, onde a população apresentou tendência de redução.

Figura 51 – Evolução da população de *A. ferrooxidans* durante o experimento nº 4 – reatores *A. ferrooxidans*.

Figura 52 – Evolução da população de *A. thiooxidans* durante o experimento nº 4 – reatores *A. thiooxidans*.

Muitos fatores afetam o crescimento de microrganismos, todavia, admitindo que foram atendidas as condições necessárias para o desenvolvimento de ambas as espécies de *Acidithiobacillus sp*, notadamente: umidade, substrato e nutrientes disponíveis, temperatura e pH, era esperado que as populações destas espécies apresentassem o mesmo comportamento, o que não foi verificado. Uma hipótese que pode explicar tal observação é o maior tempo requerido para se adaptar a um novo meio e menor taxa de crescimento do *A. thiooxidans*, quando comparado ao *A. ferrooxidans* (CHARTIER; COUILLARD, 1997; BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN, 2001; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001; LORS; TIFFREAU; LABOUDIGUE, 2004).

Os experimentos nº 3 e nº 4 apresentam duas similaridades básicas: ambos receberam adição de suspensão bacteriana de *A. thiooxidans* e de nutrientes e tiveram duração de 60 dias. Portanto, era de se esperar que o pH de ambos os experimentos apresentasse o mesmo comportamento, particularmente o do reator do experimento nº 3 que utilizou a mesma concentração de solo empregada no de nº 4. Mas, não foi isso que ocorreu. A segunda adição de suspensão bacteriana e a maior massa de nutrientes adicionada no experimento nº 3 pode explicar a diferença de comportamento.

Em última análise, o experimento nº 4 sugeriu que houve adaptação do *A. ferrooxidans* ao latossolo vermelho e às condições operacionais impostas no reator, indicando que há a possibilidade de reprodução durante o processo de biolixiviação.

5.3.5 Experimento nº 5

As Figuras 53 e 54 mostram, respectivamente, o monitoramento do pH durante os experimentos com *A. ferrooxidans* e com *A. thiooxidans*. A Figura 53 mostra que o comportamento do pH nos reatores controles 1 e 2 foi distinto. Apenas o reator Controle 2, cujo único diferencial em relação ao 1 foi ter recebido nutrientes, apresentou redução contínua no valor do pH. Este fato coincide com as observações (experimento com *A. ferrooxidans*) do experimento nº 4 e corrobora a hipótese sobre o efeito dos nutrientes sobre o processo de biolixiviação ou mesmo sua utilização por microrganismos indígenas do solo.

Os reatores R1, R2 e R3, que receberam inóculo de *A. ferrooxidans*, não exibiram efeito aditivo significativo sobre a redução do pH em relação aos valores deste parâmetro registrados no reator Controle 2, até aproximadamente 30 dias. Após este período, há uma leve tendência ao decréscimo do pH, que pode estar associada à reprodução de *A. ferrooxidans*, hipótese sustentada pela densidade de organismos mostrada na Figura 57.

Reatores: Controle 1 - água de torneira + solo; Controle 2 - água de torneira + solo + substrato; R1, R2 e R3 - água de torneira + solo + substrato + suspensão bacteriana de *A. ferrooxidans*.

Figura 53 – Variação do pH durante o experimento de biolixiviação nº 5 - reatores *A. ferrooxidans*.

Reatores: Controle 1 - água de torneira + solo; Controle 2 - água de torneira + solo + substrato; R1, R2 e R3 água de torneira + solo + substrato + suspensão bacteriana de *A. thiooxidans*.

Figura 54 – Variação do pH durante o experimento de biolixiviação nº 5 - reatores *A. thiooxidans*.

A Figura 54 mostra que o comportamento do pH nos reatores controle apresentou significativa variação ao longo do tempo. Os reatores Controle 2 e R1 e R2 apresentaram comportamento similar em relação ao pH, embora apenas os dois últimos tenham recebido inóculo de *A. thiooxidans*. Entretanto, o reator R3, que

também recebeu inóculo de *A. thiooxidans* apresentou comportamento distinto dos reatores R1 e R2, fato que pode estar associado a erros de medida ou experimentais, pois a Figura 58 mostra que a evolução da densidade de *A. thiooxidans* foi praticamente idêntica para os três reatores teste.

As Figuras 55 e 56 mostram, respectivamente, a evolução das populações de bactérias heterotróficas nos experimentos com *A. ferrooxidans* e com *A. thiooxidans*.

A Figura 55 indica que, a exemplo do observado no experimento nº 4, houve uma tendência à redução drástica das bactérias heterotróficas. Esta redução parece estar ligada ao aumento da acidez do meio, decorrente da introdução do substrato FeSO_4 , pois apenas no reator Controle 1 (que não recebeu este nem os demais nutrientes), a população manteve-se relativamente estável.

Figura 55 – Evolução da população de bactérias heterotróficas durante o experimento nº 5 – reatores *A. ferrooxidans*.

Figura 56 – Evolução da população de bactérias heterotróficas durante o experimento nº 5 – reatores *A. thiooxidans*.

A exemplo do observado no experimento nº 4, a Figura 56 mostra que a população de bactérias heterotróficas se manteve estável no experimento com *A. thiooxidans*.

Considerando que os nutrientes utilizados nos experimentos com *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* foram os mesmos, exceto o FeSO_4 e o S^0 e que os reatores nos quais foi introduzido o S^0 não apresentaram significativa variação da população de bactérias heterotróficas (Figuras 50 e 56), é razoável considerar que a adição do FeSO_4 tenha exercido um forte efeito inibidor sobre tais microrganismos (Figuras 47 e 53). A inibição não ocorreria devido ao FeSO_4 em si, mas à acidificação do meio provocada por sua hidrólise e conseqüente liberação de íons H^+ na solução.

As Figuras 57 e 58 permitem visualizar, respectivamente, a evolução das populações de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* ao longo do experimento.

A Figura 57 mostra que a evolução da população de *A. ferrooxidans* apresentou uma pequena tendência de crescimento ao longo do tempo, ao contrário do que foi verificado com a população de *A. thiooxidans* (Figura 58). As Figuras 57 e 58 também mostram que não houve crescimento de *A. ferrooxidans* ou *A. thiooxidans* nos reatores controle, logo, é razoável admitir que o crescimento de ambas as espécies nos reatores teste deveu-se exclusivamente aos inóculos adicionados.

Figura 57 – Evolução da população de *A. ferrooxidans* durante o experimento nº 4 – reatores *A. ferrooxidans*.

Figura 58 – Evolução da população de *A. thiooxidans* durante o experimento nº 4 – reatores *A. thiooxidans*.

A adição de nutrientes e a baixa capacidade de tamponamento do solo utilizado nos experimentos nº 4 e nº 5 indicam que não há necessidade de correção prévia do pH, fato comprovado no experimento nº 5. A utilização de suspensão bacteriana, independente da espécie de *Acidithiobacillus sp* aqui pesquisada, sem qualquer tratamento prévio de purificação, também foi capaz de promover um abaixamento no valor do pH dos reatores teste.

Portanto, para solos com características similares ao utilizado no presente estudo, não há necessidade de acidificação inicial da suspensão de solo, pois a acidez decorrente da hidrólise dos nutrientes e a contida na própria suspensão bacteriana podem promover a correção do pH para valores menores do que 6,0 (CHARTIER; COUILLARD, 1997; BRANDL; BOSSHARD; WEGMANN, 2001; KREBS; BACHOFEN; BRANDL, 2001; ZAGURY; NARASIAH; TYAGI, 2001; LORS; TIFFREAU; LABOUDIGUE, 2004).

A acidificação inicial da suspensão de solo para pH aproximado de 4,5, seguida pela introdução de suspensão bacteriana sem purificação, resultou em todos os experimentos até aqui executados, em redução do pH para valores de 2,0 a 3,0.

5.3.6 Experimento nº 6

Considerando os resultados obtidos com *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans* nos ensaios anteriores, optou-se por utilizar apenas a última espécie neste e nos demais experimentos de biolixiviação.

A Figura 59 mostra a evolução do pH ao longo do tempo e a Tabela 30, os resultados das análises elementares realizadas com as amostras dos reatores no início e no final do experimento.

Todos os reatores, exceto o Controle, apresentaram comportamento idêntico quanto à variação do pH e possivelmente, apenas a adição dos nutrientes (fato comum a todos os demais reatores) foi responsável pelo abaixamento do pH para o valor de aproximadamente 2,0, a partir do qual, segundo a Figura 45, seria necessária uma grande quantidade de ácido para produzir uma redução mensurável no pH.

A variável tempo foi limitada a 30 dias neste e nos próximos experimentos de biolixiviação aqui reportados.

A lavagem e concentração da suspensão bacteriana utilizada como inóculo foi uma medida tomada para evitar a queda abrupta do pH no início do processo de biolixiviação, mas não funcionou, pois a massa de FeSO_4 utilizado promoveu a acidificação dos reatores; conforme demonstram as reações de hidrólise apresentadas no experimento nº 3 e o relato de CHARTIER; COUILLARD (1997).

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substratos; R2 - água + solo + substratos + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substratos + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.

Figura 59 – Variação do pH durante o experimento de biolixiviação nº 6.

Assim como nos experimentos reportados por estes pesquisadores, que avaliaram o efeito da adição de substratos e da suspensão bacteriana sobre o processo de biolixiviação, o uso de reator controle possibilitou uma comparação fidedigna entre os efeitos das diferentes variáveis sobre o solo natural e mostrou-se indispensável para aferir os resultados do processo de biolixiviação.

ZAGURY et *alii* (2001) não citam a utilização de um reator controle em seu experimento, empregando apenas substratos ou mesmo um outro agente extrator (particularmente o H_2SO_4) para comparação de resultados, ou seja, parte-se do princípio de que a biolixiviação ocorre e é o principal mecanismo de solubilização dos metais. Este pré-conceito pode não estar correto, pois os próprios autores reconheceram o efeito das condições iniciais do processo, ou seja, do pH, que face à ausência de um reator controle contendo apenas substratos, não permite determinar o tempo necessário para que o sistema atinja o equilíbrio.

Outro ponto a ser considerado no relato de ZAGURY et *alii* (2001) é a composição granulométrica do solo utilizado, que continha apenas 0,4 % de argila, indicando que os elementos Cu, Mn e Zn poderiam estar adsorvidos em outras frações do solo, sendo, neste caso, a dessorção do contaminante mais fácil (MCLEAN; BLEDSOE, 1992). Condição oposta é observada no presente trabalho, onde 57 % do solo é composto pela fração argila, portanto, de maior dificuldade de mobilização dos cátions nela adsorvidos.

Tabela 30 – Teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio no início e no final do processo de biolixiviação nº 6.

Tempo (dias)	C		H		N	
	0	30	0	30	0	30
Reator	Teores (g/kg)					
Controle	4,8	4,2	6,9	7,9	0,1	0,7
R1	4,2	3,6	5,9	4,9	0,3	2,2
R2	3,8	3,5	7,2	7,8	0,9	0,4
R3	6,7	4,5	8,8	5,2	1,0	1,4
R4	4,4	4,2	6,2	9,2	0,3	0,8

Antes de prosseguir, faz-se necessário esclarecer os motivos da não inclusão dos resultados obtidos para os elementos B e Cd na discussão. Esta omissão deve-se ao fato de o teor de B, determinado através dos métodos 3050b e

6010b (USEPA, 1996), apresentou enorme dispersão, variando de não detectável a 20 mg/kg para uma mesma amostra, não sendo, portanto, reprodutível.

Quanto ao Cd, em todos os experimentos, seu teor estava abaixo ou muito próximo do limite de detecção do método analítico utilizado, peculiaridade que reduz a confiabilidade dos resultados obtidos.

Os resultados das determinações dos elementos B, Cd, P, Pb, S e Zn no solo tratado e no lixiviado encontram-se no Apêndice A. A avaliação do processo de biolixiviação foi realizada com base na massa dos elementos de interesse nas fases sólida e líquida.

As Figuras 60 e 61 e, 62 e 63 mostram, respectivamente, as concentrações na fase líquida e o teor na fase sólida do Pb e do Zn.

Para possibilitar a avaliação da influência de cada uma das substâncias adicionadas à suspensão de solo na solubilização dos elementos Pb e Zn, foram calculadas as diferenças entre as remoções obtidas em cada um dos reatores. Assim, a solubilização no Controle deveu-se ao efeito da água; a diferença entre os resultados obtidos para o Controle e o R1 representa o efeito dos substratos; a diferença entre a solubilização alcançada em R2 e a obtida em R1 indica o efeito do H_2SO_4 e a diferença entre a solubilização alcançada em R3 e R4 em relação a R2 é devido ao efeito do *A. ferrooxidans*.

Figura 60 – Concentração do Pb na fase líquida durante o experimento de biolixiviação nº 6.

Figura 61 – Teor do Pb remanescente na fase sólida durante o experimento de biolixiviação nº 6.

A presença de *A.ferrooxidans* indígena não pôde ter sua contribuição mensurada, logo, seu efeito sobre a solubilização dos elementos alvo desta pesquisa foi computada em conjunto com o dos substratos.

As Figuras 64 e 65 evidenciam o efeito inquestionável dos substratos e, provavelmente, do *A. ferrooxidans* indígena do solo, sobre a solubilização dos elementos Pb e Zn. Os valores negativos do percentual de solubilização, constantes nestas figuras, referem-se estritamente às diferenças entre os percentuais de solubilização observados naqueles reatores em relação ao reator utilizado como referencial. No caso do Pb, é provável que tenha ocorrido sua precipitação como $PbSO_4$.

Figura 62 – Concentração do Zn na fase líquida durante o experimento de biolixiviação nº 6.

Figura 63 – Teor do Zn remanescente na fase sólida durante o experimento de biolixiviação nº 6.

O elemento Pb, principal contaminante no solo em estudo, apresentou solubilização desprezível. O mesmo comportamento foi observado e reportado por OLIVEIRA (2006), que não encontrou evidências de que a acidificação da suspensão deste mesmo latossolo vermelho mais água resultasse em transferência do Pb da fase sólida para a líquida, ao invés disso, relatou a tendência ao aumento do teor de Pb no solo em $\text{pH} < 6,0$. A hipótese considerada por OLIVEIRA (2006) para explicar tal fenômeno, foi a formação e a precipitação de PbSO_4 , tal hipótese é compartilhada na presente pesquisa e é amparada pela discussão do comportamento do Pb já apresentada no item 5.3.3.

Segundo a literatura (MCLEAN; BLEDSOE, 1992; STUMM, 1992; EVANGELOU, 1998), o pH afeta direta ou indiretamente diversos mecanismos de retenção dos metais no solo. A adsorção de espécies catiônicas aumenta com o pH do solo, embora tal aumento possa não ser significativo até um valor igual a 7,0. Segundo MCLEAN e BLEDSOE (1992), a dependência do pH das reações de adsorção de metais catiônicos é devida, ao menos em parte, à adsorção preferencial das espécies metálicas hidrolisadas em relação ao íon metálico livre, sendo que a proporção de espécies hidrolisadas do metal aumenta com o pH.

Os cátions em solução na água se comportam como ácidos de Lewis, ou seja, tendem a aceitar elétrons. Por outro lado, a água apresenta um comportamento de uma base de Lewis. Uma forte interação entre H_2O e o metal permite à molécula de água se dissociar, então, o valor do pH é reduzido. O grau de dissociação de um cátion (M^{n+}) em meio aquoso é descrito pela Reação 23 (EVANGELOU, 1998):

Segundo BARROW *et alli* (1981), em solução aquosa, os íons metálicos hidratados sofrem reações que podem ser representadas por:

Em soluções concentradas e em pH elevado, pode ocorrer a formação de várias espécies poliméricas hidrolisadas, logo, outros produtos além dos mencionadas anteriormente são possíveis. Entretanto, em soluções diluídas e em pH moderado, as reações supracitadas são importantes.

Outro efeito da redução do pH é a competição de cátions pelos sítios de troca permanentes ocupados por Al^{3+} e H^+ (MCLEAN e BLEDSOE 1992).

A Figura 65 mostra que a solubilização do Zn decorreu, principalmente, do efeito dos substratos, mas que também houve efeito aditivo do *A. ferrooxidans*. Ao contrário do que foi observado com o chumbo, o efeito dos substratos sobre a solubilização do Zn foi crescente ao longo do tempo, o que demonstra a participação da biolixiviação no processo, embora não seja possível determinar se tal fenômeno esteve relacionado com a contribuição dos *A. ferrooxidans* indígenas ou de outra espécie presente no solo.

A Tabela 31 mostra as principais reações que ocorrem na superfície de solos, segundo STUMM (1992).

Tabela 31 – Principais reações que ocorrem nas superfícies de solos.

Equilíbrio ácido-base	
$\text{S-OH} + \text{H}^+$	$\leftrightarrow \text{S-OH}_2^+$
$\text{S-OH} (+\text{OH}^-)$	$\leftrightarrow \text{S-OH}^- (+\text{H}_2\text{O})$
Ligação com metal (M)	
$\text{S-OH} + \text{M}^{z+}$	$\leftrightarrow \text{S-OM}^{(z-1)+} + \text{H}^+$
$2 \text{S-OH} + \text{M}^{z+}$	$\leftrightarrow (\text{S-O})_2\text{M}^{(z-2)+} + 2 \text{H}^+$
$\text{S-OH} + \text{M}^{z+} + \text{H}_2\text{O}$	$\leftrightarrow \text{S-OMOH}^{(z-2)+} + 2 \text{H}^+$
Troca de ligantes (L^-)	
$\text{S-OH} + \text{L}^-$	$\leftrightarrow \text{S-L} + \text{OH}^-$
$2\text{S-OH} + \text{L}^-$	$\leftrightarrow \text{S}_2\text{-L}^+ + 2 \text{OH}^-$
Formação de complexo ternário	
$\text{S-OH} + \text{L}^- + \text{M}^{z+}$	$\leftrightarrow \text{S-L-M}^{z+} + \text{OH}^-$
$\text{S-OH} + \text{L}^- + \text{M}^{z+}$	$\leftrightarrow \text{S-OM-L}^{(z-2)+} + \text{H}^+$

Fonte: STUMM (1992).

Figura 64 – Efeito dos substratos, do H_2SO_4 e do *A. ferrooxidans* na solubilização do elemento Pb durante o experimento nº 6.

Figura 65 – Efeito dos substratos, do H_2SO_4 e do *A. ferrooxidans* na solubilização do elemento Zn durante o experimento nº 6.

Segundo ALLOWAY (2004), o Zn ocorre no solo sob as seguintes formas:

- Íons livres (Zn^{2+} e $ZnOH^+$) e complexos orgânicos na solução do solo;
- Adsorvido e trocável na superfície da fração de material coloidal do solo, que inclui: argila, compostos húmicos e óxidos hidratados de ferro e alumínio;
- Minerais secundários e compostos insolúveis na fase sólida do solo.

A distribuição do Zn nestas formas é controlada por constantes de equilíbrio das reações correspondentes nas quais o elemento está envolvido. Tais reações incluem: precipitação e dissolução; complexação e descomplexação; adsorção e dessorção.

A Figura 67 mostra o equilíbrio químico entre o Zn e os principais constituintes do solo, onde: A é um ânion, L é um ligante orgânico e HA é ácido húmico. Os principais parâmetros que controlam as interações do Zn são (ALLOWAY, 2004):

- ✓ A concentração do Zn^{2+} e outros íons na solução do solo;
- ✓ O tipo e a quantidade de sítios de adsorção associados com a fase sólida do solo;
- ✓ A concentração de todos os ligantes capazes de formar complexos orgânicos com o Zn;
- ✓ O pH e o potencial redox do solo.

Segundo KIEKENS (1995), o Zn no solo pode sofrer a seguinte reação:

Com $\log k^0 = 5,8$ que pode ser expresso como $\log \text{Zn}^{2+} = 5,8 - 2\text{pH}$ ou $\text{pZn} = 2\text{pH} - 5,8$.

Conforme a Reação 27, a atividade do Zn^{2+} no solo é diretamente proporcional ao quadrado da atividade do próton. Conseqüentemente, sua solubilidade aumenta com o decréscimo no valor do pH.

As solubilidades de diversos minerais de Zn decrescem na seguinte ordem:

Zn(OH)_2 amorfo $> \alpha\text{-Zn(OH)}_2 > \beta\text{-Zn(OH)}_2 > \gamma\text{-Zn(OH)}_2 > \varepsilon\text{-Zn(OH)}_2 > \text{ZnCO}_3 > \text{ZnO} > \text{Zn(PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} > \text{Zn adsorvido no solo} > \text{ZnFe}_2\text{O}_4$. Todos os minerais de Zn(OH)_2 , ZnO e ZnCO_3 são aproximadamente 10^{15} vezes mais solúveis do que o zinco adsorvido no solo (ALLOWAY, 2004).

O pH controla a especiação do Zn na solução do solo: em $\text{pH} < 7,7$, a espécie Zn^{2+} predomina; em $\text{pH} > 7,7$ o Zn(OH)^+ é a espécie predominante e, em $\text{pH} > 9,11$, é o Zn(OH)_2 que predomina. Em $\text{pH} = 5,0$, a atividade do Zn^{2+} é de 10^{-4} M (6,5 mg/L), mas em $\text{pH} = 8$ é de apenas 10^{-10} M (0,007 $\mu\text{g/L}$) (ALLOWAY, 2004).

Figura 66 – Diagrama Eh/pH para o sistema Zn-O-H-S-C (25 °C, 1 bar).
Fonte: BROOKINS (1988).

Figura 67 – Equilíbrio químico entre Zn e componentes do solo.
Fonte: KIEKENS (1995) apud ALLOWAY (2004).

OLIVEIRA (2006) também investigou a solubilização de Zn neste mesmo latossolo mediante a adição de H_2SO_4 e concluiu que houve a formação de $ZnSO_4$ e a subsequente liberação do íon Zn^{2+} . Embora a pesquisadora não tenha executado a especiação do Zn no solo bruto, ela admitiu que este elemento em $pH = 8$ e em ambiente oxidado pudesse estar presente sob as formas de hidróxidos ($Zn(OH)_2$),

carbonatos (ZnCO_3) e óxidos (ZnO e ZnO_2), conforme mostra a Figura 65, que foram solubilizadas durante a acidificação do meio.

Finalmente, o comportamento observado na solubilização do Zn ocorreu conforme previsto na literatura (KIEKENS, 1995; ALLOWAY, 2004); foi compatível com os resultados obtidos por OLIVEIRA (2006) e idêntico ao reportado por CHARTIER; COUILLARD (1997); que também associou sua solubilização à adição do FeSO_4 utilizado como substrato e à atividade do *A. ferrooxidans*.

Em síntese, a solubilização dos elementos Pb e Zn decorreu principalmente da redução do pH devido à adição dos substratos $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KCl, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. As bactérias *A. ferrooxidans* indígenas e as introduzidas proporcionaram aumento de solubilização no processo de biolixiviação, que pôde ser notado apenas na solubilização do Zn. As eficiências de solubilização obtidas foram distintas para cada um dos elementos avaliados, o que pode ser atribuído às propriedades e às formas químicas que cada um destes elementos se apresentava no solo estudado.

Os resultados das análises microbiológicas realizadas neste experimento encontram-se no Apêndice A. As Figuras 68 e 69 mostram, respectivamente, a evolução das populações de bactérias heterotróficas e de *A. ferrooxidans* ao longo do tempo.

Figura 68 – Evolução da população de bactérias heterotróficas durante o experimento nº 6.

Ao contrário do observado nos experimentos nº 4 e nº 5, onde o solo foi previamente esterilizado, não ocorreu um processo de redução drástica de bactérias heterotróficas e, embora tenha se verificado uma pequena redução de suas populações, ficou evidente que tais microrganismos se adaptaram às novas

condições, o que pôde ser constatado pela tendência de crescimento ao longo do tempo.

Neste experimento, a contagem de células de *A. ferrooxidans* foi executada mediante contagem direta em microscópio, conforme metodologia descrita no item 4.6 e através da técnica de tubos múltiplos (CETESB, 1991).

Nota:

NMP – quantificação de células obtida mediante emprego da técnica de tubos múltiplos.

Neubauer – quantificação de células obtida mediante contagem direta em microscópio.

Figura 69 – Evolução da população de *A. ferrooxidans* durante o experimento nº 6.

Estes ensaios permitiram uma conclusão fundamental: para o solo utilizado não havia necessidade de adição de inóculo. Pois, houve crescimento de *A. ferrooxidans* nos reatores R1 e R2, que não haviam recebido inóculo, fato não observado nos experimentos nº 4 e nº 5 (que utilizaram solo esterilizado em autoclave), ou seja, a microbiota natural do solo incluía bactérias *A. ferrooxidans*, que se multiplicaram após a introdução dos substratos e também atuaram no processo de biolixiviação.

A possibilidade de ter havido contaminação dos reatores controle (R1 e R2) é possível, mas remota, visto que foram tomadas medidas para minimizar tal risco, que incluíram:

- Utilização de tampas nos reatores: foi mantido apenas um orifício para a passagem do eixo do agitador;
- Lavagem múltipla do eletrodo e do sensor de temperatura do potenciômetro antes de cada medição: água destilada + solução de 2,5% de hipoclorito de sódio + água destilada.

O conhecimento da população inicial de *A. ferrooxidans*, inoculada nos reatores teste, é fator chave para delimitar a quantidade de diluições necessárias

para cada análise. A elevada duração da determinação do NMP (18 ± 3 dias) e a quantidade de diluições utilizadas (3 a 8) são fatores que limitaram a aplicação desta técnica para períodos de tempo menores que 10 dias.

A Figura 70 mostra que houve pequena variação da população microbiana durante o experimento, o que já era esperado em função dos resultados obtidos nas contagens de bactérias heterotróficas de *A. ferrooxidans*. Os resultados fornecidos pelo DAPI serviram para validar os fornecidos pelas outras duas análises microbiológicas.

Figura 70 – Evolução do número total de células microbianas (medidas pelo DAPI) durante o experimento nº 6.

5.3.7 Experimento nº 7

A oxidação do íon Fe^{2+} ; resultante da reação de hidrólise do FeSO_4 ; para Fe^{3+} pode ocorrer naturalmente na presença de O_2 do ar ou ser biologicamente catalisada, conforme as reações já apresentadas no item 5.3.3..

Segundo CHARTIER; COUILLARD (1997), em $\text{pH} < 3,5$ e na ausência de bactéria, o íon Fe^{2+} é estável e a lixiviação devida ao íon Fe^{3+} é lenta. O *A. ferrooxidans* é capaz de oxidar o Fe^{2+} para Fe^{3+} em taxas de 5×10^5 a 1×10^6 vezes mais rápidas se comparadas às obtidas na ausência desta bactéria (CHARTIER; COUILLARD, 1997; HERBERT JR, 1999). Em pH igual a 7,0, o Fe^{2+} é quimicamente instável e é rapidamente oxidado para Fe^{3+} , que precipita como hidróxido e produz um rebaixamento do pH , conforme as Reações 12 a 19 do item 5.3.3.

Logo, a adição de FeSO_4 resulta na redução do pH devido a formação do $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e na conseqüente liberação de íons H^+ , o equilíbrio de tal reação química é praticamente alcançado em $\text{pH} = 3,5$, abaixo do qual a oxidação do Fe^{2+} é lenta na ausência de algum fator que catalise tal reação.

A Tabela 32 mostra os íons produzidos pela adição do FeSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e do H_2SO_4 nos reatores. Assim como reportado no item 5.3.6, as massas destes íons foram determinadas segundo as reações apresentadas no item 5.3.3. A comparação entre a concentração total de íons H^+ , resultante da adição conjunta destes reagentes, em relação àquela decorrente da adição do H_2SO_4 utilizado para ajuste de pH (Figura 45), evidencia que nem todo o íon Fe^{2+} foi oxidado para Fe^{3+} .

Segundo os dados da curva de ajuste de pH do solo (Figura 45), referente à mesma concentração de solo do experimento nº 7, haveria necessidade da adição de 0,126 mol ou 0,127 g de H^+ para que o pH nos reatores R1, R2, R3 e R4 fosse reduzido de 7,8 para aproximadamente 2,0. Entretanto, a massa máxima possível de H^+ ; caso ocorresse a completa oxidação química do íon Fe^{2+} ; seria igual a 0,57 mol H^+ (0,58 g) nos reatores R1, R2, R3 e R4, o que permitiria que o pH fosse reduzido a valor próximo de 1,0, fato que não aconteceu.

CHARTIER; COUILLARD (1997) reportaram que, em seus experimentos, a oxidação química do Fe^{2+} para Fe^{3+} ocorreu nas primeiras vinte horas e que após este período e em $\text{pH} < 3,5$, somente a oxidação catalisada por algum microrganismo, admitida por estes autores como sendo linhagens indígenas de *Thiobacilli sp*, poderia explicar a oxidação do Fe^{2+} para Fe^{3+} e a conseqüente redução do pH para valores menores que 3,5.

Portanto, como mostra a Figura 71, o $\text{pH} = 3,5$ foi alcançado nas primeiras vinte e quatro horas do experimento; fato que condiz com as observações de CHARTIER; COUILLARD (1997); logo, é lícito admitir que sua redução deveu-se à liberação adicional de íons H^+ , iniciada pela oxidação do Fe^{2+} catalisada por atividade microbiológica.

O pH apresentou comportamento idêntico ao do experimento nº 6, ou seja, os valores observados nos reatores que não receberam inóculo de *A. ferrooxidans* (R1 e R2) foram praticamente coincidentes com os que receberam o inóculo (R3 e R4).

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substrato + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.

Figura 71 – Variação do pH ao longo tempo no experimento nº 7.

Tabela 32 - Massa teórica máxima de íons liberados nos reatores, resultantes das reações de dissociação e solubilização dos reagentes FeSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e H_2SO_4 .

SO_4^{2-} (g)		HSO_4^- (g)		$\text{Fe}(\text{OH})_3$ (g)		H^+ (g)	
R1 a R4	R1a R4	R1a R4	R1a R4	R1a R4	R1	R2	R3
48,89	1,84			47,60	0,58	0,60	0,60
							0,60

Nota: Não foi adicionado nenhum dos reagentes no reator Controle.

A Tabela 33 mostra os resultados das análises elementares realizadas com as amostras dos reatores no início e no final do sétimo experimento de biolixiviação.

Os resultados das determinações dos elementos B, Cd, P, Pb, S e Zn do solo tratado e do lixiviado encontram-se no Apêndice A. As Figuras 72 e 73 e 74 e 75 mostram, respectivamente, as concentrações na fase líquida e os teores na fase sólida do Pb e do Zn.

As Figuras 76 e 76 permitem a visualização, respectivamente, das frações dos elementos Pb e Zn, que foram solubilizadas pela lixiviação química e biológica. Visto que persistiram os erros analíticos na determinação dos elementos B e Cd, optou-se por não apresentar a representação gráfica de seus resultados.

As Figuras 74, 75 e 77 evidenciam, assim como no experimento nº 6, o efeito do substrato na fase inicial, somado à atividade de microrganismos indígenas, provavelmente *A. ferrooxidans*. A solubilização do Pb foi desprezível.

Ao contrário do que foi observado para o Pb, o efeito do substrato sobre a solubilização do Zn foi crescente ao longo do tempo, assim como registrado no experimento nº 6, fato que corrobora a tese da contribuição do *A. ferrooxidans* indígena do solo.

Tabela 33 – Teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio no início e no final do experimento nº 7.

Tempo (dias)	C		H		N	
	0	30	0	30	0	30
Reator	Teores (g/kg)					
Controle	5,4	5,8	5,3	7,1	0,6	0,7
R1	4,1	3,3	5,2	5,7	1,1	0,6
R2	6,0	3,4	5,8	5,3	0,1	0,9
R3	4,7	3,6	5,9	5,2	0,3	0,5
R4	3,4	4,2	6,0	6,6	2,0	0,7

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H₂SO₄; R3 e R4 - água + solo + substrato + H₂SO₄ + suspensão bacteriana.

Figura 72 – Concentração do Pb na fase líquida durante o experimento de biolixiviação nº 7.

Embora o arranjo experimental utilizado não permita mensurar com rigor o efeito dos microrganismos indígenas sobre conjunto dos experimentos executados, é possível afirmar, com base nos resultados obtidos, que coincidem com as observações de CHARTIER; COUILLARD (1997), que a solubilização do Zn devida ao efeito químico ocorre nas primeiras horas do experimento. Logo, a solubilização após quarenta e oito horas – no máximo - do início experimento é resultante da redução do pH para valor menor que 3,5, que por sua vez é decorrente da oxidação biológica do Fe²⁺ para Fe³⁺ e da conseqüente liberação de íons H⁺ durante a formação e precipitação do Fe(OH)₃.

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substrato + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.
 Figura 73 – Teor do Pb remanescente na fase sólida durante o experimento de biolixiviação nº 7.

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substrato + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.

Figura 74 – Concentração do Zn na fase líquida durante o experimento de biolixiviação nº 7.

Portanto, é razoável considerar que a solubilização obtida nos experimentos ora reportados, após o décimo dia, deveu-se à atividade de *A. ferrooxidans* indígenas do solo, visto que os reatores que receberam o inóculo de *A. ferrooxidans* cultivados não propiciaram nenhum efeito aditivo.

Em síntese, assim como foi observado no experimento nº 6, a solubilização dos elementos Pb e Zn decorreu essencialmente da adição do substrato $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KCl, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, especialmente deste último, e do efeito dos *A. ferrooxidans* indígenas do solo.

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substrato + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.
 Figura 75 – Teor do Zn remanescente na fase sólida durante o experimento de biolixiviação nº 7.

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substrato + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.
 Figura 76 – Efeito do substrato, do H_2SO_4 e do *A. ferrooxidans* na solubilização do elemento Pb durante o experimento nº 7.

Comparando os resultados obtidos neste experimento com o nº 6, verifica-se que a redução da concentração de solo na suspensão traduziu-se em acréscimo na solubilização do Zn. Quanto ao elemento Pb, sua solubilização com os agentes lixiviantes utilizados, não foi afetada pela variação da concentração de solo na suspensão e manteve-se desprezível.

Os resultados das análises microbiológicas do experimento nº 7 podem ser consultados no Apêndice A. As Figuras 78, 79 e 80 mostram, respectivamente, a evolução das populações de bactérias heterotróficas, *A. ferrooxidans* e do número total de células microbianas ao longo do tempo.

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substrato + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.

Figura 77 – Efeito do substrato, do H_2SO_4 e do *A. ferrooxidans* na solubilização do elemento Zn durante o experimento nº 7.

O experimento de biolixiviação nº 7 diferiu do nº 6 apenas pela concentração de solo, que foi reduzida de 430 g/L para 250 g/L. A variação das populações de bactérias heterotróficas e de *A. ferrooxidans* observadas neste experimento apresentaram tendências similares de redução e crescimento daquelas observadas no experimento nº 6.

Figura 78 – Evolução da população de bactérias heterotróficas durante o experimento nº 7.

Figura 79 – Evolução da população de bactérias *A. ferrooxidans* durante o experimento nº 7.

Figura 80 – Evolução do número total de microrganismos durante o experimento nº 7.

5.3.8 Experimento nº 8

Este experimento foi executado com a mesma concentração de solo utilizada no nº 7, mas apresentou três diferenças: o inóculo foi concentrado em 40 mL (ao invés de 10 mL como nos experimentos nº 6 e nº 7), a composição do substrato foi modificada (não foram adicionados: KCl; K_2HPO_4 ; $MgSO_4$ e $Ca(NO_3)_2$), a massa de $(NH_4)_2SO_4$ foi aumentada de 8,4 g para 9,6 g e reduzida a de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ de 123,8 g para 16 g.

Observou-se nos experimentos nº 6 e nº 7 que a adição dos reagentes utilizados como substrato provocou a queda do pH para valores de aproximadamente 2,0 em virtude da adição, particularmente do FeSO_4 , conforme já discutido nos itens 5.3.6 e 5.3.7.

As modificações quanto ao suprimento de substratos foram introduzidas para reduzir o efeito destes sobre o pH e, deste modo, possibilitar uma avaliação mais precisa e acurada do processo de biolixiviação, além de permitir a comparação dos resultados com aqueles obtidos por ZAGURY *et alii* (2001), que utilizaram 5 g/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 3 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Já, o objetivo do aumento do volume do inóculo foi o de permitir um maior contato entre as bactérias e os contaminantes do solo.

A Figura 81 mostra que as alterações no suprimento de substrato surtiram os efeitos desejados, ou seja, o pH inicial manteve-se acima de 2,0, todavia, todos os reatores apresentaram comportamento similar em relação a este parâmetro e os reatores que receberam o inóculo de *A. ferrooxidans* (R3 e R4) não atingiram valores menores de pH.

A Tabela 34 mostra os íons produzidos pela adição do FeSO_4 , do $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e do H_2SO_4 nos reatores. Assim como reportado nos itens 5.3.6 e 5.3.7, as massas destes íons foram determinadas segundo as reações apresentadas no item 5.3.3. A comparação entre a concentração total de íons H^+ , resultante da adição conjunta destes reagentes, em relação ao decorrente da adição do H_2SO_4 utilizado para o ajuste de pH (Figura 45), evidencia, novamente, que nem todo o íon Fe^{2+} foi oxidado para Fe^{3+} .

Tabela 34 - Massa teórica máxima de íons liberados nos reatores, resultantes das reações de dissociação e solubilização dos reagentes FeSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e H_2SO_4 .

SO ₄ ²⁻ (g)		HSO ₄ ⁻ (g)		Fe(OH) ₃ (g)		H ⁺ (g)	
R1 a R4	R1a R4	R1a R4	R1	R2	R3	R4	
12,51	1,84	6,15	0,2	0,22	0,22	0,22	

Nota: Não foi adicionado nenhum dos reagentes no reator Controle.

A adição do inóculo não produziu efeito aditivo sobre a solubilização do Pb. Embora tenha havido incremento de sua solubilização em relação ao experimento nº 7, o valor absoluto da solubilização obtida foi irrisório (aproximadamente 2 %). A solubilização do Zn foi menos afetada pela redução de substrato e nos reatores que

receberam inóculo (R3 e R4) observou-se um efeito aditivo médio de 5,3 % em relação ao reator R2, que não recebeu o inóculo.

Reatores: Controle - água + solo; R1 - água + solo + substrato; R2 - água + solo + substrato + H_2SO_4 ; R3 e R4 - água + solo + substrato + H_2SO_4 + suspensão bacteriana.

Figura 81 – Variação do pH ao longo do tempo no experimento nº 8.

A Tabela 35 indica os resultados das análises elementares realizadas com as amostras dos reatores no início e no final deste experimento de biolixiviação. Os resultados das determinações dos elementos B, Cd, P, Pb, S e Zn do solo tratado e do lixiviado encontram-se no Apêndice A. As Figuras 82 e 83 e 84 e 85 mostram, respectivamente, as concentrações na fase líquida e o teor na fase sólida do Pb e do Zn.

Tabela 35 – Teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio no início e no final do processo de biolixiviação nº 8.

Tempo (dias)	C		H		N	
	0	30	0	30	0	30
Reator	Teores (g/kg)					
Controle	4,2	5,0	6,6	6,3	0,9	0,5
R1	4,6	3,9	5,7	6,5	1,1	2,2
R2	4,4	4,2	4,8	7,0	0,1	2,1
R3	3,9	4,2	5,0	5,4	0,3	2,5
R4	4,1	4,2	5,2	5,2	2,0	1,0

As Figuras 86 e 87 mostram, respectivamente, as frações dos elementos Pb e Zn, que foram solubilizadas pela lixiviação química e biológica.

Figura 82 – Concentração do Pb na fase líquida durante o experimento de biolixiviação nº 8.

Figura 83 – Teor do Pb remanescente na fase sólida durante o experimento de biolixiviação nº 8.

Figura 84 – Concentração do Zn na fase líquida durante o experimento de biolixiviação nº 8.

Figura 85 – Teor do Zn remanescente na fase sólida durante o experimento de biolixiviação nº 8.

Figura 86 - Efeito do substrato, do H_2SO_4 e do *A. ferrooxidans* na solubilização do elemento Pb durante o experimento nº 8.

Figura 87 - Efeito do substrato, do H_2SO_4 e do *A. ferrooxidans* na solubilização do elemento Zn durante o experimento nº 8.

Os resultados das análises microbiológicas do experimento nº 8 estão apresentados no Apêndice A. As Figuras 88 e 89 mostram, respectivamente, a

evolução das populações de bactérias heterotróficas e *A. ferrooxidans* ao longo do tempo.

Figura 88 – Evolução da população de bactérias heterotróficas durante o experimento de biolixiviação nº 8.

Os resultados dos experimentos microbiológicos indicam o mesmo comportamento das populações bacterianas verificado nos experimentos de biolixiviação nº 6 e nº 7, exceto pela redução da quantidade de substrato, que reduziu o crescimento da população de *A. ferrooxidans* indígenas (R1 e R2).

Enquanto a população de *A. ferrooxidans* indígenas atingiu 7 logs no reator R1 do experimento nº 7, que utilizou a mesma concentração de solo e menor quantidade de reagentes como substrato, neste experimento, não atingiu sequer 4 logs.

Importante ressaltar que, para o latossolo vermelho utilizado e as condições experimentais desta pesquisa, o *A. ferrooxidans* não se mostrou capaz de manter uma população estável sem a adição externa de substrato; conforme evidencia o comportamento do pH e o monitoramento da população do reator Controle, mostrado nas Figuras 81 e 89.

O tempo de exposição de 30 dias mostrou ser suficiente para determinar que o *A. ferrooxidans* não tem capacidade de obter do solo os nutrientes necessários para manter suas funções vitais, e evidenciou a impossibilidade de sua utilização (sem adição de substrato) em processos de biolixiviação neste, e possivelmente, noutros solos que exibam características similares.

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados permitiram retratar o comportamento das populações de *A. ferrooxidans*, que via de regra, apresentaram declínio após sua introdução nos reatores, seguida por uma fase de crescimento e,

finalmente, a redução da população, sendo estas últimas mais ou menos intensas, dependendo da quantidade de reagentes adicionados como substrato em cada experimento.

Figura 89 – Evolução da população de bactérias *A. ferrooxidans* durante o experimento de biolixiviação nº 8.

O monitoramento das populações de bactérias heterotróficas, através da determinação de UFC, mostrou-se de fácil execução, embora tenha demandado a utilização de várias diluições em cada análise, pois eram grandes as incertezas quanto ao tamanho das populações durante os experimentos.

É importante ressaltar que a metodologia empregada para determinação da UFC é um indicativo grosseiro da população de bactérias heterotróficas, pois é raro conseguir quantificar 50% destes microrganismos através desta metodologia, sendo que, em média é contabilizada apenas 10% daquela população (ALEF; NANNIPIERI, 1995).

São diversas as causas que afetam a precisão do método de contagem de bactérias em placa, mas dentre as mais importantes estão o meio nutritivo utilizado (ágar), que pode não atender as necessidades nutricionais de todas as espécies de bactérias presentes na amostra em análise e a fração de células viáveis dentro da população que se pretende quantificar, pois apenas as células que apresentam condições vitais e fisiológicas adequadas crescem e multiplicam-se.

A despeito do elevado nível de incerteza, intrínseco ao método empregado, as populações de bactérias heterotróficas exibiram um comportamento similar em todos os experimentos nos quais foram monitoradas. Em suma, houve redução

acentuada da população logo após o início dos experimentos, seguida por uma fase de estabilização e posterior crescimento. Ficou evidente que estas não foram extintas em nenhum dos experimentos, tendo-se adaptado às condições ambientais extremamente agressivas durante o processo de biolixiviação.

Portanto, é lícito afirmar que, para as condições experimentais aqui relatadas, a microbiota natural do solo é afetada pelo processo de biolixiviação, mas tem plenas condições de se adaptar e sobreviver. Todavia, este trabalho não avaliou, pois não era de seu escopo, as conseqüências do processo de biolixiviação sobre cada uma das espécies, denominadas neste trabalho genericamente por bactérias heterotróficas.

6 CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos concluiu-se que as máximas solubilizações dos elementos Pb e Zn ocorreram sob as seguintes condições:

- a) Pb: temperatura de $30,2 \pm 1,3$ ($^{\circ}\text{C}$) , agitação de 205 ± 4 (rpm), concentração de solo de 210 g / L, adição de nutrientes (38,7 g FeSO_4 / L, 2,6 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ / L, 87,5 mg KCl / L, 0,44 g K_2HPO_4 ; 0,44 g mg SO_4 / L e 8,75 mg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ / L), adição de 10 mL de inóculo de *A. ferrooxidans* ($1,31 \times 10^{10} \pm 8,16 \times 10^8$ células /mL), pH inicial = 4,7 e pH final = 4,7 no instante inicial. A solubilização obtida nesta condição atingiu 17,7 mg Pb, que representou 2,61% da quantidade total deste elemento no reator teste.
- b) Zn: temperatura de $30 \pm 1,6$, ($^{\circ}\text{C}$) agitação de 174 ± 9 (rpm), concentração de solo de 400 g / L, adição de nutrientes (38,7 g FeSO_4 / L, 2,6 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ / L, 87,5 mg KCl / L, 0,44 g K_2HPO_4 ; 0,44 g MgSO_4 / L e 8,75 mg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ / L), adição de 10 mL de inóculo de *A. ferrooxidans* ($7,96 \times 10^8 \pm 2,24 \times 10^8$ células /mL), pH inicial = 4,61 e pH final = 2,01 em 30 dias. A solubilização obtida nesta condição atingiu 131,77 mg Zn, que representou 58,61% da quantidade total deste elemento no reator teste.

A biolixiviação funcionou apenas na solubilização do Zn, embora a lixiviação química tenha sido a principal responsável pela solubilização deste elemento. Para as condições investigadas não haveria necessidade de adicionar inóculo de *A. ferrooxidans*. A redução do teor de solo na suspensão melhorou a eficiência da solubilização dos metais.

As populações de *A. ferrooxidans* apresentaram declínio após sua introdução nos reatores, seguido por uma fase de crescimento e, novamente por uma fase de redução, sendo esta última mais ou menos intensa e dependente da quantidade de reagentes adicionados como substrato em cada um dos experimentos.

O pH altera a microbiota natural do solo, cujo efeito foi revelado pelo monitoramento das populações de bactérias heterotróficas, que mostrou uma fase de redução acentuada destas populações; logo após o início dos experimentos; seguida por uma fase de estabilização e posterior crescimento. As bactérias

heterotróficas não foram extintas em nenhum dos experimentos, pois se adaptaram às condições ambientais extremamente agressivas do meio durante o processo de biolixiviação.

Os resultados obtidos nesta pesquisa indicam que a biolixiviação não é uma tecnologia adequada para ser aplicada na remediação do solo da Região dos Lagos de Santa Gertrudes.

Entretanto, para situações onde o objetivo técnico do processo de remediação seja a imobilização do Pb, a utilização de sulfatos solúveis, para a obtenção de sulfato de chumbo, é uma solução tecnicamente eficaz e eficiente, pois observou-se que o sulfato de chumbo é formado e precipita rapidamente.

REFERÊNCIAS

ADRIANO, D.C. **Trace elements in terrestrial environment**. New York: Springer-Verlag, 1986. 533 p.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Nickel**: CAS#: 7440-02-0. Atlanta: ATSDR, 1997. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts15.html>>. Acesso em: 20 jul. 2006.

_____. **Cadmium**: CAS#: 7440-43-9. Atlanta: ATSDR, 1999a. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts5.html>>. Acesso em: 20 jul. 2006.

_____. **Lead**: CAS#: 7439-92-1. Atlanta: ATSDR, 1999b. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts13.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2006.

ALLCHIN, D. **The poisoning of minamata**. ShiPS Resource Center. 11 jan. 2002. Disponível em: <<http://www1.umn.edu/ships/ethics/minamata.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2006.

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1995. 512 p.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. 2nd ed. New York: Blackie Academic & Professional, 1995. 368 p.

ALLOWAY, B. J. Zinc in soils and crop nutrition. brussels. **International Zinc Association**, Brussels, Belgium, p. 11-21, 2004.

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION RESEARCH FOUNDATION. Lyonnaise Des Eaux. Water Research Comission of South Africa. **Water treatment membrane processes**. New York: MacGraw-Hill, 1996. 1 v.

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. American Society of Civil Engineers. 3. ed. **Water treatment plant design**. New York: MacGraw-Hill, 1998. 806 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6508**: grãos de solos que passam na peneira de 4,8 mm: determinação da massa específica. Rio de Janeiro, 1984a.

_____. **NBR7181**: solo: análise granulométrica. Rio de Janeiro, 1984b.

_____. **NBR 6457**: amostras de solo: preparação para ensaios de compactação e ensaios de caracterização. Rio de Janeiro, 1986.

ASSOCIAÇÃO PAULISTA DAS CERÂMICAS DE REVESTIMENTO. Santa Gertrudes, SP. Disponível em: <www.aspacer.com.br>. Acesso em: 21. set. 2005.

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial ecology**: fundamentals and applications. 4. ed. Menlo Park, California: Addison Wesley Longman, 1997.

BAE, W.; CHEN, W.; MULCHANDANI, A.; MEHRA, R.. Enhanced bioaccumulation of heavy metals by bacterial cells displaying synthetic phytochelatins. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 70, n. 5, p. 518-524, 2000.

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO. A indústria de cerâmica para revestimentos. **Informe setorial**, Rio de Janeiro, n. 17, set. 2001. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/conhecimento/setorial/is17_gs2.pdf>. Acesso em: 25 set. 2006.

BARBA, D.; BEOLCHINI, F.; VEGLIÒ, F. A simulation study on biosorption of heavy metals by confined biomass in UFrMF membrane reactors. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, p. 89-99, 2001.

BEYERSMANN, D. Effects of carcinogenic metals on gene expression. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 127, p. 63-68, 2002.

BOHN, H. L.; MCNEAL, B. L.; O'CONNOR, G. A. **Soil chemistry**. 2nd ed. New York: Wiley, 1985. 341 p.

BOON, M.; RAS, C.; HEIJNEN, J. J. The ferrous iron oxidation kinetics of *Thiobacillus ferrooxidans* in batch cultures. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlim, v. 51, p. 813-819, 1999.

BOON, M.; MEEDER, T. A.; THÖNE, C.; RAS, C.; HEIJNEN, J. J. The ferrous iron oxidation kinetics of *Thiobacillus ferrooxidans* in continuous cultures. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlim, v. 51, p. 820-826, 1999.

BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 20, p. 591-604, 1997.

BOSSHARD, P. P.; BACHOFEN, R.; BRANDL, H. Metal leaching from fly ash from municipal waste incineration by *Aspergillus niger*. **Environmental science & technology**, Easton, v.30, p. 3066-3070, 1996.

BOYES, S.; ELLIOTT, M. Case study - heavy metals (mercury): minamata disease. In: **CHEMGAPEDIA**. Berlin: Fiz Chemie Berlin, 2006. Disponível em: <<http://www.chemgapedia.de/vsengine/printvlu/vsc/en/ch/16/uc/vlus/mecury.vlu.ht>>. Acesso em: 20 ago. 2006.

BRANDL, H. Microbial leaching of metals. In: REHM, H. J.; REED, G. (Ed.). **Biotechnology**: a multi-volume comprehensive treatise. 2nd ed. New York: VCH, 2001. v. 10, p.191-224.

BRANDL, H.; BOSSHARD, R.; WEGMANN, M. Computer-munching microbes: metal leaching from electronic scrap by bacteria and fungi. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v.59, p.319-326, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigisolo**: identificação de populações sob risco de exposição e priorização de áreas com populações expostas a solo contaminado. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/svs/visualizar_texto.cfm?idtxt=23900>. Acesso em: 30 jul. 2006.

BROOKINS, D.G. **Eh-pH diagrams for geochemistry**. Berlin: Springer-Verlag, 1988. 176 p.

BROMBACHER, C.; BACHOFEN, R.; BRANDL, H. Development of a laboratory-scale leaching plant for metal extraction from fly ash by *Thiobacillus* strains. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 64, p. 1237-1341, 1998.

_____. Microbial metal recovery from industrial waste. In: WORLD CONGRESS R'99, 4. 1999. Genebra, Suíça. **Recovery, Recycling, Re-integration**. Genebra, Suíça: Swiss Federal Laboratories for Materials Testing and Research (EMPA), 1999.

BUSANI, G.; PALMONARI, C.; TIMELLINI, G. **Piastrelle ceramiche & ambiente**: emissioni gassose, acque, fanghi, rumore. Sassuolo, Pt: EdiCer, 1995.

CAMARGO, O. C.; ALLEONI, L. R. F.; CASAGRANDE, J. C. Reações dos nutrientes e elementos tóxicos no solo. In: FERREIRA, M. E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. v. 1, p. 89-124.

CARIDADE, M. D.; TORKOMIAN, A. L. V. Estratégias de produção das empresas cerâmicas de Santa Gertrudes. **Cerâmica Industrial**, São Paulo, v.6, n.1, p. 32-39, jan.-fev. 2001.

CARVALHO, F. M.; SILVANY NETO, A. M.; LIMA, M. E. C.; TAVARES, T. M.; AZARO, M. G. A.; QUAGLIA, G. M. C.. Chumbo e cádmio no sangue e estado nutricional de crianças, Bahia, Brasil. **Revista Saúde pública**, São Paulo, 21: 44-50, 1987.

CARVALHO, F. M.; SILVANY NETO, A. M.; TAVARES, T. M.; COSTA, A. C. A.; CHAVES, C. R.; NASCIMENTO, L. D.; REIS, M. A.. Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica / Pan American Journal Public Health**. 13(1), 2003.

CENTRO DE ESTUDO E PLANEJAMENTO AMBIENTAL. **Atlas digital da bacia do Rio Corumbataí**. Disponível em: <<http://www.rc.unesp.br/igce/ceapla/atlas/index.html>>. Acesso em: 22 set. 2006.

CHARTIER, M.; COUILLARD, D. Biological processes: the effects of initial pH, percentage inoculum and nutrient enrichment on the solubilization of sediment bound metals. **Water, air, & soil pollution: an international journal of environmental pollution**, Dordrecht, v.96, p. 249-267, 1997.

CICCU, R.; GHIANI, M.; SERCI, M.; FADDA, S.; PERETTI, R.; ZUCCA, A.. Heavy metal immobilization in the mining-contaminated soils using various industrial wastes. **Mineral Engineering**, Amsterdam, v. 16, p. 187-192, 2003.

COLORADO SCHOOL OF MINES. **Thiobacillus ferrooxidans**. 2003. Disponível em: <http://www.mines.edu/fs_home/jhoran/ch126/thiobaci.htm>. Acesso em: 25 set. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Norma técnica nº L6.350**: solos: determinação de biodegradação de resíduos: método respirométrico de Bartha - Método de ensaio. São Paulo: Cetesb, 1990. 15 p.

_____. **Norma técnica nº L5.217: *Thiobacillus***: determinação do número mais provável pela técnica dos tubos múltiplos: método de ensaio. São Paulo: Cetesb, 1991. 13 p.

_____. **Norma técnica nº L5.201**: contagem de bactérias heterotróficas: (método de ensaio). São Paulo: Cetesb, 1996.

_____. **Parecer técnico nº 34/01/EQSS**: diagnóstico da qualidade do solo e águas subterrâneas. São Paulo: Cetesb, 2001a. Relatório interno.

_____. **Projeto piloto de prevenção à poluição (P2) nas indústrias cerâmicas de região de Santa Gertrudes**: informações sobre o desenvolvimento do projeto. São Paulo: Cetesb, 2001b. Relatório interno.

_____. **Plano de intervenção da região dos lagos de Santa Gertrudes**. São Paulo: CETESB, 2001c. Relatório interno.

_____. **Projeto de prevenção à poluição em indústria de piso e revestimento cerâmico**. São Paulo: Cetesb, 2002a. Relatório interno.

_____. **Projeto Corumbataí cerâmicas**: informação técnica. São Paulo: Cetesb, 2002b. Relatório interno.

_____. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. 2005a. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2006.

_____. **Áreas contaminadas no Estado de São Paulo**. 2005b. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/relacao_areas.asp>. Acesso em: 14 jul. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB); DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR TECHNISCHE ZUSAMMENARBEIT (GTZ). 2 ed.. **Manual de Gerenciamento de áreas contaminadas**. São Paulo: CETESB. 2001. 389 p.

DANA, J. D. **Manual de mineralogia**. Tradução Rui Ribeiro Franco. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico; São Paulo: EDUSP, 1969. v. 1.

DERMATAS, D.; MENG, X. Utilization of fly ash for stabilization/solidification of heavy metal contaminated soils. **Engineering Geology**, Amsterdam, v. 70, p. 377-394, 2003.

DOBLER, R.; BURRI P., GRUIZ K.; BRANDL, H.; BACHOFEN, R.. Variability in microbial populations in soil highly polluted with heavy metals on the basis of substrate utilization pattern analysis. **Journal of Soils and Sediments**, Landsberg, v. 1, n. 3, p. 151-158, 2001.

DVORAK, D. H.; HEDIN, R. S.; EDENBORN, H. M.; MCINTIRE, P. E.. Treatment of metal-contaminated water using sulfate reduction: results from pilot-scale reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 40, p. 609-616, 1992.

ESPOSITO, A.; PAGNALELLI, F.; LODI, A.; SOLISIO, C.; VEGLIÒ, F.. Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: an equilibrium study at different pH and biomass concentrations. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 60, p. 129-141, 2001.

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY. **Technical report nº 13/1999**: management of contaminated sites in western Europe. Copenhagen: EEA, 2000.

EVANGELOU, V. P. **Environmental soil and water chemistry**: principles and applications. New York: Wiley, 1998. 564 p.

FAUST, S. D.; ALY, O. M. **Chemistry of water treatment**. 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1999. 581 p.

FEDERAL REMEDIATION TECHNOLOGIES ROUNDTABLE. **Abstracts of remediation case studies**: EPA-542-R-00-006. 2000. v. 4. Disponível em: <<http://www.epa.gov/tio/download/frtr/abstractsvol4.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2006.

_____. **Abstracts of remediation case studies**: EPA-542-R-01-008. 2001. v. 5. Disponível em: <<http://www.epa.gov/tio/download/frtr/abstractsvol5.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2006.

_____. **Abstracts of remediation case studies**: EPA-542-R-02-006. 2002. v. 6. Disponível em: <<http://www.epa.gov/tio/download/frtr/abstractsvol6.pdf>>. Acesso em: 08 set. 2003.

FERRARI, K. R. **Aspectos ambientais do processo de fabricação de placas de revestimentos cerâmicos (via úmida), com ênfase nos efluentes líquidos**. 2000.

166 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energética e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FRANÇA, R. G. **Redução de metais pesados em lodo de esgoto por meio do processo de biolixiviação visando a produção agrícola**. 2003. 134 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

FREEMAN, H. M.; HARRIS, E. F. (Ed.). **Hazardous waste remediation**: innovative treatment technologies. Lancaster: Technomic, 1995. 342 p.

FORD, D. L. (Ed.). **Toxicity reduction**: evaluation and control. Lancaster, Pensilvania: Technomic Publishing Company, 1992. v. 3.

GANDOLFI, N.; BJONBERG, A. J. S.; PARAGUASSU, A. B. **Geologia para engenheiros civis**. São Carlos: EESC-USP, 1999. 141 p.

GARCIA JR, O. Isolation and purification of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* from some coal and uranium mines of Brazil. **Revista de microbiologia**, São Paulo, v. 22, p. 1-6, 1991.

GENÇ, Ö.; ARPA, C.; BAYRAMOGLU, G.; ARICA, M. Y.; BEKTAS, S.. Selective recovery of mercury by Procion Brown MX 5BR immobilized poly(hydroxyethylmethacrylate/chitosan) composite membranes. **Hidrometallurgy**, Amsterdam, v. 67, n.1, p. 53-62, 2002.

GEO-INF. **Avaliação de área contaminada para fins de cubagem, em Santa Gertrudes, SP**. São Paulo: GEO-INF, 2002. Relatório Técnico GEO-INF 025/2002.

GROUDEV, S. N.; GEORGIEV, P. S.; SPASOVA, I. I.; KOMNITSAS, K.. Bioremediation of a soil contaminated with radioactive elements. **Hidrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, p. 311-318, 2001.

GROUDEV, S. N.; SPASOVA, I. I.; GEORGIEV, P. S. In situ bioremediation of soils contaminated with radioactive elements and toxic heavy metals. **Hidrometallurgy**, Amsterdam, v. 62, p. 301-308, 2001.

HAAS, C. N.; VAMOS, R. J. **Hazardous and industrial waste treatment**. Englewood Cliffs, N .J.: Prentice Hall, c1995. 363 p.

HERBERT JR., R. B. **MiMi - sulfide oxidation in mine waste deposits**: a review with emphasis on dysoxic weathering. Stockholm: Department of Geology and Geochemistry, Stockholm University, 1999. 51 p. Disponível em: <http://www.mistra.org/download/18.c791f4103209a06ec80005685/1999_1.pdf>. Acesso em: 25 set. 2006.

HIRATA, A.Y. **Caracterização do material dragado do Rio Tietê e avaliação de sua utilização na construção civil**. 1997. 137 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

HONG, K. J.; TOKUNAGA, S.; TAJUUCHI, T. Evaluation of remediation process with biosurfactant for recovery of heavy metal from contaminated soils. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 49, p. 379-387, 2002.

HUANG, J. P.; HUANG, C. P.; MOREHART, A. L. Removal of heavy metals by fungal. In: VERNET, J.-P. **Heavy metals in the environment**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 329-349. (Trace metals in the environment; 1)

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **Cadmium**: environmental health criteria 134. Geneva: United Nations Environment Programme, International Labour Organization, World Health Organization, 1992.

KELLY, D. P.; WOOD, A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, UK, v. 50, p. 511-516, 2000.

KIEKENS, L. Zinc. In: ALLOWAY, B.J. (Ed) **Heavy metals in soils**. 2nd ed. London: Blackie Academic and Professional, 1995. p. 284 – 305.

KING. R. B.; LONG, G. M.; SHELDON, J. K. **Practical environmental bioremediation**: the field guide. 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1998. 184 p.

KLICH, I.; BATCHELOR, B.; WILDING, L. P. PRESS, L. R.. Mineralogical alterations that affect the durability and metal containment of aged solidified and stabilized wastes. **Cement and concrete research**, Amsterdam, v. 29, p. 1433-1440, 1999.

KREBS, W.; BROMBACHER, C.; BOSSHARD, P.P.; BACHOFEN, R.; BRANDL H.. Microbial recovery of metals from solids. **FEMS Microbiological Reviews**, Amsterdam, v. 20, p. 605-617, 1997.

KREBS, W.; BACHOFEN, R.; BRANDL, H. Growth stimulation of sulfur oxidizing bacteria for optimization of metal leaching efficiency of fly ash from municipal solid waste incineration. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, p. 283-290, 2001.

KUYUCAK, N.; LYEN, D.; ST-GERMAIN, P.; WHEELAND, K. G.. In Site Bacterial treatment of acid mine drainage in open pits. In: **2nd International Conference on the Abatement of Acid Drainage**, Montreal, 1991.

LaGREGA, M. D.; BUCKINGHAM, P. L.; EVANS, J. C. **Hazardous waste management**. New York: McGraw-Hill, c1994. 1146 p.

LAL, R.; STEWART, B. A. (Ed.). **Soil processes and water quality**: advances in soil science. Boca Raton, FL: Lewis Publishers, c1994. 398 p.

LIN, C. F.; LO, S. S.; LIN, H. Y.; LEE, Y.. Stabilization of cadmium contaminated soils using sytethized zeolite. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v. 60, p. 217-226, 1998.

LIZAMA, H. M.; SUZUKI, I. Interaction of chalcopyrite and sphalerite with pyrite during leaching by *T. ferrooxidans* and *T. thiooxidans*. **Canadian Journal of Microbiology**, Toronto, v. 37, p. 304-311, 1991.

LLOYD, J. R. Bioremediation of metals; the application of micro-organisms that make and break minerals. **Microbiology Today**, Reading, UK, v. 29, p. 67-69, 2002.

LORS, C.; TIFFREAU, C.; LABOUDIGUE, A. Effects of bacterial activities on the release of heavy metals from contaminated dredged sediments. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 56, p. 619-630, 2004.

MATTIGOD, S. V.; SPOSITO, G.; PAGE, A. L. Factors affecting the solubilities of trace metals in soils. In: BAKER, D. E. (Ed.). **Chemistry in the soil environment**. Madison: American Society of Agronomy, 1981. 259 p. (Special Publication; n. 40).

MAZONI, P.; CUIUMJIAN, R. M.. **Poluição por chumbo em Santo Amaro da Purificação**. Brasília: Instituto para o Desenvolvimento Ambiental. 08 de julho de 2002. Relatório.

MCLEAN, J. E.; BLEDSOE, B. E. **Behavior of metals in soil**. In: USEPA, office of solid waste an emergency response and office of research and development.

Washington DC: Ground Water Issue, 1992. 540-S92-018. Disponível em: <<http://www.epa.gov/swertio1/tsp/download/issue14.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2006.

MEUNIER, N.; BLAIS, J. F.; TYAGI, R. D. Selection of a natural sorbent to remove toxic metals from acidic leachate produced during soil decontamination. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 67, p. 19-30, 2002.

MONFORT, E.; ENRIQUE, J. E.; GAZULLA, M. F.; BALSCO, A.. Caracterización de residuos de la industria azulejera. Barcelona: Publica S.A.. **Técnica cerámica: revista de los materiales, equipos y técnicas de fabricación de la cerámica industrial**, v. 1994, n. 222, p 238-246, 1994.

MORAIS, M. R.; SICHIERI, E. P. Reciclagem de resíduos cerâmicos: porque, quando e como fazer.. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CERÂMICA, 46. São Carlos. 2002. **Anais...** São Paulo : Associação Brasileira de Cerâmica, 2002. ref. 18-17.

MORAIS, M. R.; SICHIERI, E. P.; PAWLICKA, A. Identificação e classificação de amostras de resíduos sólidos das indústrias de revestimentos cerâmicos do pólo de Santa Gertrudes – SP. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS, 3. São Carlos. 2000. **Programa e resumos**. São Carlos: USP, 2000. p. 51-52.

MORITA, D. M. Situação ambiental do Estado de São Paulo e necessidades de pesquisa. In: ENCONTRO SOBRE APLICAÇÕES AMBIENTAIS DE PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS, 1. 2001. Águas de São Pedro. [**Trabalhos apresentados**]. Águas de São Pedro: Degussa/UNICAMP, 2001.

MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBBS, B. F. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. **Engineering Geology**, Amsterdam, v. 60, p. 193-207, 2001.

NOGAMI, J. S.; VILLIBOR, D. F. **Pavimentação de baixo custo com solos lateríticos**. São Paulo: Villibor, 1995. 213 p.

OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT. **Technologies and management strategies for hazardous waste control**. Washington, D.C.: Congress of the United States, 1983.

OLIVEIRA, L. P. **Tratabilidade de solos tropicais contaminados por resíduos da indústria de revestimentos cerâmicos**. 2006. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

ORLOV, M. M.; MLADINIĆ, N. M.; KULIĆ, P. I. DOLINAC, D. Z.; DUBRAVČIĆ, M. N.; KURAJICA, L. B.. Health effects of the workers exposed to airborne lead. In: VERNET, J. P. **Heavy metals in the environment**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 219-227.

PAGE, G. W. **Contaminated sites and environmental cleanup**: international approaches to prevention, remediation and reuse. San Diego: Academic Press, 1997. 212 p.

PAREKH, B. S. **Reverse osmosis technology**: applications for high-purity-water production. New York: M. Dekker, 1988. 516 p.

PARKER, S. P. **McGraw-Hill concise encyclopedia of science & technology**. New York: McGraw-Hill, 1992. 2241 p.

PATRIARCA, M.; MENDITTO, A.; ROSSI, B.; LYON, T. D. B.; FELL, G. S.. Environmental exposure to metals of newborns, infants and young children. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 67, p. 351-361, 2000.

PORTER, K. G.; FEIG, Y. S. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. **Limnology and Oceanography**, Grafton,WIS, v. 25, n. 5, p. 943-948, 1980.

PORTER, S. K.; SCHECKEL, K. G.; IMPELLITTERI, C. A.; RYAN, J. A.. Toxic metals in the environment: thermodynamic considerations for possible immobilization strategies for Pb, Cd, As, and Hg. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Boca Raton, n. 34, p. 495-604, 2004.

QUÍMICA **QMCWEB**: revista eletrônica da UFSC. Florianópolis: UFSC, v. 4, 2006. Disponível em: <http://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/forças_intermoleculares.html>. Acesso em: 01 mar. 2006.

RIVETT; M. O.; PETTS, J.; BUTLER, B.; MARTIN, I... Remediation of contaminated soil and groundwater: experience in enland and wales. **Journal of Enviromental Management**, Amsterdam, v. 65, p. 251-268, 2002.

ROOTE, D. S. **In situ flushing**: technology overview report TO-97-02. Pittsburgh: Ground-water remediation technologies analysis center, 1997.

ROULIER, M.; RYAN, J.; HOUTHOOFD, J.; PAHREN, H.; CUSTER, F.. In place treatment of contaminated soil at superfund sites: a review. In: ANNUAL RESEARCH SYMPOSIUM, 15., 1989, Cincinnati. **Remedial action, treatment and disposal of hazardous waste**: proceedings. Cincinnati: [s.n.], 1989.

RUSSEL, M.; COLGLAZIER, E.; ENGLISH, M. **Hazardous waste remediation**: the task ahead. Knowville: Waste Management Research and Education Institute, 1991.

SAND, W.; GEHRKE, T.; JOZSA, P. G.; SCHIPPERS, A.. (Bio)chemistry of bacterial leaching: direct vs indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, p. 159-175, 2001.

SÃO PAULO (ESTADO). Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Projeto Corumbataí Cerâmicas. **Negociação de conflitos ambientais com a participação dos setores envolvidos**: uma experiência com o pólo cerâmico de Santa Gertrudes e reigão. São Paulo: [s.n.], 2003. 21 p. Síntese das ações.

SCHNOOR, J. L.. Phytoremediation of soil and groundwater. **Technology evaluation report TE-02-01**. Pittsburgh: Ground-water remediation technologies analysis center, 2002.

SIENKO, M. J.; PLANE, R. A. Química. In: GIESBRECHT, E.; MENNUCCI, L.; GIESBRECHT, M. A. (Trad). **Química**. 4. ed. São Paulo: Nacional, 1974. 540 p.

SILVA, A. L. B. **Caracterização ambiental e estudo do comportamento do chumbo, zinco e boro em área degradada por indústrias cerâmicas – região dos lagos de Santa Gertrudes, SP**. 2001. 229 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SILVERMAN, M. P.; LUNDGREN, D. G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterian *Ferrobacillus ferrooxidans*: an improved medium and a harvesting procedure for security high cell yields. **Journal of Bacteriology**, Baltimore,MD, n. 77, p. 642-647, 1959.

SOARES, S. R. **Análise do ciclo de vida de produtos (revestimento, blocos e telhas) do setor cerâmico da construção civil**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Engenharia Sanitária-Ambiental, 2002. p. 40-41. Relatório parcial II/IV: Indústria cerâmica e o meio ambiente.

SPOSITO, G. The future of an illusion: ion activities in soil solutions. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 48, p. 451-531, 1984.

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1989. 277 p.

STEED, V. S.; SUIDAN, M. T.; GUPTA, M.; MIYAHARA, T.; ACHESON, C. M.; SAYLES, G. D.. Development of a sulfate-reducing biological process to remove heavy metals from acid mine drainage. **Water Environment Research**, Alexandria, VA, v. 72, n. 5, p. 530-535, 2000.

STOSS, F. W.; FABIAN, C. A. Love canal: reminder of why we celebrate earth day. **Issues in Science and Technology Librarianship**, Chicago, n. 26, 2000.

STUMM, W. **Chemistry of the solid-water interface**: processes at the mineral-water and particle-water interface in natural system. New York: Wiley, 1992. 428 p.

STURGES JR, S. G.; MCBETH JR, P.; PRATT, R. C. Performance of soil flushing and groundwater extraction at the United Chrome Superfund site. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 29, p. 59-78, 1991.

TAN, K.H. **Principles of soil chemistry**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1993. 361 p.

THE SOCIETY FOR APLLIED ANTHROPOLOGY. **Case study one**: love canal superfund site. Niagara Falls, New York. Draft. SFAA Project, Townsend, March, 2001.

THE TRADE & ENVIRONMENTAL DATABASE. **TED case studies**: minamata disaster, v. 5, n. 1, 1996.

TRIBUTSCH, H. Direct versus indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, p. 177-185, 2001.

TUOVINEN, O. H.; KELLY, D. P. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*: use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable number and comparison CO₂ fixation and iron oxidation as measures of growth. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, n. 88, p. 285-298, 1973.

TÜRKDOĞAN, M. K.; KILICEL, F.; KARA, K.; TUNCER, I.; UYGAN, I.. Heavy metals in soil, vegetable and fruits the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. **Environental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 13, p. 175-179, 2002.

UMBREIT, W. W.; ANDERSON, T. F. A study of *Thiobacillus thiooxidans* with the electron microscope. **Journal of bacteriology**, Baltimore, MD, v. 44, n. 3, p. 317-320, sept. 1942.

UNITED STATES ARMY ENVIRONMENTAL CENTER. **In situ electrokinetic remediation for metal contaminated soils**. 2003a. Disponível em: <<http://aec.army.mil/usaec/technology/cleanup04a.html>>. Acesso em: 29 set. 2003.

_____. **Phytoremediation of lead-contaminated soil**. 2003b. Disponível em: <<http://aec.army.mil/usaec/technology/cleanup04a.html>>. Acesso em: 29 set. 2003.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA superfund record decision**: Lipari landfill, 1988. EPA/ROD/R02-88/074. Disponível em: <<http://www.epa.gov/superfund/sites/rods/fulltext/r0288074.pdf>>. Acesso em: 03 out. 2003.

_____. **Guide for conducting treatability studies under CERCLA**: soil washing. Interim guidance, 1991. EPA/540/2-91/020A. Disponível em: <<http://www.epa.gov/tio/download/remed/5402-91020a-s.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2006.

_____. **Zinc and compounds**. 1992. CASRN 7440-66-6. Disponível em: <<http://www.epa.gov/IRIS/subst/0426.htm>>. Acesso em: 25 set. 2006.

_____. **A literature review summary of metals extraction processes used to remove lead from soils**. 1994. EPA/600/SR-94/006. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ORD/WebPubs/projsum/600sr94006.pdf>>. Acesso em: 30 set. 2003.

_____. **Soil washing at the king of Prussia Technical Corporation Superfund Site**: cost and performance report. 1995a. Disponível em: <<http://www.epa.gov/IRIS/subst/0426.htm>>. Acesso em: 25 set. 2006

_____. **Parsons Chemical/ETM Enterprises Superfund Site**: cost and performance report. 1995b. Disponível em: <<http://www.epa.gov/tio/download/remed/parsons.pdf>>. Acesso em: 01 set. 2006.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Method 3050b**: acid digestion of sediments, sludges, and soils. 1996a. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3050b.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2006.

_____. **Method 6010b:** inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. 1996b. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/6010b.pdf>> . Acesso em: 24 set. 2006.

_____. **Engineering forum issue paper:** thermal desorption implementation issues. 1997a. EPA/540/F-95/031. Disponível em: <<http://www.epa.gov/tio/download/remed/tdissue.pdf>> . Acesso em: 25 set. 2006.

_____. **Recent developments for in situ treatment of metal contaminated soils.** 1997b. EPA/68-W5-0055. Disponível em: <<http://www.epa.gov/swertio1/download/remed/metals2.pdf>> . Acesso em: 08 set. 2006.

_____. **Technology alternatives for the remediation of soils contaminated with As Cd Cr Hg and Pb.** 1997c. EPA/540-S-97-500. Disponível em: <<http://www.epa.gov/swertio1/download/remed/tdtchalt.pdf>> . Acesso em: 08 set. 2006.

_____. **Arlington blending & packaging superfund site amended record of decision.** 1997d. AMD/R04-97/183. Disponível em: <<http://www.epa.gov/superfund/sites/rods/fulltext/a0497183.pdf>> . Acesso em: 02 set. 2006.

_____. **Presumptive remedy for metals-in soil sites.** 1999. EPA/540-F-98-054. Disponível em: <<http://www.epa.gov/superfund/resources/presump/finalpdf/metalspr.pdf>> . Acesso em: 24 out. 2003.

_____. **Solidification/Stabilization use at superfund sites.** 2000. EPA/542-R-00-010. Disponível em: <http://www.epa.gov/swertio1/download/remed/ss_sfund.pdf> . Acesso em: 23 set. 2006.

_____. **Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites.** 2001. EPA/540/S-01/500. Disponível em: <http://www.epa.gov/ada/download/issue/epa_540_s01_500.pdf> . Acesso em: 16 out. 2003.

_____. **Lipari landfill.** 2002a. Disponível em: <<http://www.epa.gov/superfund/sites/nplfs/fs0200557.pdf>> . Acesso em: 22 set. 2006.

_____. **Arsenic treatment technologies for soil, waste, and water.** 2002b. EPA/542-R-02-004. Disponível em <http://www.epa.gov/tio/download/remed/542r02004/arsenic_report.pdf>. Acesso em: 02 out. 2003.

_____. **EPA's draft report on environment:** technical document. Washington, D.C.: Office of research and development and the office of environmental information, 2003a. EPA/600-R-03-050. Disponível em: <http://www.epa.gov/Envindicators/roe/pdf/EPA_Draft_ROE_TD.pdf>. Acesso em: 13 set. 2006.

_____. **Lead compounds.** 2003b. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/lead.html>>. Acesso em: 10 jul. 2006.

_____. **Letterkenny army depot:** superfund site: results detailed information. 2003c. Disponível em: <<http://cfpub.epa.gov/asr/detail.cfm?opnameid=3039&siteid=48817&specificid=33>>. Acesso em: 23 set. 2006.

_____. **Cape fear wood preserving:** results detailed information. 2003d. Disponível em: <<http://cfpub.epa.gov/asr/detail.cfm?opnameid=3215&siteid=7942&specificid=33>>. Acesso em: 23 set. 2006.

UNITED STATES GENERAL ACCOUNTING AGENCY. **Superfund cleanups nearing completion indicate future challenges.** Washington, D.C.: Government Printing Office, 1993. GAO / RCED-93-188.

VALLS, M.; LORENZO, V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 26, p. 327-338, 2002.

VEGLIÒ, F.; DI BIASI, A.; BEOLCHINI, F.; PAGNALELLI, F.. Heavy metal biosorption in binary system: simulation in single and two stage UF/MF membrane reactors. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 66, p. 107-115, 2002.

VERNET, J. P. (Ed.). **Heavy metals in the environment.** Amsterdam: Elsevier, 1991. 405 p.

WAISBERG, M.; JOSEPH, P.; HALE, B.; BEYERSMANN, D.. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. **Toxicology**, Amsterdam, v. 192, p. 95-117, 2003.

WANG, Y. M.; CHEN, T. C.; YEH, K. J. SHUE, M. F.. Stabilization of an elevated heavy metal contaminated site. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v. B 88, p. 63-74, 2001.

WASAY, S. A.; BARRINGTON, S.; TOKUNAGA, S.. Efficiency of GAC for treatment of leachate from soil washing process. **Water, air, and soil pollution**, Netherlands, v. 116, p. 449-460, 1999.

WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Manual of practice for water pollution control**. Alexandria, VA: Water Environment Federation, 1994.

WATTS, R. J. **Hazardous wastes**: sources, pathways, receptors. New York: Wiley, 1997. 764 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental health criteria**: n. 221. Zinc. 2001. Disponível em: <http://www.who.int/pes/ehc/summaries/ehc_221.html>. Acesso em: 10 jul. 2006.

ZAGURY, G. J.; NARASIAH, K. S.; TYAGI, R. D. Bioleaching of metal contaminated soil in semicontinuous reactor. **Journal of Environmental Engineering**, v. 127, n. 9, p. 812-817, sept. 2001.

ZIELINSKI, S.; BUCA, M.; FAMULSKI, M. Precipitation-stripping processes for heavy metals. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 48, p. 253-263, 1998.

REFERENCIAS CONSULTADAS

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE CERÂMICA PARA REVESTIMENTO. São Paulo. Disponível em: <www.anfacer.org.br>. Acesso em: 15 jun. 2003.

_____. **Inventário das fontes prioritárias de poluição**. São Paulo: CETESB, 2001. Relatório interno.

FAGUNDES, A. **Manual prático de introdução à cerâmica**. Lisboa: Editorial Caminho S.A., 1997. 394 p.

APÊNDICE A - RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO SOLO

1.1 Determinação da massa específica

1.1.1 Latossolo roxo

A Tabela 1 mostra os dados necessários para a determinação da massa específica dos grãos do latossolo roxo.

Tabela 1 – Massa específica dos grãos do latossolo roxo.

Grandezas	Picnômetros	
	M	F
Temperatura (°C)	25,50	25,00
Solo úmido (g)	64,16	64,64
(A) Solo seco (g)	57,59	58,02
(B) Picnômetro + água (g)	1.240,12	1.207,54
(A) + (B) (g)	1.297,71	1.265,56
(C) Picnômetro + água + solo (g)	1.277,93	1.245,79
(A) + (B) - (C) (g)	19,78	19,77
Massa específica dos grãos (g/cm ³)	2,91	2,93
Massa específica média dos grãos (g/cm ³)	2,92	

1.1.2 Latossolo vermelho

Tabela 2 mostra o resumo dos dados necessários à determinação da massa específica dos grãos.

Tabela 2 – Massa específica dos grãos do latossolo vermelho.

Grandezas	Picnômetros	
	A	F
Temperatura (°C)	22,0	22,0
Solo úmido (g)	59,65	57,72
(A) Solo seco (g)	52,32	50,63
(B) Picnômetro + água (g)	1.214,75	1.208,50
(A) + (B) (g)	1.267,07	1.259,13
(C) Picnômetro + água + solo (g)	1.246,71	1.239,42
(A) + (B) - (C) (g)	20,36	19,71
Massa específica dos grãos (g/cm ³)	2,57	2,57
Massa específica média dos grãos (g/cm ³)	2,57	

1.1.3 Análise granulométrica

Este ensaio foi executado de acordo com a NBR 7181 (ABNT, 1984b) e constou das seguintes etapas:

- Determinação de umidade;
- Peneiramento grosso;
- Peneiramento fino; e
- Sedimentação.

A seguir, são apresentados os resultados de cada etapa do ensaio.

1.1.3.1 Latossolo roxo

a) Determinação de umidade

A Tabela 3 mostra o resumo dos dados necessários para a determinação da umidade do latossolo roxo.

Tabela 3 – Determinação de umidade do latossolo roxo.

Grandezas	Cápsulas		
	190	35	163
Massa úmida + tara (g)	91,45	87,01	87,87
Massa seca + tara (g)	84,94	81,30	81,75
Água (g)	6,51	5,71	6,12
Tara (g)	27,88	31,13	28,16
Massa seca (g)	57,06	50,17	53,59
Umidade (%)	11,41	11,38	11,42
Umidade média (%)	11,40		

b) Peneiramento grosso

(A) - Amostra total úmida (g) = 5.697,00

(B) Solo seco retido na peneira # 10 (g) = 392,60

(C) Solo úmido passado na peneira # 10 (A-B) (g) = 5.304,40

(D) Solo seco passado na peneira # 10 (A-B) / (1+ umidade) (g) = 4.761,79

(E) Amostra total seca (B + D) (g) = 5.154,39

A Tabela 4 mostra o resumo do peneiramento grosso.

Tabela 4 – Peneiramento grosso da amostra de latossolo roxo.

Peneira nº	Diâmetros ϕ (mm)	Massa da amostra seca (g)		% < ϕ
		Retido	Passado	
19	19	6,61	5.147,15	99,87
9	9,5	51,11	5.102,65	99,01
4	4,8	177,06	4.976,70	96,56
10	2	392,60	4.761,16	92,38

c) Peneiramento fino

Massa da amostra úmida (g) = 50,02

Massa da amostra seca (g) = 44,90

A Tabela 5 mostra o resumo do peneiramento fino da amostra de latossolo roxo.

Tabela 5 – Peneiramento fino da amostra de latossolo roxo.

Peneira nº	Diâmetros ϕ (mm)	Massa da amostra seca (g)		% < ϕ parcial	% < ϕ
		Retido	Passado		
16	1,20	0,60	44,30	98,66	91,15
30	0,60	1,32	43,58	97,06	89,67
40	0,42	2,11	42,79	95,30	88,04
50	0,30	3,01	41,89	93,30	86,19
100	0,15	6,45	38,45	85,64	79,11
200	0,075	10,52	34,38	76,57	70,74

d) Sedimentação

A Tabela 6 mostra o resumo dos resultados do ensaio de sedimentação.

Tabela 6 – Resultados do ensaio de sedimentação para o latossolo roxo.

Temperatura (°C)	Intervalo de tempo	Hora	Leitura (cm)	Altura de queda (cm)	Correção (ΔL) (cm)	Leitura corrigida (Lc) (cm)	γ da água	Diâmetro dos grãos φ (mm)	Q % < φ
25,5	30 seg.	10:05	24,00	11,40	4,20	19,80	0,9977	0,0566	61,85
25,5	1 min.	10:06	23,00	11,70	4,20	18,80	0,9977	0,0406	58,73
25,5	2 min.	10:07	22,20	11,86	4,20	18,00	0,9977	0,0289	56,23
25,5	4 min.	10:09	22,00	10,80	4,20	17,80	0,9977	0,0195	55,60
25,5	8 min.	10:13	21,20	11,04	4,20	17,00	0,9977	0,0139	53,11
25,5	15 min.	10:20	20,50	11,25	4,20	16,30	0,9977	0,0103	50,92
25,5	30 min.	10:35	20,00	11,40	4,20	15,80	0,9977	0,0073	49,36
25,0	1 hora	11:05	19,00	11,60	4,30	14,70	0,9977	0,0052	45,92
25,0	2 horas	12:05	18,50	11,75	4,30	14,20	0,9977	0,0037	44,36
25,0	4 horas	14:05	18,00	11,90	4,30	13,70	0,9977	0,0027	42,80
25,0	6 horas	18:05	17,00	12,10	4,30	12,70	0,9977	0,0022	39,67
24,0	24 horas	10:05	16,50	12,25	4,50	12,00	0,9977	0,0011	37,49
Nº do densímetro = 78459			Massa específica dos grãos (δ)= 2,92 g/cm³		(a) % de material passado na peneira nº 10 = 92,38			$Q = \left(\frac{\delta}{\delta - \gamma_a} \right) \cdot \frac{a}{P_s} \cdot Lc$	

1.1.3.2 Latossolo vermelho

A seguir, são apresentados os resultados de cada etapa do ensaio:

a) Determinação de umidade da amostra de latossolo vermelho

A Tabela 7 mostra os dados utilizados para a determinação de umidade.

Tabela 7 – Determinação da umidade do latossolo vermelho.

Grandezas	Cápsulas		
	95	106	143
Massa úmida + tara (g)	75,19	75,35	80,87
Massa seca + tara (g)	69,37	69,85	74,39
Água (g)	5,82	5,50	6,48
Tara (g)	27,77	30,68	28,16
Massa seca (g)	41,6	39,17	46,23
Umidade (%)	13,99	14,04	14,02
Umidade média (%)	14,02		

b) Peneiramento grosso

(A) - Amostra total úmida (g) = 790,55

(B) Solo seco retido # 10 (g) = 42,86

(C) Solo úmido passado # 10 (A-B) (g) = 747,69

(D) Solo seco passado na peneira # 10 (A-B) / (1+ umidade) (g) = 655,85

(E) Amostra total seca (B + D) (g) = 698,71

A Tabela 8 mostra o resumo do peneiramento grosso.

Tabela 8 – Peneiramento grosso da amostra de latossolo vermelho.

Peneira nº	Diâmetros ϕ (mm)	Massa da amostra seca (g)		% < ϕ
		Retido	Passado	
19	19	6,14	692,57	99,12
9	9,5	15,68	683,03	97,76
4	4,8	29,79	668,92	95,74
10	2	42,86	655,85	93,87

c) Peneiramento fino

Massa da amostra úmida (g) = 56,99

Massa da amostra seca (g) = 49,99

A Tabela 9 mostra o resumo do peneiramento fino.

Tabela 9 – Peneiramento fino da amostra de latossolo vermelho.

Peneira nº	Diâmetros ϕ (mm)	Massa da amostra seca (g)		% < ϕ parcial	% < ϕ
		Retido	Passado		
1,20	0,18	49,81	99,64	93,53	1,20
0,60	0,86	49,13	98,28	92,25	0,60
0,42	1,34	48,65	97,32	91,35	0,42
0,30	1,76	48,23	96,48	90,56	0,30
0,15	3,49	46,50	93,02	87,31	0,15
0,07	5,68	44,31	88,64	83,20	0,07

d) Sedimentação

A Tabela 10 mostra o resumo dos resultados do ensaio de sedimentação para a amostra de latossolo vermelho.

Tabela 10 – Resultados do ensaio de sedimentação para o latossolo vermelho.

Temperatura (°C)	Intervalo de tempo	Hora	Leitura (cm)	Altura de queda (cm)	Correção (ΔL) (cm)	Leitura corrigida (Lc) (cm)	γ da água	Diâmetro dos grãos ϕ (mm)	Q % < ϕ
23,0	30 seg.	09:35	32,00	9,20	4,60	27,40	0,9977	0,0563	84,11
23,0	1 min.	09:36	31,00	9,50	4,60	26,40	0,9977	0,0404	81,04
23,0	2 min.	09:37	30,00	9,70	4,60	25,40	0,9977	0,0289	77,97
23,0	4 min.	09:39	28,50	9,05	4,60	23,90	0,9977	0,0197	73,37
23,0	8 min.	09:43	27,30	9,34	4,60	22,70	0,9977	0,0142	69,69
22,0	15 min.	09:50	26,00	9,70	4,80	21,20	0,9977	0,0106	65,08
22,0	30 min.	10:05	25,00	9,90	4,80	20,20	0,9977	0,0075	62,01
22,0	1 hora	10:35	24,00	10,20	4,80	19,20	0,9977	0,0054	58,94
21,0	2 horas	11:35	22,50	10,60	5,00	17,50	0,9977	0,0039	53,72
20,0	4 horas	13:35	21,50	10,85	5,20	16,30	0,9977	0,0028	50,04
19,5	6 horas	17:35	20,50	11,15	5,30	15,20	0,9977	0,0023	46,66
22,0	24 horas	09:35	18,30	11,71	4,80	13,50	0,9977	0,0012	41,44
Nº do densímetro = 78479			Massa específica dos grãos (δ) = 2,57 g/cm ³		(a) % de material passado na peneira nº 10 = 93,87			$Q = \left(\frac{\delta}{\delta - \gamma_a} \right) \cdot \frac{a}{P_s} \cdot Lc$	

1.1.4 Determinação da densidade aparente, da umidade residual e da capacidade de campo do solo

1.1.4.1 Latossolo roxo

A Tabela 11 mostra os resultados obtidos nas determinações da densidade aparente (ρ_a), da umidade residual (U_R) e da capacidade de campo (CC).

Tabela 11 - Densidade aparente, umidade residual e capacidade de campo das amostras de solo da área de estudo.

Grandezas	Anéis		
	49	50	141
V (cm ³)	240,36	240,36	237,15
m1 (g)	119,57	120,93	123,95
m2 (g)	116,27	117,83	120,74
m3 (g)	447,28	439,61	432,83
m4 (g)	412,00	405,63	400,11
m5 (g)	540,02	528,84	520,67
ρ_a (g/cm ³)	1,23	1,20	1,18
ρ_a média (g/cm ³)		1,20	
U_R (g H ₂ O/100 g solo seco)	11,93	11,81	11,71
U_R média (g H ₂ O/100 g solo seco)		11,82	
CC (g H ₂ O/100 g solo seco)	42,17	41,73	42,01
CC _{médio} (g H ₂ O/100 g solo seco)		41,97	

Nota:

V = volume do anel (cm³)

m1 = massa úmida do conjunto anel + papel filtro (g)

m2 = massa seca a 105 °C do conjunto anel + papel filtro (g)

m3 = massa do conjunto anel + papel (secos a 105 °C) + solo seco a temperatura ambiente (g)

m4 = massa seca a 105 °C do conjunto anel + papel filtro + solo (g)

m5 = massa saturada com H₂O do conjunto anel + papel filtro + solo (g)

ρ_a = densidade aparente (g/cm³);

ρ_a média = densidade aparente média (g/cm³)

U_R = umidade residual (g H₂O / 100 g solo seco)

U_R média = umidade residual média (g H₂O / 100 g solo seco)

CC = capacidade de campo (g H₂O / 100 g solo seco) e

CC média = capacidade de campo média (g H₂O / 100 g solo seco).

Visto que a norma a Norma CETESB L6.350 (CETESB, 1990) não estabelece um limite máximo aceitável para o desvios observados entre as amostras

ensaiadas, os resultados dos ensaios foram considerados válidos. Os desvios das 3 determinações foram $\leq 2,50\%$ em relação aos valores médios.

1.1.4.2 Latossolo vermelho

A Tabela 12 mostra os resultados obtidos nas determinações da densidade aparente (ρ_a), da umidade residual (U_R) e da capacidade de campo (CC).

Tabela 12 - Densidade aparente, umidade residual e capacidade de campo do latossolo roxo.

Grandezas	Anéis		
	1	2	3
V (cm ³)	240,36	237,15	240,36
m1 (g)	120,33	118,25	124,08
m2 (g)	117,32	115,81	121,61
m3 (g)	431,40	430,69	435,21
m4 (g)	420,01	419,19	423,92
m5 (g)	559,42	558,06	560,60
ρ_a (g/cm ³)	1,26	1,28	1,26
ρ_a média (g/cm ³)		1,27	
U_R (g H ₂ O/100 g solo seco)	3,76	3,79	3,73
U_R média (g H ₂ O/100 g solo seco)		3,76	
CC (g H ₂ O/100 g solo seco)	45,06	44,97	44,39
CC _{médio} (g H ₂ O/100 g solo seco)		44,81	

Nota:

V = volume do anel (cm³)

m1 = massa úmida do conjunto anel + papel filtro (g)

m2 = massa seca a 105 °C do conjunto anel + papel filtro (g)

m3 = massa do conjunto anel + papel (secos a 105 °C) + solo seco a temperatura ambiente (g)

m4 = massa seca a 150 °C do conjunto anel + papel filtro + solo (g)

m5 = massa saturada com H₂O do conjunto anel + papel filtro + solo (g)

ρ_a = densidade aparente (g/cm³);

ρ_a média = densidade aparente média (g/cm³)

U_R = umidade residual em (g H₂O / 100 g solo seco)

U_R média = umidade residual média (g H₂O / 100 g solo seco)

CC = capacidade de campo (g H₂O / 100 g solo seco) e

CC_{média} = capacidade de campo média (g H₂O / 100 g solo seco).

2 RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

2.1 Resultados do experimento nº 6

As Tabelas 13, 14, 15 e 16 mostram, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o lixiviado produzido ao longo do experimento de biolixiviação nº 6 com *A. ferrooxidans* para os elementos B, Cd, Pb e Zn.

Tabela 13 – Concentração do elemento B no lixiviado - experimento nº 6.

Reator	Concentração B (mg/L)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	1,73	2,62	2,35	2,12	2,62	2,83	2,54
R2	2,05	1,89	1,78	1,76	1,66	1,75	1,69
R3	1,80	1,59	1,50	1,35	2,28	1,46	1,52
R4	2,30	1,99	1,71	2,04	1,65	1,75	1,66
Controle	0,62	-	0,85	-	1,43	-	1,02

Tabela 14 – Concentração do elemento Cd no lixiviado - experimento nº 6.

Reator	Concentração Cd (mg/L)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	0,16	0,13	0,05	0,04	0,03	0,03	0,03
R2	0,16	0,14	0,06	0,05	0,04	0,04	0,04
R3	0,17	0,14	0,06	0,05	0,04	0,04	0,04
R4	0,18	0,14	0,06	0,05	0,05	0,04	0,04
Controle	< 0,005	-	< 0,005	-	< 0,003	-	< 0,003

Tabela 15 – Concentração do elemento Pb no lixiviado - experimento nº 6.

Reator	Concentração Pb (mg/L)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	3,31	0,21	0,03	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028
R2	3,84	0,23	0,04	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028
R3	3,93	0,22	0,03	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028
R4	3,87	0,23	0,02	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028	< 0,0028
Controle	0,04	-	< 0,04	-	< 0,05	-	< 0,05

Tabela 16 – Concentração do elemento Zn no lixiviado - experimento nº 6.

Reator	Concentração Zn (mg)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	6,33	35,60	40,24	41,39	47,84	47,87	50,26
R2	14,11	37,62	42,35	45,15	46,68	48,99	49,16
R3	22,70	38,86	40,78	46,08	45,24	46,15	46,66
R4	23,04	39,11	40,96	46,76	43,64	47,35	49,89
Controle	< 0,08	-	< 0,08	-	< 0,04	-	< 0,004

As Tabelas 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24 mostram, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o solo tratado ao longo do experimento de biolixiviação nº 6 com *A. ferrooxidans* para os elementos Al, B, Cd, Fe, P, Pb, S e Zn.

Tabela 17 – Teor do elemento Al no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de Al (%)	
	Tempo (dias)	
	0	30
R1	6,72 ± 0,01	6,81 ± 0,04
R2	7,17 ± 0,06	7,37 ± 0,04
R3	7,14 ± 0,03	6,25 ± 0,05
R4	5,57 ± 0,03	7,29 ± 0,02
Controle	8,29 ± 0,18	9,68 ± 0,01

Tabela 18 – Teor do elemento B no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de B (mg/kg)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	23,62	20,90	20,08	22,34	17,37	20,43	22,74
R2	11,91	14,35	19,17	14,28	21,01	16,55	20,22
R3	14,06	16,64	15,66	15,06	13,78	15,14	14,08
R4	12,60	14,41	12,69	15,03	16,66	16,61	13,78
Controle	< 0,3	-	< 0,3	-	< 0,3	-	0,3

Tabela 19 – Teor do elemento Cd no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de Cd (mg/kg)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002
R2	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002
R3	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002
R4	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002	< 0,002
Controle	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003

Tabela 20 – Teor do elemento Fe no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de Fe (%)	
	Tempo (dias)	
	0	30
R1	4,94	6,19
R2	4,94	6,41
R3	4,99	6,01
R4	5,03	6,16
Controle	4,49	4,76

Tabela 21 – Teor do elemento P no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de P (mg/kg)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	379,57	379,91	365,09	368,23	353,65	362,51	358,55
R2	364,83	397,44	386,97	407,06	413,95	362,85	411,66
R3	399,35	418,29	361,44	396,15	384,32	401,83	391,58
R4	442,02	425,89	391,40	398,00	411,00	397,54	393,09
Controle	261,08	-	-	-	-	-	272,65

Tabela 22 – Teor do elemento Pb no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de Pb (mg/kg)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	713,27	736,49	729,29	750,21	720,07	739,65	736,72
R2	681,35	735,57	671,33	739,06	735,87	673,63	724,30
R3	694,23	716,45	672,60	708,98	676,91	701,21	714,74
R4	760,08	751,94	715,42	693,36	747,30	686,68	710,72
Controle	576,72	-	637,88	-	616,16	-	681,51

Tabela 23 – Teor do elemento S no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de S (%)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	0,31	0,53	0,82	0,85	0,85	0,92	0,83
R2	0,31	0,54	0,64	0,75	0,77	0,89	0,79
R3	0,29	0,55	0,71	0,77	0,75	0,83	0,78
R4	0,32	0,58	0,75	0,73	0,78	0,76	0,74
Controle	< 0,05	-	-	-	-	-	< 0,02

Tabela 24 – Teor do elemento Zn no solo tratado - experimento nº 6.

Reator	Teor de Zn (mg/kg)						
	Tempo (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
R1	174,44	135,60	126,38	121,74	106,56	115,52	110,49
R2	128,64	126,10	123,43	122,25	117,67	102,46	114,07
R3	146,33	130,40	112,80	117,65	108,89	122,91	108,09
R4	153,80	137,00	119,75	120,07	116,01	104,24	112,18
Controle	177,60	-	165,66	-	184,90	-	197,56

As Tabelas 25, 26 e 27 mostram, respectivamente, os resultados obtidos nas análises de contagem de bactérias heterotróficas e *A. ferrooxidans* durante este experimento de biolixiviação nº 6. A Tabela 26 mostra a contagem do número mais provável de *A. ferrooxidans* (CETESB, 1991) e, a Tabela 27 mostra a contagem executada em microscópio desta mesma bactéria.

Tabela 25 – Evolução da população de bactérias heterotróficas - experimento nº 6.

Reatores		Log ₁₀ UFC/g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	7,95	5,56	4,62	4,65
	Incerteza	*	0,01	0,02	0,09
2	Tendência	9,07	5,15	4,53	4,85
	Incerteza	0,04	*	0,02	0,02
3	Tendência	9,04	5,08	4,13	5,17
	Incerteza	0,02	0,05	0,04	0,03
4	Tendência	9,06	5,08	4,2	5,65
	Incerteza	0,02	0,03	0,14	0,01
Controle	Tendência	6,62	6,6	7,0	5,54
	Incerteza	0,26	0,01	0,06	0,16

Nota:

Incerteza = incerteza determinada para a duplicata de placas utilizadas na contagem.

* = incerteza não definida devido a contaminação em uma das placas utilizadas na contagem.

Tabela 26 – Evolução da população de bactérias *A. ferrooxidans* - experimento nº 6: número mais provável.

Reatores		Log ₁₀ <i>A. ferrooxidans</i> /g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	0,98	3,77	3,43	5,75
	Incerteza	0,86	0,62	0,63	0,61
2	Tendência	1,0	3,77	3,78	5,76
	Incerteza	0,86	0,62	0,62	0,61
3	Tendência	3,49	3,77	3,77	5,74
	Incerteza	0,63	0,62	0,62	0,61
4	Tendência	3,12	3,77	3,76	5,76
	Incerteza	0,67	0,62	0,62	0,61
Controle	Tendência	0,98	0,94	0,88	0,91
	Incerteza	0,86	0,86	0,86	0,86

Nota:

Incerteza = limite de confiança definido para uma probabilidade de 95%.

Limite de detecção do método = $\leq 1 \log_{10}$ *A. ferrooxidans*/g solo.

Tabela 25 – Evolução da população de bactérias *A. ferrooxidans* - experimento nº 6: contagem direta no microscópio.

Reatores		Log ₁₀ <i>A. ferrooxidans</i> /g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	8,46	6,97	7,41	9,68
	Incerteza	0,06	0,03	0,02	0,02
2	Tendência	9,3	6,87	7,19	9,7
	Incerteza	0,13	0,03	0,09	0,08
3	Tendência	8,94	8,04	8,31	9,4
	Incerteza	0,01	0,13	0,12	0,05
4	Tendência	8,51	8,45	8,25	9,48
	Incerteza	0,07	0,05	0,1	0,03
Controle	Tendência	*	*	*	*
	Incerteza	*	*	*	*

Nota: * = contagem não executada.

A Tabela 28 mostra a contagem do número total de microrganismos determinados através de microscopia utilizando o marcador de DNA 4-6 diamidino-2-phenylindole (DAPI).

Tabela 28 – Evolução do número total de microrganismos - experimento nº 6.

Reatores		Log ₁₀ células/g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	11,68	12,56	12,92	13,26
	Incerteza	0,05	0,04	0,04	0,02
2	Tendência	11,94	12,09	12,9	13,31
	Incerteza	0,04	0,06	0,04	0,01
3	Tendência	11,87	12,68	12,87	13,38
	Incerteza	0,06	0,08	0,04	0,02
4	Tendência	12,83	12,1	13,04	13,25
	Incerteza	0,02	0,07	0,03	0,03
Controle	Tendência	*	*	*	*
	Incerteza	*	*	*	*

Nota: * = contagem não executada.

2.2 Resultados do experimento nº 7

As Tabelas 29, 30, 31 e 32 mostram, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o lixiviado produzido ao longo do experimento de biolixiviação com *A. ferrooxidans* para os elementos B, Cd, Pb e Zn.

Tabela 29 – Concentração do elemento B no lixiviado - experimento nº 7.

Reator	Concentração B (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	0,99	1,57	1,68	1,62
R2	1,67	1,63	1,55	1,55
R3	1,55	1,60	1,54	1,40
R4	1,59	1,56	1,51	1,44
Controle	0,42	0,57	1,09	0,59

Tabela 30 – Concentração do elemento Cd no lixiviado - experimento nº 7.

Reator	Concentração Cd (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	0,19	0,05	0,04	0,03
R2	0,02	0,06	0,05	0,04
R3	0,19	0,06	0,05	0,04
R4	0,19	0,06	0,05	0,04
Controle	< 0,005	< 0,005	< 0,003	< 0,003

Tabela 31 – Concentração do elemento Pb no lixiviado - experimento nº 7.

Reator	Concentração Pb (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10 *	20 *	30 *
R1	3,38	< 0,04	< 0,04	< 0,04
R2	3,83	< 0,04	< 0,04	< 0,04
R3	3,97	< 0,04	< 0,04	< 0,04
R4	3,87	< 0,04	< 0,04	< 0,04
Controle	< 0,04	< 0,04	< 0,05	< 0,05

Tabela 32 – Concentração do elemento Zn no lixiviado - experimento nº 7.

Reator	Concentração Zn (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	4,19	19,76	26,47	27,55
R2	11,23	20,40	24,03	23,9
R3	10,27	22,39	24,57	24,92
R4	10,37	21,90	24,29	23,59
Controle	< 0,08	< 0,08	< 0,004	< 0,004

As Tabelas 33, 34, 35, 36, 37 e 38 mostram, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o solo tratado ao longo do experimento de biolixiviação nº 7 com *A. ferrooxidans* para os elementos B, Cd, P, Pb, S e Zn.

Tabela 33 – Teor do elemento B no solo tratado - experimento nº 7.

Reator	Teor de B (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	19,47	13,015	15,39	10,99
R2	15,13	15,91	14,39	15,86
R3	10,15	14,55	7,29	15,94
R4	13,55	12,19	10,09	17,47
Controle	0,1	24,03	11,45	0,3

Tabela 34 – Teor do elemento Cd no solo tratado - experimento nº 7.

Reator	Teor de Cd (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	1,18	< 0,001	1,75	< 0,001
R2	1,06	< 0,001	1,55	< 0,001
R3	< 0,01	< 0,001	1,55	< 0,001
R4	1,09	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Controle	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003

Tabela 35 – Teor do elemento P no solo tratado - experimento nº 7.

Reator	Teor de P (mg/kg)	
	Tempo (dias)	
	0	30
R1	502,85	433,59
R2	518,28	413,14
R3	496,03	396,25
R4	516,48	407,9
Controle	252,53	279,65

Tabela 36 – Teor do elemento Pb no solo tratado - experimento nº 7.

Reator	Teor de Pb (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	711,56	694,8	784,58	721,46
R2	663,2	732,9	783,89	691,37
R3	648,35	722,15	756,17	693,34
R4	632,32	687,9	700,05	672,18
Controle	584,65	640,76	649,85	694,18

Tabela 37 – Teor do elemento S no solo tratado - experimento nº 7.

Reator	Teor de S (%)	
	Tempo (dias)	
	0	30
R1	0,33	1,03
R2	0,32	0,95
R3	0,29	0,93
R4	0,32	0,92
Controle	0,05	0,02

Tabela 38 – Teor do elemento Zn no solo tratado - experimento nº 7.

Reator	Teor de Zn (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	177,66	115,55	106,18	88,25
R2	151,87	100,55	102,22	90,59
R3	135	91,8	97,59	63,32
R4	147,255	93,22	83,85	80,97
Controle	178,17	175,99	184,69	203,26

A Tabela 39 mostra os resultados obtidos nas análises de contagem de bactérias heterotróficas - experimento de biolixiviação nº 7.

Tabela 39 – Evolução da população de bactérias heterotróficas - experimento nº 7.

Reatores		Log ₁₀ UFC/g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	6,74	4,95	5,37	5,96
	Incerteza	0,02	0,01	0,23	0,07
2	Tendência	8,18	4,87	5,12	6,17
	Incerteza	*	0,10	0,11	0,04
3	Tendência	7,97	4,88	5,33	6,04
	Incerteza	0,03	0,1	0,3	0,07
4	Tendência	8,1	4,82	5,19	5,86
	Incerteza	*	0,08	0,04	0,06
Controle	Tendência	6,31	6,85	7,22	6,29
	Incerteza	0,05	0,06	0,09	0,05

Nota:

Incerteza = incerteza padrão definida para a duplicata de placas utilizadas na contagem.

* = incerteza não definida devido a contaminação em uma das placas utilizadas na contagem.

A Tabela 40 mostra os resultados obtidos nas análises microbiológicas, para determinação do número mais provável de bactérias *A. ferrooxidans*, - experimento nº 7.

Tabela 38 – Evolução da população de bactérias *A. ferrooxidans* - experimento nº 7.

Reatores		Log ₁₀ <i>A. ferrooxidans</i> /g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	1,3	6,44	7,09	4,97
	Incerteza	0,86	0,58	0,44	0,46
2	Tendência	1,29	6,8	6,83	5,8
	Incerteza	0,86	0,54	0,54	0,52
3	Tendência	3,11	7,02	7	6,44
	Incerteza	0,61	0,43	0,49	0,57
4	Tendência	3,11	6,97	6,99	6,22
	Incerteza	0,61	0,49	0,49	0,59
Controle	Tendência	1,21	1,16	1,08	1,08
	Incerteza	0,86	0,86	0,86	0,86

Nota:

Incerteza = limite de confiança definido para uma probabilidade de 95%.

Limite de detecção do método = $\leq 1 \log_{10}$ *A. ferrooxidans*/g solo

A Tabela 41 mostra a contagem do número total de microrganismos determinados através de microscopia utilizando o marcador de DNA 4-6 diamidino-2-phenylindole (DAPI).

Tabela 41 - Evolução do número total de microrganismos - experimento nº 7.

Reatores		Log ₁₀ <i>A. ferrooxidans</i> /g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	12,5	13	13,32	13,47
	Incerteza	0,02	0,05	0,02	0,02
2	Tendência	12,32	13,3	13,43	13,26
	Incerteza	0,03	0,02	0,02	0,04
3	Tendência	12,26	13,4	13,43	13,26
	Incerteza	0,03	0,02	0,02	0,04
4	Tendência	13,54	12,94	13,51	13,21
	Incerteza	0,02	0,04	0,02	0,03
Controle	Tendência	*	*	*	*
	Incerteza	*	*	*	*

Nota: * = contagem não executada.

2.3 Resultados do experimento nº 8

As Tabelas 42, 43, 44 e 45 mostram, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o lixiviado produzido ao longo do experimento de biolixiviação nº 8 para os elementos B, Cd, Pb, S e Zn.

Tabela 42 – Concentração do elemento B no lixiviado - experimento nº 8.

Reator	Concentração B (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	1,55	3,21	3,49	3,15
R2	2,41	2,84	3,22	2,99
R3	2,24	3,02	3,28	3
R4	2,23	3,37	3,09	3,25
Controle	0,48	0,52	0,95	0,44

Tabela 43 – Concentração do elemento Cd no lixiviado - experimento nº 8.

Reator	Concentração Cd (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	0,001	0,024	0,025	0,023
R2	0,025	0,0,25	< 0,001	0,027
R3	0,024	0,024	0,025	0,024
R4	0,023	0,024	0,025	0,026
Controle	< 0,005	< 0,005	< 0,003	< 0,003

Tabela 44 – Concentração do elemento Pb no lixiviado - experimento nº 8.

Reator	Concentração Pb (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	3,22	3,13	3,22	2,81
R2	3,74	2,68	2,72	2,45
R3	3,62	2,70	2,76	2,36
R4	3,62	2,81	2,70	2,44
Controle	< 0,04	< 0,04	0,19	0,04

Tabela 45 – Concentração do elemento Zn no lixiviado - experimento nº 8.

Reator	Concentração Zn (mg/L)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	3,83	17,74	19,68	22,2
R2	12,13	22,12	23,62	28,35
R3	11,41	23,24	24,00	29,05
R4	11,44	25,34	24,08	32,22
Controle	0,08	0,08	< 0,04	< 0,04

As Tabelas 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 e 53 mostram, respectivamente, os resultados das determinações químicas para o solo tratado ao longo do experimento de biolixiviação nº 8 com *A. ferrooxidans* para os elementos Al, B, Cd, Fe, P, Pb, S e Zn.

Tabela 46 – Teor do elemento Al no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de Al (%)	
	Tempo (dias)	
	0	30
R1	8,4	8,44
R2	7,81	9,72
R3	8,35	8,59
R4	7,42	8,38
Controle	8,53	8,39

Tabela 47 – Teor do elemento B no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de B (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	15,38	9,68	11,41	11,74
R2	11,43	15,82	12,76	14,05
R3	12,03	18,85	13,01	11,19
R4	17,92	14,77	13,32	13,74
Controle	25,46	8,52	6,88	0,03

Tabela 48 – Teor do elemento Cd no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de Cd (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,004
R2	< 0,001	< 0,001	< 0,004	< 0,004
R3	< 0,001	< 0,001	< 0,004	< 0,004
R4	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,004
Controle	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003

Tabela 49 – Teor do elemento Fe no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de Fe (%)	
	Tempo (dias)	
	0	30
R1	4,92	5,21
R2	4,61	5,03
R3	4,95	5,35
R4	5,04	5,27
Controle	4,74	4,67

Tabela 50 – Teor do elemento P no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de P (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	253,44	243,91	248,7	270,36
R2	240,55	230,16	227,62	228,81
R3	243,53	238,84	278,76	263,69
R4	233,23	248,32	244,59	236,42
Controle	257,04	*	*	298,41

Nota: * = determinação química não executada.

Tabela 51 – Teor do elemento Pb no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de Pb (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	794,74	762,54	775,56	830,63
R2	751,51	854,14	792,88	809,06
R3	748,49	771,03	788,77	876,42
R4	809,21	798,57	817,86	792,74
Controle	582,2	613,29	638,35	702,49

Tabela 52 – Teor do elemento S no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de S (%)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	0,07	0,12	0,12	0,14
R2	0,09	0,14	0,14	0,15
R3	0,09	0,14	0,14	0,16
R4	0,09	0,14	0,15	0,16
Controle	0,005	*	*	0,01

Nota: * = determinação química não executada.

Tabela 53 – Teor do elemento Zn no solo tratado - experimento nº 8.

Reator	Teor de Zn (mg/kg)			
	Tempo (dias)			
	0	10	20	30
R1	179,79	152,81	143,41	142,75
R2	159,53	123,77	117,7	122,02
R3	154,55	98,66	122,49	133,6
R4	165,93	120,82	128,73	126,26
Controle	165,96	175,21	176,87	207,31

As Tabelas 54 e 55 mostram, respectivamente, os resultados obtidos nas análises de contagem de bactérias heterotróficas e de *A. ferrooxidans* - experimento de biolixiviação nº 8.

Tabela 54 – Evolução da população de bactérias heterotróficas - experimento nº 8.

Reatores		Log ₁₀ UFC/g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	6	5,21	5,69	6,26
	Incerteza	0,13	0,01	0,07	0,01
2	Tendência	7,37	5,2	5,41	5,47
	Incerteza	0,04	0,05	0,04	0,02
3	Tendência	6,57	5,04	5,26	5,24
	Incerteza	0,19	0,01	0,04	0,07
4	Tendência	6,37	5,15	5,41	5,41
	Incerteza	0,01	0,01	0,01	0,03
Controle	Tendência	6,73	6,75	7,41	6,89
	Incerteza	0,3	0,05	0,01	0,13

Nota: Incerteza = incerteza padrão definida para a duplicata de placas utilizadas na contagem.

Tabela 55 – Evolução da população de bactérias *A. ferrooxidans* - experimento nº 8

Reatores		Log ₁₀ <i>A. ferrooxidans</i> /g solo			
		Tempo (dias)			
		0	10	20	30
1	Tendência	1,84	3,61	3,61	3,61
	Incerteza	0,52	0,62	0,62	0,62
2	Tendência	1,63	5,01	5,01	3,8
	Incerteza	0,62	0,61	0,61	0,52
3	Tendência	4,84	5,61	6,75	7
	Incerteza	0,52	0,62	0,54	0,49
4	Tendência	4,63	5,61	6,69	6,44
	Incerteza	0,62	0,62	0,51	0,58
Controle	Tendência	1,23	1,18	1,12	1,1
	Incerteza	0,86	0,86	0,86	0,86

Nota:

Incerteza = limite de confiança definido para uma probabilidade de 95%.

Limite de detecção do método = $\leq 1 \log_{10}$ *A. ferrooxidans*/g solo