

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
DEPT. DE ENG. SANITÁRIA E AMBIENTAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENG. AMBIENTAL

**LUCIANA BORBA BENETTI**

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ATENUAÇÃO  
NATURAL DE HIDROCARBONETOS MONOAROMÁTICOS DE  
PETRÓLEO EM PRESENÇA DE ETANOL

Dissertação apresentada ao Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do título de Mestre em Ciências em Engenharia Ambiental na área de Tecnologia de Saneamento Ambiental.

Orientador: Dr. Henry Xavier Corseuil

Florianópolis, abril de 1999


**“AVALIAÇÃO, EM MICROCOSMOS, DO POTENCIAL DE ATENUAÇÃO  
NATURAL DE HIDROCARBONETOS MONOAROMÁTICOS DE PETRÓLEO EM  
PRESENÇA DE ETANOL”**

LUCIANA BORBA BENETTI

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

**MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL**  
na Área de Tecnologias de Saneamento Ambiental.

Aprovado por:



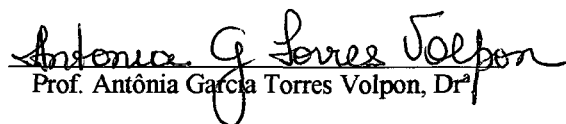
Prof. Henry Xavier Corseuil, PhD.  
(Orientador)



Prof. Teresa Cristina Barbosa, Dr.<sup>a</sup>



Prof. Dr.<sup>a</sup> Rejane Helena Ribeiro da Costa  
(Coordenadora)



Prof. Antônia Garcia Torres Volpon, Dr.<sup>a</sup>

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL  
ABRIL/1999

---

---

## Agradecimentos

---

---

Ao professor e orientador Dr. Henry Xavier Corseuil pelas sugestões e críticas indispensáveis a realização deste trabalho.

Ao projeto PETROBRÁS, pelo apoio financeiro.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina.

Aos colegas: Marilda, Ruy, Alexandre, Beatriz, Giliam, Fábio, Cátia, Márcia, Márcio, Luciano, Adriano, Mônica e Clarissa pelo grande apoio e auxílio.

Ao corpo Técnico-Administrativo do Dept. de Eng. Sanitária e Ambiental: Márcio Busi, Nilton S. Pereira, Carlos Vieira e Américo Cruz Jr.

À AKROS e Casas da Água pelo suporte técnico e fornecimento de materiais indispensáveis à esta pesquisa.

À minha família pelo apoio moral e conforto espiritual. Às famílias Gallon e Silva que sempre me apoiaram com carinho.

Especialmente a Deus, que permitiu que eu pudesse ter este privilégio de aprender mais e, também, completar mais uma etapa de minha vida.

E, à todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

---

---

# Sumário

---

---

	<b>Página</b>
Relação de Figuras.....	i
Relação de Tabelas.....	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Glossário.....	vi

## CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO.....	01
-----------------	----

## CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
2.1. Generalidades sobre a gasolina.....	04
2.2. Propriedades dos BTX e do etanol.....	07
2.3. Legislação.....	10
2.4. Atenuação Natural.....	12
2.5. Uso de diferentes aceptores de elétrons na biodegradação.....	15
2.6. Reações Redox.....	16
2.7. Biodegradação Aeróbia.....	17
2.8. Biodegradação Anaeróbia.....	20
2.8.1. Biodegradação via Redução de Nitrato (RN).....	23
2.8.1. Biodegradação via Redução de Ferro (RF).....	26
2.8.1. Biodegradação via Redução de Sulfato (RS).....	29
2.8.1. Biodegradação via Metanogênese (RM).....	30

### CAPÍTULO III

MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1. Material Biológico.....	33
3.2. Compostos Químicos.....	33
3.3. Microcosmos.....	33
3.4. Delineamento Experimental.....	35
3.5. Análise de BTX e Etanol.....	35
3.5.1. Solução Padrão.....	35
3.5.2. Procedimento Analítico.....	35
3.6. Análise de Cátions e Ânions.....	36

### CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1. Caracterização do material biológico.....	37
4.2. Biodegradação de BTX na ausência do etanol.....	38
4.3. Biodegradação de BTX na presença do etanol.....	43
4.4. Taxa de Degradação.....	47

### CAPÍTULO V

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	52
5.1. Conclusões.....	52
5.2. Recomendações.....	55

### CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
APÊNDICE A.....	62
APÊNDICE B.....	63

<b>RELAÇÃO DE FIGURAS</b>		<b>Página</b>
Figura - 01	Representação das diferentes fases em que os HC podem ser encontrados na zona saturada .....	06
Figura - 02	Exemplo de atenuação natural de uma pluma de HC de petróleo.....	13
Figura - 03	Etapas iniciais da oxidação microbiológica do benzeno para catecol via <i>cis-benzeno dihidrodiol</i> .....	19
Figura - 04a	Diagrama da sucessão das reações de aceptores de elétrons em águas subterrâneas não contaminadas.....	22
Figura - 04b	Diagrama idealizado da orientação das reações de aceptores de elétrons em águas subterrâneas contaminadas com chorume de lixo de aterro.....	23
Figura - 05	Modelo de transporte de elétrons na redução de nitrato.....	24
Figura - 06	Degradação do tolueno em condições de redução de ferro III com cultura pura de bactérias GS-15.....	27
Figura - 07	Via de degradação do benzeno sob condições metanogênicas.....	31
Figura - 08	Possível seqüência da reação de óxido-redução do tolueno por bactérias metanogênicas em consórcio.....	32
Figura - 09	Microcosmos utilizados nos experimentos.....	34
Figura - 10	Visão geral da Câmara Anaeróbia - COY/77.....	34
Figura - 11	Degradação dos compostos BTX na ausência do etanol.....	38
Figura - 12	Valores da concentração de Nitrato obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos.....	39
Figura - 13	Valores da concentração de Sulfato obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos.....	40
Figura - 14	Valores de condutividade obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos.....	41
Figura - 15	Valores de potencial redox obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos.....	41

Figura - 16	Valores de temperatura obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos.....	42
Figura - 17	Valores de pH obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos.....	42
Figura - 18	Biodegradação de BTX na presença de etanol.....	43
Figura - 19	Degradação de BTX em presença de etanol e sua relação com a produção de ferro (II).....	45
Figura - 20	Relação entre condutividade e a concentração de Fe II.....	46

**RELAÇÃO DE TABELAS****Página**

Tabela - 01	Características Físico-Químicas dos BTX e do Etanol.....	08
Tabela - 02	Caracterização das vias metabólicas.....	15
Tabela - 03	Seqüência esperada de reações redox.....	17
Tabela - 04	Lista de alguns HC aromáticos que podem ser degradados por microorganismos sob condições de redução de nitrato, redução de ferro e redução de sulfato.....	21
Tabela - 05	Porcentagem de recuperação do SPIKE obtido para análise dos compostos BTX e etanol no CG HP-5890.....	36



---

## Resumo

---

Sérios problemas ambientais têm ocorrido devido a contaminação de solos e aquíferos por gasolina. No Brasil, esta questão toma características diferentes por causa da adição de etanol, que diminui a poluição atmosférica e aumenta a capacidade de combustão; porém, as conseqüências desta adição nos processos de recuperação de áreas contaminada são pouco conhecidas. [O processo de atenuação natural é muito empregado para descontaminar regiões afetadas por hidrocarbonetos de petróleo; ele consiste no aproveitamento e no acompanhamento dos processos que ocorrem naturalmente (biodegradação, adsorção, volatilização por exemplo) que provocam o desaparecimento do contaminante.] Este estudo avaliou o potencial de atenuação natural, em experimentos conduzidos em laboratório com microcosmos, dos compostos BTX e etanol em solo proveniente da região da Fazenda Experimental da Ressacada (Florianópolis, SC). [O experimento foi mantido durante 134 dias a temperatura controlada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ] Concentração de BTX, etanol, ferro (II), sulfato, nitrato, nitrito e fosfato; pH; condutividade; OD; potencial redox; e, temperatura, foram os parâmetros avaliados.] [As conclusões obtidas foram: nos experimentos sem etanol os BTX foram degradados em até 102 dias ( $k_{BTX} = 0,114 \text{ dia}^{-1}$ ) tendo o T e o B sidos degradados primeiros e o X por último. Nos experimentos em que o etanol foi adicionado, houve uma cinética de degradação maior para T e X, em detrimento do B, porém no final (dia 134) todos estavam quase na mesma concentração ( $k_{BTX} = 0,049 \text{ dia}^{-1}$ ); o etanol aumentou em 60% o tempo de degradação dos BTX, porém, em função da baixa velocidade de migração das plumas, o efeito produzido pelo etanol da degradação de compostos monoaromáticos de petróleo, não tem conseqüências lesivas para o meio ambiente; deste modo, a atenuação natural mostra-se como uma boa alternativa para os processos de remediação.]

---

---

## Abstract

---

---

Serious environmental problems have been occurring worldwide due to soil and aquifer contamination by gasoline. In Brazil, this subject takes other different characteristics due to the use of ethanol-amended gasoline, which lowers air pollution and enhances combustion capacity. However, the consequences of this ethanol addition in the gasoline to remediation processes of contaminated sites are not well known. The natural attenuation process is largely employed to decontaminate petroleum hydrocarbon contaminated sites. It consists in the use and monitoring of naturally occurring processes (e.g., biodegradation, adsorption, volatilization) which cause the contaminant depletion. This study evaluated the potential for natural attenuation in lab experiments with microcosms of BTX compounds and ethanol present in soil samples collected from *Fazenda Experimental da Ressacada* (Florianópolis, SC). The samples were kept during 134 days at a controlled temperature of  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . BTX concentration, ethanol, iron (II), sulfate, nitrate, nitrite and phosphate; pH, conductivity; DO; redox potential, and temperature were the parameters analyzed. The results are the following: in the experiments without ethanol, the BTX compounds were degraded within 102 days ( $k_{BTX} = 0,114 \text{ day}^{-1}$ ), firstly benzene and toluene, and lately xylene. In the experiments with the addition of ethanol, there was a greater degradation kinetics for toluene and xylene than for benzene. However, at the end (day 134) all compounds could be found almost in the same concentration ( $k_{BTX} = 0,049 \text{ day}^{-1}$ ); ethanol enhanced 60% the BTX degradation period, but due to the low velocity of plume migration, the effect of ethanol on petroleum monoaromatic compounds degradation does not have harmful consequences to the environment. Thus, natural attenuation is found to be a good alternative as a remediation process.

---

## GLOSSÁRIO

---

- Aceptor** – Elemento químico ou substância que tem a capacidade de receber ou aceitar prótons ou elétrons, transferindo-os depois, geralmente, para outras substâncias.
- Adaptação** – Modificação estrutural, bioquímica ou funcional de um organismo em consequência de uma mutação (acidental), que torna o indivíduo mais apto às condições de vida local.
- Adsorção** – Adesão de partículas de uma substância à superfície de um corpo.
- Aeróbio** – Todo organismo que requer a presença do oxigênio na sua respiração; qualidade que caracteriza a maioria dos seres vivos.
- Aerobiose** – Forma de vida dos seres aeróbios. O mesmo que *respiração aeróbia*.
- Alóctone** – Diz-se da espécie ou do indivíduo que não é natural da região onde habita. Mesmo que exótico.
- Anacróbio** – Termo que designa qualquer organismo que consegue viver na ausência de oxigênio.
- Anacróbio Estrito** – organismo anaeróbio que morre na presença de oxigênio.
- Anaeróbio Facultativo** – organismo anaeróbio que tolera a presença do oxigênio.
- Anaerobiose** – Forma de vida dos seres anaeróbios.
- Ânion** – Elemento que, na eletrólise, se dirige para o pólo positivo; isto é, íon com carga negativa.
- Anoxia** – Condição de pouco ou nenhum oxigênio no meio ou na célula.
- Aqüífero** – Formação geológica subterrânea que estoca água subterrânea.
- Autóctone** – Natural da região em que se encontra. Mesmo que *indígena e nativo*.
- Bactéria** – Denominação dada aos organismos unicelulares procariotos, esquizomicetos, do Reino Monera, e que são os seres mais simples da Terra.
- Bioaugmentação** – Sistema de melhoramento do processo de biodegradação, pela introdução de microorganismos específicos na área contaminada.
- Biodegradabilidade** – Habilidade que uma substância tem para ser quebrada fisicamente e/ou quimicamente por microorganismos.
- Biodegradação** – Processo onde a quebra de uma substância ou composto é ativada por organismos vivos, tais como bactérias e fungos (autóctones ou alóctones).
- Biodiversidade** – Número e variedade de diferentes organismos num complexo ecológico, no qual eles ocorrem naturalmente.
- Bioestimulação** – Processo através do qual populações microbianas são introduzidas numa área que foi previamente tratada com adição de nutrientes e/ou obras de engenharia, para acelerar o processo de biodegradação.
- Biorremediação** – Processo que utiliza microorganismos para restabelecer uma área contaminada.

- Biorremediação Intrínseca** – Tipo de biorremediação *in situ* que usa a capacidade inata dos microorganismos indígenas para degradar contaminantes, sem que haja utilização de qualquer processo mecanizado.
- Biorrestauração** – Processo de retorno de um ambiente contaminado para o original, ou próximo deste, pela adição de microorganismos vivos.
- Biota** – Todos os organismos vivos de uma determinada área.
- BTEX** – Sigla que significa *benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno*, compostos presentes na gasolina e em outros produtos derivados do petróleo.
- Carcinogênico** – Substância capaz de causar câncer. Mesmo que cancerígeno.
- Cátion** – Íon de carga positiva que se dirige para o cátodo, na eletroforese.
- Cometabolismo** – Reação no qual microorganismos transformam um contaminante, ainda que ele não sirva como fonte de energia. Para isto, os microorganismos requerem a presença de outros compostos (substratos primários) para sustentar seu crescimento.
- Decompositores** – Microorganismos encontrados no solo ou em ambientes aquáticos, que ocupam o último nível trófico das cadeias alimentares. São organismos de putrefação.
- Denitrificantes** – Bactérias de vida livre, encontradas no solo ou na água, que decompõem a uréia e a amônia de restos cadavéricos ou dejetos, liberando nitrogênio molecular ( $N_2$ ) para a atmosfera. Mesmo que *desnitrificantes*.
- Diauxie** – Biodegradação seletiva de alguns compostos orgânicos em detrimento de outros, o qual, às vezes, ocorre quando os compostos estão presentes numa mesma mistura.
- Ecossistema** – Designação de amplo sentido que vincula o sistema de relações mútuas entre os fatores bióticos (com vida) e abióticos (sem vida) de uma dada região.
- Espécie** – Organismos semelhantes entre si, capazes de se entrecruzarem deixando descendentes férteis.
- Esporo** – Tipo de célula de resistência que também serve como fonte de reprodução assexuada; algumas espécies de fungos, algas e bactérias possuem.
- Fermentação** – Modalidade de respiração anaeróbia praticada por algumas bactérias e leveduras; consiste na degradação incompleta da glicose, que é transformada em  $CO_2$  e água.
- Ferrobactéria** – Tipo de bactéria anaeróbia que oxida os sais ferrosos à férricos, obtendo assim a energia necessária para proceder à *quimiossíntese*.
- Fosforilação** – Reação de adição do radical  $HPO_4$ , proveniente do ácido fosfórico, à uma outra molécula através da mediação de enzimas do grupo das fosforilases.
- Fotólise** – Decomposição química de uma molécula mediante a ação da luz.
- Fotossíntese** – Fenômeno pelo qual organismos clorofilados produzem compostos orgânicos a partir de materiais inorgânicos, utilizando a energia fornecida pelo sol.
- Hábitat** – Local físico onde vivem os seres de uma determinada espécie.
- Heterótrofa** – Tipo de nutrição característica dos organismos que revelam inteira incapacidade de produzir matéria orgânica exclusivamente a partir de compostos inorgânicos. Mesmo que *heterotrófica*.
- Hidrocarbonetos Aromáticos** – Composto químico formado por anel (ou anéis) de benzeno.

**Hidrólise** – Toda reação química de decomposição, ou quebra, de uma molécula em outras, pela ação da água.

**IN SITU** – No local. Mesmo que *IN LOCO*.

**IN VIVO** – Atividade experimental praticada em organismo vivo.

**Metabolismo** – Conjunto de reações químicas organizadas, que se processam no organismo visando o armazenamento e o consumo de energia para as atividades biológicas.

**Metabólito** – Toda e qualquer substância introduzida no organismo, ou nele formada, em função dos processos metabólicos.

**Microcosmos** – Conjunto de frascos de laboratório, que visa reproduzir, tão parecida quanto possível, as condições do ambiente natural.

**Mineralização** – Degradação completa de químicos orgânicos para gás carbônico, água e, possivelmente, à outros compostos inorgânicos.

**Nicho** – Posição funcional ou lugar biológico de um organismo, uma espécie ou uma população, dentro de um ecossistema.

**Nitrificantes** – Bactérias de vida livre, autótrofas e quimiossintetizantes, encontradas no solo que fazem a conversão da amônia em nitritos e nitratos. Mesmo que *nitrobactérias*.

**Nutriente** – Substância que fornece calorías ao organismo, já que conserva em suas ligações, considerável quantidade de energia.

**Oxidação** – Qualificação das reações químicas em que um dos reagentes é o oxigênio ou, então, nas quais se observa a perda de elétrons de uma substância.

**Oxirredução** – Designação geral das reações químicas, fisiológicas e ambientais, em que há perda e/ou ganho de elétrons entre os reagentes.

**pH** – Símbolo para indicar a concentração iônica de hidrogênio num determinado meio, o que retrata a medida da alcalinidade, neutralidade ou acidez desse meio.

**Pluma** – Zona onde os contaminantes estão dissolvidos.

**População** – Conjunto, mais ou menos numeroso, de indivíduos de uma mesma espécie que convivem numa determinada área ou região.

**Quimiossíntese** – Processo natural de obtenção de compostos orgânicos a partir de substâncias simples, como a água e o gás carbônico, sem contudo utilizar a energia fornecida pelas radiações luminosas, mas, efetivamente, à custa da energia de reações exergônicas de oxidação, previamente executadas.

**Redução** – Tipo geral de reação química em que há ganho de elétron(s) por uma substância, resultando na diminuição da sua eletropositividade.

**Respiração** – Mecanismo biológico que se faz notar pelas trocas gasosas entre os seres vivos e o meio ambiente mas que na realidade, serve para obtenção de energia, pelas células, através de reações de oxi-redução dos materiais a elas incorporados através do *anabolismo*.

**Respiração Aeróbia** – Tipo de respiração celular que requer a participação do oxigênio molecular - como aceptor final de elétrons - para evitar a acidose metabólica. Mesmo que respiração aeróbica.

**Respiração Anaeróbia** – Forma de respiração dos organismos que vivem sem a presença do oxigênio molecular. Tais organismos promovem a oxidação de compostos orgânicos com liberação de  $H^+$ , que são recebidos por compostos inorgânicos: nitratos, sulfatos e carbonatos. Mesmo que respiração anaeróbica.

**Solo** – Camada mais externa da superfície terrestre, susceptível de ser lavrada e plantada. É dividido em horizontes: A- predomina matéria orgânica; B- abundam os sais minerais; e, C- ocorrem fragmentos de rocha.

**Sorção** – Recolhimento de uma substância na superfície de um sólido por atração física ou química.

**Sub-produtos** – Materiais gerados como resultado de um processo.

**Volatilização** – Transferência de um químico de um líquido para a fase gasosa. Mesmo que evaporação.

---

---

# CAPÍTULO I

---

---

## INTRODUÇÃO

Contaminação de aquíferos por gasolina tem ocorrido com muita frequência nas últimas décadas, acarretando grandes problemas ambientais, devido ao alto poder tóxico dos constituintes da gasolina (benzeno, tolueno e xileno – BTX), causando efeitos mutagênicos e genotóxicos.

No Brasil, este problema toma características diferentes porque é adicionada à gasolina comercial (GC) uma porcentagem de etanol (22 a 24%). Estudos indicam que a presença do etanol aumenta a solubilidade dos constituintes tóxicos da gasolina, facilitando o deslocamento no solo e, comprometendo fontes de água potável (FERNANDES, 1997). →

Os BTX são hidrocarbonetos de cadeia fechada, de difícil degradação. Recentes pesquisas mostram que a degradação dos BTX ocorre por causa da atuação de microorganismos, que os utilizam como fonte de energia. Porém, esta atuação depende muito da concentração dos BTX, da quantidade de nutriente, do tempo de exposição, e da quantidade de aceptor final de elétrons (oxigênio, sulfato, ferro III, nitrato e gás carbônico).

A biodegradação dos BTX é comandada por leis termodinâmicas onde, a reação que tem preferência é a que resulta em maior quantidade de energia. Devido a esta consideração, as reações de óxido-redução, preferida pelos microorganismos, são as que utilizam o oxigênio como aceptor final de elétrons. Por isso, as tecnologias que estão sendo empregadas têm como princípio o suprimento de grandes quantidades de oxigênio na pluma de contaminação. Entretanto, estas técnicas são muito dispendiosas e de difícil monitoragem.

Embora as reações que envolvam o oxigênio sejam termodinamicamente mais favoráveis, a concentração do oxigênio diminui, chegando à zero, na pluma, devido ao aumento do crescimento e da respiração dos microorganismos. Instalando, então, ambiente anaeróbio, onde os microorganismos que irão atuar na biodegradação têm características bem diferentes dos de ambiente aeróbio. As reações que ocorrem em ambientes anaeróbios podem ser as que utilizam o nitrato, o sulfato, o ferro III e o gás carbônico como acceptor final de elétrons.

Dependendo do microorganismo presente, do pH e do potencial redox, ocorrerá uma seqüência preferencial de reações. Termodinamicamente, a ordem de ocorrência das reações é: Redução de Nitrato > Redução de Fe III > Redução de Sulfato > Metanogênese. Levando-se em consideração esta seqüência, pode existir na pluma de contaminação uma sucessão de eventos onde predomina apenas um dos aceptores final de elétrons.

Devido a instalação natural da anaerobiose, a biodegradação anaeróbia assume grande importância em processos que visam a descontaminação de aquíferos contaminados com hidrocarbonetos, como a atenuação natural.

De modo geral, a atenuação natural refere-se aos processos físicos, químicos e biológicos que facilitam a remediação natural. Estes processos incluem a biodegradação, dispersão, sorção e volatilização.

Segundo recomendações do *Committee on In Situ Bioremediation*, a avaliação da estratégia de formação de um consistente e lógico caso para biorremediação, deve ser baseado na convergência de três linhas independentes de evidência (TIEDJE, 1993):

1. Verificação da perda do contaminante no sítio;
2. Pesquisas laboratoriais que demonstram que os microorganismos têm o potencial para transformar os contaminantes, sob condições esperadas;
3. Outras evidências que corroboram com as outras duas, demonstrando que a biodegradação está ocorrendo naquele momento, no sítio contaminado.

Segundo WEINER & LOVLEY (1998), o desenvolvimento de estratégias coerentes para a remediação de aquíferos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, requer o entendimento da habilidade dos microorganismos em degradar estes contaminantes.



Fazendo parte de um projeto no qual uma área localizada na Fazenda Experimental da Ressacada (Fpolis/SC) foi contaminada com a gasolina comercial brasileira, projeto que é uma parceria entre PETROBRÁS/CENPES e UFSC/REMAS, este experimento teve como objetivo avaliar o potencial dos microorganismos autóctones na atenuação natural de BTX, em presença e ausência de etanol, através de estudos em microcosmos (conduzidos em laboratório).

---

## CAPÍTULO II

---

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. Generalidades sobre a Gasolina

Os hidrocarbonetos (HC) de petróleo consistem em misturas de frações destiladas do óleo cru. As frações incluem compostos alifáticos, aromáticos e asfálticos obtidos durante o processo de refinamento. Os valores, de temperatura, usados para obter a separação dos combustíveis, estão entre 23° a 320°C (BOWLEN & KOSSON, 1995).

O comportamento dos constituintes da gasolina, no solo, está associado às propriedades físicas e químicas da gasolina bem como as características do solo por onde ela percola; e, a permanência e a distribuição da gasolina no solo são influenciadas pelo processo de migração. O solo é definido como material mineral não-consolidado (solto) que se estende desde a superfície até o embasamento de rocha. O solo consiste em ar ou vapor, água e uma variedade de sólidos do solo; é dividido em duas zonas da subsuperfície: a zona não-saturada e a zona saturada (MACKAY & CHERRY, 1989). A zona não-saturada se estende desde a superfície do chão até o topo da franja capilar e contém vapor do solo e uma quantidade menor de água do solo. A zona saturada se estende desde o topo da franja capilar até o fundo do lençol freático. Nela, os espaços vazios entre os sólidos, do solo, estão totalmente preenchidos por líquidos, e a água que se encontra nesta zona é chamada de água subterrânea. A franja capilar é a porção superior da zona saturada onde a água subterrânea se encontra, acima da superfície do lençol freático, devido as forças capilares. Para se compreender o comportamento dos constituintes da gasolina no solo é preciso conhecer as características da gasolina, o processo de transporte e a migração dos constituintes da gasolina.

A gasolina comercial brasileira (GCB) é uma mistura de 76% de gasolina pura (GP) e 24% de etanol. O etanol é um solvente orgânico polar que começou a ser adicionado na gasolina na década de 70, após a crise do petróleo; este procedimento proporciona economia de petróleo (por aumentar a octanagem da gasolina, aumentando o rendimento dos motores) e, a diminuição da poluição atmosférica, já que reduz a emissão de dióxido de carbono em 50% e a de HC em 40% (BRASIL, 1979; MORMILE et al., 1994; FERNANDES, 1997). Apesar de ser uma conduta muito empregada mundialmente, e em alguns casos utilizando diferentes aditivos (MTBE ou metanol), pouco se conhece sobre os efeitos ambientais provocados por esta mistura e, a magnitude da redução da emissão de CO é incerta (GAFFNEY et al., 1997).

Muito embora haja redução da emissão de alguns compostos tóxicos para a atmosfera (compostos estes utilizados como critério de poluição), existe, quando há queima de etanol ou metanol, a produção de acetaldeídos e formaldeídos primários. O acetaldeído pode reagir com o OH livre na atmosfera e formar o radical peroxiacetil que reage com o NO<sub>2</sub> atmosférico e forma o peroxiacil nitrato (PAN) (que não é utilizado como critério de poluição) que é um forte agente lacrimante e mutagênico. Também, a formação do PAN pode interferir na concentração de ozônio na região (GAFFNEY et al., 1997).

Existem, no Brasil, aproximadamente 26.000 postos de gasolina (ANP, 1999). Segundo a PETROBRÁS, em 1995, o país consumiu 38 milhões de L/dia de gasolina. Não existem estimativas do número de tanques com vazamento ou prestes a vazar (CORSEUIL & ALVAREZ, 1996); porém, sabe-se que existem e que trazem perigosas conseqüências à população, já que provocam a contaminação de solos e águas subterrâneas por substâncias tóxicas; 51% de toda a água potável do Brasil é de origem subterrânea (FERNANDES, 1997). Em São Paulo, 70% da água potável é retirada de águas subterrâneas (CORSEUIL & MARINS, 1997).

Num derramamento de gasolina, um dos principais receios é de que haja a propagação dos contaminantes até às fontes de abastecimento de água potável. Devido a sua pouca solubilidade em água, a gasolina estará, no subsolo, em forma de líquido de fase não-aquosa (NAPL) (Figura 01); isto é, se dissolverá parcialmente. Os HC monoaromáticos benzeno, tolueno e o xileno (BTX) são os constituintes da gasolina de maior solubilidade na água e, então, portanto os primeiros a contaminar o lençol freático (CORSEUIL, 1992).

A gasolina brasileira por conter 24% de etanol na sua constituição, pode exibir um comportamento adverso, do etanol e dos BTX, no deslocamento da pluma. Uma vez que o etanol é solúvel em água, a sua concentração deverá ser maior que a dos BTX em águas subterrâneas contaminadas com a gasolina brasileira. Entretanto, o efeito negativo que pode ser causado pela presença do etanol na atenuação natural da gasolina brasileira, pode ser substituído pela diminuição da poluição atmosférica (CORSEUIL, 1997).

As preocupações relacionadas às possíveis contaminações das águas subterrâneas por derramamento de gasolina vêm aumentando no Brasil. São Paulo e Curitiba já demonstram interesse pelo assunto, sendo que a cidade de Curitiba, em sua Lei Orgânica, já trata desta problemática. Em nosso estado, Joinville já iniciou estudos em postos de gasolina da cidade constatando que em apenas um deles não havia problemas de contaminação (CORSEUIL & MARINS, 1997).

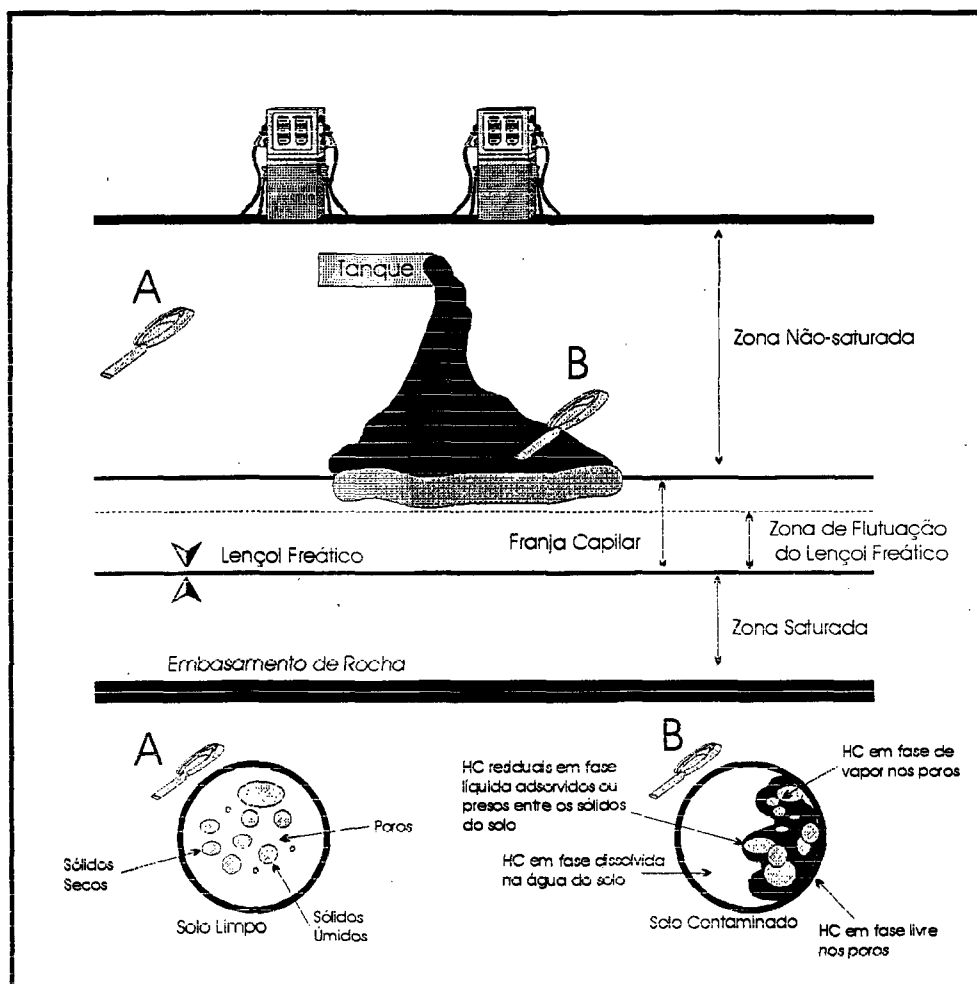


Figura 01- Representação das diferentes fases em que os HC podem ser encontrados na zona saturada (CORSEUIL, 1997).

## 2.2. Propriedades dos BTX e do Etanol

Compostos orgânicos parecem ser um dos maiores problemas de poluição das águas subterrâneas. Dentre estes, encontram-se os BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) que são constituintes do petróleo. O petróleo é uma mistura complexa de inúmeros compostos orgânicos, com predominância de hidrocarbonetos; sua composição varia de acordo com a sua procedência (CLINE et al., 1991). Do petróleo podemos extrair várias substâncias: querosene, lubrificantes, óleo diesel e a gasolina.

Os BTX constituem a fração mais solúvel e móvel da gasolina (Tabela 01). Estes contaminantes são considerados perigosos por serem potenciais causadores de depressão do sistema nervoso central (SNC) e também, de leucemia (EVANS et al., 1991; EDWARDS et al., 1992; CORSEUIL & ALVAREZ, 1996). Em certos países desenvolvidos, cerca de 75% dos casos de câncer são de origem ambiental. O benzeno é considerado o mais tóxico dos BTX. A Resolução 020/86 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), tendo em vista o efeito nocivo do benzeno, estabeleceu o limite máximo que pode ser encontrado nas águas: 0,01mg/L (CONAMA, 1992).

Como citado anteriormente, existe uma tendência de que a concentração do etanol seja maior que a dos BTX, no solo, devido à sua alta solubilidade; assim, como os compostos altamente solúveis têm menor potencial de sorção, o etanol terá uma mobilidade maior do que os compostos BTX, em águas subterrâneas. No caso da gasolina brasileira, que é misturada com etanol, existem poucos estudos que relatem o impacto do etanol na biodegradação dos BTX. Haja vista que a gasolina brasileira possui uma fração de etanol, existe grande possibilidade de que o oxigênio seja rapidamente consumido antes que a maior parte dos BTX seja degradado por vias aeróbias (EDWARDS et al., 1992; CORSEUIL et al., 1998). Experimentos já realizados, demonstram que o etanol causa uma grande demanda adicional de oxigênio, em relação aos outros componentes solúveis da gasolina, e irá, possivelmente, diminuir a extensão da degradação aeróbia dos BTX nos aquíferos, pois, limita o oxigênio (CORSEUIL et al., 1998).

Tabela 01- Características Físico-Químicas dos BTX e do Etanol

Características	Benzeno	Tolueno	<i>o</i> - xileno	Etanol
Fórmula molecular	$C_6H_6$	$C_7H_8$	$C_8H_{10}$	$C_2H_5OH$
Peso molecular	78,11	92,14	106,17	46,07
Solubilidade em água (20°C mg/L)	1780,0	470 - 530	142 - 220	-
Pressão de Vapor (20°C - Pa)	10.000 a 10.130	2.900	820 - 870	-
Ponto de Fusão (°C)	5,5	-95	-13,2	-114,1
Ponto de Ebulição (°C)	80,1	110,6	144,4	78,5
Densidade (25°C)	0,8765	0,8669	0,8802	0,79
Mcia Vida	1-2 dias atmosfera 4,5 horas água	1-2 dias atmosfera 2,6 dias/fotoquímica	2,6 dias/ fotoquímica	-
Toxicidade em mamíferos (LD <sub>50</sub> - oral ratos, mg/Kg)	4.700	3.500	-	-

HOWARD (1990) ; EURECO (1991) e API (1993)

A solubilidade é um dos principais parâmetros que afetam a distribuição e o transporte de compostos químicos no ambiente. O aumento da concentração de contaminantes na fase aquosa, resulta no aumento da demanda de aceptores de elétrons, necessária para que ocorra a atenuação natural (CORSEUIL, 1997).

A solubilidade dos BTX pode ser aumentada pelo efeito de co-solvência do etanol. Experimentos envolvendo gasolina e etanol demonstram que, com o aumento do etanol na fase aquosa, houve um significativo aumento nas concentrações dos BTX, sendo que o efeito foi diretamente proporcional à hidrofobicidade dos compostos:  $X > T > B$  (FERNANDES, 1997).

Dentre os BTX, o benzeno é considerado o mais tóxico por ter maior potencial carcinogênico e por ser o mais solúvel em água. Também, é o mais estável, devido à distribuição simétrica dos elétrons no anel benzênico.

### 2.3. Legislação

Acidentes ambientais, ocorridos durante o transporte e/ou corrosão dos tanques de armazenamento subterrâneo, resultam na contaminação de solos e aquíferos e, têm ocorrido com muita frequência em diversas regiões do planeta (EDWARDS & GRBIC'-GALIC', 1994; THIEM et al., 1994; HART, 1996).

As medidas preventivas e corretivas para preservação e proteção da flora e da fauna aquáticas basearam-se em estudos ecotoxicológicos, por meio dos quais foram estabelecidos limites permissíveis de poluentes na água. Assim, esses limites passaram a ser utilizados com frequência no fornecimento de subsídios às ações de controle denominados padrões de qualidade de água e efluentes. Porém, nem sempre a utilização desses padrões de qualidade, medidos através das análises físico-químicas, é suficiente para avaliar sistemas aquíferos contaminados. Devido a complexidade e variabilidade de compostos orgânicos e inorgânicos que podem estar presente num corpo hídrico, há necessidade de se regulamentar sua caracterização (SANTOS, 1996).

No Brasil, o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) estabeleceu, através da Resolução 020 de 1986, os padrões de abastecimento à população humana. Esta norma estipula um valor máximo permissível para o benzeno ser encontrado na classe de água potável: 0,01mg/L (10ppb). Entretanto, o EPA estipula 5ppb, no máximo.

Os valores máximos permissíveis para o tolueno e os xilenos não estão regulamentados na legislação positiva brasileira. Porém, algumas organizações já estabeleceram valores aceitáveis da concentração de tolueno e dos xilenos em água potável. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), estabeleceu valor máximo de 1.000ppb para o tolueno e de 10.000ppb para cada xileno; o Canadá, através da Agência da Saúde e Bem-estar (H & W), padronizou os valores máximos de 24ppb para o tolueno e 3000ppb para cada xileno; e, a OMS (Organização Mundial da Saúde) regulamentou apenas o valor para a concentração aceitável de tolueno: 0,01mg/L (GUINGER, 1996).



A Legislação Ambiental Básica de Santa Catarina encontra-se na Lei 5 793 (de 15/10/1980) e no Decreto 14 250 (de 05/06/1981) que “*dispõe sobre a proteção e melhoria da qualidade ambiental e dá outras providências*”, determina apenas as concentrações aceitáveis para alguns tipos de metais e biocidas organoclorados, não menciona valor algum para os compostos derivados da gasolina (GOVERNO DO ESTADO DE SANTA CATARINA, 1995).

Em 28 de maio de 1998, o Governo Federal através de Medida Provisória (MP-1662), que dá nova redação ao artigo 9º da Lei 8723 (que dispõe sobre a redução de emissão de poluentes por veículos), fixa em “*22% o percentual obrigatório de adição de álcool etílico anidro combustível à gasolina em todo território nacional*”; e que, “*o Poder Público poderá elevar o referido percentual até o limite de 24%*” (GOVERNO FEDERAL, 1998).

## 2.4. Atenuação Natural

Atenuação natural é um termo que se refere aos processos físicos, químicos e biológicos que facilitam a remediação natural. Estes processos incluem biodegradação, dispersão, sorção e volatilização (MARESCO et al., 1995; CORSEUIL & MARINS, 1997). Os mecanismos de atenuação natural podem ser descritos como destrutivos e não-destrutivos. Os não-destrutivos incluem a dispersão mecânica e molecular, adsorção e volatilização; os destrutivos, são a biodegradação, a oxidação abiótica e a hidrólise (HERRINGTON et al., 1995).

Constituintes HC quando dissolvidos, podem ser transportados pelos movimentos das águas subterrâneas. Os mecanismos primários que irão limitar o transporte subsuperficial de HC dissolvidos são a biodegradação e, com menos expressão, a volatilização. Reações não biológicas (abióticas), tal como a hidrólise, são menos importantes porque muitos HC são relativamente estáveis sobre as condições ambientais da grande maioria dos aquíferos (BORDEN, 1994).

Numerosas pesquisas indicam que a biorremediação natural (ou intrínseca) é o principal mecanismo para a atenuação de HC de petróleo em solos contaminados. A biorremediação natural é o processo através do qual os microorganismos, que ocorrem naturalmente no solo, degradam contaminantes na subsuperfície e, ao mesmo tempo, minimizam os riscos à saúde pública e ao meio ambiente. Geralmente, os microorganismos presentes são as bactérias, porém, pode-se também encontrar fungos.

A biorremediação natural não é uma alternativa de “não agir”, porque ela requer o acompanhamento da participação dos microorganismos na eliminação dos contaminantes, de acordo com o monitoramento em campo e testes em laboratório (NOVICK et al., 1995). O procedimento de biorremediação natural pode ser utilizado sozinho ou em conjunto com outras técnicas de remediação, tanto seqüencialmente quanto simultaneamente (NORRIS, 1994).

Muitas pesquisas laboratoriais e em campo, têm mostrado que as bactérias que degradam HC podem participar da degradação de componentes químicos da gasolina, incluindo os compostos BTX (WIEDEMEIER et al., 1995 a,b).

Haja vista que a biodegradação é o principal mecanismo de transformação dos HC de petróleo, a determinação da taxa de transformação é de suma importância para prever o deslocamento da pluma. Quando a taxa de biodegradação for maior ou igual a taxa de deslocamento dos contaminantes, a pluma deixará de se deslocar e diminuirá de tamanho (Figura 02). Neste caso, se a fonte receptora não fosse contaminada, não haveria a necessidade de implantação de tecnologias ativas de remediação e então, a remediação natural seria a opção mais econômica de recuperação da área contaminada (CORSEUIL & MARINS, 1997).

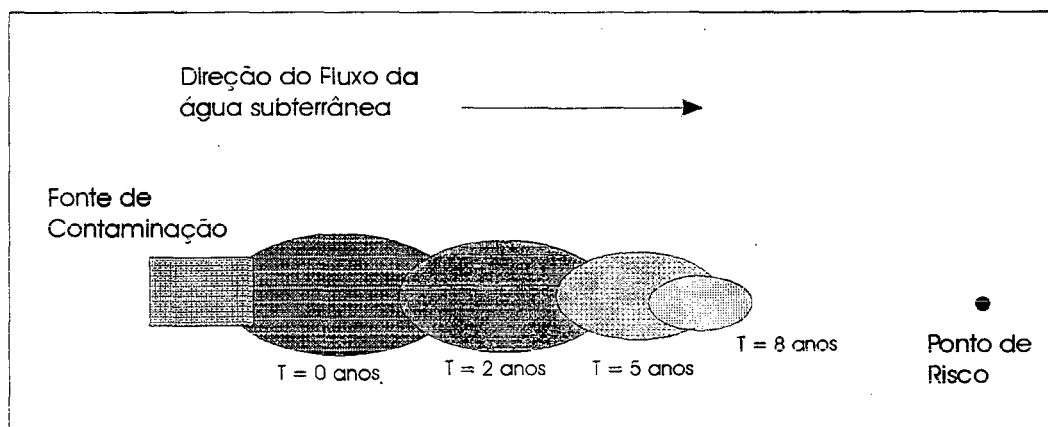
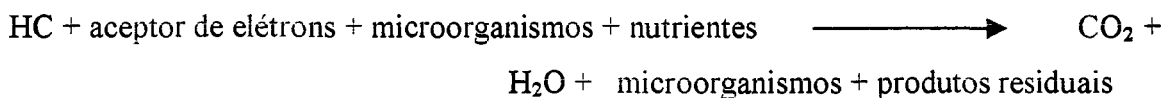


Figura 02 - Exemplo de atenuação natural de uma pluma de HC de petróleo.

A eliminação de contaminantes é acompanhada pela biodegradação, por exemplo, a biodegradação de HC de petróleo, por microorganismos indígenas (nativos) da subsuperfície, é uma reação de oxido-redução onde o HC é oxidado (doa elétrons) e um aceptor de elétrons é reduzido (recebe elétrons). Muitos compostos viáveis na subsuperfície e nas águas subterrâneas podem servir como aceptores de elétrons para uma reação apropriada de oxido-redução: oxigênio ( $O_2$ ), nitrato ( $NO_3^-$ ), óxido de ferro [ $Fe(OH)_3$ ], sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ). O processo de metabolização de compostos orgânicos quando utilizam o oxigênio como aceptor final de elétrons é chamado de respiração aeróbia. Os produtos da respiração aeróbia são o dióxido de carbono, a água e a biomassa celular. Quando os microorganismos usam uma substância inorgânica, que não o oxigênio, como aceptor final de elétrons, o processo chama-se respiração anaeróbia. Ferro, nitrato e sulfato são exemplos de aceptores finais de elétrons alternativos. Os sub-produtos da respiração anaeróbia podem incluir gás

nitrogênio (N<sub>2</sub>), gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S), formas de metais reduzidas e metano (CH<sub>4</sub>), dependendo do aceptor de elétrons (MARESCO et al., 1995).

A biodegradação dos HC pode ser representada pela seguinte reação química:



A taxa e a extensão da biodegradação dos HC na subsuperfície dependerá de muitos fatores: quantidade e qualidade dos nutrientes e dos aceptores de elétrons; tipo, número e capacidade metabólica dos microorganismos; e, composição do montante de HC. Enquanto, virtualmente, todos os HC de petróleo são biodegradáveis, a taxa e a extensão da biodegradação pode ser altamente variável. Dependendo das condições ambientais, a biodegradação pode ser mais rápida ou mais lenta.

A biorremediação intrínseca é a mínima aplicação intensiva da biorremediação. Ela usa os níveis ambientais de aceptores de elétrons e de nutrientes. Pode ser tanto um processo aeróbio (quando usa oxigênio) quanto anaeróbio (quando usa aceptores alternativos). A biorremediação intrínseca é efetiva no controle e mitigação de plumas dissolvidas. O tempo de tratamento varia consideravelmente dependendo do nível de contaminação. Em alguns casos, a biorremediação intrínseca pode ser tão rápida, ou mais rápida, quanto os processos intensivos de biorremediação.

## 2.5. Uso de diferentes aceptores de elétrons para a biodegradação

O potencial de oxido-redução representa a habilidade que uma molécula tem de participar do transporte de elétrons, isto é, reflete a capacidade de reduzir-se ou oxidar-se (CALDWELL, 1995). No ambiente de subsuperfície, onde a fotossíntese não ocorre, a produção e transferência de elétrons é a atividade que governa todos os processos microbiológicos. O fluxo de elétrons através de uma cadeia alimentar microbiológica é chamada de *Reação Terminal da Aceptor do Elétrons*; e, o último composto que é reduzido na cadeia é o *Aceptor Final de Elétrons* (AFE).

As reações de degradação mediadas biologicamente são reações de oxido-redução (redox), que envolvem a transferência de elétrons de contaminantes orgânicos para um aceptor de elétrons. O oxigênio é o aceptor de elétrons para o metabolismo aeróbio, enquanto nitrato, sulfato, ferro e dióxido de carbono são aceptores alternativos de elétrons de vias anaeróbias (Tabela 02). Desta transferência de elétrons resulta energia, a qual é utilizada para a manutenção e crescimento celulares. A energia bioquímica que está associada às vias alternativas de degradação podem ser representadas pelo potencial redox. Organismos com vias metabólicas mais eficientes crescem mais rápido e, por isso, podem dominar formas menos eficientes.

Tabela 02 - Caracterização das vias metabólicas

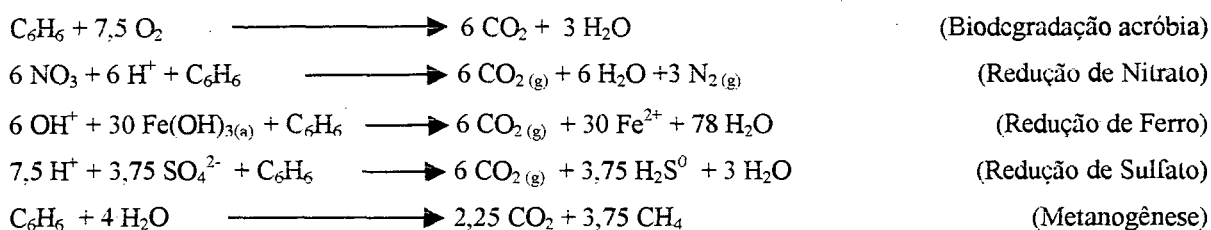
Aceptor de elétron**	Tipo de Reação**	Sub-produtos Metabólicos**	Potencial ** redox (voltz)	Fonte**	Concentração Média (mM)*	Concentração De H <sub>2</sub> (mM) *
O <sub>2</sub>	aeróbia	CO <sub>2</sub>	+ 820	atmosfera	0 - 0,4	< 0,1
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> / NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	anaeróbia	N <sub>2</sub> / CO <sub>2</sub>	+740	agricultura	0 - 20	< 0,1
Fe <sup>+3</sup>	anaeróbia	Fe <sup>+2</sup>	- 50	minerais	pouco	0,2 - 0,6
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	anaeróbia	H <sub>2</sub> S	- 220	minerais	0 - 15	1 - 4
CO <sub>2</sub>	anaeróbia	CH <sub>4</sub>	- 240	atmosfera	0 - 4	> 5

\*\* NEWELL et al., 1995.

\* SMITH, 1997.

Baseado somente nas considerações termodinâmicas, a reação energeticamente preferida pode ocorrer na pluma até todos os aceptores de elétrons requeridos serem utilizados (BROWN et al., 1995; NEWELL et al, 1995).

Numerosos aceptores de elétrons que ajudam mediar as reações são viáveis em muitos ambientes de subsolo e incluem: oxigênio, nitrato, ferro férrico, sulfato e dióxido de carbono. O cálculo estequiométrico da biodegradação do benzeno, usando cada um dos aceptores de elétrons é:



## 2.6. Reações Redox

Uma reação redox envolve elétrons. Quando um composto químico aceita elétrons, ele sofre uma redução na sua carga total. Similarmente, quando um perde elétrons, ele é oxidado. É importante notar que não existe elétrons livres como resultado da reação redox, porque uma reação completa envolve um par de reações redox (LEE, 1994).

Uma maneira de caracterizar a condição redox, é o Potencial Redox ( $Eh$ ), que tem sua unidade em mV. Reações redox de águas subterrâneas contaminadas por HC de petróleo, são geralmente controladas biologicamente através de processos de biodegradação (WEIDEMEIER, 1995a). Os valores de  $Eh$  em águas subterrâneas estão entre -400 e 800mV. Importante salientar que  $Eh$  é um valor de intensidade e não de capacidade, assim como o pH.

As reações redox devem ocorrer em ordem de sua produção termodinâmica de energia, assumindo que existem organismos capazes de facilitar cada reação e que há um adequado suprimento de BTX e acceptor de elétrons. A Tabela 3 ilustra a

seqüência esperada de reações redox mediadas biologicamente (para a oxidação do benzeno, em KJ/mol).

Tabela 3 - Seqüência esperada de reações redox.

Processo	$\Delta G^\circ$
Respiração Aeróbia	- 3.202
Desnitificação	- 3.245
Redução Ferro	- 2.343
Redução Sulfato	- 514
Metanogênese	- 136

## 2.7. Biodegradação Aeróbia

As oxidações biológicas ocorrem devido a incorporação de moléculas de oxigênio em compostos orgânicos, através de reações oxidativas mediadas por enzimas *oxigenases*. Se houver incorporação de uma molécula de oxigênio, a enzima chama-se *monoxigenase* (Via *TOL*), esta enzima é responsável pelo ataque de substituintes metil; possivelmente, é a via de degradação do tolueno e dos xilenos. Se houver incorporação de duas moléculas de oxigênio, a reação ocorre devido às *dioxigenases*, onde anéis aromáticos são atacados – Via *TOD* – e, provavelmente, o benzeno é degradado por esta via metabólica (TSAO et al., 1998).

A facilidade da biodegradação dependerá do tipo de HC. Hidrocarbonetos com peso molecular de moderado para baixo (alcanos  $C_{24}$  para  $C_{10}$ , aromáticos com anel simples) parecem ser os mais facilmente degradados entre os HC. A gasolina contém constituintes com peso molecular baixo para moderado, enquanto o diesel contém compostos com peso molecular mais alto (BORDEN, 1994).

Todos os HC de petróleo (BTX) são biodegradáveis sob condições aeróbias (ALVAREZ & VOGEL, 1991; WEIDEMEIER et al., 1994; CORSEUIL & WEBWE, 1994). O acoplamento da reação redox  $O_2 - H_2O$  tem um alto potencial de oxidação e, quando ocorre simultaneamente com reações endotérmicas envolvendo BTEX, pode ser usada por microorganismos para gerar grande quantidade de energia livre. A redução do oxigênio molecular é uma das reações redox energeticamente mais favoráveis, envolvendo a degradação do BTEX.

ALVAREZ & VOGEL (1991), observaram a completa remoção dos compostos benzeno, tolueno e *p*-xileno (em conjunto) em solos de aquíferos com culturas puras, entre 3 e 13 dias de incubação. Também, CHIANG et al. (1989) encontrou uma taxa de remoção de 80 a 100% de BTX em um aquífero de Michigan, utilizando testes em microcosmos.

A solubilidade em água limita a quantidade de oxigênio dissolvido (OD) que pode ser cedido do ar, a menos que ocorra uma injeção substancial abaixo do lençol freático. O uso do oxigênio puro no lugar do ar pode aumentar em cinco vezes a taxa de introdução do oxigênio. O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o qual se decompõe em oxigênio e água, é completamente solúvel em água. Considerações práticas, incluindo toxicidade às bactérias, limitam a concentração do peróxido de hidrogênio de 100 para 1 ppm. O peróxido de hidrogênio pode, teoricamente, prover oxigênio de 5 a 50 vezes mais rápido, diminuindo o tempo de biorremediação. Como a população microbológica diminui em função da diminuição da fonte de alimento (os contaminantes), a tolerância para com o peróxido de hidrogênio pode também diminuir. Como desfecho, o peróxido de hidrogênio pode não ser a fonte mais apropriada de oxigênio para muitos sítios (NORRIS, 1994).

A presença da enzima *benzeno dioxigenase*, que realiza a oxidação inicial do benzeno, pode interferir na seqüência da reação. Experimentos realizados por AXCELL & GEARY em 1975 (apud CHAPELLE, 1993), concluíram que *Pseudomonas putida* pode crescer em ambientes em que o benzeno é a única fonte de carbono e de energia. Esta enzima é constituída de uma flavoproteína e de duas proteínas de ferro-sulfato.



Devido a esta organização, o início da oxidação do benzeno requer a transferência de elétrons do NADH para a flavoproteína, através de uma proteína de ferro-sulfato para outra, onde a oxidação terminal do benzeno é feita (Figura 03). Esta seqüência de reações também requer, por razões não muito claras, a presença de Fe (II) dissolvido (CHAPELLE, 1993).

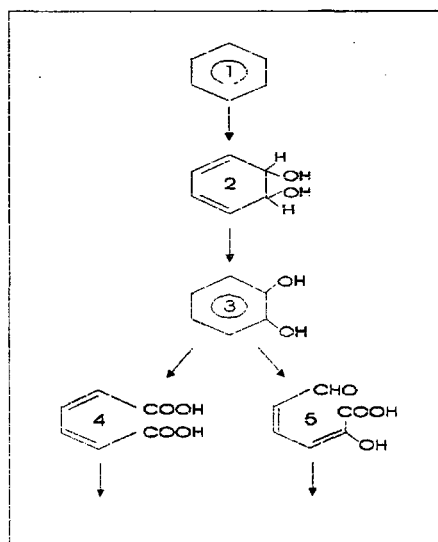
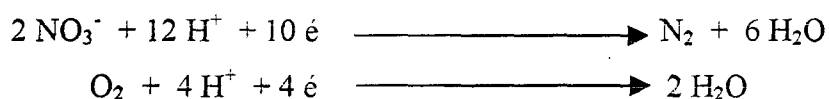


Figura 03 - Etapas iniciais da oxidação microbiana do benzeno (1) para catecol (3) via *cis*-benzeno dihidrodiol (2). Clivagem subsequente do anel seguindo 2 vias: Via ORTO (4) e Via META (5) (COLBERG & YOUNG, 1995).

## 2.8. Biodegradação Anaeróbia

Devido ao fato de que o consumo do oxigênio é rápido e a sua taxa de suprimento é baixa, por causa da sua baixa solubilidade em água, a expansão da zona aeróbia é limitada pela taxa de suprimento de oxigênio no aquífero. Condições anaeróbias são esperadas dentro de zonas de aquíferos com tratamento aeróbio, especialmente em zonas relativamente impermeáveis e em zonas mais distantes dos poços de injeção; a água é um meio ineficiente de transferência de oxigênio (REINHARD, 1994; SALANITRO et al., 1997). Para a degradação de quantidades pequenas de HC, grande quantidade de água é necessária para que o oxigênio entre em contato com os sólidos do aquífero; a completa oxidação de 1mg de HC requerer 3,1mg de oxigênio. Assim, para biorremediar 1Kg de material de aquífero contendo 10g/Kg de HC, um mínimo de 3,1m<sup>3</sup> de água oxigenada contendo 10mg/L de oxigênio deve ser adicionada. Potencialmente, a eficiência geral da biodegradação pode ser aumentada pelo uso de fontes alternativas de aceptores de elétrons que sejam mais solúveis em água. A taxa de água mantida para degradar uma massa de contaminante é mais alta se a concentração dos aceptores de elétrons for mantida alta. Os sais de nitrato são muito mais solúveis em água (92g/L ou 1,33M como nitrato de sódio) que o oxigênio (10mg/L ou 0,31mM). Comparando os valores da solubilidade em água com as meias-reações, para a redução de oxigênio e nitrato, temos:



Os equivalentes redutores que podem ser introduzidos num aquífero usando solução saturada de nitrato de sódio é aproximadamente 50 vezes mais alta comparada com a solução saturada de oxigênio (REINHARD, 1994).

Até meados de 1980 acreditava-se que em ambientes sem oxigênio os compostos monoaromáticos eram recalcitrantes; porém, estudos posteriores comprovaram a existência de biodegradação em ambientes anaeróbios, onde bactérias apresentaram-se versáteis para destruir variedades de compostos (EDWARDS & GRBIC'-GALIC', 1994; SALANITRO, 1997) (Tabela 04).

Tabela 04 - Lista de alguns HC monoaromáticos que podem ser degradados por microorganismos sob condições de redução de nitrato, redução de ferro e redução de sulfato.

<b>Composto</b>	<b>Condição</b>	<b>Referências</b>
Benzeno	Redução de Nitrato	Major et al., 1998
	Redução de Sulfato	Edwards & Grbic-Galic, 1992
Tolueno	Redução de Nitrato	Zeyer et al., 1986; Kuhn et al., 1998; Major et al., 1988; Dolfing et al., 1990; Altenschmidt & Fuchs, 1991-1992; Evans et al., 1991; Frazer et al., 1993
	Redução de Sulfato	Haag et al., 1991; Beller et al., 1992; Edwards et al., 1992; Rabus et al., 1993
Etilbenzeno	Redução de Ferro	Lovley et al., 1989; Lovley & Lonergan, 1990
	Redução de Nitrato	Ball et al., 1991; Hutchins et al., 1991; Barbaro et al., 1992
o-Xileno	Redução de Nitrato	Kuhn et al., 1985; Major et al., 1988; Evans et al., 1991; Barbaro et al., 1992
	Redução de Nitrato	Kuhn et al., 1985; Zeyer et al., 1986
m-Xileno	Redução de Sulfato	Edwards et al., 1992
	Redução de Nitrato	Kuhn et al., 1985; Hutchins et al., 1991; Major et al., 1988; Barbaro et al., 1992
p-Xileno	Redução de Sulfato	Edwards et al., 1992

COLBERG & YOUNG, 1995

Hoje sabe-se, com alto nível de certeza, que compostos orgânicos aromáticos (por exemplo os BTX), alguns compostos aromáticos polinucleares e compostos orgânicos nitrogenados heterocíclicos podem ser degradados em zonas anaeróbias do subsolo (GRBIC'-GALIC' & VOGEL, 1987; EDWARDS et al., 1992; LOVLEY et al., 1996; STRAUB et al., 1996; SALANITRO et al., 1997). Dependendo do tipo de aceptor de elétrons presente, das condições de pH e do potencial redox, a biodegradação pode ocorrer por redução de nitrato, redução de ferro, redução de sulfato ou metanogênese. Condições ambientais e competição microbológica podem determinar, em último caso, qual será o aceptor de elétrons dominante, mas num aquífero típico, que seja desprovido de oxigênio, a desnitrificação ocorre primeiro, seguida pela redução de ferro, redução de sulfato e, finalmente, pela metanogênese (SMITH, 1997) (Figuras 4 a/b). O aceptor dominante, segundo VROBLESKY & CHAPELLE (1994), pode variar tanto temporariamente quanto espacialmente num aquífero com contaminação de HC de petróleo.

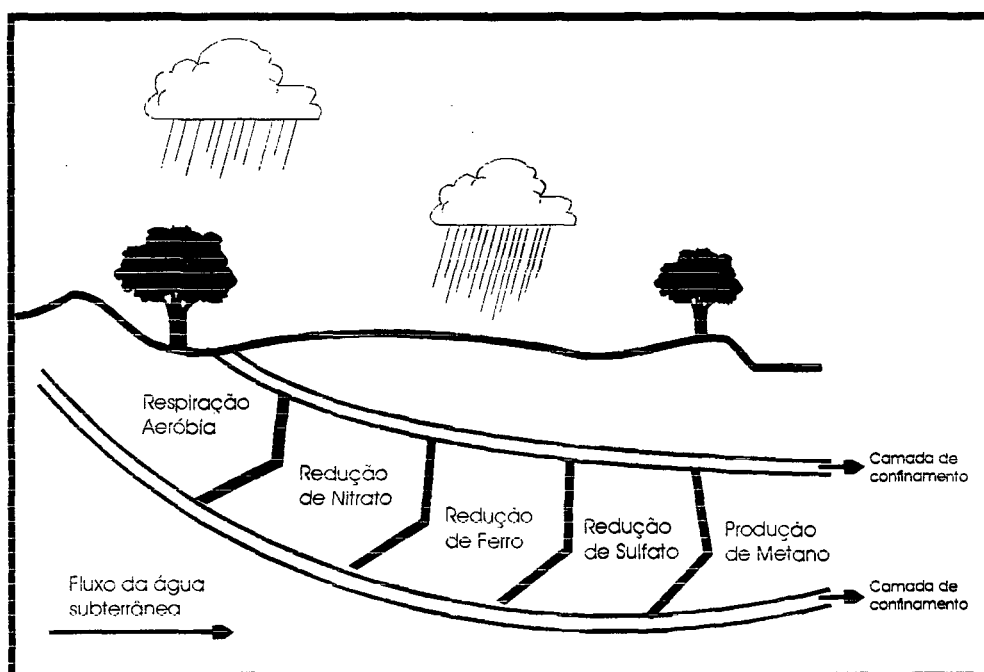


Figura 04 a - Diagrama da sucessão das reações de aceptores de elétrons em águas subterrâneas não contaminadas.

SMITH, 1997.

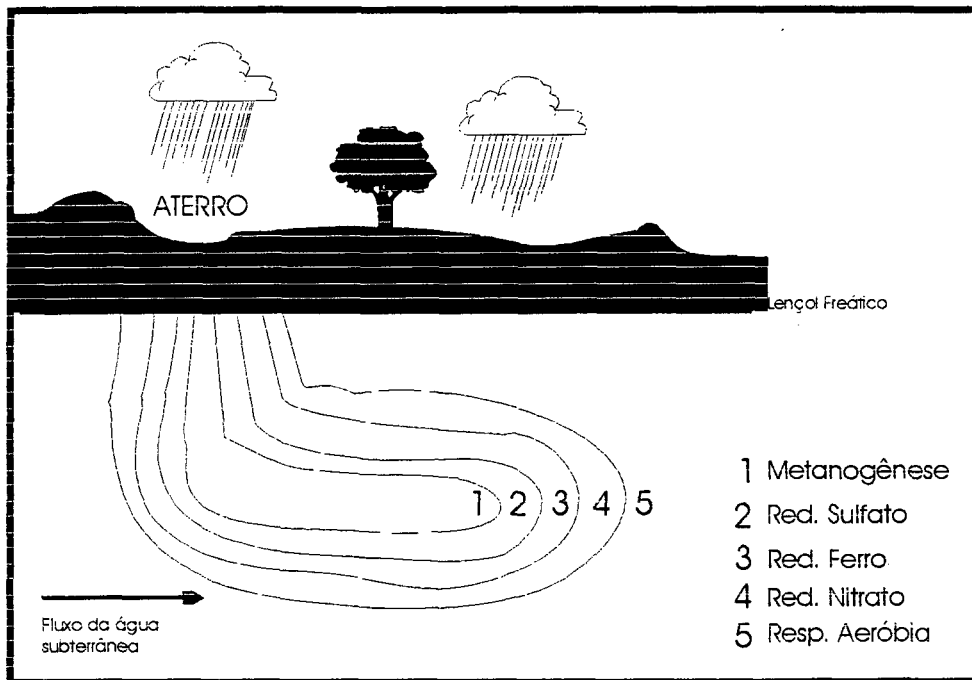


Figura 04 b - Diagrama idealizado da orientação das reações de aceptores de elétrons em águas subterrâneas contaminadas com chorume de lixo de aterro.

SMITH, 1997.

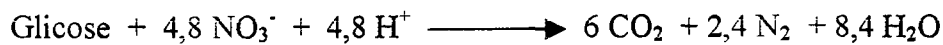
### 2.8.1. Biodegradação via Redução de Nitrato (RN)

Depois que todo o oxigênio dissolvido tiver sido removido do aquífero e a condição anaeróbia estiver estabelecida, o nitrato pode ser usado comoceptor final de elétrons por microorganismos anaeróbios obrigatórios, para mineralizar os compostos de BTX, via desnitrificação (WEIDEMEIER et al., 1994 e 1995b).

Segundo WEIDEMEIER et al. (1994), a aclimatação das BRN (bactérias redutoras de sulfato) é rápida. Uma grande variedade de microorganismos é capaz de acoplar os processos de oxidação de substratos orgânicos com a redução de nitrato, para obter energia. Este processo é de grande importância na prática agrícola, pois remove do solo um dos principais nutrientes vegetais: o nitrato. A redução de nitrato é também um processo importante na degradação de materiais orgânicos em sedimentos marinhos. Em

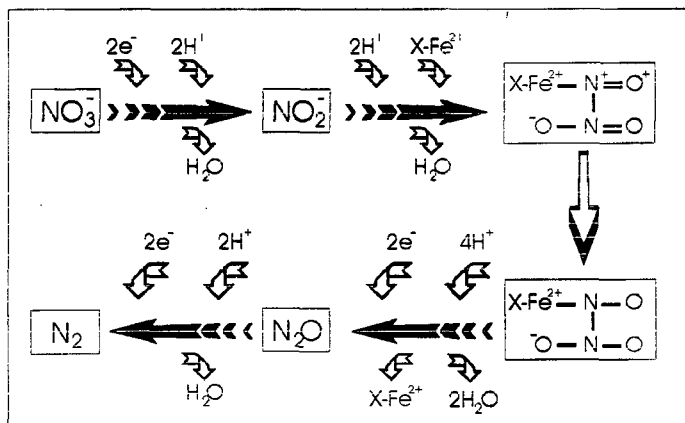
sistemas de águas subterrâneas, a redução de nitrato tende a ser um importante processo microbiológico quando existe a interferência humana.

Quando o nitrogênio molecular ( $N_2$ ) é o maior produto da redução do nitrato, o processo é chamado de desnitrificação:



Muitos gêneros de bactérias são capazes de realizar a desnitrificação: *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Thiobacillus*. A possível seqüência da reação de desnitrificação, mediada pela enzima *nitrato redutase*, está esquematizada na figura 05.

Figura 05 - Modelo do transporte de elétrons na redução do nitrato.



CHAPELLE, 1993.

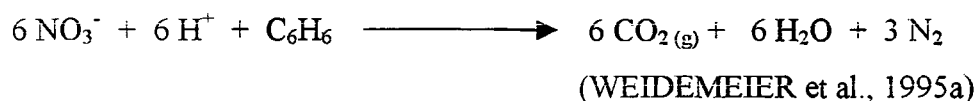
Em 1995, HÄNER et al., estudou um aquífero contaminado com diesel na Suécia, usando bactérias redutoras de nitrato (BRN) verificou que de todos os compostos BTX, somente o benzeno foi recalcitrante, mesmo por 250 dias. Mas, durante os onze primeiros dias de incubação a concentração do tolueno e dos xilenos (*o*-, *p*-, *m*-) tiveram uma redução de 0,024mM/dia, chegando a concentração final zero. A rápida degradação do *p*-xileno parece estar associada à redução do  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$  e este, a  $\text{N}_2$ .

Utilizando cultura pura de T1, EVANS et al.(1991) conseguiu eliminar o tolueno em 100 minutos, com concentração inicial de 200 $\mu\text{M}$ . As bactérias T1, gram negativas, transformaram 51% do tolueno em  $\text{CO}_2$  e 29% em biomassa. A taxa de desaparecimento do tolueno foi de 1,8 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{L}^{-1}$ . Porém, quando a concentração inicial estava acima de 3mMT não ocorria a degradação, o tolueno tornava-se tóxico

para as bactérias; então constatou também que a duração da “fase lag” depende da concentração inicial do tolueno. Com a adição posterior de *o*-xileno, verificou que ocorreu a sua degradação, entretanto, este composto não foi a única fonte de carbono, indicando que pode estar ocorrendo um processo de cometabolismo. A taxa de degradação encontrada nos experimentos com a bactéria T1 foi de  $56 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}$  de proteína<sup>-1</sup>, resultado este que é comparável ao encontrado quando usa-se cultura mista de BRN -  $45 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}$  de proteína<sup>-1</sup>.

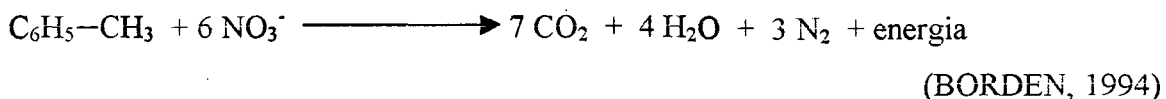
A atividade da *nitrato redutase* é inibida pela presença de oxigênio molecular. Por esta razão, microorganismos redutores de nitrato são estritamente anaeróbios ou microaerofílicos (oxigênio < 2%). Esta inibição da redução de nitrato pelo oxigênio, é a principal razão pela qual o nitrato se acumula em ambientes aeróbios do subsolo. Em ambientes anaeróbios, raramente o nitrato se acumula (CHAPELLE, 1993).

O cálculo estequiométrico da biodegradação do benzeno via desnitrificação, sem a produção de massa celular, é:



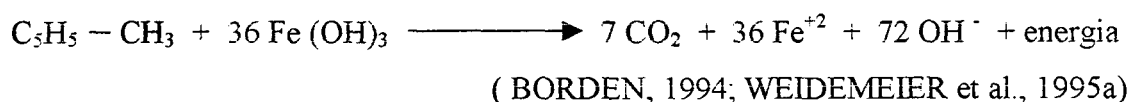
Na ausência de produção celular, 4,8mg de nitrato (iônico) são requeridos para metabolizar completamente 1mg de benzeno. Isto significa que 1mg de nitrato é capaz de facilitar a destruição de 0,21mg de benzeno.

Para o tolueno, a reação teórica para o processo de biodegradação é:



### 2.8.2. Biodegradação via Redução de Ferro (RF)

Uma vez que o oxigênio e o nitrato já tenham sido utilizados, microorganismos subsuperficiais podem usar o ferro férrico oxidado [Fe (III) ou Fe<sup>+3</sup>] como acceptor final de elétrons. Diversos microorganismos têm sido identificados como sendo capazes de acoplar a redução do ferro (III) com a oxidação de compostos aromáticos como o tolueno, *p*-cresol e benzoato (LOVLEY et al., 1989). Grandes quantidades de Fe (III) estão presentes em sedimentos de muitos aquíferos e poderiam, potencialmente, prover uma grande reservatório de aceptores de elétrons para biodegradar HC. O ferro pode estar presente na forma cristalina ou amorfa. Segundo LOVLEY (1991), as formas mais facilmente redutíveis são as amorfas e as menos cristalinas: hidróxido de Fe (III), oxihidróxido de Fe (III) e óxido de Fe (III). A possível reação de oxidação do tolueno, acoplada com a redução de ferro [Fe (OH)<sub>3</sub>]:



Devido a dificuldade de quantificar a concentração de Fe (III) que está disponível para a respiração microbiana, o subproduto metabólico, o Fe (II), é comumente avaliado. A redução de Fe (III) pode resultar em altas concentrações de Fe (II) dissolvidos (10 para 100 mg/L) em aquíferos contaminados. LOVLEY et al. (1989) encontrou num aquífero contaminado com vazamento de combustível cru, remoção seletiva de benzeno, tolueno e xileno na pluma, acompanhada pela acumulação de Fe(II) dissolvido e pela diminuição de óxidos de Fe (III) nos sedimentos contaminados. Embora o mecanismo exato da redução microbiológica do ferro férrico seja pouco compreendida, evidências sugerem que este processo seja um importante mecanismo de biodegradação de HC dissolvidos na subsuperfície (BORDEN, 1994).

O metabolismo de 1mg de benzeno produz 21,5mg de Fe (II). Isto significa que, para cada 1mg de Fe (II) produzido durante a biodegradação, 0,047mg de benzeno é mineralizado (WEIDEMEIER et al., 1995a).



O processo de biodegradação de BTX via redução de ferro é feito pela enzima *ferro redutase*. Estudos realizados com bactérias GS-15 parecem demonstrar que: 1) existe uma ligação entre a enzima *ferro redutase* com a membrana, que transfere elétrons de Fe (III) (sólido) para fora da célula; 2) o mecanismo de transporte de elétrons envolve a presença de NAD como carreador, bem como de um citocromo do tipo b; e, 3) o NAD<sup>+</sup> é reduzido a NADH no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) (CHAPELLE, 1993) (Figura 06).

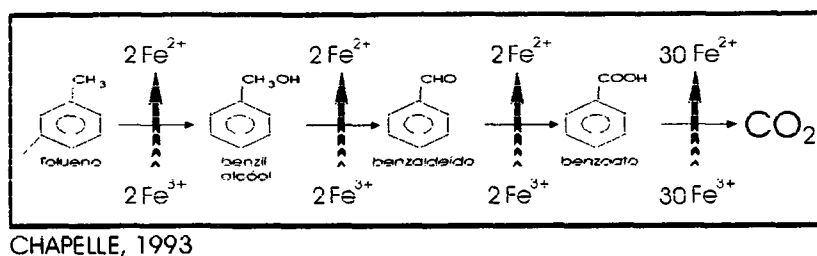
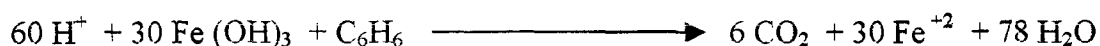


Figura 06 - Degradação do Tolueno em condições de redução de ferro (III) com cultura pura de bactérias GS-15.

Segundo WEIDEMEIER et al. (1995a), o cálculo estequiométrico para a biodegradação do benzeno via redução de Fe (III) é:



Em ausência de produção celular, 41,4mg de Fe (III) são necessários para metabolizar 1mg de benzeno, completamente. Isto é, 1mg de Fe (III) proporciona a mineralização de 0,024mg de benzeno.

LOVLEY & LONERGAN (1990), isolaram bactérias redutoras de Fe (III) capazes de degradar tolueno, *p*-cresol e fenol. O cálculo estequiométrico para a degradação do tolueno é:



36 moles de Fe (III) são necessários para oxidar 1 mol de tolueno.

O transporte de Fe (II) dissolvido no aquífero pode causar problemas secundários no aquífero, como o entupimento e a sujeira. O suprimento de grandes quantidades de óxido de Fe (III) coloidal ou de citrato de Fe (III) solúvel em aquíferos não foram testados. Para desenvolver estratégias de biorremediação baseadas na redução de ferro, uma melhor compreensão da ocorrência, das necessidades nutricionais, das condições de crescimento e do metabolismo da redução de ferro pelas bactérias deve ser adquirido (REINHARD, 1994).

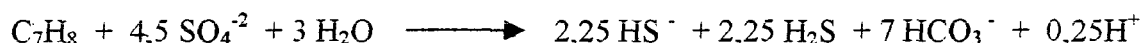
O benzeno parece ser racalcitrante com bactérias redutoras de nitrato, mas ele é mineralizado por bactérias redutoras de ferro – BRF (LOVLEY et al., 1996). Entretanto, o ferro férrico proveniente de fontes naturais (como os ácidos húmicos) não é muito solúvel, ficando pouco acessível às bactérias. Uma maneira de tornar o ferro mais acessível, é ligando-o a um quelante, por exemplo o ácido nitriloacético (NTA); mas o NTA é carcinogênico em doses altas. Para solucionar este problema, o agente quelante pode ser o EDTA. Conforme as pesquisas de LOVLEY et al. (1996), a degradação do benzeno, com o uso de ferro férrico ligado a um quelante, foi muito mais rápida se comparada com os processos aeróbios de degradação. Entretanto, KAZUMI et al. (1997) conseguiu a degradação do benzeno, via RF, sem adicionar agentes quelantes.

COATES et al. (1996), a princípio, não conseguiu a degradação do benzeno acoplada a redução de ferro (III) em estudos realizados com solos provenientes da Ilha de Shelter (CA, USA), que foram contaminados por HC durante 30 anos. Com o avanço das análises, constatou que a não degradação do benzeno ocorreu devido a baixa quantidade de BRF no solo da ilha, as bactérias predominantes eram as redutoras de sulfato. Quando foi adicionado, ao solo da ilha, bactérias redutoras de ferro (*D. palmitatis*), houve, então, a degradação do benzeno.

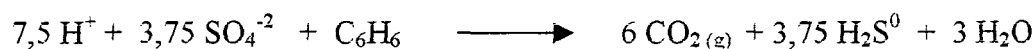
Em 1992, BELLER et al., verificou que a adição de ferro (III) em microcosmos, caracteristicamente redutores de sulfato, aumentava a taxa de degradação do tolueno; a taxa sem a adição de ferro (III) era de  $0,164 \pm 0,0156\text{nM}$  e, com a adição passou a ser de  $0,248 \pm 0,0125\text{nM}$ .

### 2.8.3. Biodegradação via Redução de Sulfato (RS)

O processo de biorremediação que utiliza sulfato como aceptor final de elétrons envolve a oxidação de HC, pelos organismos, acoplado a redução do sulfato à ácido sulfídrico (EDWARDS et al., 1992). Para o tolueno, o cálculo estequiométrico desta reação, assumindo que não houve crescimento celular, é:



Para WEIDEMEIER et al. (1995a), o cálculo estequiométrico para a biodegradação do benzeno, via redução de sulfato, é:



Sem a produção de massa celular, 4,6mg de sulfato é requerido para metabolizar 1mg de benzeno; então, 1mg de sulfato mineraliza 0,22mg de benzeno.

Em alguns sistemas desnitrificantes, a degradação em condições sulfato-redutoras é também seqüencial, com o tolueno sendo o substrato mais preferido, seguido pelo *p*-xileno e o *o*-xileno sendo degradado por último (EDWARDS et al., 1992). O etilbenzeno e o benzeno não foram degradados nestas condições experimentais. Em estudos subseqüentes, foi observada a degradação do benzeno, na ausência de outro composto aromático, após um fase *lag* de 30 dias, em condições estritamente anaeróbias. O acúmulo de HS<sup>-</sup> pode inibir o processo de redução de sulfato (REINHARD, 1994).

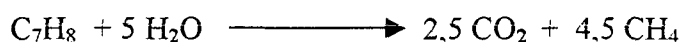
Em 1993, RABUS et al., usando cultura pura de *Desulfobacula toluolica* (TOL-2), conseguiu a degradação completa do tolueno. Porém, esta ocorrência só foi verificada em microcosmos com concentração inicial de tolueno de 1,79mmol/L, porque com os de concentração inicial de 6,03mmol/L, somente 2/3 do tolueno foi mineralizado (após 332 horas). Foi verificado que 4,4mol de sulfeto são necessários para degradar 1mol de tolueno (que pode produzir 29g de células – peso seco). Provavelmente, a via de degradação do tolueno (T) pelas TOL-2 envolve o acetil-CoA; onde T é oxidativamente condensado ao acetil-CoA, formando o fenilpropionil-CoA.

Em experimentos laboratoriais, com solos de Seal Beach (CA, USA), realizados por EDWARDS et al. (1992), o benzeno não foi degradado por BRS (em 270 dias); porém, 100% do tolueno e dos xilenos foram degradados. Com concentração inicial de 5mg/L, de cada BTX, o tolueno desapareceu em 40 dias, o *o*-xileno em 72 dias e o *p*-xileno em 104 dias.

Com a utilização de bactérias PRTOL-1 ( mesofílicas e gram negativas ), BELLER et al. (1996), conseguiu reduzir, com dois dias de experimentação, 80% do tolueno presente no microcosmo, onde a concentração inicial era 80µM. Foi verificado, também, que *o*- e *p*- xilenos adicionados posteriormente, nos microcosmos, foram rapidamente degradados; provavelmente por processos de cometabolismo. O valor de sulfato necessário para degradar 1mol de tolueno é de 3,89mol; este valor está muito próximo ao valor esperado: 4,09mol.

#### 2.8.4. Biodegradação via Metanogênese (RM)

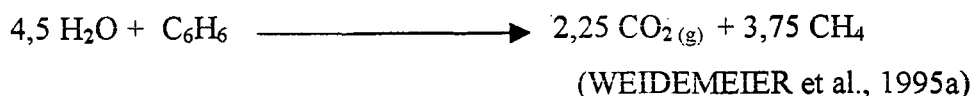
Sob condições metanogênicas, ou fermentativas, muitos compostos HC, incluindo benzeno e tolueno, parecem ser transformados em CO<sub>2</sub> e metano (GRBIC'-GALIC' & VOGEL, 1987). Culturas originadas de inóculo de esgoto ou de prévio enriquecimento, foram mantidas em condições metanogênicas usando-se ácido ferrúlico como a única fonte de carbono. Assumindo que não haja nenhum crescimento celular, o cálculo estequiométrico da reação de transformação do tolueno é:



O estudo foi conduzido considerando o tolueno e o benzeno como as únicas fontes de carbono. A biotransformação iniciou-se após 3 meses de incubação (“fase lag”) e só foi completada 60 dias após o início da biodegradação (REINHARD, 1994).

Sem produção celular, 1mg do total de BTEX degradado produz 0,78mg de metano, isto é, 1mg de metano produzido durante a metanogênese é resultado da mineralização de 1,28mg do total de BTEX.

A oxidação do benzeno via metanogênese é:



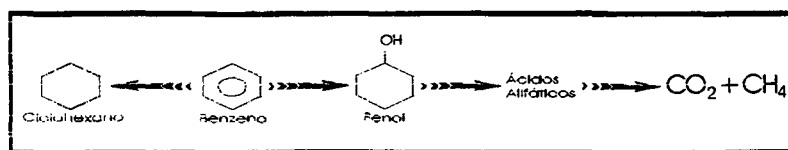
GRBIC'-GALIC' & VOGEL (1987) utilizaram bactérias metanogênicas, oriundas de lodo de esgoto previamente enriquecido, e conseguiram reduzir, após 3 meses de aclimação, mais de 50% dos BTX, colocados separadamente, nos microcosmos. A porcentagem de metano ( $\text{CH}_4$ ) encontrado é equivalente ao esperado:

Substrato	Valor Obtido	Valor Esperado
Benzeno	60,3 ± 2,2 %	62,5 %
Tolueno	65,5 ± 3,4 %	64,3 %

Também nestes experimentos, foi testada a influência dos aditivos (metanol) na biodegradação dos BTX. Constatou-se que a presença de metanol reduziu a taxa de biodegradação do benzeno e do tolueno.

Para melhor compreender o processo, benzeno e tolueno, fontes de carbono, foram marcados radioativamente ( $^{14}\text{C}$ ); constatou-se que o  $^{14}\text{CO}_2$  foi produzido, demonstrando, assim, que os anéis aromáticos estavam sendo completamente degradados.

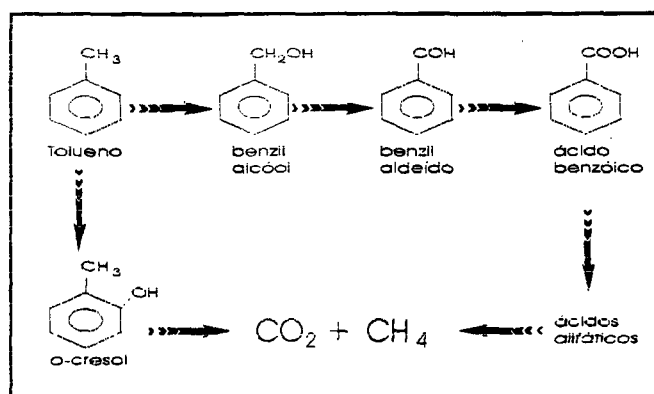
O benzeno tem duas vias de biodegradação: a redução à ciclohexano e a oxidação à fenol, ambos ácidos carboxílicos, que serão mais tarde oxidados a  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$  (Figura 07).



CHAPPELLE, 1993

Figura 07 - Via de degradação do benzeno sob condições metanogênicas.

O tolueno, com seu simples grupo metil, aparentemente pode ser oxidado por diferentes vias. Se o anel sofrer, inicialmente, oxidação, *p*- ou *o*- cresol é produzido. Dependendo de qual isômero do cresol é gerado, o passo seguinte da oxidação é diferente. Alternativamente, o grupo metil pode ser oxidado à benzil álcool; que será oxidado à benzoato, e este, à ácidos carboxílicos. A redução do anel do tolueno também é possível com a produção de metil-ciclohexano (Figura 08).



CHAPELLE, 1993

Figura 08 - Possível seqüência da reação de oxido-redução do tolueno por bactérias metanogênicas em consórcio.

Em 1994, EDWARDS & GRBIC'-GALIC', realizaram pesquisas com culturas puras, oriundas do lençol freático de Pensacola, que foram previamente alimentadas com tolueno (T) e xileno (X) (juntos e separados); as bactérias que foram alimentadas com T e X conseguiram degradar os dois simultaneamente e sem competição. As que foram alimentadas com T e X, separadamente, também conseguiram degradar a quantidade de T ou X adicionado posteriormente. Aplicando o método de McCarty, verificou-se que 4,32mol de  $\text{CH}_4$  e 3,32mol de  $\text{CO}_2$  poderiam ser gerados a partir da degradação de 1mol de tolueno. A quantidade de energia requerida pelos microorganismos, para oxidar tolueno e *o*-xileno, por processos metanogênicos, é 17 vezes menor que a requerida pelos microorganismos em processos aeróbios.

---

## CAPÍTULO III

---

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Material do Aquífero

Para realização dos experimentos de biorremediação natural de aquíferos contaminados com BTX e/ou etanol, foi utilizado material coletado na Fazenda Experimental da Ressacada (Florianópolis, SC). Foram coletadas amostras de solo e água subterrânea. O solo foi coletado de uma profundidade de aproximadamente 1,5m; não continha cheiro forte; e, a constituição era de areia fina e pouco argilosa e de cor marrom.

#### 3.2. Compostos Químicos

Os reagentes utilizados neste experimento foram: benzeno (Sigma-Aldrich); tolueno e etanol (Merck); o-xileno (Riedel-deHaën); azida sódica, cloreto de sódio, nitrato de sódio, nitrito de sódio, fosfato de potássio monobásico e sulfato de sódio anidro (VETEC); e, reagente para ferro II (HACH) – todos com grau analítico superior a 99%.

#### 3.3. Microcosmos

Cada microcosmo foi preparado em vidro âmbar de 200ml (previamente esterelizado em autoclave). Em cada frasco foi adicionado 50g de solo e, aproximadamente, 200ml de água subterrânea. Não foi adicionado nenhum tipo de nutriente. Cada microcosmo foi vedado com tampa e tampulho (ambos de plástico) e fita teflon, entre o tampulho e a amostra (Figura 09). Os frascos eram agitados diariamente.

Os frascos foram mantidos em câmara anaeróbia (COY-77), que foi fluxionada com mistura de gases padrão ( $\text{CO}_2$  7,5% -  $\text{H}_2$  2,5% e  $\text{N}_2$  bal. ) e gás  $\text{N}_2$  puro (5.0) da White-Martins. A temperatura foi controlada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Figura 09 - Microcosmos utilizados nos experimentos: a) microcosmo completo, b) vidro âmbar vazio (200ml), c) pedaço de fita teflon, d) tampulho, e, e) tampa.

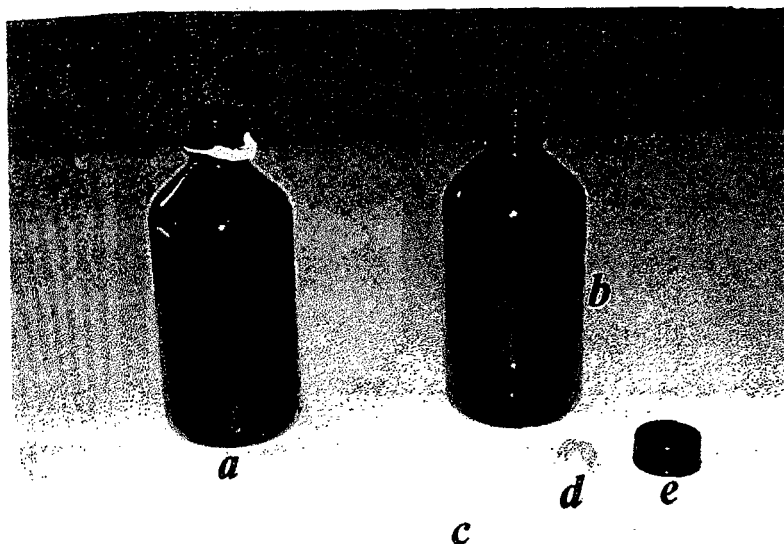
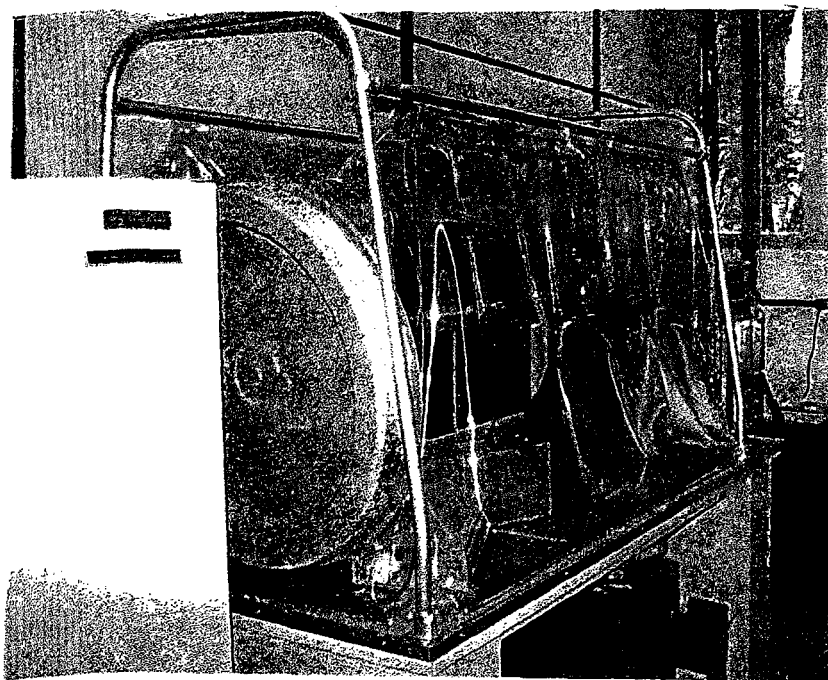


Figura 10 - Visão geral da Câmara Anaeróbia – COY77





### 3.4. Delineamento Experimental

Foram realizados os seguintes tratamentos:

T1 – BTX ( $\pm 5$ mg/L de cada analito)

T2 – BTX + Etanol ( $\pm 5$ mg/L de cada BTX e  $\pm 500$ mg/L de etanol)

T3 – BTX + Etanol + Azida ( $\pm 5$ mg/L de cada BTX e  $\pm 500$ mg/L de etanol + 3g/L de azida sódica); material previamente esterelizado em autoclave, para que os microorganismos existentes morressem – controle.

Para cada tratamento, foram feitas 15 repetições. A cada 30 dias, aproximadamente, foram analisadas 3 repetições de cada tratamento. As análises realizadas foram: concentração dos BTX, etanol, sulfato, nitrito, nitrato, fosfato e ferro ferroso (Fe II); pH; condutividade; temperatura; oxigênio dissolvido (OD); e, potencial redox.

Os microcosmos foram analisados nos dias 1, 30, 66, 102 e 134. A análise foi do tipo “sacrifício”, isto é, os frascos que iam sendo analisados não voltavam mais para o experimento; para sustentar o tempo de análise, foram feitas 15 repetições de cada tratamento, onde iam sendo retirados de 3 em 3.

### 3.5. Análise de BTX e Etanol

#### 3.5.1. Solução Padrão

A solução padrão foi preparada segundo normas da *Environmental Protect Agency* (USA): EPA/8015<sup>A</sup> – Aromatic Volatile Organics by Gas Chromatography (EPA, 1996).

As concentrações adotadas para realização da curva padrão foram, para cada BTX: 0,008 – 0,05 – 0,1 – 0,5 e 0,9mg/L; e, para o etanol: 3,9 – 7,9 – 13,8 – 19,75 e 25,6mg/L.

#### 3.5.2. Procedimento Analítico

De cada microcosmo, foi retirado 10ml de amostra para análise em cromatografia gasosa (CG). O CG (HP-5890) tinha um amostrador automático (Headspace AutoSampler HP-7694) e estava equipado com detector FID (ionização de chama) e coluna capilar (HP-1). As condições de análise encontram-se descritas no apêndice A.

O limite de detecção do CG utilizado nas condições de análise para os compostos BTX e etanol foram, respectivamente: 8ppb, 8ppb, 50ppb e 2ppm.

A precisão dos dados obtidos no CG foi testada de acordo com a porcentagem de recuperação do SPIKE<sup>1</sup>, segundo norma descrita pela EPA/8015<sup>A</sup> (tabela 05).

Os cromatogramas foram interpretados utilizando o Software ChemStation, versão A.03.34.

Tabela 05 - Porcentagem de recuperação do SPIKE obtido para análises dos compostos BTX e etanol no CG HP-5890.

Compostos	Porcentagem de Recuperação (%) <sup>2</sup>				Limite CQ (%) <sup>3</sup>
Benzeno	96,3	93,1	92,6	94,5	97 – 91
Tolueno	94,4	92,5	91,6	94,4	96 – 90
o-Xileno	97	98,7	99,8	104,3	106 – 93,71
Etanol	95,8	98,9	107,1	107	117 – 83

### 3.6. Análise de Cátions e Ânions

Dentre os cátions, somente o Fe<sup>++</sup> foi analisado. As análises foram conduzidas em espectrofotômetro HACH – DR/4000, seguindo método HACH/8146.

Os ânions nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), sulfato (SO<sub>4</sub><sup>-</sup>) e fosfato (PO<sub>4</sub><sup>-</sup>) foram avaliados por cromatografia líquida, no cromatógrafo DIONEX-120, equipado com detector de condutividade iônica e coluna AS4A-SC. As concentrações utilizadas para realização da curva padrão foram de 5, 20 e 50ppm para cada analito. Os cromatogramas foram interpretados utilizando o software PEAKNET.

1 – Nome dado à solução através da qual se verifica a exatidão (resultado obtido próximo ao esperado) e a precisão do equipamento.

2 – Ou  $ps$  (%), onde  $ps = 100 \times A/T$  (A= concentração obtida na análise e, T= concentração sperada).

3 – Limite de qualidade total ou a % da exatidão da análise após a média das amostras ( $p$ ) e o desvio padrão ( $Sp$ ) utilizando os cálculos:  $p - 2Sp$  e  $p + 2Sp$ .

---

## CAPÍTULO IV

---

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Caracterização do Material do Aquífero

O teor de carbono orgânico total apresentado pelo solo foi de 1,40% (análise realizada pela CIDASC, segundo o método Wakey Black).

A água subterrânea exibiu as seguintes características:

Parâmetros	Valores
Turbidez	9,54 NTU
Temperatura	25,2 °C
Potencial Redox	66 mV
Alcalinidade	14,52 mg CaCO <sub>3</sub> /L
Acidez	49,60 mg CaCO <sub>3</sub> /L
Ferro (II)	nd
OD	4,40 mg/L
pH	5,50
Nitrato	0,03 mg/L
Nitrito	nd
Fosfato	nd
Sulfato	0,96 mg/L
Cloreto	12,12 mg/L
Fluoreto	0,12 mg/L

nd – não detectado

## 4.2. Biodegradação de BTX na ausência de etanol

Os resultados experimentais obtidos na ausência de etanol, mas com a presença de 4,32mg/L de benzeno(B), 5,09mg/L de tolueno(T) e 6,06mg/L de o-xileno(X), avaliados em experimento de substratos mistos, estão apresentados (com seus respectivos controles) na figura 11. Pode-se observar que os compostos BTX foram completamente degradados em aproximadamente 66 dias. Os compostos B e T foram mineralizados preferencialmente que o X. Segundo EVANS et al. (1991), alguns compostos químicos específicos podem freqüentemente ser biodegradados mais rapidamente que outros, devido a afinidade existente entre os microorganismos do meio e o substrato, incluindo-se os BTX. A degradação preferencial do B e T, em detrimento de X, também foi obtida por SANTOS (1996), tanto em testes com os substratos separados quanto em testes com substratos mistos. Experimentos realizados por HUTCHINS (1991), com bactérias do tipo T1 capazes de mineralizar o tolueno, conseguiram degradar o o-xileno somente quando os compostos T e X estavam juntos, mas não quando encontravam-se separados. Uma possível explicação para este fato, é a presença do processo de indução enzimática, que é a biodegradação parcial de substratos, envolvendo consórcio de microorganismos. Bateladas de microcosmos que são sacrificadas para cada análise, geralmente oferecem maior poder de interpretação dos resultados, que os microcosmos em colunas ou bateladas que são coletadas repetidamente (WEIDEMEIER et al., 1995).

A degradação dos compostos BTX, na ausência de etanol, foi obtida sem a presença de uma “*fase lag*” aparente, isto é, sem que tenha ocorrido uma fase de adaptação inicial; indicando, assim, a possibilidade de existir afinidade enzimática entre estes compostos e as enzimas derivadas das populações existentes.

Não foi observada, durante o tempo de experimentação, a presença de nitritos e fosfatos (Apêndice B).

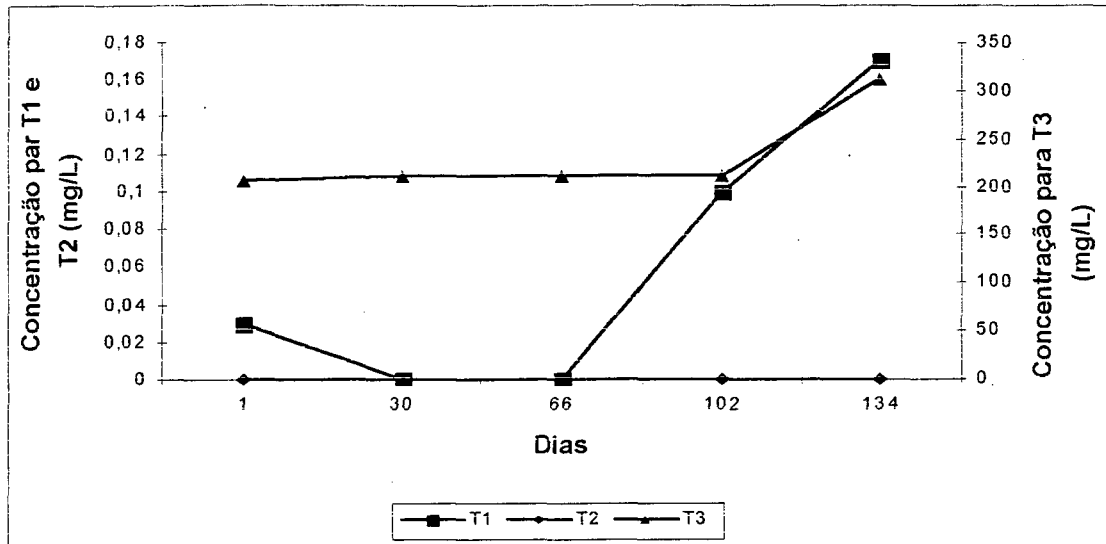


Figura 12 - Valores da concentração de Nitrato obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos (T1-BTX sem etanol; T2-BTX com etanol; e, T3-controle).

Os valores da concentração do sulfato estão plotados na figura 13. Observa-se que houve uma diminuição na concentração do sulfato no tratamento em que o etanol foi adicionado (T2), enquanto que no tratamento que não foi, a concentração manteve-se constante. Importante atentar ao fato de que a presença de sulfato no tratamento 3 (controle) foi alta na última análise (dia 134), provavelmente o fato deu-se por algum erro no procedimento analítico, haja vista que nas coletas anteriores os valores eram bem baixos.

Condutividade, é o valor que representa a propriedade de conduzir a corrente elétrica, apresentada por um sistema aquoso contendo íons. Ela varia com a concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas na água, com a temperatura e mobilidade dos íons, com a valência dos íons e, com a concentração real e relativa de cada íon (CETESB, 1978). Os altos valores de condutividade no tratamento 3 (controle) deve-se, possivelmente, à alta concentração de íons nitrato na solução por causa da adição de azida sódica na solução.

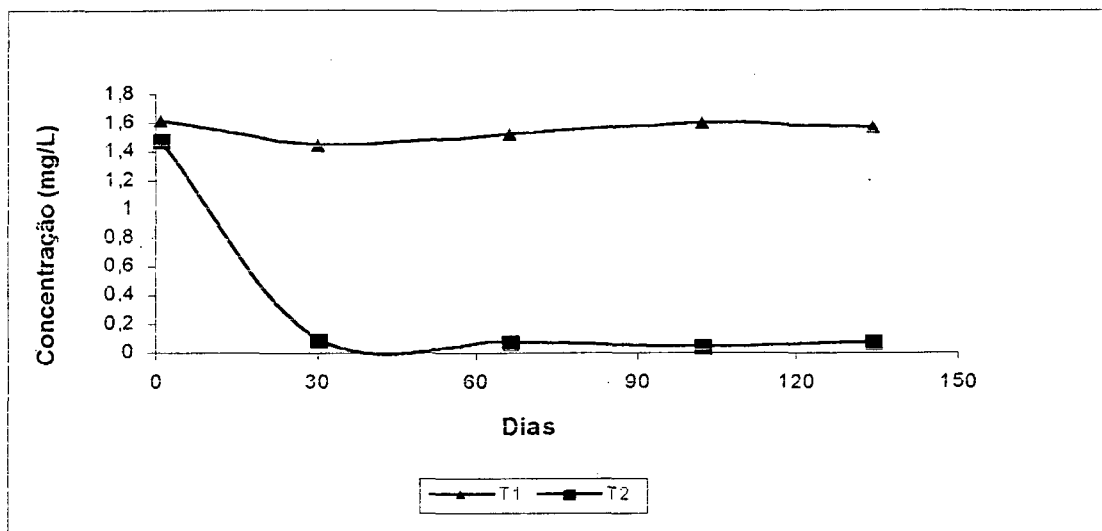


Figura 13 – Valores da concentração de Sulfato obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos (T1-BTX sem etanol; T2-BTX com etanol; e, T3-controle).

Os valores de potencial redox obtidos (Figura 14) não representam os valores esperados, isto é, constata-se, com base nos indicadores de degradação avaliados, que a respiração aeróbia, a redução de ferro e sulfato ocorreram e para isto, os valores de  $Eh$  deveriam ser negativos (ver tabela 2), o que não foi verificado. O método empregado para a quantificação do  $Eh$  expunha o material dos microcosmos ao ar, o que, possivelmente, alterou os valores reais.

A temperatura, fator que interfere na solubilidade do oxigênio e que pode alterar as reações metabólicas, não variou muito, os valores ficaram entre  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (Apêndice B).

O pH não teve muitas mudanças de seus valores, que ficaram entre 4,35 e 4,95 (Figura 15). Por causa da constatação de baixos valores de pH, não foi realizada a análise de alcalinidade.

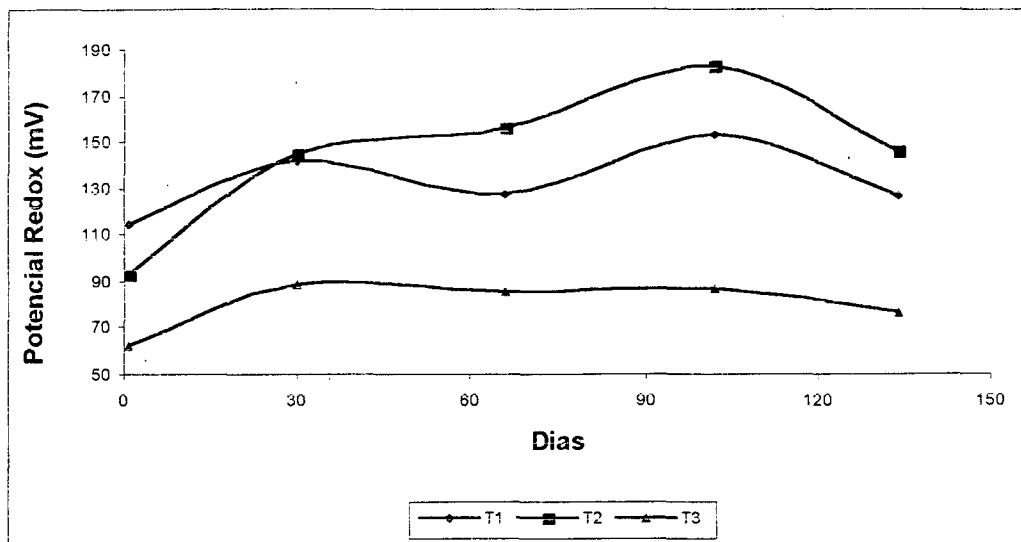


Figura 14– Valores de potencial redox obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos (T1-BTX sem etanol; T2-BTX com etanol; e, T3-controle).

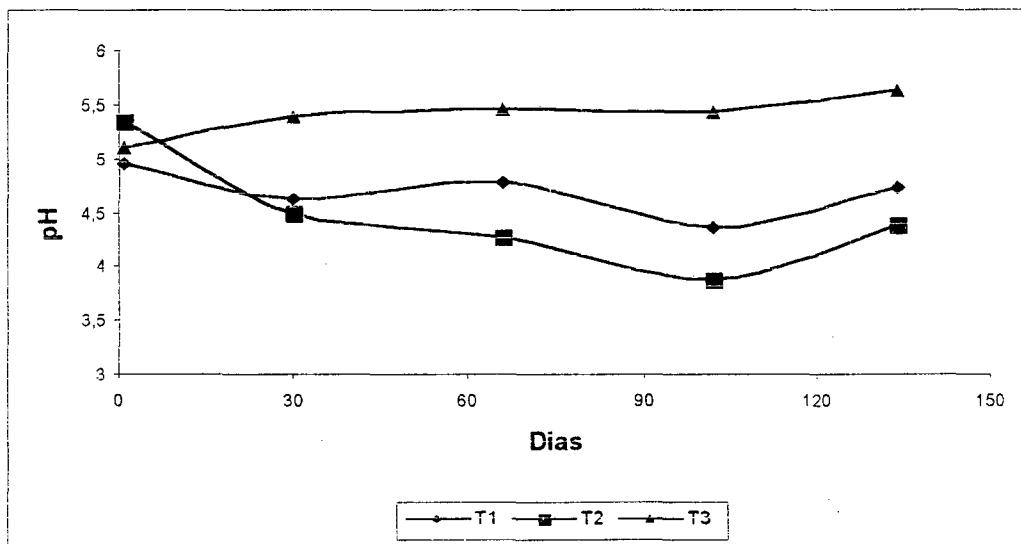


Figura 15– Valores de pH obtidos nos experimentos em microcosmos, nos três tratamentos (T1-BTX sem etanol; T2-BTX com etanol; e, T3-controle).

### 4.3. Biodegradação dos BTX na presença do Etanol

Os resultados obtidos nos experimentos de substratos mistos de BTX e Etanol, nas seguintes concentrações: 6,45; 6,06; 6,57; e, 387mg/L, respectivamente, estão descritos na figura 16.

Nota-se que, com a presença do etanol, houve retardamento do tempo de mineralização dos BTX, em pelo menos 30 dias, já que nos testes que não levaram etanol, eles não foram detectados a partir da 4ª coleta (dia 102). Observa-se também, que a ordem de preferência na degradação não foi a mesma verificada nos testes com ausência de etanol; houve uma predileção pelos substratos T e X em detrimento do benzeno, que persistiu até o 165º dia, com a concentração de 0,01mg/L. Percebe-se que, ao contrário do que foi observado no experimento sem etanol, houve uma fase de adaptação dos microorganismos, para a degradação dos compostos BTX, de aproximadamente 66 dias; período que coincide com o tempo em que o etanol encontrava-se ainda em concentrações altas. Nota-se, também, que após a diminuição da concentração do etanol, os BTX também diminuíram de concentração. Isto sugere que o etanol tem influência negativa na degradação dos BTX, principalmente do benzeno

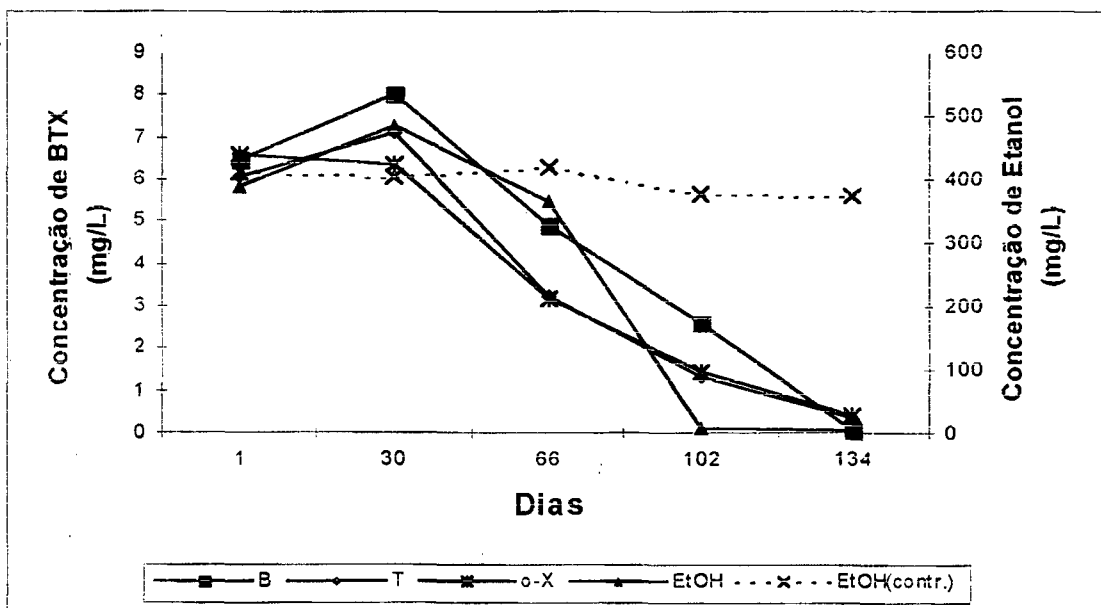


Figura 16 – Biodegradação de BTX na presença de Etanol.



É importante salientar que, durante a abertura dos microcosmos, que continham etanol, para a realização das análises, verificou-se um cheiro muito forte e que foi acentuando-se a medida que o tempo de experimentação ia transcorrendo, indicando, possivelmente, que o ambiente anaeróbico já havia se instalado ou estava em vias de se instalar; este fato é possível de ocorrer, haja vista que, com a adição de etanol, as bactérias consomem muito e mais rapidamente o oxigênio presente no meio, instaurando um ambiente anóxico que terá outros aceptores finais de elétrons (por ordem decrescente de fornecimento de energia): nitrato, ferro (III), sulfato e gás carbônico.

Segundo dados obtidos, mostrados na figura 12, não foi constatada presença de nitrato; levando-se em conta a seqüência esperada de predominância de acceptor final de elétrons, acredita-se que a degradação dos BTX em presença do Etanol ocorreu por redução de ferro (III), fato este constatado pela avaliação da concentração de ferro (II), mais facilmente identificado, que aumentou gradativamente no decorrer dos testes.

Observando-se a figura 17, nota-se que, a medida que a concentração dos BTX diminui, a concentração de ferro (II) no meio aumenta, confirmando a hipótese citada logo acima.

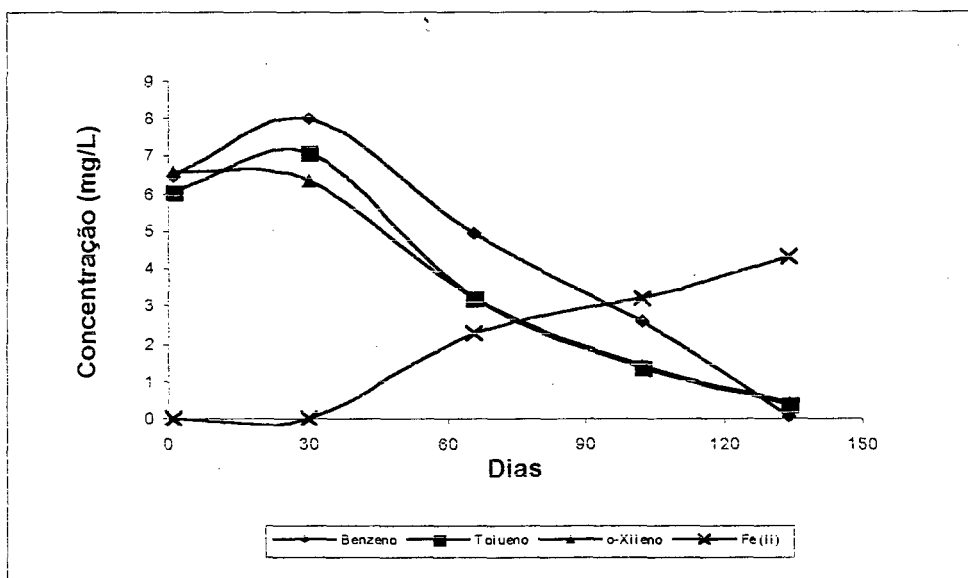


Figura 17 – Degradação de BTX em presença de etanol e sua relação com a produção de Fe (II)

Segundo LOVLEY et al. (1996), a degradação do benzeno, via redução de ferro, só é possível se houver a adição de um agente quelante, que aumente a solubilidade dos diferentes tipos de ferro (III) presentes no meio. Porém, KAZUMI et al. (1997) obteve degradação de benzeno via RF, em sedimentos do Rio Potomac, sem adição de agentes quelantes.

BELLER et al. (1992), acredita que a redução de ferro (III) está intimamente ligada com a redução do sulfato e a degradação do tolueno. Estes pesquisadores crêem que a degradação do tolueno ocorre devido a sua oxidação à  $\text{CO}_2$  por bactérias redutoras de sulfato e que, o sulfeto resultante é responsável pela redução do Fe (III) à Fe (II).

Observando-se a figura 13, constata-se que houve uma diminuição na concentração do sulfato nos 30 primeiros dias, valor que manteve-se até o final do experimento.

Caso não houvesse a presença do etanol nos microcosmos, o cálculo para o balanço de massa seria de 0,21mg/L de BTX consumido para cada mg/L de Fe (II) produzido; e, de 0,29mg/L de BTX mineralizado por mg/L de sulfato consumido (WEIDEMEIER et al., 1995).

Apesar do processo de redução de ferro (III) ser esperado, como predominante, somente após o término do processo de redução de nitrato, ele predominou desde o início dos testes; provavelmente devido a baixa concentração do nitrato e a alta concentração de ferro (III) no solo e na água subterrânea, utilizados no experimento (KENNEDY et al., 1998). LOVLEY et al. (1994) sugere usar a concentração de  $\text{H}_2$  (diidrogênio) para determinar qual é o aceptor de elétrons que está dominado no momento, porém esta prática é pouco empregada. Evidências sugerem que a redução de Fe (II) não pode ocorrer sem que ela seja mediada por microorganismos (LOVLEY, 1991; CHAPPELLE, 1993).

Não foi verificado nenhum traço de nitrato (Figura 12), nitrito e fosfato (Apêndice B) nos microcosmos, em 134 dias de experimentação.

A condutividade aumentou de  $66\mu\text{S}$  para  $164,33\mu\text{S}$ ; como citado anteriormente, a condutividade significa a capacidade de conduzir a corrente elétrica devida a presença de íons numa solução, os valores obtidos indicam que houve um aumento na concentração de íons na solução dos microcosmos e/ou, que alguns compostos mudaram de valência (como é o caso do ferro). Os valores a condutividade podem estar relacionados com a formação de Fe (II), através do processo de redução de ferro, pois os dois parâmetros aumentaram gradativamente durante os 134 dias de experimentação (Figura 18).

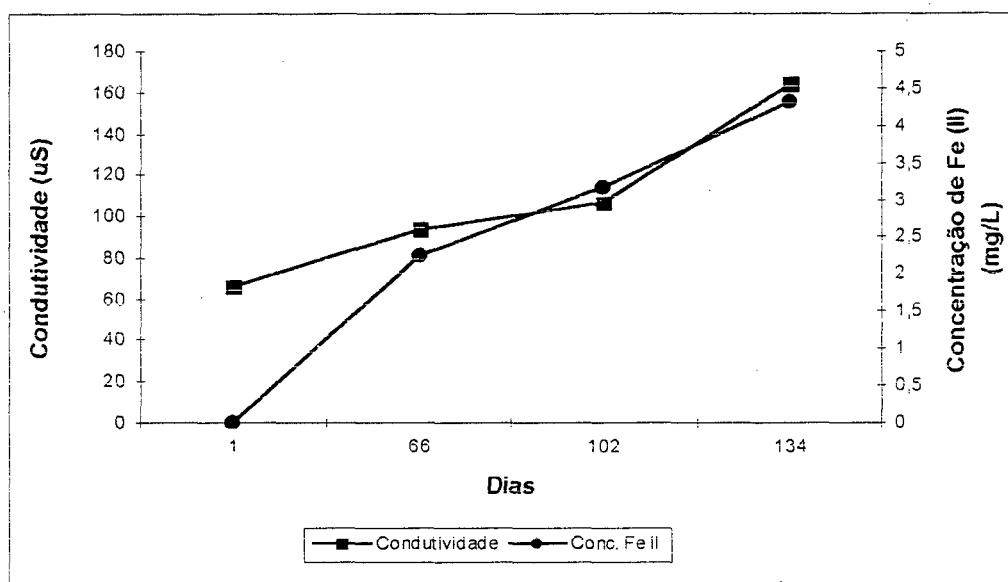


Figura 18 – Relação entre condutividade e concentração de Fe II.

#### 4.4. Taxa de Degradação

Taxas de biodegradação em laboratório se referem a taxa de remoção dos contaminantes durante o experimento controlado. No geral, taxas de laboratório são facilmente determinadas; porém, sua utilidade pode ser limitada por causa das restrições dos estudos em microcosmos.

Biodegradação aeróbia e anaeróbia de BTX dissolvidos podem, freqüentemente, serem descritas por uma relação de 1<sup>o</sup> ordem, modelo que assume que a taxa de biodegradação é proporcional a concentração de HC dissolvidos. Este modelo reúne diversos fatores biológicos e outros mecanismos de atenuação num só fator de degradação completa (WEIDEMEIER et al., 1995).

$$C = C_0 e^{-\kappa t}$$

A figuras 19 mostra as taxa de degradação obtidas para o o-xileno, nos tratamentos com e sem etanol. Admitindo-se que a reação é de primeira ordem, verifica-se que a presença do etanol quase não afetou a taxa de degradação deste composto, pois o valor de  $\kappa$  foi de  $0,009\text{dia}^{-1}$  para o tratamento que foi adicionado etanol e de  $0,016\text{dia}^{-1}$  para o tratamento que não foi adicionado.

As figuras 20 e 21 apresentam os valores de  $\kappa$  encontrados para o composto tolueno, nos tratamentos com e sem etanol, considerando degradação de primeira ordem. Constata-se que a presença do etanol interfeiu na taxa de degradação do tolueno;  $\kappa$  foi de  $0,057\text{dia}^{-1}$  para o tratamento que não foi adicionado etanol e,  $0,017\text{dia}^{-1}$  na presença de etanol.

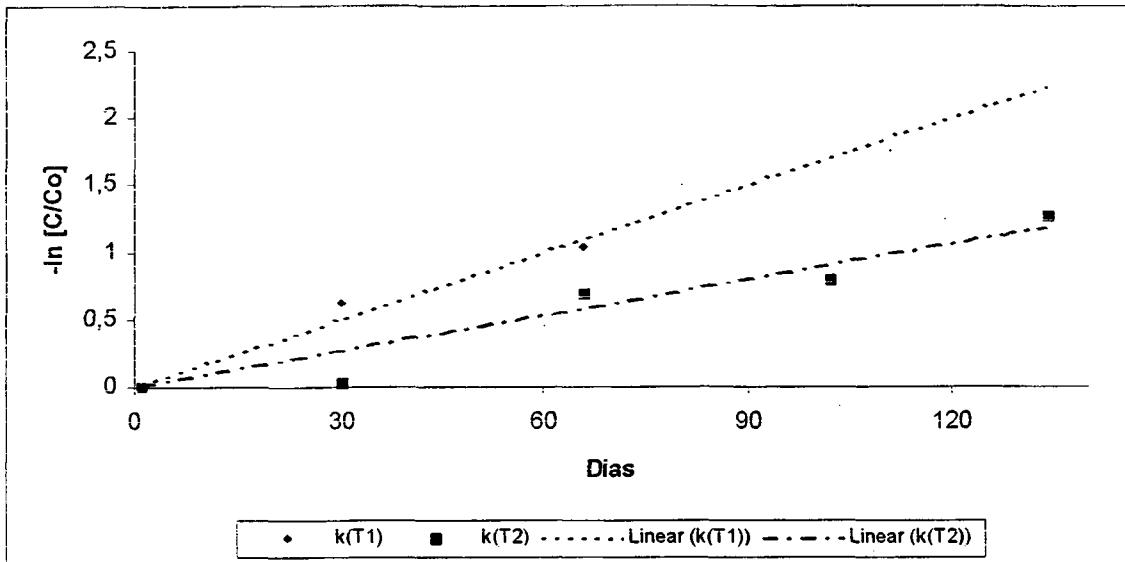


Figura 19 – Constante de degradação do o-xileno obtida no tratamento sem adição do etanol [ $\kappa$  (T1)] e com adição [ $\kappa$  (T2)], admitindo reação de primeira ordem.

$$\kappa (T1) - y = 0,0167x \text{ e } R^2 = 0,9621$$

$$\kappa (T2) - y = 0,0088x \text{ e } R^2 = 0,9281$$

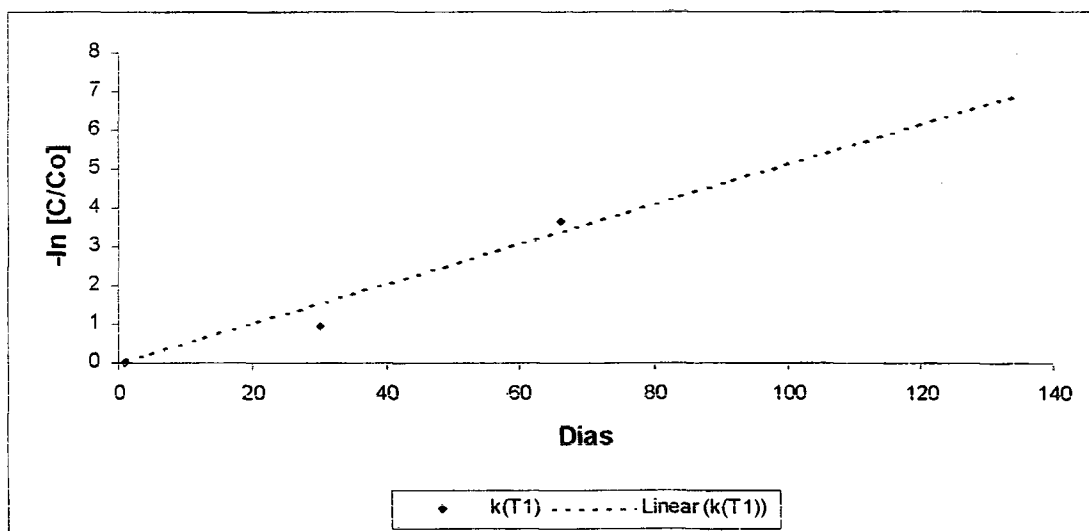


Figura 20 – Constante de degradação do tolueno obtida no tratamento sem adição do etanol [ $\kappa$  (T1)], admitindo reação de primeira ordem.

$$\kappa (T1) - y = 0,0513x \text{ e } R^2 = 0,9396$$

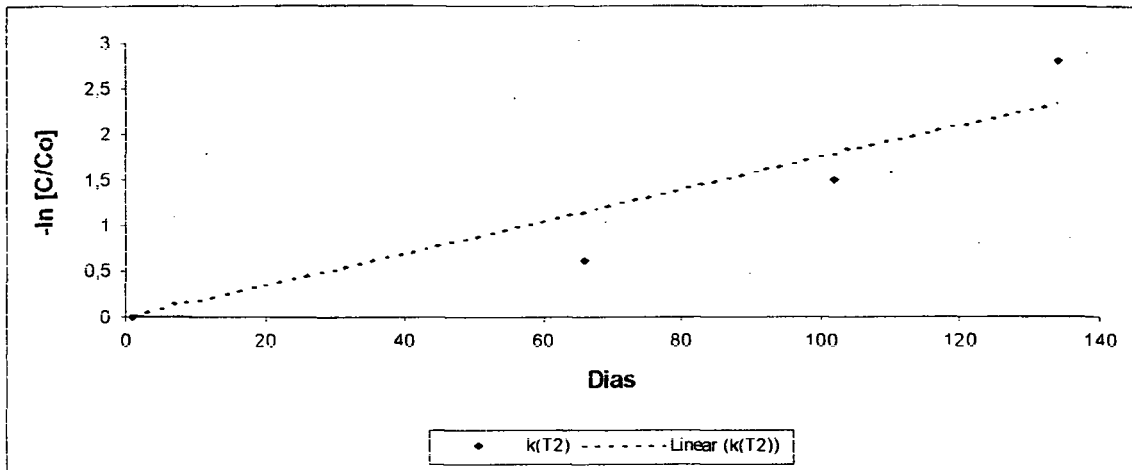


Figura 21 – Constante de degradação do tolueno obtida no tratamento com adição do etanol [ $\kappa$  (T2)], admitindo reação de primeira ordem.

$$\kappa (T2) - y = 0,0175x \text{ e } R^2 = 0,8711$$

As figuras 22 e 23 trazem os valores de  $\kappa$  para o composto benzeno, nos tratamentos sem e com etanol, respectivamente; admitindo-se que a reação segue primeira ordem. Pode-se observar que o valor de  $\kappa$  obtido na presença de etanol é metade do valor encontrado nos experimentos sem etanol:  $\kappa$  na ausência de etanol foi de  $0,047\text{dia}^{-1}$  e na presença, foi de  $0,022\text{dia}^{-1}$ .

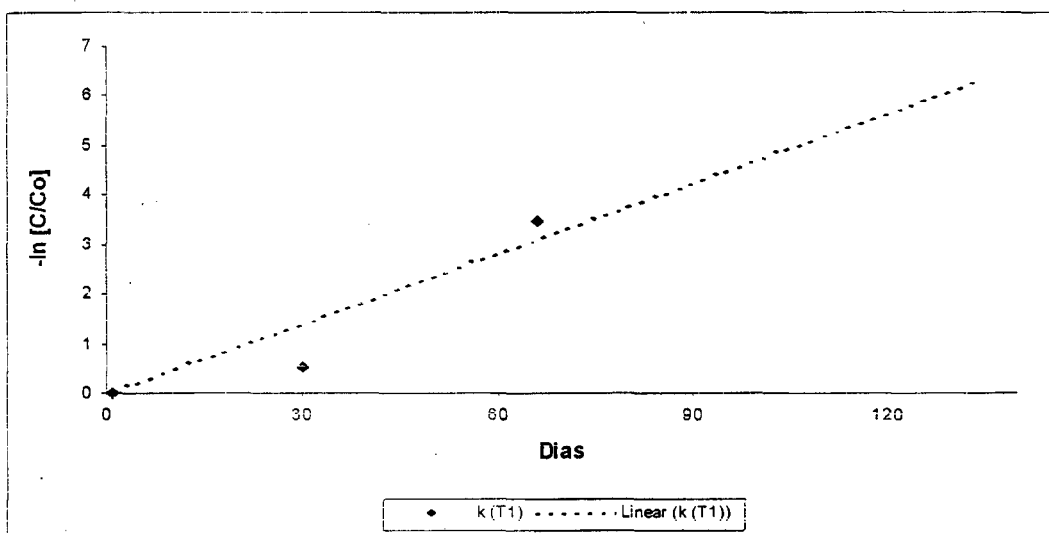


Figura 22 – Constante de degradação do benzeno obtida no tratamento sem adição de etanol [ $\kappa$  (T1)]; admitindo reação de primeira ordem.

$$\kappa (T1) - y = 0,047x \text{ e } R^2 = 0,8686$$

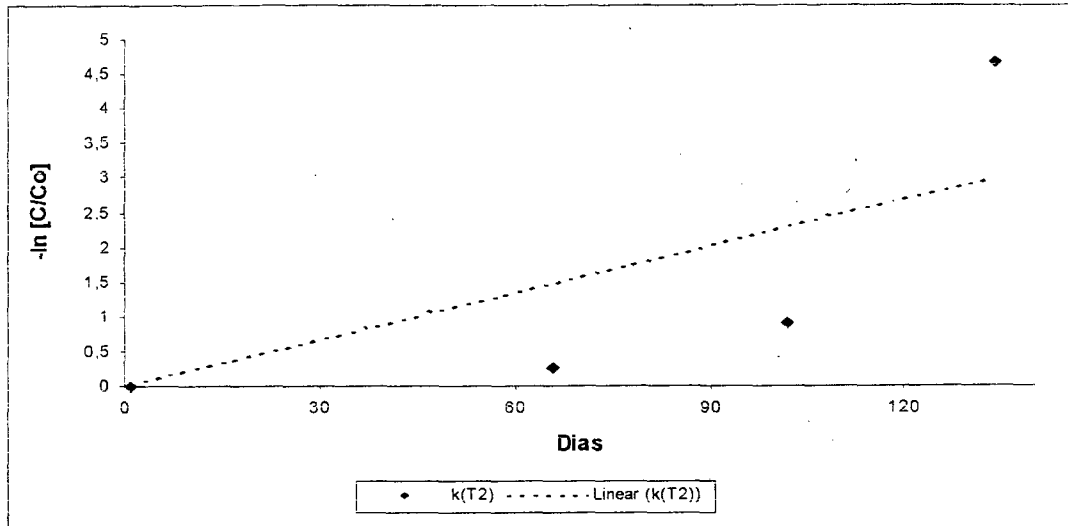


Figura 23 – Constante de degradação do benzeno obtida no tratamento com adição de etanol [ $\kappa$  (T2)]; admitindo reação de primeira ordem.

$$\kappa (T2) - y = 0,0225x \text{ e } R^2 = 0,5663$$

O valor da constante de degradação para o etanol foi de  $0,0457\text{dia}^{-1}$  (Figura 24).

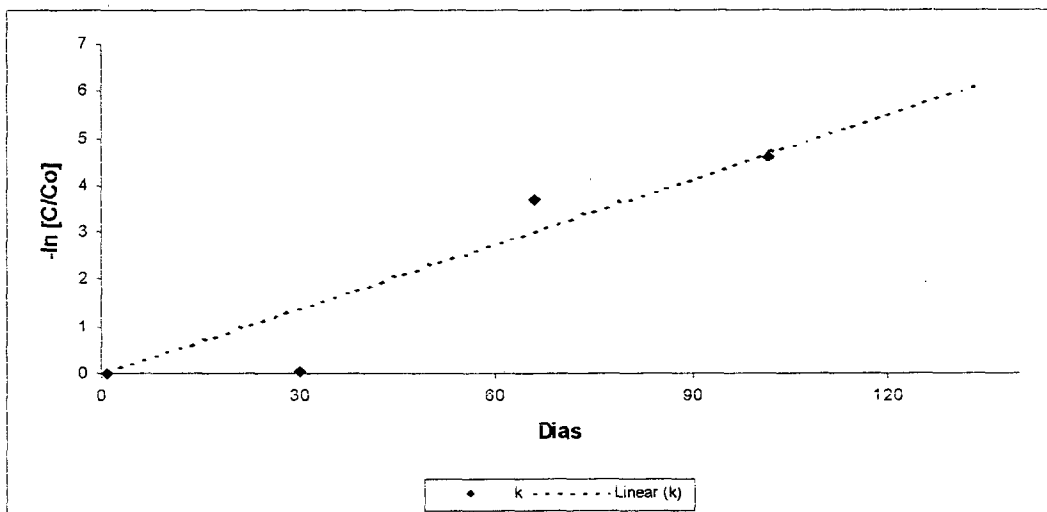


Figura 24 – Constante de degradação do etanol, admitindo reação de primeira ordem.

$$\kappa (T2) - y = 0,0457x \text{ e } R^2 = 0,8733$$

A tabela a seguir apresenta os valores de  $k$  obtidos, em experimentos de microcosmos, para os compostos BTX e etanol, nos tratamentos que receberam etanol e nos que não foram.

Composto	$k$ (dia <sup>-1</sup> )	
	Sem etanol	Com etanol
Benzeno	0,047	0,022
Tolueno	0,051	0,017
o-Xileno	0,016	0,010
Etanol	-	0,046
Total BTX	0,114	0,049

Constata-se, portanto, que o etanol provocou uma diminuição na taxa de degradação dos compostos tolueno e benzeno, interferindo pouco no composto o-xileno.

Caso os valores de  $k$ , obtido em laboratório para o benzeno, fossem extrapolados para estudos de campo (admitindo concentração inicial de 10mg/L), a degradação do benzeno à concentrações aceitáveis (0,01mg/L), demoraria 287 dias se o etanol estivesse presente e, apenas, 172 dias na sua ausência.

Este aumento de 60% no tempo de degradação do benzeno, provocado pela presença do etanol, pode ser um fator muito importante para a tomada de decisão de qual estratégia de atenuação natural realizar para uma descontaminação de uma região contaminada por HC de petróleo. Além do tempo necessário para a degradação do composto, é importante lembrar que a presença de algum corpo receptor (poço artesiano, por exemplo) próximo a região contaminada, é uma informação muito importante para a tomada desta decisão. Pois, se não houver risco de contaminação de fontes, não há necessidade de se interferir mecanicamente na região contaminada para realizar a atenuação; porém, se houver risco, a pluma tem grandes chances de contaminá-la, devido ao efeito causado pela presença de etanol na atenuação dos BTX.

Esta mesma especulação pode ser feita para o composto tolueno, já que a sua taxa de degradação foi afetada pela presença do etanol. Mesmo que a legislação brasileira não regulamente a sua concentração máxima permitida, é importante lembrar que o tolueno tem potenciais mutagênicos e carcinogênicos.



---

## CAPÍTULO V

---

### CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

#### 5.1. Conclusões

O presente estudo avaliou o potencial de atenuação natural, em experimentos conduzidos em laboratório com microcosmos, dos compostos benzeno, tolueno e xileno (BTX) e etanol em solo proveniente da região da Fazenda Experimental da Ressacada (Florianópolis, SC). O experimento foi mantido durante 134 dias a temperatura controlada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; as análises ocorreram nos dias: 1,30, 66,103 e 134. Concentração de BTX, etanol, ferro (II), sulfato, nitrato, nitrito e fosfato; pH; condutividade; OD; potencial redox; e, temperatura, foram os parâmetros avaliados. As principais conclusões obtidas foram:

Os compostos BTX foram degradados quase por completo, tanto nos experimentos com adição de etanol quanto nos que não foram adicionado etanol. Porém, nos experimentos onde o etanol não estava presente, a degradação foi mais rápida, em torno de 66 dias para o benzeno e tolueno e 102 dias para o o-xileno; enquanto nos experimentos com etanol, a degradação de todos os BTX levou em torno de 134 dias.

Nos experimentos em que o etanol estava ausente não houve “fase lag” aparente, todos os compostos BTX começaram a ser degradados desde os primeiros dias de experimentação. Houve uma preferência pelos compostos B e T em detrimento de X; porém, todos já tinham sido completamente degradados após 102 dias.

Nos microcosmos com etanol, durante o período em que o etanol encontrava-se em concentrações acima de 364,73mg/L foi observada uma “fase lag”, onde compostos BTX estavam sendo degradados lentamente. Notou-se que, com a presença do etanol, a preferência de degradação ocorreu para o X e T em detrimento do B; contudo, o benzeno estava sendo degradado também, mas numa velocidade menor. Após a diminuição da concentração do etanol, verificou-se que o benzeno teve sua taxa de degradação aumentada e, no final (dia 134) todos os compostos BTX estavam quase na mesma concentração.

O processo de atenuação natural ocorreu por processos aeróbios e anaeróbios, realizados pelos microorganismos autóctones. O processo aeróbio foi verificado pela diminuição do OD nos frascos e, os anaeróbios, foram constatados pelo aumento da concentração de ferro (II) e pela diminuição de sulfato. Observa-se que os processos predominantes para a biodegradação dos compostos BTX e etanol ocorreram via respiração aeróbia, redução de ferro e redução de sulfato. Portanto, os processos anaeróbios foram muito importantes para a atenuação natural de aquíferos contaminados por hidrocarbonetos monoaromáticos de petróleo mesmo na presença do etanol.

A constante de degradação de primeira ordem dos BTX em presença de etanol foi de 0,049 dia<sup>-1</sup> e na sua ausência, foi de 0,114 dia<sup>-1</sup>. Houve uma diminuição de aproximadamente 60% na cinética de degradação dos BTX na presença do etanol, porém todos os BTX foram degradados. Este fato é de suma importância ser considerado nos momentos de tomada de decisão de qual processo de remediação adotar, pois este efeito pode prejudicar todo o sistema adotado, fazendo com que leve mais tempo que o esperado e/ou aumente o risco de contaminação de fontes próximas.

A diminuição da taxa de degradação dos BTX, provocada pela presença do etanol, pode não ser um fator agravante no sistema de atenuação, se este tempo puder ser dado para que haja total eliminação dos BTX, isto é, se não houver fonte receptora por perto da área contaminada e/ou se o fluxo do lençol freático for baixo, não há necessidade de uma remediação ativa para proceder à descontaminação, pois a degradação apesar de mais lenta, está ocorrendo. Por outro lado, se houver perigo de contaminação de alguma fonte próxima e/ou se o fluxo do lençol freático for alto, a intervenção mecânica deve ser feita, pois o etanol diminui a taxa de degradação dos compostos BTX.

O benzeno foi o composto mais afetado pela presença do etanol; porém, quando ele estava em baixas concentrações, o benzeno foi degradado rapidamente. Isto é muito relevante dado o fato de que o benzeno tem sua concentração máxima (0,01mg/L) regulamentada por Lei Federal; portanto, a presença do etanol, prejudicando o início da degradação do benzeno, pode acarretar problemas jurídicos com os órgãos ambientais. A constatação deste efeito, pode indicar também, que compostos aromáticos policíclicos derivados do petróleo presentes em maior concentração na fase aquosa pelo efeito de cosolvência, possam ser afetados pela presença do etanol.

A não adição de nutrientes nos microcosmos não interferiu nos processos de degradação dos BTX e do etanol, isto significa que em sistemas ativos de remediação de áreas contaminadas, por HC de petróleo, maior atenção deve ser dada ao suprimento de aceptores finais de elétrons como o oxigênio, o nitrato, o ferro (III), e o sulfato, que irão suportar os processos aeróbios e anaeróbios de biodegradação natural (ou bioaugmentação), do que ao fornecimento de carbono, fósforo e nitrogênio, por exemplo.

Sabendo que as taxas de degradação obtidas em laboratório são muito dependentes das características do solo e/ou da água subterrânea utilizados nos testes e que, elas podem variar de local para local num sítio, as constantes de biodegradação obtidas neste experimento devem ser consideradas com muita cautela na sua projeção para estabelecimentos de estratégias de biorremediação "in situ". As taxas de degradação para modelar propostas "in situ" são mais apropriadamente adquiridas em estudos de campo.

A adição do etanol na gasolina comercial brasileira (GCB) mostrou ser uma prática que ajuda no problema da poluição atmosférica e no aumento do poder dos motores dos carros, porém, verificou-se neste estudo que o etanol interfere no tempo de degradação dos compostos BTX, aumentando-o em, aproximadamente, 60% ; mas apesar deste aumento, todos os compostos BTX foram degradados na presença do etanol. Deste modo, torna-se importante a consideração desta diminuição da velocidade de degradação, para a previsão do risco da pluma atingir fontes receptoras.

No entanto, em função da baixa velocidade de migração das plumas, o efeito produzido pelo etanol na biodegradação de HC de petróleo parece não ser lesiva ao meio ambiente; portanto, a atenuação natural mostra-se como uma alternativa promissora para os processos de remediação de aquíferos contaminados por gasolina.

## 5.2. Recomendações

\* Definir modelo matemático que forneça informações sobre a influência do etanol na degradação dos BTX;

\* Avaliações microbiológicas do solo e da água local; não só a quantificação, mas a diversidade e as interações ecológicas envolvidas no processo de degradação;

\* Estudar, através de técnicas de biologia molecular, as características qualitativas das enzimas envolvidas no processo de biodegradação;

\* Comparar os resultados da cinética em microcosmos com a cinética em escala real;

\* Avaliar o efeito da degradação de hidrocarbonetos policíclicos em presença de etanol.

---

---

## CAPÍTULO VI

---

---

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANP. 1999. Associação Nacional de Petróleo. <http://www.anp.gov.br>
- ALVAREZ, P.J.J. & VOGEL, T.M. 1991. Substrate interactions of benzene, toluene, and *para*-xylene during microbial degradation by pure cultures and mixed culture aquifer slurries. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57 (10): 2981 – 2985.
- API. 1993. Guide for assessing and remediating petroleum hydrocarbons in soils. American Petroleum Institute. Washington - DC.
- BELLER, H.R.; GRBIC'-GALI C', D. & REINHARD, M. 1992. Microbial degradation of toluene under sulfate-reducing conditions and the influence of iron on the process. *Environ. Sci. Technol.*, 58 (03): 786 – 793.
- BELLER, H.R.; SPORMANN A. M. SHARMA, P. K. COLE, J.R. & REINHARD, M. 1996. Isolation and characterization of a novel toluene-degrading, sulfate-reducing bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 (04): 1188 – 1196.
- BRASIL. 1979. Avaliação Tecnológica do Alcool Etilico. Presidência da República – Secretaria de Planejamento. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Brasília - DF.
- BROWN, R.A.; HINCHEE, R.; NORRIS, R.D. & WILSON, J. 1995. Bioremediation of petroleum hydrocarbons: A flexible, variable speed technology. In: Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation. Conference and Exposition. Texas.
- BORDEN, R.C. 1994. Natural bioremediation of hydrocarbon-contaminated ground water. In: Handbook of Bioremediation. MATTHEUS, J.E. Lewis Publishers.
- BOWLEN, G.F. & KOSSON, D.S. 1995. IN SITU process for bioremediation of BTEX and petroleum fuel products. In: Microbial Transformation and Degradation of toxic organic chemicals. YOUNG, L.Y. & CERNAGLIA, C.E. Wiley-Liss, NY.
- CALDWELL, R.D. 1995. Microbial, physiology & metabolism. Wm C. Brown Publishers, Iowa.

- CETESB. 1978. Normalização Técnica. L5.115. 1ª ed., São Paulo.
- CHAPELLE, F.H. 1993. Ground Water Microbiology and Geochemistry. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- CHIANG, C.Y.; SALANITRO, J.P.; CHAI, E.Y.; COLTHART, J.D. & KLEIN, C.L. 1989. Aerobic biodegradation of benzene, toluene, and xylene in a sandy aquifer: data analysis and computer modeling. *Ground Water*, 27 (06): 823 – 834.
- CLINE, P.V.; DELFINO, J.J. & RAO, P.S.C. 1991. Partitioning of Aromatic Constituents into Water from Gasoline and other Complex Solvent Mixture. *Environ. Sci. Technol.*, 25: 914 – 920.
- COATES, J.D.; ANDERSON, R.T.; WOODWARD, J.C.; PHILLIPS, E.J.P. & LOVLEY, D.R. 1996. Anaerobic hydrocarbon degradation in petroleum-contaminated Harbor sediments under sulfate-reducing and artificially imposed iron-reducing conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 30 (09): 2784 – 2789.
- COLBERG, P.J.S. & YOUNG, L.Y. 1995. Anaerobic Degradation of Homocyclic Aromatics. In: Microbial Transferation and Degradation of Toxic Organic Chemicals. YOUNG, L.Y. & CERNAGLIA, C.E. Wiley-Liss, New York.
- CONAMA. 1992. RESOLUÇÕES DO CONAMA 1984 A 1991. 4ª ed. Brasília - DF.
- CORSEUIL, H.X. 1992. Enhanced degradation of monoaromatic hydrocarbons in sandy aquifer materials by microbial inoculation using biologically active carbon reactors. Ph.D. Dissertação. University of Michigan, Ann Arbor, MI, EUA.
- CORSEUIL, H.X. & ALVAREZ, P.J.J. 1996. Natural bioremediation of aquifer material contaminated with gasoline-ethanol mixtures. *Rev. Microbiol.*, 27 (01): 19 – 26.
- CORSEUIL, H.X. & MARINS, M.D.M. 1997. Contaminação de águas subterrâneas por derramamentos de gasolina: o problema é grave? *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2 (2): 50-54.
- CORSEUIL, H.X. 1997. Biorremediação Natural de Aquíferos Contaminados com Derramamentos de Gasolina. Trabalho apresentado à Comissão Examinadora, como parte dos requisitos para o Curso de Professor Titular no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina.
- CORSEUIL, H.X.; HUNT, C.S.; SANTOS, R.C.F. & ALVAREZ, P.J.J. 1998. The influence of the gasoline oxygenate ethanol on aerobic and anaerobic BTX biodegradation. *Wat. Res.*, 32 (7): 2065-2072.
- EDWARDS, E. A.; REINHARD, W.M. & GRBIC'-GALIC', D. 1992. Anaerobic degradation of toluene and xylene by aquifer microorganisms under sulfate-reducing conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 58 (03): 794 – 800.

- EDWARDS, E.A & GRBIC'-GALIC', D. 1994. Anaerobic degradation of toluene and *o*-xylene by a methanogenic consortium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60 (01): 313 – 322.
- EPA. 1996. Environment Protect Agency, CD ROM SW-846 - May.
- EURECO. 1990. Part I: Technical data sheets on substances, candidates for list 1. Directive 76/464/EEC. Final Report - October
- EVANS, P.J.; MANG, D.T.; KIM, K.S & YOUNG, L.Y. 1991. Anaerobic degradation of toluene by a denitrifying bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57 (04): 1139 – 1145.
- FERNANDES, M. 1997. “Influência do etanol na solubilidade de hidrocarbonetos monoaromáticos em aquíferos contaminados por gasolina”. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. 115p.
- GAFFNEY, J.S.; MARLEY, N.A.; MARTIN, R.S.; DIXON, R.W.; REYES, L.G. & POPP, C.J. 1997. Potential air quality effects of using ethanol-gasoline fuel blends: A field study in Albuquerque, New Mexico. *Environ. Sci. Technol.*, 31 (11): 3053-3061.
- GOVERNO DO ESTADO DE SANTA CATARINA. 1995. Legislação Básica do Estado de Santa Catarina, atualizada em maio. Lei 5793 (15/10/1980) e Decreto 14250 (05/06/1981). Florianópolis, SC.
- GOVERNO FEDERAL. 1998. Medida Provisória Nº 1662 de 28 de maio. Diário Oficial da União de 29 de maio de 1998, nº 101, seção 1, página 11. Brasília, DF.
- GRBIC'-GALIC', D. & VOGEL, T.M. 1987. Transformation of toluene and benzene by mixed methanogenic cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53 (02): 254 – 260.
- GUINGER, N. 1996. Poluição de águas subterrâneas e do solo causada por vazamentos em postos de abastecimento. Waterloo Hydrogeologic, Ontario. pp. 76 – 100.
- HÄNER, A.; HÖHENER, P. & ZEYER, J. 1995. Degradation of *p*-xylene by a denitrifying enrichment culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61 (08): 3185 – 3188.
- HART, S. 1996. In Situ Bioremediation: defining the limits. *Environ. Sci. Technol.*, 30 (09): 398 – 401.
- HERRINGTON, R.T.; SWANSON, M.A.; WIEDEMEIER, T.H. & MILLER, R.N. 1995. Low-temperature intrinsic bioremediation of dissolved fuel hydrocarbons in ground water at two northern air force bases. In: Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation. Conference and Exposition. Texas.
- HOWARD, P.H. 1990. Handbook of Environmental Fate and Exposure data for Organic Chemicals. Vol I e II. Lewis Publishers, Inc. Chelsea - MI.

- HUTCHINS, S.R. 1991. Biodegradation of monoaromatic HC by aquifers microorganisms using oxygen, nitrate or nitrous oxide as the terminal electron acceptor. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57 (8).
- KAZUMY, J.; CALDWELL, M.E.; SUFLITA, J.M.; LOVLEY, D.R. & YUONG, L.Y. 1997. Anaerobic degradation of benzene in diverse anoxic environments. *Environ. Sci. Technol.*, 31 (03): 813-818.
- KENNEDY, L.G.; EVERETT, J.W.; WARE, K.J. PARSONS, R. & GREEN, V. 1998. Iron and sulfur mineral analysis methods for natural attenuation assessment. *Biorem. J.*, 2 (3 - 4): 259-276.
- LEE, R.S. 1994. Data collection methods. In: Ground water contamination. Transport and Remediation. Prentice-Hall, Inc.
- LOVLEY, D.R.; BAEDECKER, M.J.; LONERGAN, COZZARELLI, I.M.; PHILLIPS, E.J.P. & SIEGEL, D.I. 1989. Oxidation of aromatic contaminants coupled to microbial iron reduction. *Nature*, 339: 297 - 300.
- LOVLEY, D.R. & LONERGAN, D.J. 1990. Anaerobic oxidation of toluene, phenol, and *p*-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism. GS-15. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 1858 - 1864.
- LOVLEY, D.R. 1991. Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction. *Microbiol. Rev.*, 55: 259 - 287.
- LOVLEY, D.R.; WOODWARD, J.C. & CHAPELLE, F.H. 1996. Rapid anaerobic benzene oxidation with a variety of chelated Fe (III) forms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 (01): 288 - 291.
- MACKAY, D.M. & CHERRY, J.A. 1989. Groundwater Contamination: Pump-and-Treat Remediation. *Environ. Sci. Technol.*, 23: 630.
- MARESCO, V.S.; KEARNS, A.; BYRNES, T.R.; BENDER, D.J. & TROY, M.A. 1995. Evidence for natural attenuation of BTEX after termination of a ground water pump-and-treated systems - a case study. In: Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation. Conference and Exposition. Texas.
- McCARTY, P.L. 1975. Stoichiometry of biological reactions. *Progress in Water Technology*, 7: 157 - 165.
- MILLER, R.N. 1990. A field-scale investigation of enhanced petroleum HC biodegradation in Vadose Zone at Tyndall Air Force Base, Florida. In: Proceedings of the petroleum HC and organic chemicals in ground water : Prevention, detection and restoration. Conference: NWWA/API, p 339-351.



- MORMILE, M.R.; LIU, S. & SUFLITA, J.M. 1994. Anaerobic biodegradation of gasoline oxygenates: extrapolation of information to multiple sites and redox conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1727 – 1732.
- NEWELL, C.J.; WINTERS, J.A.; MILLER, R.N.; GONZALES, J.; RIFAI, H.S. & WIEDEMEIER, T.H. 1995. Modeling intrinsic remediation with multiple electron acceptors: results from seven sites. In: Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation. Conference and Exposition. Texas.
- NORRIS, R.D. 1994. IN SITU bioremediation of soils and ground water contaminated with petroleum hydrocarbons. In: Handbook of Bioremediation. MATTHEUS, J.E. Lewis Publishers.
- NOVICK, N.J.; PAYNE, R.E.; HILL, J.G. & DOUTHIT, T.L. 1995. A tiered approach to demonstrate intrinsic bioremediation of petroleum hydrocarbons in ground water. In: Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation. Conference and Exposition. Texas.
- RABUS, R.; NORDHAUS, R.; LUDWIG, W & WIDDEL, F. 1993. Complete oxidation of toluene under strictly anoxic conditions by a new sulfate-reducing bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (05): 1444 – 1451.
- REINHARD, M. 1994. IN SITU bioremediation technologies for petroleum-derived hydrocarbons based alternate electron acceptors (other than molecular oxygen). In: Handbook of Bioremediation. MATTHEUS, J.E. Lewis Publishers.
- SALANITRO, J.P.; WISNIEWSKI, H.L.; NEAVILLE, C.C. & SCHRODER, R.A. 1997. Use of aerobic and anaerobic microcosms to assess BTEX biodegradation in aquifers. *GWMR*: 210 – 221.
- SANTOS, R.C.F. 1996. “ Impacto do Etanol na Biodegradação de compostos hidrocarbonetos monoaromáticos em aquíferos contaminados por derramamento de gasolina. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. 103p.
- SMITH, R.L. 1997. Determining the Terminal Electron-Accepting Reaction in the Saturated Subsurface. In: Manual Environmental Microbiology. HURST, C.J. ASM Press, Washington, DC.
- STANDARD METHODS, For the examination of water and wastewater. 1992. 18<sup>o</sup>ed. EPS Group, Inc. Hanover, Maryland.
- STRAUB, K.L.; BENZ, M. SCHINK, B. & WIDDEL, F. 1996. Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 (04): 1458 – 1460.

- THIEM, S.M.; KRUMME, M.L. SMITH, R.L. & TIEDJE, J.M. 1994. Use of molecular techniques to evaluate the survival of a microorganism injected into an aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60 (04): 1059 – 1067.
- TIEDJE, J.M. 1993. Bioremediation from an ecological perspective. In: In Situ Bioremediation. When does it work? National Research Council. National Academy Press, Washington, DC.
- TSAO, C.W.; SONG, H.G. & BARTHA, R. 1998. Metabolism of benzene, toluene and xylenes HC in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64 (12): 4924 – 4929.
- VROBLESKY, D.A. & CHAPELLE, F.H. 1994. Temporal and spatial changes of terminal electron-accepting processes in a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer and the significance for contaminant biodegradation. *Water Resour. Res.*, 30 (05): 1561 – 1570.
- WIEDEMEIER, T.; WILSON, J.T.; KAMPBELL, D.H.; MILLER, R.N & HANSEN, J.E. 1994. Tecnical Protocol for Implementing Intrinsic Remediation with Long-Term Monitoring for Natural Attenuation of Fuel Contamination Dissolved in Groundwater. Vol 1. Brooks AFB, San Antonio, Texas.
- WIEDEMEIER, T.H.; SWANSON, M.A. & NEAVILLE, C.C. 1995a. Intrinsic bioremediation of petroleum hydrocarbons in groundwater at the Phoenix Pipeline terminal Arizona. In: Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation. Conference and Exposition. Texas.
- WIEDEMEIER, T.H.; MILLER, R.N.; WILSON, J.T. & KAMPBELL, D.H. 1995b. Significance of anaerobic process for the intrinsic bioremediation of fuel hydrocarbons. In: Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Remediation. Conference and Exposition. Texas.
- WEINER, J.M. & LOVLEY, D.R. 1998. Rapid benzene degradation in methanogenic sediments from a Petroleum-Contaminated aquifer. 64 (05): 1937 – 1939.

## Apêndice A

Tabela das condições de trabalho utilizadas no  
Headspace Sampler HP - 7694

Parâmetros	Valor (°C)	Parâmetros	Valor (min.)	Parâmetros	Valor (psi)
Oven	75	Ciclo CG	15	Pressão de arraste	6,1
Loop	80	Eq. Vial	3		
Tr. Line	80	Pressuriz.	0,13	Pressão no vial	19,9
		Loop	0,10		
		Eq. Loop	0,10		
		Injeção	0,10		

Tabela das condições de trabalho utilizadas no  
Cromatógrafo Gasoso (CG) HP-5890

Parâmetros	Valor (°C)	Parâmetros	Valor (min.)	Eventos de Integração	Valor (psi)
Injet. A	250	Eq. oven	2	Área rejeit.	0
Detec. A	320			Pico inicial	0,01
Oven	70/2min			Lim. inicial	0
Taxa °C/min	5/min			Integração	0,2

## Apêndice B

TABELA I – Tratamento 01. Dia 01.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	5,03	4,90	4,93	4,95	0,07
Temperatura (°C)	26,30	26,80	25,5	26,20	0,66
Pot. Redox (mV)	107	120	117	114,67	6,81
Condut. (µS)	66	66	66	66	0
Benzeno (mg/L)	3,71	4,21	5,03	4,32	0,67
Tolueno (mg/L)	4,27	5,03	5,98	5,09	0,86
o-Xileno (mg/L)	5,17	6,03	6,97	6,06	0,90
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	0,03	0,02	0,04	0,03	0,01
Sulfato (mg/L)	1,60	1,60	1,62	1,61	0,01
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA II – Tratamento 01. Dia 30.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	4,84	4,54	4,49	4,62	0,19
Temperatura (°C)	25,2	25,6	25,4	25,40	0,20
Pot. Redox (mV)	139	142	144	141,67	2,52
Condut. (µS)	*	*	*	-	-
Benzeno (mg/L)	2,55	3,05	2,03	2,54	0,51
Tolueno (mg/L)	1,88	2,55	1,63	2,02	0,48
o-Xileno (mg/L)	2,93	3,77	3,03	3,24	0,46
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Sulfato (mg/L)	1,44	1,51	1,39	1,45	0,06
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA III – Tratamento 01. Dia 66.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	4,93	4,73	4,65	4,77	0,14
Temperatura (°C)	25,6	25,6	25,6	25,6	0
Pot. Redox (mV)	118	130	135	127,67	8,74
Condut. (µS)	65,8	59,6	57,3	60,9	4,40
Benzeno (mg/L)	0,10	0,15	0,14	0,13	0,02
Tolueno (mg/L)	0,03	0,09	0,05	0,06	0,03
o-Xileno (mg/L)	1,11	1,23	1,10	1,15	0,07
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Sulfato (mg/L)	1,40	1,57	1,61	1,53	0,11
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA IV – Tratamento 01. Dia 102.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	4,4	4,37	4,29	4,35	0,06
Temperatura (°C)	26,7	26,7	26,9	26,77	0,12
Pot. Redox (mV)	151	153	157	153,67	3,06
Condut. (µS)	54,9	53,5	54,5	54,30	0,72
Benzeno (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Tolueno (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
o-Xileno (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	0,15	0,08	0,07	0,10	0,04
Sulfato (mg/L)	1,76	1,61	1,42	1,60	0,17
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA V – Tratamento 01. Dia 134.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	4,80	4,76	4,66	4,74	0,07
Temperatura (°C)	24,2	24,2	24,2	24,20	0
Pot. Redox (mV)	123	126	131	126,67	4,04
Condut. (µS)	64	55,20	54,30	57,83	5,36
Benzeno (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Tolueno (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
o-Xileno (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	0,14	0,22	0,15	0,17	0,04
Sulfato (mg/L)	1,43	1,62	1,65	1,57	0,12
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA VI – Tratamento 02. Dia 01.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	5,51	5,26	5,24	5,34	0,15
Temperatura (°C)	22,8	23,2	22,9	22,97	0,21
Pot. Redox (mV)	85	97	98	93,33	7,23
Condut. (µS)	66	66	66	66	0
Benzeno (mg/L)	6,33	6,48	6,55	6,45	0,11
Tolueno (mg/L)	6,02	6,06	6,10	6,06	0,04
o-Xileno (mg/L)	6,01	6,78	6,92	6,57	0,49
Etanol (mg/L)	374,40	350,58	438,00	387,66	45,19
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Sulfato (mg/L)	1,53	1,44	1,44	1,47	0,05
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA VII – Tratamento 02. Dia 30.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	4,38	4,51	4,54	4,48	0,09
Temperatura (°C)	24,6	25,1	25,4	25,03	0,4
Pot. Redox (mV)	151	143	141	145	5,29
Condut. (µS)	*	*	*	-	-
Benzeno (mg/L)	7,05	8,58	8,47	8,03	0,85
Tolueno (mg/L)	7,00	7,47	6,81	7,09	0,34
o-Xileno (mg/L)	5,58	6,54	6,96	6,36	0,71
Etanol (mg/L)	428,01	531,33	498,03	485,79	52,74
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Sulfato (mg/L)	0,17	0,05	0,06	0,09	0,07
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA VIII – Tratamento 02. Dia 66.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	4,26	4,30	4,29	4,28	0,02
Temperatura (°C)	25,5	25,8	25,5	25,6	0,17
Pot. Redox (mV)	158	156	156	156,67	1,15
Condut. (µS)	92,4	101,1	86,2	93,23	7,48
Benzeno (mg/L)	4,93	4,23	5,56	4,91	0,66
Tolueno (mg/L)	3,16	2,75	3,71	3,21	0,48
o-Xileno (mg/L)	3,13	2,87	3,58	3,20	0,36
Etanol (mg/L)	349,81	325,65	418,72	364,73	48,29
Fe (II) (mg/L)	2,34	2,26	2,19	2,26	0,08
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Sulfato (mg/L)	0,04	0,07	0,09	0,07	0,03
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA IX – Tratamento 02. Dia 102.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	3,79	3,92	3,9	3,87	0,07
Temperatura (°C)	26,7	26,8	27	26,83	0,15
Pot. Redox (mV)	188	179	182	183	4,58
Condut. (µS)	96,4	114,5	107,1	106	9,1
Benzeno (mg/L)	2,95	3,40	1,43	2,59	1,03
Tolueno (mg/L)	1,48	1,61	0,92	1,34	0,37
o-Xileno (mg/L)	1,54	1,56	1,22	1,44	0,19
Etanol (mg/L)	8,91	9,99	9,69	9,53	0,56
Fe (II) (mg/L)	1,57	4,48	3,48	3,18	1,48
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Sulfato (mg/L)	0,04	0,05	0,06	0,05	0,01
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA X – Tratamento 02. Dia 134.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	4,24	4,41	4,50	4,38	0,13
Temperatura (°C)	24,00	24,00	24,00	24,00	0
Pot. Redox (mV)	153,00	146,00	140,00	146,33	6,51
Condut. (µS)	124,80	172,00	196,20	164,33	36,31
Benzeno (mg/L)	0,05	0,05	0,07	0,06	0,01
Tolueno (mg/L)	0,31	0,41	0,32	0,36	0,05
o-Xileno (mg/L)	0,41	0,42	0,41	0,41	0,01
Fe (II) (mg/L)	3,57	4,68	4,68	4,31	0,64
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Sulfato (mg/L)	0,08	0,07	0,08	0,08	0,01
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-



TABELA XI – Tratamento 03. Dia 01.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	5,41	4,80	5,12	5,11	0,31
Temperatura (°C)	25,8	25,5	24,8	25,37	0,51
Pot. Redox (mV)	60	64	62	62	2
Condut. (µS)	66	66	66	66	0
Benzeno (mg/L)	6,77	7,23	7,00	7,00	0,23
Tolueno (mg/L)	7,83	7,44	8,00	7,76	0,29
o-Xileno (mg/L)	8,05	8,37	8,32	8,25	0,17
Etanol (mg/L)	438,50	389,02	411,57	413,03	24,77
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	205,88	204,81	208,07	206,25	1,66
Sulfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA XII – Tratamento 03. Dia 30.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	5,38	5,39	5,41	5,39	0,02
Temperatura (°C)	25,1	25,1	25,4	25,2	0,17
Pot. Redox (mV)	89	89	89	89	0
Condut. (µS)	*	*	*	-	-
Benzeno (mg/L)	6,51	6,82	7,01	6,78	0,25
Tolueno (mg/L)	7,34	7,59	7,91	7,61	0,29
o-Xileno (mg/L)	8,01	8,09	8,59	8,23	0,31
Etanol (mg/L)	419,27	400,30	391,70	403,76	14,11
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	212,11	212,16	210,96	211,74	0,68
Sulfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA XIII – Tratamento 03. Dia 66.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	5,5	5,42	5,45	5,46	0,04
Temperatura (°C)	25,9	25,6	25,1	25,53	0,4
Pot. Redox (mV)	83	88	86	85,67	2,52
Condut. (µS)	1544	1527	1533	1534,67	8,62
Benzeno (mg/L)	6,09	6,91	6,88	6,63	0,47
Tolueno (mg/L)	7,61	7,59	7,00	7,38	0,33
o-Xileno (mg/L)	7,90	8,04	8,50	8,15	0,31
Etanol (mg/L)	420,00	440,08	395,59	418,56	22,28
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	211,80	209,82	211,66	211,09	1,10
Sulfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA XIV – Tratamento 03. Dia 102.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	5,46	5,36	5,48	5,43	0,06
Temperatura (°C)	26,6	26,3	26,7	26,53	0,21
Pot. Redox (mV)	85	92	84	87	4,36
Condut. (µS)	1442	1433	1436	1437	4,58
Benzeno (mg/L)	5,92	6,07	6,71	6,23	0,42
Tolueno (mg/L)	6,91	6,97	7,32	7,07	0,22
o-Xileno (mg/L)	7,89	8,05	8,71	8,22	0,43
Etanol (mg/L)	375,00	392,71	362,90	376,87	14,99
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	205,88	211,67	216,88	211,45	5,50
Sulfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

TABELA XV – Tratamento 03. Dia 134.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
pH	5,62	5,62	5,66	5,63	0,02
Temperatura (°C)	24,2	24,2	24,2	24,2	0
Pot. Redox (mV)	77	77	76	76,67	0,58
Condut. (µS)	1384	1391	1432	1402,33	25,93
Benzeno (mg/L)	5,91	6,31	5,99	6,07	0,21
Tolueno (mg/L)	7,22	7,01	6,87	7,03	0,18
o-Xileno (mg/L)	7,99	8,15	8,39	8,17	0,20
Etanol (mg/L)	389,00	364,06	371,70	374,92	12,78
Fe (II) (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrito (mg/L)	nd	nd	nd	-	-
Nitrato (mg/L)	310,52	310,00	312,54	311,02	1,34
Sulfato (mg/L)	4,67	6,80	5,71	5,73	1,07
Fosfato (mg/L)	nd	nd	nd	-	-

\* - análise não realizada

nd - não detectado