

Ana Paula Nogareti Gomes

**BIODEGRADAÇÃO DE BIODIESEL SOJA, MAMOMA E
HIDROCARBONETOS MONOAROMÁTICOS EM AMBIENTES
AQUÁTICOS**

Florianópolis – SC

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Ana Paula Nogareti Gomes

**BIODEGRADAÇÃO DE BIODIESEL SOJA, MAMOMA E
HIDROCARBONETOS MONOAROMÁTICOS EM AMBIENTES
AQUÁTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Henry X. Corseuil

FLORIANÓPOLIS

2008

Gomes, Ana Paula Nogareti

Biodegradação de biodiesel soja, mamona e hidrocarbonetos monoaromáticos em ambientes aquáticos.

Ana Paula Nogareti Gomes – Florianópolis, 2008.

xi, 88f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

Título em inglês: Biodegradation of soybean oil, castor oil and monoaromatic hydrocarbons in aquatic environments.

1. Biodiesel. 2. Biodegradação. 3. Óleo de Soja. 4. Óleo de Mamona. 5. Hidrocarbonatos Monoaromáticos

TERMO DE APROVAÇÃO

“Biodegradação de biodiesel soja, mamona e hidrocarbonetos monoaromáticos em ambientes aquáticos”

ANA PAULA NOGARETI GOMES

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

Aprovado por:

Prof. Rejane Helena Ribeiro da Costa, Dra.

Prof. William Gerson Matias, Dr.

Prof. Hugo Moreira Soares, Dr.

Prof. Henry Xavier Corseuil, Dr.
(Orientador)

Prof. Sebastião Roberto Soares, Dr.
(Coordenador)

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL
Abril/2008.

“Querer fazer o máximo, o perfeito, pode nos levar a não ver que o mínimo que pode ser feito, vale mais para transformar, do que o fazer-se nada e apenas querer. É no real que podemos encontrar as possibilidades.”

Maria Elvira Carvalho

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus a vida e as oportunidades durante esta jornada.

Agradeço ao Prof. Henry X. Corseuil a orientação, a amizade e a confiança depositada em mim durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais Marisa e Paulo, e minha vó Elza pelo constante incentivo.

Ao meu esposo Alexandre pelo carinho, a paciência e sobre tudo o seu amor.

Aos colegas do laboratório REMAS: Alexandre, Aline, Aloísio, Ana Cláudia, Ana Hilda, Beatriz, Carlos, Cássio, Cristina, Érico, Deise, Gerly, Helen, Márcio da Silva, Márcio Schneider, Marcos, Mariana, Marilda, Mário, Nara, Rafael, Tatiana pelo apoio e ajuda sempre que precisei.

A todos os meus colegas pela amizade e companheirismo.

A Eliza Maria do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) por ter cedido às amostras de biodiesel.

Ao CENPES/PETROBRAS, pelo apoio financeiro ao projeto.

Ao CNPq pela concessão de bolsa.

A Universidade Federal de Santa Catarina, os professores e funcionários do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental pela oportunidade de concluir este trabalho.

Finalmente, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O uso do biodiesel no Brasil para veículos comerciais a diesel passou a ser autorizado pelo governo a partir de janeiro de 2005, permitindo uma adição de 2% deste combustível alternativo ao diesel. O biodiesel é um combustível de queima limpa obtido pela transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais e possui como principais vantagens ambientais o fato de ser renovável, biodegradável e de baixa toxicidade. Portanto, com a comercialização do biodiesel, o destino deste no ambiente aquático é de grande interesse, pois os derramamentos de petróleo constituem uma das principais fontes de contaminação dos ecossistemas. Neste estudo, avaliou-se a biodegradação do biodiesel puro (B100) de soja e mamona e sua interação com os compostos BTEX, utilizando microcosmos anaeróbicos preparados com água subterrânea. A montagem dos microcosmos foi realizada com amostras de água subterrânea e solo de uma área não-contaminada da Fazenda Experimental da Ressacada (Florianópolis – SC). Foram feitas análises periódicas dos microcosmos por cromatografia gasosa, avaliando a variação da concentração dos ésteres metílicos contidos no biodiesel de soja e mamona e dos compostos BTEX. Como resultado, observou-se que a biodegradação do biodiesel puro de soja e de mamona não apresentaram as mesmas características de degradação. Sendo que a biodegradação do biodiesel de soja foi mais rápida do que a biodegradação do biodiesel de mamona. Ou seja, enquanto mais de 86% do biodiesel de soja já havia sido degradado em 41 dias, o biodiesel de mamona, após 92 dias, degradou apenas 42%. Na avaliação da influência do biodiesel na biodegradação dos compostos BTEX, observou-se que a presença do biodiesel apresentou efeito negativo na degradação dos compostos BTEX, evidenciada por meio do retardo na biodegradação destes compostos. O benzeno foi o composto que degradou mais lentamente na presença do biodiesel com uma meia vida quatro vezes maior do que na ausência do biodiesel. Como o benzeno é o composto mais tóxico dentre os BTEX, um aumento da sua persistência no local contaminado também aumenta os riscos associados à exposição potencial.

ABSTRACT

The use of biodiesel in Brazil for commercial diesel vehicles has been authorized by the government on January 2005 by the mandatory use of a blend of 2% of biodiesel. Biodiesel offers low emissions due to a cleaner combustion. Biodiesel is produced by the transesterification of vegetable oils or animal fats and has major environmental benefits such as renewable source of energy, high biodegradability and low toxicity. With the high demands of alternative fuels the presence of biodiesel in groundwater contaminated with gasoline constituents such as benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX) is expected to increase in the near future. In this study, the biodegradation of neat soybeans and castor oil with or without benzene, toluene, ethylbenzene and the isomers of xylenes (BTEX) were investigated. The experiments were conducted using anaerobic microcosms prepared with uncontaminated groundwater collected at Fazenda Experimental Resselada (Florianópolis – SC, Brazil). The concentrations of methyl esters and BTEX were analyzed over time using a gas chromatography. The biodegradation of soybean and castor oil did not show the same biodegradation patterns. The removal of soybean occurred much faster than castor oil. While more than 86% of the soybean was degraded in 41 days, only 42% of the castor oil was removed after 92 days of acclimation. The biodegradation of BTEX was delayed in the presence of biodiesel. Benzene half-life in the presence of biodiesel was 4 fold higher than benzene tested without biodiesel. This is particularly important for benzene which is the most toxic compound among the BTEX an increasing its persistence in the contaminated site also increases the risks associated with potential exposure.

SUMÁRIO

RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	XI
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Contextualização.....	1
1.2 Objetivos.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Biodiesel.....	4
2.2. Caracterização dos contaminantes.....	5
2.2.1 Ésteres alquílicos de ácidos graxos	6
2.2.2 Hidrocarbonetos Monoaromáticos (BTEX)	9
2.3 Biodegradação do biodiesel e dos hidrocarbonetos monoaromáticos	11
2.3.1 Biodegradação do biodiesel.....	12
2.3.2 Biodegradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX).....	14
2.3.3 Efeito de múltiplos substratos na biodegradação dos compostos BTEX	15
2.3 Cinética de biodegradação.....	17
2.4 Modelo energético de biodegradação.....	18
3 MATERIAS E METODOS	22
3.1 Caracterização das amostras de água subterrânea e do solo	22
3.2 Caracterização do biodiesel de soja e mamona.....	24
3.3 Montagem dos microcosmos.....	25
3.4 Procedimentos analíticos.....	28
3.4.1 Determinação da biodegradação do biodiesel de soja e mamona	28
3.4.2 Determinação da biodegradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX).29	

4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	32
4.1	Caracterização da água subterrânea, do solo e das amostras de biodiesel	32
4.2	Modelo energético de biodegradação heterotrófica aeróbia.....	34
4.3	Biodegradação anaeróbica do biodiesel (B100) de soja e mamona.....	36
4.4	Biodegradação anaeróbica dos compostos BTEX na ausência e presença de biodiesel de soja	39
4.5	Determinação dos receptores de elétrons nitrato e sulfato e do pH.....	43
4.5	Determinação da cinética de biodegradação.....	47
4.5.1	Cinética de biodegradação do biodiesel	48
4.5.2	Cinética de biodegradação dos compostos BTEX.....	50
5	CONCLUSÕES	54
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
7	RECOMENDAÇÕES.....	58
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
	APÊNDICE A	64
	APÊNDICE B.....	72
	APÊNDICE C.....	75
	ANEXO	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Ocorrência do biodiesel em derramamentos subsuperficiais (A) Derramamento de diesel com biodiesel. (B) Vazamento simultâneo de gasolina (ou outro combustível) e biodiesel.....	6
Figura 2.2 - Fórmula estrutural dos principais ésteres alquílicos de ácidos graxos que compõem o biodiesel. (R = CH ₃ ou CH ₂ CH ₃).....	7
Figura 2.3 - Fórmula estrutural dos hidrocarbonetos monoaromáticos que formam o grupo BTEX.....	11
Figura 2.4 - Oxidação aeróbia do benzeno a catecol.....	14
Figura 2.5 - Utilização do doador de elétron para a produção de energia e síntese (Modificado de RITTMANN & McCARTY, 2001).....	19
Figura 3.1 - Vista geral da área de coleta do material para montagem dos microcosmos (Fazenda Experimental Ressacada).....	23
Figura 3.2 - Equipamento utilizado para as análises realizadas em campo.....	24
Figura 3.3 - Frascos utilizados como microcosmos.	26
Figura 3.4 - Procedimento de desaeração dos microcosmos anaeróbicos.....	27
Figura 3.5 - Cromatograma da amostra de água subterrânea contaminada com biodiesel de soja.....	29
Figura 3.6 - Cromatograma da amostra de água subterrânea contaminada com biodiesel de mamona.	29
Figura 3.7 - Cromatograma da amostra de água subterrânea contaminada com BTEX.	30
Figura 4.1 - Gráfico da biodegradação dos principais compostos presentes no biodiesel de soja e mamona em função do tempo. (●) Controle, (◆) Ricinoleato, (■) Linoleato, (▲) Oleato, (●) Palmitato, (◆) Linolenato e (■) Estereato.	37
Figura 4.2 - Porcentagem de remoção dos ésteres metílicos totais que compõem o biodiesel de soja e mamona <i>versus</i> o tempo. (◆) Biodiesel de soja e (■) Biodiesel de mamona.....	39
Figura 4.3 - Biodegradação do benzeno na ausência e presença de biodiesel de soja. (●) Controle, (■) Benzeno + Biodiesel e (◆) Benzeno	41

Figura 4.4 - Biodegradação do tolueno na ausência e presença de biodiesel de soja. (●) Controle, (■) Tolueno + Biodiesel e (◆) Tolueno	42
Figura 4.5 - Biodegradação do etilbenzeno na ausência e presença de biodiesel de soja. (●) Controle, (■) Etilbenzeno + Biodiesel e (◆) Etilbenzeno	42
Figura 4.6 - Biodegradação dos xilenos na ausência e presença de biodiesel de soja. (●) Controle, (■) Xilenos + Biodiesel e (◆) Xilenos	43
Figura 4.7 - Variação da concentração de nitrato ao longo do tempo na biodegradação dos compostos BTEX.....	44
Figura 4.8 - Variação da concentração de nitrato ao longo do tempo na biodegradação do biodiesel de soja e mamona.	45
Figura 4.9 - Variação da concentração de sulfato ao longo do tempo na biodegradação dos compostos BTEX.....	46
Figura 4.10 - Variação da concentração de sulfato ao longo do tempo na biodegradação do biodiesel de soja e mamona.	46
Figura 4.11 - Curva de decaimento de primeira ordem dos principais compostos presentes no biodiesel de soja e mamona. (■) Biodiesel de mamona e (◆) Biodiesel de Soja.	49
Figura 4.12 - Curva de decaimento de primeira ordem dos compostos BTEX na presença e ausência de biodiesel. (■) BTEX + biodiesel de soja e (◆) BTEX.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Propriedades físico-químicas dos principais compostos do biodiesel.....	8
Tabela 2.2 - Propriedades físico-químicas dos compostos BTEX.	10
Tabela 2.3 - Meias-reações de formação de células (R_c), receptores de elétrons (R_r) e doadores de elétrons (R_d)......	21
Tabela 3.1 - Valores experimentais utilizados para a montagem dos microcosmos.	26
Tabela 4.1 - Caracterização da água subterrânea utilizada nos experimentos.....	32
Tabela 4.2 - Resultados dos nutrientes no solo da Fazenda Experimental da Ressacada.	33
Tabela 4.3 - Composição química do biodiesel puro de soja e mamona.....	34
Tabela 4.4 - Reações de oxidação-redução via respiração aeróbia do íon palmitato, do etanol e dos compostos BTEX.	35
Tabela 4.5 - Coeficiente de biodegradação (λ) para o desaparecimento dos principais compostos do biodiesel de soja e mamona, tempo de meia vida ($T_{1/2}$) e coeficientes de correlação (R^2)......	50
Tabela 4.6 - Coeficiente de biodegradação (λ) para o desaparecimento dos compostos BTEX na ausência e presença de biodiesel soja, tempo de meia vida ($T_{1/2}$) e coeficientes de correlação (R^2)......	53

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização

Os vários problemas ambientais que a sociedade vem enfrentando em função da poluição atmosférica por combustíveis fósseis, combinados com a grande demanda de energia e escassez de recursos energéticos, levaram ao desenvolvimento de tecnologias que permitiram utilizar fontes renováveis de energia de duração ilimitada e de menor impacto ambiental. O biodiesel (ésteres mono alquila) é um combustível de queima limpa obtido pela transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais e possui como principais vantagens ambientais o fato de ser renovável, biodegradável e de baixa toxicidade (GERPEN, 2005).

A implantação deste biocombustível na matriz energética do país, além de reduzir a dependência em relação ao petróleo, também contribui para a geração de renda e emprego por poder ser produzido por agricultura familiar. O biodiesel gera menos poluição ambiental, ou seja, seu uso diminui as emissões de gases do efeito estufa, de enxofre e de material particulado. Mais especificamente, o biodiesel reduz 95% de emissões de dióxido de carbono, 48% de monóxido de carbono e 47% de material particulado e hidrocarbonetos (PETROBRAS, 2006).

Diversos países no mundo, como Alemanha, França e Estados Unidos já possuem programas bem desenvolvidos para a produção e uso do biodiesel. No Brasil, o uso do biodiesel para veículos comerciais a diesel passou a ser autorizado pelo governo a partir de janeiro de 2005 com a Lei Nº 11.097, permitindo uma adição de 2% ao diesel (B2). Em janeiro de 2008, a mistura de 2% passou a ser obrigatória em todo diesel nacional e em 2013, este percentual aumentará para 5% (BRASIL, 2005). Em março de 2008, o Conselho Nacional de Política Energética, publicou no diário oficial da união a resolução Nº 2/2008

onde estabelece que a partir do dia 1º de julho de 2008 o percentual de mistura obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado em todo país vai aumentar de 2% para 3%. Portanto, com a comercialização do biodiesel, o destino deste no meio ambiente é de grande interesse, pois ao mesmo tempo em que essas energias alternativas possuem alto potencial para a redução de emissões gasosas, pouco se conhece sobre os reais impactos aos corpos hídricos.

Vários acidentes ambientais envolvendo a contaminação de aquíferos e solos por hidrocarbonetos de petróleo vêm ocorrendo nas últimas décadas. No Brasil, o número de postos de combustíveis chega a 34.709 e, somente em Santa Catarina, são 1.921, de acordo com Anuário Estatístico de 2007 da ANP - Agência Nacional de Petróleo. Portanto, vários desses postos de combustíveis apresentam tanques de armazenamento com mais de 25 anos de uso, e com isso pode-se esperar um aumento na ocorrência de vazamentos nos postos do país, devido principalmente pelo surgimento de rachaduras ou corrosões (CORSEUIL & MARINS, 1997). No entanto, em caso de vazamentos e derramamentos de biodiesel, não se sabe quais são os seus reais efeitos sobre a qualidade das águas subterrâneas, e se o risco à saúde humana e ao meio ambiente é tolerável. Tendo em vista ainda a tendência de que estes novos combustíveis renováveis sejam armazenados e transportados juntamente aos combustíveis fósseis, a inter-relação dos impactos destas misturas em caso de acidentes é ainda totalmente desconhecida.

O biodiesel não contém petróleo, mas pode ser adicionado a ele formando uma mistura. Portanto, as misturas com diesel de petróleo apresentarão hidrocarbonetos aromáticos. Dentre os muitos componentes de hidrocarbonetos de petróleo os compostos monoaromáticos tais como o benzeno, tolueno, etilbenzeno e os xilenos (BTEX) são os de maior interesse, pois são mais solúveis em água e os mais tóxicos quando liberados ao meio ambiente (CHAPELLE, 2001). Além disso, várias pesquisas de campo e em laboratório têm demonstrado que a mistura de etanol com combustíveis fósseis são mais complexas do que na

ausência de etanol (SANTOS, 1996; CORSEUIL et al., 1998; BENETTI, 1999; ALVAREZ & HUNT, 2002; FERNANDES, 2002; KULKAMP, 2003; KAIPPER, 2003).

Portanto, baseado no fato de que o biodiesel promete ser um excelente substituto do diesel de petróleo, estudos de biodegradabilidade em ambientes naturais são importantes com o fim de avaliar seu tempo de decomposição e os aspectos físico-químicos limitantes de sua degradação em caso de acidentes durante seu armazenamento e transporte.

1.2 Objetivos

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a biodegradação do biodiesel puro (B100) de soja e mamona, e sua interação com os compostos BTEX, utilizando microcosmos anaeróbicos preparados com água subterrânea.

Os objetivos específicos foram:

- ⇒ Investigar a influência do biodiesel na degradação microbiana dos compostos BTEX;
- ⇒ Determinar a cinética de biodegradação anaeróbia do biodiesel puro de soja e mamona em casos de contaminação de águas subterrâneas;
- ⇒ Determinar a cinética de biodegradação anaeróbia dos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX) na ausência e presença de biodiesel de soja.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biodiesel

O biodiesel é definido pela ANP como um biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para a geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil (BRASIL, 2005). O biodiesel é um biocombustível biodegradável e possui baixos perfis de emissão, essencialmente livre de compostos sulfurados e aromáticos.

O biodiesel é compreendido de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos, obtidos a partir de uma reação de transesterificação de triglicerídeos, pela mistura de óleos vegetais ou gorduras animais com álcoois de cadeia curta (metanol ou etanol) e em presença de um catalisador básico, tendo a glicerina ou glicerol como um subproduto (BARNWAL & SHARMA, 2005). Para sua obtenção podem-se utilizar óleos vegetais de diferentes fontes como a soja, palma, canola, mamona, girassol, entre outras, assim como óleos residuais de frituras (PARENTE, 2003). Dentre essas oleaginosas utilizadas para a produção de biodiesel, a mamona e a soja vêm ganhando grande destaque. A mamona é abundante no Nordeste brasileiro e possui um elevado teor de óleo (48-50%), já a soja, é considerada a única oleaginosa com escala suficiente para a produção imediata de biodiesel (CARNEIRO, 2003; PARENTE, 2003).

O biodiesel de qualidade deve ser produzido seguindo especificações industriais restritas, conforme a norma ASTM D6751 de nível internacional (BIODIESEL, 2007). A lei que regulamenta o biodiesel no Brasil é a Lei nº 11.097, de janeiro de 2005. Nesta lei, estão especificadas todas as regras para produção e comercialização do biodiesel (BRASIL, 2005).

A implantação deste combustível na matriz energética brasileira traz uma série de vantagens ambientais, econômicas e sociais. Além de fornecer um mercado para a produção adicional dos óleos vegetais e das gorduras animais e diminuir a dependência do petróleo importado, o biodiesel gera menos poluição ambiental, ou seja, contribui muito menos ao aquecimento global do que os combustíveis fósseis (GERPEN, 2005). Estudos mostram que a substituição do óleo diesel mineral pelo biodiesel resulta em reduções de emissões de monóxido de carbono, hidrocarbonetos e material particulado (CLEMENTE, 2005). No entanto, estudos têm demonstrado um aumento nas emissões de óxido do nitrogênio (NO_x) nas misturas com biodiesel (ALTIPARMAK et al., 2007).

Alguns estudos mostraram também que, em ambientes aquáticos, o biodiesel puro (B100) e misturas de biodiesel com diesel são facilmente biodegradáveis, e sua biodegradabilidade é maior do que para o diesel. Os valores de demanda bioquímica de oxigênio (BOD) são também mais elevados para o biodiesel do que para o diesel (ZHANG et al., 1998).

2.2. Caracterização dos contaminantes

O conhecimento das características dos compostos que originaram uma contaminação em água subterrânea é importante para avaliar o seu comportamento no meio. O biodiesel é um combustível renovável constituído de ésteres alquílicos de ácidos graxo, **não contém nenhum composto orgânico volátil e nenhum hidrocarboneto aromático ou hidrocarbonetos clorados.** Entretanto, nas misturas com diesel de petróleo passará apresentar benzeno e outros compostos aromáticos presentes na fração de petróleo da mistura. O biodiesel também pode entrar em contato com outros compostos através da ocorrência de vazamentos simultâneos nos sistemas de distribuição e armazenamento de combustíveis (Figura 2.1).

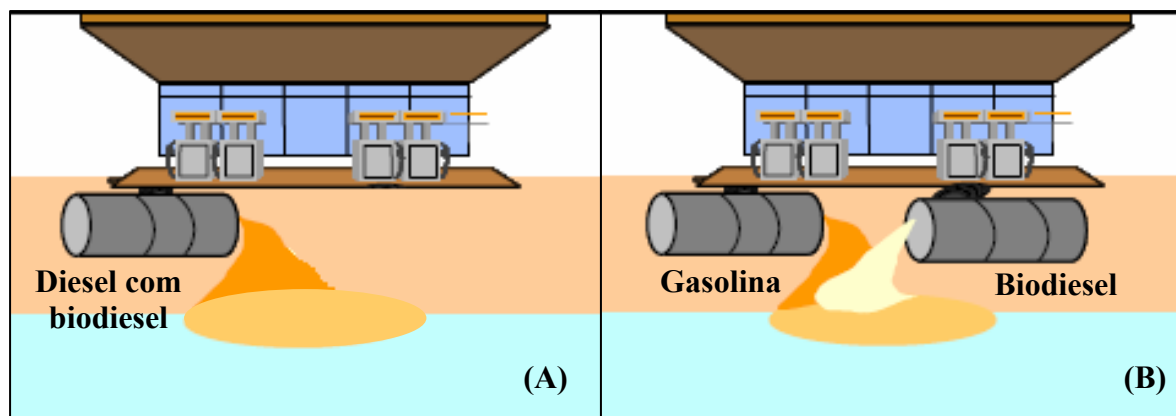


Figura 2.1 – Ocorrência do biodiesel em derramamentos subsuperficiais (A) Derramamento de diesel com biodiesel. (B) Vazamento simultâneo de gasolina (ou outro combustível) e biodiesel.

2.2.1 Ésteres alquílicos de ácidos graxos

O biodiesel ou ésteres alquílicos de ácidos graxo são compostos de **baixa complexidade estrutural**, compostos predominantemente de oito diferentes ácidos graxos (C16-18) metil ou etil esterificados, incluindo oleato, palmitato, estearato, linoleato, ricinoleato, mirístico, laureato e linolenato (VIEIRA et al., 2006). Os ésteres graxos são líquidos viscosos e gordurosos, **e praticamente não apresentam polaridade molecular**. Como não apresentam pontes de hidrogênio possuem pontos de fusão e ebulição inferiores aos dos ácidos e álcoois de mesma massa molecular (SOLOMONS, 2002; SCRIMGEOUR, 2005). A fórmula estrutural dos principais ésteres alquílicos de ácidos graxos que compõem o biodiesel são mostrados na Figura 2.2.

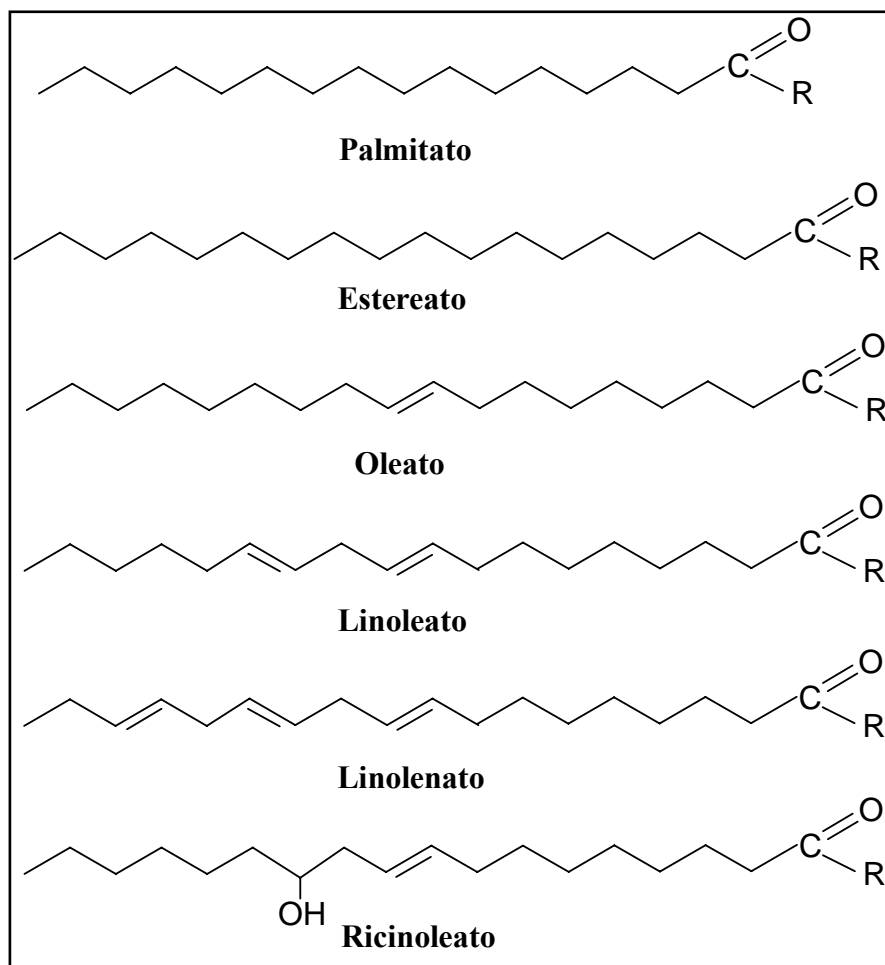


Figura 2.2 - Fórmula estrutural dos principais ésteres alquílicos de ácidos graxos que compõem o biodiesel. (R = CH₃ ou CH₂CH₃)

O destino desses contaminantes em sistemas de água subterrânea é fortemente influenciado pelas interações entre o contaminante e os componentes físicos, químicos e biológicos do meio. As propriedades físico-químicas que mais influenciam sobre a mobilidade dos compostos orgânicos são a massa molecular, a solubilidade em água, a pressão de vapor e os coeficientes de distribuição (SCHWARZENBACH et al., 1993). Algumas dessas propriedades físico-químicas para os principais ésteres metílicos que constituem o biodiesel são apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Propriedades físico-químicas dos principais compostos do biodiesel.

Nome	Fórmula Molecular	Massa Molecular (g.mol ⁻¹)	PF (°C)	PE (°C)	Densidade (g.cm ⁻³)	Pressão de Vapor (mm.Hg)	Constante de Henry, KH (atm.m ³ .mol ⁻¹)	Log K _{ow} (25°C)	Log K _{oc}
Metil Palmitato	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270,5	417,0	30,0	---	6,0x10 ⁻⁵	9,0x10 ⁻³	7,4	4,3
Metil Estereato	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298,5	443,0	39,1	0,850	1,4x10 ⁻⁵	1,6x10 ⁻²	8,4	4,8
Metil Oleato	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,5	218,5	-19,9	0,874	6,3x10 ⁻⁶	1,4x10 ⁻²	7,4	4,8
Metil Linoleato	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294,5	230,0	-35	---	---	---	---	---
Metil Linolenato	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292,5	---	-52 /-57	---	---	---	---	---
Metil Ricinoleato	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	312,5	245,0	-4,5	0,924	---	---	---	---

Fonte: (TOXNET, 2006).

A solubilidade em água é um dos parâmetros mais importantes que afetam a partição de um composto orgânico no ambiente e é definida como a máxima concentração de um composto químico dissolvido em água, a uma dada temperatura (SCHWARZENBACH et al., 1993). Os ésteres metílicos de ácidos graxos **são praticamente insolúveis em água,** pois possuem alta massa molecular e baixa polaridade. A pressão de vapor e a constante da lei de Henry são medidas importantes para estimar a liberação do composto para a fase de vapor. A pressão de vapor é a pressão parcial de um gás em equilíbrio em relação a um composto em estado sólido ou líquido. Quanto maior a pressão de vapor de um composto, mais rapidamente ele particionará para a fase de vapor. A constante da lei de Henry (K_H) é a razão de partição ar/água que caracteriza a abundância de um composto na fase gasosa em equilíbrio com a fase aquosa (SCHWARZENBACH et al., 1993). Os ésteres metílicos de ácidos graxos apresentam valores baixos de pressão de vapor, portanto, eles não tenderão a particionar da fase aquosa para a fase de vapor. O coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}) é definido como a razão da

concentração de um composto orgânico dissolvido entre o octanol e a água, em equilíbrio. Quanto maior esta relação, menor será a concentração do composto químico dissolvido na fase aquosa, ou seja, mais hidrofóbico será o composto. Os valores de K_{ow} apresentados na Tabela 2.1 para os ésteres metílicos de ácidos graxos indicam que estes compostos poderão ser atraídos para uma fase hidrofóbica. O coeficiente de partição de carbono orgânico (K_{oc}), também conhecido como coeficiente de partição solo/água ou coeficiente de adsorção, é uma medida da tendência de um composto orgânico ser adsorvido no solo ou sedimento quando em contato com a água. O K_{oc} é específico de cada composto químico e é independente das propriedades do solo dependendo somente das propriedades do composto. Um baixo K_{oc} indica um maior potencial de lixiviação do contaminante do solo para água (BEDIENT et al., 1997). Os ésteres metílicos de ácidos graxos são esperados adsorver aos sólidos suspensos e ao sedimento na água, pois possuem altos coeficientes de adsorção.

2.2.2 Hidrocarbonetos Monoaromáticos (BTEX)

Em um derramamento de derivados de petróleo, uma das principais preocupações é a contaminação dos aquíferos utilizados como fonte de abastecimento para o consumo humano. Sendo que os maiores interesses são voltados aos compostos monoaromáticos do grupo BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros *para*, *meta* e *orto*-xileno), que são os mais solúveis em água e os mais tóxicos quando liberados ao meio ambiente. A Tabela 2.2 apresenta algumas propriedades físico-químicas dos compostos BTEX. Os compostos BTEX possuem um baixo valor de K_{oc} e de K_{ow} , o que implica em uma lenta absorção no solo e, conseqüentemente, uma maior mobilidade em água.

Tabela 2.2 - Propriedades físico-químicas dos compostos BTEX.

Nome	Fórmula Molecular	Massa Molecular (g.mol ⁻¹)	Densidade (g.cm ⁻³)	Solubilidade em água (mg.L ⁻¹)	Log K _{ow} (25°C)	Log K _{oc}
Benzeno	C ₆ H ₆	78	0,879	1790	2,1	1,9
Tolueno	C ₇ H ₈	92	0,864	526	2,7	2,2
Etilbenzeno	C ₈ H ₁₀	106	0,867	169	3,2	2,7
<i>p</i> -xileno	C ₈ H ₁₀	106	0,861	198	3,2	2,5
<i>m</i> -xileno	C ₈ H ₁₀	106	0,864	173	3,2	2,3
<i>o</i> -xileno	C ₈ H ₁₀	106	0,880	170	3,1	2,6

Fonte: (TOXNET, 2006).

Além de migrarem mais rapidamente através das águas podendo atingir fontes de abastecimento, os compostos BTEX são extremamente tóxicos à saúde humana, apresentando toxicidade crônica mesmo em pequenas concentrações, podendo levar a lesões do sistema nervoso central (ALVAREZ & HUNT, 2002). Dentre os BTEX, o benzeno é o composto mais tóxico, possui o menor padrão de potabilidade na água e é classificado como carcinogênico. Uma exposição aguda (altas concentrações em curtos períodos) por inalação ou ingestão pode causar até mesmo a morte de uma pessoa. Segundo a Resolução N° 396 do CONAMA para águas subterrâneas, a concentração máxima permitida para o benzeno é de 5 µg.L⁻¹ para classe 3 e de 10 µg.L⁻¹ para a classe 4. O tolueno, etilbenzeno e os xilenos apresentam uma concentração máxima permitida na água para consumo humano de 24; 200 e 300 µg.L⁻¹, respectivamente (CONAMA, 2008). A Figura 2.3 apresenta a fórmula estrutural dos hidrocarbonetos monoaromáticos que formam o grupo BTEX.

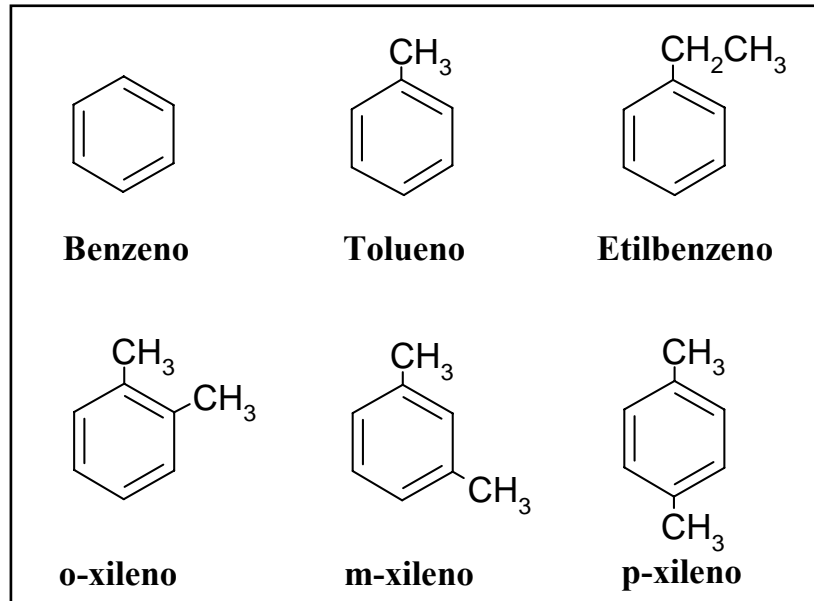


Figura 2.3 - Fórmula estrutural dos hidrocarbonetos monoaromáticos que formam o grupo BTEX.

2.3 Biodegradação do biodiesel e dos hidrocarbonetos monoaromáticos

A biodegradação refere-se ao processo pelo qual os microorganismos utilizam o contaminante orgânico como uma fonte de energia ou alimento. Na biodegradação os compostos são facilmente quebrados em moléculas mais simples encontradas no ambiente, tal como o dióxido de carbono e água, ou em alguns casos, a atividade metabólica muda a forma química do contaminante (biotransformação), mas não resulta na mineralização (BEDIENT, 1997). A biodegradação é considerada um processo chave na atenuação natural de contaminantes, porque reduz a massa dos contaminantes e, geralmente, transforma os contaminantes tóxicos em subprodutos não-tóxicos, minimizando os riscos à saúde pública e ao meio ambiente.

A biodegradação dos compostos orgânicos pelos microorganismos ocorre através de reações de oxidação-redução, onde os contaminantes são oxidados na presença de certos receptores de elétrons (CHAPELLE, 2001). A biodegradação de contaminantes orgânicos ocorre inicialmente por processos aeróbios, onde as populações nativas de microorganismos,

capazes de biodegradar esses contaminantes, encontram-se num ambiente com oxigênio disponível (FERNANDES, 2002). Já, na ausência de oxigênio, os microorganismos anaeróbios começam a se sobressair nas atividades de biodegradação, utilizando como receptores de elétrons o nitrato, o íon férrico, o sulfato e o dióxido de carbono com menores transferências de energia, respectivamente (CHAPELLE, 2001).

2.3.1 Biodegradação do biodiesel

O biodiesel apresenta uma configuração vantajosa no que se diz respeito a sua biodegradabilidade, pois sua estrutura molecular é susceptível ao ataque enzimático que utilizará o biodiesel como substrato para crescimento (SILVA et al., 2005).

O biodiesel é mais facilmente degradado do que os derivados de petróleo, que possuem geralmente em sua composição compostos recalcitrantes. O biodiesel consiste de cadeias de hidrocarbonetos na forma de éster com dois átomos de oxigênio ligados a dois radicais orgânicos que o faz ser biologicamente ativo (ZHANG, 1998).

Uma provável rota para a biodegradação do biodiesel consiste primeiramente da clivagem do metil ou etil éster por uma esterase, produzindo um ácido graxo e um álcool associado e posteriormente a quebra do ácido graxo pelo Ciclo do Ácido Tricarboxílico. Nesta segunda etapa os ácidos graxos são oxidados via β -oxidação e degradados a ácido acético e a um ácido graxo com dois carbonos a menos (VIEIRA et al., 2006; ZHANG et al., 1998). Nesta reação, primeiro ocorre a conversão do ácido graxo a éster coenzima A (CoA). Depois, o éster-CoA é oxidado na posição beta, e dois átomos de carbono do final da molécula são clivados para produzir a acetil-CoA. Este processo de encurtamento da molécula continua até o ácido inicial ser degradado completamente a acetil-CoA (CHAPELLE, 2001).

A atividade microbiana é geralmente o mecanismo predominante na biodegradação de compostos orgânicos (KEMP, 2003). Tem-se, portanto como possíveis microrganismos com potencial de biodegradação do biodiesel as *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Marinomonas vaga*, *Escherichia coli*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis*, etc (VIEIRA et al., 2006).

Alguns estudos têm sido focados na biodegradação do biodiesel e em como este biocombustível estimularia a degradação de outros combustíveis em ambiente aquático. Zhang et al. (1998) testaram a biodegradabilidade do biodiesel no ambiente aquático pelo método da evolução de CO₂ e por cromatografia gasosa (CG). Sob condições aeróbicas e fonte nutriente (N, P), Zhang et al. (1998) mostraram que a máxima biodegradabilidade do éster metílico de canola, éster etílico de canola, éster metílico de soja e o éster etílico de soja era de 88,5 % em 28 dias e a máxima biodegradabilidade do combustível diesel após 28 dias era de aproximadamente 26,2%. Pasqualino et al. (2006) usaram o método de evolução de CO₂ para estudar a biodegradabilidade do biodiesel puro e misturas com diesel e gasolina, e obtiveram uma biodegradabilidade de 98% para o biodiesel puro, enquanto que para as misturas com diesel e gasolina obtiveram 50 e 56%, respectivamente. Sendo que a biodegradabilidade das misturas aumentava com a adição de biodiesel. Já, estudos conduzidos por Mello et al (2007) compararam a degradação microbiana de misturas de biodiesel com diesel e somente diesel em microcosmos preparados com água do mar, e concluíram que a presença dos ésteres de ácidos graxos diminuía a biodegradação inicial dos n-alcenos do diesel de petróleo.

O biodiesel, portanto é altamente biodegradável com um tempo de meia-vida de alguns dias ao contrário do diesel que tem um tempo de meia-vida de meses ou até anos, com isso é esperado que o biodiesel tenha impactos menos prejudiciais se caso derramado no ambiente (AINSLIE, 2006). Porém, um derramamento em grande escala de biodiesel pode

causar uma desoxigenação provisória da água, mas é menos prejudicial do que um derramamento de combustível diesel. Conseqüentemente, os riscos da poluição às águas subterrâneas seriam reduzidos substancialmente se o biodiesel fosse introduzido (WILLIAMSON & BADR, 1998).

2.3.2 Biodegradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX)

A biodegradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos ocorre inicialmente por processos aeróbios. O oxigênio é o receptor de elétrons que fornece o maior rendimento energético quando envolvido na biodegradação de contaminantes orgânicos.

A degradação dos hidrocarbonetos aromáticos ocorre pela incorporação de moléculas de oxigênio, através de reações de oxidação mediadas por enzimas *oxigenase*. A oxidação do benzeno envolve oxidações sequenciais do anel benzênico a catecol. Em uma etapa posterior, o anel do catecol é clivado por um segundo grupo de dioxigenases e degradado a moléculas menores até completa degradação. A Figura 2.4 apresenta a oxidação aeróbia do benzeno a catecol. No caso do tolueno, a oxidação inicial conduz à formação de um intermediário metil-catecol. Para os xilenos, o processo é similar, exceto que o dimetil-catecol serve como produto intermediário. O etilbenzeno mostra seguir uma reação similar de oxidação (CHAPELLE, 2001).

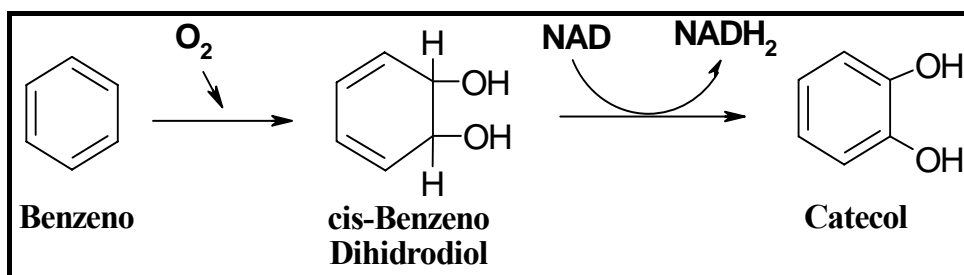


Figura 2.4 - Oxidação aeróbia do benzeno a catecol.

Embora, todos os hidrocarbonetos que formam o grupo BTEX sejam biodegradados sob condições aeróbias, uma contaminação por esses compostos esgotará rapidamente o oxigênio dissolvido, devido à intensa atividade microbiana, resultando assim, na formação de regiões anaeróbias dentro da pluma de contaminação (FERNANDES, 2002). Com isso, a degradação anaeróbia de hidrocarbonetos aromáticos é geralmente predominante em áreas contaminadas (CHEN et al., 2007).

Estudos de microcosmos e de campo demonstraram que os microorganismos anaeróbios podem degradar os compostos BTEX utilizando diferentes receptores de elétrons, como o nitrato, Fe^{3+} , sulfato e dióxido de carbono (CHEN et al., 2007; ZHI-FENG et al, 2007; DOU et al, 2007; FERNANDES, 2002). A destruição anaeróbia dos compostos BTEX está associada ao acúmulo de ácidos graxos, produção de metano, solubilização de ferro, e redução de nitrato e sulfato (AIR FORCE RESEARCH LABORATORY, 1999).

2.3.3 Efeito de múltiplos substratos na biodegradação dos compostos BTEX

O uso de aditivos oxigenados (por ex., MTBE, ETBE, etanol, metanol) à gasolina, aumenta a eficiência da combustão, pois aumenta a octanagem do combustível e com isso reduz a poluição atmosférica (CHAPELLE, 2001). Entretanto, estes benefícios podem ser contrapostos por efeitos prejudiciais na qualidade das águas subterrâneas e na biodegradação dos compostos BTEX quando liberados na subsuperfície. O MTBE (metil-terc-butil éter) e o etanol são os compostos oxigenados mais comumente adicionados à gasolina.

O MTBE e o etanol possuem propriedades químicas semelhantes, ou seja, ambos possuem um átomo de oxigênio em sua estrutura química, o que faz estas moléculas serem mais polares do que outros hidrocarbonetos do petróleo, e com isso mais solúveis em água (POWERS & RICE, 1999). O MTBE e o etanol têm uma solubilidade em água relativamente

elevada e uma alta mobilidade na subsuperfície (CORSEUIL et al., 1996; DEEB et al., 2001; CHEN et al., 2005). A diferença do potencial de biodegradação destes dois oxigenados é causada pelo grupo terc-butil na molécula MTBE. Esta ramificação na estrutura faz a biodegradação do MTBE ser muito mais difícil (CHEN et al., 2005).

Alguns estudos realizados em águas subterrâneas indicam que o MTBE praticamente não é biodegradado, e que este não afeta significativamente a degradação dos compostos BTEX (RUIZ-AGUILAR et al., 2003). Enquanto, em outros estudos têm-se observado que a presença dos compostos BTEX inibe a degradação do MTBE (SCHMIDT et al., 2004; LIN et al., 2007; WANG & DESHUSSES, 2007). Entretanto, outros experimentos têm demonstrado que esta inibição nem sempre acontece (PRUDEN AND SUIDAN, 2004).

Estudos realizados com misturas de gasolina e etanol, mostraram que o etanol é preferencialmente degradado em relação aos compostos BTEX, tanto em condições aeróbias quanto anaeróbias, causando o consumo do oxigênio e dos demais receptores de elétrons disponíveis (CORSEUIL et al., 1998; ALVAREZ & HUNT, 2002; DA SILVA et al., 2005). O etanol pode também ser tóxico ou inibitório para os microorganismos degradadores de BTEX (CORSEUIL et al., 1996). No entanto, após a degradação do etanol pode-se obter um efeito positivo na degradação dos compostos BTEX, devido à biomassa gerada após sua degradação. Em um experimento de campo com gasolina e etanol, FERNANDES (2002) obteve para o benzeno um coeficiente de biodegradação $0,53 \text{ ano}^{-1}$ com 32 meses de análise. Após este período, quando todo etanol havia sido esgotado na área (32 meses a 79 meses), NUNES (2006) verificou o aumento da taxa de degradação do benzeno para $0,84 \text{ ano}^{-1}$, portanto o efeito foi positivo. Segundo ALVAREZ e HUNT (2002), o etanol quando está presente na água subterrânea atua como fonte de carbono e energia estimulando o crescimento de uma variedade de populações microbianas, incluindo espécies capazes de degradar os compostos BTEX.

2.3 Cinética de biodegradação

Estudar a cinética de biodegradação de compostos orgânicos possibilita estimar a persistência dos contaminantes no ambiente e prever a variação de suas concentrações no tempo. As reações de biodegradação dos compostos orgânicos dissolvidos ocorrem em velocidade específica para cada composto. Os modelos mais comuns usados para descrever a biodegradação de compostos orgânicos incluem o decaimento de primeira ordem, a cinética de Monod e a cinética de reações instantâneas (BEDIENT, 1997).

O modelo cinético de primeira ordem é o modo mais apropriado de representar a biodegradação de compostos orgânicos. A expressão comumente usada para a representação da biodegradação de primeira ordem envolve o uso de uma relação de decaimento exponencial:

$$\frac{C}{C_o} = e^{-\lambda t} \quad (2.1)$$

Onde C é a concentração de biodegradação do contaminante, C_o é a concentração inicial e λ é o coeficiente de decaimento do soluto devido à biodegradação. Através do gráfico $\ln(C)$ versus tempo t obtém-se uma reta, cujo coeficiente angular corresponde ao coeficiente de biodegradação de primeira ordem (λ) (CHAPRA, 1997).

O modelo cinético de primeira ordem, mostrado na Equação (2.1) assume que o coeficiente de biodegradação do soluto é proporcional à sua concentração. Um aumento na concentração origina aumento na cinética de degradação (SCHNOOR, 1996; BEDIENT, 1997).

As cinéticas de primeira ordem são frequentemente expressas em termos de tempo de meia vida do composto. O tempo de meia vida ($t_{1/2}$) do contaminante é definido como o tempo necessário para reduzir a concentração inicial a 50% (BEDIENT, 1997). A expressão do tempo de meia-vida para a reação de primeira ordem é dada por:

$$t_{1/2} = \frac{\ln[2]}{\lambda} \quad (2.2)$$

2.4 Modelo energético de biodegradação

O estudo da bioenergética envolve a criação de reações químicas, bem como o balanceamento de elementos químicos, elétrons, carga e energia. Com a estequiometria de reações químicas obtêm-se informações básicas sobre a natureza e as quantidades de espécies químicas consumidas e produzidas (RITTMANN & McCARTY, 2001). Portanto, com uso do modelo energético de biodegradação pode-se estimar a quantidade de receptores de elétrons consumidos para degradarem compostos orgânicos como o biodiesel, caso ocorra uma contaminação em água subterrânea.

Os microorganismos obtêm sua energia para o crescimento e manutenção através de reações de oxidação-redução. Essas reações de oxidação-redução sempre envolvem um doador de elétrons, que é o substrato e um receptor de elétrons, que pode ser o O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe (III) e CO_2 , dependendo das condições ambientais. O crescimento bacteriano envolve duas reações básicas, uma para a produção de energia e outra para a síntese celular, e o doador de elétrons é o mesmo para as duas reações. A Figura 2.5 ilustra genericamente essas reações.

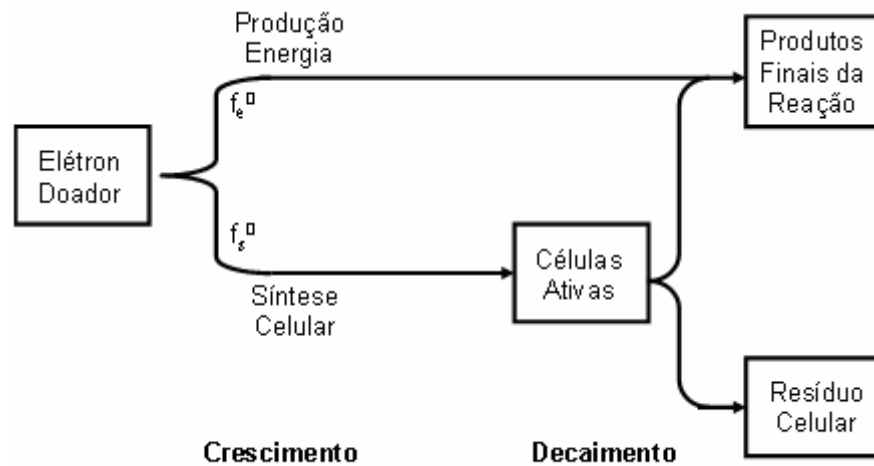


Figura 2.5 - Utilização do doador de elétron para a produção de energia e síntese (Modificado de RITTMANN & McCARTY, 2001).

Estas reações generalizadas podem ser formuladas para algumas combinações de fonte de carbono, fonte de energia e receptores de elétrons seguindo o modelo energético de cinética de crescimento bacteriano desenvolvido por McCarty (1969).

A Tabela 2.3 contém uma lista de meias-reações de oxidação que são úteis para a construção de muitas reações mediadas por bactérias. Para a formulação de algumas reações metabólicas microbianas, são necessárias três meias-reações: a do doador de elétrons (R_d), a do receptor de elétrons (R_r) e a da reação de síntese celular bacteriana (R_c), a qual pode ser a reação 1 ou a 2 do Tabela 2.3, dependendo da disponibilidade de nitrato ou amônia, para suprir a fonte de nitrogênio na célula. A reação geral pode ser obtida pela seguinte equação:

$$\mathbf{R} = f_e \mathbf{R}_r + f_s \mathbf{R}_c - \mathbf{R}_d \quad (2.3)$$

Onde a fração f_e representa uma parte do doador de elétrons que é transferida para o receptor de elétrons (produção de energia) e f_s representa uma parte do doador de elétrons que está acoplada com a formação das células microbianas (parte sintetizada). A soma de f_s e f_e é igual a um. Para determinar os valores de f_s e f_e , um novo termo é necessário. O A representa o

equivalente do elétron doador usado para produzir energia por equivalente de células formadas, e é representado matematicamente por,

$$A = -\frac{\frac{\Delta G_p}{\varepsilon^n} + \frac{\Delta G_{pc}}{\varepsilon}}{\varepsilon \Delta G_r} \quad (2.4)$$

Onde, ΔG_p é a energia requerida para converter a fonte de carbono para um composto intermediário (piruvato) e é calculado como a diferença entre a energia livre da meia-reação do piruvato e da fonte de carbono. Quando ΔG_p positivo, energia é requerida para a conversão do carbono em piruvato e o $n = +1,0$. Quando ΔG_p é negativo, energia é obtida para a conversão da fonte de carbono a piruvato e o $n = -1,0$. ΔG_n é a energia necessária para converter a fonte de nitrogênio (amônia ou nitrato) dentro do material celular. ΔG_{pc} é a energia necessária para converter o intermediário da fonte de carbono e a fonte de nitrogênio dentro do material celular. Quando a fonte de nitrogênio é amônia, o valor de ΔG_{pc} é 18,8 kJ/e⁻ eq. O ΔG_r é a energia livre liberada por equivalente de elétrons doador convertido a energia.

A produção microbiana da utilização do substrato ocorre em duas etapas. Primeiramente, a reação de energia cria uma alta energia transferida, tal como ATP. Em segundo, a energia transferida é doada para a síntese e a manutenção celular. Como todas as reações, certa energia é perdida com cada transferência. Esta perda reduz a quantidade de energia disponível tanto para a síntese quanto para a manutenção celular e é definida como eficiência de transferência de energia (ε) cujo valor aproximado é de 0,6 (RITTMANN & McCARTY, 2001).

Conhecendo o valor de A pode-se calcular f_e e f_s pela seguinte equação:

$$f_e = 1 - f_s \frac{A}{1 + A} \quad (2.5)$$

Tabela 2.3 - Meias-reações de formação de células (R_c), receptores de elétrons (R_r) e doadores de elétrons (R_d).

MEIAS-REAÇÕES	$\Delta G^\circ(W)$ kJ por elétron equivalente
Reação para a síntese celular bacteriana (R_c)	
Amônia como fonte de nitrogênio	
1. $1/5 \text{ CO}_2 + 1/20 \text{ HCO}_3^- + 1/20 \text{ NH}_4^+ + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/20 \text{ C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 9/20 \text{ H}_2\text{O}$	
Nitrato como fonte de nitrogênio	
2. $5/28 \text{ CO}_2 + 1/28 \text{ NO}_3^- + 29/28 \text{ H}^+ + \bar{e} = 1/28 \text{ C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 11/28 \text{ H}_2\text{O}$	
Reação para os receptores de elétrons (R_r)	
Oxigênio	
3. $1/4 \text{ O}_2 + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/2 \text{ H}_2\text{O}$	-78,72
Nitrato	
4. $1/5 \text{ NO}_3^- + 6/5 \text{ H}^+ + \bar{e} = 1/10 \text{ N}_2 + 3/5 \text{ H}_2\text{O}$	-72,20
Sulfato	
5. $1/8 \text{ SO}_4^{2-} + 19/16 \text{ H}^+ + \bar{e} = 1/16 \text{ H}_2\text{S} + 1/16 \text{ HS}^- + 1/2 \text{ H}_2\text{O}$	20,85
Dióxido de carbono (Fermentação do Metano)	
6. $1/8 \text{ CO}_2 + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/8 \text{ CH}_4 + 1/4 \text{ H}_2\text{O}$	23,53
Fe (III)	
7. $\text{Fe}^{3+} + \bar{e} = \text{Fe}^{2+}$	-74,27
Reação para os doadores de elétrons (R_d)	
Doadores orgânicos (Reações heterotróficas)	
Palmitato	
8. $15/92 \text{ CO}_2 + 1/92 \text{ HCO}_3^- + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/92 \text{ CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COO}^- + 31/92 \text{ H}_2\text{O}$	27,26
Benzeno	
9. $1/5 \text{ CO}_2 + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/30 \text{ C}_6\text{H}_6 + 2/5 \text{ H}_2\text{O}$	26,67
Tolueno	
10. $7/36 \text{ CO}_2 + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/36 \text{ C}_7\text{H}_8 + 7/18 \text{ H}_2\text{O}$	26,22
Etilbenzeno	
11. $4/21 \text{ CO}_2 + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/42 \text{ C}_8\text{H}_{10} + 8/21 \text{ H}_2\text{O}$	26,28
Xilenos	
12. $4/21 \text{ CO}_2 + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/42 \text{ C}_8\text{H}_{10} + 8/21 \text{ H}_2\text{O}$	26,00
Etanol	
10. $1/6 \text{ CO}_2 + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/12 \text{ CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 1/4 \text{ H}_2\text{O}$	31,18
Piruvato	
11. $1/5 \text{ CO}_2 + 1/10 \text{ HCO}_3^- + \text{H}^+ + \bar{e} = 1/10 \text{ CH}_3\text{COCOO}^- + 2/5 \text{ H}_2\text{O}$	35,09

Fonte: RITTMANN & McCARTY (2001)

3 MATERIAS E METODOS

3.1 Caracterização das amostras de água subterrânea e do solo

Para estudar a biodegradação anaeróbica do biodiesel puro (B100) de soja e mamona e misturas com BTEX, foram montados experimentos em microcosmos. Os microcosmos foram preparados com amostras de água subterrânea e solo coletados na Fazenda Experimental Ressacada, localizada na região sul da ilha de Santa Catarina, no bairro Tapera, próximo ao Aeroporto Hercílio Luz, em Florianópolis.

As amostras de água subterrânea foram coletadas a uma profundidade de 2,5 metros através de poços de monitoramento de uma área não-contaminada (Figura 3.1) com o auxílio de uma bomba peristáltica. Depois de iniciado o processo de bombeamento, a água subterrânea era transferida diretamente para um frasco previamente limpo. As amostras de solo foram coletadas nesta mesma área, a uma profundidade de 1,5 a 2,5 metros, com a finalidade de atingir o nível do lençol freático.



Figura 3.1 - Vista geral da área de coleta do material para montagem dos microcosmos (Fazenda Experimental Ressacada).

As amostras de água subterrânea utilizada no experimento foram previamente caracterizadas por análises físico-químicas e determinação de ânions. Os parâmetros físico-químicos (pH, potencial de oxidação-redução, oxigênio dissolvido e temperatura) foram analisados no campo com um analisador de água *Flow Cell*, modelo MP20 (Figura 3.2). No laboratório foram realizadas análises de ânions (nitrato, fosfato e sulfato) por cromatografia de íons, em um cromatógrafo da marca *Dionex* (modelo ICS-1000), equipado com detector de condutividade iônica, e a coluna utilizada foi AS14A.



Figura 3.2 - Equipamento utilizado para as análises realizadas em campo.

No solo, foram determinados os nutrientes (cálcio, magnésio, manganês, alumínio, potássio, sódio, ferro, cobre, enxofre, zinco e fósforo). As análises foram realizadas no laboratório físico-químico e biológico da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC).

3.2 Caracterização do biodiesel de soja e mamona

As amostras de biodiesel de soja e mamona foram cedidas pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) e posteriormente caracterizadas no Laboratório de Química Ambiental localizado na Central de Análises da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O biodiesel de soja e mamona utilizado nos experimentos foi obtido via rota metílica.

Para a caracterização do biodiesel de soja e mamona foram realizadas análises em um cromatógrafo a gás Trace GC Ultra acoplado a um espectrômetro de massa íon trap PolarisQ

(GC/MS), equipado com um detector por ionização em chama (DIC) e uma coluna capilar de sílica fundida CBP20 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). A temperatura do forno foi programada inicialmente a 100° C com taxa de aquecimento de 10° C/min até 240° C por 20 min; as temperaturas do injetor e detector foram de 250° C. Um microlitro de extrato foi injetado a uma razão de *split* 50:1.

3.3 Montagem dos microcosmos

Para a determinação da biodegradação anaeróbica do biodiesel puro (B100) de soja e mamona, dos compostos BTEX e misturas de biodiesel de soja com BTEX foram realizados quatro experimentos em microcosmos. Os quatro experimentos foram montados conforme apresentado na Tabela 3.1. Cada microcosmo foi preparado em um frasco de penicilina de 100 mL (Figura 3.3). Em cada frasco foi adicionado 20g de solo úmido e 80 mL de água subterrânea. Não foi adicionado nenhum tipo de nutriente aos microcosmos. Os microcosmos foram selados com septos de borracha, revestidos com teflon, e com lacres de alumínio. Os experimentos com BTEX e misturas de BTEX com biodiesel de soja, foram realizados em triplicata com repetições suficientes para cinco medidas. Já, os experimentos com biodiesel puro de soja e mamona foram realizados em duplicata com repetições suficientes para seis medidas.



Figura 3.3 – Frascos utilizados como microcosmos.

Tabela 3.1 - Valores experimentais utilizados para a montagem dos microcosmos.

	Água (mL)	Solo Úmido (g)	Benzeno (mg.L ⁻¹)	Tolueno (mg.L ⁻¹)	Etilbenzeno (mg.L ⁻¹)	Xileno (mg.L ⁻¹)	Biodiesel (mg.L ⁻¹)
Experimento 1 (BTEX)	80	20	2,9	0,8	0,2	0,1	---
Experimento 2 (BTEX + Biodiesel de Soja)	80	20	2,8	0,8	0,2	0,1	54,8
Experimento 3 (Biodiesel de Soja)	80	20	---	---	---	---	54,8
Experimento 4 (Biodiesel de Mamona)	80	20	---	---	---	---	56,9

Para inibir a atividade biológica (controle) foram adicionados Cloreto de Mercúrio (HgCl_2) na concentração de 1 g.L^{-1} . Todos os microcosmos foram purgados com gás nitrogênio durante 15 minutos para a retirada de todo oxigênio (Figura 3.4) e depois incubados no escuro a uma temperatura de aproximadamente $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Os frascos eram mantidos em repouso (sem agitação). O tempo de incubação para os experimentos contendo BTEX foi de 34 dias. Já para os experimentos com biodiesel puro, o tempo de incubação foi de 41 para o biodiesel de soja e 92 dias para o biodiesel de mamona. As análises foram do tipo “sacrifício”, isto é, os frascos que iam sendo analisados eram descartados, não retornando mais para o experimento.



Figura 3.4 - Procedimento de desaeração dos microcosmos anaeróbicos.

3.4 Procedimentos analíticos

3.4.1 Determinação da biodegradação do biodiesel de soja e mamona

Nos microcosmos com biodiesel de soja e biodiesel de mamona foram realizadas extrações líquido-líquido (EPA, Método 3510B, 1996) periodicamente, usando como solvente o diclorometano (CH_2Cl_2). Cada microcosmo foi então extraído três vezes, com 6 mL de CH_2Cl_2 em um funil de separação, passando por uma mini-coluna de vidro com cerca de 1 cm de Na_2SO_4 anidro sobre uma camada de lã de vidro. O extrato final foi concentrado para 1 mL com um leve fluxo de gás nitrogênio e transferido para um *vial*. Depois a amostra foi analisada em um cromatógrafo a gás da marca Agilent, modelo 6890N-série II, equipado com detector de ionização de chama (FID).

A coluna utilizada foi DB-23 (30 m x 0,25 mm de I.D e espessura do filme de 0,25 μm). O hélio ultrapuro foi usado como gás carreador. A temperatura do forno foi programada inicialmente a 130° C com taxa de aquecimento de 6,5° C/min até 170° C e 2,75° C/min até 215° C com uma isoterma de 12 min; as temperaturas do injetor e detector foram de 270° C e 280° C, respectivamente. Dois microlitros de extrato foram injetados a uma razão de *split* 5:1. A quantificação dos compostos foi realizada pelo método de padronização externa, sendo que a curva de calibração foi feita com soluções do próprio biodiesel em hexano. A determinação da porcentagem de remoção foi feita subtraindo a concentração do substrato de cada amostragem da concentração inicial do substrato, com o resultado final dividido pela concentração inicial ($C_0 - C/C_0$).

As Figuras 3.5 e 3.6 apresentam o cromatograma de uma amostra de água subterrânea contaminada com biodiesel de soja e mamona, respectivamente. Pode-se observar através dos cromatogramas a diferença da composição dos dois biodiesel estudados (soja e mamona).

Apenas o biodiesel de mamona apresenta o pico do éster ricinoleato de metila no cromatograma.

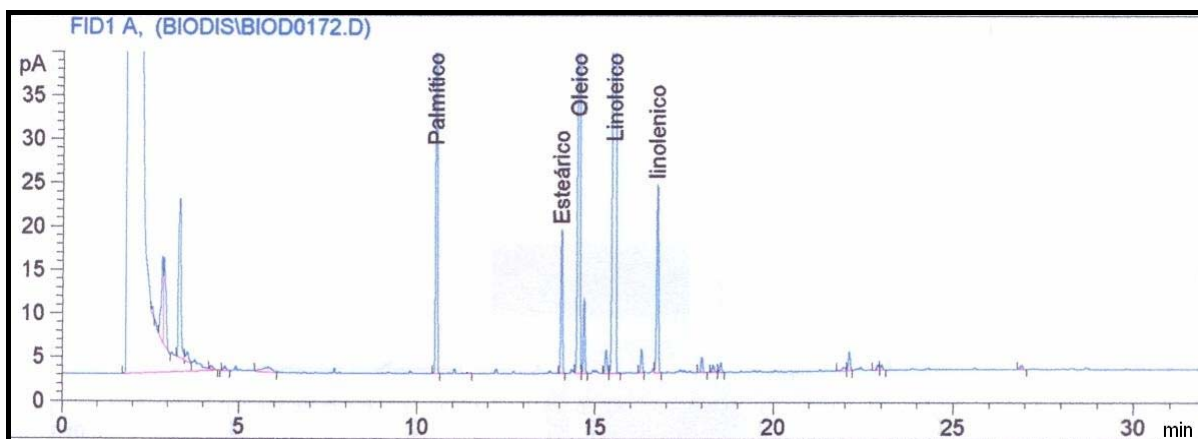


Figura 3.5 - Cromatograma da amostra de água subterrânea contaminada com biodiesel de soja.

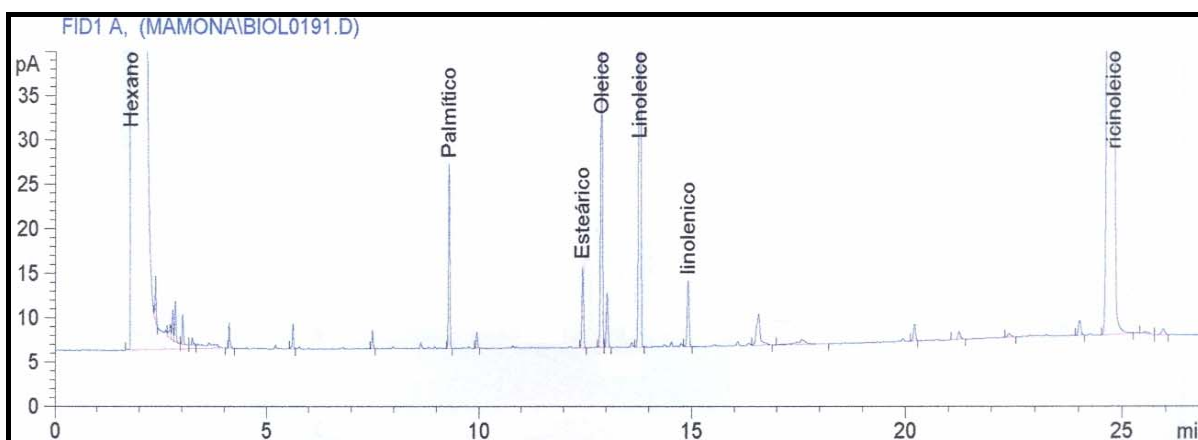


Figura 3.6 - Cromatograma da amostra de água subterrânea contaminada com biodiesel de mamona.

3.4.2 Determinação da biodegradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX)

Os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) foram analisados segundo o método 8015A da EPA. As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás *Hewlett Packard*, modelo 6890-série II, com detector de ionização de chama (FID) e acoplado

a um *Headspace Auto Sampler* HP – estático (modelo 7694). Foram retiradas alíquotas de 10 mL de amostra e colocados em recipientes de vidro adequados para análise. O volume de headspace (espaço vazio no frasco após a adição da amostra) também foi de 10 mL.

A coluna utilizada foi uma coluna capilar de sílica fundida HP-1 (metil siloxano) com 0,53 mm de diâmetro interno, 30 m de comprimento e espessura do filme de 2,65 μ m. O hélio ultrapuro foi usado como gás carreador, com velocidade de 7,0 mL.min⁻¹ em todas as análises. A temperatura do forno foi programada inicialmente a 70° C com taxa de aquecimento de 5° C/min até 120° C e 30° C/min até 210° C. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas, respectivamente, a 260° C e 280° C.

A Figura 3.7 apresenta o cromatograma de uma amostra de água subterrânea contaminada com BTEX.

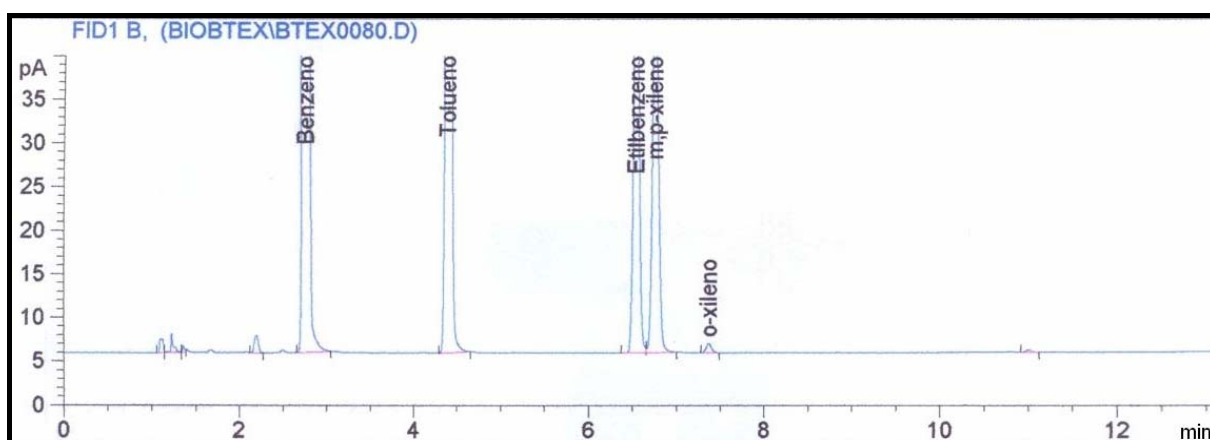


Figura 3.7 - Cromatograma da amostra de água subterrânea contaminada com BTEX.

3.4.3 Nitrato, sulfato e pH

Os ânions nitrato (NO_3^-) e sulfato (SO_4^{2-}) foram analisados por cromatografia iônica, em cromatógrafo da marca Dionex (modelo ICS-1000), equipado com detector de condutividade iônica, e coluna utilizada AS14A. Os padrões utilizados são todos da marca

J.T.BAKER e o método empregado é o *chromatography with chemical suppression of eluent conductivity* – do Standard Methods (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1992).

Como fases móveis foram utilizados o carbonato e bicarbonato de sódio. Para as análises de pH foi utilizado um pH-metro da ORION 210A+.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização da água subterrânea, do solo e das amostras de biodiesel

A amostra de água subterrânea utilizada no experimento foi caracterizada pela baixa disponibilidade de receptores de elétrons (oxigênio, nitrato e sulfato) e por um baixo pH, que é característico do local de amostragem, sendo que o pH do solo do local também é baixo (4,7). A Tabela 4.1 apresenta os dados da caracterização da água subterrânea utilizada nos experimentos.

Tabela 4.1 - Caracterização da água subterrânea utilizada nos experimentos.

Parâmetros	Água Subterrânea
Temperatura (° C)	22
pH	4,7
Potencial de oxidação-redução (mV)	340
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	5,6
Nitrato – NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)	1,3
Fosfato – PO ₄ ³⁻ (mg.L ⁻¹)	0,2
Sulfato – SO ₄ ²⁻ (mg.L ⁻¹)	2,2

Os resultados das análises de caracterização do solo mostraram que as concentrações dos nutrientes analisados eram suficientes para manter a concentração bacteriana em condições de degradar os contaminantes. A Tabela 4.2 mostra os resultados das análises de solo para os nutrientes cálcio, magnésio, manganês, alumínio, potássio, sódio, ferro, cobre, enxofre, zinco e fósforo. Os resultados completos são mostrados no Anexo.

Tabela 4.2 - Resultados dos nutrientes no solo da Fazenda Experimental da Ressacada.

Parâmetros	Solo
Cálcio (C.mol.L ⁻¹)	0,4
Magnésio (C.mol.L ⁻¹)	0,2
Manganês (ppm)	5,4
Alumínio (C.mol.L ⁻¹)	1,3
Potássio (ppm)	18,0
Sódio (ppm)	32,0
Ferro (%)	0,1
Cobre (ppm)	0,2
Enxofre (%)	0,2
Zinco (ppm)	1,5
Fósforo (ppm)	4,8

A caracterização do biodiesel de soja e do biodiesel de mamona mostrou que os dois biodiesel são constituídos por composições diferentes. O biodiesel de mamona é constituído de aproximadamente 75% de éster ricinoleato de metila e 25% dos outros ésteres não hidroxilados. Já o biodiesel de soja não contém o éster ricinoleato de metila, apenas os outros ésteres não hidroxilados. A Tabela 4.3 apresenta a composição química obtida para o biodiesel puro de soja e mamona.

Tabela 4.3 - Composição química do biodiesel puro de soja e mamona.

Ésteres	Fórmula Molecular	Óleo de Soja (%)	Óleo de Mamona (%)
Palmitato (C16:0)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	12,1	2,6
Estearato (C18:0)	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	4,4	1,6
Oleato (C18:1)	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	28,1	6,7
Linoleato (C18:2)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	42,0	12,0
Linolenato (C18:3)	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	13,3	1,2
Ricinoleato (C18:1-OH)	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	---	76,0

4.2 Modelo energético de biodegradação heterotrófica aeróbia

Estudos conduzidos em escala laboratorial e de campo indicam que após um derramamento de gasolina, o oxigênio dissolvido é esgotado rapidamente, resultando na formação de regiões anaeróbias (CORSEUIL et al., 1998; DA SILVA & ALVAREZ, 2002, FERNANDES, 2002). Com base nesse contexto, usou-se o modelo energético de biodegradação de McCarty (1969), para quantificar o consumo de oxigênio em caso de uma contaminação por biodiesel em água subterrânea.

Pretendeu-se com o modelo energético construir equações estequiométricas de biodegradação com crescimento microbiano via respiração aeróbia para os principais ésteres metílicos que compõem o biodiesel. Porém, devido à dificuldade de encontrar na literatura dados de energia livre referente aos ésteres metílicos de ácidos graxos que estão presentes no biodiesel, usou-se apenas o íon palmitato como modelo para representação dos demais ésteres em reações com o crescimento microbiano.

No Apêndice A é apresentado como foram realizados os cálculos para a construção das equações estequiométricas de biodegradação utilizando o íon palmitato, o etanol e os compostos BTEX como doador de elétrons e o oxigênio atuando como receptor de elétrons.

Através das reações balanceadas, pode-se quantificar a massa de oxigênio teoricamente necessária para a completa degradação do íon palmitato, do etanol e dos compostos BTEX no ambiente. O cálculo estequiométrico da biodegradação via respiração aeróbia para o íon palmitato é exemplificado a seguir:



Utilizando a estequiometria obtida para o íon palmitato, indica que para cada 1 mol de íon palmitato consumido pelos microorganismos, 10 mols de oxigênio precisam ser fornecido para que a reação ocorra corretamente. A Tabela 4.4 apresenta as reações de oxidação-redução via respiração aeróbia do íon palmitato, do etanol e dos compostos BTEX.

Tabela 4.4 - Reações de oxidação-redução via respiração aeróbia do íon palmitato, do etanol e dos compostos BTEX.

Reações de oxidação-redução
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 1,1 \text{O}_2 + 0,4 \text{HCO}_3^- + 0,4 \text{NH}_4^+ \rightarrow 0,4 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 0,5 \text{CO}_2 + 2,8 \text{H}_2\text{O}$ (etanol)
$\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{O}_2^- + 10 \text{O}_2 + 2 \text{HCO}_3^- + 3 \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 4 \text{CO}_2 + 12 \text{H}_2\text{O}$ (íon palmitato)
$\text{C}_7\text{H}_8 + 3,3 \text{O}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 2,3 \text{CO}_2 + 2,7 \text{H}_2\text{O}$ (tolueno)
$\text{C}_6\text{H}_6 + 3,3 \text{O}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 2,7 \text{CO}_2 + 2,3 \text{H}_2\text{O}$ (benzeno)
$\text{C}_8\text{H}_{10} + 5 \text{O}_2 + 1,5 \text{HCO}_3^- + 1,5 \text{NH}_4^+ \rightarrow 1,5 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 3,5 \text{CO}_2 + 4,5 \text{H}_2\text{O}$ (etilbenzeno)
$\text{C}_8\text{H}_{10} + 5,5 \text{O}_2 + 1,5 \text{HCO}_3^- + 1,5 \text{NH}_4^+ \rightarrow 1,5 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 4 \text{CO}_2 + 5 \text{H}_2\text{O}$ (xilenos)

As reações apresentadas na Tabela 4.4 mostram que a demanda teórica de oxigênio (em mols) necessária para degradar o íon palmitato do biodiesel é aproximadamente 10 vezes maior do que a demanda de oxigênio necessária para degradar o etanol. Em relação aos compostos BTEX, a quantidade de oxigênio necessária para degradar o íon palmitato do biodiesel é de 2-3 vezes maior. Considerando-se um derramamento de 1 litro de biodiesel, 1 litro de etanol e 1 litro de gasolina (com 10% v/v de BTEX), a demanda teórica calculada de oxigênio em massa necessária para degradar o biodiesel será duas vezes maior do que a necessária para degradar o etanol e 8 vezes maior do que para degradar os compostos BTEX. Portanto, pode-se dizer que num derramamento de biodiesel em água subterrânea, ocorrerá um grande consumo do oxigênio dissolvido, tornando o meio anaeróbico para a degradação dos contaminantes presentes. Com base nesses resultados, os estudos em microcosmos foram realizados somente em meio anaeróbico.

4.3 Biodegradação anaeróbica do biodiesel (B100) de soja e mamona

Analisar a variação da concentração dos compostos orgânicos com o tempo em microcosmos contaminado com biodiesel ajuda a compreender o comportamento dos contaminantes em caso de um derramamento em água subterrânea. Com intuito de avaliar os processos de atenuação natural que ocorrem com o biodiesel, foi monitorada através de cromatografia gasosa a diminuição da concentração dos principais ésteres metílicos de ácidos graxos presentes no biodiesel de soja e mamona. Os dados referentes à degradação do biodiesel de soja e mamona estão apresentados na Figura 4.1 A e B.

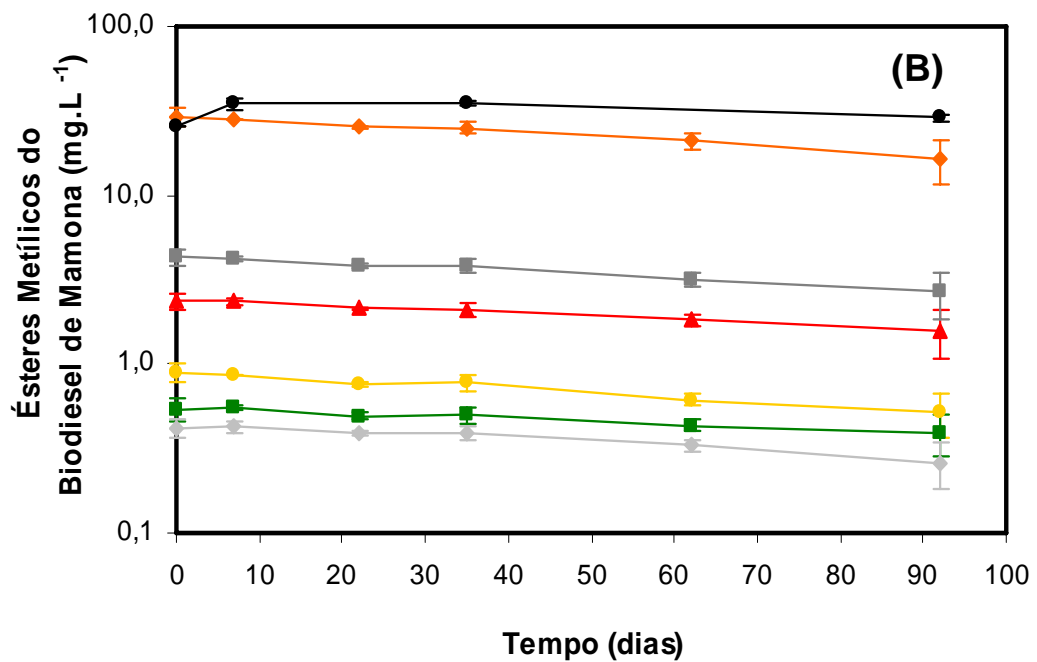
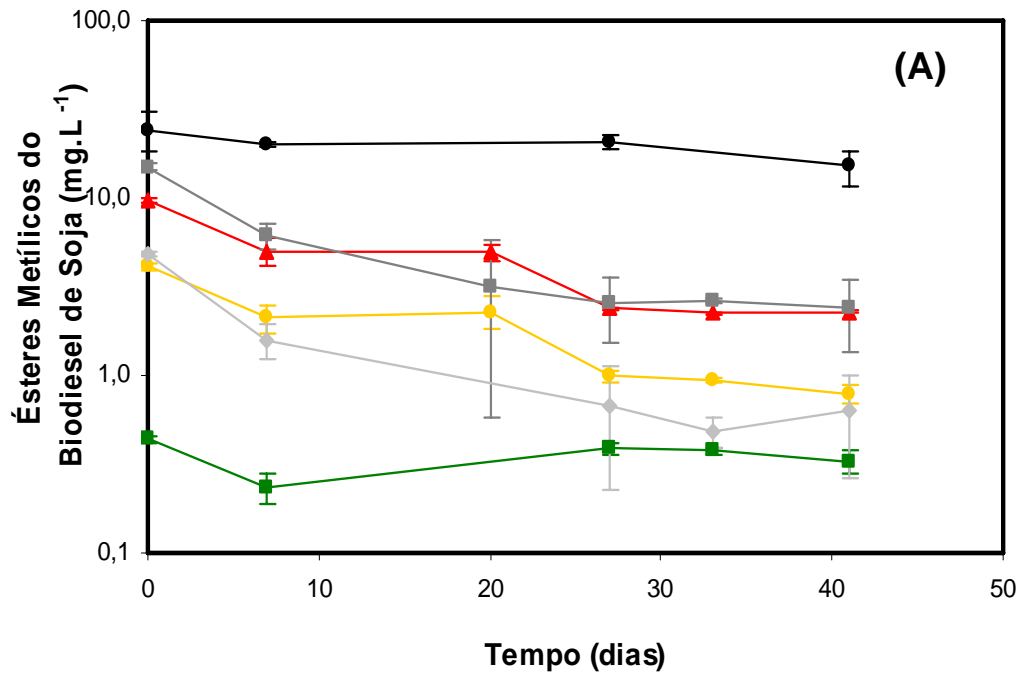


Figura 4.1 - Gráfico da biodegradação dos principais compostos presentes no biodiesel de soja e mamona em função do tempo. (●) Controle, (◆) Ricinoleato, (■) Linoleato, (▲) Oleato, (●) Palmitato, (◆) Linolenato e (■) Estereato.

Por meio da Figura 4.1 A e B, observa-se que a degradação dos ésteres metílicos palmitato, oleato, linoleato e linolenato obtiveram comportamentos diferentes quando comparado com os dois biodiesel estudados (soja e mamona). A biodegradação destes ésteres ocorreu mais rápida para o biodiesel de soja do que para o biodiesel de mamona. O motivo desta diferença no comportamento da biodegradação entre os dois tipos de biodiesel não foi elucidado neste trabalho. Contudo, ressalta-se que o biodiesel de mamona é constituído de aproximadamente 80 % do éster ricinoleato de metila e este poderia estar interferindo na biodegradação dos outros compostos. O éster estereato de metila, presente tanto no biodiesel de soja quanto no biodiesel de mamona, praticamente não foi biodegradado.

O valor da concentração do biodiesel de soja apresentado no tempo zero foi de $34,1 \text{ mg.L}^{-1}$ e para biodiesel de mamona foi de $37,7 \text{ mg.L}^{-1}$. Esses valores foram inferiores ao adicionado nos microcosmos inicialmente ($54,8 \text{ mg.L}^{-1}$ de biodiesel de soja e $56,9 \text{ mg.L}^{-1}$ de biodiesel de mamona). Como os ésteres metílicos de ácidos graxos não são voláteis e possuem valores altos de coeficientes de adsorção (Tabela 2.1), acredita-se que esta diferença deve-se à adsorção destes nas partículas do solo. Os estudos foram realizados somente com a fase aquosa dos microcosmos.

A Figura 4.2 apresenta a porcentagem de remoção dos ésteres metílicos totais que compõem o biodiesel de soja e mamona durante o período de incubação. Observa-se que o biodiesel de soja, foi removido anaerobicamente em 86% em 41 dias de incubação dos microcosmos. O biodiesel de mamona não apresentou as mesmas características de degradação do biodiesel de soja, sendo removido em 42% em um período maior de incubação (92 dias).

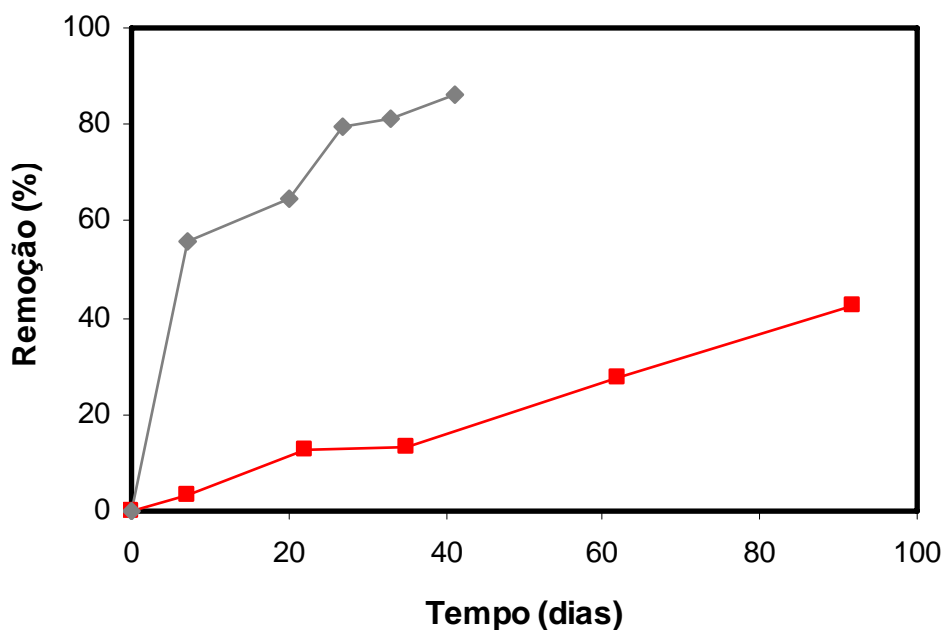


Figura 4.2 - Porcentagem de remoção dos ésteres metílicos totais que compõem o biodiesel de soja e mamona *versus* o tempo. (♦) Biodiesel de soja e (■) Biodiesel de mamona.

4.4 Biodegradação anaeróbica dos compostos BTEX na ausência e presença de biodiesel de soja

As análises realizadas nesta etapa do trabalho pretendem mostrar a influência do biodiesel de soja na biodegradação dos compostos BTEX em caso de uma contaminação em água subterrânea pela mistura desses compostos. Realizou-se, portanto, dois tipos de experimentos utilizando microcosmos, um microcosmo contendo apenas BTEX e outro contendo uma mistura de BTEX e biodiesel de soja.

Os resultados experimentais são apresentados nas Figuras 4.3 a 4.6. Pode-se observar nas figuras que houve um retardamento na degradação dos compostos BTEX com a presença de biodiesel de soja.

Na ausência de biodiesel de soja (Figura 4.3), o benzeno foi reduzido em 90% durante o tempo de incubação dos microcosmos (34 dias). Já, na presença de biodiesel de soja, o

benzeno foi reduzido (35%) somente nos sete primeiros dias de análise. Após este período não houve mais degradação do benzeno neste microcosmo. Alguns estudos têm mostrado que o benzeno é relativamente difícil de degradar em condições anaeróbicas (ALVAREZ & VOGEL, 1995; CORSEUIL et al., 1998; DA SILVA & ALVAREZ, 2004). Segundo Tiehm e Schulze (2003), a biodegradação anaeróbica de hidrocarbonetos aromáticos sem grupos funcionais adicionados ao anel, tais como o benzeno, é considerada desfavorável devido à estabilidade do anel. Portanto, o desaparecimento do benzeno nos sete primeiros dias de análise da mistura benzeno e biodiesel pode estar relacionado aos processos aeróbicos de biodegradação, devido à presença de oxigênio residual no meio (Figura 4.3). Pois, segundo a reação de oxidação-redução via respiração aeróbia do benzeno (Tabela 4.4), para metabolizar $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($1,0 \times 10^{-6}$ mols) de benzeno (correspondente a redução nos sete primeiros dias do início do experimento) até CO_2 e água seria necessário $1,4 \text{ mg.L}^{-1}$ ($3,4 \times 10^{-6}$ mols) de oxigênio.

A biodegradação do tolueno foi muito mais rápida do que para os outros compostos, tanto na ausência quanto na presença de biodiesel de soja. Porém, teve uma velocidade de degradação maior quando ausente de biodiesel. O tolueno foi completamente degradado com 25 dias de análise na ausência de biodiesel e 34 dias na presença de biodiesel (Figura 4.4).

Na ausência do biodiesel de soja os compostos etilbenzeno e xilenos foram removidos em 80% e 65%, respectivamente (Figura 4.5 e 4.6). Na presença do biodiesel de soja, o etilbenzeno e os xilenos foram removidos em 60% durante os 34 dias de análise dos microcosmos. A degradação dos TEX nos primeiros dias de análise também pode estar relacionada aos processos aeróbicos de degradação (presença de oxigênio residual).

Todos os experimentos de biodegradação foram acompanhados por controles abióticos. Estes controles mostraram variações insignificantes durante todo o período de análise (0,01), comprovando que o decréscimo na concentração dos contaminantes foi causado por biodegradação e não volatilização ou adsorção.

A degradação dos compostos BTEX na presença de biodiesel de soja foi obtida sem “fase lag”, diferentemente do que foi observado na degradação dos compostos BTEX na presença de etanol (Corseuil, 1998). Na degradação dos compostos BTEX com etanol, o etanol é degradado preferencialmente aos BTEX (Corseuil, 1998). No caso da mistura dos compostos BTEX com biodiesel de soja, os microorganismos metabolizam todos os compostos simultaneamente. De acordo com Alvarez e Vogel (1991), alguns compostos podem estimular a degradação de outros através da indução de enzimas ou podem agir como um substrato primário estimulando o crescimento da biomassa e através disso favorecendo a remoção de outros compostos.

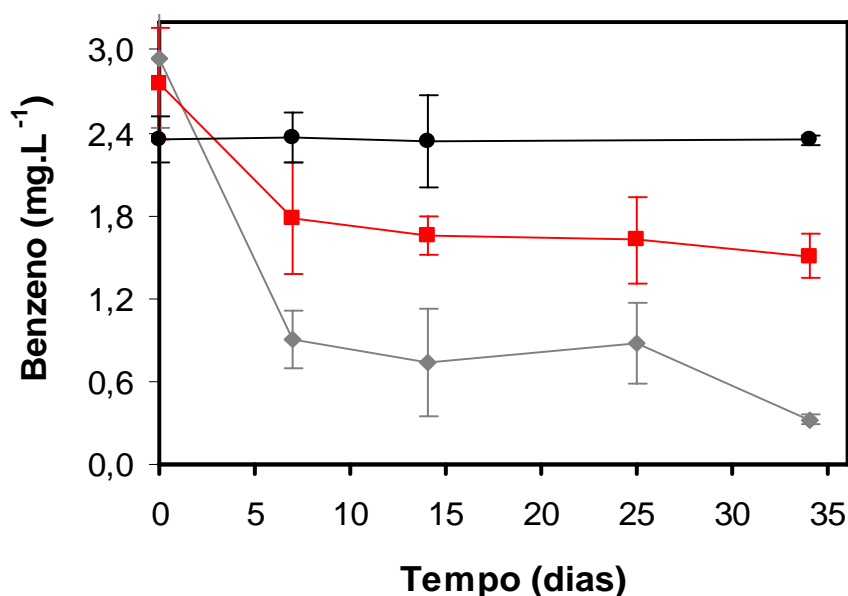


Figura 4.3 - Biodegradação do benzeno na ausência e presença de biodiesel de soja.

(●) Controle, (■) Benzeno + Biodiesel e (◆) Benzeno

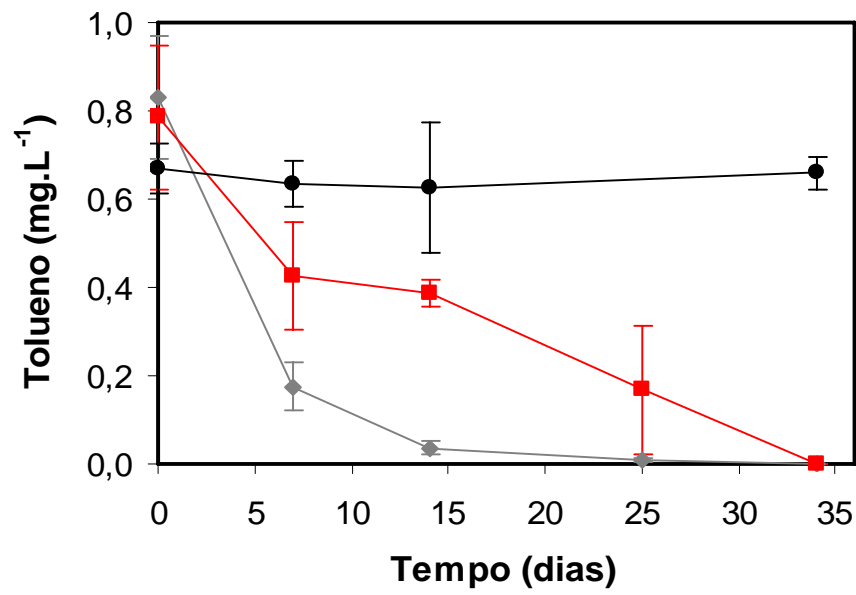


Figura 4.4 - Biodegradação do tolueno na ausência e presença de biodiesel de soja.

(●) Controle, (■) Tolueno + Biodiesel e (◆) Tolueno

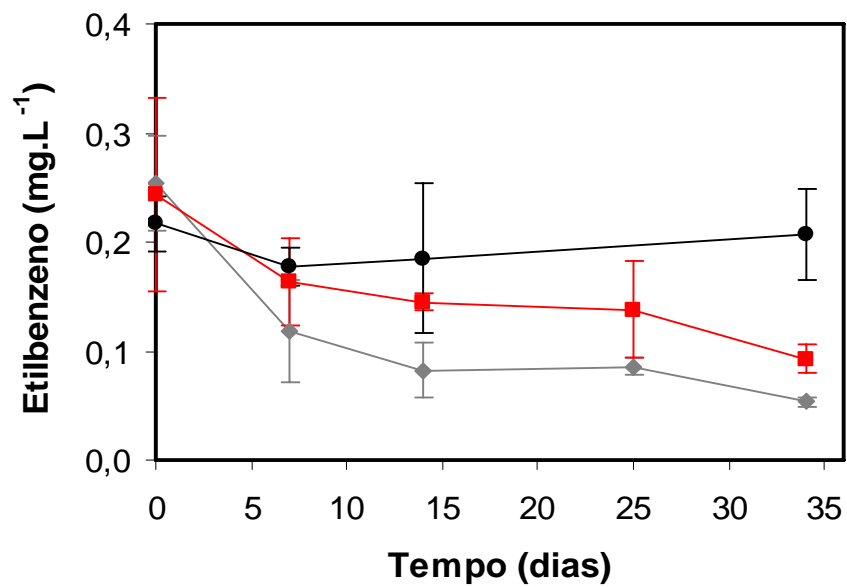


Figura 4.5 - Biodegradação do etilbenzeno na ausência e presença de biodiesel de soja.

(●) Controle, (■) Etilbenzeno + Biodiesel e (◆) Etilbenzeno

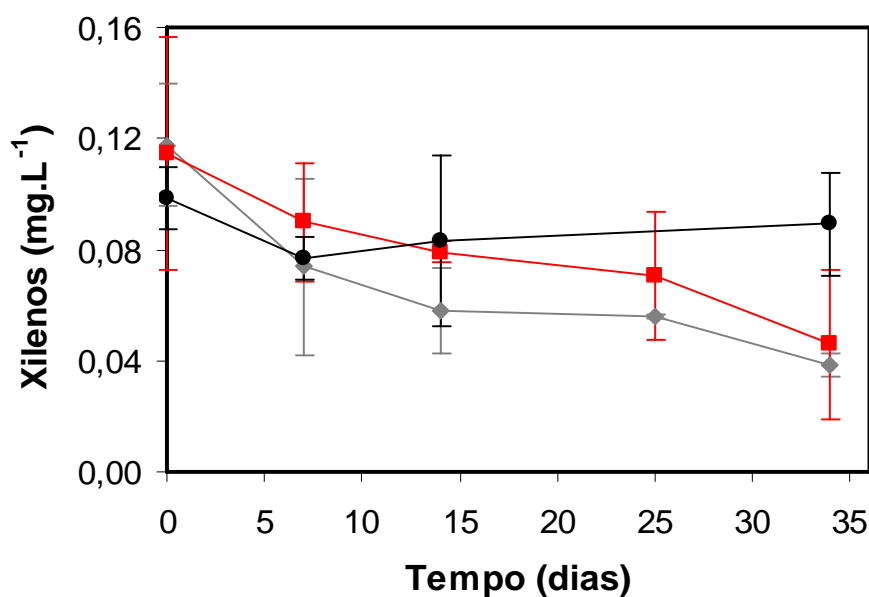


Figura 4.6 - Biodegradação dos xilenos na ausência e presença de biodiesel de soja.
 (●) Controle, (■) Xilenos + Biodiesel e (◆) Xilenos

4.5 Determinação dos receptores de elétrons nitrato e sulfato e do pH

As avaliações dos receptores de elétrons nitrato e sulfato e do pH foram realizadas para comprovar a biodegradação dos compostos BTEX e do biodiesel de soja e mamona nos microcosmos em estudo.

O nitrato é o receptor de elétrons utilizado após a biodegradação aeróbia. As mudanças nas concentrações de nitrato em relação às concentrações iniciais podem ser usadas como um indicador de que a biodegradação anaeróbia está ocorrendo via redução de nitrato. A concentração inicial de nitrato, medida nos microcosmos com BTEX foi aproximadamente 1,2 mg.L⁻¹. Já, a concentração inicial de nitrato medida nos microcosmos com biodiesel de soja e mamona foi de 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹, respectivamente. As concentrações de nitrato foram medidas periodicamente nas amostras de água subterrânea coletadas nos quatro experimentos de microcosmos. As Figuras 4.7 e 4.8 mostram os resultados obtidos da variação de nitrato ao longo do tempo durante a biodegradação dos compostos BTEX, da

mistura BTEX com biodiesel de soja e do biodiesel puro de soja e mamona. O nitrato foi consumido após sete dias do início do experimento. Devido à baixa concentração de nitrato encontrada nos microcosmos (1,5 a 2,5 mg/L) é possível que a degradação dos compostos BTEX e biodiesel não tenha ocorrido por desnitrificação, mas por condições microarerofilicas ($OD < 1$ mg/L) e utilizando o nitrato como fonte de nitrogênio para formação de biomassa (para cálculos, ver Apêndice B).

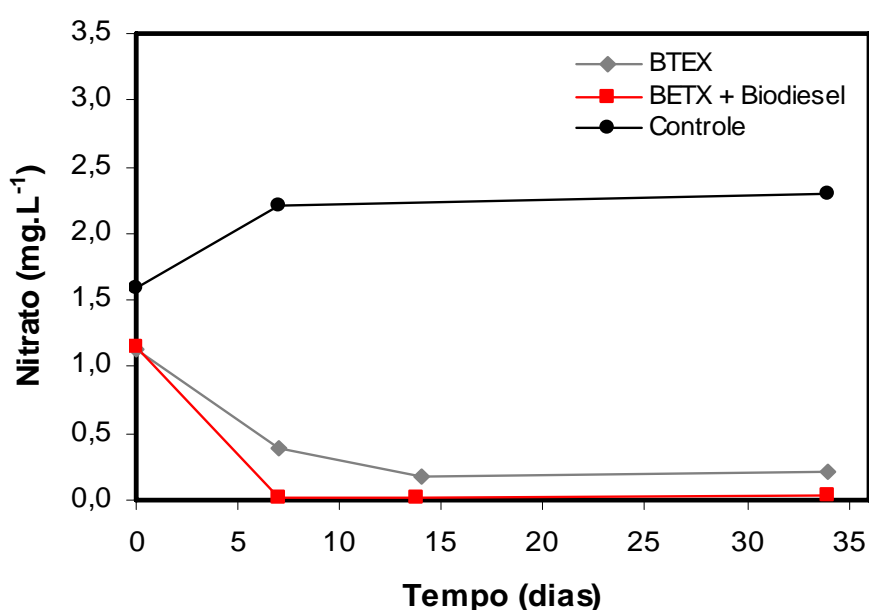


Figura 4.7 - Variação da concentração de nitrato ao longo do tempo na biodegradação dos compostos BTEX.

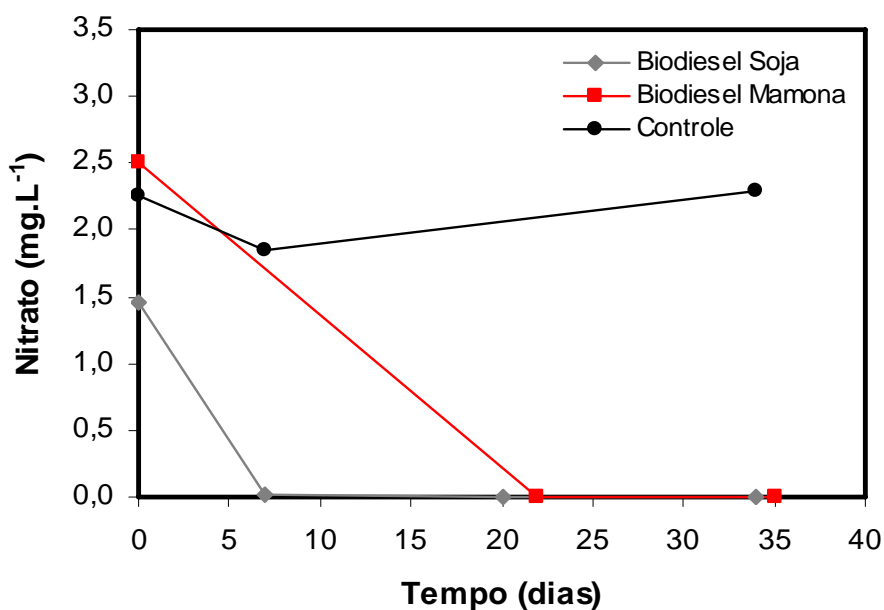


Figura 4.8 - Variação da concentração de nitrato ao longo do tempo na biodegradação do biodiesel de soja e mamona.

A concentração de sulfato no início do experimento foi de aproximadamente de 2,5 mg.L⁻¹ para os microcosmos com BTEX, 2,3 mg.L⁻¹ para os microcosmos com biodiesel de soja e 3,0 mg.L⁻¹ para os microcosmos com biodiesel de mamona. As Figuras 4.9 e 4.10 mostram a variação das concentrações de sulfato analisados dentro de um período de 35 dias. Nas análises de BTEX e biodiesel de soja, as concentrações de sulfato não variaram com o tempo, porém, na presença do biodiesel de mamona o sulfato foi consumido em 35 dias. Os microcosmos com biodiesel de mamona também foram os únicos que apresentaram odor característico de sulfeto. Pode-se dizer, portanto, que a diminuição na concentração de sulfato é um indicio de que tenha ocorrido a biodegradação do biodiesel de mamona, em condições redutoras de sulfato. Devido a baixa concentração de sulfato encontrada nos microcosmos (3 mg/L), a sulfato-redução não poderia ter contribuído significativamente para a degradação do biodiesel de mamona (para cálculos, ver Apêndice B).

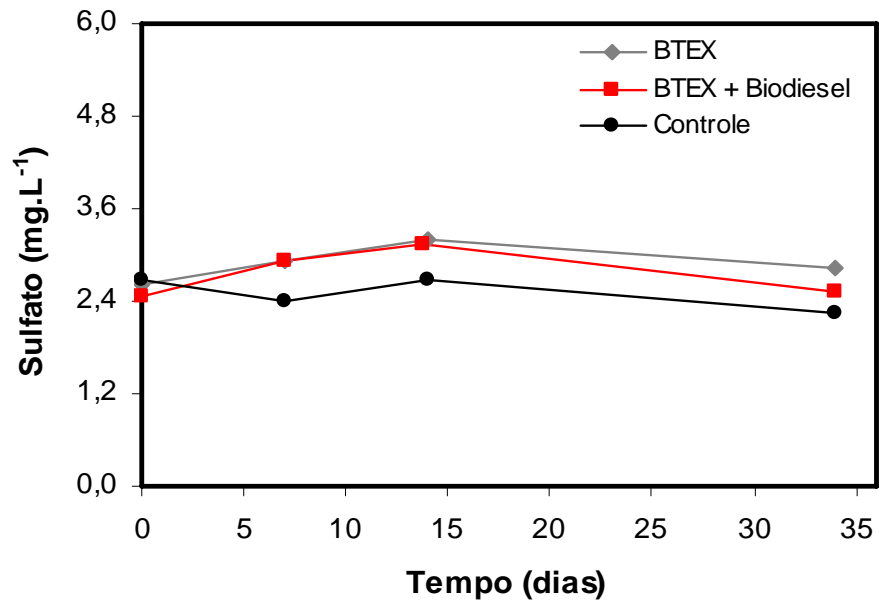


Figura 4.9 - Variação da concentração de sulfato ao longo do tempo na biodegradação dos compostos BTEX.

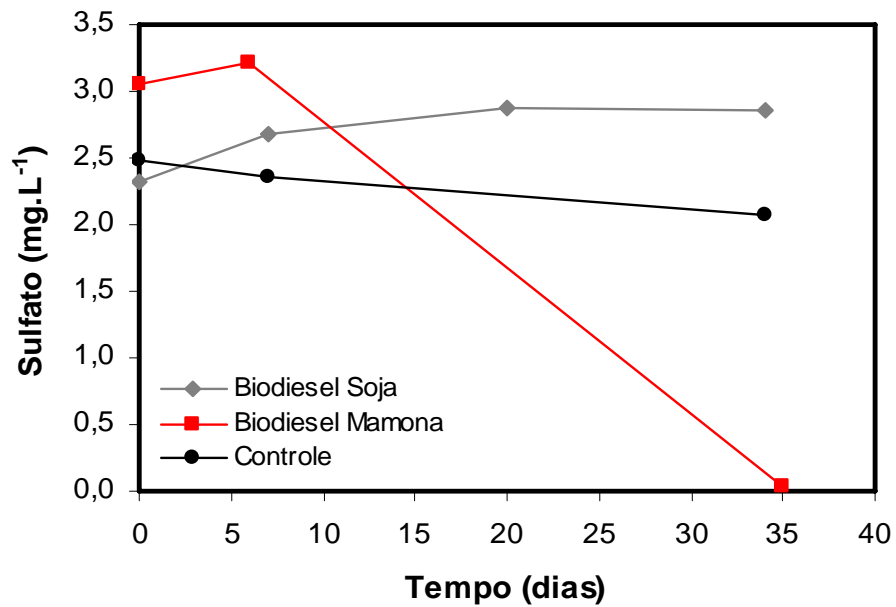


Figura 4.10 - Variação da concentração de sulfato ao longo do tempo na biodegradação do biodiesel de soja e mamona.

O acompanhamento da variação do pH nos microcosmos é importante, pois alguns microorganismos apresentam sensibilidade às variações no pH. O abaixamento do pH pode inibir o crescimento microbiano das espécies responsáveis pela degradação dos contaminantes (KULKAMP, 2003). Foram realizadas análises de pH periodicamente nos microcosmos. O pH inicial medido nos microcosmos contendo apenas BTEX foi de pH = 4,2 e praticamente não variou durante o período de incubação dos microcosmos. Os microcosmos contendo a mistura BTEX com biodiesel, apresentaram pH entre 3,7 – 4,7. Para os microcosmos com biodiesel de soja puro, o pH variou entre 3,3 – 3,6 e para os microcosmos com biodiesel de mamona puro o pH variou entre 3,8 – 4,9. A variação do pH em função da adição do biodiesel não foi estudada. No entanto, testes preliminares mostraram que a hidrofobicidade do biodiesel nas amostras contribuíram para contaminação do eletrodo do pH. Esta contaminação pode ter acarretado em erros de leitura pelo equipamento. Acredita-se que o pH nos microcosmos contendo biodiesel não sofreu modificação, mantendo o pH semelhante ao da água subterrânea (pH \approx 4,7).

4.5 Determinação da cinética de biodegradação

Alguns estudos foram desenvolvidos com a função de mostrar a cinética de degradação de hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX) como produto simples e/ou misturados com etanol (LOVANH, 2002; FERNANDES, 2002). Com a introdução do biodiesel na matriz energética, pouco se sabe sobre a cinética de degradação do biodiesel puro ou com hidrocarbonetos monoaromáticos. Nesta etapa, a cinética de biodegradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX) na ausência e presença de biodiesel, bem como a cinética de biodegradação do biodiesel puro de soja e mamona foi demonstrada.

4.5.1 Cinética de biodegradação do biodiesel

Para a simulação da degradação dos ésteres metílicos palmitato, oleato, estereato, linoleato, linolenato e ricinoleato, verificou-se uma reação de primeira ordem, como mostra a Figura 4.11, na qual é possível observar a diminuição da concentração dos ésteres palmitato, oleato, estereato, linoleato, linolenato e ricinoleato. A cinética de biodegradação foi mais rápida para os ésteres palmitato, estereato, oleato, linoleato e linolenato quando presentes no biodiesel de soja do que no biodiesel de mamona. Os valores dos coeficientes de biodegradação (dia^{-1}) desses ésteres metílicos foram: palmitato e oleato (0,04), linoleato e linolenato (0,06) e estereato (0,006), quando contidos no biodiesel de soja. Enquanto que quando contidos no biodiesel de mamona apresentaram valores dos coeficientes de biodegradação (dia^{-1}) de 0,006 para o palmitato, 0,005 para o linoleato e linolenato, e 0,004 para o oleato e estereato (Tabela 4.2). No entanto, esses ésteres tiveram uma menor cinética de biodegradação quando presentes no biodiesel de mamona.

Observou-se nas análises de biodegradação do biodiesel de soja, que os compostos com maior número de ligações insaturadas (linolenato, linoleato e oleato) foram os que obtiveram um maior coeficiente de biodegradação, levando menos tempo para serem degradados. Miller e Mudge (1997) também observaram que alguns ésteres metílicos de ácidos graxos (C18) insaturados eram degradados mais rapidamente do que os ésteres metílicos de ácidos graxos saturados, em experimentos que focavam determinar a efetividade do biodiesel na remediação de derramamentos de óleo cru no meio ambiente. Lalman e Bagley (2001) concluíram em seu trabalho que a degradação de ácidos insaturados (como linoléico e oléico) é mais favorável energeticamente do que para ácidos saturados.

O tempo de meia-vida (em dias) obtido para os ésteres metílicos contidos no biodiesel de soja foi: linolenato (11), linoleato (11), oleato (16), palmitato (18) e estereato (116). Para

os ésteres metílicos contidos no biodiesel de mamona o tempo de meia-vida foi de 116 dias para os ésteres palmitato e ricinoleato, 139 dias para os ésteres linoleato e linolenato, e 173 dias para os ésteres estereato e oleato (Tabela 4.2).

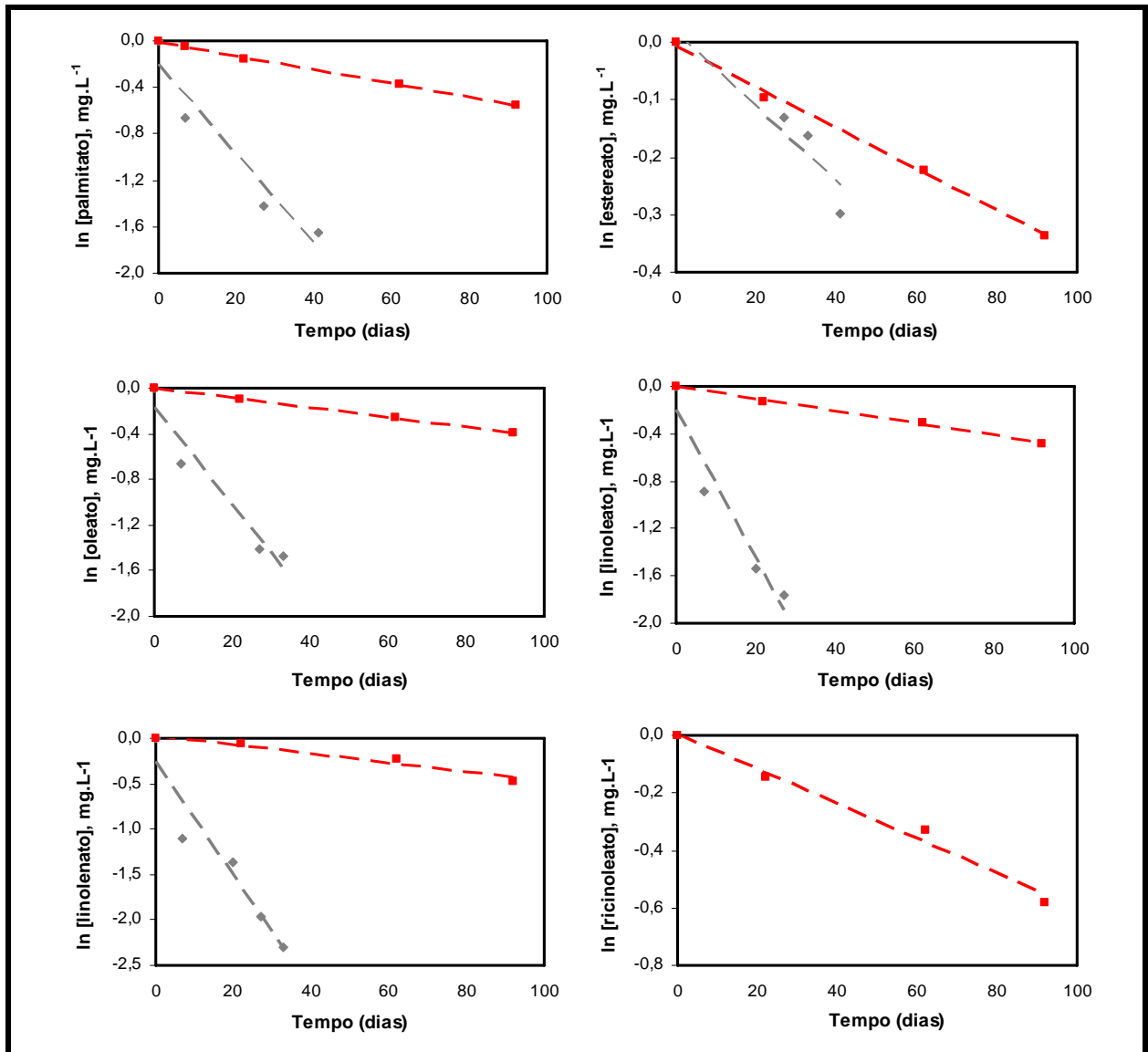


Figura 4.11 - Curva de decaimento de primeira ordem dos principais compostos presentes no biodiesel de soja e mamona. (■) Biodiesel de mamona e (♦) Biodiesel de Soja.

Tabela 4.5 - Coeficiente de biodegradação (λ) para o desaparecimento dos principais compostos do biodiesel de soja e mamona, tempo de meia vida ($T_{1/2}$) e coeficientes de correlação (R^2).

Biodiesel de Soja			
Composto	λ (dia⁻¹)	$T_{1/2}$ (dias)	R^2
Palmitato (C16:0)	0,039	18	0,926
Estereato (C18:0)	0,006	116	0,898
Oleato (C18:1)	0,043	16	0,940
Linoleato (C18:2)	0,062	11	0,932
Linolenato (C18:3)	0,062	11	0,918
Biodiesel de Mamona			
Composto	λ (dia⁻¹)	$T_{1/2}$ (dias)	R^2
Palmitato (C16:0)	0,006	116	0,998
Estereato (C18:0)	0,004	173	0,996
Oleato (C18:1)	0,004	173	0,999
Linoleato (C18:2)	0,005	139	0,997
Linolenato (C18:3)	0,005	139	0,963
Ricinoleato (C18:1-OH)	0,006	116	0,986

4.5.2 Cinética de biodegradação dos compostos BTEX

Para a simulação da degradação dos compostos BTEX com e sem biodiesel de soja, verificou-se uma reação de primeira ordem, como mostra a Figura 4.12, na qual é possível observar a diminuição da concentração dos BTEX na presença e ausência de biodiesel de soja com o tempo. Os compostos BTEX na ausência de biodiesel de soja mostraram um decaimento mais acentuado quando comparadas com as curvas de cinética onde o biodiesel de soja está presente.

A Tabela 4.3 apresenta os valores dos coeficientes de biodegradação (λ) dos compostos BTEX e da mistura BTEX com biodiesel de soja presentes na água subterrânea. Os coeficientes de biodegradação (λ) indicam que o tempo de meia-vida (em dias) dos compostos BTEX testados sem biodiesel foram: benzeno (12), tolueno (4), etilbenzeno (17) e xilenos (23). Já, o tempo de meia-vida (em dias) na presença do biodiesel de soja foi de benzeno (48), tolueno (12), etilbenzeno (26) e xilenos (26). Constatou-se, portanto, que os compostos BTEX foram biodegradados mais lentamente na presença de biodiesel de soja. A degradação preferencial do biodiesel pode estar associada ao fato do biodiesel ser um composto de cadeia simples e linear, com dois oxigênios em uma das extremidades (éster mono-alquila), o que facilita o ataque das enzimas comumente utilizadas nos processos de degradação biológica (ZHANG, 1998; WEDEL, 1999). O benzeno mostrou ser o composto degradado mais lentamente na presença do biodiesel, com uma meia vida quatro vezes maior do que na ausência deste biocombustível. Como o benzeno é o composto mais tóxico dentre os BTEX, um aumento da sua persistência no local contaminado também aumenta os riscos associados à exposição potencial.

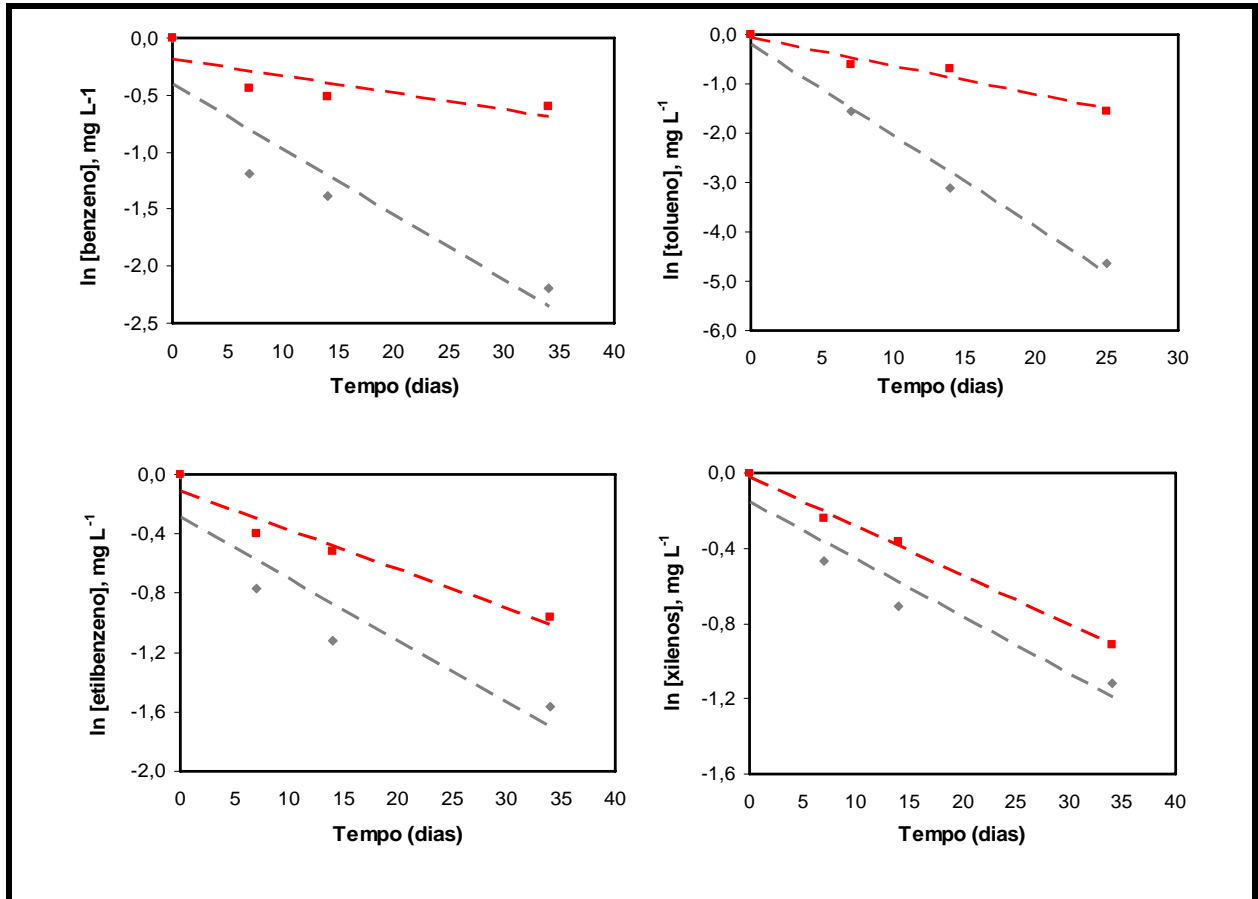


Figura 4.12 - Curva de decaimento de primeira ordem dos compostos BTEX na presença e ausência de biodiesel. (■) BTEX + biodiesel de soja e (◆) BTEX.

Os gráficos de cinética ajudam a demonstrar o efeito negativo do biodiesel na biodegradação dos compostos BTEX. Estudos realizados em laboratório e em campo com misturas de BTEX e etanol, também demonstraram efeito negativo semelhante na degradação dos compostos BTEX (CORSEUIL et al., 1998; BENETTI, 1999; ALVAREZ & HUNT, 2002; FERNANDES, 2002; KULKAMP, 2003; KAIPPER, 2003).

Tabela 4.6 - Coeficiente de biodegradação (λ) para o desaparecimento dos compostos BTEX na ausência e presença de biodiesel soja, tempo de meia vida ($T_{1/2}$) e coeficientes de correlação (R^2).

BTEX			
Composto	λ (dia⁻¹)	$T_{1/2}$ (dias)	R^2
Benzeno	0,057	12	0,924
Tolueno	0,186	4	0,992
Etilbenzeno	0,042	17	0,921
Xileno	0,030	23	0,956
BTEX + Biodiesel de Soja			
Composto	λ (dia⁻¹)	$T_{1/2}$ (dias)	R^2
Benzeno	0,015	48	0,801
Tolueno	0,058	12	0,978
Etilbenzeno	0,026	26	0,972
Xileno	0,026	26	0,997

5 CONCLUSÕES

Este estudo avaliou a biodegradação do biodiesel puro (B100) de soja e mamona, e sua influência na biodegradação dos compostos BTEX. Os experimentos foram conduzidos em laboratório com microcosmos anaeróbios, contendo água subterrânea e solo proveniente de área não-contaminada da Fazenda Experimental da Ressacada (Florianópolis – SC). As principais conclusões obtidas com esse trabalho foram:

- ⇒ A demanda teórica calculada de oxigênio, segundo o modelo energético de McCarty, para a biodegradação do biodiesel foi duas vezes maior do que a demanda necessária para a biodegradação do etanol e 8 vezes maior do que a necessária para a biodegradação dos BTEX. Portanto, após um derramamento de biodiesel em água subterrânea, é esperado que ocorra uma grande demanda biológica do oxigênio durante a biodegradação do mesmo, tornando o ambiente anaeróbio para a degradação dos contaminantes.
- ⇒ No estudo de biodegradação do biodiesel puro, observou-se que em função das diferenças nas composições, o biodiesel de soja e de mamona apresentaram características diferentes de degradação, sendo que o biodiesel de soja foi biodegradado mais rapidamente. Enquanto que mais de 86% do biodiesel de soja já havia sido degradado em 41 dias, o biodiesel de mamona foi somente degradado em 42% em 92 dias. Esta diferença pode estar relacionada à degradação mais lenta do éster ricinoleato de metila que está presente em aproximadamente 75% no biodiesel de mamona.

- ⇒ Na avaliação da influência do biodiesel de soja na biodegradação dos compostos BTEX, observou-se que a presença do biodiesel interferiu na biodegradação dos BTEX. Na ausência do biodiesel de soja, os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos apresentaram remoção de 90%, 100%, 80% e 70% respectivamente, no período de 34 dias de incubação. Na presença de biodiesel de soja, os compostos BTEX foram degradados mais lentamente, obtendo uma remoção de 35% para o benzeno, 100% para o tolueno, 60% para o etilbenzeno e 60% para os xilenos, com o mesmo período de incubação.
- ⇒ Dentre os compostos BTEX, o benzeno foi o composto que degradou mais lentamente na presença do biodiesel de soja, com uma meia vida quatro vezes maior do que na ausência do biodiesel de soja. Já, o tolueno foi preferencialmente degradado com relação ao benzeno, etilbenzeno e xilenos, tanto na ausência quanto na presença do biodiesel de soja. No entanto, na ausência de biodiesel de soja, a sua completa degradação foi mais rápida (25 dias) do que na presença de biodiesel de soja (34 dias).
- ⇒ As concentrações de nitrato foram consumidas nos primeiros dias após início dos experimentos, tanto nos microcosmos de biodiesel puro (B100) de soja e mamona quanto nas misturas com BTEX. Já as concentrações de sulfato não variaram nos microcosmos com BTEX e biodiesel de soja, porém, nos microcosmos com biodiesel de mamona o sulfato foi consumido em 35 dias, evidenciando uma possível biodegradação do biodiesel de mamona via sulfato-redução.
- ⇒ Nos estudos de cinética de biodegradação do biodiesel puro, observou-se uma cinética de biodegradação mais rápida dos ésteres metílicos palmitato, estereato, oleato, linoleato e linolenato quando presentes no biodiesel de soja em relação ao biodiesel de mamona. O tempo de meia-vida obtido para os ésteres metílicos contidos no biodiesel de soja foram de 11 dias (linolenato e linoleato), 16 dias (oleato), 18 dias (palmitato) e

116 dias (estereato). Já para esses ésteres metílicos contidos no biodiesel de mamona o tempo de meia-vida foi de 116 dias para o palmitato, 139 dias para o linoleato e linolenato, e 173 dias para o oleato e estereato. Portanto, esses ésteres foram biodegradados mais lentamente quando presentes no biodiesel de mamona.

⇒ Nos estudos de cinética de biodegradação dos compostos BTEX na ausência e presença de biodiesel de soja, observou-se que os BTEX apresentaram uma meia-vida menor quando testados sem biodiesel. O tempo de meia-vida (em dias) dos compostos BTEX na ausência de biodiesel de soja foram: benzeno (12), tolueno (4), etilbenzeno (17) e xilenos (23). Já, o tempo de meia-vida (em dias) na presença do biodiesel de soja foi de benzeno (48), tolueno (12), etilbenzeno (26) e xilenos (26). Portanto, os compostos BTEX foram biodegradados mais lentamente na presença de biodiesel de soja.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o aumento da demanda dos combustíveis alternativos, espera-se que o biodiesel venha a ser encontrado com maior frequência nos sistemas de águas subterrâneas contaminadas com compostos derivados de petróleo. Desta forma, com a presença do biodiesel na formulação do diesel brasileiro será necessário se reconsiderar as técnicas atuais de biorremediação e talvez o desenvolvimento de técnicas alternativas de remediação. Verificou-se nesse estudo que o biodiesel de soja é relativamente de fácil biodegradação comparado ao biodiesel de mamona em água subterrânea por processos de atenuação natural. Nas misturas de biodiesel com BTEX, a presença do biodiesel afeta a atenuação natural dos hidrocarbonetos monoaromáticos, fazendo com que estes levem maior tempo para serem consumidos. Portanto, com introdução do biodiesel na matriz energética, considera-se importante a continuidade dos estudos sobre a influência do biodiesel no comportamento dos hidrocarbonetos de petróleo em ambientes subterrâneo, tanto em escala laboratorial como em escala real, para uma melhor tomada de decisão de estratégias de remediação em uma região contaminada pela mistura desses compostos.

7 RECOMENDAÇÕES

- 1) Realizar estudos de campo, para avaliar o comportamento de biodiesel puro (B100) e a influência do biodiesel na degradação dos compostos BTEX.
- 2) Comparar os resultados da cinética em microcosmos com a cinética em escala real.
- 3) Estudar a influência do éster ricinoleato de metila na degradação dos demais ésteres metílicos presentes no biodiesel de mamona.
- 4) Avaliar o comportamento da pluma de BTEX na presença de biodiesel e comparar como o comportamento da pluma de BTEX na presença de etanol.
- 5) Avaliar o efeito da degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em presença de biodiesel.
- 6) Usar a biologia molecular para identificação dos microorganismos nativos e quantificação de genes que estão relacionados com a biodegradação dos contaminantes de interesse.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **Anuário Estatístico – 2007**. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/conheca/anuario_2007.asp>. Acesso em: 11 jan. 2008.

AINSLIE, B.; DOWLATABADI, H.; ELLIS, N.; RIES, F.; ROUHANY, M.; SCHREIER, H. A Review of Environmental Assessments of Biodiesel Displacing Fossil Diesel. **The Canola Council of Canada & Auto21 Network of Centres of Excellence**, p.1-80, 2006.

AIR FORCE RESEARCH LABORATORY. **Final treatability study in support of monitored natural attenuation for groundwater at site s-1, zone 5**. Air Base and Environmental Division, Tyndall Air Force Base, Florida and Kelly Air Force Base, Texas, February 1999, 188 p.

ALBUQUERQUE, G. A. **Obtenção e caracterização físico-química do biodiesel de canola (brassica napus)**. 2006. 100 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.

ALVAREZ, P. J. J.; HUNT, C. S. The effect of fuel alcohol on monoaromatic hydrocarbon biodegradation and natural attenuation. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, v.44, n.2, p.83-104, 2002.

ALVAREZ, P. J. J., VOGEL, T. M. Substrate interactions of benzene, toluene, and para-xylene during microbial degradation by pure cultures and mixed culture aquifer slurries. **Appl Environ Microbiol**, v.57, p.2981-2985, 1991.

ALTIPARMAK, D.; KESKIN, A.; KOCA, A.; GÜRÜ, M. Alternative fuel properties of tall oil fatty acid methyl ester–diesel fuel blends. **Bioresource Technology**, v.98, n.2, p.241-246, 2007.

AMERICAN PUBLIC HEALT ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 18th edition, Washington, DC, 1992.

BARNWAL, B. K.; SHARMA, M. P. Prospects of biodiesel production from vegetable oils in India. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.9, p.363-378, 2005.

BEDIENT, P. B; NEWELL, C. J.; RIFAI, H. S. **Ground water contamination: transport and remediation**. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall PTR, 1997. 604 p.

BENETTI, L. B. Avaliação do potencial de atenuação natural de hidrocarbonetos monoaromáticos de petróleo em presença de etanol. 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999.

BIODIESEL. **National Biodiesel Board (NBB)**. Disponível em: <<http://www.biodiesel.org>>. Acesso em: 12 dez. 2007.

BRASIL. Lei n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. **Lex**: Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>> Acesso em 16 nov. 2006.

CARNEIRO, R. A. F. A Produção do Biodiesel na Bahia. **Conj. & Planej.**, Salvador: SEI, n.112, p.35-43, 2003.

CHAPRA S. C. **Surface water-quality modeling**. New York: McGraw-Hill Companies, 1997. 844 p.

CHAPELLE, F. H. **Ground-water microbiology and geochemistry**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001. 477 p.

CHEN, Y. D.; BARKER, J. F.; GUI, L. A strategy for aromatic hydrocarbon bioremediation under anaerobic conditions and the impacts of ethanol: A microcosm study. **Journal of Contaminant Hydrology**, v.96, p.17-31, 2007.

CLEMENTE, T. E.; KINNEY, A. J. Modifying soybean oil for enhanced performance in biodiesel blends. **Fuel Processing Technology**, v.86, n.10, p.1137-1147, 2005.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n. 357, 17 de Março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Lex**: 1. ed., Brasília, 2006, p.259-282.

CORSEUIL, H. X., AIRES, J. R., ALVAREZ, P. J. J. Implications of the presence of ethanol on intrinsic bioremediation of BTEX plumes in Brazil. **Haz. Was. Haz. Mat.**, v.13, n.2, p.213-221, 1996.

CORSEUIL, H. X.; MARINS, M. D. Contaminação de águas subterrâneas por derramamento de gasolina: O problema é grave?. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.2, n.2, p.50-54, 1997.

CORSEUIL, H. X.; HUNT, G. S.; SANTOS, R. C. F. dos; ALVAREZ, J. J. The influence of the gasoline oxygenate ethanol on aerobic and anaerobic BTX biodegradation. **Water Research**, v.32, n.7, p.2065-2072, 1998.

DA SILVA, M. L. B., ALVAREZ, P. J. J. Effects of ethanol versus MTBE on benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene natural attenuation in aquifer columns. **Journal of Environmental Engineering-ASCE**, v.128, n.9, p.862-867, 2002.

DA SILVA, M. L. B.; ALVAREZ, P. J. J. Enhanced Anaerobic Biodegradation of Benzene-Toluene-Ethylbenzene-Xylene-Ethanol Mixtures in Bioaugmented Aquifer Columns. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.8, p.4720-4726, 2004.

DA SILVA, M. L. B.; RUIZ-AGUILAR, G. M. L. Enhanced anaerobic biodegradation of BTEX-ethanol mixtures in aquifer columns amended with sulfate, chelated ferric iron or nitrate. **Biodegradation**, v.16, p.105-114, 2005.

DEEB, R. A.; HU, H. Y.; HANSON, J.; SCOW, K.; COHEN, L. A. Substrate interactions in BTEX and MTBE mixtures by an MTBE-degrading isolate. **Environ. Sci. Technol**, v.35, p.312-317, 2001.

DOU, J.; LIU, X.; HU, Z.; DENG, D. Anaerobic BTEX biodegradation linked to nitrate and sulfate reduction. **Journal of Hazardous Materials**, v.151, p.720-729, 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA. **Test Methods for evaluating solid waste physical/chemical methods**. SW-846. Office of Solid Waste and the National Technical Information Service (NTIS). May 1996. CD-ROM.

FERNANDES, M. **Atenuação natural da contaminação de aquífero submetido a derramamento de gasolina**. 2002. 213 f. Tese (Doutorado em Química) – Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, v.86, p.1097-1107, 2005

KEMP, D. National standard for biodiesel. **Setting National Fuel Quality Standards**, n.6, p.1-103, 2003.

KAIPPER, B. I. A. **Influencia do etanol na solubilidade de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados por óleo diesel**. 2003. 179 f. Tese (Doutorado em Química) – Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

KULCAMP, M. S. **Atenuação natural de hidrocarbonetos de petróleo em aquíferos com derramamentos simultâneos de diesel e etanol**. 2003. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

LALMAN, J. A.; BAGLEY, D. M. Anaerobic degradation and methanogenic inhibitory effects of oleic and stearic acids. **Wat. Res.**, v.35, n.12, p.2975-2983, 2001.

LIN, C. W.; CHENG, Y. W.; TSAI, S. L. Multi-substrate biodegradation kinetics of MTBE and BTEX mixtures by *Pseudomonas aeruginosa*. **Process Biochemistry**, v.42, p.1211–1217, 2007.

LOVANH, N.; HUNT, C. S.; ALVAREZ, P. J. J. Effect of ethanol on BTEX biodegradation kinetics: aerobic continuous culture experiments. **Water Research**, v. 36, p. 3739-3746, 2002.

McCARTY, P. L. **Energetics and bacterial growth**. Presented at the 5th Rudolf Research Conference, Rutgers, the State University, New Brunswick, NJ, 1969.

MELLO, J. A. de; CARMICHAEL, C. A.; PEACOCK, E. E.; NELSON, R. K.; AREY, J. S.; REDDY, C. M. Biodegradation and environmental behavior of biodiesel mixtures in the sea: An initial study. **Marine Pollution Bulletin**, v.54, p.894-904, 2007.

MILLER, N. J.; MUDGE, S. M. The effect of biodiesel on the rate of removal and weathering characteristics of crude oil within artificial sand columns. **Spill Science and Technology Bulletin**, v.4, p.17-33, 1997.

NUNES, C. C. **Dinâmica da variação dos receptores de elétrons e subprodutos metabólicos em águas subterrâneas impactadas por derramamentos de gasolina com etanol**. 2006. 244 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

PARENTE, E. J. S. **BIODIESEL: Uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: Tecbio, 2003. 68 p.

PASQUALINO, J. C.; MONTANE, D.; SALVADO, J. Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. **Biomass and Bioenergy**, v.30, p.874-879, 2006.

PETROBRÁS. A revolução do biodiesel. **Revista Petrobrás**, v.119, n.12, p.10-15, 2006.

POWERS, S. E.; RICE, D. The subsurface fate of ethanol a look at the emerging oxygenate alternative to MTBE. **LUSTLine Bulletin**, v.36, p.6-9, 1999.

PRUDEN, A.; SUIDAN, M. Effect of benzene, toluene, ethylbenzene, and p-xylene (BTEX) mixture on biodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) and tert-butyl alcohol (TBA) by pure culture UC1. **Biodegradation**, v.15, p.213-227, 2004.

RUIZ-AGUILAR, G. M. L.; FERNANDEZ-SANCHEZ, J. M.; KANE, S. R.; KIM, D.; ALVAREZ, P. J. J. Effect of ethanol and methyl-tert-butyl ether on monoaromatic hydrocarbon biodegradation: response variability for different aquifer materials under various electron-accepting conditions. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2003, 40p.

RITTMANN, B. E.; McCARTY, P. L. **Stoichiometry and bacterial energetics**. In *Environmental Biotechnology*. New York: McGraw-Hill, 2001. p.126-161.

SANTOS, R. C. F. **Impacto do etanol na biodegradação de compostos hidrocarbonetos monoaromáticos em aquíferos contaminados por derramamento de gasolina**. 1996. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1996.

SCHMIDT, T. C.; SCHIRMER, M.; WEIB, H., HADERLEINA, S. B. Microbial degradation of methyl tert-butyl ether and tert-butyl alcohol in the subsurface. **Journal of Contaminant Hydrology**, v.70, p.173– 203, 2004.

SCHNOOR, J. L. **Environmental modeling: fate and transport of pollutants in water, air and soil**. New York: John Wiley & Sons, 1996. 684 p.

SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. **Environmental organic chemistry**, 2. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003. 1313 p.

SCRIMGEOUR C. Chemistry of Fatty Acids. **Bailey's industrial oil and fat products**. 6. ed. Dundee: John Wiley & Sons, 2005. p. 1-43.

SILVA, G. S.; RODRIGUES, S. P. R.; REZENDES, R. P.; MACIEL, B. M. M.; DIAS, J. C. T. Avaliação da ecotoxicidade em sistemas de microcosmos do biodiesel produzido na UESC. In: Seminário de Iniciação Científica da UESC, 11, 2005, Santa Cruz. **Anais...** Santa Cruz, Ciências Biológicas 208, 2005. p.208-209

SOLOMONS, T. W. G. **Química Orgânica**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. 474 p.

TIEHM, A.; SCHULZE, S. Intrinsic aromatic hydrocarbon biodegradation for groundwater remediation. **Oil & Gas Science and Technology**, v.58, n. 4, p.449-462, 2003.

TOXNET – Toxicology Data Network. **Hazardous Substances Data Bank (HSDB)**, 2006. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>>. Acesso em 06 jun. 2007.

ULRICH, G. **The fate and transport oh ethanol-blended gasoline in the environment**. Governor's Ethanol Coalition. Lincoln, Nebraska, 1999. 103 p.

VIEIRA, T. M.; SILVA, E. P.; FILHO, N. R. A.; VIEIRA, J. D. G. Determinação e quantificação da degradação bacteriana de biodiesel de óleo de palma. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, I., 2006, Brasília. **Anais...**, Brasília, 2006, p.218-223.

WANG, X.; DESHUSSES, M. A. Biotreatment of groundwater contaminated with MTBE: interaction of common environmental co-contaminants. **Biodegradation**, v. 18, p.37-50, 2007.

WEDEL, R. V. Technical Handbook for Marine Biodiesel. 2. ed. Point Richmond: CytoCulture International, 1999. **Prepared for the National Renewable Energy Laboratory**.

WILLIAMSON, A. M.; BADR, O. Assessing the viability of using rape methyl ester (RME) as an alternative to mineral diesel fuel for powering road vehicles in the UK. **Applied Energy**, v.59, n. 2-3, p.187-214, 1998.

ZHANG, X.; PETERSON, C.; REECE, D.; HAWS, R. & MOLLER, G. Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. **Trans. ASAE**, v. 41, p.1423-1430, 1998.

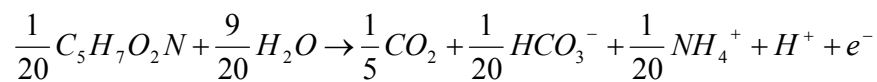
ZHI-FENG, H., JUN-FENG, D., XIANG, L., XI-LAI, Z., DONG, D. Anaerobic biodegradation of benzene series compounds by mixed cultures based on optional electronic acceptors. **Journal of Environmental Sciences**, v.19, p.1049-1054, 2007.

APÊNDICE A

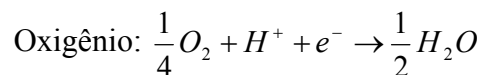
Cálculo das reações de oxidação-redução do íon palmitato, do etanol e dos compostos BTEX, com a produção de massa celular via respiração aeróbia

1 - Íon Palmitato

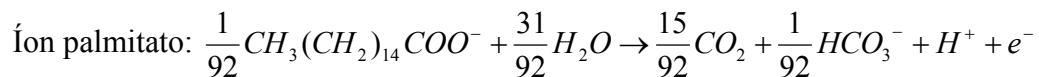
⇒ Reação de síntese celular bacteriana (R_c), utilizando a amônia como fonte de nitrogênio.



⇒ Reação para produção de energia utilizando o oxigênio como receptor de elétrons (R_r).



⇒ Reação para os doadores de elétrons (R_d).



- Cálculo de A:

$$A = - \frac{\frac{\Delta G_p}{\varepsilon^n} + \frac{\Delta G_{pc}}{\varepsilon}}{\varepsilon \Delta G_r}$$

Onde A é o equivalente de elétrons do íon palmitato convertido à energia por equivalente de elétrons de célula sintetizada.

ΔG_p é a energia necessária para converter um equivalente de elétrons da fonte de carbono (íon palmitato) para o intermediário (piruvato) = $\Delta G_w^{\text{piruvato}} - \Delta G_w^{\text{palmitato}} = (35,09) - (27,26) =$
7,83 kJ/e⁻ eq

ΔG_r é a energia livre por equivalente de elétrons da meia-reação para o íon palmitato e o oxigênio. $\Delta G_w^{\text{oxigênio}} - \Delta G_w^{\text{palmitato}} = (-78,72) - (27,26) =$ **-105,98 kJ/e⁻ eq.**

ΔG_{pe} é a energia necessária para converter o intermediário da fonte de carbono e amônia dentro do material celular = **18,8 kJ/ e⁻ eq.**

ε representa a eficiência da energia transferida por crescimento de bactéria que é igual a **0,6**.

$$\text{Então, } A = -\frac{\left(\frac{7,83}{0,6^{+1}}\right) + \left(\frac{18,8}{0,6}\right)}{0,6(-105,98)} = 0,70$$

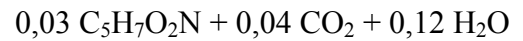
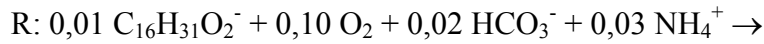
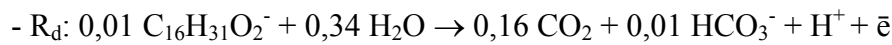
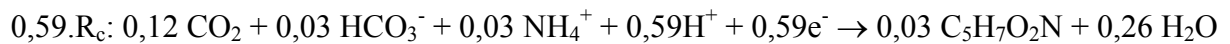
Conhecendo o valor de A pode-se calcular f_e pela seguinte equação:

$$f_s = \frac{1}{1 + A} = \frac{1}{1 + 0,70} = 0,59$$

$$\text{mas, } f_e + f_s = 1, \quad \text{então } f_e = 0,41$$

Calculado os valores de f_e e f_s pode-se então obter a reação geral através da seguinte equação:

$$\mathbf{R} = f_e \mathbf{R}_r + f_s \mathbf{R}_c - \mathbf{R}_d$$

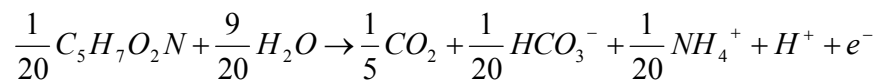


Reação Geral Simplificada:

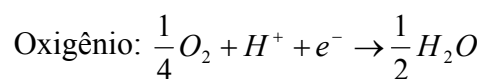


2 - Etanol

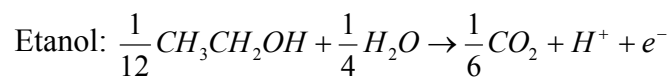
⇒ Reação de síntese celular bacteriana (R_c), utilizando a amônia como fonte de nitrogênio.



⇒ Reação para produção de energia utilizando o oxigênio como receptor de elétrons (R_r).



⇒ Reação para os doadores de elétrons (R_d).



- Cálculo de A:

$$A = - \frac{\frac{\Delta G_p}{\varepsilon^n} + \frac{\Delta G_{pc}}{\varepsilon}}{\varepsilon \Delta G_r}$$

$$\Delta G_p = \Delta G_{w(\text{piruvato})}^{\circ} - \Delta G_{w(\text{etanol})}^{\circ} = (35,09) - (31,18) = \mathbf{3,91 \text{ kJ/e}^- \text{ eq}}$$

$$\Delta G_r = \Delta G_{w(\text{oxigênio})}^{\circ} - \Delta G_{w(\text{etanol})}^{\circ} = (-78,72) - (31,18) = \mathbf{-109,90 \text{ kJ/e}^- \text{ eq.}}$$

$$\Delta G_{pc} = \mathbf{18,8 \text{ kJ/ e}^- \text{ eq.}}$$

$$\varepsilon = \mathbf{0,6.}$$

$$\text{Então, } A = -\frac{\left(\frac{3,91}{0,6^{+1}}\right) + \left(\frac{18,8}{0,6}\right)}{0,6(-109,90)} = 0,57$$

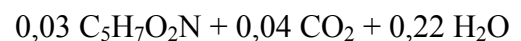
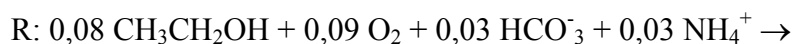
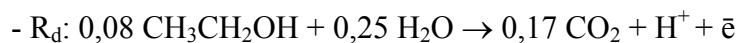
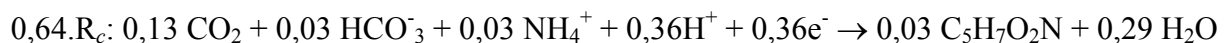
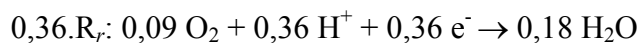
Conhecendo o valor de A pode-se calcular f_e pela seguinte equação:

$$f_s = \frac{1}{1 + A} = \frac{1}{1 + 0,57} = 0,64$$

$$\text{mas, } f_e + f_s = 1, \quad \text{então } f_e = 0,36$$

Calculado os valores de f_e e f_s pode-se então obter a reação geral através da seguinte equação:

$$\mathbf{R = f_e R_r + f_s R_c - R_d}$$

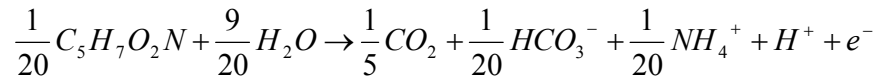


Reação Geral Simplificada:

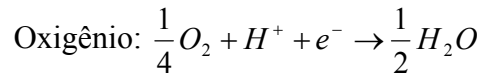


3 - Compostos BTEX

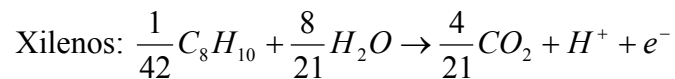
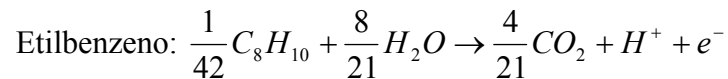
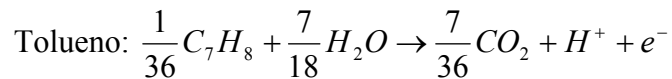
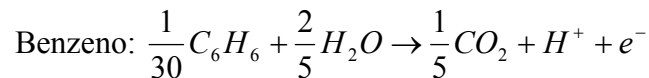
⇒ Reação de síntese celular bacteriana (R_c), utilizando a amônia como fonte de nitrogênio.



⇒ Reação para produção de energia utilizando o oxigênio como receptor de elétrons (R_r).



⇒ Reação para os doadores de elétrons (R_d).



- Cálculo de A:

$$A = - \frac{\frac{\Delta G_p}{\varepsilon^n} + \frac{\Delta G_{pc}}{\varepsilon}}{\varepsilon \Delta G_r}$$

$$f_s = \frac{1}{1+A} \quad e \quad f_e = 1 - f_s$$

Os valores de ΔG_p , ΔG_r , A , f_e e f_s calculados para os compostos BTEX, utilizando as equações acima são mostrados na tabela A.1

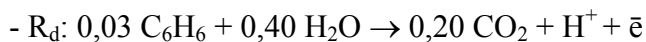
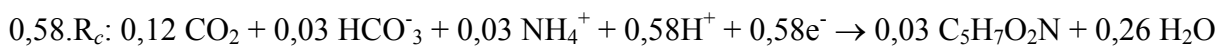
Tabela A.1 - Variáveis de energia e valores de A , f_e e f_s para os BTEX.

Composto	ΔG_p	ΔG_r	A	f_e	f_s
Benzeno	8,42	-105,39	0,72	0,42	0,58
Tolueno	8,87	-104,94	0,73	0,42	0,58
Etilbenzeno	8,81	-105,00	0,73	0,42	0,58
Xilenos	9,09	-104,72	0,74	0,43	0,57

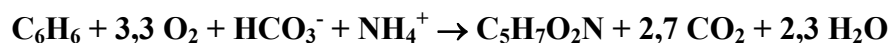
Com os resultados obtidos de f_e e f_s , pode-se obter a reação geral para cada composto, utilizando a equação:

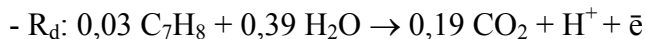
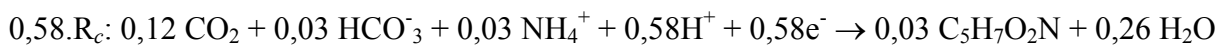
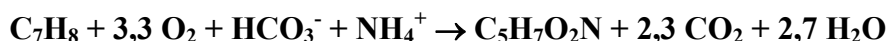
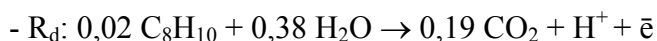
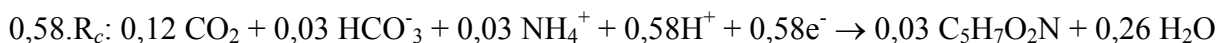
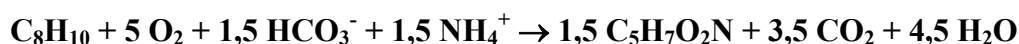
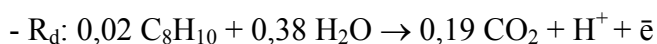
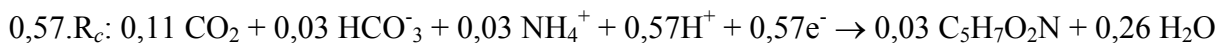
$$R = f_e R_r + f_s R_c - R_d$$

Benzeno:



Reação Geral Simplificada:

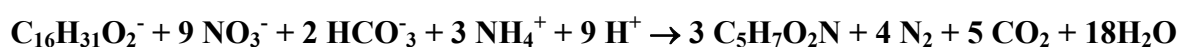


Tolueno:**Reação Geral Simplificada:****Etilbenzeno:****Reação Geral Simplificada:****Xilenos:****Reação Geral Simplificada:**

APÊNDICE B

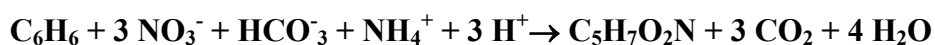
Reação de oxidação-redução do íon palmitato via nitrato-redução

Através das reações balanceadas, pode-se quantificar a massa de nitrato teoricamente necessária para a completa degradação do íon palmitato presente no biodiesel e dos compostos BTEX. O cálculo estequiométrico da biodegradação via nitrato-redução para o íon palmitato é mostrado abaixo:



Portanto, 9 mols de nitrato são requeridos para metabolizar 1 mol do íon palmitato. No entanto, a concentração de nitrato nos microcosmos contendo biodiesel de soja era de 1,5 mg.L⁻¹ (1,9 × 10⁻⁶ mols) e biodiesel de mamona era de 2,5 mg.L⁻¹ (3,2 × 10⁻⁶ mols). Desse modo, apenas 0,8 mg.L⁻¹ do biodiesel de soja e 1,3 mg.L⁻¹ do biodiesel de mamona seriam metabolizados por completo.

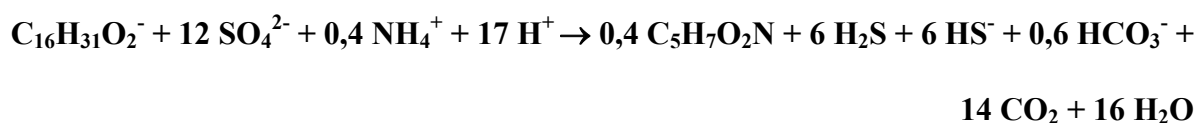
O cálculo estequiométrico da biodegradação via nitrato-redução para o benzeno é apresentado abaixo:



Portanto, 3 mols de nitrato são requeridos para metabolizar 1 mol do benzeno. No entanto, a concentração de nitrato nos microcosmos contendo BTEX era de 1,2 mg.L⁻¹ (1,5 × 10⁻⁶ mols). Desse modo, apenas 0,5 mg.L⁻¹ do benzeno seriam metabolizados por completo.

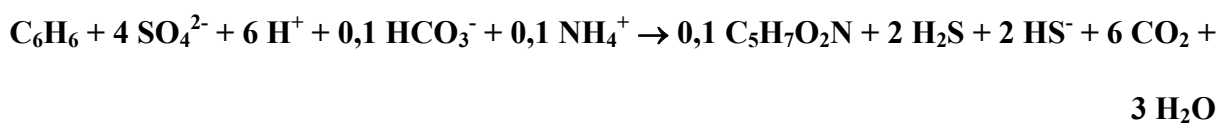
Reação de oxidação-redução do íon palmitato via sulfato-redução

Através das reações balanceadas, pode-se quantificar a massa de sulfato teoricamente necessária para a completa degradação do íon palmitato presente no biodiesel. O cálculo estequiométrico da biodegradação via sulfato-redução para o íon palmitato é mostrado abaixo:



Portanto, 12 mols de sulfato são requeridos para metabolizar 1 mol do íon palmitato. No entanto, a concentração de sulfato nos microcosmos contendo biodiesel de soja era de 2,3 mg.L⁻¹ (1,9 × 10⁻⁶ mols) e biodiesel de mamona era de 3,0 mg.L⁻¹ (2,5 × 10⁻⁶ mols). Desse modo, apenas 0,6 mg.L⁻¹ do biodiesel de soja e 0,8 mg.L⁻¹ do biodiesel de mamona seria metabolizado por completo.

O cálculo estequiométrico da biodegradação via nitrato-redução para o benzeno é apresentado abaixo:



Portanto, 4 mols de sulfato são requeridos para metabolizar 1 mol do benzeno. No entanto, a concentração de sulfato nos microcosmos contendo BTEX era de 2,5 mg.L⁻¹ (3,2 × 10⁻⁶ mols). Desse modo, apenas 0,8 mg.L⁻¹ do benzeno seriam metabolizados por completo.

APÊNDICE C

Resultado das análises dos microcosmos

Benzeno (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	2,840	3,486	2,486	2,938	0,507
7	0,674	1,089	0,934	0,899	0,210
14	0,802	0,326	1,091	0,740	0,386
25	1,081	n.a.	0,674	0,878	0,288
34	0,300	0,353	n.a.	0,326	0,037

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Tolueno (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,838	0,967	0,687	0,831	0,140
7	0,112	0,213	0,199	0,175	0,055
14	0,043	0,021	0,047	0,037	0,014
25	0,011	n.a.	0,005	0,008	0,004
34	0,000	0,000	n.a.	0,000	0,000

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Etilbenzeno (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,274	0,284	0,204	0,254	0,043
7	0,091	0,090	0,173	0,118	0,048
14	0,090	0,055	0,103	0,083	0,024
25	0,091	n.a.	0,080	0,085	0,008
34	0,056	0,050	n.a.	0,053	0,004

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Xilenos (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,123	0,136	0,094	0,118	0,022
7	0,060	0,051	0,110	0,074	0,032
14	0,062	0,041	0,071	0,058	0,015
25	0,057	n.a.	0,056	0,056	0,001
34	0,041	0,036	n.a.	0,039	0,004

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Benzeno – Controle (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	2,458	2,164	2,438	2,353	0,164
7	2,161	2,489	2,445	2,365	0,178
14	2,527	2,526	1,946	2,333	0,335
34	2,323	2,386	2,333	2,347	0,034

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Tolueno – Controle (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,704	0,602	0,701	0,669	0,058
7	0,575	0,675	0,657	0,636	0,053
14	0,728	0,696	0,457	0,627	0,148
34	0,630	0,703	0,644	0,659	0,038

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Etilbenzeno – Controle (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,233	0,188	0,229	0,217	0,025
7	0,158	0,192	0,183	0,178	0,018
14	0,244	0,201	0,110	0,185	0,068
34	0,177	0,254	0,189	0,207	0,041

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Xilenos – Controle (mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,106	0,086	0,104	0,099	0,011
7	0,068	0,083	0,079	0,077	0,008
14	0,110	0,091	0,050	0,083	0,031
34	0,076	0,110	0,081	0,089	0,018

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Benzeno + Biodiesel Soja (mg L ⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	2,293	2,937	3,031	2,754	0,402
7	1,332	1,922	2,092	1,782	0,399
14	1,708	1,766	1,493	1,656	0,144
25	1,325	1,940	1,601	1,622	0,308
34	1,617	n.a.	1,397	1,507	0,877

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Tolueno + Biodiesel Soja (mg L ⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,611	0,805	0,938	0,785	0,164
7	0,288	0,475	0,517	0,427	0,122
14	0,422	0,381	0,358	0,387	0,032
25	0,034	0,145	0,325	0,168	0,147
34	0,000	n.d.	0,000	0,000	0,000

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Etilbenzeno + Biodiesel Soja (mg L ⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,169	0,221	0,342	0,244	0,089
7	0,123	0,165	0,203	0,164	0,040
14	0,154	0,140	0,141	0,145	0,008
25	0,088	0,171	0,155	0,138	0,044
34	0,102	0,000	0,084	0,093	0,013

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Xilenos + Biodiesel Soja (mg L ⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,080	0,102	0,161	0,114	0,042
7	0,071	0,085	0,113	0,090	0,021
14	0,082	0,075	0,081	0,079	0,004
25	0,045	0,090	0,077	0,071	0,023
34	0,049	0,000	0,043	0,046	0,027

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Benzeno + Biodiesel Soja – Controle					
(mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	2,437	2,504	2,617	2,520	0,091
7	2,592	2,476	2,405	2,491	0,094
14	2,490	2,486	2,531	2,502	0,025
34	2,362	2,564	2,288	2,404	0,143

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Tolueno + Biodiesel Soja – Controle					
(mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,761	0,737	0,767	0,755	0,016
7	0,832	0,714	0,641	0,729	0,097
14	0,799	0,769	0,802	0,790	0,018
34	0,742	0,907	0,718	0,789	0,103

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Etilbenzeno + Biodiesel Soja – Controle					
(mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,313	0,267	0,244	0,275	0,035
7	0,370	0,253	0,173	0,265	0,099
14	0,353	0,315	0,344	0,338	0,020
34	0,306	0,459	0,294	0,353	0,092

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Xilenos + Biodiesel Soja – Controle					
(mg L⁻¹)					
Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
0	0,144	0,124	0,110	0,126	0,017
7	0,166	0,112	0,076	0,118	0,045
14	0,161	0,145	0,159	0,155	0,009
34	0,134	0,202	0,128	0,155	0,041

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Biodiesel de Soja					
(mg L⁻¹)					
Dias	Substrato	Amostra 1	Amostra 2	Média	Desvio Padrão
0	Palmitato	4,240	3,988	4,114	0,178
	Estereato	0,454	0,427	0,440	0,020
	Oleato	10,026	9,417	9,722	0,431
	Linoleato	15,455	14,523	14,989	0,659
	Linolenato	4,983	4,685	4,834	0,211
7	Palmitato	1,846	2,388	2,117	0,384
	Estereato	0,200	0,264	0,232	0,046
	Oleato	4,357	5,633	4,995	0,903
	Linoleato	5,406	6,898	6,152	1,055
	Linolenato	1,349	1,836	1,593	0,344
20	Palmitato	2,632	1,956	2,294	0,478
	Estereato	0,985	0,730	0,857	0,180
	Oleato	5,360	4,533	4,947	0,585
	Linoleato	1,346	5,072	3,209	2,635
	Linolenato	1,238	n.d.	1,238	n.a.
27	Palmitato	0,942	1,044	0,993	0,072
	Estereato	0,369	0,405	0,387	0,026
	Oleato	2,350	2,408	2,379	0,041
	Linoleato	3,293	1,845	2,569	1,024
	Linolenato	1,003	0,359	0,681	0,456
33	Palmitato	0,954	0,919	0,936	0,025
	Estereato	0,388	0,361	0,374	0,019
	Oleato	2,228	2,248	2,238	0,014
	Linoleato	2,600	2,731	2,666	0,093
	Linolenato	0,549	0,420	0,484	0,091
41	Palmitato	0,722	0,850	0,786	0,090
	Estereato	0,292	0,362	0,327	0,049
	Oleato	2,302	2,280	2,291	0,015
	Linoleato	1,673	3,122	2,397	1,025
	Linolenato	0,372	0,895	0,634	0,370

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Biodiesel de Soja – Controle (mg L⁻¹)					
Dias	Substrato	Amostra 1	Amostra 2	Média	Desvio Padrão
0	Palmitato	2,480	3,474	2,977	0,703
	Estereato	0,266	0,372	0,319	0,075
	Oleato	5,849	8,208	7,028	1,668
	Linoleato	8,865	12,477	10,671	2,554
	Linolenato	2,849	4,010	3,430	0,821
7	Palmitato	2,481	2,373	2,427	0,077
	Estereato	0,267	0,255	0,261	0,009
	Oleato	5,847	5,590	5,718	0,249
	Linoleato	8,826	8,474	8,650	0,249
	Linolenato	2,809	2,718	2,763	0,064
27	Palmitato	2,656	2,313	2,485	0,243
	Estereato	0,977	0,850	0,914	0,090
	Oleato	6,240	5,438	5,839	0,568
	Linoleato	9,196	8,096	8,646	0,777
	Linolenato	2,893	2,587	2,740	0,216
41	Palmitato	2,497	1,675	2,086	0,581
	Estereato	0,915	0,618	0,767	0,210
	Oleato	5,737	3,893	4,815	1,304
	Linoleato	6,739	5,007	5,873	1,225
	Linolenato	1,673	1,416	1,545	0,182

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Biodiesel de Mamona (mg L⁻¹)					
Dias	Substrato	Amostra 1	Amostra 2	Média	Desvio Padrão
0	Palmitato	0,974	0,824	0,899	0,106
	Estereato	0,604	0,485	0,544	0,084
	Oleato	2,557	2,160	2,358	0,281
	Linoleato	4,696	3,977	4,337	0,508
	Linolenato	0,454	0,380	0,417	0,052
	Ricinoleato	31,612	26,734	29,173	3,450
7	Palmitato	0,856	0,856	0,856	0,000
	Estereato	0,539	0,567	0,553	0,020
	Oleato	4,357	5,633	4,995	0,903
	Linoleato	4,153	4,286	4,219	0,094
	Linolenato	0,403	0,451	0,427	0,034
	Ricinoleato	27,872	28,235	28,054	0,256
22	Palmitato	0,786	0,747	0,767	0,028
	Estereato	0,512	0,476	0,494	0,025
	Oleato	2,154	2,114	2,134	0,028
	Linoleato	3,911	3,741	3,826	0,120
	Linolenato	0,398	0,383	0,391	0,011
	Ricinoleato	25,094	25,435	25,265	0,241
35	Palmitato	0,832	0,712	0,772	0,085
	Estereato	0,540	0,465	0,503	0,053
	Oleato	2,270	1,959	2,115	0,220
	Linoleato	4,110	3,547	3,828	0,398
	Linolenato	0,417	0,364	0,391	0,038
	Ricinoleato	26,621	23,762	25,191	2,022
62	Palmitato	0,584	0,650	0,617	0,047
	Estereato	0,410	0,460	0,435	0,035
	Oleato	1,717	1,916	1,817	0,141
	Linoleato	2,990	3,382	3,186	0,277
	Linolenato	0,309	0,351	0,330	0,030
	Ricinoleato	19,469	22,427	20,948	2,092
92	Palmitato	0,628	0,408	0,518	0,156
	Estereato	0,465	0,313	0,389	0,107
	Oleato	1,932	1,237	1,585	0,491
	Linoleato	3,224	2,106	2,665	0,791
	Linolenato	0,317	0,204	0,261	0,080
	Ricinoleato	19,743	12,912	16,328	4,830

Biodiesel de Mamona - Controle					
(mg L⁻¹)					
Dias	Substrato	Amostra 1	Amostra 2	Média	Desvio Padrão
0	Palmitato	0,632	0,621	0,626	0,008
	Estereato	0,392	0,384	0,388	0,006
	Oleato	1,652	1,620	1,636	0,023
	Linoleato	2,966	2,941	2,953	0,018
	Linolenato	0,275	0,298	0,286	0,016
	Ricinoleato	19,757	19,743	19,750	0,010
7	Palmitato	0,900	0,969	0,934	0,049
	Estereato	0,560	0,617	0,589	0,041
	Oleato	2,367	2,612	2,490	0,351
	Linoleato	4,245	4,741	4,493	0,351
	Linolenato	0,459	0,463	0,461	0,003
	Ricinoleato	27,948	32,090	30,019	2,930
35	Palmitato	0,914	0,937	0,926	0,017
	Estereato	0,565	0,576	0,570	0,008
	Oleato	2,365	2,417	2,391	0,037
	Linoleato	4,298	4,403	4,350	0,074
	Linolenato	0,429	0,444	0,437	0,011
	Ricinoleato	26,039	26,851	26,445	0,574
92	Palmitato	0,950	0,964	0,957	0,010
	Estereato	0,605	0,603	0,604	0,001
	Oleato	2,466	2,455	2,461	0,008
	Linoleato	4,304	4,298	4,301	0,004
	Linolenato	0,416	0,424	0,420	0,006
	Ricinoleato	19,203	21,169	20,186	1,390

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

BTEX						
	Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
Nitrato (mg L ⁻¹)	0	1,186	1,083	1,144	1,138	0,052
	7	n.d.	0,427	0,363	0,395	0,045
	14	n.a.	n.d.	0,173	0,173	n.a.
	25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	34	0,253	0,021	0,344	0,206	0,167
Sulfato (mg L ⁻¹)	0	2,562	2,654	2,590	2,602	0,047
	7	n.d.	2,892	2,964	2,928	0,051
	14	3,365	2,990	3,234	0,173	3,196
	25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	34	2,814	2,784	2,878	0,048	2,825
pH	0	3,47	4,27	5,01	4,25	0,77
	7	3,60	3,57	3,42	3,53	0,10
	14	4,58	4,53	5,50	4,87	0,55
	25	4,82	4,46	4,16	4,48	0,33
	34	4,92	4,04	3,77	4,24	0,60

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

BTEX + Biodiesel de Soja						
	Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
Nitrato (mg L ⁻¹)	0	1,252	1,009	1,195	1,152	0,127
	7	n.d.	0,075	n.d.	0,025	n.a.
	14	n.d.	n.d.	0,076	0,025	n.a.
	25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	34	0,086	n.d.	n.d.	0,029	n.a.
Sulfato (mg L ⁻¹)	0	2,343	2,448	2,561	2,451	0,109
	7	2,970	2,897	2,942	2,936	0,037
	14	3,253	3,191	2,972	3,139	0,147
	25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	34	2,387	2,909	2,235	2,511	0,354
pH	0	3,92	3,86	3,37	3,72	0,30
	7	3,57	3,41	3,51	3,50	0,08
	14	4,31	3,90	3,63	3,95	0,34
	25	4,73	4,50	3,89	4,37	0,43
	34	4,92	4,30	4,98	4,73	0,38

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Controle (BTEX + Biodiesel de Soja)						
	Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão
Nitrato (mg L⁻¹)	0	1,123	1,349	2,305	1,592	0,627
	7	2,136	1,954	2,523	2,204	0,291
	14	0,840	0,863	0,887	0,863	0,024
	34	2,686	2,031	2,152	2,290	0,349
Sulfato (mg L⁻¹)	0	2,6541	2,6644	2,7230	2,6805	0,037
	7	2,4520	2,4167	2,3146	2,3944	0,071
	14	2,5992	2,9739	2,4272	2,6668	0,280
	34	2,4161	2,0491	2,2570	2,2407	0,184
pH	0	2,97	2,97	2,94	2,96	0,02
	7	3,62	3,43	3,40	3,48	0,12
	14	3,42	3,12	3,05	3,20	0,20
	34	3,43	3,20	3,27	3,30	0,12

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Biodiesel de Soja					
	Dias	Amostra 1	Amostra 2	Média	Desvio Padrão
Nitrato (mg L⁻¹)	0	1,502	1,422	1,462	0,056
	7	0,027	0,013	0,020	0,010
	20	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
	27	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	34	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
Sulfato (mg L⁻¹)	0	2,312	2,320	2,316	0,005
	7	2,680	2,685	2,683	0,003
	20	2,881	2,879	2,880	0,001
	27	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	34	2,837	2,863	2,850	0,018

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

pH – Biodiesel de Soja		
Dias	Amostra	Controle
0	3,34	3,21
7	3,58	3,81
20	4,91	---
27	n.a.	---
34	3,65	2,93
42	n.a.	n.a.

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Biodiesel de Mamona					
	Dias	Amostra 1	Amostra 2	Média	Desvio Padrão
Nitrato (mg L⁻¹)	0	2,448	2,576	2,512	0,090
	6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	22	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.
	35	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.
	62	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	92	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Sulfato (mg L⁻¹)	0	3,335	2,774	3,054	0,397
	6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	22	3,103	3,339	3,221	0,167
	35	0,038	0,034	0,036	0,003
	62	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	92	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

pH – Biodiesel de Mamona		
Dias	Amostra	Controle
0	3,83	3,49
6	3,26	---
22	4,24	3,88
35	4,05	3,27
62	n.a.	---
92	4,93	4,12

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado.

Controle Biodiesel					
	Dias	Amostra 1	Amostra 2	Média	Desvio Padrão
Nitrato (mg L⁻¹)	0	2,256	2,272	2,264	0,011
	7	1,858	1,852	1,855	0,004
	34	2,018	2,568	2,293	0,389
Sulfato (mg L⁻¹)	0	2,459	2,492	2,476	0,023
	7	2,339	2,362	2,350	0,017
	34	2,127	2,031	2,079	0,068

(n.d.) Não detectado, abaixo do limite mínimo de detecção; (n.a.) Não avaliado

ANEXO



ESTADO DE SANTA CATARINA
SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E POLÍTICA RURAL
COMPANHIA INTEGRADA DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA

RELATÓRIO DE ENSAIO

INTERESSADO	Remas / UFSC		
REMETENTE	FEESC - Fundação de Ensino e Engenharia de Santa Catarina		
ENDEREÇO	Campus Universitário - CTC - UFSC		
MUNICÍPIO	Florianópolis	UF	SC
MATERIAL	Solo		
DATA ENTRADA	25/9/2007	DATA SAÍDA	9/10/2007

N ° LABORATÓRIO	889	X	X	X
CÓDIGO DA AMOSTRA	Area 2	X	X	X
ANALISE FERTILIDADE	7519	X	X	X

ENSAIOS		RESULTADOS			UNIDADES
Carbono Orgânico	0,35	X	X	X	%
Ferro	0,05	X	X	X	%
Enxofre	0,15	X	X	X	%
Zinco	1,32	X	X	X	ppm
Manganês	5,40	X	X	X	ppm
Boro	X	X	X	X	ppm
Cobre	0,20	X	X	X	ppm

A amostra foi coletada pelo interessado.


Clóvis Goulart De Bem
Químico - CRQ 131.00011

Rodovia Admar Gonzaga, 1588 - Cx. Postal 256 - Bairro Itacorubi - Florianópolis - SC - CEP 88.034-000
Fones: (0XX48) 3239.6504 - Fax: (0XX48) 3239.6642
gelab@cidasc.sc.gov.br - www.cidasc.sc.gov.br

Responsável Técnico - Químico Clóvis Goulart de Bem - CRQ 131.00011



GOVERNO DO ESTADO DE SANTA CATARINA
SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DESENVOLVIMENTO RURAL
COMPANHIA INTEGRADA DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA
Laboratório Físico Químico e Biológico



LAUDO DE ANÁLISE

SOLO


Nº 4393/ 2007

Interessado.....: REMAS/UFSC
Município interessado: FLORIANOPOLIS
Remetente.....: FEESC - FUNDAÇÃO DE ENSINO E ENGENHARIA DE SANTA CATARINA
Localidade.....: FAZENDA EXPERIMENTAL
Município remetente..: FLORIANOPOLIS
Endereço remetente ..: CAMPOS UNIVERSITARIO- CTC-UFSC/ EM MÃOS A/C MARILDA OU ANA P
Material.....: Solos
Recebimento.....: 25/09/07

Determinação	7519/01								Unidade
	Res	Ref	Res	Ref	Res	Ref	Res	Ref	
Textura	21.00	Classe 3							% Argila
pH	4.70	Muito baixo							
Índice SMP	6.00								
Fósforo	4.80	Baixo							ppm
Potássio	18.00								ppm
Mat.Orgânica	0.60	Baixo							%(m/v)
Alumínio	1.30								cmolc/l
Cálcio	0.40	Baixo							cmolc/l
Magnésio	0.20	Baixo							cmolc/l
Sódio	32.00								ppm
H + Al	4.36								cmolc/l
Soma Bases-S	0.79	Baixa							cmolc/l
CTC	5.15								cmolc/l
Saturação Bases-V	15.34	Muito Baixa							%

Obs: Interpretação conforme recomendações de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, SBCS - Núcleo Regional Sul / EMBRAPA-CNPT, 2004.
Para as determinações pH, CaCl₂, S, CTC, V, cfc. Boletim Técnico n. 31 - Emater/Paraná.

FLORIANOPOLIS, 11 de outubro de 2007


Clovis Goulart de Bem
Responsável pela análise
CRQ-13-13100011

Laboratório Físico Químico e Biológico
Rodovia SC 404, Km3- Itacorubi - CEP 88.034 - 901 - Fone: (48) 2396504 - Fax: (48) 2396642
88000-000 - FLORIANOPOLIS - SC
CNPJ: 83.807.586/0001-28 - Inscr Estadual: 250.709.694 - gelab@cidasc.sc.gov.br