

Franciele Fedrizzi

**OXIDAÇÃO QUÍMICA PARCIAL
(COM PERÓXIDO DE MAGNÉSIO E ÓXIDO DE FERRO)
ASSOCIADA À BIODEGRADAÇÃO PARA REMOÇÃO
ACELERADA DE LNAPLs EM SISTEMAS SUBSUPERFICIAIS
CONTAMINADOS COM BIODIESEL (B100)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia Ambiental.
Orientador: Prof. Dr. Henry Xavier Corseuil
Coorientador: Prof. Dr. Timothy M. Vogel

Florianópolis/SC
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Fedrizzi, Franciele

Oxidação Química Parcial (com peróxido de magnésio e óxido de ferro) Associada à Biodegradação para Remoção Acelerada de LNAPLs em Sistemas Subsuperficiais Contaminados com Biodiesel (B100) / Franciele Fedrizzi ; orientador, Henry Xavier Corseuil ; coorientador, Timothy M. Vogel. - Florianópolis, SC, 2016.
195 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

Inclui referências

1. Engenharia Ambiental. 2. Remediação de solos e águas subterrâneas. 3. Oxidação química in situ. 4. Biodegradação. 5. Biodiesel. I. Xavier Corseuil, Henry . II. M. Vogel, Timothy. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. IV. Título.



TERMO DE APROVAÇÃO

“Oxidação Química Parcial (com Peróxido de Magnésio e Óxidos de Ferro) Associada à Biodegradação para Remoção Acelerada de LNAPLs em Sistemas Subsuperficiais Contaminados com Biodiesel (B100)”

Franciele Fedrizzi

A Tese foi julgada e aprovada pela banca examinadora no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

DOCTOR(A) EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Aprovado por:


Prof. Henry Xavier Corseuil, Dr.
(Orientador)


Timothy M. Vogel, Dr.
(Coorientador)


Prof. Armando Borges de Castilhos Jr., Dr.


Prof. Rejane Helena R. da Costa, Dr.


Prof. Camilla Costa de Amorim, Dr.


Prof. Fatima Menezes Bento, Dr.


Prof. Regina de Fatima P. S. Moreira, Dr.


Prof. William Gerson Mattias, Dr.
(Coordenador)

Dedico esta tese à meus pais,
Valdemar e Roseli, que com muito
amor e compreensão, me
incentivaram.

AGRADECIMENTOS

Este documento é resultado de um período de muitas conquistas, transformações (tanto pessoais como profissionais) e principalmente, muita dedicação. Por isso agradeço a todos que participaram deste processo e em especial:

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA).

À Petrobras pelo financiamento da pesquisa e ao CNPq pela concessão das bolsas de pesquisa, tanto no Brasil como no exterior.

Ao professor Henry pela orientação e ensinamentos que resultaram na minha evolução profissional. Em especial agradeço pelo auxílio na resolução da etapa final e demais burocracias que antecederam a defesa. Assim como, pela oportunidade de trabalhar junto ao grupo de pesquisa REMA.

Ao professor Tim pela atenção e orientação, durante todo o período do doutorado no *Environmental Microbial Genomics Group* (Lyon). Pela compreensão e paciência em muitos momentos, mas principalmente pelos questionamentos e ensinamentos que me motivaram.

À Débora pela “paciência”, apoio, ensinamentos e dedicação, principalmente na etapa de finalização da tese e escrita do artigo. Obrigada por encarar comigo uma batalha que aos olhos de muitos parecia impossível, por me encorajar, por me ensinar e por fazer muito mais do que eu cabia! Pelas inúmeras vezes que você me acompanhou em jornadas mais do que exaustivas na UFSC, pelas tentativas de me fazer entender coisas sobre a biologia molecular e até por “tirar meu sangue” nos ajustes finais da apresentação. Por fim, preciso agradecer pelas brigas, que de alguma forma (inexplicável) deixaram algo positivo.

Aos alunos que trabalharam comigo na pesquisa, Júlia, Natália, Lívia, Agnes e Leonardo. Muito obrigada por todo esforço e dedicação no desenvolvimento das atividades, vocês foram essenciais nas diferentes etapas em que cada um esteve envolvido. Pra além das questões profissionais, obrigada pela amizade e apoio.

Ao grupo REMA pelo suporte e colaboração durante todo o período de doutoramento. Mesmo que sejam muitos, gostaria de deixar meu

agradecimento à Marilda, Franciane, Dayana, Luana, Marcelo, Sara, Leonardo Horn, Júlia Dotto, Ana Luiza, Mariana, Júlia Barcelos, Renata, Renaly, Natália Rosa, Victor Fachine, Natália Silvério, Lenise, Carol, Lívia, Renan, Luisa, Vinícius, Agnes, Rubia, Ana Liedke, Helen, Bruna, Renatinha, Karina, Cristina, Camila, Gabriel, Pri Kern, Victor Curtarelli, José, Leonardo Steiner, Débora e Juliana.

Ao Guilherme de Toledo pelo auxílio com a bioinformática. Suas explicações foram de uma nitidez incrível, muito obrigada pela dedicação e ensinamentos.

Aos membros do *Environmental Microbial Genomics Group*, Sébastien Cecillon, Sandrine, Laure, Alexiane, Christoph, Jean-Sébastien, Agathe, David, Lorrie e Laura, agradeço pelos ensinamentos e suporte no desenvolvimento das atividades de laboratório. À Catherine pela atenção, ensinamentos e compreensão. À Edith pelo carinho desde o primeiro dia no *Laboratoire Ampère*, atenção e suporte na resolução dos problemas. E, em especial agradeço à Thibaut, Sébastien David, Elisa e Khwan pela amizade e apoio durante o período em Lyon.

Aos amigos que estiveram comigo em Lyon, Nai, Livinha, Ju, Deizi, Rayssa, Danilo e Manu, agradeço muito pela parceria nos bons momentos e nos dias de perrengue, todos regados por um (ou vários) *pint*! Em especial, minha imensa gratidão às amigas Nai e Livinha, pela ajuda na comunicação com os franceses! Ju, eu poderia escrever um texto de agradecimento à você e ainda assim não conseguiria traduzir o quão importante foi a sua presença pra mim, muito obrigada de coração!

Aos amigos que moram longe e nunca deixaram de me incentivar, Debi, Geimba, Mari Luchese, Gabi, Mene, Chanoa, Dé Dillon, Bá Peruzzo e Marina.

Aos amigos, Luan, Mari Sanches e Paula, que alegraram muitos momentos e me apoiaram em outros tantos, obrigada pela amizade e parceria. Luan, meu querido amigo, te agradeço especialmente pelo carinho e companheirismo desde o dia que nos conhecemos.

Ao pessoal do futebol, que me ajudou a esquecer dos problemas em muitos momentos: Lais, Jéssica, Nessa, Nat, Mel, Carol, Sa, Fer, Ana Marques, Djéssika, Mari Guedes, Daiane, Ju, Isa, Boratti, Rodolfo, Japa e Johnny. Em especial às amigas que fiz nesse último ano, Nessa, Nat,

Lais e Jéssica, pelos momentos de descontração, parceria no futebol, na bike e nos bares da vida.

Aos “jovens” que me acompanham na pesquisa e na vida há bastante tempo, Beda, Ju, Cássio, Tiago Vitor, Gui, Edi, Pilar, Isa, Lo, Wander, Hugo, Jôrges, Ka, Deise, Jamile, Cris, Fer, Carol, Elissa, Adri e Valdo. Obrigada pela parceria que nunca falhou, foi muito bom tê-los por perto em todas as situações possíveis e imagináveis que vivemos juntos longos desses anos.

Ao Cássio, meu amigo e companheiro! Te agradeço pelo apoio e preocupação, idas filosóficas ao mercado/feira e conversas intermináveis. Os momentos que dividimos com certeza nos tornaram pessoas melhores!

Aos meus *grandes* amigos, Gui e Edi, pela amizade e compreensão, por me escutarem e aconselharem (mesmo sem querer...quando a ajuda pra colocar um quadro na parede vira um papo super sério!). Também preciso agradecer pelos cafés, cervejas e charutos que animaram todo período do doutorado.

Às minhas irmãs de coração, Beda e Ju, muito obrigada por TUDO. Foram muitos os desafios e as mudanças durante esses 5 anos, vocês foram essenciais em todos eles, desde o trabalho no laboratório até o momento mais “complexo” da minha vida pessoal. Eu aprendi muito com vocês durante esses anos! Obrigada por ajudarem a acalmar minha ansiedade (especialmente nesses últimos meses) e pela amizade que temos, que no final das contas sabemos que não é algo fácil de se construir (na alegria e na tristeza)!!

À minha irmã Gabi, pela amizade, preocupação e companheirismo mesmo distante. Ao Guto, pelos conselhos e carinho de sempre. Aos meus manos, muito obrigada por alegrarem os dias cinzas (e os coloridos também), por ajudarem a começar 2016 com o pé direito e pela paciência!!

Aos meus pais, Valdemar e Roseli, pelo incentivo e motivação desde sempre. Obrigada por respeitarem as minhas escolhas, por não me deixarem desistir e por me apoiarem incondicionalmente. Com certeza as lições mais importantes foram vocês que ensinaram.

*“Learn from yesterday, live for today,
hope for tomorrow. The important thing is
not to stop questioning.”*

Albert Einstein

RESUMO

Experimentos de laboratório e de campo foram conduzidos para avaliar o potencial de uma abordagem modificada da oxidação química *in situ* (ISCO – do inglês: *in situ chemical oxidation*), pela utilização de MgO_2 e partículas de Fe_2O_3 recuperadas do tratamento da drenagem ácida de mina (DAM), em acelerar a dissolução de compostos que comportam-se como LNAPLs (do inglês: *light non-aqueous phase liquids*), produzindo subprodutos que são mais solúveis e biodisponíveis, e que podem ser subsequentemente removidos por processos de biodegradação. O biodiesel de palma (B100) foi selecionado para representar um composto de baixa solubilidade em água e 100 L foram liberados em uma área de 2 m², escavada até o topo do lençol freático, a 1,8 m da superfície. Um experimento de campo previamente conduzido com 100 L de biodiesel de soja e em condições de atenuação natural monitorada, foi utilizado como controle comparativo. Os resultados indicaram um aumento na dissolução dos compostos do biodiesel, assim como, rápida e intensificada produção de subprodutos solúveis (e biodegradáveis), que foi atribuída à oxidação química parcial decorrente da abordagem modificada da ISCO ($MgO_2 + Fe_2O_3$ DAM). A lenta liberação de H_2O_2 pela decomposição do MgO_2 (referenciada neste estudo como oxidação química parcial) e produção de compostos solúveis, estimulou o crescimento bacteriano (de 10^6 para 10^{14} gene cópias.g⁻¹) e de comunidades de micro-organismos especificamente envolvidos na biodegradação dos compostos do biodiesel. As condições geoquímicas do aquífero tornaram-se anaeróbias em menos de quatro meses da liberação do B100, como evidenciado pela diminuição nos valores do potencial de oxirredução (de 259 para -137 mV) e concentração de oxigênio dissolvido (de 2,2 para 0,5 mg.L⁻¹), produção de metano (de 0,005 para 4,9 mg L⁻¹) e predominância de comunidades de micro-organismos anaeróbios (composta principalmente por *Geobacter spp.* e *Desulfosporosinus spp.*). De modo geral, os resultados demonstraram que a oxidação química parcial associada à biodegradação, pode ser uma estratégia viável para a remoção de compostos pouco solúveis (ex.: biodiesel), que comportam-se como LNAPLs em sistemas subsuperficiais, evitando assim os efeitos à longo prazo tipicamente observados para estes contaminantes na zona da fonte.

Palavras chave: Oxidação química parcial; Biodegradação; MgO_2 ; Fe_2O_3 DAM; H_2O_2 ; Biodiesel de Palma; LNAPL.

ABSTRACT

Batch and field experiments were conducted to assess whether a modified approach for *in situ* chemical oxidation (ISCO), with MgO_2 and Fe_2O_3 particles recovered from acid mine drainage treatment (AMD), can enhance LNAPLs (light non-aqueous phase liquids) dissolution and produce bioavailable soluble compounds. This modified ISCO approach was coupled to biodegradation to further remove residual compounds by microbial-mediated processes. Palm biodiesel (B100) was chosen to represent a poorly water-soluble compound and 100 L were released to a 2 m² area excavated down to the water table and 1.8 m below ground surface. A past adjacent B100-field experiment under natural attenuation was conducted as a baseline control. Results demonstrated the enhancement of biodiesel compound dissolution, as well as, faster and intensified production of soluble (and biodegradable) by-products due to the partial chemical oxidation of the modified ISCO approach ($\text{MgO}_2 + \text{Fe}_2\text{O}_3$ AMD). The slow release of H_2O_2 by MgO_2 decomposition (referred as partial chemical oxidation) and production of soluble compounds allowed the stimulation of bacterial growth (from 10^6 to 10^{14} gene copies.g⁻¹) and promoted a beneficial response in microbial communities involved in oxidized biodiesel compound biodegradation. Geochemical conditions of the aquifer shifted towards anaerobic at least four months of B100 release onwards as evidenced by the decrease in redox potential values (from 259 to -137 mV), dissolved oxygen concentrations (from 2.2 to 0.5 mg.L⁻¹), methane production (from 0.005 to 4.9 mg L⁻¹) and predominance of anaerobic microbial communities (mainly composed by *Geobacter* spp. and *Desulfosporosinus* spp.). Overall, the results demonstrated that the partial chemical oxidation coupled to biodegradation could be a feasible strategy for the removal of poorly water-soluble compounds (e.g.: biodiesel) that behave as LNAPLs in subsurface systems and avoid the long-term effects generally posed in source-zones.

Keywords: Partial chemical oxidation; Biodegradation; MgO_2 ; Fe_2O_3 AMD; H_2O_2 ; Palm Biodiesel; LNAPL.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Resultados caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do Fe_2O_3 DAM.	43
Figura 2. Biodegradação anaeróbica de compostos orgânicos.	48
Figura 3. Reação de transesterificação de triglicerídeos com álcool.	51
Figura 4. Cromatogramas típicos para o biodiesel de palma (A) e para o biodiesel de soja (B).	52
Figura 5. Reações de oxidação do biodiesel.	58
Figura 6. Degradação dos AGCL via β -oxidação. As enzimas que catalisam cada etapa da reação são: FACS (acil-CoA sintase), AD (acil-CoA desidrogenase), EH (enoi-Coa hidratase), HD (L-3 desidrogenase hidroxiaçil), KT (3-cetoacil-CoA tiolase).	60
Figura 7. Fluxograma representativo dos experimentos realizados em laboratório.	63
Figura 8. Imagem dos microcosmos – teste com óleo de palma.	64
Figura 9. Imagem dos microcosmos – teste com óleo de soja.	65
Figura 10. Imagem dos reatores montados.	67
Figura 11. Localização da Fazenda Experimental da Ressacada num contexto regional.	70
Figura 12. Visualização da área experimental com detalhamento de um poço de monitoramento e identificação da profundidade de cada nível que o compõem. Os níveis 2, 3, 4, 5 e 6 m correspondem às cores amarelo, azul, verde, vermelho e preto, respectivamente.	71
Figura 13. Área experimental com a distâncias entre os poços e os diferentes níveis de monitoramento (A); Corte transversal a – a’ mostrando a profundidade dos níveis de monitoramento que compõem um poço (B).	72
Figura 14. Estabelecimento da fonte de contaminação e detalhamento de suas dimensões (A); Cobertura da área escavada com o solo original e fechamento da fonte de contaminação (B).	73
Figura 15. Lançamento do brometo de potássio (A); Liberação do biodiesel de palma (B), do MgO_2 (C) e do Fe_2O_3 recuperados da DAM (D).	74

Figura 16. Localização da área experimental (em vermelho) e dos piezômetros do seu entorno (em verde).	75
Figura 17. Pontos de coleta de cada amostragem. 1° Amostragem (A); 2° Amostragem (B); 3° Amostragem (C); 4° Amostragem (D); 5° Amostragem.	82
Figura 18. Localização das prospecções nos experimentos OQP-B e ANM.	89
Figura 19. Produção de H ₂ O ₂ a partir da decomposição de MgO ₂ obtida em experimentos de laboratório após incubação de 11 e 17 dias (os dados representam análises realizadas em duplicata).	92
Figura 20. Demanda química de oxigênio (DQO) obtida em experimentos de laboratório após incubação de 11 e 17 dias (os dados representam análises realizadas em duplicata).	93
Figura 21. Cromatogramas CG do óleo de palma em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água e óleo de palma após 11 dias (A). Água e óleo de palma após 17 dias (B).	95
Figura 22. Cromatogramas CG do óleo de palma em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água, óleo de palma, MgO ₂ e Fe ₂ O ₃ após 11 dias (C). Água, óleo de palma, MgO ₂ e Fe ₂ O ₃ após 17 dias (D).	96
Figura 23. Cromatogramas CG do óleo de soja em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água e óleo de soja após 11 dias (A). Água e óleo de soja após 17 dias (B).	97
Figura 24. Cromatogramas CG do óleo de soja em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água, óleo de soja, MgO ₂ e Fe ₂ O ₃ após 11 dias (C). Água, óleo de soja, MgO ₂ e Fe ₂ O ₃ após 17 dias (D).	98
Figura 25. Produção de gás medida em reatores experimentais durante o monitoramento de 30 dias.	100
Figura 26. pH medido em experimentos de laboratório após 6 meses de incubação.	102
Figura 27. Concentração de bactérias totais registrada para os experimentos de laboratório após 6 meses de incubação.	103
Figura 28. Abundância relativa (%) das comunidades microbianas obtidas pelo sequenciamento do gene 16S rRNA das amostras após 6 meses.	105
Figura 29. Mapa potenciométrico.	106

Figura 30. Perfil estratigráfico da área experimental.	107
Figura 31. Variações do oxigênio dissolvido e do peróxido de hidrogênio ao longo do período experimental.....	114
Figura 32. Variações da alcalinidade ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).....	115
Figura 33. Variações do magnésio (Mg^{2+}) ao longo do período experimental.....	116
Figura 34. Variações do pH e temperatura ao longo do período experimental.....	117
Figura 35. Corte transversal no sentido dos pontos de maior concentração para o experimento OQP-B.....	118
Figura 36. Corte transversal no sentido dos pontos de maior concentração para o experimento ANM.....	119
Figura 37. Pluma de acetato no corte transversal para o experimento OQP-B ao longo do período experimental.....	120
Figura 38. Pluma de acetato no corte transversal para o experimento ANM ao longo do período experimental.....	121
Figura 39. Pluma de ácido propiônico no corte transversal para o experimento OQP-B ao longo do período experimental.....	122
Figura 40. Pluma de ácido propiônico no corte transversal para o experimento ANM ao longo do período experimental.....	123
Figura 41. Pluma de metano no corte transversal para o experimento OQP-B ao longo do período experimental.....	124
Figura 42. Pluma de metano no corte transversal para o experimento ANM ao longo do período experimental.....	125
Figura 43. Variações dos ácidos orgânicos voláteis ao longo do período experimental.....	127
Figura 44. Variação da acidez ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).	128
Figura 45. Variação da concentração de bactérias totais ao longo do período experimental.....	129
Figura 46. Variações de metano, acetato e carbono orgânico dissolvido (COD) ao longo do período experimental.....	131

Figura 47. Variação do potencial de oxirredução ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).	132
Figura 48. Variações do nitrito e nitrato ao longo do período experimental.....	133
Figura 49. Variações do sulfeto e sulfato ao longo do período experimental.....	134
Figura 50. Variação do ferro ferroso (Fe^{2+}) ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).	134
Figura 51. Classificação taxonômica em nível de filo (abundância relativa $\geq 1\%$), ao longo do período experimental, para o PMF.	136
Figura 52. Classificação taxonômica em nível de filo (abundância relativa $\geq 1\%$), ao longo do período experimental, para o PM8.	137
Figura 53. Resultado do sequenciamento do gene 16S rRNA (abundância relativa $\geq 1\%$), ao longo do período experimental, para o PMF. Separação de acordo com a respiração (A) e classificação taxonômica em nível de gênero (B).	140
Figura 54. Resultado do sequenciamento do gene 16S rRNA (abundância relativa $\geq 1\%$), ao longo do período experimental, para o PM8. Separação de acordo com a respiração (A) e classificação taxonômica em nível de gênero (B).	141
Figura 55. Resultado do sequenciamento do gene 16S rRNA (abundância relativa $\geq 1\%$), classificação taxonômica em nível de gênero, ao longo do período experimental, para os poços PMF e PM31 do experimento ANM.	143
Figura 56. Concentração de carbono orgânico total (COT), acetato e metano, na zona da fonte dos experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros), após 99,2 (ANM) e 30,6 (OQP-B) meses do início de cada experimento.	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reação Fenton e as principais reações e radicais associados.	39
Tabela 2. Espécies reativas, respectivo potencial de oxidação e pH de atuação.	39
Tabela 3. Reações de decomposição do MgO_2 em água.	40
Tabela 4. Proposição do mecanismo de oxidação pela utilização de Fe_2O_3 DAM.	44
Tabela 5. Valores de referência para o crescimento de micro-organismos em água subterrânea.	46
Tabela 6. Potencial de rendimento de energia em diferentes processos de oxidação.	47
Tabela 7. Reações de biodegradação anaeróbia.	49
Tabela 8. Composição química do biodiesel puro de palma e de soja.	52
Tabela 9. Propriedades físico-químicas dos principais ésteres metílicos do biodiesel de palma e de soja.	53
Tabela 10. Propriedades físico-químicas do biodiesel (EMAGs) e do diesel.	53
Tabela 11. Micro-organismos associados à degradação dos AGCL.	61
Tabela 12. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas nos microcosmos – teste com óleo de palma.	64
Tabela 13. Parâmetros analisados após 11 e 17 dias de incubação dos microcosmos.	65
Tabela 14. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas nos microcosmos – teste com óleo de soja.	66
Tabela 15. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas nos reatores.	67
Tabela 16. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas no experimento.	68
Tabela 17. Descrição dos compostos utilizados no processo de oxidação química parcial.	69
Tabela 18. Parâmetros a serem analisados ao final do experimento.	69
Tabela 19. Descrição dos produtos e quantidades utilizadas para a instalação da fonte de contaminação.	73
Tabela 20. Parâmetros de análise da água subterrânea.	79

Tabela 21. Detalhamento dos pontos de coleta de amostras para a hidroquímica inicial.	80
Tabela 22. Detalhamento do período de realização das amostragens no experimento de campo.	81
Tabela 23. Sequencias dos iniciadores utilizados nas análises de qPCR e sequenciamento do gene 16S rRNA.	86
Tabela 24. Detalhamento dos parâmetros e metodologias utilizadas para a análise do solo dos experimentos OQP-B e ANM.	88
Tabela 25. Distribuição granulométrica das diferentes camadas de solo.	108
Tabela 26. Macronutrientes nas camadas do solo.	109
Tabela 27. Determinação dos micronutrientes nas camadas do solo. .	109
Tabela 28. Outros resultados relevantes nas camadas do solo.	109
Tabela 29. Caracterização hidroquímica inicial da água subterrânea. .	111
Tabela 30. Metabolismo e respiração de todos os gêneros de arqueas detectados nas amostras de água subterrânea dos experimentos de laboratório e de campo (OQP-B e ANM).	144
Tabela 31. Metabolismo e respiração de todos os gêneros de bactérias detectados nas amostras de água subterrânea dos experimentos de laboratório e de campo (OQP-B e ANM).	145

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGCL	Ácidos Graxos de Cadeia Longa
ANA	Agência Nacional de Águas
ANP	Agencia Nacional do Petróleo
ANM	Atenuação Natural Monitorada
APHA	<i>American Public Health Association</i> (associação americana de saúde pública)
B100	Biodiesel Puro
BTEX	Hidrocarbonetos Monoaromáticos: Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos
CIDASC	Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina
CG	Cromatografia à Gás
COT	Carbono Orgânico Total
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
DAM	Drenagem Ácida de Mina
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNAPL	<i>Dense Non-Aqueous Phase Liquid</i> (líquido denso de fase não aquosa)
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (ácido desoxirribonucléico)
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia Fotoeletrônica de Raios X
EMAG	Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos
Fe ₂ O ₃ DAM	Óxidos de Ferro Recuperados do Tratamento da Drenagem Ácida de Mina
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HTPs	Hidrocarbonetos Totais do Petróleo
ISCO	<i>In Situ Chemical Oxidation</i> (oxidação química <i>in situ</i>)
ITRC	<i>Interstate Technology Regulatory Council</i>
K _{ow}	Coefficiente de Partição Octanol/Água
K _{oc}	Coefficiente de Partição Carbono Orgânico/Água

LEMA	Laboratório de Energia e Meio Ambiente
LIMA	Laboratório Integrado de Meio Ambiente
LNAPL	<i>Light Non-Aqueous Phase Liquids</i> (líquido leve de fase não aquosa)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NAPL	<i>Non-Aqueous Phase Liquids</i> (líquido de fase não aquosa)
NBR	Norma Brasileira
NO	Noroeste
OD	Oxigênio Dissolvido
OQP	Oxidação Química Parcial
OQP-B	Oxidação Química Parcial Associada à Biodegradação
ORC	<i>Oxygen Release Compound</i> (composto de liberação de oxigênio)
POR	Potencial de Oxirredução
PCBs	Bifenilos Policlorados
PE	Poço Estratigráfico
pH	Potencial Hidrogeniônico
PM	Poço de Monitoramento
PZ	Piezômetro
REMA	Núcleo Ressacada de Pesquisas em Meio Ambiente
REPAR	Refinaria Presidente Getúlio Vargas
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (ácido ribonucléico)
RT-qPCR	<i>Real Time – Quantitative Polymerase Chain Reaction</i> (reação em cadeia da polimerase – quantitativo e em tempo real)
SE	Sudeste
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
US EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (agência de proteção ambiental dos Estados Unidos)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	JUSTIFICATIVA	31
3	HIPÓTESE	32
4	OBJETIVOS	33
4.1	Objetivo Geral	33
4.2	Objetivos Específicos	33
5	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	34
5.1	Oxidação Química <i>in situ</i> (ISCO)	35
5.1.1	Oxidantes.....	37
5.1.1.1	Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂).....	38
5.1.1.2	Peróxido de Magnésio (MgO ₂)	40
5.1.2	Catalisadores.....	42
5.2	Biodegradação	45
5.3	Biodiesel	49
5.3.1	Oxidação dos EMAGs.....	55
5.3.2	Biodegradação dos EMAGs	59
5.4	Combinação Entre Tecnologias	62
6	MATERIAIS E MÉTODOS	63
6.1	Experimento de Laboratório	63
6.1.1	1º Experimento: Sub-Hipóteses ‘A’, ‘B’ e ‘C’	64
6.1.2	2º Experimento: Sub-Hipótese ‘C’	66
6.1.3	3º Experimento: Sub-Hipóteses ‘D’ e ‘E’	68
6.2	Experimento de Campo (OQP-B)	70
6.2.1	Caracterização Hidrogeológica e Geoquímica da Área Experimental	74
6.2.1.1	Direção do Preferencial Fluxo da Água Subterrânea.....	75
6.2.1.2	Condutividade Hidráulica (K).....	76
6.2.1.3	Perfil Estratigráfico.....	76
6.2.1.4	Granulometria	77
6.2.1.5	Porosidade Efetiva (η_e)	77
6.2.1.6	Velocidade Intersticial (v)	78
6.2.1.7	Caracterização Geoquímica	78

6.2.2	Caracterização Físico-Química e de Biologia Molecular da Água Subterrânea da Área Experimental.....	78
6.2.2.1	Hidroquímica Inicial da Água Subterrânea	80
6.2.2.2	Monitoramento Experimental da Água Subterrânea	80
6.2.3	Caracterização do Solo da Área Experimental – Final do Período de Monitoramento	87
6.3	Experimento de Campo Controle (ANM).....	90
7	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	91
7.1	Experimento de Laboratório	91
7.2	Experimento de Campo.....	106
7.2.1	Condições Originais do Solo e da Água Subterrânea da Área Experimental.....	106
7.2.1.1	Caracterização Hidrogeológica e Geoquímica	106
7.2.1.2	Caracterização Físico-Química e de Biologia Molecular (hidroquímica inicial da água subterrânea).....	110
7.2.2	Alterações Geoquímicas da Água Subterrânea da Área Experimental – Após a Liberação do Biodiesel de Palma e Remediação por OQP-B	112
7.2.2.1	Oxidação Química Parcial Acelera a Dissolução dos Compostos do Biodiesel e Produz Subprodutos Solúveis.....	117
7.2.2.2	Oxidação Química Parcial Provoca Pouca ou Nenhuma Inibição à Atividade Microbiológica e Produz Subprodutos Biodisponíveis e Biodegradáveis.....	128
7.2.3	Remoção da Contaminação na Fase LNAPL – Alterações do Solo e da Água Subterrânea da Área Experimental	148
8	CONCLUSÕES.....	150
9	RECOMENDAÇÕES.....	152
	REFERÊNCIAS.....	153
	ANEXO I.....	187
	ANEXO II.....	195
	ANEXO III.....	196

1 INTRODUÇÃO

O abastecimento de água por fontes subterrâneas cresce constantemente em todo o mundo, nos Estados Unidos cerca de 90 milhões de habitantes são abastecidos por águas subterrâneas (US EPA, 2015) e no Brasil cerca de 3.751 municípios dependem de alguma forma de mananciais subterrâneos para o abastecimento (ANA, 2010). Diante deste cenário, a contaminação de solos e águas subterrâneas por compostos orgânicos é considerada problema mundial e é motivo de preocupação em função da gravidade dos impactos ambientais e dos riscos associados à saúde pública (BERTOLLA et al., 2014; LU et al., 2010; PARDO et al., 2015a), principalmente porque muitos contaminantes são pouco solúveis em água e comportam-se como LNAPLs (do inglês: *light non-aqueous phase liquids*), persistindo no sítio contaminado e representando uma ameaça de longo prazo ao ambiente. Esse tipo de contaminação pode resultar de derramamentos acidentais, vazamentos em tanques de armazenamento ou tubulações subterrâneas, transporte de combustíveis, exploração de petróleo e uma série de outras atividades antropogênicas (PARDO et al., 2015a; TANG et al., 2012; THOMÉ et al., 2015). No Brasil, a despeito da falta de pesquisas em nível nacional, sabe-se que no estado de São Paulo os postos de abastecimento de combustíveis são os responsáveis pelo maior índice de contaminações subterrâneas (CETESB, 2014). Sob esta abordagem, existe uma mudança gradual em relação às estratégias tradicionais de remediação, e cada vez mais tecnologias inovadoras, voltadas para a redução rápida da carga poluente à concentrações que são consideradas inofensivas à saúde humana, estão sendo adotadas (BACIOCCHI, 2013).

A oxidação química *in situ* (do inglês: *in situ chemical oxidation* – ISCO) é uma tecnologia com grande potencial para o tratamento de solos contaminados com resíduos orgânicos tóxicos e recalcitrantes (WATTS et al., 2002). Esta estratégia envolve a introdução de oxidantes químicos para transformação dos contaminantes em compostos menos nocivos (ITRC, 2005; WATTS; TEEL, 2006; FURMAN; TEEL; WATTS, 2010; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011). A reação Fenton apresenta-se como um dos processos tradicionalmente aplicados para a ISCO (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011; YAP; GAN; NG, 2011), a qual envolve a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela ação catalítica do ferro (II) e subsequente formação de radicais hidroxila ($OH\cdot$) (WALLING, 1975). O H_2O_2 por si só é um oxidante, mas em baixas concentrações (< 0,1%) não é cineticamente

rápido o suficiente para degradar os contaminantes orgânicos. No entanto, quando sais de ferro (II) são utilizados como catalisadores do processo, o poder oxidativo da reação Fenton aumenta drasticamente e esse aumento é atribuído à produção de $\text{OH}\cdot$ e de outras espécies reativas que são capazes de transformar ou até mineralizar os compostos orgânicos (ITRC, 2005; PETRI et al., 2011).

Apesar da vasta aplicação da reação Fenton como estratégia de remediação, a utilização direta do H_2O_2 apresenta limitações que muitas vezes impossibilitam a execução do processo em campo e, conseqüentemente, derivações da reação Fenton clássica estão sendo desenvolvidas para elevar a eficiência da técnica em aplicações de grande escala. As principais alterações envolvem os oxidantes e catalisadores convencionalmente utilizados para a ISCO (ITRC, 2005). Com relação ao oxidante químico, o peróxido de magnésio (MgO_2) pode ser potencialmente utilizado, dado que é um oxidante moderado e que, quando dissolvido em água, dissocia-se lentamente em $\text{Mg}(\text{OH})_2$ e H_2O_2 (VOL'NOV, 1966; ELPRINCE; MOHAMED, 1992; SCHMIDTKE; WHITE; WOOLARD, 1999; LIU; PORTERFIELD, 2014; XIE; BARCELONA, 2003), processo que apresenta a vantagem de exercer pouca ou nenhuma inibição à atividade microbiana, em função da lenta liberação do H_2O_2 (XIE; BARCELONA, 2003). Com relação ao catalisador, os sais de ferro Fe^{2+} e Fe^{3+} podem ser utilizados para a ISCO (PETRI et al., 2011; WATTS; TEEL, 2005) porém, as abordagens modernas tratam da incorporação de novos materiais, tais como os óxidos de ferro (ex.: goethita, hematita, ferridrita, magnetita e maguemita), que são mais versáteis por não apresentarem dependência pelo pH ácido no desenvolvimento da catálise das reações com o oxidante (KANEL et al., 2004; WATTS et al., 1997, 1999b). Para este propósito, o óxido de ferro recuperado do tratamento da drenagem ácida de mina (Fe_2O_3 DAM) destaca-se por liberar íons de ferro (Fe^{3+}) a partir de sua dissolução em água, cuja eficácia na decomposição catalítica do H_2O_2 foi previamente comprovada por Flores et al. (2012), indicando que esta pode ser uma alternativa sustentável e de baixo custo para o aproveitamento de um subproduto gerado em grande quantidade neste ramo da indústria brasileira. Assim, a aplicação associada de MgO_2 e Fe_2O_3 DAM pode minimizar algumas limitações relacionadas à utilização direta do H_2O_2 , pelo desenvolvimento de um processo de oxidação mais brando, referenciado nesta pesquisa como oxidação química parcial.

Alguns estudos sugerem que a oxidação química pode ser associada à biodegradação, de forma concomitante ou sequencial, para a

remediação de solos e águas subterrâneas (KAO; WU, 2000; NAM; RODRIGUEZ; KUKOR, 2001; XIE; BARCELONA, 2003; KALUDJERSKI; GUROL, 2004; KULIK et al., 2006; NDJOU'OU; BOU-NASR; CASSIDY, 2006; CASSIDY; NORTHUP; HAMPTON, 2009; SUTTON et al., 2010; GOI et al., 2011; GONG, 2012). Considerando que, o tratamento com ISCO não é capaz de acessar e oxidar completamente os contaminantes orgânicos, as concentrações residuais podem ser removidas por meio de um polimento biológico (CASSIDY; NORTHUP; HAMPTON, 2009). Em linhas gerais, um pré tratamento com ISCO melhora a eficácia global da remediação, pela aceleração da dissolução dos contaminantes e subsequentemente produção de compostos que são mais solúveis e biodisponíveis do que os compostos de origem, os quais podem ser removidos por processos de biodegradação (KULIK et al., 2006; VALDERRAMA et al., 2009).

O biodiesel é um composto biodegradável, derivado de matérias-primas renováveis de ocorrência natural (KNOTHE, 2005), e sua utilização surgiu como alternativa para reduzir a dependência pelos combustíveis fósseis, assim como, diminuir a poluição atmosférica gerada pelos gases resultantes da queima dos combustíveis de origem mineral. A crescente demanda mundial por energia contrasta com a redução na disponibilidade dos combustíveis fósseis, tornando eminente o estabelecimento de fontes energéticas alternativas e de queima limpa. Em nível mundial, o percentual de mistura do biodiesel ao diesel convencional varia de 2 a 10% (V/V) (SMITH et al., 2016). No Brasil, no ano de 2016 o biodiesel passou a ser adicionado ao diesel comercial numa fração de 8% em volume, existindo a perspectiva de um aumento percentual ainda maior nos próximos anos, devendo chegar à 10% no ano de 2019 (BRASIL, 2016). Apesar da crescente incorporação do biodiesel à matriz energética mundial (ITRC, 2011), de acordo com Corseuil et al. (2011) os riscos associados ao seu lançamento em águas subterrâneas têm recebido pouca atenção. O biodiesel é composto predominantemente por ésteres metílicos (ou etílicos) de ácidos graxos (EMAGs), que apresentam baixa solubilidade aquosa e densidade inferior a da água, conseqüentemente, comportam-se como LNAPLs na subsuperfície, fator que torna o processo de remoção mais complexo em virtude de sua lenta dissolução para a água subterrânea e culmina na persistência destes compostos na região da fonte de contaminação. Isto posto, é essencial que atenção seja dada às áreas impactadas por compostos como o biodiesel, no sentido de evitar danos ambientais de longo prazo e riscos à saúde pública pelo desenvolvimento e execução

de tecnologias voltadas para a remediação de compostos pouco solúveis em água.

De modo geral, as considerações apresentadas ressaltam a necessidade de estratégias inovadoras para a remediação de sítios impactados por compostos que comportam-se como LNAPLs em ambientes subsuperficiais. Portanto, o biodiesel de palma (B100) foi selecionado no desenvolvimento desta pesquisa, para representar um composto de baixa solubilidade aquosa. O trabalho foi conduzido por meio de experimentos de laboratório e de campo, para avaliar o potencial da oxidação química parcial ($MgO_2 + Fe_2O_3$ DAM) associada à biodegradação, como estratégia de remediação de compostos de baixa solubilidade aquosa em contaminações de solos e águas subterrâneas.

2 JUSTIFICATIVA

O biodiesel tem sido adicionado de forma crescente à matriz energética mundial, por conseguinte, também é crescente a incidência de contaminações de solos e águas subterrâneas associadas à sua exploração, transporte e utilização. A remoção de compostos como o biodiesel, que apresentam baixa solubilidade aquosa e densidade inferior a da água, configura-se como um processo complexo em função de sua lenta dissolução e persistência na região da fonte de contaminação, característica de compostos comportem-se como LNAPLs em sistemas subsuperficiais. Deste modo, existe uma demanda mundial para o desenvolvimento de tecnologias de remediação para compostos pouco solúveis, como o biodiesel.

A oxidação química *in situ* é uma técnica amplamente utilizada para a remediação de solos e águas subterrâneas. O oxidante comumente utilizado é o H_2O_2 , contudo, sua aplicação em campo apresenta limitações que comprometem a eficácia da ISCO. Entre as modificações passíveis de serem realizadas para minimizar as limitações do processo convencional, a utilização do MgO_2 apresenta-se como uma alternativa adequada, considerando que trata-se de um oxidante moderado, capaz de liberar H_2O_2 lentamente, quando dissolvido em água, e que provoca pouca ou nenhuma inibição à atividade microbiana. Como catalisador da reação de oxidação, o Fe_2O_3 DAM apresenta-se como opção viável, tanto do ponto de vista técnico como ambiental, pois trata-se um subproduto constantemente gerado na indústria carbonífera, que pode ser aproveitado por apresentar atividade catalítica em reações de oxidação. O desenvolvimento de um processo mais brando, sugere que a oxidação química pode ocorrer de forma parcial, acelerando a dissolução dos EMAGs e, por conseguinte, a produção de compostos mais solúveis e biodisponíveis, favorecendo assim a associação ao processo de biodegradação, que pode ocorrer concomitante ou sequencialmente ao processo químico.

Não existem na literatura dados referentes à utilização de MgO_2 e Fe_2O_3 DAM para oxidação química parcial associada à biodegradação, na remediação de um sítio contaminado com biodiesel de palma, com aplicação prática em experimento de campo. Portanto, o desenvolvimento desta pesquisa contribui para o melhoramento de uma técnica já consolidada e com grande potencial de aplicação em escala real, para a remediação de solos e águas subterrâneas.

3 HIPÓTESE

A dissolução e decomposição do MgO_2 em água, libera H_2O_2 lentamente. A dissolução do Fe_2O_3 DAM favorece a liberação de íons de ferro (Fe^{3+}), que atuam na decomposição catalítica do H_2O_2 , resultando na produção de radicais que reagem prontamente para oxidação dos compostos orgânicos. A aplicação conjunta de MgO_2 e Fe_2O_3 DAM, propicia o desenvolvimento de um processo de oxidação parcial do contaminante, que acelera sua dissolução e produção de subprodutos mais solúveis e biodisponíveis. Sob esta conjectura, processos biológicos de degradação podem ocorrer de forma concomitante ou sequencial ao tratamento químico, culminando numa tecnologia eficiente para a remediação de compostos pouco solúveis e que comportam-se como LNAPLs (ex.: biodiesel) em ambientes subsuperficiais.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Esta pesquisa tem por objetivo avaliar a aplicabilidade do MgO_2 e do Fe_2O_3 DAM, para a oxidação química parcial associada à biodegradação, para a remediação de compostos orgânicos com limitada solubilidade aquosa, que comportam-se como LNAPLs em sistemas subsuperficiais.

4.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos desta pesquisa relacionam-se à:

- Avaliar a eficiência da oxidação química parcial (MgO_2 + Fe_2O_3 DAM) para a liberação lenta de H_2O_2 e manutenção das condições de oxidação no ambiente subsuperficial;
- Avaliar a eficiência da oxidação química parcial (MgO_2 + Fe_2O_3 DAM) para acelerar a dissolução dos compostos do biodiesel e produção de subprodutos mais solúveis e biodisponíveis para a água subterrânea;
- Avaliar os impactos da utilização de MgO_2 e Fe_2O_3 DAM na microbiota local, assim como, a importância destes microorganismos na concomitante biodegradação do biodiesel;
- Comparar a técnica proposta nesta pesquisa (oxidação química parcial associada à biodegradação) ao processo de atenuação natural monitorada, ambos aplicados à remediação de solos e águas subterrâneas impactados por biodiesel, com foco nas alterações geoquímicas e eficácia global de cada técnica.

5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As contaminações de solos e águas subterrâneas podem ocorrer por fontes naturais ou antrópicas, e têm se tornado motivo de preocupação mundial em função de sua crescente incidência e risco em relação à saúde pública e ao ambiente. No Brasil o número de sítios contaminados é desconhecido, contudo, devido ao tamanho do País e sua extensa urbanização e industrialização, pode ser postulado que trata-se de um número elevado (THOMÉ et al., 2015). As estimativas mais atualizadas são do estado de São Paulo, e indicaram a existência de 5.376 sítios contaminados até dezembro de 2015 (CETESB, 2015). Nos Estados Unidos foi estimada a existência de 35.000 sítios contaminados no ano de 2004 (US EPA, 2004), enquanto que na Europa foram identificadas 342.000 áreas contaminadas e cerca de 2,5 milhões de sítios potencialmente contaminados (PANAGOS et al., 2013).

Muitas das áreas contaminadas em todo o mundo são impactadas por compostos líquidos de fase não aquosa (do inglês: *non-aqueous phase liquids* – NAPLs), que são pouco solúveis em água e persistem por longo tempo no sítio contaminado, causando impactos secundários ao solo e à água subterrânea (ITRC, 2009). O comportamento dos NAPLs em sistemas subsuperficiais é de difícil previsão, pois podem flotar no topo da franja capilar (LNAPL) ou migrar verticalmente através do aquífero, deixando pequenas porções presas aos poros do solo devido às forças capilares (DNAPL). Sua migração depende tanto das propriedades do solo (ex: tamanho dos grãos e porosidade), como das propriedades dos NAPLs (ex.: viscosidade e volume liberado), sendo que apenas uma pequena fração se dissolve lentamente através da zona saturada (ITRC, 2009; SOGA; PAGE; ILLANGASEKARE, 2004). Conseqüentemente, estes fatores dificultam o estabelecimento de estratégias eficientes de tratamento para áreas contaminadas com NAPLs, visto que, a eficácia de remoção frequentemente obtida para a zona da fonte é limitada entre 60 – 70%, e que os processos de remediação normalmente aplicados demoram décadas para reduzir substancialmente os níveis de contaminação (SOGA; PAGE; ILLANGASEKARE, 2004). Na tentativa de remover completamente a carga poluente na zona da fonte, novas estratégias de remediação estão sendo pesquisadas, tais como as abordagens modificadas da ISCO, que apresentam-se como alternativas inovadoras, eficientes, além de técnica e economicamente viáveis para a remediação de compostos pouco solúveis em sistemas subsuperficiais.

5.1 Oxidação Química *in situ* (ISCO)

A oxidação química *in situ*, também conhecida como ISCO, consiste na introdução de produtos químicos reativos diretamente no sítio contaminado, com o objetivo de rapidamente degradar os contaminantes por meio de reações químicas que promovem a oxidação ou a redução dos compostos de interesse, diminuindo assim o risco potencial que sua persistência representa à saúde pública e qualidade ambiental (ITRC, 2005; KREMBS et al., 2010; SIEGRIST; CRIMI; BROWN, 2011). Na presença de catalisadores, como sais de ferro (Fe^{2+} ou Fe^{3+}), a decomposição catalítica dos oxidantes produz espécies químicas radicalares¹ altamente reativas (ex.: radical hidroxila – $\text{OH}\cdot$), que podem transformar e até mineralizar compostos orgânicos (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; BROWN, 2011). As características das aplicações da ISCO em sistemas subsuperficiais, variam consideravelmente de acordo com a natureza e a extensão da contaminação, com as condições do local, metas e objetivos de cada remediação, entre outros fatores (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011).

A ISCO é normalmente aplicada para o tratamento de compostos dissolvidos e, mesmo que possa efetuar a remoção de contaminantes em fase livre (ITRC, 2005; KREMBS et al., 2010; SUTTON et al., 2010), sua aplicação para remediação de LNAPLs é limitada pela taxa de transferência de massa da fase sorvida para a fase dissolvida. De acordo com Krembs et al. (2010), a ISCO tem sido aplicada na mesma frequência para o tratamento de sítios contaminados com e sem DNAPLs (do inglês: *dense non-aqueous phase liquids* – DNAPL) e, com relação aos sítios impactados com LNAPLs (do inglês: *light non-aqueous phase liquids* – LNAPLs), a ISCO também tem sido utilizada mas com menor assiduidade. De modo geral, as pesquisas indicam eficiência da ISCO na remediação de composto como solventes clorados (ex.: eteno e etano), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ex.: naftaleno e fenantreno), hidrocarbonetos totais de petróleo (ex.: benzeno e tolueno), ou ainda, éter metil *tert*-butílico, bifenilas policloradas, fenóis (ex.: pentaclorofenol), explosivos (ex.: trinitrotolueno) e

¹ Espécies químicas radicalares são espécies que possuem um elétron desemparelhado (paramagnéticas).

pesticidas (ex.: lindano) (ITRC, 2005; KREMBS et al., 2010; SIEGRIST; CRIMI; BROWN, 2011).

A despeito das vantagens relacionadas à utilização da oxidação química *in situ* e de seu uso frequente para a remediação de compostos orgânicos, a aplicação da ISCO envolve várias limitações técnicas, tais como: (i) entrega e manutenção de uma concentração adequada do oxidante para a degradação efetiva dos contaminantes (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011); (ii) necessidade de ajuste de pH (faixa ótima entre 3 – 5) ou utilização de agentes quelantes para maximizar a disponibilidade do ferro (II) nas reações de catálise (ITRC, 2005; PETRI et al., 2011); (iii) desencadeamento de inúmeras reações rápidas e intermediárias, que acabam por limitar a interação entre as espécies oxidativas geradas e os compostos orgânicos no sítio contaminado (WATTS et al., 1999a; ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011) (iv) dano ecológico e inibição a atividade dos micro-organismos pela ação agressiva de muitos oxidantes no ambiente subsuperficial (KALUDJERSKI; GUROL, 2004; VALDERRAMA et al., 2009; SUTTON et al., 2014; FENG et al., 2015; SUTTON et al., 2015); (v) consumo não produtivo do oxidante pela matéria orgânica natural do solo (ITRC, 2005; KREMBS et al., 2010; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011; SUTTON et al., 2014; BACIOCCHI et al., 2014); (vi) mudanças geoquímicas na água subterrânea devido à oxidação do solo e da matéria orgânica (KREMBS et al., 2010; PALAIA; SMITH; LEWIS, 2011; SUTTON et al., 2014); (vii) mobilização de contaminantes (LIANG et al., 2009; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011; SUTTON et al., 2014); e (viii) consumo rápido do oxidante pelo contaminante orgânico (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011), especialmente em sítios impactados por compostos pouco solúveis em água, cuja dissolução contínua do LNAPL pode causar o esgotamento antecipado do oxidante, de forma que a remoção do contaminante torna-se insuficiente e a remediação ineficaz (LIANG; LEE, 2008). Essas limitações tornam a ISCO um processo de difícil controle e previsão, principalmente quando aplicado em contaminações de escala real, ressaltando assim a necessidade de investigações de campo para aplicação de abordagens menos agressivas, principalmente voltadas para a atenuação de contaminantes pouco solúveis em água.

Neste sentido, alguns autores defendem que a aplicação isolada da ISCO não tem potencial para acessar e oxidar completamente os contaminantes residuais e, assim, o polimento biológico poderia permitir a completa remediação de uma área impactada (CASSIDY; NORTHUP; HAMPTON, 2009; SUTTON et al., 2010), favorecendo a recuperação

das condições geoquímicas e ecossistêmicas do local, por meio da associação da ISCO à biorremediação (KAO; WU, 2000; XIE; BARCELONA, 2003; CASSIDY; NORTHUP; HAMPTON, 2009; GOI et al., 2011; GONG, 2012; KALUDJERSKI; GUROL, 2004; KULIK et al., 2006; NDJOU'OU; BOU-NASR; CASSIDY, 2006; LU et al., 2010; PARDO et al., 2014; VALDERRAMA et al., 2009; PARDO et al., 2015b; SUTTON et al., 2010, 2014, 2015). Sob essa abordagem, o oxidante químico utilizado exerce um papel fundamental, pois dependendo de seu poder oxidativo pode comprometer a atividade microbiana e, conseqüentemente, a biodegradação na área impactada. Além disso, as espécies reativas e a quantidade de radicais livres formados a partir da introdução do oxidante no meio, também dependem do catalisador utilizado e do pH do sistema (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011). Portanto, a eficiência da remediação e a associação da ISCO à biodegradação para aplicações em escala real está fortemente vinculada à escolha apropriada do oxidante e do catalisador utilizados no processo de descontaminação.

5.1.1 Oxidantes

Os quatro principais oxidantes utilizados para a ISCO são, permanganato, persulfato, ozônio e o reagente Fenton (peróxido de hidrogênio (H_2O_2) catalisado por sais de ferro (Fe^{2+} ou Fe^{3+})) (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011; SUTTON et al., 2014; TSITONAKI et al., 2010; WATTS; TEEL, 2006). Outros tipos de oxidantes, tais como o peróxido de cálcio (CaO_2) e peróxido de magnésio (MgO_2), também podem ser utilizados em uma abordagem mais branda da ISCO (CASSIDY; IRVINE, 1999; GOI et al., 2011; KHODAVEISI et al., 2011; NORTHUP; CASSIDY, 2008; XIE; BARCELONA, 2003). Existem também, outros oxidantes ou combinações de oxidantes que podem ser utilizados, como o peroxônio (combinação do peróxido de hidrogênio com o ozônio) e o percarbonato (combinação do carbonato de sódio com peróxido de hidrogênio), porém são aplicados com menor frequência (SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011). Apesar das particularidades de cada oxidante, as considerações a seguir estão relacionadas à utilização do H_2O_2 e do MgO_2 em processos de oxidação química *in situ*.

5.1.1.1 Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)

O peróxido de hidrogênio é um oxidante forte, muito utilizado no tratamento de resíduos industriais, assim como, na remediação de solos e águas subterrâneas. Quando catalisado por sais de ferro solúvel (Fe^{2+}), em meio levemente ácido (pH variando entre 3 e 5), o H_2O_2 pode gerar uma grande variedade de radicais livres e espécies reativas (Tabela 1), capazes de transformar ou decompor rapidamente compostos orgânicos (WATTS; TEEL, 2005; PETRI et al., 2011). Conhecida como reação Fenton, trata-se de uma técnica largamente estudada desde seu descobrimento em 1890, pelo químico britânico Henry John Horstman Fenton (FENTON, 1894), e da proposição de seu mecanismo de desenvolvimento (via formação de $\bullet OH$) em 1934 (HABER; WEISS, 1934). O reagente Fenton tem sido utilizado como oxidante no tratamento de resíduos industriais desde 1960 (HUANG; DONG; TANG, 1993; BAUTISTA et al., 2008), contudo, sua aplicação como agente oxidante no tratamento de solos e águas subterrâneas somente teve início em 1990, por meio de estudos de laboratório (WATTS et al., 1990; TYRE; WATTS; MILLER, 1991; WATTS; SMITH; MILLER, 1991; WATTS; UDELL; MONSEN, 1993; KAKARLA; WATTS, 1997) e de campo (MARTENS; FRANKENBERGER, 1995). Sendo que nas últimas duas décadas, o tratamento Fenton tem emergido como tecnologia viável de remediação, para uma vasta gama de contaminantes orgânicos (BAUTISTA et al., 2008; GOI; VERESSININA; TRAPIDO, 2008; PARDO et al., 2014; ROMERO et al., 2009; USMAN et al., 2012; WATTS; HOWSAWKENG; TEEL, 2005; WATTS; TEEL, 2005).

A reação de iniciação, comumente utilizada para representar o processo Fenton, é apresentada na Tabela 1 (Eq. 1). As reações subsequentes são, ou de propagação (Eq. 2 – 5) ou de terminação (Eq. 6 – 8), sendo que na Tabela 1 constam algumas das principais possíveis reações decorrentes da aplicação do reagente Fenton. Em condições normais, ao final do processo as moléculas orgânicas são convertidas à dióxido de carbono (CO_2) e água (H_2O) (YAP; GAN; NG, 2011), tal como representado na Equação 9 (Tabela 1). O H_2O_2 sozinho tem potencial para a oxidação (Tabela 2), mas em baixas concentrações (< 0,1%) não é cineticamente rápido o suficiente para degradar contaminantes orgânicos perigosos, antes de sua decomposição (ITRC, 2005). Os radicais hidroxila são agentes oxidantes muito forte (Tabela 2) e a sequência de sua cadeia de propagação pode resultar na geração de íons superóxido (O_2^-), íons hidroperóxido (HO_2^-), radicais

peridroxil (HO_2^\bullet) e outros radicais orgânicos (R^\bullet), que são completamente instáveis e de curta permanência (meia vida de segundos ou microssegundos), o que torna o processo complexo e de difícil previsão (ITRC, 2005; PETRI et al., 2011).

Todavia, esta abordagem clássica não pode ser facilmente criada *in situ*, e qualquer alteração na conformação da reação, diferente da tradicionalmente aplicada, é denominada como processo Fenton modificado. Isto inclui a utilização de concentrações elevadas de H_2O_2 , utilização de oxidantes como MgO_2 ou CaO_2 (podem gerar H_2O_2 lentamente durante sua decomposição), aplicação de agentes quelantes, e outras alterações passíveis de serem aplicadas em campo de acordo com o objetivo de cada processo de remediação.

Tabela 1. Reação Fenton e as principais reações e radicais associados.

Eq.	Estequiometria	Referência
1	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\bullet$	Walling (1975)
2	$\text{OH}^\bullet + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{HO}_2^\bullet + \text{H}_2\text{O}$	ITRC (2005)
3	$\text{HO}_2^\bullet \leftrightarrow \text{O}_2^- + \text{H}^+$	Stumm e Morgan (1995)
4	$\text{OH}^\bullet + \text{RH} \rightarrow \text{R}^\bullet + \text{OH}^-$	ITRC (2005)
5	$\text{R}^\bullet + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{ROH} + \text{OH}^\bullet$	ITRC (2005)
6	$\text{HO}_2^\bullet + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{Fe}^{3+}$	ITRC (2005)
7	$\text{HO}_2^\bullet + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{HO}_2^- + \text{Fe}^{3+}$	ITRC (2005)
8	$\text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$	ITRC (2005)
9	$\text{Compostos Oxidados} + \text{}^\bullet\text{OH} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	Yap, Gan e Ng (2011)

Tabela 2. Espécies reativas, respectivo potencial de oxidação e pH de atuação.

Espécie reativa	Fórmula	Potencial de Oxidação (eV)	pH
Radical hidroxila	$\text{}^\bullet\text{OH}$	2,59	< 11,9
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	1,78	< 11,6
Radical Peridroxil	HO_2^\bullet	1,50	< 4,8
Oxigênio	O_2	1,23	qualquer
Íons hidroperóxido	HO_2^-	0,88	> 11,6
Íons superóxido	$\text{O}_2^{\bullet-}$	-0,33	> 4,8

FONTE: Adaptado de Lide (2005) e Petri et al. (2011).

5.1.1.2 Peróxido de Magnésio (MgO_2)

O peróxido de magnésio tem sido comumente utilizado como um composto de liberação de oxigênio (do inglês: *oxygen release compound* – ORC) para processos de biodegradação aeróbia (BIANCHI-MOSQUERA; ALLEN-KING; MACKAY, 1994; SCHMIDTKE; WHITE; WOOLARD, 1999; XIE; BARCELONA, 2003). Alternativamente, pode ser potencialmente utilizado como um oxidante moderado para a ISCO, o que representa uma abordagem menos agressiva, uma vez que H_2O_2 pode ser liberado lentamente durante a decomposição do MgO_2 (Tabela 3 – Eq. 10 e 11), quando dissolvido em água e em pH neutro (VOL'NOV, 1966; ELPRINCE; MOHAMED, 1992; CASSIDY; IRVINE, 1999; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999; XIE; BARCELONA, 2003; LIU; PORTERFIELD, 2014). A baixa solubilidade do MgO_2 (86 $mg.L^{-1}$ à 18 °C e pH 10,3) (SOLVAY AMERICA, INC., 2013) garante a liberação lenta de H_2O_2 , dado que a reação é regulada pela sua velocidade de dissolução na água (WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999; GOI et al., 2011; KHODAVEISI et al., 2011; NDJOU'OU; CASSIDY, 2006). No entanto, o processo de oxidação é dependente de muitos fatores, incluindo, pH e capacidade de tamponamento do solo, características físico-químicas e concentração dos contaminantes, além da presença de outros compostos orgânicos ou de metais pesados no ambiente subsuperficial (DUFFY; OCHS; OUDIJK, 2006; GOI et al., 2011).

Tabela 3. Reações de decomposição do MgO_2 em água.

Eq.	Estequiometria	Referência
10	$MgO_2 + 2H_2O \rightarrow Mg(OH)_2 + H_2O_2$	Vol'Nov (1966)
11	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$	Vol'Nov (1966)

A liberação do H_2O_2 pela decomposição do MgO_2 foi evidenciada em literatura específica (VOL'NOV, 1966; ELPRINCE; MOHAMED, 1992; CASSIDY; IRVINE, 1999; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999; XIE; BARCELONA, 2003; LIU; PORTERFIELD, 2014), sendo que algumas pesquisas indicam que o mecanismo de oxidação do MgO_2 pode ocorrer de maneira similar ao do H_2O_2 , via produção de radicais hidroxila por difusão (ELPRINCE; MOHAMED, 1992; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999). Contudo, o desenvolvimento das reações também resulta na produção de

$\text{Mg}(\text{OH})_2$ (Eq. 10), que pode ser responsável tanto pela formação de uma estrutura cimentada aos sólidos do solo (LANDMEYER et al., 2001; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999; XIE; BARCELONA, 2003), como pela elevação do pH para faixas que variam entre 10 e 12, efeito tipicamente observado em solos mal tamponados (CASSIDY; IRVINE, 1999; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999). Essa película de revestimento dos sólidos do solo, formada pela presença do $\text{Mg}(\text{OH})_2$, impede que a água penetre profundamente através do cristal, favorecendo a liberação lenta de H_2O_2 (GIAMELLO et al., 1993; JUN et al., 2009; VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004). Portanto, a formação desta estrutura cimentada representa um efeito benéfico ao processo de remediação, dado que garante que o MgO_2 permaneça ativo por períodos de tempo que variam de seis meses a um ano (VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004). De modo geral, os efeitos da utilização do MgO_2 foram pouco documentados para aplicações da ISCO diretamente em campo e a longo prazo, destacando a importância do desenvolvimento de estudos nesta linha.

As pesquisas disponíveis, relacionadas à utilização do MgO_2 para a remediação de solos e águas subterrâneas, indicam resultados eficientes para esta abordagem. No estudo de Xie e Barcelona (2003), o MgO_2 foi um dos oxidantes testados (KMnO_4 , H_2O_2 e MgO_2) para a oxidação química associada à biodegradação aeróbia de combustíveis, os resultados mostraram poder de oxidação moderado e mínima inibição da atividade microbológica, fator que conduziu à remoção de até 80% dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs). Já na pesquisa de Goi et al. (2011), onde o MgO_2 foi utilizado para o tratamento de PCBs, os resultados indicaram elevada remoção ($96 \pm 2\%$) do contaminante em períodos curtos de tratamento (1 e 3 dias), além de um aumento representativo do pH do solo (de 5 para 9) durante todo período experimental (21 dias), que foi proporcional à dose de MgO_2 utilizada, sendo que não foram observadas alterações substanciais relativamente às características do solo e à atividade microbiana para uma dose moderada de MgO_2 . Os mesmos autores concluíram que, a eficácia de remoção do contaminante no solo está fortemente vinculada à dose de MgO_2 aplicada, ao tempo de tratamento e à forma de condução do tratamento.

A busca por novos oxidantes está vinculada à redução das dificuldades associadas às abordagens tradicionais da ISCO. Neste contexto, a utilização do MgO_2 pode ser uma alternativa para contornar as desvantagens associadas à aplicação direta de H_2O_2 , as quais foram listadas anteriormente e que incluem a necessidade de controle de pH (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011), dano ecológico e

inibição da atividade dos micro-organismos (FENG et al., 2015; SUTTON et al., 2014, 2015; VALDERRAMA et al., 2009), consumo rápido do oxidante (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011) e geração de uma reação exotérmica violenta (GOI et al., 2011; NDJOU'OU; CASSIDY, 2006). O desenvolvimento do processo de oxidação química de forma mais branda, denominado aqui como oxidação química parcial (OQP), pode favorecer a associação da ISCO ao processo de biodegradação, culminando assim numa estratégia inovadora e eficiente para a remediação de compostos orgânicos que se comportam como NAPLs.

5.1.2 *Catalisadores*

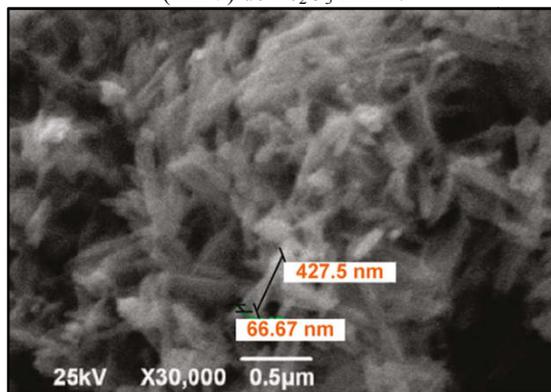
A decomposição catalítica do H_2O_2 pela ação de Fe^{+2} e Fe^{+3} já é consolidada na literatura (HABER; WEISS, 1934; WALLING, 1975; ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011; WATTS et al., 1999b; BAUTISTA et al., 2008; WATTS; TEEL, 2005, 2006; PARDO et al., 2014; BERGENDAHL; THIES, 2004). No entanto, os óxidos de ferro presentes na matriz do solo, como a goethita (α - $FeOOH$), hematita (α - Fe_2O_3), magnetita (Fe_3O_4) e a ferridrita (α - $Fe_{10}O_{15} \cdot 9H_2O$), também são capazes de catalisar o H_2O_2 (TYRE; WATTS; MILLER, 1991). Assim, as novas abordagens da ISCO consideram a utilização de novos materiais, tais como os óxidos de ferro (ex.: goethita, hematita, magnetita e ferridrita), para viabilização de sua aplicação como agente catalisador na decomposição dos oxidantes utilizados para o tratamento de um sítio contaminado (KANEL et al., 2004; USMAN et al., 2012). Neste sentido, as pesquisas de Flores et al. (2012) demonstraram resultados positivos na utilização de óxidos de ferro recuperados do tratamento da drenagem ácida de mina (Fe_2O_3 DAM), como agente catalisador na decomposição do H_2O_2 , viabilizando assim o aproveitamento sustentável de um resíduo gerado em grande quantidade neste ramo da indústria brasileira.

A drenagem ácida de mina (DAM) ocorre pela formação de uma solução aquosa resultante da oxidação de minerais sulfetados provenientes da atividade de mineração, assim como, pela elevada capacidade de lixiviação de elementos presentes no minério e nas rochas circunvizinhas à área minerada. As águas da DAM contêm altas concentrações de ácidos, sulfato e outros metais (tais como ferro, alumínio, manganês, zinco, cobre, níquel, cálcio, magnésio e cromo) (CHENG et al., 2011) e, por conseguinte, são caracterizadas por apresentarem acidez elevada e baixo pH (ANDERSEN et al., 2012).

Com tais características, acabam por contribuir significativamente para a poluição das águas superficiais, configurando-se como um problema ambiental de grande preocupação para a indústria da mineração em todo o mundo (ANDERSEN et al., 2012; CHENG et al., 2011; JOHNSON; HALLBERG, 2005).

O tratamento da DAM, envolve a utilização de reagentes alcalinos para elevação rápida do pH, seguido da precipitação dos metais dissolvidos. O método da precipitação sequencial do lodo químico do tratamento da DAM, descrito por Andersen et al. (2012), foi adotado na Carbonífera Criciúma (Santa Catarina – Brasil), e o resultado foi a produção de óxidos de ferro com elevada pureza (FLORES, 2012), mais detalhadamente, constituído por 78,29% de ferro férrico, além de outros metais em baixas concentrações (óxido de alumínio, óxido de bário, óxido de silício e outros) (vide Anexo II). Morfologicamente, o resíduo apresenta somente fase cristalina, com partículas na forma acicular, homogêneas e aglomeradas, com distribuição de tamanho em torno de $66,7 \times 427,5$ nm (Figura 1) e área superficial de $67 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (ANDERSEN et al., 2012). Portanto, a pesquisa de materiais inovadores para a catálise do H_2O_2 , oferece alternativas para a incorporação do Fe_2O_3 DAM a novos processos. E, além do aproveitamento de resíduos, a utilização do Fe_2O_3 DAM está vinculada à busca por produtos sustentáveis e economicamente vantajosos.

Figura 1. Resultados caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do Fe_2O_3 DAM.



FONTE: Andersen et al. (2012).

Dentre os óxidos de ferro, a goethita ($\alpha\text{-FeOOH}$) apresenta-se como um catalisador estável e eficiente em reações envolvendo o H_2O_2

(LIN; GUROL, 1998; WU et al., 2006; GOI; VERESSININA; TRAPIDO, 2008; LIOU; LU, 2008), uma vez que combina maior faixa de pH de operação com a lixiviação controlável dos íons de ferro (FLORES et al., 2012). Resultados de catálise eficiente também foram relatados para a magnetita (USMAN et al., 2012), hematita (MATTA; HANNA; CHIRON, 2007) e ferridrita (BARREIRO et al., 2007). De modo geral, a utilização dos óxidos de ferro é viável tecnicamente, uma vez que não apresentam dependência por pH ácido (KANEL et al., 2004; WATTS et al., 1997, 1999b).

Neste contexto, o mecanismo teórico para a oxidação pela ação catalítica do Fe_2O_3 DAM é apresentado na Tabela 4. A dissolução do Fe_2O_3 DAM libera espécies de ferro férrico para a água subterrânea (Tabela 4 – Eq. 13), o qual reage com o H_2O_2 (Tabela 4 – Eq. 14) previamente liberado pela decomposição do MgO_2 (Tabela 4 – Eq. 12), resultando na produção de radicais peridroxil e Fe^{2+} (Tabela 4 – Eq. 15) que, por conseguinte, podem ser regenerados em Fe^{3+} e hidroperóxidos (Tabela 4 – Eq. 16) e, assim produzir Fe^{2+} e O_2 (Tabela 4 – Eq. 17). Por fim, o Fe^{2+} produzido pode reagir com o H_2O_2 (Tabela 4 – Eq. 18) gerando radicais hidroxila que irão oxidar sequencialmente os compostos orgânicos (Tabela 4 – Eq. 19) até a formação de CO_2 e água.

Tabela 4. Proposição do mecanismo de oxidação pela utilização de Fe_2O_3 DAM.

Eq.	Estequiometria	Referência
12	$MgO_2 + 2H_2O \rightarrow Mg(OH)_2 + H_2O_2$	Vol'Nov (1966)
13	$Fe_2O_3 + 6H^+ \rightarrow 2Fe^{3+} + 3H_2O$	Li; Liu; Chern (1999)
14	$Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow Fe OOH^{2+} + H^+$	Neyens; Baeyens (2003)
15	$Fe OOH^{2+} \rightarrow HO_2^* + Fe^{2+}$	Neyens; Baeyens (2003)
16	$Fe^{2+} + HO_2^* \rightarrow Fe^{3+} + HO_2^-$	Neyens; Baeyens (2003)
17	$Fe^{3+} + HO_2^* \rightarrow Fe^{2+} + O_2 + H^+$	Neyens; Baeyens (2003)
18	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^-$	Walling (1975)
19	$RH + OH^{\bullet} \rightarrow H_2O + R^{\bullet}$	Neyens; Baeyens (2003)

Deste modo, a utilização da oxidação química parcial ($MgO_2 + Fe_2O_3$ DAM) permite a associação da biodegradação ao processo químico, para remediação de compostos orgânicos pouco solúveis em água e, apresenta-se como uma alternativa viável do ponto de vista técnico, econômico e ambiental, dada a incorporação um subproduto gerado constantemente pela indústria carbonífera brasileira.

5.2 Biodegradação

A biodegradação pode ser descrita como a capacidade metabólica de micro-organismos em transformar contaminantes orgânicos complexos em moléculas mais simples (ex.: dióxido de carbono e água) ou em subprodutos não-tóxicos (biotransformação), por meio de reações de óxido-redução mediadas por micro-organismos (RISER-ROBERTS, 1998; WIEDEMEIER et al., 1999a). Muito utilizada na redução de massas de contaminantes dissolvidos em água subterrânea, configura-se como um mecanismo de atenuação importante em processos de remediação (WIEDEMEIER et al., 1999a). As reações de biodegradação ocorrem em etapas sequenciais, onde os subprodutos provenientes de um processo metabólico atuam como substrato para o processo seguinte, sucessivamente até a completa mineralização do composto orgânico. A oxidação do contaminante ocorre pela transferência de elétrons do doador para os receptores, havendo liberação de energia, que por sua vez, é utilizada pelos micro-organismos para a síntese celular (LOVLEY, 2003; WIEDEMEIER et al., 1999a).

Os micro-organismos têm capacidade para remover uma diversidade de contaminantes orgânicos por meio de processos enzimáticos (LOVLEY, 2003), contudo, a biodegradação é dependente de uma série de fatores físicos, químicos e biológicos. Desta forma, a aplicabilidade da biorremediação em sistemas subsuperficiais fica condicionada à composição, concentração e biodisponibilidade do contaminante (MARGESIN; SCHINNER, 2001), além da presença de micro-organismos, sua capacidade metabólica e como respondem às mudanças nas condições ambientais (LOVLEY, 2003). Sendo que, o crescimento microbiano na água subterrânea é dependente de faixas adequadas de pH e temperatura (Tabela 5), assim como, da disponibilidade de nutrientes e micronutrientes para a produção de componentes celulares e realização de suas funções metabólicas fundamentais (RISER-ROBERTS, 1998; ALVAREZ ALVARADO; PÉREZ, 2003). Neste sentido, alguns valores de referência para o crescimento microbiano são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores de referência para o crescimento de micro-organismos em água subterrânea.

Parâmetro	Valores de referência p/ o crescimento de micro-organismos
C:N:P	30:5:1 ¹
pH	4 – 9 ²
Temperatura	0 – 20 °C (psicrófilos) ³
	20 – 40 °C (mesófilos) ³

¹ Alvarez Alvarado e Pérez (2003)

² Chapelle (2001); Margesin e Schinner (2001); Norris (1994)

³ Margesin e Schinner (2001)

Durante os processos de biodegradação, os compostos que constituem o contaminante atuam como doadores de elétrons, e são parcialmente oxidados na presença de receptores de elétrons (O_2 , NO_3 , Fe^{3+} , CO_2 , SO_4^{2-} e Mn^{4+}), produzindo espécies reduzidas denominadas subprodutos metabólitos (CHAPELLE, 2001; WIEDEMEIER et al., 1999a). Essas reações fazem parte de um processo metabólico complexo, sendo que para a oxidação da matéria orgânica, os receptores de elétrons são utilizados e esgotados sequencialmente, seguindo uma hierarquia termodinâmica, de acordo com o rendimento de energia livre fornecido ao metabolismo microbiano, até que a completa mineralização seja alcançada. O receptor de elétrons utilizado define o metabolismo envolvido no processo (aeróbico ou anaeróbico), sendo que apesar do oxigênio ser o receptor de elétrons com maior rendimento de energia aos micro-organismos, os ambientes contaminados são anóxicos em sua maioria, pois o oxigênio dissolvido no meio é consumido rapidamente quando combustíveis estão presentes no solo e na água subterrânea (LOVLEY, 2003; VOGT; KLEINSTEUBER; RICHNOW, 2011), o que torna o processo de degradação predominantemente anaeróbico (LOVLEY, 2003). Ademais, é necessário um envolvimento cooperativo e sintrófico de diversos grupos de micro-organismos metabolicamente distintos, para evitar o acúmulo dos metabólitos produzidos durante o processo de degradação que, por conseguinte, podem desencadear limitações termodinâmicas ao sistema (SCHINK, 1997; SCHINK; STAMS, 2013).

A biodegradação anaeróbica de compostos orgânicos pode ser ocorrer ou por respiração anaeróbica ou por fermentação. Na presença de receptores de elétrons externos e inorgânicos, o processo irá ocorrer via respiração anaeróbica, seguindo a tendência mais favorável

termodinamicamente (quantificado pela energia livre de Gibb's) para utilização dos receptores: $\text{NO}_3^- > \text{Fe}^{3+} > \text{SO}_4^{2-} > \text{HCO}_3^-$ (Tabela 6) (CHAPELLE, 2001; WIEDEMEIER et al., 1999a). Quando os receptores de elétrons inorgânicos e externos forem exauridos, dióxido de carbono e prótons (H^+), podem ser os receptores finais de elétrons, caracterizando o ambiente como metanogênico (STAMS et al., 2006). Na ausência de receptores de elétrons inorgânicos e externos, e na presença de receptores de elétrons internos (endógenos), o processo irá ocorrer via fermentação. Durante a fermentação os compostos orgânicos podem servir tanto como doadores como receptores de elétrons (CHAPELLE, 2001; WIEDEMEIER et al., 1999a).

Tabela 6. Potencial de rendimento de energia em diferentes processos de oxidação.

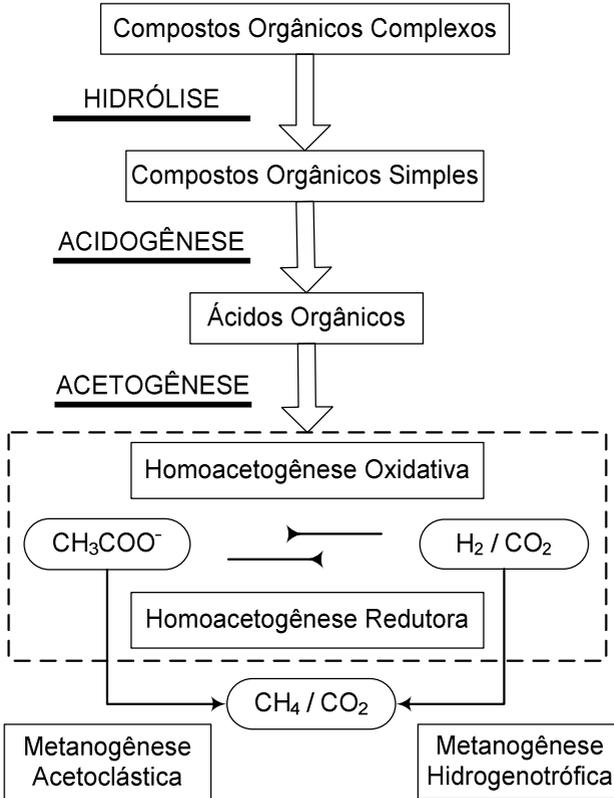
Reações de Oxidação e Redução	Potencial de Energia Livre (KJ/H ₂)
$2\text{NO}_3^- + 5\text{H}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	224
$2\text{Fe}(\text{OH})_3 \rightarrow 2\text{Fe}(\text{OH})_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	50
$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	38
$\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	34

FONTE: Adaptado de Chapelle (2001).

Em condições metanogênicas, a degradação anaeróbia de compostos orgânicos ocorre pelo desenvolvimento de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, tal como apresentado na Figura 2. Na hidrólise os compostos orgânicos complexos (polímero) são convertidos à compostos orgânicos simples (monômeros), pela ação de enzimas extracelulares que são excretadas por micro-organismos (Tabela 7 – Eq. 20). Assim, carboidratos são convertidos em açúcares solúveis, proteínas em aminoácidos e lipídeos em ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) (LOVLEY, 1997). Sendo que os substratos produzidos, são posteriormente convertidos dentro da célula microbiana, portanto sem a presença de receptores de elétrons externos, em um processo denominado acidogênese, o qual resulta na formação de ácidos orgânicos voláteis (acetato, propionato, butirato e outros compostos). A etapa seguinte é denominada de acetogênese, conduzida pela ação de bactérias acetogênicas sintróficas capazes de operar o processo por duas vias distintas, homoacetogênese oxidativa (Tabela 7 – Eq. 21) e homoacetogênese redutora (Tabela 7 – Eq. 22), as quais resultam na formação de acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (DEMIREL; SCHERER, 2008; HATTORI, 2008). Por fim, ocorre a metanogênese,

nesta etapa os compostos produzidos durante a acetogênese atuam como substratos, e são convertidos a metano e dióxido de carbono por duas vias distintas, metanogênese acetoclástica (Tabela 7 – Eq. 23) e metanogênese hidrogenotrófica (Tabela 7 – Eq. 24) (HATTORI, 2008).

Figura 2. Biodegradação anaeróbia de compostos orgânicos.



FONTE: Adaptado de Demirel e Scherer (2008).

Tabela 7. Reações de biodegradação anaeróbia.

Eq.	Reação	Etapa
20	$R_1COOR' + HOH \rightarrow R_1COOH + R'OH$	Hidrólise
21	$CH_3COO^- + 4H_2O \rightarrow HCO_3^- + 4H_2 + HCO_3^- + H^+$	Homoacetogênese oxidativa
22	$4H_2 + 2HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$	Homoacetogênese redutora
23	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	Metanogênese acetoclástica
24	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	Metanogênese hidrogenotrófica

Em ambientes metanogênicos, a energia disponível é muito baixa e próxima ao limite mínimo necessário para o metabolismo microbiano (≈ -20 kJ. reação⁻¹), sob essas condições, existe uma dependência mútua entre os micro-organismos capazes de conduzir as reações com baixa disponibilidade energética e cooperação eficiente entre eles (relações simbióticas) (SCHINK, 1997). Desse modo, a transferência dos metabólitos pode ser realizada por meio da interação entre micro-organismos acetogênicos, hidrogenotróficos e acetoclásticos, sendo que, o acetato e o hidrogênio produzidos na etapa acetogênica, são consumidos por arqueas metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas, respectivamente. O grau de dependência entre os micro-organismos varia consideravelmente, mas dessa forma as reações se tornam termodinamicamente favoráveis pela cooperação simbiótica entre micro-organismos distintos que impedem o acúmulo de metabólitos e garantem a continuidade do processo de degradação (SCHINK, 1997; SCHINK; STAMS, 2013).

5.3 Biodiesel

O biodiesel é um composto biodegradável, derivado de matérias-primas renováveis, incluindo óleos vegetais (ex.: óleo de soja, caroço de algodão, palma, amendoim, colza/canola, girassol, açafrão e coco), gorduras de origem animal (ex.: sebo) e óleos de descarte (ex.: óleo utilizado em frituras) (KNOTHE, 2005; DEMIRBAS, 2009; ITRC, 2011; SMITH et al., 2016). A escolha da matéria-prima é fundamentada, principalmente, em fatores geográficos, mas fatores como disponibilidade, custos, propriedades de armazenamento e desempenho como combustível, também tem influência na tomada de decisão (DEMIRBAS, 2009).

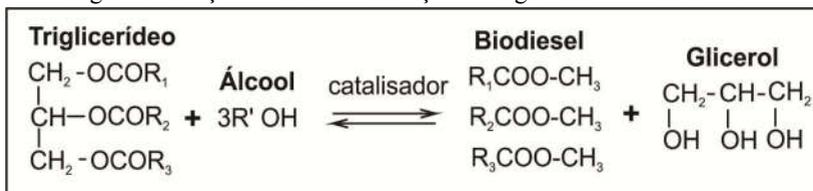
Um mapeamento das principais matérias-primas utilizadas para a produção do biodiesel, em termos mundiais, denota que na Europa a colza e o girassol são frequentemente aplicados (CONCAWE, 2009) e, mais detalhadamente, na Alemanha uma pesquisa realizada em 60 postos de abastecimento indicou que os principais insumos são, canola, palma, soja e coco (UFOP, 2013). Nos Estados Unidos predomina a utilização de soja, canola e gorduras (US EIA, 2016). No Canadá a canola é muito aplicada, enquanto que, na Indonésia a cultura da palma apresenta dominância (ITRC, 2011). Em termos nacionais, a soja é a principal matéria-prima, representando aproximadamente 77% da produção nacional de biodiesel (ANP, 2015). Assim, a necessidade de diversificação da biomassa é evidente e tecnicamente viável, dado que, cerca de 150 milhões de hectares do País apresentam potencial para serem incorporados à produção agrícola de culturas como soja, babaçu, amendoim, girassol, palma, pinhão, canola e outros (CUNHA DA COSTA, 2004; CREMONEZ et al., 2015). A cultura da palma se sobressai às demais por apresentar vantagens técnicas, assim como, melhor potencial de adaptação às regiões norte e nordeste do Brasil, principalmente em relação ao solo e ao clima da Amazônia (CREMONEZ et al., 2015). Tais fatores indicam uma tendência à incorporação da palma como matéria-prima para a produção do biodiesel brasileiro nos próximos anos.

A crescente adição de biodiesel à matriz energética nacional, endossa a necessidade de diversificação da biomassa atualmente utilizada. No Brasil, no ano de 2016 o biodiesel passou a ser adicionado ao diesel comercial numa fração de 8% em volume, existindo a perspectiva de um aumento percentual ainda maior nos próximos anos, devendo chegar ao valor de 10% no ano de 2019 (BRASIL, 2016). A nível mundial, o percentual de mistura do biodiesel ao diesel convencional varia de 2 à 10% (V/V) existindo perspectivas de um aumento ainda maior em algumas localidades (ex.: Estado de Minnesota – 20% (V/V), EUA) (SMITH et al., 2016).

O biodiesel pode ser definido como ésteres monoalquílicos de ácidos graxos, grupo de compostos orgânicos que podem ser sintetizados por processo de transesterificação na presença de álcoois de cadeia curta e sob ação de um agente catalisador (DEMIRBAS, 2009; ITRC, 2011; SMITH et al., 2016), tal como demonstrado na Figura 3. Na produção do biodiesel, a finalidade da transesterificação é a diminuição da viscosidade do óleo, sendo que o processo consiste em uma seqüência de três reações consecutivas e reversíveis, onde os triglicerídeos são convertidos a diglicerídeos e estes então são

convertidos a monoglicerídeos, seguidos da conversão a glicerol. Em cada passo ocorre produção de um éster e, ao final da reação, três moléculas de ésteres são produzidas a partir de uma molécula de triglicerídeo (DEMIRBAS, 2009). A reação requer um catalisador para separar as moléculas do óleo, e tanto o hidróxido de sódio (NaOH) como o hidróxido de potássio (KOH) têm sido utilizados com bom rendimento (DARNOKO; CHERYAN, 2000; DEMIRBAS, 2009). Com relação aos álcoois, tanto metanol como etanol, butanol ou propanol podem ser utilizados, porém o metanol é preferencialmente aplicado em relação aos demais, por apresentar maior viabilidade técnica (álcool polar e de cadeia curta) e econômica (FREEDMAN; BUTTERFIELD; PRYDE, 1986; FUKUDA; KONDO; NODA, 2001; DEMIRBAS, 2009).

Figura 3. Reação de transesterificação de triglicerídeos com álcool.



FONTE: Adaptado de Leung; Koo; Guo (2006)

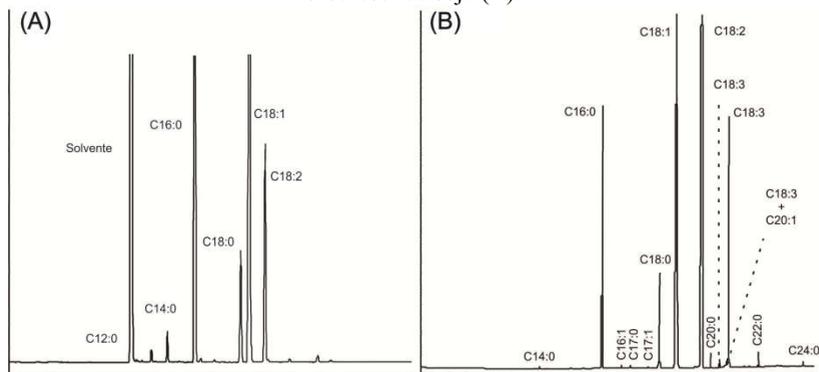
Os produtos da transesterificação metílica são denominados de ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAGs) (DEMELLO et al., 2007; ITRC, 2011; SMITH et al., 2016). As propriedades individuais dos EMAGs determinam as propriedades globais de um combustível a base de biodiesel, sendo que o percentual destes ésteres varia, entre outros fatores, de acordo com a matéria-prima vegetal utilizada e com o processo de fabricação (KNOTHE, 2005; SMITH et al., 2016). Na Tabela 8 constam algumas informações relacionadas à composição química dos ésteres metílicos do biodiesel, derivados tanto do óleo de palma como do óleo de soja, e, para melhor visualização das diferenças existentes na composição de ambos, na Figura 4 constam cromatogramas típicos de amostras de biodiesel de palma e de soja.

Tabela 8. Composição química do biodiesel puro de palma e de soja.

Éster	Óleo de Palma (%)	Óleo de Soja (%)
Metil Laurato (C12:0)	0,35	-
Metil Miristato (C14:0)	1,08	-
Metil Palmitato (C16:0)	43,79	12,1
Metil Palmítoleato (C16:1)	0,15	-
Metil Estearato (C18:0)	4,42	4,4
Metil Oleato (C18:1)	39,90	28,1
Metil Linoleato (C18:2)	9,59	42,0
Metil Linolenato (C18:3)	0,17	13,3
Metil Araquidato (C20:0)	0,38	-

FONTE: Adaptado de Darnoko e Cheryan (2000); Gomes (2008); Corseuil et al., (2011).

Figura 4. Cromatogramas típicos para o biodiesel de palma (A) e para o biodiesel de soja (B).



FONTE: Adaptado de Pauls (2011).

A crescente incorporação de biodiesel à matriz energética mundial, conduz também, a crescente probabilidade de derramamentos prejudiciais ao solo e às águas subterrâneas, assim, a compreensão do destino e transporte dos EMAGs em ambientes subsuperficiais é de fundamental importância para minimização dos possíveis impactos ao ambiente e à saúde pública (ITRC, 2011; SMITH et al., 2016). Para tanto, o conhecimento das propriedades físico-químicas destes ésteres metílicos torna-se indispensável, e neste contexto são apresentadas na Tabela 9 as principais propriedades vinculadas a distribuição dos EMAGs no ambiente, para os ésteres metílicos predominantes na formulação o biodiesel de palma e de soja.

Tabela 9. Propriedades físico-químicas dos principais ésteres metílicos do biodiesel de palma e de soja.

Composto	Fórmula Molecular	Massa Molecular (g.mol ⁻¹)	Densidade (g.cm ⁻³)	Solubilidade estimada à 22 °C (mg.L ⁻¹)	Solubilidade medida à 22 °C (mg.L ⁻¹)	Constante da Lei de Henry (estimado)	Pressão de Vapor estimada à 25 °C (mmHg)	Log K _{ow} estimada à 25 °C	Log K _{oc}
Metil Palmitato	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270,50	0,8520	9,1 x 10 ⁻³	4,0 x 10 ⁻³	1,9 x 10 ⁻²	4,8x10 ⁻⁴	7,4	4,26
Metil Estearato	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298,50	0,8498	9,3 x 10 ⁻⁴	3,0 x 10 ⁻⁴	1,4 x 10 ⁻²	3,3 x 10 ⁻⁵	8,4	4,79
Metil Oleato	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,50	0,8740	5,5 x 10 ⁻³	4,4 x 10 ⁻³	8,0 x 10 ⁻³	1,6 x 10 ⁻⁴	7,5	4,79
Metil Linoleato	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294,50	0,8890	1,9 x 10 ⁻²	2,1 x 10 ⁻²	1,9 x 10 ⁻³	9,9 x 10 ⁻⁵	6,8	-
Metil Linolenato	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292,50	0,895	5,8 x 10 ⁻²	9,2 x 10 ⁻²	2,1 x 10 ⁻⁴	3,1 x 10 ⁻⁵	6,3	-

FONTE: Adaptado de Krop et al., (1997); Sigma-Aldrich (2016).

Tabela 10. Propriedades físico-químicas do biodiesel (EMAGs) e do diesel.

Composto	Densidade (g.cm ⁻³)	Solubilidade em água à 25°C (mg.L ⁻¹)	Constante da Lei de Henry	Pressão de Vapor à 25 °C (mmHg)	Log K _{ow}
Biodiesel (EMAGs)	0,84 – 0,90	1,2 x 10 ⁻³ – 2,1 x 10 ⁻²	6,4 x 10 ⁻³ – 1,3	8,63 x 10 ⁻⁶ – 3,74 x 10 ⁻⁴	6,29 – 8,35
Diesel	0,87 – 0,95	5,0	2,4 x 10 ⁻³ – 3,0 x 10 ⁻²	2,12 – 26,4	3,3 – 7,06

FONTE: Adaptado de ITRC (2011).

De modo geral, as propriedades apresentadas na Tabela 9 exercem grande influência em relação a mobilidade dos compostos orgânicos em sistemas subsuperficiais. Apesar da longa cadeia carbônica dos EMAGs, as densidades relativas (relação entre a densidade do composto e a densidade da água) permanecem menores do que a densidade da água e, desta forma, quando liberados no ambiente subterrâneo, tendem a flotar no topo da franja capilar do lençol freático. Com relação à solubilidade, a hidrofobicidade da longa cadeia carbônica dos EMAGs, torna a molécula praticamente insolúvel em água. Os valores elevados dos coeficientes de partição octanol/água (K_{ow}) e carbono orgânico/água (K_{oc}) (Tabela 9) indicam, respectivamente, que são compostos com baixa capacidade de dissolução em água e alta capacidade de adsorção às fases orgânicas que possam estar presentes no ambiente subterrâneo, logo, são compostos com baixa mobilidade. Ainda, os ésteres metílicos apresentam baixa tendência à volatilização, em função, principalmente, de suas elevadas massas moleculares ($> 200 \text{ g.mol}^{-1}$). Todavia, ao usar esses dados para prever o comportamento dos EMAGs no ambiente subterrâneo é importante ter em mente que o biodiesel é uma mistura complexa e variável, e que os resultados podem ser tendenciosos pela presença de componentes vestigiais (SMITH et al., 2016).

O biodiesel é relativamente insolúvel e não apresenta potencial para gerar grandes plumas de fase aquosa, contudo, pode persistir como LNAPL em ambientes subsuperficiais por longos períodos de tempo (CHIARANDA, 2011; CORSEUIL et al., 2011; ITRC, 2011). Sendo que, tende a ser mais suscetível a biodegradação do que o óleo diesel convencional, em função da presença dos ácidos graxos que são facilmente degradadas pelos micro-organismos, ausência de moléculas aromáticas, algumas propriedades higroscópicas e disponibilidade de ligações éster de alta energia (Tabela 10) (CHIARANDA, 2011). Quando misturado ao diesel convencional, o biodiesel é preferencialmente degradado em relação aos compostos aromáticos (RAMOS et al., 2016), representando um efeito negativo ao processo de remediação do sítio contaminado. Além de que, é termicamente instável, é mais higroscópico e mais suscetível à oxidação do que os combustíveis a base de petróleo (FAZAL; HASEEB; MASJUKI, 2011; HASEEB et al., 2011). Assim, a estratégia de remediação pode ser elaborada considerando os métodos convencionalmente utilizados, aplicáveis às contaminações com compostos derivados do petróleo (ITRC, 2011), porém, essas abordagens tradicionais estão gradualmente sendo preteridas em relação às tecnologias inovadoras, voltadas para

cumprir as metas de remediação rapidamente (BACIOCCHI, 2013). Nesse sentido, apresentam-se nos itens a seguir considerações relacionadas à oxidação química e à biodegradação do biodiesel, dado o interesse de associação de ambas as estratégias como tecnologia de remediação para compostos que comportam-se como LNAPLs em sistemas subsuperficiais.

5.3.1 Oxidação dos EMAGs

Uma característica física dos EMAGs que deve ser considerada na avaliação de seu destino e comportamento em ambientes subsuperficiais, relaciona-se à sua vulnerabilidade à oxidação e auto oxidação (KNOTHE, 2007), além destes, mecanismos como hidrólise, decomposição térmica e/ou termo-oxidativa, também podem influenciar na estabilidade do biodiesel, principalmente quando da exposição a fatores químicos e ambientais adversos (DUNN, 2008; TANG et al., 2008). O processo de oxidação do biodiesel tem sido amplamente estudado, de modo geral, os resultados indicam que as reações de oxidação são aceleradas na presença de oxigênio, luz, peróxidos e metais, assim como, exposição à elevadas temperaturas (DUNN, 2008; KARAVALAKIS; STOURNAS; KARONIS, 2010; KNOTHE, 2007; KNOTHE; DUNN, 2003; ØSTERSTRØM et al., 2016; TANG et al., 2008). As propriedades físico-químicas do biodiesel também exercem influência sobre a oxidação, e sua estabilidade é igualmente dependente do perfil dos ácidos graxos da matéria-prima que o constitui (KNOTHE, 2007; DUNN, 2008; TANG et al., 2008; KARAVALAKIS; STOURNAS; KARONIS, 2010). Contudo, as taxas de oxidação dos ácidos graxos insaturados ou ésteres podem variar consideravelmente, tornando a compreensão deste processo extremamente complexa (KNOTHE, 2007).

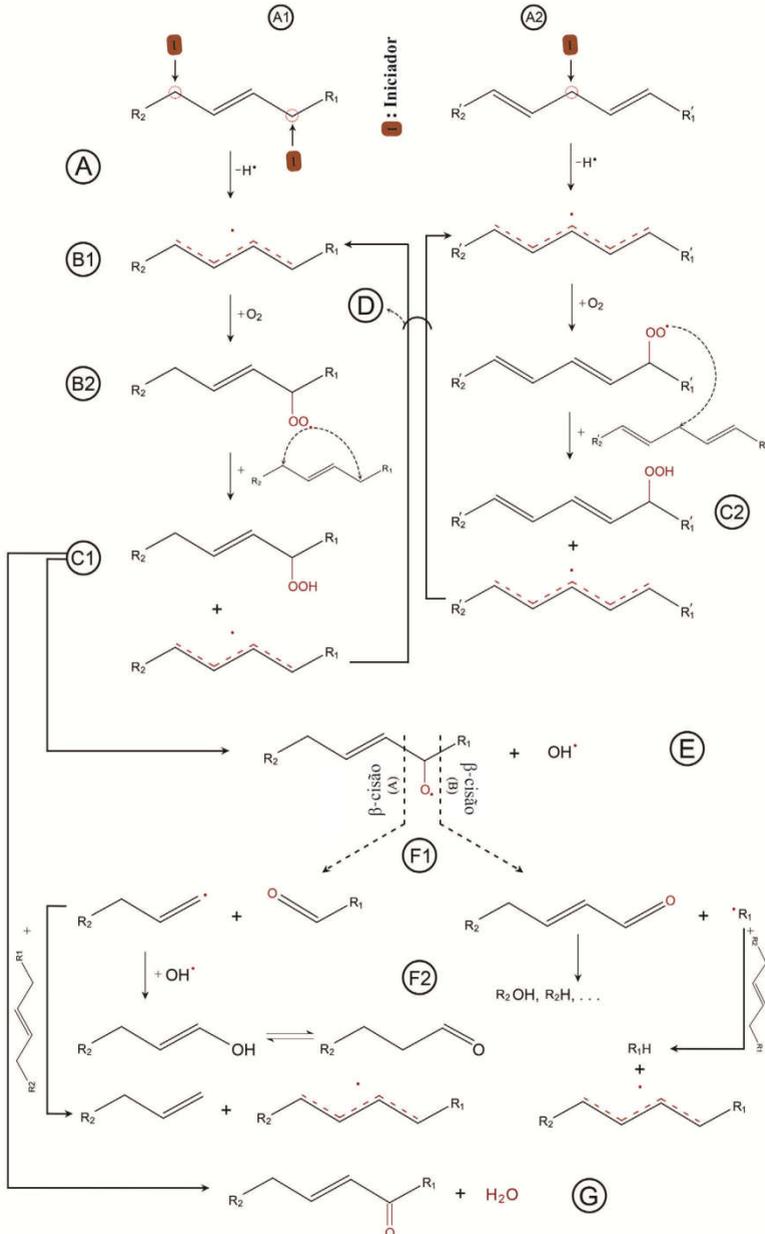
O detalhamento da evolução das reações de oxidação que podem ocorrer para o biodiesel é apresentado na Figura 5, sendo que o processo de oxidação dos EMAGs ocorre pelo desenvolvimento de reações em cadeia, que incluem três etapas fundamentais: iniciação, propagação e terminação. A oxidação é iniciada pela abstração do hidrogênio dos grupos metileno (CH_2) adjacentes às ligações duplas dos EMAGs insaturados (Figura 5-A), normalmente causada pela presença de espécies reativas de oxigênio. Como a energia de dissociação da ligação C-H nas posições *bis*-alílicos (Figura 5-A2) é menor do que a energia de dissociação nas posições alílicos (Figura 5-A1), os EMAGs que possuem ligações duplas de metileno interrompidas (ex.: C18:3 e C18:2)

tornam-se mais propensos à oxidação do que os EMAGs monossaturados (FANG; MCCORMICK, 2006; KNOTHE, 2002; MCCORMICK et al., 2007; OGAWA et al., 2008). Portanto, o metil linoleato e o metil linolenato são particularmente sensíveis, pois suas ligações duplas são espaçadas de tal forma que contém grupos metileno em posições alílicos às ligações duplas, para ambos os lados (*bis*-alílicos) (BANNISTER et al., 2011). Logo, a estabilidade do biodiesel em relação à oxidação não está correlacionada ao número total de ligações duplas, mas sim ao número total e às posições dos grupos metileno *bis*-alílicos às ligações duplas existentes nas cadeias (KARAVALAKIS; STOURNAS; KARONIS, 2010; KNOTHE, 2002; MCCORMICK et al., 2007).

Os produtos primários da oxidação do biodiesel são os radicais alquil (Figura 5-B1) e radicais peroxil (Figura 5-B2), que são altamente reativos e atacam prontamente outros radicais insaturados dos EMAGs, dando origem a uma reação em cadeia (Figura 5-D) (ZULETA et al., 2012). No estágio de propagação, hidropexidos e novos radicais alquil são formados pela abstração do hidrogênio das moléculas dos EMAGs (Figura 5-C1 e 5-C2) (ZULETA et al., 2012). A subsequente decomposição dos hidroperóxidos envolve uma série de reações complexas, considerando que a energia de dissociação da ligação O–O é menor do que a energia de dissociação da ligação O–H, a clivagem entre os átomos de oxigênio dos hidroperóxidos é energeticamente favorecida, e a evolução destas reações resulta na formação de um alcoxi (R–O) e de radicais hidroxila (Figura 5-E) (CHOE; MIN, 2006). A β -cisão homolítica (quebra em partes iguais) dos radicais resultantes das ligações C–C, conduz à formação de compostos oxigenados e radicais alquil (Figura 5-F1) e, posteriormente, à formação de aldeídos, cetonas e hidrocarbonetos de baixo peso molecular (produtos da oxidação secundária) (Figura 5-F2) (CHOE; MIN, 2006). Moléculas de água também são produzidas durante as reações de terminação (Figure 5-G), e as vias mais prováveis são através da decomposição parcial dos monohidroperóxidos, assim como, por reações de condensação aldólica dos produtos da oxidação secundária (ex.: aldeídos e cetona) (ZULETA et al., 2012). A água produzida nessas reações pode hidrolisar o grupo éster que compõem os EMAGs, deste modo, ácidos carboxílicos (ex.: ácido acético, ácido propiônico e ácido capróico) também podem ser formados a partir da oxidação do biodiesel (JAIN; SHARMA, 2010; ZULETA et al., 2012). Neste contexto, o processo de oxidação desencadeia uma série de reações, que por conseguinte, culminam na

geração de compostos que são solúveis e mais facilmente biodegradados (SMITH et al., 2016).

Figura 5. Reações de oxidação do biodiesel.



Fonte: Adaptado de Akhlagui et al. (2015b).

5.3.2 Biodegradação dos EMAGs

Os EMAGs podem ser biodegradados em condições aeróbias e anaeróbias (SMITH et al., 2016), contudo, a liberação de contaminantes, como o biodiesel, em solos e águas subterrâneas irá exercer uma alta demanda bioquímica de oxigênio, causando a rápida exaustão do oxigênio dissolvido e, conseqüentemente, o predomínio de condições anaeróbias (ANDERSON; LOVLEY, 1997; CORSEUIL et al., 2011; LOVLEY, 1997). Sendo que, de acordo com a pesquisa de Gomes (2008), seguindo o modelo energético de McCarty (MCCARTY, 1969), a demanda teórica de oxigênio necessária para a degradação do biodiesel é duas vezes maior do que a requerida para degradar o etanol, e oito vezes maior do que a exigida para degradar os compostos BTEX presentes na composição da gasolina (10% v/v). Deste modo, mesmo que acontecem recargas, os processos de degradação dos compostos que constituem o biodiesel, serão predominantemente anaeróbios em sistemas subsuperficiais.

Assim, com base no descrito no *item 5.2* (Biodegradação), a biodegradação anaeróbia do biodiesel ocorre inicialmente pela hidrólise dos EMAGs, via esterase, conduzindo a formação de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) e álcool (usualmente metanol em função da rota metílica de transesterificação) (Tabela 7 – Eq. 20). Os AGCL são oxidados via β -oxidação, pela clivagem até a produção de acetil-CoA, como exemplificado na Figura 6. Mais detalhadamente, os AGCL são ativados (tioéster-CoA) pela ação da enzima acil-CoA sintetase, em uma reação que requer energia na forma de ATP, e após a ativação, o carbono na posição beta é oxidado, originando moléculas de acetil-CoA (fragmentos de dois carbonos) (SOUSA et al., 2009a). Deste modo, as moléculas de AGCL perdem dois átomos de carbono (Eq. 25), e são sequencialmente oxidadas até a completa conversão à acetil-CoA. Na etapa final, a molécula de acetil-CoA é convertida à CH_3COO^- , que posteriormente é degradado à CO_2 , H_2 ou CH_4 (CHAPELLE, 2001).

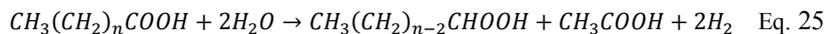
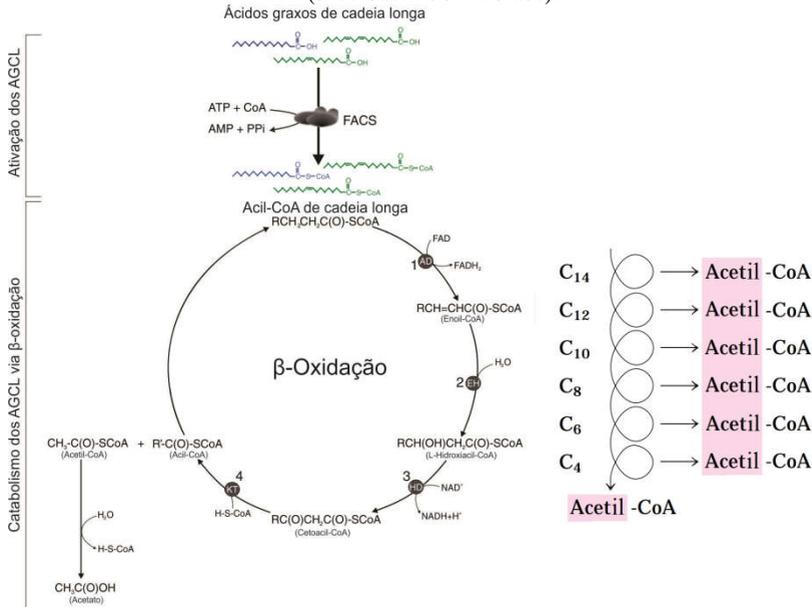


Figura 6. Degradação dos AGCL via β -oxidação. As enzimas que catalisam cada etapa da reação são: FACS (acil-CoA sintase), AD (acil-CoA desidrogenase), EH (enoil-Coa hidratase), HD (L-3 desidrogenase hidroxiacil), KT (3-cetoacil-CoA tiolase).



FONTE: Adaptado de Sousa et al. (2009); Nelson e Cox (2012).

Considerando o predomínio de condições metanogênicas, relações simbióticas entre micro-organismos acetogênicos que convertem os AGCL à CH_3COO^- e H_2 , são fundamentais para o manter, principalmente, o H_2 em baixas concentrações, de tal forma a impedir seu acúmulo no sistema e, por conseguinte, garantir a continuidade das reações de degradação. Dessa maneira, durante a etapa de metanogênese, as bactérias acetoclásticas consomem o acetato formando CH_4 e CO_2 (Tabela 7 – Eq. 23), enquanto que, as arqueas metanogênicas hidrogenotróficas consomem o hidrogênio até a formação de CH_4 (Tabela 7 – Eq. 24) (CHAPELLE, 2001). Nesse contexto, na Tabela 11 constam alguns micro-organismos que atuam em simbiose para a degradação de AGCL.

Tabela 11. Micro-organismos associados à degradação dos AGCL.

Micro-organismo	Micro-organismo em simbiose	Composto
<i>Syntrophomonas bryantii</i>	<i>Methanospirillum hungatei</i> <i>Desulfovibrio</i> sp. E70	C4:0 à C10:0
<i>Syntrophomonas cellicola</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i> <i>Desulfovibrio</i> sp. G11	C4:0 à C8:0
<i>Syntrophomonas curvata</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i>	C4:0 à C18:0, C18:1
<i>Syntrophomonas erecta erecta</i>	<i>Methanospirillum hungatei</i>	C4:0 à C8:0
<i>Syntrophomonas erecta sporosyntropha</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i>	C4:0 à C8:0
<i>Syntrophomonas palmitatica</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i>	C4:0 à C18:0
<i>Syntrophomonas saponavida</i>	<i>Methanospirillum hungatei</i> <i>Desulfovibrio</i> sp. G11	C4:0 à C18:0
<i>Syntrophomonas sapororans</i>	<i>Methanospirillum hungatei</i>	C4:0 à C18:0, C18:1, C18:2
<i>Syntrophomonas wolfei methylbutyratica</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i>	C4:0 à C8:0
<i>Syntrophomonas wolfei wolfei</i>	<i>Methanospirillum hungatei</i> <i>Desulfovibrio</i> sp. G11	C4:0 à C8:0
<i>Syntrophomonas zehnderi</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i>	C4:0 à C18:0, C18:1, C18:2
<i>Syntrophus aciditrophicus</i>	<i>Methanospirillum hungatei</i> <i>Desulfovibrio</i> sp. G11	C4:0 à C8:0, C16:0, C18:0
<i>Syntrophothermus lipocalidus</i>	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	C4:0 à C10:0
<i>Thermosyntropha lipolytica</i>	<i>Methanobacterium</i> strain JW/VS-M29	C4:0 à C18:0, C18:1, C18:2

FONTE: Adaptado de Sousa (2006); Sousa et al., (2009); Sousa et al., (2010).

Além dos apresentados na Tabela 11, micro-organismos do gênero *Clostridium* também foram detectados com grande abundância entre as comunidades que degradam AGCL (SOUSA et al., 2009a), assim como, micro-organismos dos gêneros *Ralstonia*, *Geobacter*, *Desulfosporosinus*, *Desulfobacca*, *Pelotomaculum*, *Cupriavidus*, *Burkholderia*, *Magnetospirillum* e outros, estão associados à degradação de uma variedade de compostos que são produzidos durante a degradação dos AGCL, tais como, ácidos carboxílicos, ácidos orgânicos, açúcares, álcoois e amino ácidos (BELOVA; PANKRATOV; DEDYSH, 2006; BODOUR et al., 2003; CHAUHAN; OGRAM, 2006; CHRISTOFI; IVSHINA, 2002; CORD-RUWISCH; LOVLEY; SCHINK, 1998; CRAMM, 2009; LIU et al., 2004; LOVLEY et al.,

1993; MAKKAR; CASIDA, 1987; O'SULLIVAN; MAHENTHIRALINGAM, 2005; OUDE ELFERINK et al., 1999; PAGNIER; RAOULT; LA SCOLA, 2011; RAMAMOORTHY et al., 2006; ROBERTSON et al., 2001; SCHINK, 1997; SCHLEIFER et al., 1991; SHINODA et al., 2005; SIEBER; MCINERNEY; GUNSALUS, 2012; SINGLETON et al., 2005; YABUUCHI et al., 1992).

De modo geral, a interação dos EMAGs na água subterrânea permanece mal compreendida (ITRC, 2011). Sabe-se, no entanto, que o esgotamento da zona da fonte ocorre por uma combinação de processos que culminam na redução da massa dos EMAGs no sistema subsuperficial (ITRC, 2009). Entre esses processos, a dissolução dos EMAGs na água subterrânea, que pode ser acelerada pelo processo de oxidação química parcial, e biodegradação anaeróbia via β -oxidação. Assim, apesar dos benefícios já consolidados da utilização do biodiesel, fica a incerteza com relação à interação e a dinâmica dos processos de degradação em solos e águas subterrâneas.

5.4 Combinação Entre Tecnologias

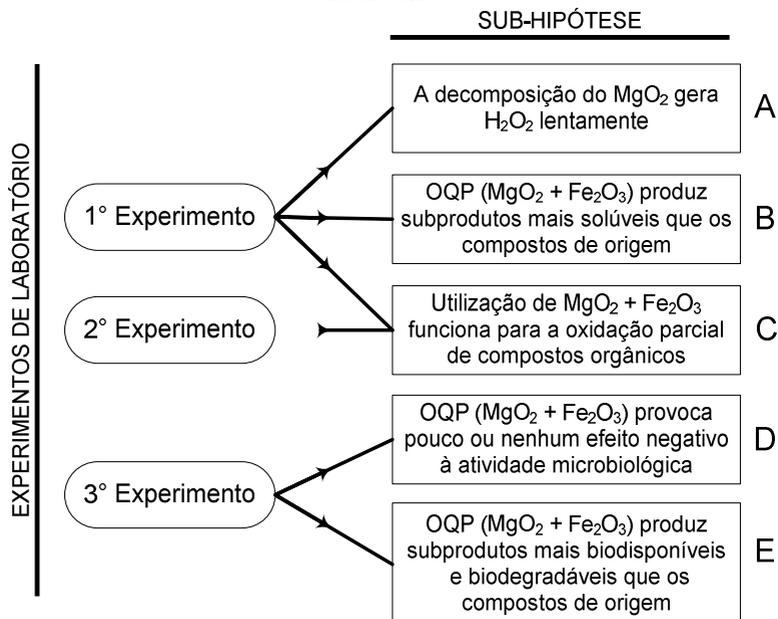
As considerações apresentadas relativamente a ISCO, limitações relacionadas às abordagens tradicionais, benefícios associados à utilização de oxidantes como o MgO_2 e de catalisadores como o Fe_2O_3 DAM, assim como, as inúmeras pesquisas que demonstram resultados positivos para a associação da ISCO à biodegradação na atenuação de uma diversidade de compostos orgânicos em solos em águas subterrâneas (KALUDJERSKI; GUROL, 2004; KAO; WU, 2000; KULIK et al., 2006; MARTENS; FRANKENBERGER, 1995; NAM; RODRIGUEZ; KUKOR, 2001; XIE; BARCELONA, 2003; SUTTON et al., 2010, 2014, 2015; VALDERRAMA et al., 2009; LU et al., 2010; PARDO et al., 2015b, 2014; CASSIDY; NORTHUP; HAMPTON, 2009; NDJOU'OU; BOU-NASR; CASSIDY, 2006), fortalecem a hipótese que sustenta o desenvolvimento desta pesquisa. Neste sentido, é conjecturado que a ISCO modificada pela utilização de MgO_2 e Fe_2O_3 DAM, para o desenvolvimento de um processo de oxidação química parcial associado à biodegradação (OQP-B), favorece a dissolução e a produção de subprodutos solúveis e biodisponíveis (KULIK et al., 2006), que podem ser posteriormente removidos por processos de biodegradação (KULIK et al., 2006; VALDERRAMA et al., 2009), e desta maneira configura-se como um estratégia de remediação técnica e economicamente viável para ambientes subsuperficiais impactados por compostos que comportam-se como LNAPLs.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Experimento de Laboratório

As atividades em laboratório foram elaboradas através de três experimentos distintos, conduzidos prévia e paralelamente ao experimento de campo, com objetivo de testar as hipóteses que sustentam o desenvolvimento desta pesquisa. O detalhamento de cada experimento é descrito nos itens a seguir, sendo que, para montagem de todos os testes utilizou-se a relação de 1:1:0,1 (contaminante:oxidante:catalisador) na composição das misturas, em função de análises anteriores, assim como, de dados da literatura específica (CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001; GOI et al., 2011; ITRC, 2005; KANEL et al., 2004; KHODAVEISI et al., 2011; WATTS; TEEL, 2005, 2006). Na Figura 7 consta um fluxograma representativo de todos os experimentos realizados em laboratório.

Figura 7. Fluxograma representativo dos experimentos realizados em laboratório.



6.1.1 1º Experimento: Sub-Hipóteses 'A', 'B' e 'C'

Este experimento foi montado em frascos de 100 mL, para verificação do efeito da oxidação química parcial em relação ao óleo de palma, sendo que diferentes misturas foram realizadas de acordo com a descrição apresentada na Tabela 12. Para a montagem dos microcosmos, os materiais foram pesados em balança de precisão, transferidos para os frascos e homogeneizados. Por fim, os recipientes de vidro previamente esterilizados, foram fechados com septos de borracha e lacres de alumínio, e incubados durante 17 dias em estufa com temperatura controlada (25 °C). Na Figura 8 constam imagens dos microcosmos montados em laboratório.

Tabela 12. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas nos microcosmos – teste com óleo de palma.

	Teste	Quantidade	Volume Final
1	H ₂ O	99,5 mL	100 mL
	Fe ₂ O ₃	0,5 g	
2	H ₂ O	94,38 mL	100 mL
	Óleo de Palma	5 g	
3	H ₂ O	93,88 mL	100 mL
	Óleo de Palma	5 g	
	Fe ₂ O ₃	0,5 g	
4	H ₂ O	95 mL	100 mL
	MgO ₂	5 g	
5	H ₂ O	89,51 mL	100 mL
	Óleo de Palma	5 g	
	MgO ₂	5 g	
6	H ₂ O	88,88 mL	100 mL
	Óleo de Palma	5 g	
	MgO ₂	5 g	
	Fe ₂ O ₃	0,5 g	

Figura 8. Imagem dos microcosmos – teste com óleo de palma.



Os reagentes químicos (MgO_2 e Fe_2O_3) foram produtos puros da marca Sigma-Aldrich. O óleo de palma foi um produto comumente comercializado. Com relação à água, foi previamente esterilizada para posteriormente ser utilizada nos microcosmos. Os parâmetros indicados na Tabela 13 foram analisados após 11 e 17 dias de incubação (teste do tipo sacrifício).

Tabela 13. Parâmetros analisados após 11 e 17 dias de incubação dos microcosmos.

Parâmetro	Metodologia
H_2O_2	Kit para detecção de H_2O_2 HACH 2291700 – Modelo HYP-1 (faixa de detecção: 0,2 – 10 $mg.L^{-1}$)
DQO	Teste para determinação de DQO Lovibond 2420720 (faixa de detecção: 0 – 150 $mg.L^{-1}$)
Compostos Orgânicos	O equipamento utilizado foi um cromatógrafo Agilent 6850 GC – 5975C VL, equipado com coluna DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,10 μm) A programação de temperaturas foi: início a 250 °C, forno de 50°C para 300°C, com rampa de aquecimento de 2 °C/minuto As amostras foram coletadas utilizando uma pipeta de 2 mL e a extração líquido-líquido foi conduzida com hexano antes da detecção dos compostos orgânicos, identificação e semi-quantificação

Um teste com óleo de soja foi montado apenas para comparação em relação à produção de compostos solúveis, as misturas realizadas constam na Tabela 14 e uma imagem dos microcosmos é apresentada na Figura 9, destacando que as condições de contorno foram as mesmas aplicadas para o teste com óleo de palma.

Figura 9. Imagem dos microcosmos – teste com óleo de soja.



Tabela 14. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas nos microcosmos – teste com óleo de soja.

	Teste	Quantidade	Volume Final
1	H ₂ O	94,51 mL	100 mL
	Óleo de Soja	5 g	
2	H ₂ O	89,01 mL	100 mL
	Óleo de Soja	5 g	
	MgO ₂	5 g	
	Fe ₂ O ₃	0,5 g	

Basicamente, o objetivo deste experimento foi testar o processo de oxidação química parcial, e deste modo verificar se H₂O₂ poderia ser gerado a partir da decomposição do MgO₂ com Fe₂O₃ como catalisador, assim como, se metabolitos solúveis poderiam ser produzidos pela oxidação dos óleos vegetais testados. A realização destes testes ocorreu no *Laboratoire Ampère* da *École Centrale de Lyon*, durante doutorado sanduíche realizado em Lyon, na França.

6.1.2 2° Experimento: Sub-Hipótese ‘C’

Este experimento foi montado em reatores com 5 L de capacidade, para verificação do efeito da oxidação química parcial em relação ao óleo de palma, com e sem a associação ao processo de biodegradação. Sendo que diferentes misturas foram realizadas de acordo com o descrito na Tabela 15. Para montagem dos reatores, os materiais foram pesados em balança de precisão, transferidos separadamente para os recipientes e homogeneizados, posteriormente, os reatores foram selados pela instalação do sistema de captação de gases, acoplado ao topo de cada unidade. O monitoramento diário foi efetuado para avaliação quantitativa do volume de gás gerado em cada reator. Uma imagem dos reatores consta na Figura 10.

Tabela 15. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas nos reatores.

	Teste	Quantidade	Volume Final
1	H ₂ O	5 L	5 L
	Inóculo Misto	1 mL	
2	H ₂ O	5 L	5 L
	Glicose	50 g	
	Inóculo Misto	1 mL	
3	H ₂ O	4,75 L	5 L
	Óleo de Palma	250 g	
4	H ₂ O	4,75 L	5 L
	Óleo de Palma	250 g	
	Inóculo Misto	1 mL	
5	H ₂ O	4,75 L	5 L
	Óleo de Palma	250 g	
	MgO ₂	250 g	
	Fe ₂ O ₃	25	
6	H ₂ O	4,75 L	5 L
	Óleo de Palma	250 g	
	MgO ₂	250 g	
	Fe ₂ O ₃	25	
	Inóculo Misto	1 mL	

Figura 10. Imagem dos reatores montados.



Os reagentes químicos (MgO₂ e Fe₂O₃) foram produtos puros da marca Sigma-Aldrich. O óleo de palma foi um produto comumente comercializado. Com relação à água, foi previamente esterilizada para posteriormente ser utilizada nos reatores. E os inóculos mistos foram

extraídos de amostras de lodo anaeróbico líquido, proveniente da estação de tratamento de efluentes do município. Destacando que, este experimento também foi realizado no *Laboratoire Ampère* da *École Centrale de Lyon*, durante doutorado sanduíche realizado em Lyon, na França.

6.1.3 3º Experimento: Sub-Hipóteses ‘D’ e ‘E’

Este experimento foi montado em frascos âmbar com 1 L de capacidade, para avaliação da aplicabilidade do processo de biodegradação de forma associada à oxidação química parcial, com foco nas comunidades microbianas envolvidas nos processos de degradação. Assim, diferentes misturas foram realizadas de acordo com a descrição apresentada na Tabela 16, sendo que, os materiais foram pesados em balança de precisão, transferidos separadamente para os frascos e homogeneizados, posteriormente os recipientes foram lacrados e mantidos em sala com temperatura controlada durante 6 meses. Ao final do período experimental os parâmetros descritos na Tabela 18 foram analisados.

Tabela 16. Detalhamento dos materiais e quantidades utilizadas no experimento.

	Teste	Quantidade	Volume Final
1	H ₂ O _{Subterrânea}	≈ 800 mL	1 L
	Solo	200 g	
2	H ₂ O _{Subterrânea}	≈ 622 mL	1 L
	Solo	200 g	
	Biodiesel de soja	50 g	
	H ₂ O ₂ (50%)	114 mL	
	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂	14 g	
3	H ₂ O _{Subterrânea}	≈ 695 mL	1 L
	Solo	200 g	
	Biodiesel de soja	50 g	
	MgO ₂	50 g	
	Fe ₂ O ₃ DAM	5 g	

A descrição dos compostos químicos utilizados (MgO₂ + Fe₂O₃ DAM) para o desenvolvimento da OQP-B constam na Tabela 17, sendo que foram os mesmos produtos do experimento de campo. A reação Fenton tradicional foi reproduzida pela utilização de peróxido de hidrogênio (50%) e o sulfato ferroso de amônio (98,5%) (H₂O₂ + Fe(NH₄)₂(SO₄)₂), produtos comerciais das marcas Dinâmica e Vetec,

respectivamente. O sulfato ferroso de amônia foi utilizado pois em solução libera íons de ferro (Fe^{2+}). Sendo que, para este experimento optou-se pela utilização de biodiesel de soja (fornecido pela Refinaria Presidente Getúlio Vargas – REPAR) em virtude da limitada disponibilidade de refinarias de biodiesel de palma no País, não tendo sido possível obter este biocombustível em tempo hábil para realização desta etapa da pesquisa. A água subterrânea, foi coletada na Fazenda Experimental da Ressacada (detalhamento no *item 6.2*) e caracterizada de acordo com os parâmetros indicados na Tabela 20 (detalhamento no *item 6.2.2*).

Tabela 17. Descrição dos compostos utilizados no processo de oxidação química parcial.

Composto	Descrição
MgO_2	Produto comercial conhecido como <i>Pertox MG 15</i> , composto por 15,18% de MgO_2 , cujo laudo consta no Anexo I.
Fe_2O_3 DAM	Produto produzido na Carbonífera Criciúma, indústria localizada no estado de Santa Catarina, Brasil, pelo aproveitamento de lodo químico industrial, resultante do tratamento da drenagem ácida de mina (DAM), o qual envolve a precipitação seguida da calcinação dos rejeitos da mineração do carvão, cujo método foi descrito por Andersen et al. (2012) e Flores et al. (2012), e a caracterização química consta no laudo apresentado no Anexo II.

Tabela 18. Parâmetros a serem analisados ao final do experimento.

Parâmetro	Metodologia	
pH	pHmetro	Análise realizada no Núcleo REMA ¹
qPCR	Descrição detalhada do método no <i>item 6.2.2.2</i>	Laboratoire Ampère ²
Sequenciamento do gene 16S rRNA	Tecnologia Illumina MiSeq Descrição detalhada do método no <i>item 6.2.2.2</i>	Laboratoire Ampère ²

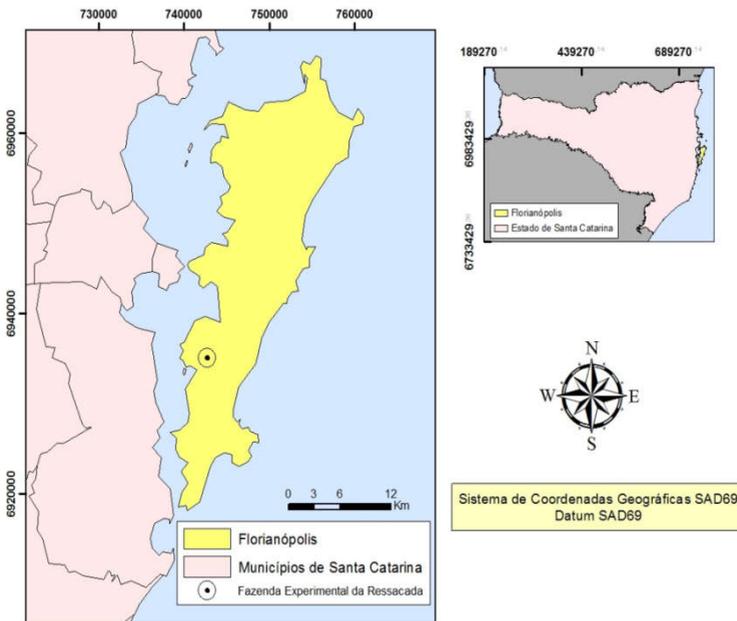
¹ Núcleo Ressacada de Pesquisas em Meio Ambiente, UFCS – Florianópolis/Brasil.

² Laboratoire Ampère, École Centrale de Lyon – Lyon/França

6.2 Experimento de Campo (OQP-B)

O experimento de campo foi realizado na Fazenda Experimental da Ressacada, uma propriedade da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC – Campus Sul da Ilha), situada a sudoeste da cidade de Florianópolis/SC, conforme apresentado na Figura 11. A região possui declividade que varia entre 0 e 3% (relativamente plana), e está localizada a 5,5 m em relação ao nível do mar.

Figura 11. Localização da Fazenda Experimental da Ressacada num contexto regional.



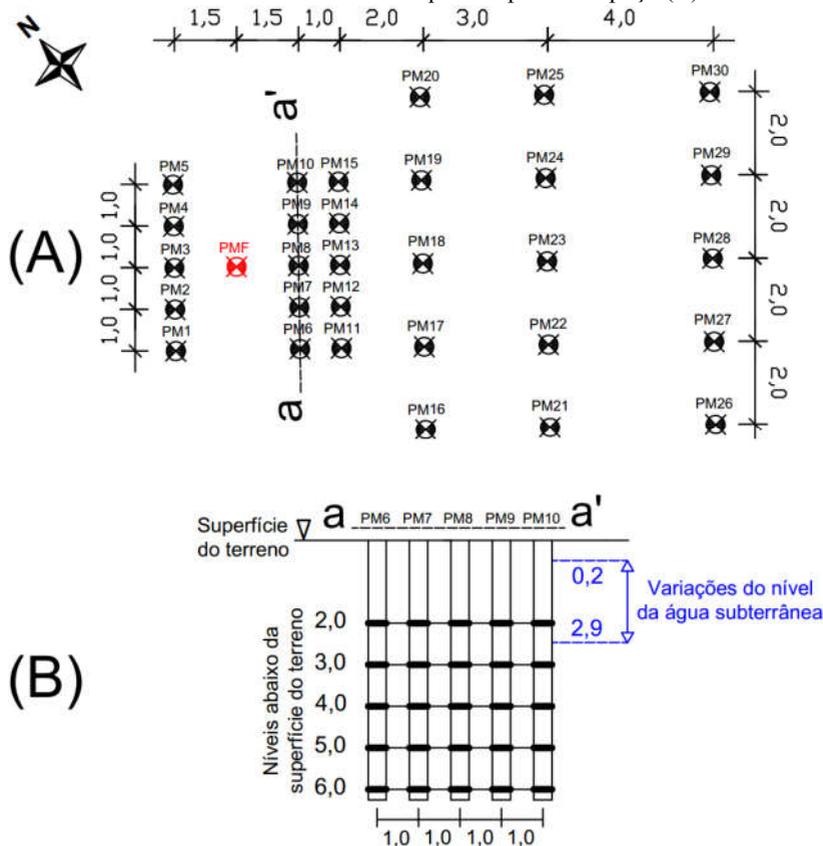
Para o desenvolvimento do estudo uma área experimental foi construída, 30 poços multiníveis de monitoramento foram distribuídos estrategicamente em uma área de aproximadamente 180 m². Cada poço foi instalado através da fixação de um cano de PVC, equipado em seu interior com 5 mangueiras de polietileno, fixadas independentemente a 2 (amarelo), 3 (azul), 4 (verde), 5 (vermelho) e 6 (preto) metros de profundidade em relação ao nível do terreno (5 níveis de monitoramento), e utilizadas para a coleta das amostras de água subterrânea, tal como demonstrado na Figura 12. Na extremidade inferior de cada mangueira foi acoplado um filtro de tela de aço

inoxidável, para evitar entupimentos, entrada excessiva de sólidos e produtos em fase livre, capazes de interferir nas análises físico-químicas e microbiológicas da água subterrânea. Um esquema detalhado, com as dimensões da área, distâncias entre os poços e os diferentes níveis de monitoramento, assim como, a localização da fonte de contaminação consta na Figura 13.

Figura 12. Visualização da área experimental com detalhamento de um poço de monitoramento e identificação da profundidade de cada nível que o compõem. Os níveis 2, 3, 4, 5 e 6 m correspondem às cores amarelo, azul, verde, vermelho e preto, respectivamente.



Figura 13. Área experimental com a distâncias entre os poços e os diferentes níveis de monitoramento (A); Corte transversal a – a' mostrando a profundidade dos níveis de monitoramento que compõem um poço (B).



No dia 26 de fevereiro de 2014 o experimento de campo teve início pela liberação controlada de 100 L de biodiesel de palma (B100) (laudo disponível no Anexo III), diretamente na zona saturada do aquífero (1,8 metros abaixo da superfície do terreno). Para o monitoramento do fluxo advectivo, 3 kg de brometo de potássio (dissolvido em água subterrânea coletada na própria área experimental) foram lançados previamente à liberação do contaminante. O processo de oxidação química parcial foi desenvolvido pela introdução de MgO_2 e partículas de Fe_2O_3 recuperados do tratamento da DAM (Tabela 17), ambos foram dissolvidos em água subterrânea e adicionados de forma separada e sequencial. A fonte de contaminação foi coberta novamente

com o solo original e iniciou-se o monitoramento experimental. Imagens referentes a instalação da fonte de contaminação são apresentadas nas Figuras 14 e 15, e o detalhamento referente às quantidades dos produtos químicos utilizados consta na Tabela 19. Tal como nos experimentos de laboratório, optou-se pela utilização da relação 1:1:0,1 (contaminante:oxidante:catalisador) em função de análises anteriores, assim como, de dados da literatura específica (CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001; GOI et al., 2011; ITRC, 2005; KANEL et al., 2004; KHODAVEISI et al., 2011; WATTS; TEEL, 2005, 2006).

Tabela 19. Descrição dos produtos e quantidades utilizadas para a instalação da fonte de contaminação.

Produto	Quantidade	Detalhamento
Brometo de Potássio (KBr)	3 Kg	Traçador
Biodiesel de palma (B100)	100 L	Contaminante
PERTOX MG15	88 Kg	Oxidante
Fe ₂ O ₃ DAM	8,8 Kg	Catalisador

Figura 14. Estabelecimento da fonte de contaminação e detalhamento de suas dimensões (A); Cobertura da área escavada com o solo original e fechamento da fonte de contaminação (B).

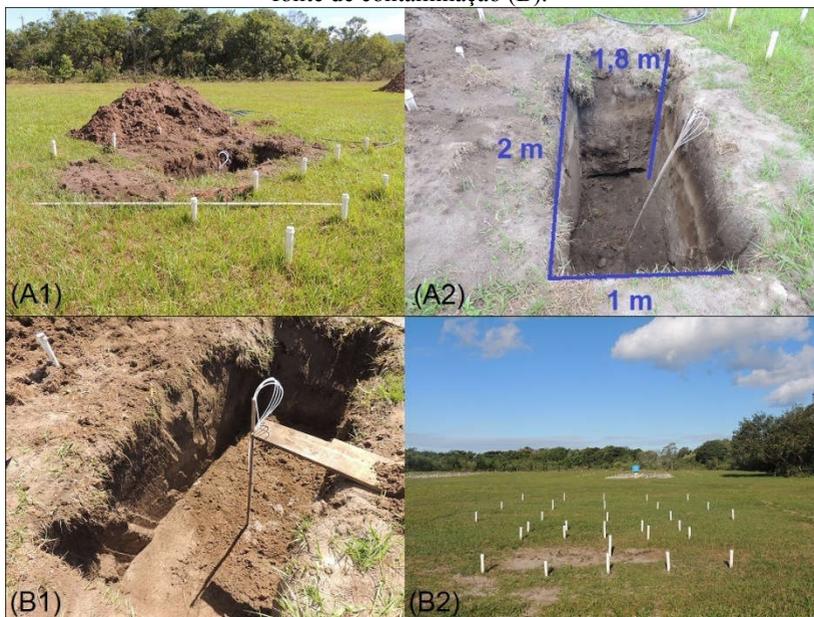


Figura 15. Lançamento do brometo de potássio (A); Liberação do biodiesel de palma (B), do MgO_2 (C) e do Fe_2O_3 recuperados da DAM (D).



Cabe mencionar que não foi utilizado qualquer tipo de cobertura (ex.: lona plástica ou pedrisco) sobre a área experimental, a fim de favorecer, tanto os processos de recarga do aquífero como o processo de oxidação química parcial.

6.2.1 *Caracterização Hidrogeológica e Geoquímica da Área Experimental*

A caracterização hidrogeológica e geoquímica da área experimental foi realizada previamente à liberação do contaminante.

6.2.1.2 Condutividade Hidráulica (K)

A determinação da condutividade hidráulica na porção saturada foi efetuada no estudo de Lage (2005), seguindo os preceitos do Método de Hvorslev (1951), descrito pela Equação 26.

$$K = \frac{r^2 \ln\left(\frac{L}{R}\right)}{2Lt_L} \quad \text{Eq. 26}$$

Onde:

K = condutividade hidráulica (cm/s);

r = raio efetivo do piezômetro (cm);

L = comprimento do filtro (cm);

R = raio do filtro incluindo o pré-filtro (cm);

t_0 = intervalo de tempo quando $\frac{h_t}{h_0} = 37\%$.

Sendo que, testes de *Slug* foram realizados em campo para os pontos localizados no entorno da área experimental (Figura 16), de tal forma, à obter-se a condutividade hidráulica da formação na vizinhança imediata de cada poço. De acordo com Lage (2005), como a porção ensaiada do aquífero foi relativamente pequena, uma quantidade representativa de testes foi executada para a obtenção de um valor médio representativo.

6.2.1.3 Perfil Estratigráfico

Para a determinação do perfil estratigráfico algumas sondagens foram realizadas até 6 metros de profundidade, em relação ao nível do terreno. Os poços PMF, PM13 e PM28, indicados na Figura 13, foram utilizados como base para o estudo do perfil estratigráfico do local. Este procedimento foi efetuado durante a instalação dos poços de monitoramento na área experimental, utilizando-se o “*Prospecting Kit for Soil*” da *Mastrad Ltd* (conjunto de equipamentos para exploração e amostragem de solos). Após a coleta, o material foi removido do amostrador e a geologia da amostra foi determinada visualmente. Posteriormente, uma amostra de cada camada de solo foi enviada para laboratório, onde foram realizados ensaios complementares.

6.2.1.4 Granulometria

A análise de granulometria foi realizada em laboratório externo, pela Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC), seguindo os preceitos da NBR 7.181 (ABNT, 1984). Assim, foi possível caracterizar o diâmetro dos grãos e as proporções relativas em que se encontram distribuídos no solo.

6.2.1.5 Porosidade Efetiva (η_e)

A porosidade efetiva do solo foi determinada pelo Laboratório de Irrigação e Drenagem, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), seguindo o método da *Mesa de Tensão* (LEAMER; SHAW, 1941). As Equações 27, 28 e 29 foram utilizadas.

$$\eta_t = \frac{(a-b)}{a} \times 100 \quad \text{Eq. 27}$$

$$W_t = \frac{(m_d - m_s)}{m_s} \times 100 \quad \text{Eq. 28}$$

$$\eta_e = \eta_t \quad W_r \quad \text{Eq. 29}$$

Onde:

- η_t = porosidade total (%);
- a = densidade da partícula (g/cm^3);
- b = densidade aparente (g/cm^3);
- W_r = umidade retida (%);
- m_d = massa de solo drenada (g);
- m_s = massa de solo seca (g);
- η_e = porosidade efetiva (%).

Ressaltando que, amostras indeformadas das camadas de solo que compõem o perfil estratigráfico da área, foram coletadas para a determinação da porosidade efetiva. A análise foi realizada em triplicata.

6.2.1.6 Velocidade Intersticial (v)

Para determinação da velocidade intersticial foram utilizados os dados de carga potenciométrica medidos em campo, condutividade hidráulica na porção saturada e porosidade efetiva, aplicados à Equação 30 que descreve a Lei de Darcy.

$$v = \frac{K_{sat}}{\eta_e} \times \frac{dH}{dL} \quad \text{Eq. 30}$$

Onde:

v = velocidade intersticial (cm/s);

K_{sat} = condutividade hidráulica saturada (cm/s);

$\frac{dH}{dL}$ = gradiente hidráulico (m/m);

η_e = porosidade específica (adimensional).

O *software AutoCad 2007* também foi utilizado para a estimativa da velocidade intersticial da água subterrânea através dos poros do solo.

6.2.1.7 Caracterização Geoquímica

Para a caracterização geoquímica do aquífero foi realizada a determinação dos nutrientes (nitrogênio total, ferro total, enxofre, zinco, manganês, boro, cobre, fósforo, potássio, alumínio, magnésio, cálcio e sódio) presentes no solo, assim como do teor de matéria orgânica e outros parâmetros indicativos da fertilidade do solo. As análises foram realizadas pela Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC).

6.2.2 Caracterização Físico-Química e de Biologia Molecular da Água Subterrânea da Área Experimental

As análises físico-químicas e de miologia molecular dos parâmetros descritos na Tabela 20, foram utilizadas para a caracterização da hidroquímica inicial e para o monitoramento que foi conduzido durante todo o período experimental.

Tabela 20. Parâmetros de análise da água subterrânea.

Parâmetro	Metodologia	Local
pH*		
Temperatura*		
Condutividade Específica*	Analisador <i>Micropurge® Flow Cell</i> Modelo MP20 Marca QED	Análise realizada em campo
Salinidade*		
Potencial de Oxidação-Redução*		
Oxigênio Dissolvido*		
Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂)	Peroxide Test MQuant Método colorimétrico (0,5 – 25 mg.L ⁻¹ /1 – 100 mg.L ⁻¹)	
Nitrato (NO ₃ ⁻)*	Cromatógrafo de Íons Dionex Modelo ICS-3000 Método 4110B (APHA, 1998)	
Fosfato (PO ₄ ³⁻)*		
Sulfato (SO ₄ ²⁻)*		
Nitrito (NO ₂ ⁻)*		
Brometo (Br ⁻)*		
Cloreto (Cl ⁻)*		
Acetato (CH ₃ COO ⁻)*		
Metano (CH ₄)	Cromatógrafo à gás Modelo 7890B	
Ácidos Orgânicos Voláteis	Cromatógrafo à gás Modelo 6890N Método descrito por (MORAES et al., 2001)	Núcleo REMA ¹
Ferro ferroso (Fe ²⁺)*	Método 3500D (APHA, 1998)	
Sulfeto*	Método 4500D (APHA, 1998)	Espectrofotômetro HACH – DR/2500
Dureza (Mg ²⁺)*	Método 8030 (APHA, 1998)	
Acidez*	Métodos 2310B e 2320B (APHA, 1998)	
Alcalinidade*		
Bactérias totais*	Método RT-qPCR	Laboratório Ampère ²
Sequenciamento do gene 16S rRNA*	Illumina Technologies	
COD*	Analisador TOC-L SHIMADZU	Laboratório LIMA ³
COT	Analisador TOC-Vcph SHIMADZU	Laboratório LEMA ⁴

* Parâmetro analisado na caracterização hidroquímica inicial.

¹ Núcleo Ressacada de Pesquisas em Meio Ambiente, UFSC, Florianópolis, Brasil.

² Laboratoire Ampère, École Centrale de Lyon, Lyon, França.

³ Laboratório Integrado de Meio Ambiente, UFSC, Florianópolis, Brasil.

⁴ Laboratório Energia e Meio Ambiente, UFSC, Florianópolis, Brasil.

6.2.2.1 Hidroquímica Inicial da Água Subterrânea

A análise hidroquímica inicial da água subterrânea (branco da área) foi desenvolvida previamente ao início do experimento (denotado pela liberação do contaminante e químicos utilizados no processo de remediação), com o objetivo de possibilitar um estudo das mudanças significativas na degradação dos contaminantes ao longo do tempo. As amostras de água subterrânea foram coletadas nos pontos indicados na Tabela 21, e posteriormente analisadas com relação aos parâmetros físico-químicos e de biologia molecular indicados na Tabela 20. A descrição dos procedimentos analíticos e de coleta das amostras constam no *item 6.2.2.2.*

Tabela 21. Detalhamento dos pontos de coleta de amostras para a hidroquímica inicial.

Poço	Nível (m)
PM4	2 e 3
PM6	2 e 3
PM13	3
PM23	2 e 4
PM30	2, 4 e 6

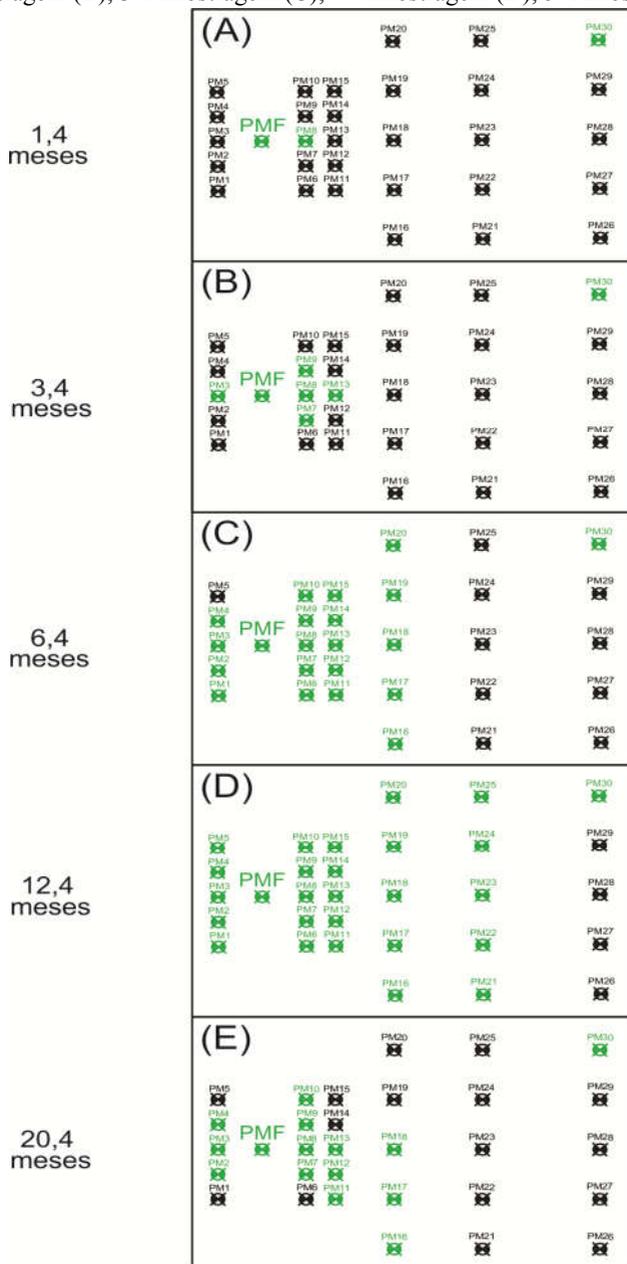
6.2.2.2 Monitoramento Experimental da Água Subterrânea

O monitoramento experimental de todos os parâmetros físico-químicos e de biologia molecular indicados na Tabela 20, foi realizado através de cinco amostragens da água subterrânea, desenvolvidas durante o período experimental de aproximadamente 20 meses (Tabela 22). Cada coleta foi efetuada em pontos de interesse da área experimental (Figura 17), sendo que para os parâmetros de biologia molecular, a coleta foi realizada apenas para a região da fonte de contaminação (PMF e PM8) e poço controle (PM30). As amostragens foram conduzidas no sentido dos pontos de menor concentração para os de maior concentração, evitando assim problemas de contaminação cruzada. Para cada poço amostrado, uma mangueira *Masterflex® Tygon* diferenciada foi utilizada, pois este tipo de mangueira não apresenta reatividade aos compostos químicos utilizados nesta pesquisa.

Tabela 22. Detalhamento do período de realização das amostragens no experimento de campo.

Amostragem	Período	Tempo (meses)
Hidroquímica inicial	Agosto/2013	-
Início do experimento	Fevereiro/2014	-
1° amostragem	Abril/2014	1,4
2° amostragem	Junho/2014	3,4
3° amostragem	Setembro/2014	6,4
4° amostragem	Março/2015	12,4
5° amostragem	Novembro/2015	20,4

Figura 17. Pontos de coleta de cada amostragem. 1º Amostragem (A); 2º Amostragem (B); 3º Amostragem (C); 4º Amostragem (D); 5º Amostragem (E).



A coleta das amostras foi por bombeamento, utilizando uma bomba peristáltica da marca *Millipore* (Modelo *Easy-Load*), sendo que somente teve início quando evidenciada a condição de equilíbrio da água subterrânea, denotada pela estabilização dos valores de pH, oxigênio dissolvido (OD), potencial de oxirredução (POR) e demais parâmetros medidos em campo (Tabela 20). As amostras foram coletadas de forma a evitar aeração e os recipientes foram totalmente preenchidos (sem headspace), sendo que, foram acondicionadas em frascos apropriados e mantidas sob refrigeração até a realização das análises. Algumas considerações relativamente aos procedimentos de análise, são descritas nos itens a seguir.

a) Parâmetros Físico-Químicos

Os ânions nitrato, fosfato, sulfato, nitrito, brometo, cloreto e acetato foram analisados em cromatógrafo equipado com detector de condutividade iônica (*Dionex ICS 3000*), utilizando como fase móvel soluções de carbonato de sódio (4,5 mM) e de bicarbonato de sódio (1,4 mM). A coluna utilizada foi AS19 (4 x 250 mm) e o volume de injeção foi de 25 μL , de acordo com o método 4110B “*Ion Chromatography with Chemical Suppression of Eluent Conductivity*” (APHA, 1998). O limite de detecção foi de 8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o ânion brometo e de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os demais ânions. As amostras foram coletadas em frascos de 30 mL e acondicionadas sob refrigeração (5 °C) até a realização da análise.

Com relação ao metano, a solução padrão foi preparada a partir de uma mistura padrão de 65% de metano e 25% de dióxido de carbono, posteriormente, o gás padrão foi borbulhado dentro de um recipiente contendo água ultrapura, até a obtenção do equilíbrio entre as duas fases (gasosa e aquosa), e assim a concentração do metano na fase aquosa foi calculada com base na lei de Henry, e representada em miligramas por litro de água (STUMM; MORGAN, 1981). As amostras foram analisadas em cromatógrafo a gás da marca Agilent (modelo 7890B), equipado com detector por ionização em chama (FID), coluna capilar de sílica fundida HP 1 (30 m x 0.53 mm x 2.65 μm) e amostrador automático (modelo 7697A). O gás de arraste foi hélio, com velocidade de 3,0 mL.min^{-1} . A temperatura do injetor e detector foi de 160°C e 260°C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi mantida a 40 °C durante 3 minutos, depois foi elevada de 40 °C até 220°C a 30 $^{\circ}\text{C.min}^{-1}$ (durante 3 minutos). O limite de detecção foi de 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$. As amostras foram coletadas e armazenadas em frascos de 40 mL, com tampa

plástica e septo de teflon, contendo HCl (1:1) para manter o pH abaixo de 2,0 e inibir a atividade microbiológica (US EPA, 2001).

As análises de ácidos orgânicos voláteis foram realizadas conforme metodologia proposta por Moraes et al. (2001), em cromatógrafo a gás da marca Agilent (modelo 6890N) equipado com detector de ionização de chama (FID), coluna capilar HPInnowax Polietilenoglicol (30m x 0,25 mm x 0,25 µm), amostrador automático (modelo 7694) e injetor automático (modelo 7683). As temperaturas do injetor e detector foram mantidas, respectivamente, a 220 °C e 300 °C. A temperatura inicial do forno foi mantida a 100 °C durante 2 minutos, depois foi elevada de 100 °C até 180°C a 7 °C.min⁻¹ (durante 1 minutos) e até 240 °C a 30 °C.min⁻¹ (durante 1 minutos). Para o preparo da curva de calibração foi utilizado uma mistura padrão da marca *Supelco (Volatile Acid Standard Mix)* contendo os seguintes compostos: ácido acético, ácido butírico, ácido fórmico, ácido heptanóico, ácido hexanóico, ácido isobutírico, ácido isocapróico, ácido isovalérico, ácido propiônico e ácido valérico. Sendo que o limite de detecção é de aproximadamente 0,1 mg.L⁻¹ para cada ácido. A coleta das amostras para análise de ácidos orgânicos voláteis foi realizada em frasco âmbar de 30 mL contendo ácido oxálico (0,83 M) para manter o pH baixo e os ácidos em sua forma não ionizada.

As análises de ferro (II), sulfeto e magnésio (dureza) foram realizadas em espectrofotômetro de bancada marca HACH (Modelo DR/2500). Para o ferro (II) utilizou-se o método 1,10 fenantrolina 3500 – Fe D, para o sulfeto utilizou-se o método de azul de metileno 4500 – S²⁻ D e para a análise de magnésio utilizou-se o método colorimétrico de calmagite 8030 (APHA, 1998). A absorbância das amostras foi analisada nos comprimentos de onda de 510, 664 e 520 nm para ferro (II), sulfeto e magnésio, respectivamente (APHA, 1998). O limite de detecção para ferro (II) foi de 0,01 mg.L⁻¹, para sulfeto foi de 5 µg.L⁻¹, e para magnésio foi de 0,07 mg.L⁻¹. As amostras foram coletadas em frasco âmbar de 250 mL e acondicionadas sob refrigeração até o início da análise. O volume de 25 mL foi utilizado para as análises de ferro (II) e sulfeto, e para a análise de magnésio foi utilizado o volume de 100 mL.

As análises de acidez e alcalinidade foram realizadas pela técnica de titulometria, por meio dos métodos 2310B e 2320B (APHA, 1998). A titulação foi conduzida com bureta digital (*Eppendorf e Brinkmann*) e o ponto de viragem foi monitorado com auxílio de um pHmetro da marca HACH SensION+ (eletrodo modelo 5050T). Para a determinação da acidez foi utilizada uma solução padronizada de hidróxido de sódio

(NaOH) 0,02M e o ponto de viragem estabelecido em pH 8,3. Para alcalinidade utilizou-se uma solução padronizada de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,01M e o ponto de viragem estabelecido em pH 4,3. Os resultados são expressos em mg de $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ para os dois parâmetros de análise. As amostras foram coletadas em frasco âmbar de 250 mL e acondicionadas sob refrigeração até o início da análise. O volume de 50 mL foi utilizado para a quantificação da acidez e alcalinidade da água subterrânea.

Todas as análises acima mencionadas foram realizadas no laboratório do Núcleo Ressacada de Pesquisas em Meio Ambiente (REMA) da UFSC. A análise de carbono orgânico dissolvido (COD) foi realizada no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) da UFSC, pela utilização do aparelho TOC-L 5000 (Marca Shimadzu), sendo que as amostras foram coletadas em frascos de 30 mL, com tampa plástica e septo de teflon, contendo HCl (1:1) para manter o pH abaixo de 2,0, posteriormente foram filtradas à vácuo através de filtros de acetato de celulose (poro de 0,45 μm), e em seguida acondicionadas sob refrigeração até o início da análise. A análise de carbono orgânico total (COT) foi realizada no Laboratório de Energia e Meio Ambiente (LEMA) da UFSC, pelo método da mineralização completa por combustão e análise por infravermelho no equipamento TOC-Vcph (Marca Shimadzu) (faixa de detecção: 0,004 – 25000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), sendo os procedimentos de coleta e preservação das amostras foram os mesmos aplicados para a análise de COD. Cabe ressaltar que, a análise de carbono orgânico total foi realizada apenas em uma amostragem nos experimentos OQP-B e ANM (utilizado como controle comparativo – vide *item 6.3*), após 30,6 (OQP-B) e 99,2 (ANM) meses do início de cada experimento.

b) Parâmetros de Biologia Molecular

Com relação aos parâmetros de biologia molecular, foram realizadas análises de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT qPCR – *Real-time quantitative Polymerase Chain Reaction*) e sequenciamento do gene 16S rRNA, ambas efetuadas durante o doutorado sanduíche no Laboratoire Ampère da École Centrale de Lyon, Lyon/França. Para tanto, amostras de 1 L de água subterrânea foram coletadas em frascos âmbar, acondicionadas sob refrigeração, e posteriormente filtradas em membranas Millipore 0,22 μm (material de polietersulfona hidrofílico). Os filtros com o conteúdo microbiológico de interesse foram submetidos ao processo de extração de DNA,

utilizando o kit *MoBio Power Soil*TM (Carlsbad, CA), sendo que a realização desta etapa foi conduzida de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA obtido foi armazenado em freezer a uma temperatura de aproximadamente -20°C. As amostras foram coletadas em duplicata nos poços PMF, PM8 e PM30.

A análise de RT-qPCR foi conduzida para avaliação das mudanças na biomassa (bactérias totais) que constitui a água subterrânea da área experimental, para tanto, os iniciadores descritos na Tabela 23 foram utilizados. As reações de PCR foram conduzidas em triplicata e continham 400 nM de cada iniciador (fluxo e contra-fluxo), 1x do 2xSensiFAST SYBER[®] No Rox Mix, e água esterilizada DNAase-free para completar o volume final de 20 µL. A análise foi conduzida em termociclador Rotor-Gene[®] Q (QIAGEN) com as seguintes condições de temperatura: 95 °C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos a 95 °C por 5 segundos, 60 °C por 10 segundos e 72 °C por 15 segundos. Os resultados foram expressos em número de cópias de gene por grama de sólidos suspensos totais. O limite de detecção foi na ordem de 10² cópia de gene por grama de solo.

Tabela 23. Sequências dos iniciadores utilizados nas análises de qPCR e sequenciamento do gene 16S rRNA.

Análise	Iniciador (fluxo)	Iniciador (contra-fluxo)	Referências
qPCR	5'CTACGGGAGGCA GCAG3' (341F)	5'ATTACCGCGGCT GCTGGCA-3' (534R)	Muyzer; DeWaal; Uitterlinden, 1993)
Sequenciamento do gene 16S rRNA	5'TCGTCGGCAGCG TCAGATGTGTATA AGAGACAG	5'GTCTCTGTTGGCT CGGAGATGTGTAT AAGAGACAG	Klindworth et al. (2013)

O sequenciamento do gene 16S rRNA foi realizado para avaliar as comunidades microbianas existentes na água subterrânea da área experimental. As regiões variáveis, V3 e V4, codificadas pelo gene 16S rRNA foram amplificadas por PCR e sequenciadas utilizando tecnologia Illumina MiSeq (<http://web.uri.edu/gsc/files/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf>). A primeira PCR de limpeza foi realizada em termociclador Biometra[®] Tpersonal e o detalhamento dos iniciadores utilizados consta na Tabela 23. As reações de PCR continham 1,5 µL de DNA genômico, 0,5 µL do fragmento amplificado da PCR dos iniciadores (fluxo e contra-fluxo – 10 µM), 2,5 µL de Taq Buffer (10x), 0,5 µL de Invitrogen dNTP (10 mM), 0,5 µL de Titanium Taq (50x) e 19 µL de água esterilizada. O volume final foi de 25 µL. As

seguintes condições foram utilizadas para a amplificação do DNA: desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos e 30 ciclos de desnaturação a 95 °C por 30 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos, e extensão a 72 °C por 30 segundos, seguido de uma extensão final à 72 °C por 5 minutos, sendo que no final a temperatura foi mantida a 10 °C. Os produtos da PCR foram purificados utilizando 1,5% agarose gel e kit GE Healthcare (eluído com 20 µL de Tris-Cl 10 mM em pH 8,5). Os produtos purificados da PCR foram então quantificados utilizando o kit de análise Quant-iT dsDNA HS e fluorímetro Qubit (Invitrogen). As etapas seguintes foram: segunda PCR de limpeza, quantificação e normalização, desnaturação e carregamento das amostras na plataforma Illumina MiSeq para processamento.

As leituras obtidas na plataforma Illumina MiSeq foram submetidas à uma etapa de tratamento de dados com recursos computacionais. A etapa inicial foi a remoção dos códigos de barras (20 pb) utilizando a ferramenta `fastx_trimmer` (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/commandline.html). O software PANDAseq foi utilizado para o emparelhamento final das leituras do Illumina, o linear de qualidade foi de 0,6 (MASELLA et al., 2012). As sequências brutas obtidas foram então processadas e analisadas utilizando o software QUIIME versão 1.8.1 (CAPORASO et al., 2010). Posteriormente, as sequências foram agrupadas de acordo com as unidades operacionais taxonômicas (OTUs), utilizando critério de similaridade de 97%, seguindo o roteiro `QIIME pick_closed_reference_otus.py` e algoritmo UCLUST (EDGAR, 2010). O banco de dados Greengenes 13 foi utilizado para caracterização de cada OTU de acordo com a informação taxonômica equivalente.

6.2.3 Caracterização do Solo da Área Experimental – Final do Período de Monitoramento

Ao final do período de monitoramento as áreas dos experimentos OQP-B e ANM (utilizada como controle comparativo – vide *item 6.3*), foram perfuradas para a análise do solo em relação ao conteúdo de óleos e graxas, assim como, carbono orgânico total (COT). Os parâmetros e métodos de análise constam na Tabela 24. Este procedimento foi realizado após 30,6 meses no experimento OQP-B e 99,2 meses no experimento ANM, ambos em relação ao início do experimento.

As prospecções foram realizadas na região da fonte e no poço controle de cada área experimental, como demonstrado na Figura 18, sendo que as características de cada fonte (experimento OQP-B e ANM)

foram consideradas para a delimitação da amostragem do solo. Para o experimento OQP-B a profundidade perfurada foi de 2 m, e a espessura da camada coletada foi de 0,5 m, considerando que o nível da água subterrânea estava 1,65 m (PE03) no dia que as amostras foram coletadas. Já para o experimento ANM, a profundidade perfurada foi de 1,9 m e a espessura da camada coletada foi de 0,5 m, considerando que o nível da água subterrânea estava 1,52 m (PZ03) no dia que as amostras foram coletadas.

Tabela 24. Detalhamento dos parâmetros e metodologias utilizadas para a análise do solo dos experimentos OQP-B e ANM.

Parâmetro	Metodologia	Local
Óleo e graxa	Método 5520D e 5520F (APHA, 2005)	Laboratório Acquaplant
Carbono orgânico total (COT)	Método da combustão catalítica Espectrofotômetro Nagel	

¹ Laboratório Acquaplant, Joinville, Brasil

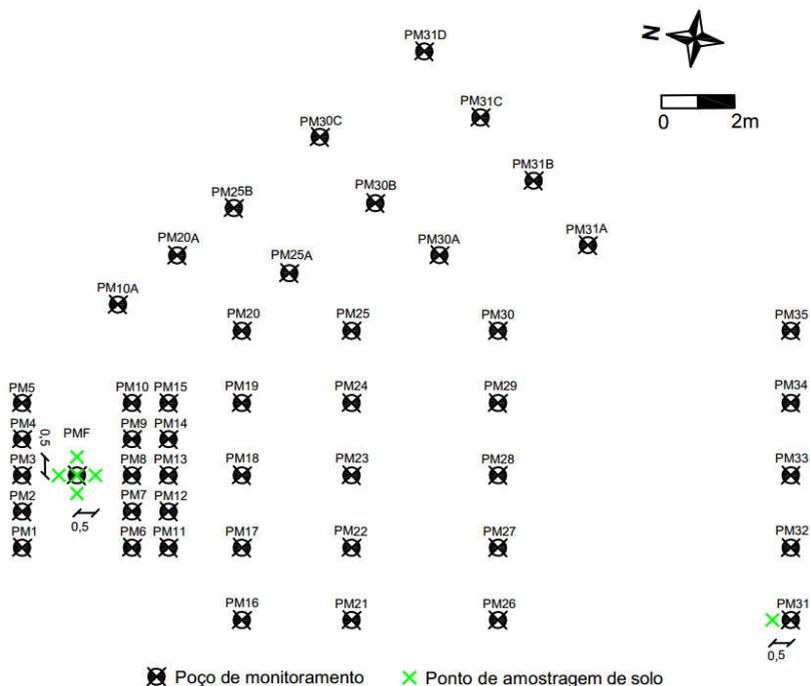
As alterações do solo no experimento OQP-B foram analisadas em comparação ao experimento ANM, para avaliar a remoção dos contaminantes na fase LNAPL em relação às estratégias de remediação aplicadas em cada experimento (OQP-B e ANM).

Figura 18. Localização das prospecções nos experimentos OQP-B e ANM.

OQP-B



ANM



6.3 Experimento de Campo Controle (ANM)

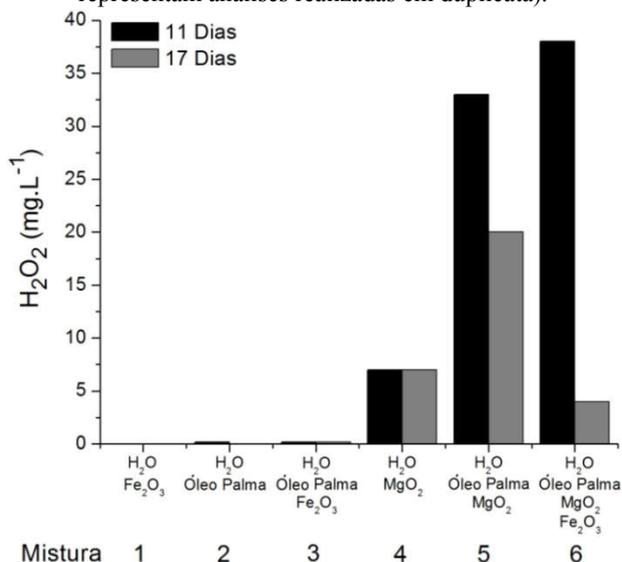
Um experimento de campo, anteriormente realizado para remediação de 100 L do biodiesel de soja, sob atenuação natural monitorada (ANM), foi utilizado como controle dos processos resultantes da OQP-B. Assim, a comparação relativamente às alterações geoquímicas e eficácia global de cada técnica foi possibilitada. O detalhamento correspondente à este experimento consta na pesquisa de Chiaranda (2011). Sendo que, como forma de complementação dos resultados já existentes, foram realizadas análises de sequenciamento do gene 16S rRNA de amostras coletadas no PMF (fonte de contaminação) e PM31 (controle), cujo DNA encontravam-se conservado sob congelamento à -80 °C. O método de análise consta no *item 6.2.2.2*, acima descrito.

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 Experimento de Laboratório

O MgO_2 foi utilizado para liberar lentamente H_2O_2 e, conseqüentemente, melhorar a dissolução de compostos que comporta-se como LNAPLs na águas subterrâneas, pelo desenvolvimento de um processo de oxidação química parcial. A geração de H_2O_2 pela decomposição do MgO_2 foi demonstrada (Figura 19), e elevadas concentrações de H_2O_2 foram registradas para os microcosmos que continham MgO_2 e óleo de palma (Figura 19 – Misturas 5 e 6). Este resultado pode ser atribuído à presença de hidroperóxidos, que são normalmente produzidos pela oxidação dos ácidos graxos do óleo de palma (vide Figura 5). Além disso, a presença do catalisador (Fe_2O_3) tem potencial para acelerar a produção de hidroperóxidos, assim como de outras espécies reativas (vide Tabela 4 – Eq. 14 – 18), que possivelmente contribuíram para o aumento da concentração de H_2O_2 observado em 11 dias (Figura 19 – Mistura 6). Logo, o aumento na produção de espécies reativas pela decomposição catalítica do H_2O_2 , pode ter acelerado a conversão dos compostos do óleo de palma para hidrocarbonetos de baixo peso molecular (tais como: álcoois, aldeídos e cetonas), dada a redução na concentração de H_2O_2 após 17 dias (Figura 19 – Mistura 6). Nos outros microcosmos (Figura 19 – Misturas 1, 2, 3 e 4) as concentrações de H_2O_2 permaneceram abaixo de 7 mg.L^{-1} e não apresentaram variações significativas ao longo dos 17 dias de incubação. Deste modo, a hipótese de que existe uma liberação lenta de H_2O_2 é suportada pelas concentrações relativamente elevadas, detectadas em 11 dias de incubação, isso em comparação à outras abordagens da ISCO (CaO_2 e $\text{H}_2\text{O}_{2(\text{aq.})}$), em que a decomposição completa do H_2O_2 ocorre em algumas horas (NORTHUP; CASSIDY, 2008; PETRI et al., 2011; LIU et al., 2014). Desta forma, a liberação lenta de H_2O_2 pela decomposição do MgO_2 e catalise do Fe_2O_3 , torna esta abordagem modificada da ISCO, adequada e menos agressiva, para um processo de remediação de solos e águas subterrâneas.

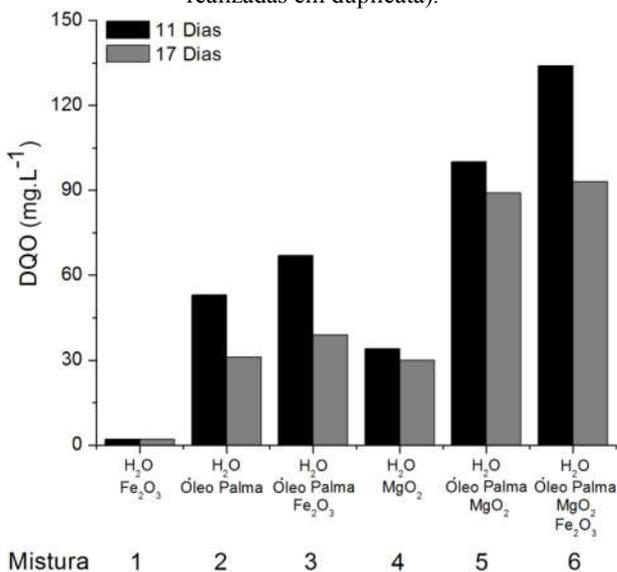
Figura 19. Produção de H_2O_2 a partir da decomposição de MgO_2 obtida em experimentos de laboratório após incubação de 11 e 17 dias (os dados representam análises realizadas em duplicata).



A evolução das reações de oxidação na presença de peróxidos, assim como, a dissolução dos compostos do óleo de palma e liberação de subprodutos solúveis, tendem a exercer uma elevada demanda química de oxigênio (DQO) na água subterrânea, configurando-se como um parâmetro importante para avaliação do grau das alterações provocadas pela oxidação química (CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001). Os experimentos realizados em laboratório demonstraram que a DQO foi proporcional à geração de H_2O_2 para o período de 11 dias de incubação (Figura 20 – Misturas 5 e 6), resultado possivelmente associado à oxidação parcial do óleo de palma via difusão do MgO_2 . Sendo que para as mesmas misturas (5 e 6), após 17 dias de incubação houve uma redução da DQO, o que pode estar vinculado à diminuição das concentrações de H_2O_2 registradas para o mesmo período de tempo, contudo, corrobora com hipótese de que a oxidação química funciona de forma parcial e lentamente, e pode ser um indicativo de que alguns compostos do óleo de palma foram oxidados à hidrocarbonetos de baixo peso molecular. A DQO registrada para os testes 2 e 3 (Figura 20 – Misturas 2 e 3) possivelmente está vinculada a presença do óleo de palma nas misturas. E a DQO medida no teste com H_2O e MgO_2 (Figura 20 – Mistura 4) foi resultado da decomposição do

MgO₂ e possível interferência dos reagentes químicos que compõe o teste (sulfato de mercúrio e ácido sulfúrico 82%). De modo geral, observou-se uma redução da demanda química de oxigênio ao longo do tempo, aparentemente consequência da menor dissolução dos compostos para a fase aquosa. A decomposição do MgO₂ é considerada complexa, os resultados obtidos evidenciam que o processo ocorre via difusão, pela liberação lenta de H₂O₂, fator que resulta num processo de oxidação parcial dos compostos orgânicos.

Figura 20. Demanda química de oxigênio (DQO) obtida em experimentos de laboratório após incubação de 11 e 17 dias (os dados representam análises realizadas em duplicata).



A remediação de contaminantes orgânicos pouco solúveis em água é constantemente confrontada por limitações relacionadas à sorção e lenta dissolução para a fase aquosa desse tipo de composto, assim como, por sua baixa biodisponibilidade (LUNDSTEDT; PERSSON; ÖBERG, 2006; RIVAS, 2006; SILVA et al., 2009; VALDERRAMA et al., 2009), todavia, a oxidação química parcial pode representar um efeito positivo em relação a este cenário, dado que tem potencial para aumentar a dissolução dos compostos e, por conseguinte, produzir subprodutos solúveis e biodisponíveis (KULIK et al., 2006; VALDERRAMA et al., 2009). Dessa maneira, pela análise dos resultados obtidos relativamente aos compostos orgânicos produzidos

após intervenção com OQP (Figura 22), é possível inferir que o número de compostos solúveis liberados para a fase aquosa foi significativamente superior quando MgO_2 e Fe_2O_3 foram utilizados em comparação aos controles após 11 dias do início da reação (Figura 21-A). Além disso, compostos fortemente associados à oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa (ex.: aldeídos, álcoois e ácidos graxos) foram detectados após 11 dias (Figura 22-C), enquanto que, para os controles (sem MgO_2 e Fe_2O_3) a produção de compostos orgânicos foi consideravelmente menor (Figura 21). Um padrão similar foi observado após 17 dias de incubação, mas o número de metabolitos detectados diminuiu (Figura 22-D), sugerindo que alguns destes compostos podem ter sido totalmente oxidados. Uma vez que os metabolitos foram menos abundantes nas misturas utilizadas como controle (Figura 21-A e 21-B), a oxidação química parcial pode ser postulada como responsável pelo aumento na dissolução do óleo de palma e produção de subprodutos solúveis. Sendo que, tais resultados corroboram com as constatações de pesquisas desenvolvidas anteriormente (MARTENS; FRANKENBERGER, 1995; KALUDJERSKI; GUROL, 2004; KAO; WU, 2000; LEE; HOSOMI, 2001; NAM; RODRIGUEZ; KUKOR, 2001; VALDERRAMA et al., 2009).

O biodiesel de soja e o biodiesel de palma apresentam composições semelhantes relativamente aos EMAGs, contudo, o teor de cada éster metílico é geralmente distinto (ex.: metil oleato no biodiesel de soja: 28,1% e no biodiesel de palma: 39,9%) (DARNOKO; CHERYAN, 2000; CORSEUIL et al., 2011), fator que pode resultar num padrão diferenciado relativamente aos subprodutos gerados após a dissolução e oxidação, podendo assim afetar o perfil das comunidades microbianas, e portanto o processo de remediação como um todo, em virtude da associação da oxidação química parcial à biodegradação. Deste modo, os experimentos de laboratório foram conduzidos com óleo de palma e óleo de soja (tal como descrito no *item 6.1.1*), para avaliação dos subprodutos gerados após a intervenção com OQP, e os resultados revelaram um padrão de dissolução semelhante para a OQP de ambos (Figuras 21, 22, 23 e 24). Assim, este resultado é um indicativo de que o perfil das comunidades microbianas dos experimentos realizados em laboratório (*item 6.1.3 – 3º Experimento*) e em campo (*item 6.3 – Experimento de Campo Controle*) com biodiesel de soja, podem ser comparados aos dados obtidos por meio do experimento de campo realizado com biodiesel de palma (OQP-B), dado que compostos semelhantes foram liberados para água subterrânea após intervenção com OQP.

Figura 21. Cromatogramas CG do óleo de palma em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água e óleo de palma após 11 dias (A). Água e óleo de palma após 17 dias (B).

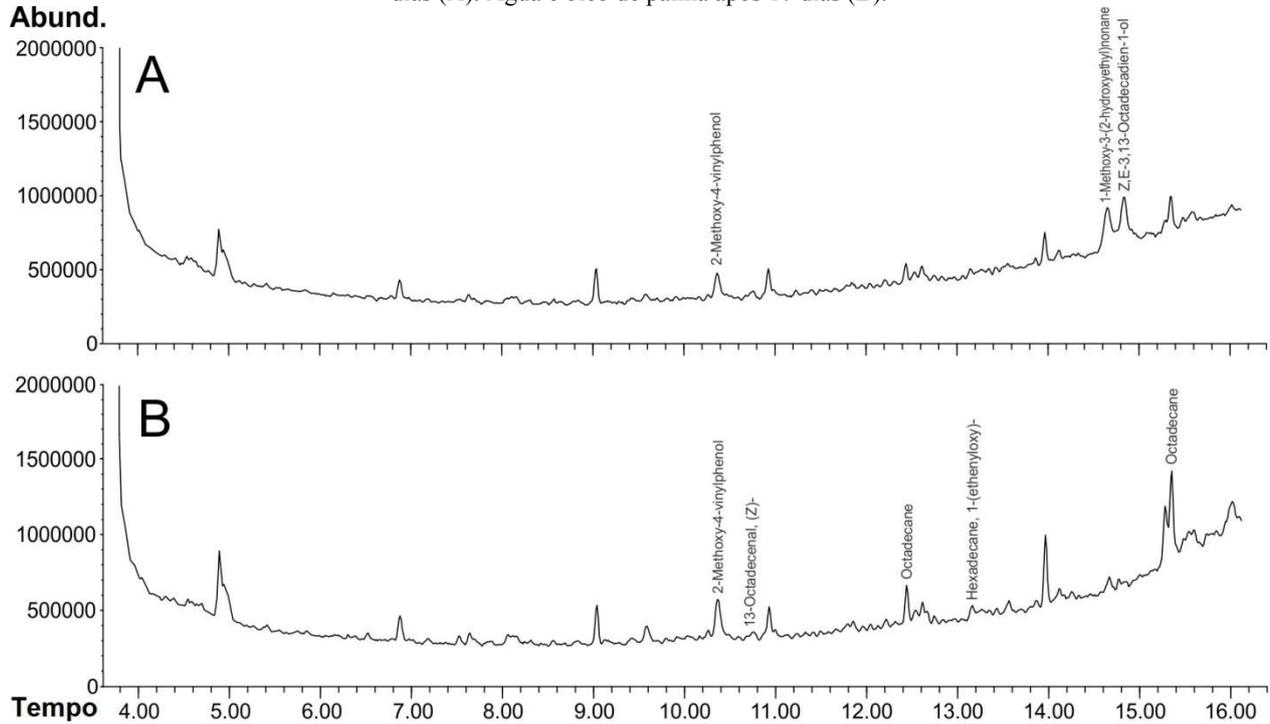


Figura 22. Cromatogramas CG do óleo de palma em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água, óleo de palma, MgO₂ e Fe₂O₃ após 11 dias (C). Água, óleo de palma, MgO₂ e Fe₂O₃ após 17 dias (D).

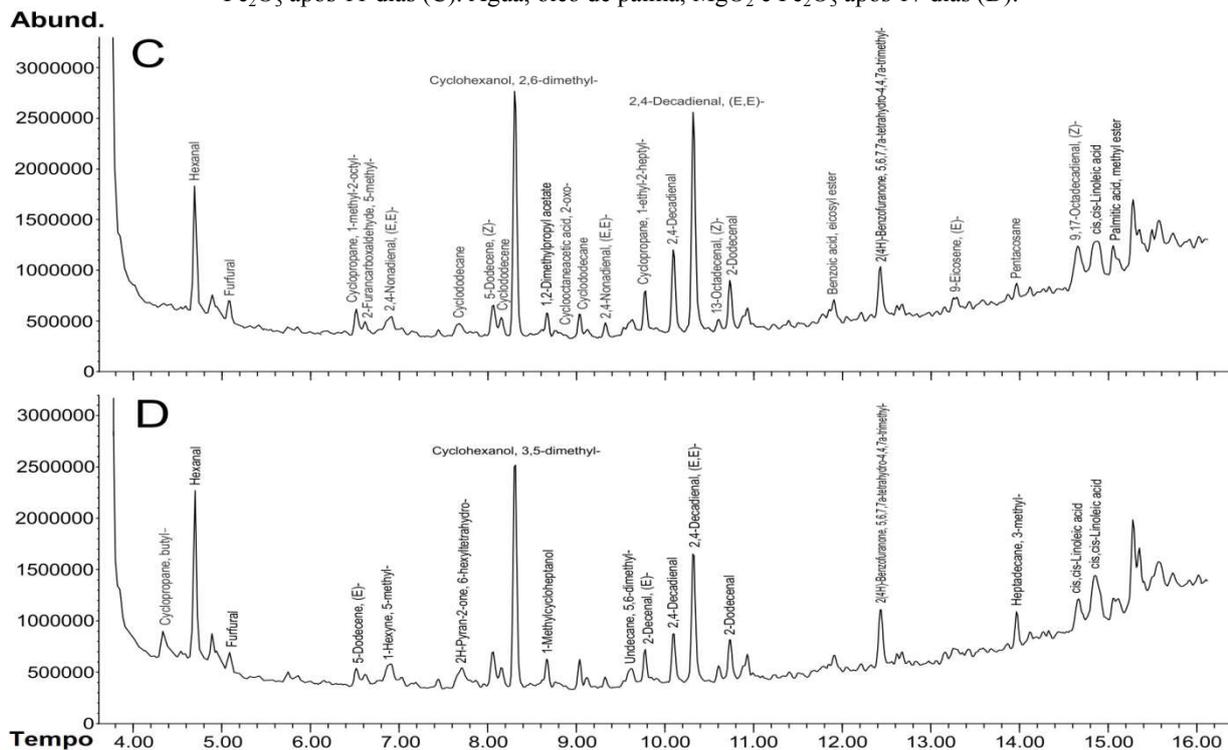


Figura 23. Cromatogramas CG do óleo de soja em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água e óleo de soja após 11 dias (A). Água e óleo de soja após 17 dias (B).

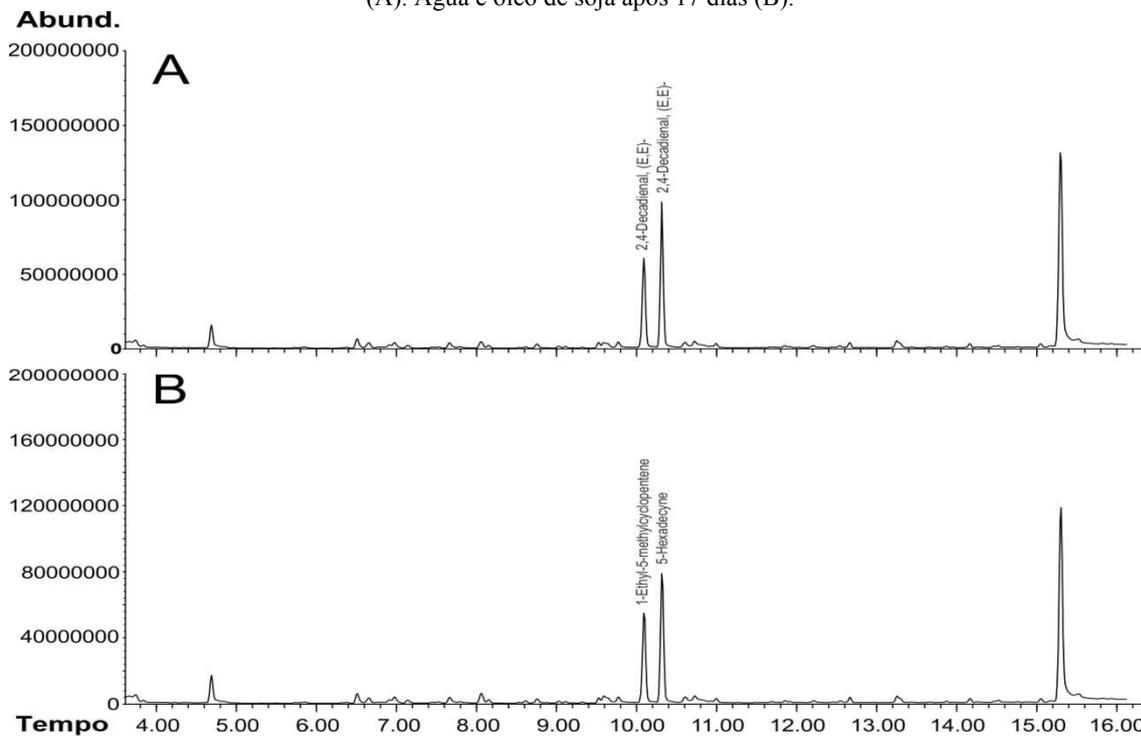
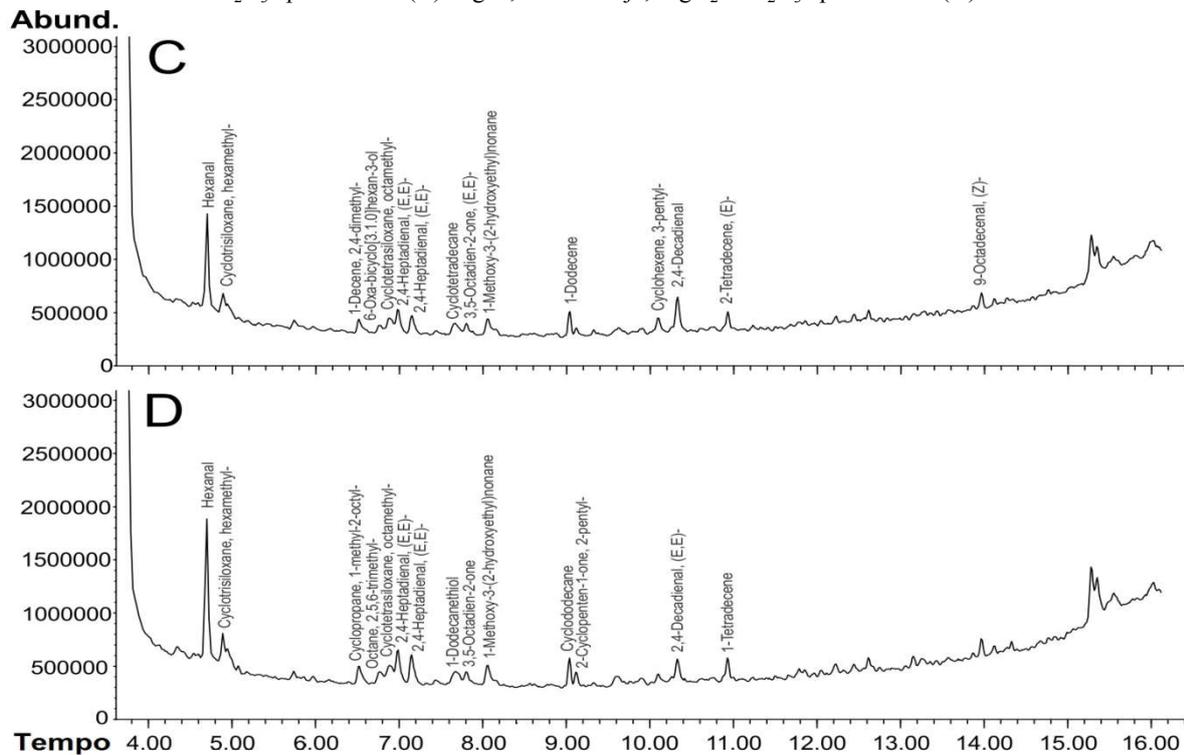
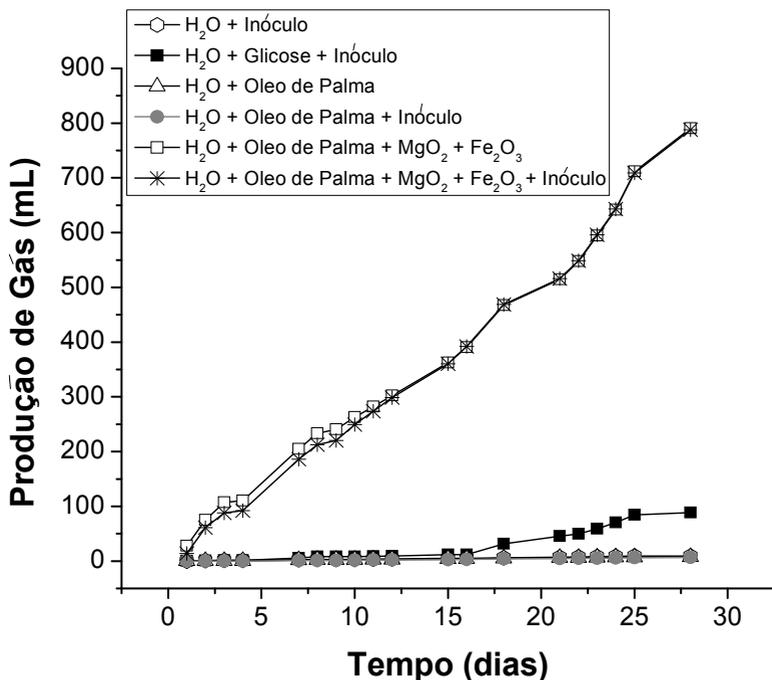


Figura 24. Cromatogramas CG do óleo de soja em microcosmos após 11 e 17 dias de incubação. Água, óleo de soja, MgO_2 e Fe_2O_3 após 11 dias (C). Água, óleo de soja, MgO_2 e Fe_2O_3 após 17 dias (D).



Sob essa abordagem, onde a oxidação química ocorre de forma parcial, o processo de biodegradação pode ocorrer concomitante ou sequencialmente à ISCO. Os resultados apresentados na Figura 25, relativamente a produção de gás em reatores onde a OQP foi aplicada com e sem a presença de inóculos mistos (bactérias), sugerem que o processo químico foi predominante durante os 30 dias em que o monitoramento foi efetuado, dado que não observou-se diferença significativa no volume de gás produzido quando os inóculos estavam presentes. No teste em que foi utilizado água, glicose e inóculo misto, os resultados demonstraram produção de gás após 20 dias de monitoramento (Figura 25 – 88,5 mL), o que pode ser um indício de que o processo de biodegradação poderia ocorrer posteriormente à OPQ dentro desta conformação dos reatores. A modificação da ISCO pela utilização de MgO_2 e Fe_2O_3 foi eficiente para a oxidação de compostos orgânicos, já que quando nenhum tratamento foi aplicado (Figura 25 – H_2O + óleo de palma) não observou-se geração significativa de gás, assim como, quando apenas a biodegradação foi considerada para a degradação do óleo de palma (Figura 25 – H_2O + óleo de palma + inóculo misto). Mesmo que os compostos gerados nos reatores não tenham sido identificados, possivelmente estão vinculados à oxidação do óleo de palma, já que em circunstâncias normais os produtos finais da ISCO são CO_2 e H_2O (vide Tabela 1 – Eq. 9) (YAP; GAN; NG, 2011), ou ainda, vinculados à decomposição do MgO_2 que libera lentamente H_2O_2 , além do O_2 liberado em uma etapa secundária (vide Tabela 3 – Eq. 10 e 11) (BIANCHI-MOSQUERA; ALLEN-KING; MACKAY, 1994; CASSIDY; IRVINE, 1999; ELPRINCE; MOHAMED, 1992; LIU; PORTERFIELD, 2014; SCHMIDTKE; WHITE; WOOLARD, 1999; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999).

Figura 25. Produção de gás medida em reatores experimentais durante o monitoramento de 30 dias.

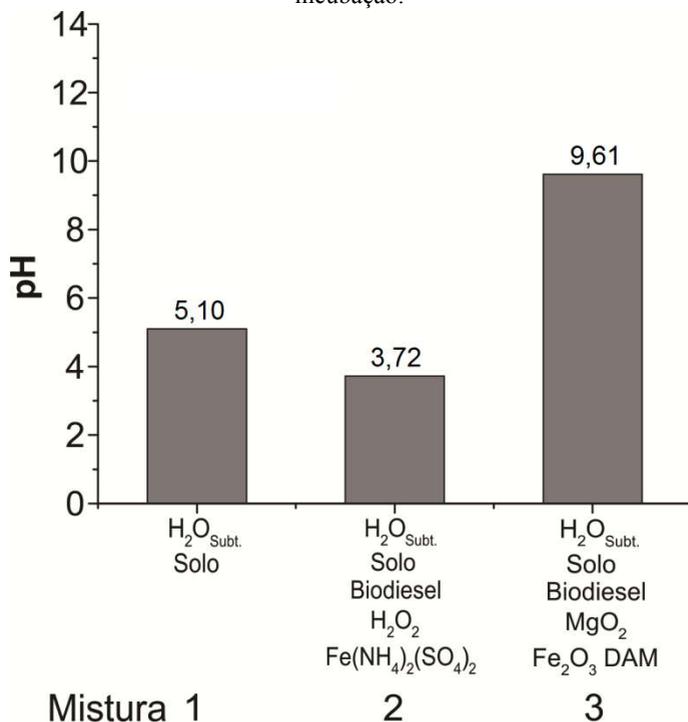


O efeito do pH em relação à ISCO tem sido constantemente documentado, sendo que pode representar influência na taxa de decomposição do oxidante aplicado, na produção e a reatividade dos radicais gerados (vide Tabela 2) (PETRI et al., 2011), ou ainda atuar de forma limitante, como no caso das aplicações da reação Fenton clássica, onde existe a necessidade de que o pH esteja em uma faixa que varia entre 3 – 5, para manter a solubilidade dos sais de ferro e garantir o desenvolvimento da reação (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; BROWN, 2011). O pH registrado na caracterização da água subterrânea foi de 5,06, valor muito próximo do registrado para o teste com água subterrânea e solo (Figura 26 – Mistura 1), utilizado como controle neste experimento. Para o teste cuja reação Fenton foi reproduzida, observou-se a redução do pH para 3,72 (Figura 26 – Mistura 2), essa redução pode ser atribuída à presença do H₂O₂ em alta concentração (WATTS; TEEL, 2005, 2006). O pH baixo pode representar um efeito negativo em relação às propriedades do solo, dado que, em pH menor do

que 5 ocorre a dissolução de íons metálicos que são tóxicos para as plantas (ROUT; SAMANTARAY; DAS, 2001) e também representa interferência na disponibilidade de alguns nutrientes (SIRGUEY et al., 2008), assim como, pode afetar os processos de biodegradação, reduzindo significativamente as taxas de crescimento microbiano e alterando sua diversidade (LANDA et al., 1994).

O MgO_2 é um oxidante sólido e sua decomposição pode produzir uma matriz cimentada às partículas de solo, pela liberação de $Mg(OH)_2$ (vide Tabela 3 – Eq. 10) (GIAMELLO et al., 1993), que é responsável pela elevação do pH para faixas que variam de 10 à 12 (CASSIDY; IRVINE, 1999; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999), tal qual foi observado no teste em que a OQP foi aplicada (pH = 9,61) (Figura 26 – Mistura 2). Essa película de revestimento dos sedimentos, formada pelo $Mg(OH)_2$, impede que a água penetre profundamente através dos cristais, fator que favorece a liberação lenta de H_2O_2 (GIAMELLO et al., 1993; JUN et al., 2009; VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004), e desta maneira, representa um efeito benéfico ao processo de remediação, pois garante que o MgO_2 permaneça ativo por períodos de tempo que variam de seis meses à um ano (VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004). A elevação do pH pode representar uma influência negativa em relação as bactérias indígenas (ATLAS; BARTHA, 1992; HAMBRICK; DELAUNE; PATRICK, 1980), todavia, os efeitos do pH são mais complexos em sistemas subsuperficiais. De modo geral, a maioria dos sistemas de águas subterrâneas são bem tamponados e o pH frequentemente retorna a posição neutra poucos dias após o tratamento com ISCO (HAMBRICK; DELAUNE; PATRICK, 1980; WATTS; TEEL, 2005). Também vale mencionar que, os impactos da utilização de MgO_2 foram pouco documentados para aplicações da ISCO diretamente em campo e com longo período de monitoramento, o que destaca a importância do desenvolvimento de estudos nesta linha.

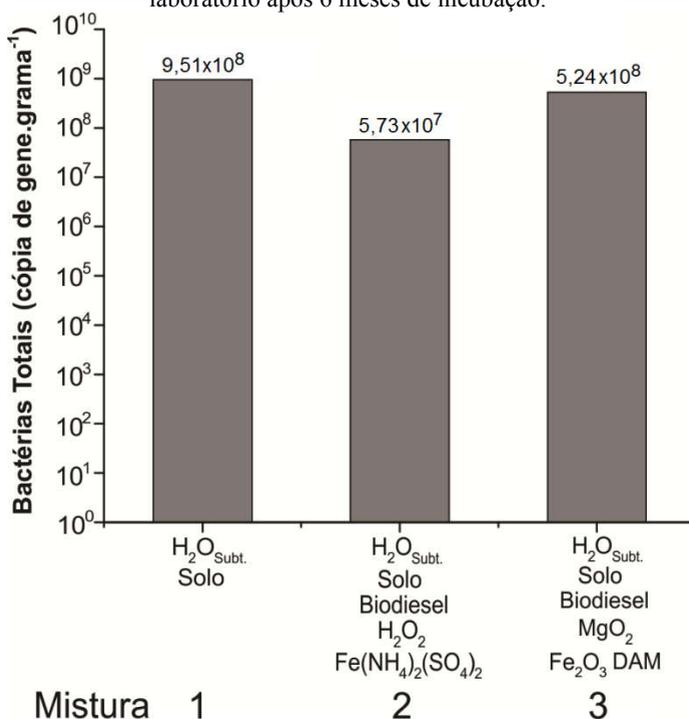
Figura 26. pH medido em experimentos de laboratório após 6 meses de incubação.



As aplicações da ISCO para remediação de compostos orgânicos são conhecidas por causarem inibição da atividade microbiológica, sendo essa uma das principais limitações relacionadas à este tipo de processo e a possível associação do tratamento químico à biodegradação (FENG et al., 2015; SUTTON et al., 2014, 2015; VALDERRAMA et al., 2009). Os dados obtidos pelos experimentos de laboratório indicaram que, para o teste em que a reação Fenton clássica foi aplicada, houve pequena redução da biomassa (bactérias totais) em relação ao teste com água subterrânea e solo (Figura 27 – Misturas 1 e 2), resultado que pode ser indicio de um efeito negativo no início do processo em relação à atividade dos micro-organismos pela ação agressiva da oxidação com H₂O₂. Para o teste em que a intervenção com OQP foi aplicada, não foi observada inibição da atividade microbiológica (Figura 27 – Mistura 3), e mesmo que tenha havido qualquer efeito negativo no início do processo, a biomassa não apresentou alterações significativas após 6 meses de incubação. A liberação de subprodutos solúveis e

biodisponíveis, resultantes do processo de OQP, tem potencial para estimular a atividade microbiológica, contudo este é um efeito que deve ser observado pelo monitoramento de longo prazo. Neste sentido, o MgO_2 pode ser utilizado de forma eficiente para a OQP-B, pois provocou pouca ou nenhuma inibição à atividade dos micro-organismos e assim, a biodegradação pode ser utilizada como uma estratégia para remover os compostos orgânicos residuais, de forma concomitante ou sequencial à OQP.

Figura 27. Concentração de bactérias totais registrada para os experimentos de laboratório após 6 meses de incubação.

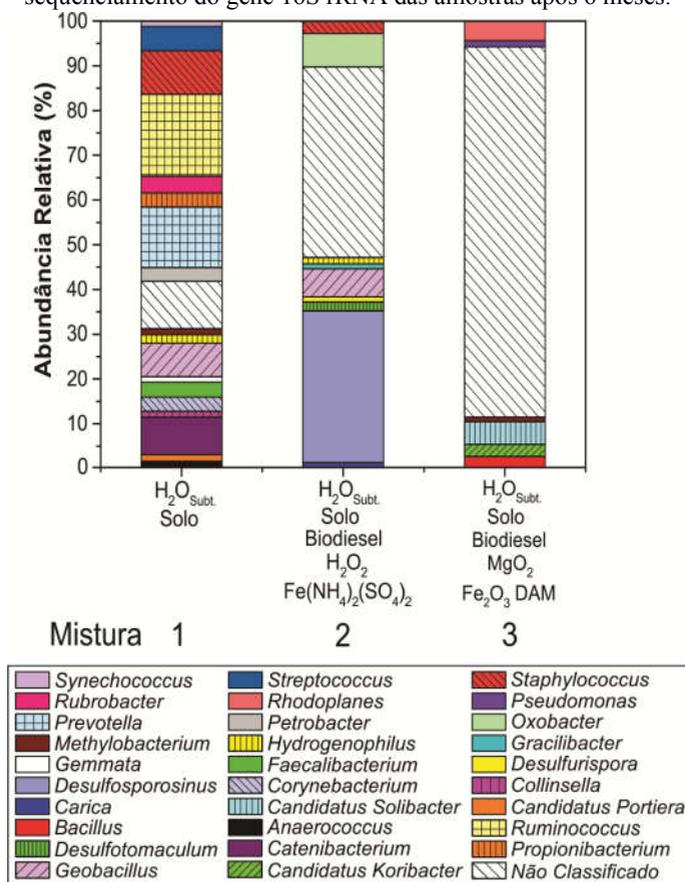


O sequenciamento do gene 16S rRNA foi realizado para se obter o conhecimento das comunidades de micro-organismos envolvidas na degradação dos subprodutos da oxidação do biodiesel. No teste com água subterrânea e solo (Figura 28 – Mistura 1), foi observada grande diversidade de comunidades de micro-organismos e a partir da intervenção com ISCO (OQP e Fenton) claramente ocorreu uma seletividade dos gêneros detectados, sendo que tanto para o teste com

Fenton como para o teste com OQP, houve predominância de gêneros não classificados (39% e 77%, respectivamente). Para o experimento com reação Fenton, os gêneros de micro-organismos predominantes foram *Desulfosporosinus*, *Oxobacter* e *Geobacillus* (Figura 28 – Mistura 2). Os micro-organismos do gênero *Desulfosporosinus* geralmente apresentam-se como com sulfato, tiosulfato ou sulfeto receptores (ROBERTSON et al., 2001; SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015) e atuam na oxidação parcial de álcoois, açúcares e ácidos orgânicos à acetato (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015), sua presença abundante pode estar associada ao sulfato ferroso de amônia utilizado como catalisador do sistema. Micro-organismos do gênero *Oxibacter* estão relacionados à degradação de monóxido de carbono (BENGELSDORF et al., 2015), enquanto que *Geobacillus* são nitrato redutores e atuam na degradação açúcares (BRYANSKAYA et al., 2015). Para o experimento com OQP houve o predomínio dos gêneros *Candidatus Solibacter*, *Rhodoplanes* e *Candidatus Koribacter* (Figura 28 – Mistura 3), fortemente relacionados à degradação de ácidos orgânicos, amino ácidos e álcoois (Tabela 31), o que pode ser um indício da evolução do processo de oxidação do biodiesel. Micro-organismos do gênero *Methylobacterium* também foram detectados, e são importantes pois tem capacidade para degradar ácidos orgânicos, álcoois aldeídos, furfural e metano (PATT; COLE; HANSON, 1976; VAN AKEN, 2004), subprodutos fortemente vinculados à oxidação do biodiesel, fator que evidencia a evolução do processo de oxidação do biodiesel e geração de subprodutos solúveis e biodegradáveis.

De modo geral, os gêneros detectados para os testes com intervenção da ISCO são conhecidos por degradarem uma variedade de compostos orgânicos. A predominância de uma ou outra comunidade de micro-organismos, além de estar associada aos receptores de elétrons disponíveis, pode estar fortemente vinculada ao pH do meio, a exemplo de alguns micro-organismos do gênero *Desulfosporosinus*, que têm apresentado capacidade para crescer em pH ácido (ALAZARD et al., 2010; BERTEL et al., 2012; SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015) e dificilmente são detectadas em pH maior do que 8,4 (ALAZARD et al., 2010; BERTEL et al., 2012; LEE; ROMANEK; WIEGEL, 2009; SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015), fator que pode ter influenciado a presença abundante deste gênero quando a reação Fenton clássica foi aplicada (Figura 28 – Mistura 2). Informações detalhadas relativamente ao metabolismo e a respiração dos gêneros de micro-organismos mais relevantes detectados constam nas Tabelas 30 e 31, apresentada no item 7.2.2.2.

Figura 28. Abundância relativa (%) das comunidades microbianas obtidas pelo sequenciamento do gene 16S rRNA das amostras após 6 meses.



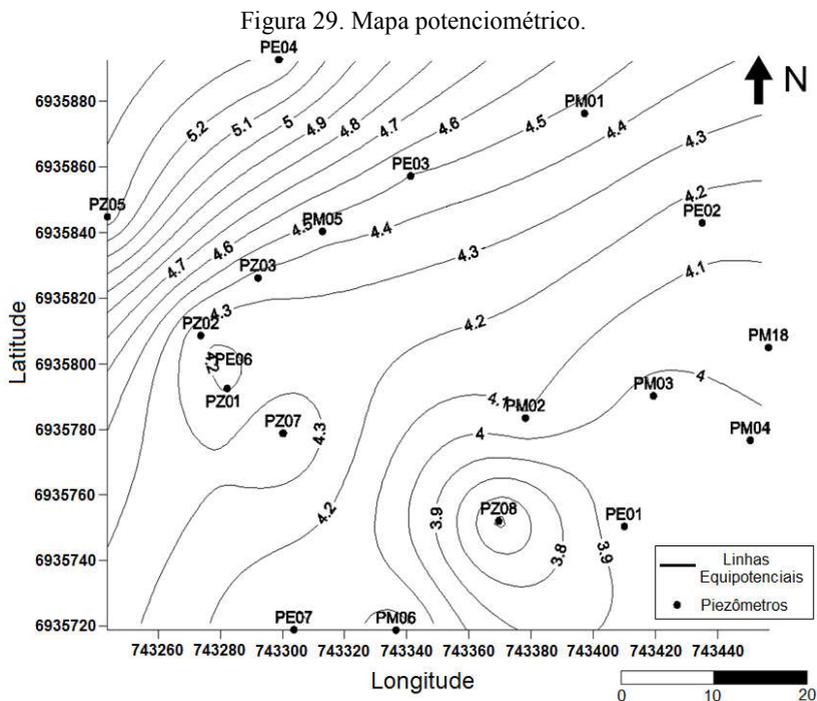
Assim, com base nos estudos de laboratório, é possível afirmar que a decomposição do MgO₂ libera lentamente H₂O₂ pela ação catalítica do Fe₂O₃ e, sob esta abordagem, a oxidação química parcial acelera dissolução dos compostos do biodiesel e a geração de subprodutos oxidados que são mais solúveis, biodisponíveis e biodegradáveis do que os compostos de origem. Portanto, um experimento de campo foi realizado para testar a viabilidade desta abordagem modificada da ISCO no ambiente, em uma aplicação de maior escala e com longo período de monitoramento experimental.

7.2 Experimento de Campo

7.2.1 Condições Originais do Solo e da Água Subterrânea da Área Experimental

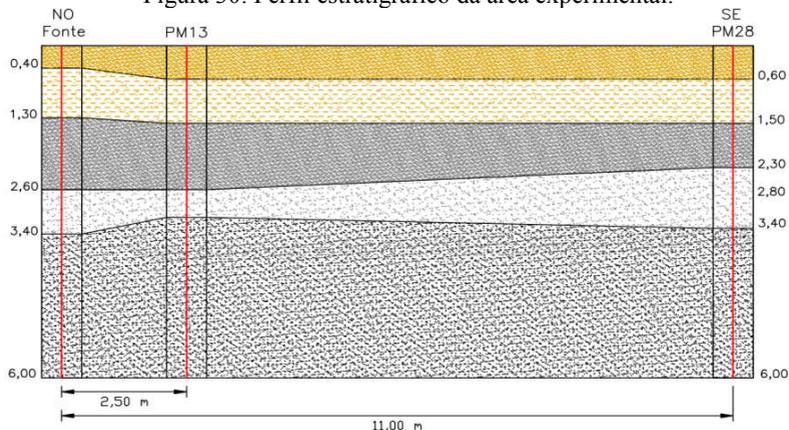
7.2.1.1 Caracterização Hidrogeológica e Geoquímica

De acordo com o mapa potenciométrico apresentado na Figura 29, o fluxo da água subterrânea na região, vai de noroeste (NO) para sudeste (SE), cuja determinação foi realizada com base no monitoramento da variação das cargas potenciométricas do lençol freático no entorno da área experimental. Cabe salientar ainda, que a precipitação anual foi de 1474 e 2084 milímetros em 2014 e 2015, respectivamente, e que o monitoramento das flutuações do lençol freático indicou uma variação de 0,2 à 2,9 metros de profundidade em relação ao nível do terreno, para os anos em que o experimento esteve ativo.



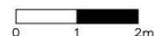
A condutividade hidráulica, parâmetro que reflete uma medida da habilidade do fluxo através do meio poroso, foi determinada no estudo de Lage (2005) e os resultados indicaram um valor na ordem de grandeza de 10^{-4} cm.s⁻¹ (PM05), considerado baixo e característico para uma faixa que varia entre areias siltsas e areias finas (FETTER, 1994). Esse resultado pode ser tido como positivo no sentido da dinâmica de migração de contaminantes dissolvidos na água subterrânea, dado que, quanto maior a condutividade hidráulica, maior a facilidade com que a água se move através dos poros do solo. Entretanto, para melhor avaliação das características hidrogeológicas, o perfil estratigráfico da área experimental é apresentado na Figura 30.

Figura 30. Perfil estratigráfico da área experimental.



Legenda:

- | | | | |
|--|---|--|-----------------------------------|
| | Areia fina, marrom escura.
Com matéria orgânica. | | Areia fina, cinza clara. |
| | Areia fina, argilosa, marrom clara. | | Areia fina, cinza clara (branca). |
| | Areia fina, cinza escura. | | |



Os resultados indicaram que o local é constituído predominantemente por areia fina, contudo, foi constatada a presença de uma camada com comportamento argiloso, portanto, com menor permeabilidade, entre 0,4 e 1,5 metros de profundidade em relação à

superfície do terreno. Por conseguinte, os dados referentes à classificação granulométrica das diferentes camadas que compõem o solo da área experimental (Tabela 25), confirmaram as características observadas no perfil estratigráfico (Figura 30), principalmente referente à camada com material argiloso.

Tabela 25. Distribuição granulométrica das diferentes camadas de solo.

Camadas	Quantidade de Grãos (%)			
	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
Areia fina, marrom escura. Com matéria orgânica	9,90	82,40	1,30	3,40
Areia fina, argilosa, marrom clara	8,90	79,60	1,50	10,00
Areia fina, cinza escura	4,60	86,60	3,00	5,80
Areia fina, cinza clara	2,20	93,40	1,55	2,85
Areia fina, cinza clara (branca)	5,70	80,00	7,00	7,30

A determinação da porosidade efetiva, que representa o volume de água drenável de uma amostra de solo, resultou em um valor médio de 28,3%, característico para solos arenosos (FETTER, 1994). Com base nesse resultado, assim como, no gradiente hidráulico e condutividade hidráulica, a velocidade intersticial da água subterrânea na região de estudo, foi determinada e os resultados indicaram valores que variaram entre 7 m.ano⁻¹ e 3 m.ano⁻¹, sendo que de acordo com a determinação de Chiaranda (2011) seguindo o mesmo método e mesma região de influência, o valor registrado foi 6,5 m.ano⁻¹. Já na pesquisa de Costa (2008), que realizou a determinação da velocidade utilizando o brometo de potássio (substância conservativa) como traçador do fluxo advectivo, o valor de resposta que variou entre 5,2 a 6,2 m.ano⁻¹. Neste sentido, o valor adotado nesta pesquisa para a velocidade intersticial foi de 6,0 m.ano⁻¹.

Com relação à caracterização geoquímica da região onde o experimento foi instalado, os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas 26, 27 e 28.

Tabela 26. Macronutrientes nas camadas do solo.

Camadas	Macronutrientes (mg/kg de solo)					
	N _{TOTAL}	P	K	Ca	Mg	S
Areia fina, marrom escura, com matéria orgânica	10	3,50	13,0	80	24,30	0,27
Areia fina, argilosa, marrom clara	4	1,75	5,5	90	18,23	0,10
Areia fina, cinza escura	2	8,40	7,0	100	24,30	0,18
Areia fina, cinza clara	1	11,30	6,0	100	24,30	0,12
Areia fina, cinza clara (branca)	N.D. ¹	9,60	24,0	80	24,30	0,12

¹ Não detectado.

Tabela 27. Determinação dos micronutrientes nas camadas do solo.

Camada	Micronutrientes (mg/kg de solo)						
	F _{TOTAL}	Zn	Mn	Al	Na	B	Cu
Areia fina, marrom escura, com matéria orgânica	2195	0,370	0,431	125,91	14	0,18	0,139
Areia fina, argilosa, marrom clara	3094	0,150	0,370	107,92	3,5	0,26	0,05
Areia fina, cinza escura	910	0,224	0,340	89,93	16	0,10	0,060
Areia fina, cinza clara	385,4	0,031	0,318	53,96	2	0,04	0,080
Areia fina, cinza clara (branca)	281,6	0,076	0,402	71,95	-	0,22	0,062

Tabela 28. Outros resultados relevantes nas camadas do solo.

Camadas	M.O. (%)	C.O. (%)	pH	Densidade Real (g/cm ³)	Densidade Aparente (g/cm ³)
Areia fina, marrom escura, com matéria orgânica	2,50	1,39	5,10	2,80	1,35
Areia fina, argilosa, marrom clara	0,50	0,28	5,10	2,75	1,42
Areia fina, cinza escura	0,10	0,06	4,80	2,56	1,36
Areia fina, cinza clara	0,10	0,06	5,20	2,90	1,41
Areia fina, cinza clara (branca)	0,10	0,06	4,70	2,90	1,42

Tais resultados indicaram que o solo é composto por baixos teores de carbono orgânico, assim como, baixos teores de macro e micronutrientes, tal qual demonstrado em pesquisas anteriormente realizadas no entorno da área experimental (CHIARANDA, 2011; RAMOS, 2013). Com relação às aplicações da ISCO, os baixos teores de carbono orgânico, macro e micro nutrientes, podem ser um indicio positivo para aplicação da tecnologia, dado que existe um consumo não produtivo do oxidante, exercido pela matéria orgânica natural do solo e alguns minerais no subsolo (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011; BACIOCCHI et al., 2014). Além de que, em solos com elevados teores de matéria orgânica, existe uma tendência do contaminante em permanecer na fase LNAPL, exercendo por consequência, grande influência na transferência de massas e transporte de contaminantes nos sistemas subsuperficiais (ITRC, 2005). Todavia, a presença de carbono orgânico é importante para a estimulação da biomassa do aquífero (HARVEY; BARBER II, 1992), e os teores reduzidos registrados na geoquímica inicial da área experimental, podem ser indicio de que, previamente à liberação do contaminante, a biomassa do aquífero encontrava-se relativamente escassa, tal como evidenciado por Ramos (2013). Os teores de ferro detectados, podem indicar um potencial para a catalise de oxidantes como o H_2O_2 , já que os óxidos de ferro que ocorrem naturalmente no solo configuram-se como alternativas comuns de catalisadores diferente dos tradicionalmente utilizados na reação Fenton (Fe^{2+} e Fe^{3+}) (TYRE; WATTS; MILLER, 1991; WATTS; TEEL, 2005). O pH do solo da área experimental apresenta-se levemente superior à faixa considerada ótima (entre 3 – 5) para aplicação da reação Fenton clássica (ITRC, 2005; SIEGRIST; CRIMI; SIMPKIN, 2011). De modo geral, os resultados da caracterização hidrogeológica e geoquímica apresentaram-se apropriados tanto para aplicação da ISCO como de processos de biodegradação.

7.2.1.2 Caracterização Físico-Química e de Biologia Molecular (hidroquímica inicial da água subterrânea)

Os parâmetros de análise e resultados mais relevantes, relativamente à caracterização hidroquímica inicial da água subterrânea da área experimental, constam na Tabela 29. Vale ressaltar que os resultados apresentados a seguir, referem-se às medianas dos pontos analisados, visto que, as medianas refletem uma tendência central dos dados e sua utilização é pertinente quando o conjunto de dados não

possui uma distribuição normal, assim como, quando algumas variáveis permanecem abaixo do limite de detecção (GILBERT, 1987), como no caso dos dados obtidos na área experimental. Sendo que, para os parâmetros cuja os resultados foram identificados como abaixo do limite de detecção, o valor adotado foi correspondente à metade do limite de detecção de cada método de análise (GILBERT, 1987).

Tabela 29. Caracterização hidroquímica inicial da água subterrânea.

Parâmetros de análise	Resultados
pH	5,06
Temperatura (°C)	20,48
Condutividade Específica (mS/cm)	0,043
Salinidade (‰)	0,03
POR (mV)	259
OD (mg.L ⁻¹)	2,25
Acidez (mg de CaCO ₃ .L ⁻¹)	25,12
Alcalinidade (mg de CaCO ₃ .L ⁻¹)	2,52
Magnésio (mg.L ⁻¹)	2,65
Brometo (mg.L ⁻¹)	0,004 ¹
Cloreto (mg.L ⁻¹)	7,26
Fosfato (mg.L ⁻¹)	0,0404 ¹
Nitrato (mg.L ⁻¹)	0,77
Nitrito (mg.L ⁻¹)	0,0005 ¹
Ferro Ferroso (mg.L ⁻¹)	0,005 ¹
Sulfato (mg.L ⁻¹)	2,16
Sulfeto (mg.L ⁻¹)	0,005 ¹
Acetato (mg.L ⁻¹)	0,0005 ¹
COD (mg.L ⁻¹)	13,00
Bactérias totais (cópia de gene.g de solo ⁻¹)	2,64 x 10 ⁶

¹ Não detectado – valor adotado correspondente à metade do limite de detecção de cada parâmetro de análise.

Esses dados demonstram que o aquífero possui baixas concentrações das espécies reduzidas de ferro ferroso, nitrito e sulfeto, além de baixas concentrações de brometo, magnésio, sulfato, nitrato e acetato, valores esperados devido às análises terem sido realizadas previamente ao início do experimento, principalmente em relação ao acetato, que configura-se como um dos principais subprodutos

produzidos durante o processo de oxidação parcial, assim como, pelas reações de biotransformação anaeróbia do contaminante. Os valores registrados para o potencial redox (259 mV) e oxigênio dissolvido (2,25 mg.L⁻¹) estão de acordo com o tipicamente registrado para ambientes subsuperficiais e podem ser indicativos da ocorrência de processos aeróbios na área experimental, dado que os valores de POR característicos variam entre +800 a -400 mV e que ambientes anaeróbios são caracterizados pela existência de concentrações de oxigênio dissolvido inferiores a 0,5 mg.L⁻¹ (WIEDEMEIER et al., 1999b). Os resultados obtidos para o pH são adequados tanto para a aplicação do processo de oxidação química parcial (ITRC, 2005; PETRI et al., 2011), como para a biodegradação (CHAPELLE, 2001) dos contaminantes orgânicos. Com relação à concentração de bactérias totais, o resultado detectado foi na ordem de 10⁶ cópias de gene.g⁻¹, valor semelhante ao registrado em outras áreas experimentais da Fazenda Experimental da Ressacada (GUIMARÃES, 2011; RAMOS, 2013). Os dados referentes à análise de sequenciamento do gene 16S rRNA estão descritos e comentados conjuntamente aos resultados obtidos durante monitoramento experimental e são referenciados como tempo zero (T = 0). De modo geral, os valores obtidos para os parâmetros físico-químicos são semelhantes às análises realizadas na circunvizinhança da área experimental em anos anteriores (CHIARANDA, 2011; RAMOS, 2013).

Neste contexto, os resultados apresentados na Tabela 29 indicaram um potencial adequado para o desenvolvimento do processo de remediação por OQP-B. Sendo que, na etapa que antecedeu a instalação do experimento, os parâmetros de maior relevância foram pH, potencial redox, Fe²⁺, alcalinidade, Mg²⁺ e carbono orgânico dissolvido (COD), em função da adaptação do processo de oxidação química parcial (MgO₂ + Fe₂O₃ DAM) ao sítio e dosagem adequada, tanto do oxidante como do catalisador. Portanto, a caracterização hidroquímica inicial foi fundamental para o estabelecimento das condições de contorno relativamente à OQP-B para remediação do biodiesel de palma na área experimental.

7.2.2 Alterações Geoquímicas da Água Subterrânea da Área Experimental – Após a Liberação do Biodiesel de Palma e Remediação por OQP-B

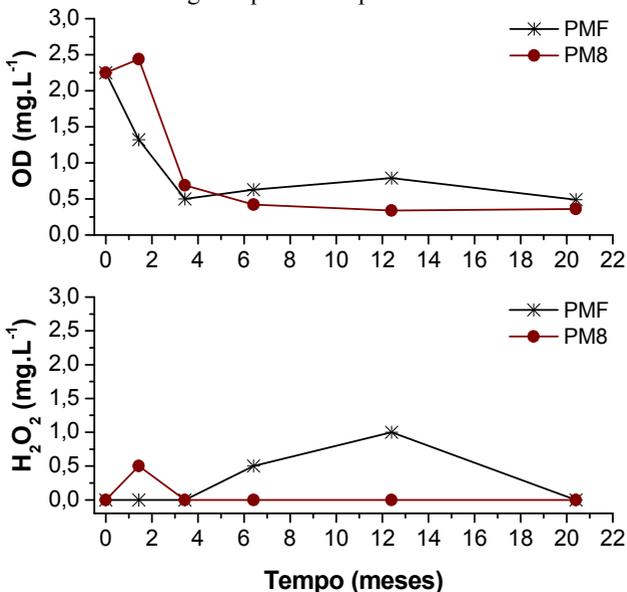
Para melhor demonstração das alterações geoquímicas que ocorreram na água subterrânea pela liberação do contaminante e

desenvolvimento do processo de remediação por OQP-B, os resultados serão apresentados apenas para a região da fonte de contaminação (PMF e PM8) à 3 metros de profundidade em relação a superfície do terreno (nível 3). Estes pontos foram selecionados em virtude da lenta migração do contaminante alvo da pesquisa, o biodiesel de palma, que é constituído predominantemente por ésteres metílicos de ácidos graxos, os quais apresentam baixa solubilidade em água e comportam-se como LNAPLs em sistemas subsuperficiais, tendendo a permanecer na região da fonte por longos períodos (HUNTLEY; BECKETT, 2002; SMITH et al., 2016). Além de que, estes foram os pontos mais representativos dos processos químico e biológicos de degradação do contaminante na área experimental. Isto posto, para uma avaliação mais elaborada dos resultados obtidos por meio da remediação com OQP-B, dados do experimento realizado por Chiaranda (2011), para remediação de 100 L de biodiesel puro de soja (B100) por atenuação natural monitorada (ANM), foram utilizados como controle comparativo, sendo que os poços PMF e do PM9 (equivalente ao PM8 no experimento OQP-B) foram utilizados como referência das alterações na zona da fonte de contaminação.

A baixa solubilidade do MgO_2 em água (86 $mg.L^{-1}$ SOLVAY AMERICA, INC., 2013) favorece a liberação lenta de H_2O_2 (CASSIDY; IRVINE, 1999; ELPRINCE; MOHAMED, 1992; GOI et al., 2011; KHODAVEISI et al., 2011; LIU; PORTERFIELD, 2014; VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004; VOL'NOV; LATYSHEVA, 1970; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999; XIE; BARCELONA, 2003), sob essa afirmação, o processo de oxidação dos compostos orgânicos é postulado para ocorrer por difusão, pela ação do H_2O_2 e $OH\cdot$ (GIAMELLO et al., 1993; XIE; BARCELONA, 2003). Os resultados obtidos através dos experimentos de laboratório evidenciaram a liberação lenta de H_2O_2 (vide Figura 19), mesmo que em campo os valores registrados não tenham sido significativos (Figura 31), provavelmente em função da rápida decomposição do H_2O_2 , que muitas vezes acaba por dificultar a sua quantificação em sistemas mais complexos (LIU et al., 2014; PETRI et al., 2011), como no caso de um experimento de campo. A concentração de OD registrada para o período inicial de monitoramento (Figura 31 – 2,44 $mg.L^{-1}$ em 1,4 meses) pode ser um indício da liberação lenta de O_2 (etapa secundária da decomposição do MgO_2 – Tabela 3), contudo, o oxigênio pode ser consumido por diferentes processos em ambientes subsuperficiais e muitos são os fatores de influência em um sítio contaminado, sendo que um decréscimo considerável foi observado nos meses seguintes em que

o monitoramento foi efetuado (Figura 31 – $0,36 \text{ mg.L}^{-1}$ em 20,4 meses), possivelmente consequência da introdução de matéria orgânica em excesso (biodiesel), que contribuiu para a intensificação do estabelecimento de condições anaeróbias no sistema (OD < $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ WIEDEMEIER et al., 1999b).

Figura 31. Variações do oxigênio dissolvido e do peróxido de hidrogênio ao longo do período experimental.



A decomposição do MgO_2 resulta na formação Mg(OH)_2 (Tabela 3 – Eq. 10) (ELPRINCE; MOHAMED, 1992; LIU; PORTERFIELD, 2014; VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004; VOL'NOV; LATYSHEVA, 1970; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999) que pode provocar tanto alterações na estrutura do solo como a elevação do pH do meio. Os resultados obtidos para Mg^{2+} não apresentaram variações significativas ao longo o período experimental (Figura 33), porém, os dados registrados para a alcalinidade podem ser representativos da liberação de Mg(OH)_2 , em virtude da elevação registrada até 6,4 meses de monitoramento (Figura 32 – de $2,52$ para $32,8 \text{ mg de CaCO}_3.\text{L}^{-1}$) em comparação com o experimento de ANM, cujo único valor registrado foi após 14,2 meses de monitoramento (Figura 32 – $11,5 \text{ mg de CaCO}_3.\text{L}^{-1}$). O Mg(OH)_2 liberado pode formar uma camada de revestimento na superfície dos sólidos do solo

(CHAPMAN et al., 1997; GIAMELLO et al., 1993; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999; XIE; BARCELONA, 2003), a qual pode representar efeito benéfico ao processo de oxidação, uma vez que dificulta a penetração profunda da água e favorece a liberação de H_2O_2 (BIANCHI-MOSQUERA; ALLEN-KING; MACKAY, 1994; GIAMELLO et al., 1993; JUN et al., 2009; OBIRI-NYARKO; GRAJALES-MESA; MALINA, 2014; VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004; YEH; LIN; WU, 2010) por longos períodos de tempo, podendo ser prolongado por seis meses ou até um ano (VEZZULLI; PRUZZO; FABIANO, 2004).

Figura 32. Variações da alcalinidade ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).

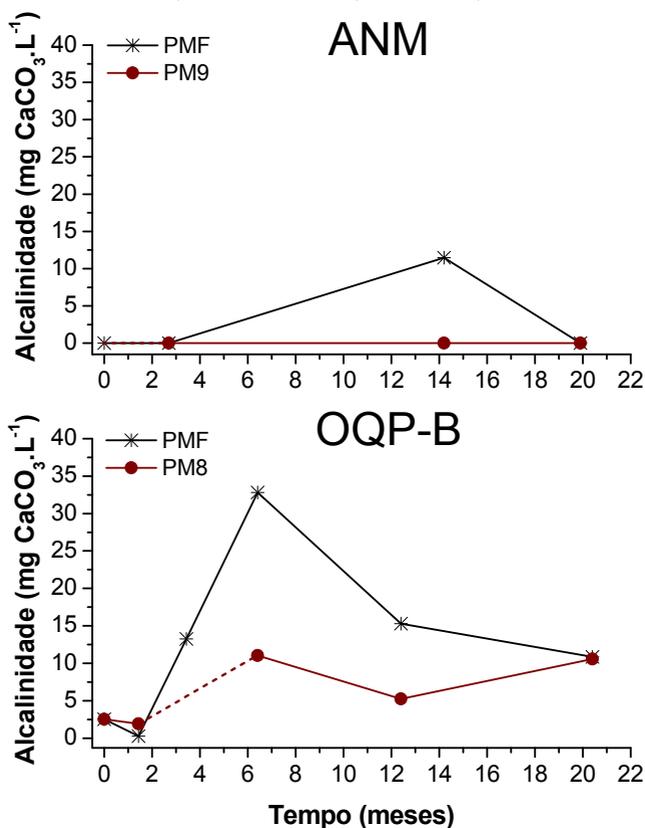
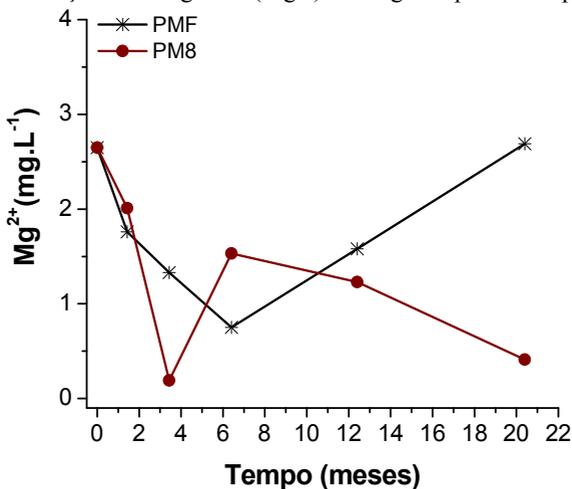
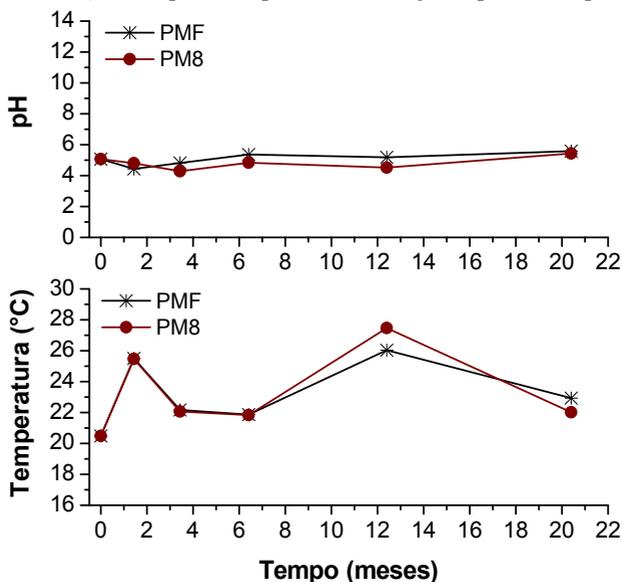


Figura 33. Variações do magnésio (Mg^{2+}) ao longo do período experimental.

A formação de uma matriz de $Mg(OH)_2$ cimentada ao solo pode, negativamente, elevar o pH para uma faixa de 10 à 12 (CASSIDY; IRVINE, 1999; WAITE; BONNER; AUTENRIETH, 1999). No experimento com OQP-B o pH apresentou variações pouco significativas (Figura 34), que foram atribuídas à diluição da zona da fonte, possivelmente devido à infiltração da água da chuva pois a área experimental não foi recoberta com camada impermeável. Outro efeito comumente observado em processos de oxidação química com H_2O_2 relaciona-se à elevação da temperatura devido ao desenvolvimento de reações exotérmicas (PETRI et al., 2011), contudo, nenhuma alteração significativa foi observada ao longo do monitoramento do experimento OQP-B (Figura 34).

Figura 34. Variações do pH e temperatura ao longo do período experimental.



7.2.2.1 Oxidação Química Parcial Acelera a Dissolução dos Compostos do Biodiesel e Produz Subprodutos Solúveis

A oxidação química parcial ($MgO_2 + Fe_2O_3$ DAM) foi conjecturada para favorecer a dissolução de compostos que comportam-se como LNAPLs e, por conseguinte, aumentar a produção de subprodutos solúveis, otimizando assim o processo de tratamento como um todo. A avaliação da dissolução e produção de subprodutos solúveis foi realizada por meio de plumas de concentração de metabólitos representativos do processo de remediação, pela utilização do *software Surfer* e método de interpolação de mínima curvatura. Para tanto, acetato, ácido propiônico e metano foram selecionados e os dados obtidos são apresentados nas figuras a seguir, sempre em comparação aos resultados do controle comparativo (experimento ANM) (Figuras 37, 38, 39, 40, 41 e 42). Para melhor visualização dos resultados, as representações gráficas foram realizadas em um corte transversal nos pontos em que as maiores concentrações foram registradas, sendo que nas Figuras 35 e 36 consta o detalhamento do corte transversal para o experimento OQP-B e ANM, respectivamente.

Figura 35. Corte transversal no sentido dos pontos de maior concentração para o experimento OQP-B.

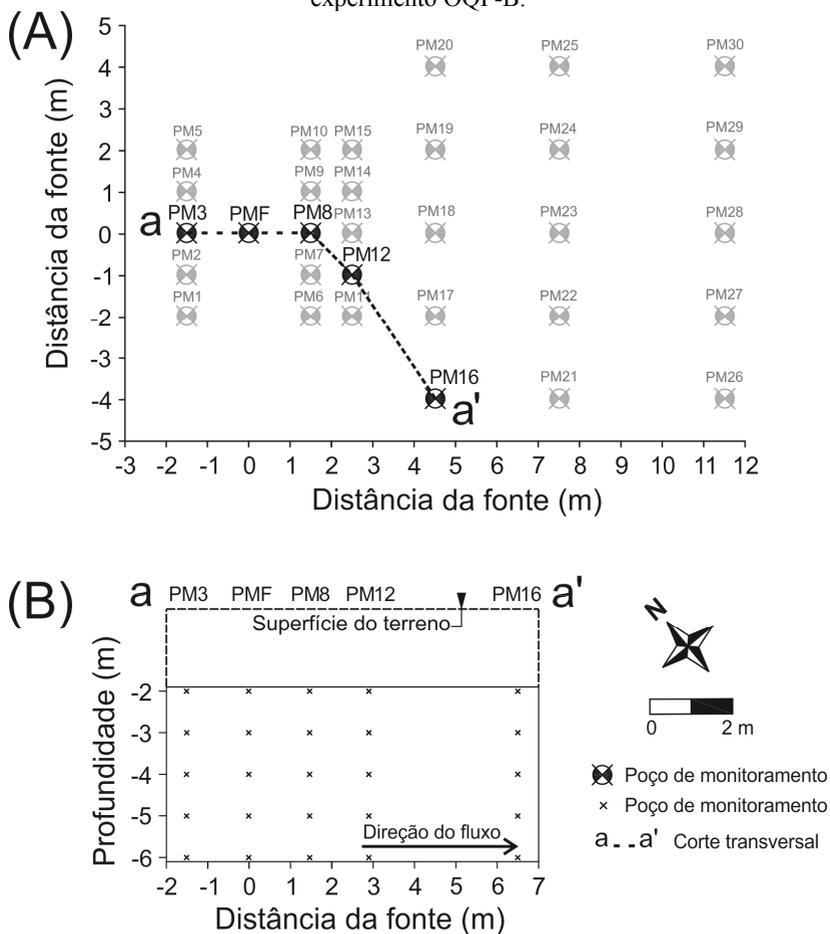


Figura 36. Corte transversal no sentido dos pontos de maior concentração para o experimento ANM.

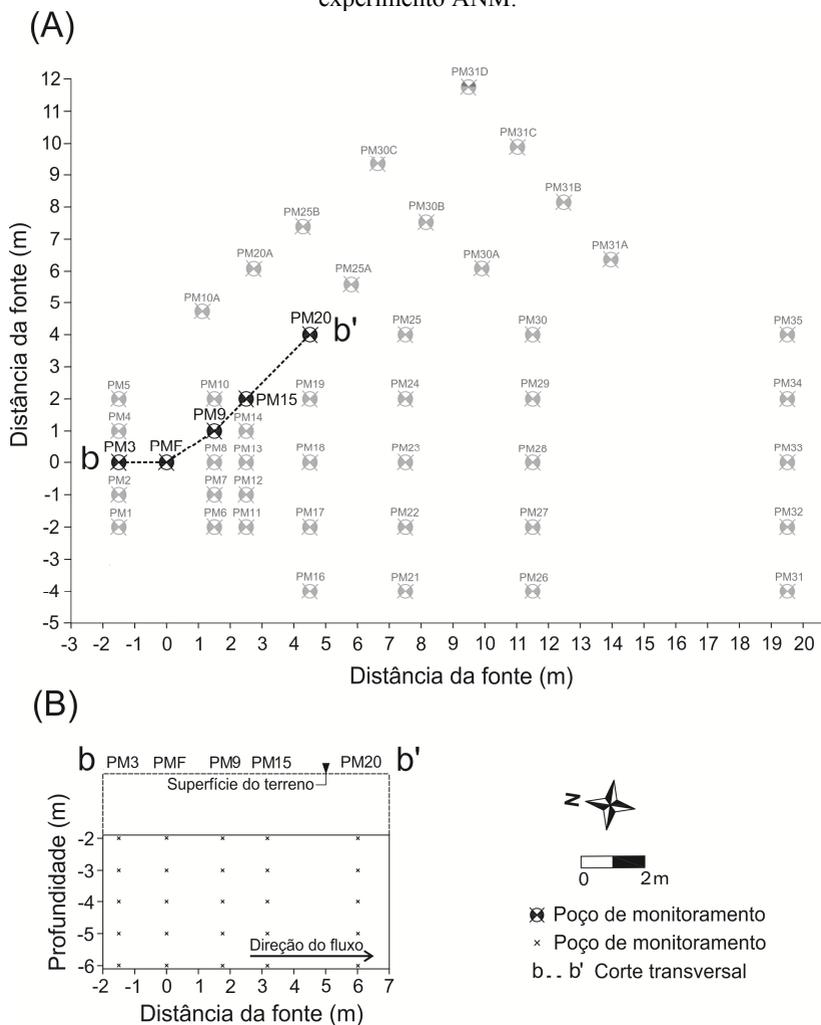


Figura 37. Pluma de acetato no corte transversal para o experimento OQP-B ao longo do período experimental.

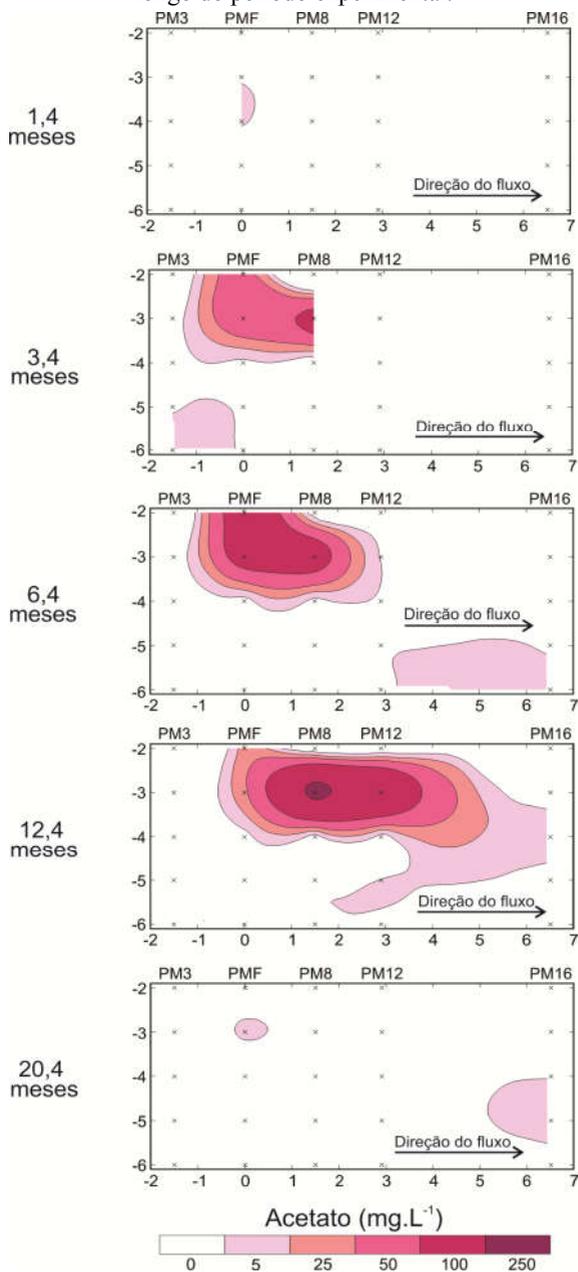


Figura 38. Pluma de acetato no corte transversal para o experimento ANM ao longo do período experimental.

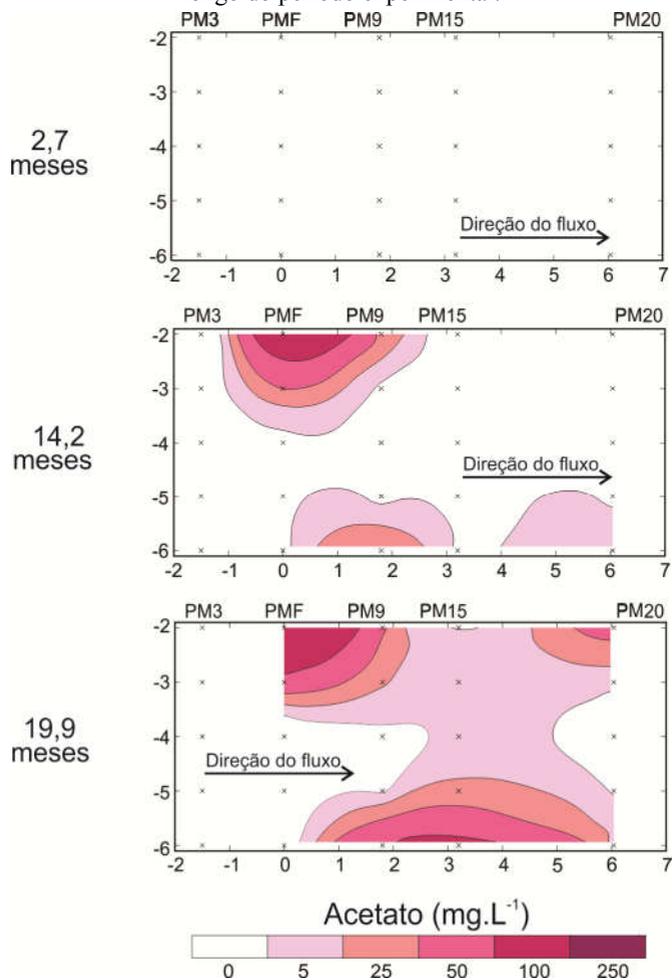


Figura 39. Pluma de ácido propiônico no corte transversal para o experimento OQP-B ao longo do período experimental.

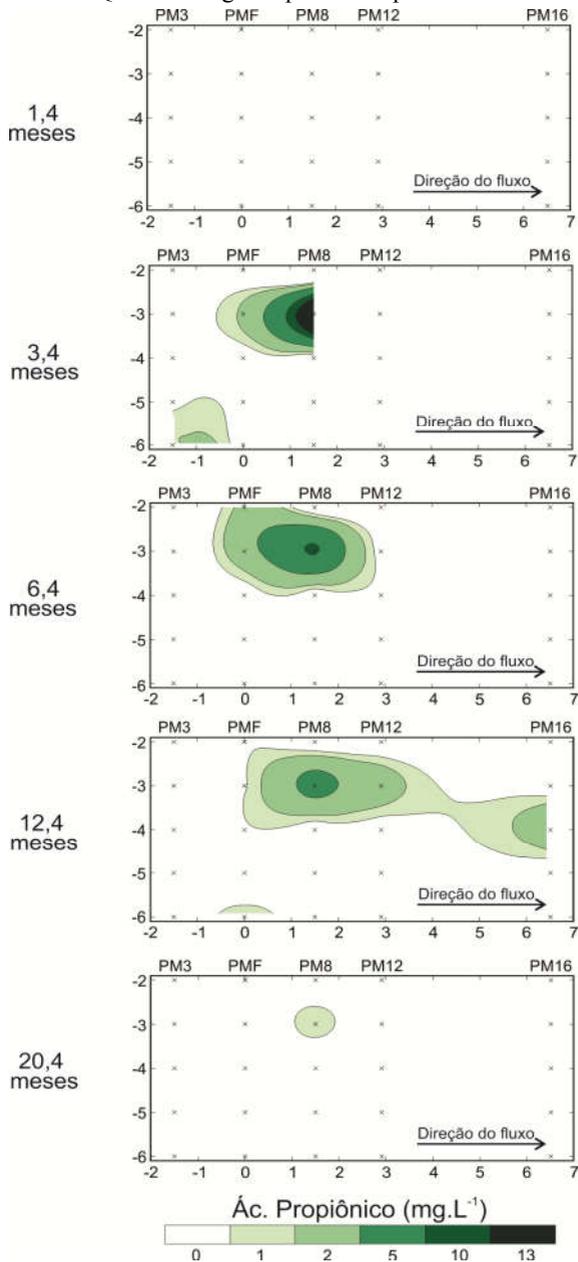


Figura 40. Pluma de ácido propiônico no corte transversal para o experimento ANM ao longo do período experimental.

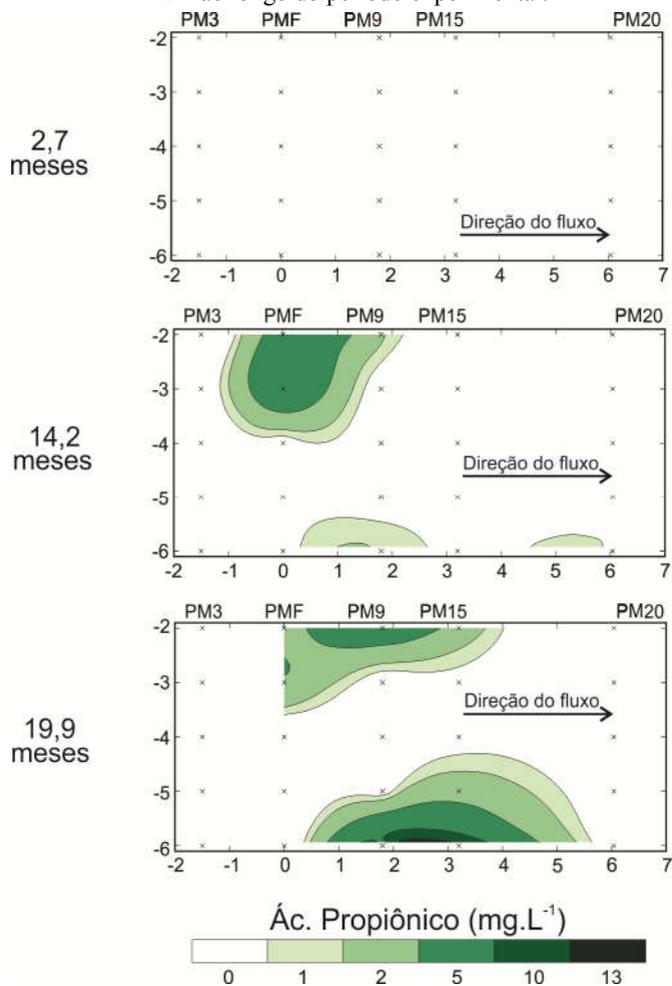


Figura 41. Pluma de metano no corte transversal para o experimento OQP-B ao longo do período experimental.

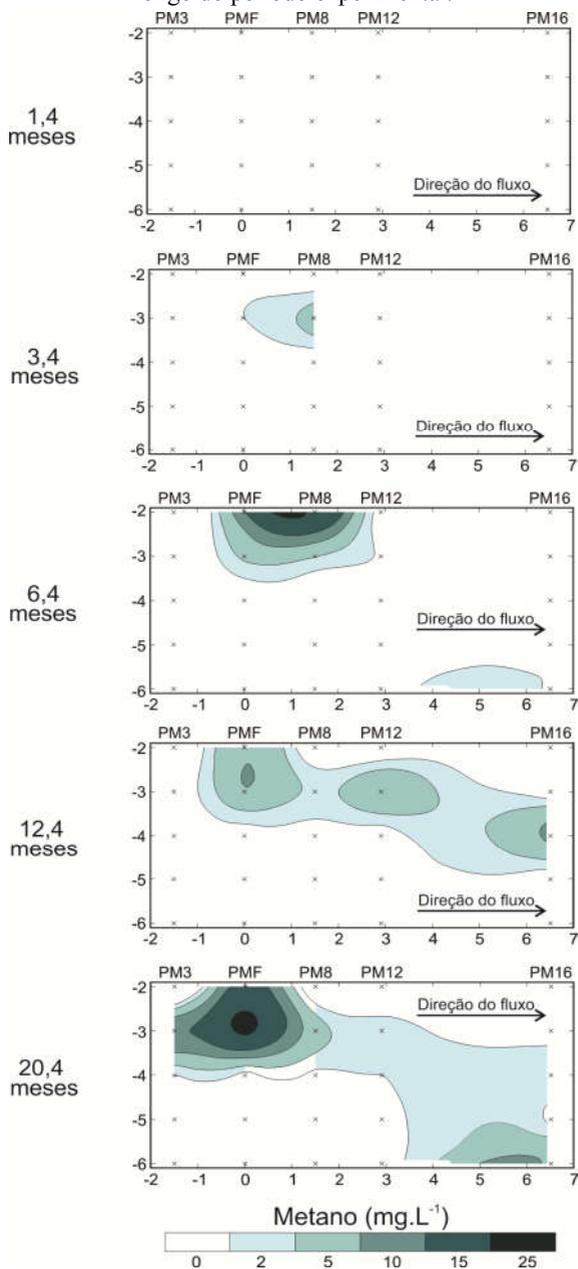
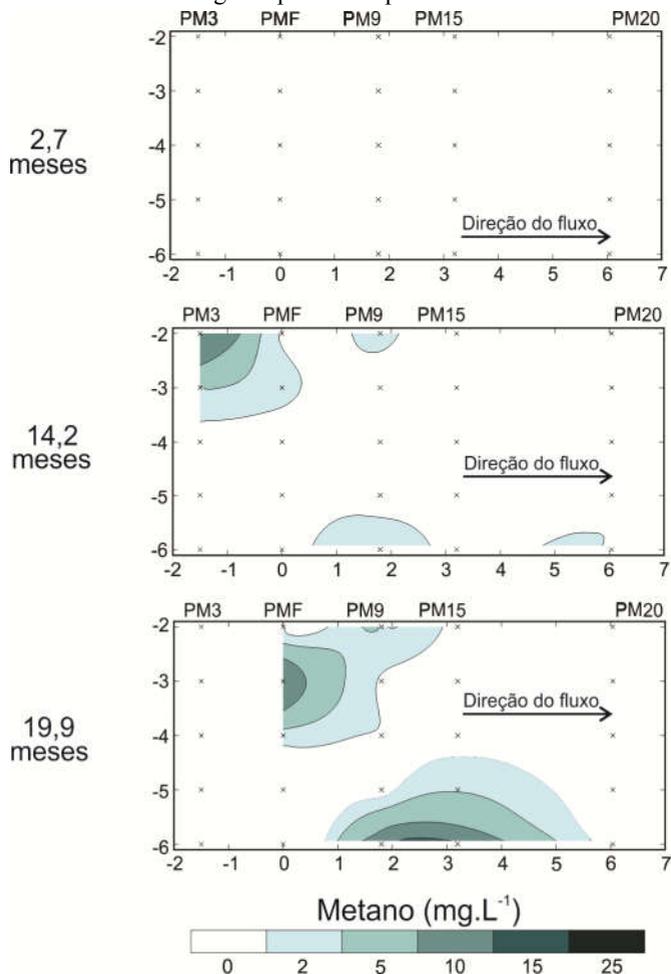


Figura 42. Pluma de metano no corte transversal para o experimento ANM ao longo do período experimental.



Os subprodutos solúveis produzidos pelo tratamento com OQP-B apresentam maior mobilidade do que o composto de origem, o biodiesel de palma. A comparação entre as plumas de acetato, ácido propiônico e metano dos dois experimentos de campo, OQP-B e ANM, demonstra maior migração e acentuada concentração destes metabólitos para o experimento OQP-B, evidenciando assim a efetivação do processo de oxidação química parcial.

Neste contexto, as principais alterações que denotam a produção de subprodutos solúveis pela oxidação química parcial dos EMAGs do biodiesel de palma, na zona da fonte de contaminação, relacionam-se à: (i) aumento da acidez do meio; (ii) produção de ácidos orgânicos; (iii) produção de metano (como o ambiente é fortemente anaeróbico) e (iv) diminuição dos valores de POR. Sendo que, em 3,4 meses de monitoramento após a liberação do contaminante, observou-se a produção, tanto de acetato (Figura 46 – PMF: 89,5 mg.L⁻¹ e PM8: 90,8 mg.L⁻¹) como de ácido propiônico (Figura 43 – PMF: 2,4 mg.L⁻¹ e PM8: 13,1 mg.L⁻¹) e outros ácidos (Figura 43), assim como um aumento na acidez da água subterrânea (Figura 44 – de 25,1 para 419,9 mg.L⁻¹) e produção de metano (Figura 46 – de 0,005 para 4,9 mg.L⁻¹), que foi acompanhado por uma diminuição dos valores de POR (Figura 47 – de 259 para -137 mV). Com relação ao experimento controle, a produção de ácidos orgânicos e metano não foi observada para o período de 3 meses após a liberação do biodiesel de soja (Figuras 38, 40 e 42) e os valores de acidez foram consideravelmente baixos para o período de monitoramento de 19,9 meses (Figura 44 – concentração máxima 242,3 mg.L⁻¹), em comparação ao experimento OQP-B. Portanto, tais resultados forneceram evidências de que a utilização de MgO₂ e Fe₂O₃ DAM favoreceu a oxidação química parcial dos EMAGs do biodiesel, a dissolução para água subterrânea e produção de subprodutos solúveis.

Figura 43. Variações dos ácidos orgânicos voláteis ao longo do período experimental.

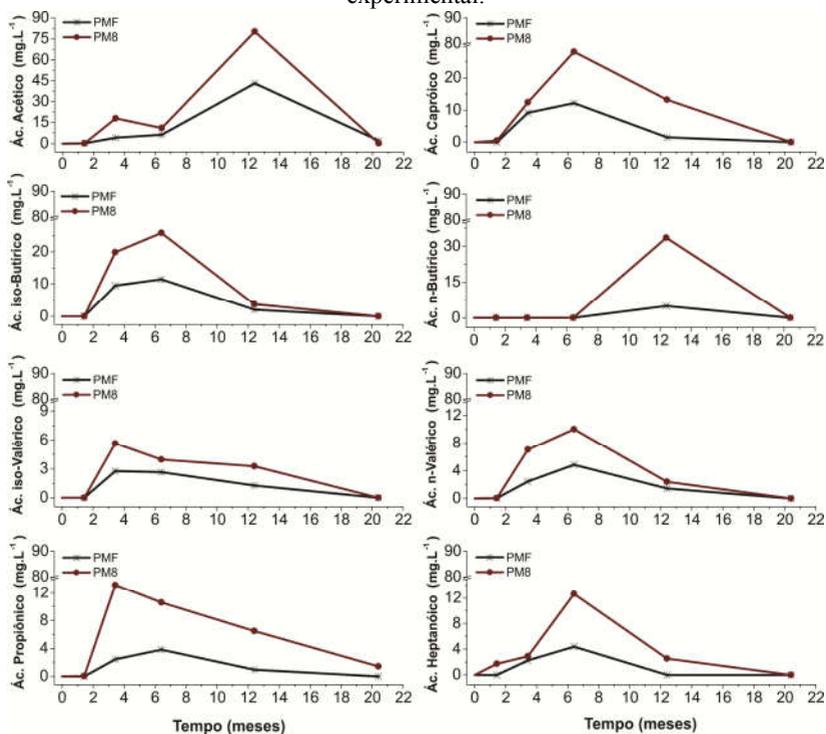
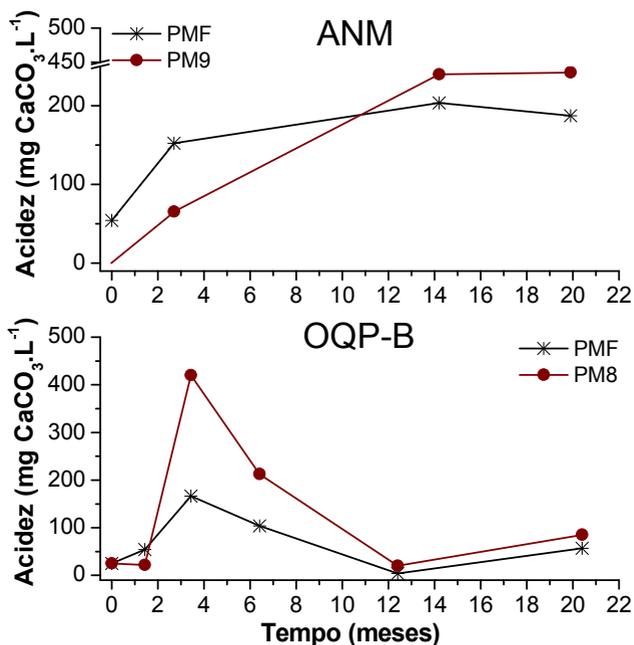


Figura 44. Variação da acidez ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).

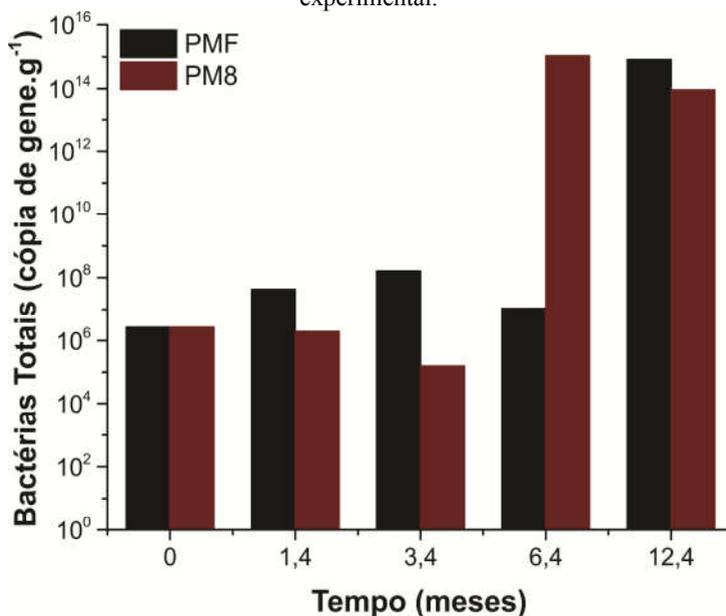


7.2.2.2 *Oxidação Química Parcial Provoca Pouca ou Nenhuma Inibição à Atividade Microbiológica e Produz Subprodutos Biodisponíveis e Biodegradáveis*

O processo de oxidação química parcial libera subprodutos que além de solúveis, são biodisponíveis e biodegradáveis, os quais representam um potencial para a estimulação do crescimento microbiano na água subterrânea, e sob este cenário, a utilização da biodegradação configura-se como uma alternativa viável para remoção dos compostos orgânicos residuais, de forma concomitante ou sequencial ao processo químico. Com base nos dados de qPCR, a concentração de bactérias totais aumentou de 10^6 para 10^8 cópias de gene.g⁻¹ na região da fonte, e não passou de 10^6 cópias de gene.g⁻¹ no poço controle (PM30) em 3,4 meses (Figura 45), sendo que alcançou concentrações tão elevadas quanto 10^{14} cópias de gene.g⁻¹ após 12,4 meses de monitoramento (Figura 45). Pouca ou nenhuma inibição da

atividade microbiológica foi registrada, e a intensificação do crescimento da biomassa (de 6,4 à 12,4 meses) coincidiu com um aumento considerável na concentração de carbonos orgânicos dissolvidos na região da fonte, tal como demonstrado na Figura 46 (de 139,5 para 1446,0 mg.L⁻¹). Em contra partida, a concentração de bactérias totais no experimento ANM foi consideravelmente inferior (10⁸ cópias de gene.g⁻¹) após 19,9 meses da liberação do contaminante (CHIARANDA, 2011). Assim, é possível afirmar que os subprodutos liberados a partir da oxidação química parcial (MgO₂ + Fe₂O₃ DAM) do biodiesel, são biodegradáveis e sua presença representou fator de grande influência para a estimulação da atividade dos micro-organismos no experimento OQP-B, tal como demonstrado nas Figuras 45 e 46 e evidenciado pela comparação ao experimento ANM (controle).

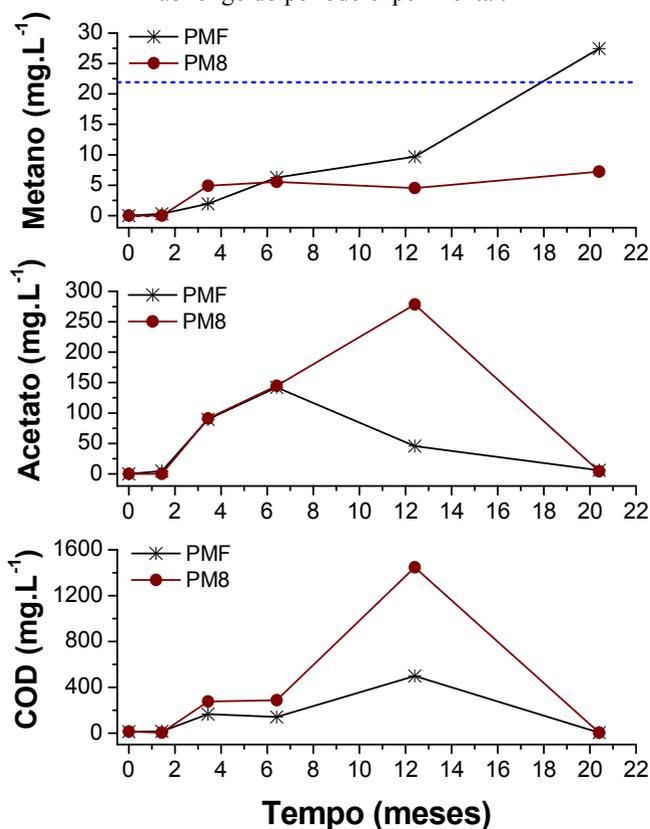
Figura 45. Variação da concentração de bactérias totais ao longo do período experimental.



Na avaliação da evolução da biodegradação dos EMAGs do biodiesel, acetato e metano são os metabólitos mais representativos do processo, dado que, a análise dos EMAGs na água subterrânea é complexa e a cromatografia à gás (CG) por si só, não pode ser utilizada em razão de que as transformações abióticas dos EMAGs (ex.: hidrólise)

podem interferir no resultado (SMITH et al., 2016). Na Figura 46 apresenta-se uma correlação entre a produção de acetato e metano, assim como a concentração de carbono orgânico dissolvido, para o experimento OQP-B. Os resultados revelaram um aumento gradual na concentração de metano durante todo o período experimental (Figura 46 – de 0,005 à 27,4 mg.L⁻¹), diferentemente de acetato e COD, cuja concentrações foram elevadas em 12,4 meses e apresentaram um decaimento considerável em 20,4 meses (Figura 46 – Acetato: de 278,4 para 3,9 mg.L⁻¹ e COD: de 1446,0 para 2,7 mg.L⁻¹), o qual pode ser explicado pela evolução do processo de degradação pela ação de micro-organismos na água subterrânea. Para o experimento ANM as concentrações máximas de acetato (Figura 38 – 120,6 mg.L⁻¹) e de metano (Figura 42 – 4,6 mg.L⁻¹) até o período de 19,9 meses, foram muito inferiores às registradas no experimento OQP-B. De modo geral, tais resultados confirmam a hipótese de que o processo de oxidação química parcial com MgO₂ e Fe₂O₃ DAM pode ser aplicado conjuntamente ao processo de biodegradação, culminando assim em uma técnica eficiente de remediação de compostos que comportam-se como LNAPLs em ambientes subsuperficiais.

Figura 46. Variações de metano, acetato e carbono orgânico dissolvido (COD) ao longo do período experimental.

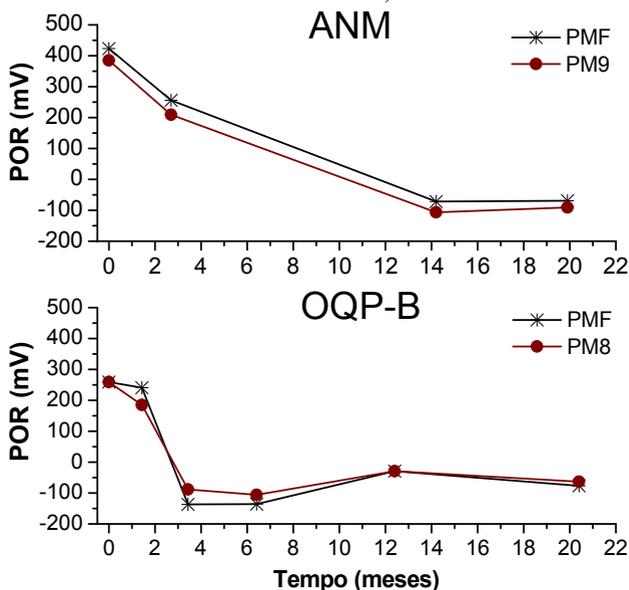


¹ A linha azul tracejada refere-se ao limite de saturação do metano ($\approx 22 \text{ mg.L}^{-1}$).

A disponibilidade de receptores de elétrons na água subterrânea também pode ter sido um fator de influência à estimulação da biomassa na área experimental. O oxigênio é o receptor de elétrons mais favorável termodinamicamente, e apesar de sua lenta liberação pela decomposição do MgO_2 e desenvolvimento das reações de oxidação, o sistema foi rapidamente conduzido para condições anaeróbias, provavelmente em função da elevada demanda bioquímica de oxigênio exercida pelos micro-organismos aeróbios que são capazes de degradar os compostos do biodiesel na área experimental (CORSEUIL et al., 2011). As condições anaeróbias foram denotadas pelo decaimento do potencial de oxirredução (Figura 47 – de 259 para -137 mV) e diminuição na

concentração de oxigênio dissolvido (Figura 31 – de 2,44 para 0,5 mg.L⁻¹) em 3,4 meses. Enquanto que, para o experimento ANM as condições anaeróbias somente se assemelharam ao experimento OQP-B em 14,2 meses, mediante o decaimento dos valores de POR (Figura 47 – de 423 para -107 mV) e baixa concentração de OD (0,09 mg.L⁻¹). Como já mencionado, concentrações de oxigênio dissolvido inferiores a 0,5 mg.L⁻¹ caracterizam ambientes anaeróbios (WIEDEMEIER et al., 1999b), assim como, valores de POR inferiores à +100 mV caracterizam zonas de processos anaeróbios (ex.: ferro-redução, sulfato-redução e metanogênese) (CHAMP; GULENS; JACKSON, 1979) e, por conseguinte, são utilizados como referência na avaliação do estabelecimento das condições anaeróbias.

Figura 47. Variação do potencial de oxirredução ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).



Considerando a hierarquia termodinâmica dos receptores de elétrons, o processo via nitrato-redução, teoricamente, seria o próximo a ocorrer, seguido de ferro e sulfato-redução até atingir condições metanogênicas. Contudo, durante todo período experimental as concentrações dos receptores de elétrons foram baixas e não foi possível fazer qualquer suposição relativamente à predominância ou estimulação

dos processos de oxidação e redução, a despeito do processo de ferro-redução que possivelmente foi estimulado em decorrência da aplicação de Fe_2O_3 DAM, cujo estado de oxidação é o Fe^{3+} . Nas Figuras 48 e 49 constam as variações das concentrações de nitrato e sulfato, assim como de suas espécies reduzidas, nitrito e sulfeto. Uma comparação entre a variação da concentração de Fe^{2+} nos experimentos OQP-B e ANM é apresentada na Figura 50, sendo que o Fe^{3+} não foi analisado em função de sua tendência em formar óxidos ou hidróxidos que dificulta sua amostragem e análise em ambientes subsuperficiais (CHAPELLE, 2001; LOVLEY, 1991). O aumento na concentração de Fe^{2+} para o experimento OQP-B em 3,4 meses (Figura 50 – de 0,005 para 229,5 mg.L^{-1}), possivelmente está associado à decomposição do MgO_2 e evolução das reações de oxidação (Tabela 4), ou pelas reações de biotransformação anaeróbica do contaminante, pois ambos os processos culminam na formação de Fe^{2+} . Para o experimento ANM a máxima concentração atingida foi de 99,5 mg.L^{-1} (Figura 50) em 19,9 meses, indicando que processos de ferro-redução poderiam estar acontecendo neste período. Desta maneira, os resultados demonstram a aceleração do processo de degradação do biodiesel no experimento OQP-B em relação ao experimento ANM.

Figura 48. Variações do nitrito e nitrato ao longo do período experimental.

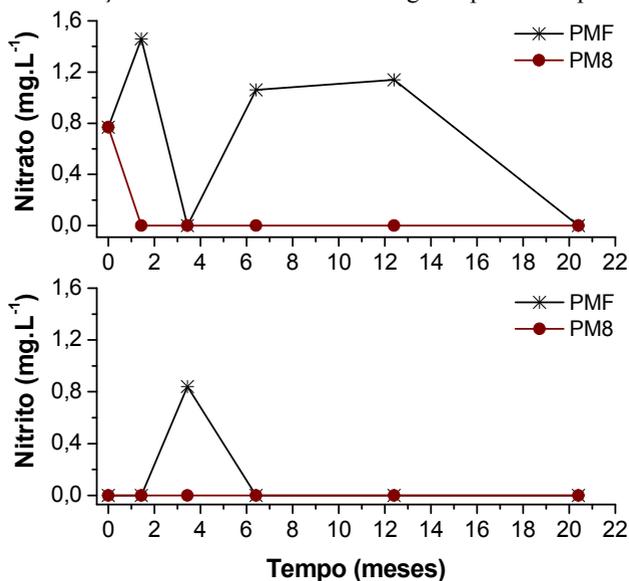


Figura 49. Variações do sulfeto e sulfato ao longo do período experimental.

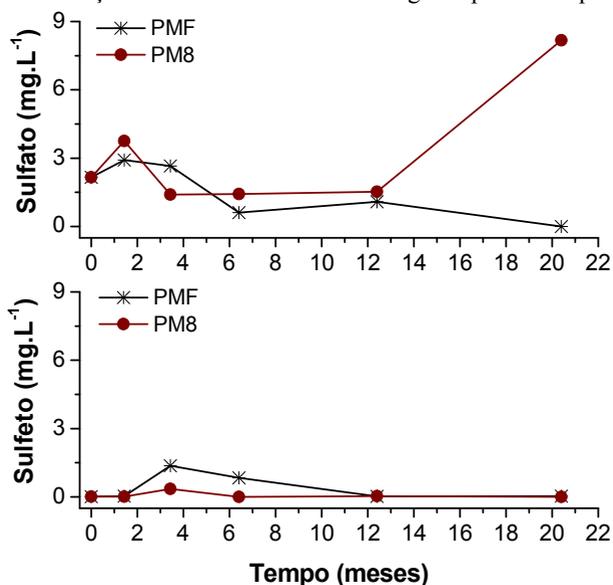
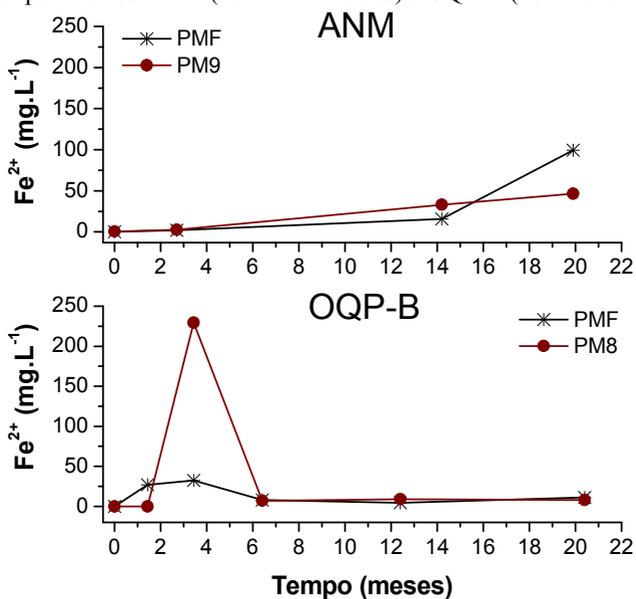


Figura 50. Variação do ferro ferroso (Fe^{2+}) ao longo do período experimental, para os experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros).



Os micro-organismos tem capacidade para remover muitos tipos de compostos em sítios contaminados, por uma diversidade de processos enzimáticos (LOVLEY, 2003), que são conduzidos pela ação conjunta de diferentes grupos microbianos (KLEINSTEUBER; SCHLEINITZ; VOGT, 2012). Para compreensão da evolução filogenética, das comunidades microbiológicas que se desenvolveram durante a liberação dos subprodutos formados pela OQP, bem como, para discernir relativamente aos principais gêneros de micro-organismos envolvidos na degradação dos compostos do biodiesel de palma, o sequenciamento do gene 16S rRNA foi realizado para amostras coletadas na região da fonte (PMF e PM8) e poço controle (PM30), ao longo de um período de 12,4 meses. Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 51, 52, 53 e 54, de acordo com a classificação taxonômica com abundância relativa igual ou superior à 1%.

Os resultados indicaram a presença de 17 filós distintos, sendo que todos os filós detectados no PMF, foram também encontrados no PM8. A predominância de um ou outro filo variou ao longo do período experimental, por exemplo, no PMF Acidobacteria e Proteobacteria predominaram até 1,4 meses de monitoramento, Firmicutes e Proteobacteria entre 3,4 e 6,4 meses, e em 12,4 meses houve a dominância de Proteobacteria, Euryarchaeota e novamente Acidobacteria, o que pode ser um indício do reestabelecimento das condições originais do aquífero (Figuras 51). Para os dois poços de monitoramento, em 12,4 meses, foram observadas arqueas metanogênicas pertencentes ao filo Euryarchaeota, o qual inclui micro-organismos predominantemente metanogênicos, assim como, halófilos e termoacidófilos (Figuras 51 e 52), sendo que apresentaram maior abundância no poço fonte de contaminação (PMF). Os filós predominantes no experimento OQP-B, foram os mesmos detectados na pesquisa de Ramos (2013), em uma área experimental localizada na circunvizinhança. De acordo com a classificação taxonômica, os filós detectados estão vinculados à degradação dos compostos oxidados do biodiesel, à exemplo dos ácidos graxos de cadeia longa cuja as principais comunidades relacionadas à sua degradação são os membros dos filós Firmicutes e Proteobacteria (GRABOWSKI; BLANCHET; JEANTHON, 2005; HATAMOTO et al., 2007; SOUSA et al., 2009b), portanto é possível afirmar que a biodegradação ocorreu concomitantemente ao processo químico no experimento OQP-B.

Figura 51. Classificação taxonômica em nível de filo (abundância relativa $\geq 1\%$), ao longo do período experimental, para o PMF.

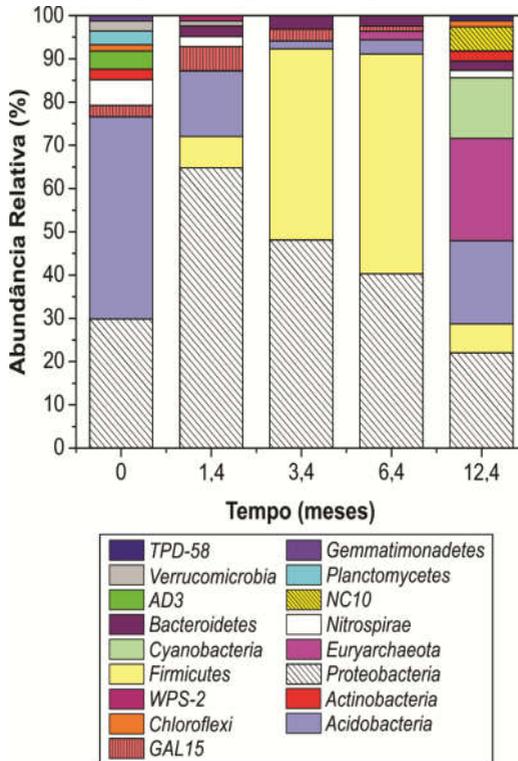
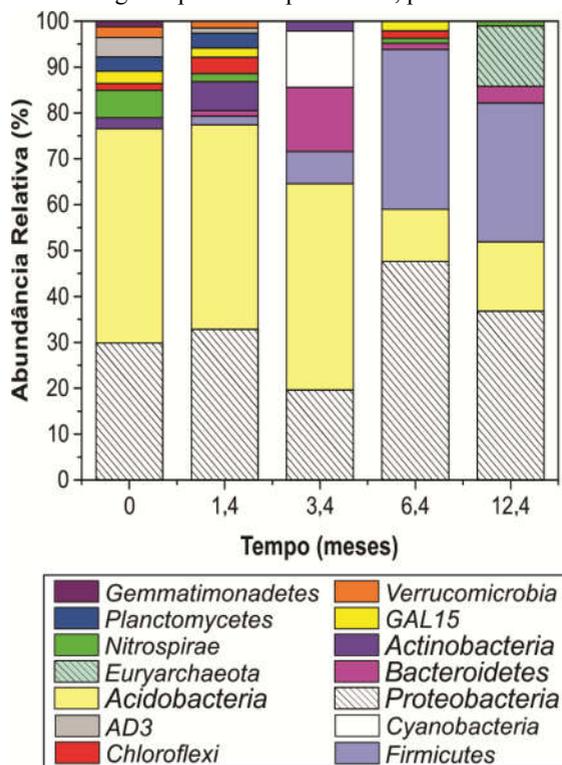


Figura 52. Classificação taxonômica em nível de filo (abundância relativa $\geq 1\%$), ao longo do período experimental, para o PM8.



A produção de subprodutos solúveis a partir da oxidação química parcial do biodiesel, resultou em uma resposta benéfica em relação às comunidades de micro-organismos presentes no sítio contaminado. As alterações geoquímicas descritas anteriormente, relacionadas às condições aeróbias estabelecidas no início da experiência (1,4 meses) (Figuras 31 e 47), foram suportadas pela predominância de gêneros aeróbios e facultativos no mesmo período de tempo (Figuras 53-A e 54-A). Todavia, com o estabelecimento das condições anaeróbias em 3,4 meses do lançamento do contaminante, houve também uma mudança na estrutura das comunidades microbianas predominantes, de gêneros aeróbios para gêneros anaeróbios (Figuras 53-A e 54-A). As informações detalhadas relacionadas ao metabolismo e respiração de todos os gêneros microbiológicos detectados em ambos os experimentos

de campo, OQP-B e ANM, assim como pelos gêneros detectados no experimento de laboratório, contam nas Tabela 30 e 31.

A evolução do período experimental revelou uma seleção relativamente às comunidades dos micro-organismos envolvidos na biodegradação dos compostos oxidados do biodiesel (tais como: ácidos orgânicos, aldeídos e álcoois) (Figuras 53 e 54) e dominância alterada para micro-organismos anaeróbios, com predominância dos gêneros *Geobacter* e *Desulfosporosinus* entre 3,4 e 6,4 meses no PMF. Estes gêneros são conhecidos por sua capacidade em oxidar uma grande variedade de compostos orgânicos, tais como ácidos graxos, álcoois, açúcares e ácidos orgânicos (CORD-RUWISCH; LOVLEY; SCHINK, 1998; LIU et al., 2004; LOVLEY et al., 1993; RAMAMOORTHY et al., 2006; ROBERTSON et al., 2001). O gênero *Geobacter* é conhecido por ser constituído por micro-organismos ferro-redutores, tipicamente associados à degradação de hidrocarbonetos aromáticos em ambientes ricos em acetato (LOVLEY, 1997, 2006; RAMOS et al., 2014). Os micro-organismos do gênero *Desulfosporosinus* geralmente prosperam em ambientes com receptores de elétrons como sulfato, tiosulfato ou sulfito (ROBERTSON et al., 2001; SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015), e atuam para oxidar parcialmente álcoois, açúcares ou ácidos orgânicos, à acetato (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015), sendo que sua capacidade em utilizar Fe^{3+} como receptor de elétrons também foi comprovada (BERTEL et al., 2012; SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015). Um padrão similar foi observado mais tarde no PM8 (entre 6,4 e 12,4 meses), possivelmente porque este poço de monitoramento está localizado 1,5 m à jusante do PMF, e a velocidade lenta do fluxo de água subterrânea pode ter causado um retardado na migração dos subprodutos da OQP em direção PM8. A predominância de *Geobacter* e *Desulfosporosinus* em ambos os poços, PMF e PM8, foi cronologicamente coerente com o aumento na concentração de Fe^{2+} (Figura 50 – de 5,4 para 229,5 mg L⁻¹), sugerindo que os compostos orgânicos podem ter sido biodegradados em condições de ferro-redução.

Os gêneros *Pelotomaculum* e *Clostridium* também foram detectados na zona da fonte (PMF e PM8), e podem ter contribuído para a biodegradação dos compostos orgânicos. Uma vez que os micro-organismos do gênero *Pelotomaculum* estão associados à oxidação do propionato e alguns membros são sintróficos obrigatórios (IMACHI et al., 2008). Ao passo que, os micro-organismos do gênero *Clostridium* são considerados como fermentadores primários, e que algumas espécies estão envolvidas na oxidação de ácidos graxos e acetato (CHAUHAN; OGRAM, 2006; SCHINK, 1997; SIEBER; MCINERNEY;

GUNSALUS, 2012; SINGLETON et al., 2005). De modo geral, as características metabólicas dos principais gêneros de micro-organismos encontrados no experimento OQP-B, sugerem que estes podem ser os principais intervenientes relacionados à biodegradação dos compostos oxidados do biodiesel, que comumente resulta na produção de metabólitos como acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (SIEBER; MCINERNEY; GUNSALUS, 2012), dependendo dos substratos disponíveis. Salientando que, estes gêneros também foram observados em cooperação com comunidades de arqueas (GRABOWSKI; BLANCHET; JEANTHON, 2005; KATO; HASHIMOTO; WATANABE, 2012; RAMOS et al., 2014; SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2015), em relações sintróficas desenvolvidas para explorar o rendimento energético mínimo, comportamento comumente observado em ambientes fortemente anaeróbios.

As comunidades microbianas são beneficiadas energeticamente pelas relações sintróficas com diferentes parceiros, combinando sua capacidade metabólica para consumir um substrato que não pode ser catabolizado independentemente (SCHINK; STAMS, 2013; STAMS; PLUGGE, 2009), e ressaltando o importante papel desempenhado pelas interações microbianas sintróficas (ex.: entre as bactérias e arqueas), para a degradação completa de contaminantes orgânicos. A presença de micro-organismos metanogênicos coincidiu com o aumento da concentração de metano registrado em 12,4 meses (Figura 46 – 9,7 mg L⁻¹). No experimento OQP-B, todas as comunidades de arqueas detectados nas amostras de águas subterrâneas, são capazes de operar via metanogênese hidrogenotrófica (*Candidatus Methanoregula*, *Methanomassiliicoccus*, *Methanospirillum* e *Methanocella*) (BERTEL et al., 2012; BRÄUER et al., 2006; DRIDI et al., 2012) (Figura 53-B e 55-B). Todavia, a análise de sequenciamento do gene 16S rRNA (região V3-V4 de RRS) fornece informações filogenéticas, mas não pode inferir sobre a funcionalidade microbiana. A presença de bactérias acetogênicas e acetoclásticas concomitantemente com as arqueas hidrogenotróficas, sugere que estes micro-organismos podem ter atuado em cooperação sintrófica, para aliviar eventuais restrições termodinâmicas, decorrentes do acúmulo dos metabólitos produzidos durante o processo de oxidação do biodiesel (ex.: acetato e hidrogênio), a fim de permitir a remoção completa dos contaminantes.

A análise de sequenciamento do gene 16S rRNA também foi realizada para os dados do experimento ANM, com objetivo de obter-se informações relativamente às comunidades microbianas envolvidas na atenuação natural do biodiesel de soja, dado que para o período experimental de aproximadamente 20 meses foram observadas condições geoquímicas semelhantes ao experimento OQP-B em 12,4 meses. Os resultados revelaram a presença de gêneros como, *Erwinia*, *Desulfosporosinus* e *Clostridium* no PMF (Figura 55), depois de 20 meses do lançamento do contaminante. Os micro-organismos do gênero *Erwinia* são anaeróbios facultativos, e são ecologicamente relacionados à processos desenvolvidos em plantas (PAULIN, 2000), sendo que ainda não foram associados à biodegradação dos ésteres de biodiesel ou dos ácidos graxos de cadeia longa, mas podem produzir ácidos orgânicos por meio de vias fermentativas (SUTTON; STARR, 1959), fator que pode justificar a sua abundância neste período experimental. A elevada abundância dos gêneros *Erwinia*, *Desulfosporosinus* e *Clostridium* coincidiu com a maior concentração de acetato (Figura 38 – 120,6 mg L⁻¹) e de Fe²⁺ (Figura 50 – 99,5 mg L⁻¹) detectada em 19,9 meses de monitoramento, o que sustenta a afirmação de que os compostos do biodiesel podem ter sido biodegradados sob condições fermentativas e ferro-redutoras no experimento ANM. Relações sintróficas similares ao experimento OQP-B podem ter ocorrido no experimento ANM, visto que a presença dos gêneros de arqueas hidrogenotróficas *Methanomassiliicoccus* e *Methanocella*, coincidiu com a concentração de metano mais elevada (Figura 42 – 4,6 mg.L⁻¹ 19,9 meses) registrada no experimento ANM. Considerando o perfil geoquímico associado às comunidade microbianas detectadas no experimento ANM, é possível afirmar que somente após aproximadamente 20 meses do lançamento do contaminante, as condições foram semelhantes às do experimento OQP-B, concluindo assim, que o processo de remediação com OQP-B acelerou a biodegradação global do biodiesel em comparação com o processo de atenuação natural.

Tabela 30. Metabolismo e respiração de todos os gêneros de arqueas detectados nas amostras de água subterrânea dos experimentos de laboratório e de campo (OQP-B e ANM).

Gênero	Respiração	Substratos	Referências
<i>Candidatus Methanoregula</i>	Metanogênico e anaeróbico obrigatório	Hidrogênio e dióxido de carbono	Bräuer et al., (2006, 2011); Imachi et al., (2008)
<i>Methanocella</i>	Metanogênico e anaeróbico obrigatório	Hidrogênio, dióxido de carbono, formato, acetato, propionato	Alvarado et al., 2014; Sakai et al., (2008, 2010, 2011)
<i>Methanomassiliicoccus</i>	Metanogênico e anaeróbico obrigatório	Hidrogênio e metanol.	Dridi et al., (2012) Bräuer et al., (2011);
<i>Methanospirillum</i>	Metanogênico e anaeróbico obrigatório	Hidrogênio e dióxido de carbono	Ferry; Smith; Wolfe, (1974); Iino; Mori; Suzuki, (2010); Parshina et al., (2014)

Tabela 31. Metabolismo e respiração de todos os gêneros de bactérias detectados nas amostras de água subterrânea dos experimentos de laboratório e de campo (OQP-B e ANM).

Gênero	Respiração	Substratos	Referências
<i>Acidocella</i>	Ferro-redutor	Frutose, acetato, compostos aromáticos	Hedrich; Johnson, (2013); Jones; Hedrich; Johnson, (2013); Kay et al., (2013)
<i>Acinetobacter</i>	Estritamente aeróbios	Azelato, 2,3-butanodiol, etanol, DL-lactato e furfural	Choi et al., (2013); Christofi; Ivshina, (2002)
<i>Anaerococcus</i>	Anaeróbio	Açúcares, carboidratos, trissacarídeos	Ezaki et al. (2001)
<i>Bacillus</i>	Aeróbio	Álcoois, açúcares	Ajithkumar et al. (2002)
<i>Burkholderia</i>	Aeróbio ou microaerofílico	Metil ésteres, acetato, alcanos, compostos aromáticos, compostos clorados e furfural	Belova; Pankratov; Dedysh, (2006); O'Sullivan; Mahenthiralingam, (2005); Philippe; Vega; Bastide, (2001); Yabuuchi et al., (1992)
<i>Candidatus Koribacter</i>	Nitrato e nitrito redutor	Açúcares, aminoácidos, álcoois, ácidos orgânicos, quitina, pectina, amido, xileno e celulose	Ward et al., (2009)
<i>Candidatus Methyloimrabilis</i>	Anaeróbio metanotrófico, aeróbio, nitrato e nitrito redutor	Metano	Kool et al., (2012); Wu et al., (2015)
<i>Candidatus Portiera</i>	-	Aminoácidos, treonina e triptofano	Jiang et al. (2012); Santos-Garcia et al., (2012)
<i>Candidatus Solibacter</i>	Aeróbio, nitrato e nitrito redutor	Açúcares, aminoácidos, álcoois, ácidos orgânicos, quitina, pectina, amido, xileno e celulose	Ward et al., (2009)
<i>Carica</i>	Anaeróbio facultativo	Açúcares	Gardan et al. (2004)
<i>Catenibacterium</i>	Anaeróbio obrigatório	Açúcares e álcoois	Kageyama; Benno (2000)
<i>Corynebacterium</i>	Aeróbio e nitrato redutor	Açúcares, monossacarídeos, álcoois	Chen et al. (2004)
<i>Collinsella</i>	Anaeróbio	Açúcares	Kageyama; Benno (2000b)
<i>Clostridium</i>	Sulfato, tiosulfato, sulfito, ou arseniato redutor	Açúcares, álcoois, compostos monoaromáticos e lipídios neutros	Christofi; Ivshina, (2002); Liu et al., 2004; Ramamoorthy et al., (2006); Robertson et al., (2001)

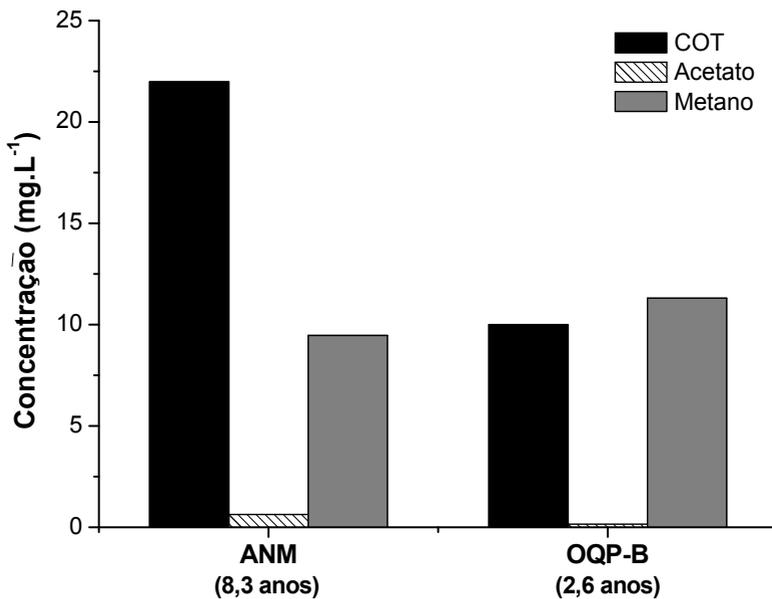
<i>Cupriavidus</i>	Aeróbio	Aminoácidos, ácidos orgânicos, compostos aromáticos e furfural	Makkar; Casida, (1987)
<i>Desulfobacca</i>	Sulfato redutor	Ácidos orgânicos	Oude Elferink et al., (1999)
<i>Desulfosporosinus</i>	Sulfato, tiosulfato, sulfito, ou arseniato redutor	Açúcares, álcoois e compostos monoaromáticos	Liu et al., (2004); Ramamoorthy et al., (2006); Robertson et al., (2001)
<i>Desulfotomaculum</i>	Sulfato redutor	Hidrogênio, dióxido de carbono, formato, ácidos orgânicos, álcoois	Kuever; Rainey; Hippe (1999); Pikuta et al. (2000)
<i>Desulfurispora</i>	Sulfato redutor	Açúcares, álcoois, hidrogênio, dióxido de carbono, ácidos orgânicos	Kaksonen et al. (2007)
<i>Erwinia</i>	Anaeróbio facultativo	Açúcares, álcoois, sais e óleos	El-Nemr, (2006); Martinec; Kocur, (1964); Mergaert et al., (1999; 1993)
<i>Faecalibacterium</i>	Anaeróbio	Acetato	Duncan et al. (2002)
<i>Gemmata</i>	Aeróbio	Açúcares, álcoois e carboidratos	Franzmann; Skerman (1984); Kulichevskaya et al. (2009)
<i>Gracilibacter</i>	Anaeróbio	Açúcares, álcoois e aminoácidos	Lee et al. (2006)
<i>Geobacillus</i>	Facultativo	Ácidos orgânicos, álcoois, compostos aromáticos e carboidratos	Nazina et al. (2001)
<i>Geobacter</i>	Ferro redutor e fermentativo	Ácidos graxos de cadeia curta, álcoois e compostos monoaromáticos	Cord-Ruwisch; Lovley; Schink, (1998); Lovley et al., (1993)
<i>Hydrogenophaga</i>	Aeróbio e nitrito redutor	Hidrogênio e açúcares	Willems et al., (1989)
<i>Hydrogenophilus</i>	Aeróbio	Ácidos orgânicos	Vésteinsdóttir; Reynisdóttir; Örlýgsson (2011)
<i>LCP-6</i>	Sulfato redutor	Ácidos orgânicos e benzeno	Kleinstauber et al., (2008); Rulik; Chaudhary, (2014)
<i>Magnetospirillum</i>	Anaeróbio, microaeróbio e nitrato redutor	Ácidos orgânicos e compostos aromáticos	Pagnier; Raoult; La Scola, (2011); Schleifer et al., (1991); Shinoda et al., (2005)
<i>Methylobacterium</i>	Aeróbio	Açúcares, álcoois, ácidos orgânicos, aldeídos, aminoácidos, metano e furfural	Patt; Cole; Hanson, (1976); Van Aken, (2004)

<i>Novosphingobium</i>	Aeróbio e nitrato redutor	Açúcares, álcoois, ácidos orgânicos e aminoácidos	Gupta; Lal; Lal, (2009); Kämpfer et al., (2011); Takeuchi; Hamana; Hiraishi, (2001)
<i>Oxobacter</i>	Anaeróbio	Monóxido de carbono	Bengelsdorf et al., (2015)
<i>Pelotomaculum</i>	Fermentativo	Ácidos orgânicos e álcoois	Imachi et al., (2002)
<i>Petrobacter</i>	Nitrato redutor	Álcoois, ácidos dicarboxílicos e piruvato	Salinas et al. (2004)
<i>Pseudomonas</i>	Desnitrificante facultativo	Compostos aromáticos	Bruce et al. (2010); Shim et al. (2005)
<i>Prevotella</i>	Estritamente anaeróbio	Açúcares, ácidos orgânicos, amido solúvel, xileno, pectina e salicina	Ueki et al., (2007)
<i>Propionibacterium</i>	Anaeróbio e aerotolerante	Açúcares, álcoois e ácidos carboxílicos	Kusano et al., (1997)
<i>Ralstonia</i>	Aeróbio ou denitrificante	Ácidos graxos, álcoois, ácidos carboxílicos, compostos aromáticos, compostos fenólicos e furfural	Bodour et al., (2003); Cramm, (2009)
<i>Rhodoplanes</i>	Anaeróbio, Sulfato, nitrato, tiosulfato redutor	Ácidos orgânicos, aminoácidos e álcoois	Okamura; Kanbe; Hiraishi, (2009)
<i>Rubrobacter</i>	Nitrato e nitrito redutor	Açúcares, acetato, ácidos dicarboxílicos, piruvato e álcoois	Carreto et al. (1996); Kämpfer et al. (2014)
<i>Ruminococcus</i>	Anaeróbio	Ácidos orgânicos	Moore; Cato; Holdeman, 1972; Van Gylswyk; Roche, 1970
<i>Sediminibacterium</i>	Aeróbio ou anaeróbio facultativo	Açúcares, sais, ácidos carboxílicos	Kang et al., (2014); Kim et al., (2013); Qu; Yuan, (2008)
<i>Sphingomonas</i>	Aeróbio	Compostos aromáticos, açúcares e metil piruvato	Borde et al., (2003); Fang; Liang; Zhang, (2007); Pollock, (1993); Yabuuchi et al., (1990)
<i>Staphylococcus</i>	Aeróbio facultativo (nitrato redutor)	Açúcares, álcoois e carboidratos	Spergser et al. (2003)
<i>Streptococcus</i>	Anaeróbio facultativo	Açúcares, carboidratos e aminoácidos	Hardie; Whiley, (1997)
<i>Telmatospirillum</i>	Anaeróbio facultativo	Ácidos orgânicos e álcoois	Sizova et al., (2007)

7.2.3 Remoção da Contaminação na Fase LNAPL – Alterações do Solo e da Água Subterrânea da Área Experimental

A ISCO pode ser considerada uma tecnologia confiável e eficaz para o tratamento de contaminantes sorvidos e em fase LNAPL (LIANG et al., 2008; LIANG; LEE, 2008; WATTS; TEEL, 2005). Particularmente relacionado às aplicações do reagente Fenton modificado, é possível inferir que algumas espécies reativas de oxigênio, geradas através das reações de propagação do H_2O_2 , podem ser responsáveis pela remediação eficiente de sítios contaminados com LNAPLs (WATTS; TEEL, 2005). As análises de solo realizadas para os experimentos OQP-B (após 30,6 meses) e ANM (após 99,2 meses) na zona da fonte, indicaram completa remoção dos compostos do biodiesel na fase LNAPL. Os resultados da análise de óleos e graxas indicaram valores abaixo do limite de detecção para todas as amostras de ambos os experimentos ($< 10 \text{ mg.kg de solo}^{-1}$). No experimento ANM, a concentração de COT na fonte da zona ($832,4 \text{ mg.kg de solo}^{-1} \pm 207,3$) foi semelhante ao resultado registrado para o poço controle ($803 \text{ mg.kg de solo}^{-1}$). Em contra partida, para o experimento OQP-B a concentração de COT foi menor na zona da fonte ($629 \text{ mg.kg de solo}^{-1} \pm 136,2$) do que no poço controle ($936 \text{ mg.kg de solo}^{-1}$), possivelmente devido às reações não produtivas entre o oxidante e a matéria orgânica do solo. As análises de carbono orgânico total da água subterrânea mostraram que, para o experimento ANM a concentração de COT foi duas vezes maior do que no experimento OQP-B (Figura 56 – COT: $21,9 \text{ mg.L}^{-1}$ ANM / 10 mg.L^{-1} OQP-B). Considerando a baixa concentração de acetato no experimento ANM (Figura 56 – $0,6 \text{ mg.L}^{-1}$), é possível inferir que hidrocarbonetos com cadeias maiores podem ter persistido na água subterrânea, evidenciando que o biodiesel pode não ter sido totalmente degradado após 8 anos do seu lançamento no solo. Comparativamente, no experimento OQP-B, a concentração de acetato foi ainda mais baixa (Figura 56 – $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$) e a concentração de metano (Figura 56 – $11,3 \text{ mg.L}^{-1}$) foi da mesma ordem de grandeza que a concentração de COT (Figura 56 – 10 mg.L^{-1}). Estes resultados se mostraram coerentes com a degradação dos EMAG do biodiesel no experimento OQP-B em relação ao experimento ANM, e deste modo, a eficácia da oxidação química parcial ($MgO_2 + Fe_2O_3$ DAM) associada à biodegradação foi efetivamente comprovada como tecnologia de remediação.

Figura 56. Concentração de carbono orgânico total (COT), acetato e metano, na zona da fonte dos experimentos ANM (no nível 2 metros) e OQP-B (no nível 3 metros), após 99,2 (ANM) e 30,6 (OQP-B) meses do início de cada experimento.



8 CONCLUSÕES

Os experimentos realizados em laboratório e em campo, demonstraram que a remediação com oxidação química parcial associada à biodegradação, aumentou dissolução dos compostos do biodiesel, assim como, acelerou a produção de subprodutos solúveis, biodisponíveis e biodegradáveis, em comparação ao experimento ANM, que foi utilizado como controle comparativo nesta pesquisa.

O processo de oxidação química parcial foi o principal responsável pelas vantagens em termos de remediação, obtidas no experimento OQP-B. A liberação lenta de H_2O_2 pela decomposição do MgO_2 , que resultou na dissolução acelerada dos compostos do biodiesel e produção de subprodutos mais solúveis que os compostos de origem, foi evidenciada pelos resultados do experimento de laboratório. Sendo que em campo, a oxidação dos compostos do biodiesel ocorreu de forma eficiente, tal como comprovado pela redução dos valores do potencial de oxirredução (de 259 para -137 mV), produção de ácidos orgânicos e aumento da acidez do meio (de 25,1 para 419,9 $mg.L^{-1}$) no período inicial de monitoramento. O $Mg(OH)_2$, que também é liberado pela decomposição do MgO_2 , não provocou efeito negativo ao sistema subsuperficial, principalmente em relação ao pH do meio, que permaneceu sem alterações significativas (variando entre 4 e 5) ao longo de todo o período experimental. As partículas de Fe_2O_3 DAM podem ser utilizadas na catálise das reações de oxidação, resultantes a partir da decomposição do MgO_2 no ambiente subsuperficial. Deste modo, a aplicação da oxidação química parcial ($MgO_2 + Fe_2O_3$ DAM) aumentou a dissolução dos compostos do biodiesel e a produção de subprodutos que são mais solúveis e biodisponíveis para a água subterrânea, e sob essa conformação, a biodegradação foi utilizada de forma associada ao processo químico.

A atividade dos micro-organismos não foi inibida pela introdução dos químicos (MgO_2 e Fe_2O_3 DAM), uma vez que a biomassa total foi estimulada de forma eficiente (de 10^6 para 10^{14} gene copias. g^{-1}) e a remoção dos compostos orgânicos residuais ocorreu pelo processo de biodegradação, simultaneamente à oxidação química parcial. A resposta benéfica das comunidades microbianas, foi atribuída à liberação de compostos biodisponíveis e biodegradáveis para a água subterrânea. As condições aeróbias foram mantidas até 1,4 meses, posteriormente, devido à elevada demanda bioquímica de oxigênio normalmente exercida pelos compostos de biodiesel, as condições anaeróbias foram estabelecidas (POR: -137 mV e OD: 0,5 $mg.L^{-1}$, na zona da fonte em 3,4

meses de monitoramento), e esta alteração conduziu à uma mudança na abundância relativa dos micro-organismos, que resultou no predomínio dos gêneros *Geobacter* e *Desulfosporosinus*, os quais podem ter sido os principais responsáveis pela biodegradação anaeróbia dos compostos oxidados do biodiesel (ex.: ácidos orgânicos, aldeídos e álcoois). No entanto, outros gêneros importantes como *Pelotomaculum* e *Clostridium*, também podem ter contribuído para o processo global de biodegradação. Além disso, a presença predominante de arqueas hidrogenotróficas simultaneamente às bactérias acetogênicas e acetoclásticas, sugere que houve uma cooperação sintrófica para atenuação de eventuais restrições termodinâmicas, estabelecidas pelo acúmulo dos metabólitos produzidos durante a degradação do contaminante (ex.: acetato e hidrogênio).

As análises realizadas no solo e na água subterrânea ao final do período experimental, revelaram que a remediação com oxidação química parcial associada à biodegradação, removeu completamente os compostos do biodiesel na fase LNAPL, após 2,6 anos do início do experimento. Assim, é possível afirmar que a utilização desta abordagem modificada da ISCO, tem potencial para remover tanto os contaminantes na fase LNAPL como os compostos orgânicos dissolvidos na água subterrânea, evitando assim os efeitos de longo prazo na zona da fonte, que são comuns à este tipo de contaminação. De modo geral, os resultados comprovaram que a oxidação química parcial ($MgO_2 + Fe_2O_3$ DAM) associada à biodegradação, pode ser uma alternativa viável para a remediação de compostos pouco solúveis em água e, por conseguinte, configura-se como uma estratégia rápida e eficiente de remediação.

9 RECOMENDAÇÕES

- Realizar estudos em laboratório relativamente a cinética de decomposição do MgO_2 .
- Testar metodologias de detecção de H_2O_2 em experimento de campo com OQP-B.
- Realizar estudos em laboratório relativamente à ação catalítica do Fe_2O_3 DAM, quando da utilização do MgO_2 em comparação à utilização direta do $H_2O_{2(aq)}$.
- Realizar análises periódicas de sequenciamento do gene 16S rRNA em amostras dos experimentos OQP-B e ANM, para analisar as alterações nas comunidades microbianas no decorrer de longos períodos de tempo.
- Realizar estudos detalhados relativamente às relações simbióticas estabelecidas para a degradação dos compostos oxidados do biodiesel no experimento OQP-B.

REFERÊNCIAS

ABNT. NBR 7181. Solo - análise granulométrica. . 1984.

AJITHKUMAR, V. P. et al. *Bacillus funiculus* sp. nov., novel filamentous isolates from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 1141–1144, 2002.

AKHLAGHI, S. et al. Deterioration of acrylonitrile butadiene rubber in rapeseed biodiesel. **Polymer Degradation and Stability**, v. 111, p. 211–222, jan. 2015.

ALAZARD, D. et al. *Desulfosporosinus acidiphilus* sp. nov.: a moderately acidophilic sulfate-reducing bacterium isolated from acid mining drainage sediments. **Extremophiles**, v. 14, n. 3, p. 305–312, 1 abr. 2010.

ALVARADO, A. et al. Microbial trophic interactions and *mcrA* gene expression in monitoring of anaerobic digesters. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 12 nov. 2014.

ALVAREZ ALVARADO, P. J.; PÉREZ, E. G. **Biorremediación y atenuación natural de acuíferos contaminados por sustancias químicas peligrosas**. 1a. ed ed. Valencia: Universidad de Carabobo, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 2003.

ANA. **ATLAS Brasil - Abastecimento Urbano de Água: Panorama Nacional**. [s.l.] Agência Nacional de Águas, 2010. Disponível em: <<http://atlas.ana.gov.br/Atlas/downloads/atlas/Resumo%20Executivo/Atlas%20Brasil%20-%20Volume%201%20-%20Panorama%20Nacional.pdf>>. Acesso em: 27 maio. 2016.

ANDERSEN, S. L. F. et al. Synthesis and Characterization of Acicular Iron Oxide Particles Obtained from Acid Mine Drainage and Their Catalytic Properties in Toluene Oxidation. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 2, p. 767–774, 18 jan. 2012.

ANDERSON, R. T.; LOVLEY, D. R. Ecology and Biogeochemistry of in Situ Groundwater Bioremediation. In: JONES, J. G. (Ed.). .

Advances in Microbial Ecology. Advances in Microbial Ecology. [s.l.] Springer US, 1997. p. 289–350.

ANP. **ANUÁRIO ESTATÍSTICO BRASILEIRO DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS** Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, , 2015. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/publicacoes/anuario-estatistico/2440-anuario-estatistico-2015>>. Acesso em: 21 out. 2016

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** Washington, D.C.: APHA-AWWA-WEF, 1998.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater, Centennial Edition.** 21 Har/Cdr edition ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005.

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. Hydrocarbon Biodegradation and Oil Spill Bioremediation. In: MARSHALL, K. C. (Ed.). . **Advances in Microbial Ecology.** Advances in Microbial Ecology. [s.l.] Springer US, 1992. p. 287–338.

BACIOCCHI, R. Principles, Developments and Design Criteria of In Situ Chemical Oxidation. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 12, p. 1–11, 19 nov. 2013.

BACIOCCHI, R. et al. Development of technical guidelines for the application of in-situ chemical oxidation to groundwater remediation. **Journal of Cleaner Production**, Emerging industrial processes for water management. v. 77, p. 47–55, 15 ago. 2014.

BANNISTER, C. D. et al. Oxidative Stability of Biodiesel Fuel. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part D: Journal of Automobile Engineering**, v. 225, n. 1, p. 99–114, 1 jan. 2011.

BARREIRO, J. C. et al. Oxidative decomposition of atrazine by a Fenton-like reaction in a H₂O₂/ferrihydrite system. **Water Research**, v. 41, n. 1, p. 55–62, jan. 2007.

BAUTISTA, P. et al. An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewaters treatment. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 83, n. 10, p. 1323–1338, 1 out. 2008.

BELOVA, S. E.; PANKRATOV, T. A.; DEDYSH, S. N. Bacteria of the genus Burkholderia as a typical component of the microbial community of Sphagnum peat bogs. **Microbiology**, v. 75, n. 1, p. 90–96, jan. 2006.

BENGELSDORF, F. R. et al. Genome Sequence of the Acetogenic Bacterium *Oxobacter pfennigii* DSM 3222T. **Genome Announcements**, v. 3, n. 6, 3 dez. 2015.

BERGENDAHL, J. A.; THIES, T. P. Fenton's oxidation of MTBE with zero-valent iron. **Water Research**, v. 38, n. 2, p. 327–334, jan. 2004.

BERTEL, D. et al. Iron transformations induced by an acid-tolerant *Desulfosporosinus* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 1, p. 81–88, jan. 2012.

BERTOLLA, L. et al. GPR-4D monitoring a controlled LNAPL spill in a masonry tank at USP, Brazil. **Journal of Applied Geophysics**, v. 103, p. 237–244, abr. 2014.

BIANCHI-MOSQUERA, G. C.; ALLEN-KING, R. M.; MACKAY, D. M. Enhanced Degradation of Dissolved Benzene and Toluene Using a Solid Oxygen-Releasing Compound. **Ground Water Monitoring & Remediation**, v. 14, n. 1, p. 120–128, 1 fev. 1994.

BODOUR, A. A. et al. Temporal change in culturable phenanthrene degraders in response to long-term exposure to phenanthrene in a soil column system. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 10, p. 888–895, out. 2003.

BORDE, X. et al. Synergistic relationships in algal–bacterial microcosms for the treatment of aromatic pollutants. **Bioresource Technology**, v. 86, n. 3, p. 293–300, fev. 2003.

BRASIL. 13.263. Lei nº 13.263, de 23 de março de 2016. Altera a Lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. . 23 mar. 2016.

BRÄUER, S. L. et al. Isolation of a novel acidiphilic methanogen from an acidic peat bog. **Nature**, v. 442, n. 7099, p. 192–194, 13 jul. 2006.

BRÄUER, S. L. et al. Methanoregula boonei gen. nov., sp. nov., an acidiphilic methanogen isolated from an acidic peat bog. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. Pt 1, p. 45–52, jan. 2011.

BRUCE, T. et al. Bacterial community diversity in the Brazilian Atlantic forest soils. **Microbial Ecology**, v. 60, n. 4, p. 840–849, nov. 2010.

BRYANSKAYA, A. V. et al. Geobacillus icigianus sp. nov., a thermophilic bacterium isolated from a hot spring. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 864–869, 2015.

CAPORASO, J. G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature methods**, v. 7, n. 5, p. 335–336, maio 2010.

CARRETO, L. et al. Rubrobacter xylanophilus sp. nov., a New Thermophilic Species Isolated from a Thermally Polluted Effluent. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 460–465, 1996.

CASSIDY, D.; NORTHUP, A.; HAMPTON, D. The effect of three chemical oxidants on subsequent biodegradation of 2,4-dinitrotoluene (DNT) in batch slurry reactors. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 84, n. 6, p. 820–826, 1 jun. 2009.

CASSIDY, D. P.; IRVINE, R. L. Use of calcium peroxide to provide oxygen for contaminant biodegradation in a saturated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 69, n. 1, p. 25–39, 1 set. 1999.

CETESB. **Áreas Contaminadas**. Disponível em: <<http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/>>. Acesso em: 27 maio. 2016.

CETESB. **Texto explicativo - Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo** Diretoria de controle e

licenciamento ambiental, , 2015. Disponível em: <<http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2013/11/Texto-explicativo.pdf>>

CHAMARRO, E.; MARCO, A.; ESPLUGAS, S. Use of fenton reagent to improve organic chemical biodegradability. **Water Research**, v. 35, n. 4, p. 1047–1051, mar. 2001.

CHAMP, D. R.; GULENS, J.; JACKSON, R. E. Oxidation–reduction sequences in ground water flow systems. **Canadian Journal of Earth Sciences**, v. 16, n. 1, p. 12–23, jan. 1979.

CHAPELLE, F. H. **Ground-Water Microbiology and Geochemistry**. 2 edition ed. New York, N.Y: Wiley, 2001.

CHAPMAN, S. W. et al. A Pilot Test of Passive Oxygen Release for Enhancement of In Situ Bioremediation of BTEX-Contaminated Ground Water. **Ground Water Monitoring & Remediation**, v. 17, n. 2, p. 93–105, 1 maio 1997.

CHAUHAN, A.; OGRAM, A. Phylogeny of Acetate-Utilizing Microorganisms in Soils along a Nutrient Gradient in the Florida Everglades. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 10, p. 6837–6840, out. 2006.

CHEN, H.-H. et al. *Corynebacterium halotolerans* sp. nov., isolated from saline soil in the west of China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 779–782, 2004.

CHENG, S. et al. Efficient recovery of nano-sized iron oxide particles from synthetic acid-mine drainage (AMD) water using fuel cell technologies. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 303–307, jan. 2011.

CHIARANDA, H. S. **Alterações biogeoquímicas em águas subterrâneas impactadas por biodiesel de soja e misturas de diesel/biodiesel (B20)**. Florianópolis/SC: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental., 2011.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 4, p. 169–186, 1 set. 2006.

CHOI, J. Y. et al. *Acinetobacter kookii* sp. nov., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, n. Pt 12, p. 4402–4406, dez. 2013.

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I. B. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, n. 6, p. 915–929, 2002.

CONCAWE. **Guidelines for handling and blending FAME** CONCAWE Fuels Quality and Emissions Management Group by its Special Task Force, FE/STF-24, , 2009. Disponível em: <<http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/doc/2011/wp29grpe/ECE-TRANS-WP29-GRPE-61-inf27e.pdf>>

CORD-RUWISCH, R.; LOVLEY, D. R.; SCHINK, B. Growth of *Geobacter sulfurreducens* with Acetate in Syntrophic Cooperation with Hydrogen-Oxidizing Anaerobic Partners. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 6, p. 2232–2236, jun. 1998.

CORSEUIL, H. X. et al. Biodegradation of Soybean and Castor Oil Biodiesel: Implications on the Natural Attenuation of Monoaromatic Hydrocarbons in Groundwater. **Ground Water Monitoring & Remediation**, v. 31, n. 3, p. 111–118, 1 ago. 2011.

COSTA, A. H. R. **Bioestimulação com Injeção de Nitrato em Águas Subterrâneas Impactadas por Derramamento de Gasolina com Etanol**. Tese—Florianópolis/SC: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental., 2008.

CRAMM, R. Genomic view of energy metabolism in *Ralstonia eutropha* H16. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, v. 16, n. 1–2, p. 38–52, 2009.

CREMONEZ, P. A. et al. Biofuels in Brazilian aviation: Current scenario and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 43, p. 1063–1072, mar. 2015.

CUNHA DA COSTA, R. Potential for producing bio-fuel in the Amazon deforested areas. **Biomass and Bioenergy**, v. 26, n. 5, p. 405–415, maio 2004.

DARNOKO, D.; CHERYAN, M. Kinetics of palm oil transesterification in a batch reactor. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 12, p. 1263–1267, dez. 2000.

DEMELLO, J. A. et al. Biodegradation and environmental behavior of biodiesel mixtures in the sea: An initial study. **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, n. 7, p. 894–904, jul. 2007.

DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. **Energy Conversion and Management**, v. 50, n. 1, p. 14–34, jan. 2009.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 7, n. 2, p. 173–190, 31 jan. 2008.

DRIDI, B. et al. Methanomassiliicoccus luminyensis gen. nov., sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from human faeces. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, n. Pt 8, p. 1902–1907, ago. 2012.

DUFFY, B.; OCHS, O.; OUDIJK, G. Recent advances in chemical and biological sources for in situ remediation projects. In: Gavaskar, A.R., Chen, A.S.C. (Eds.), *E-Proceedings of the International Conference on Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds*. Battle Press, Columbus, OH. 2006.

DUNCAN, S. H. et al. Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 6, p. 2141–2146, 2002.

DUNN, R. O. Antioxidants for improving storage stability of biodiesel. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 2, n. 4, p. 304–318, 1 jul. 2008.

EDGAR, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, v. 26, n. 19, p. 2460–2461, 1 out. 2010.

EL-NEMR, A. **Petroleum Contamination in Warm and Cold Marine Environments**. [s.l.] Nova Publishers, 2006.

ELPRINCE, A. M.; MOHAMED, W. H. Catalytic Decomposition Kinetics of Aqueous Hydrogen Peroxide and Solid Magnesium Peroxide By Birnessite. **Soil Science Society of America Journal**, v. 56, n. 6, p. 1784, 1992.

EZAKI, T. et al. Proposal of the genera *Anaerococcus* gen. nov., *Peptoniphilus* gen. nov. and *Gallicola* gen. nov. for members of the genus *Peptostreptococcus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 1521–1528, 2001.

FANG, H. H. P.; LIANG, D.; ZHANG, T. Aerobic degradation of diethyl phthalate by *Sphingomonas* sp. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 3, p. 717–720, fev. 2007.

FANG, H. L.; MCCORMICK, R. L. **Spectroscopic Study of Biodiesel Degradation Pathways**. 2006.

FAZAL, M. A.; HASEEB, A. S. M. A.; MASJUKI, H. H. Biodiesel feasibility study: An evaluation of material compatibility; performance; emission and engine durability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 2, p. 1314–1324, fev. 2011.

FENG, Y. et al. Degradation of ¹⁴C-labeled few layer graphene via Fenton reaction: Reaction rates, characterization of reaction products, and potential ecological effects. **Water Research**, v. 84, p. 49–57, 1 nov. 2015.

FENTON, H. J. H. LXXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 65, n. 0, p. 899–910, 1 jan. 1894.

FERRY, J. G.; SMITH, P. H.; WOLFE, R. S. *Methanospirillum*, a New Genus of Methanogenic Bacteria, and Characterization of *Methanospirillum hungatii* sp.nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 24, n. 4, p. 465–469, 1 out. 1974.

- FETTER, C. W. **Applied Hydrogeology**. 3 edition ed. New York: Macmillan, 1994.
- FLORES, R. G. et al. Recovery of iron oxides from acid mine drainage and their application as adsorbent or catalyst. **Journal of Environmental Management**, v. 111, p. 53–60, 30 nov. 2012.
- FRANZMANN, P. D.; SKERMAN, V. B. Gemmata obscuriglobus, a new genus and species of the budding bacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 50, n. 3, p. 261–268, 1984.
- FREEDMAN, B.; BUTTERFIELD, R. O.; PRYDE, E. H. Transesterification kinetics of soybean oil 1. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n. 10, p. 1375–1380, out. 1986.
- FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 92, n. 5, p. 405–416, 2001.
- FURMAN, O. S.; TEEL, A. L.; WATTS, R. J. Mechanism of Base Activation of Persulfate. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 16, p. 6423–6428, 15 ago. 2010.
- GARDAN, L. et al. Erwinia papayae sp. nov., a pathogen of papaya (Carica papaya). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 107–113, 2004.
- GIAMELLO, E. et al. Evidence of stable hydroxyl radicals and other oxygen radical species generated by interaction of hydrogen peroxide with magnesium oxide. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 97, n. 21, p. 5735–5740, 1 maio 1993.
- GILBERT, R. O. **Statistical Methods for Environmental Pollution Monitoring**. 1 edition ed. New York: Wiley, 1987.
- GOI, A. et al. Polychlorinated biphenyls-containing electrical insulating oil contaminated soil treatment with calcium and magnesium peroxides. **Chemosphere**, v. 82, n. 8, p. 1196–1201, fev. 2011.

GOI, A.; VERESSININA, Y.; TRAPIDO, M. Degradation of salicylic acid by Fenton and modified Fenton treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 143, n. 1–3, p. 1–9, 15 set. 2008.

GOMES, A. P. N. **Biodegradação de biodiesel soja, mamona e hidrocarbonetos monoaromáticos em ambientes aquáticos**. Florianópolis/SC: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental., 2008.

GONG, X.-B. Remediation of weathered petroleum oil-contaminated soil using a combination of biostimulation and modified Fenton oxidation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 70, p. 89–95, maio 2012.

GRABOWSKI, A.; BLANCHET, D.; JEANTHON, C. Characterization of long-chain fatty-acid-degrading syntrophic associations from a biodegraded oil reservoir. **Research in Microbiology**, v. 156, n. 7, p. 814–821, ago. 2005.

GUIMARÃES, L. B. **Identificação da presença de combustíveis em subsuperfície através de técnicas de biologia molecular**. Dissertação de Mestrado—Florianópolis/SC: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental., 2011.

GUPTA, S. K.; LAL, D.; LAL, R. *Novosphingobium panipatense* sp. nov. and *Novosphingobium mathurense* sp. nov., from oil-contaminated soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. Pt 1, p. 156–161, jan. 2009.

HABER, F.; WEISS, J. The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts. **Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 147, n. 861, p. 332–351, 15 nov. 1934.

HAMBRICK, G. A.; DELAUNE, R. D.; PATRICK, W. H. Effect of Estuarine Sediment pH and Oxidation-Reduction Potential on Microbial Hydrocarbon Degradation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 365–369, ago. 1980.

HARDIE, J. M.; WHILEY, R. A. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, n. S1, p. 1S–11S, 1 out. 1997.

HARVEY, R. W.; BARBER II, L. B. Associations of free-living bacteria and dissolved organic compounds in a plume of contaminated groundwater. v. 9, p. 91–103, 1992.

HASEEB, A. S. M. A. et al. Compatibility of automotive materials in biodiesel: A review. **Fuel**, v. 90, n. 3, p. 922–931, mar. 2011.

HATAMOTO, M. et al. Identification and Cultivation of Anaerobic, Syntrophic Long-Chain Fatty Acid-Degrading Microbes from Mesophilic and Thermophilic Methanogenic Sludges. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 4, p. 1332–1340, fev. 2007.

HATTORI, S. Syntrophic acetate-oxidizing microbes in methanogenic environments. **Microbes and environments / JSME**, v. 23, n. 2, p. 118–127, 2008.

HEDRICH, S.; JOHNSON, D. B. Aerobic and anaerobic oxidation of hydrogen by acidophilic bacteria. **FEMS microbiology letters**, v. 349, n. 1, p. 40–45, dez. 2013.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. 1993 Symposium on emerging technologies Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, v. 13, n. 5, p. 361–377, 1 jan. 1993.

HUNTLEY, D.; BECKETT, G. D. Persistence of LNAPL sources: relationship between risk reduction and LNAPL recovery. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 59, n. 1–2, p. 3–26, nov. 2002.

HVORSLEV, M. J. **Time Lag and Soil Permeability in Ground Water Observations. Bulletin Army Corps of Engineers Waterway Experimentation Station**, 1951.

IINO, T.; MORI, K.; SUZUKI, K. *Methanospirillum lacunae* sp. nov., a methane-producing archaeon isolated from a puddly soil, and emended descriptions of the genus *Methanospirillum* and *Methanospirillum*

hungatei. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, n. Pt 11, p. 2563–2566, nov. 2010.

IMACHI, H. et al. Pelotomaculum thermopropionicum gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thermophilic, syntrophic propionate-oxidizing bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. Pt 5, p. 1729–1735, set. 2002.

IMACHI, H. et al. Methanolinea tarda gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon isolated from a methanogenic digester sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 294–301, 2008.

ITRC. **Technical and Regulatory Guidance for in Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater**. Washington, D.C.: Interstate Technology and Regulatory Council, In Situ Chemical Oxidation Team, jan. 2005. Disponível em: <<http://www.itrcweb.org/Guidance/ListDocuments?topicID=10&subTopicID=17>>. Acesso em: 24 maio. 2016.

ITRC. **Evaluating Natural Source Zone Depletion at Sites with LNAPL**. Washington, D.C.: The Interstate Technology & Regulatory Council Biofuels Team, 2009. Disponível em: <<http://www.itrcweb.org/GuidanceDocuments/LNAPL-1.pdf>>.

ITRC. **Biofuels: Release Prevention, Environmental Behavior, and Remediation**. Washington, D.C.: The Interstate Technology & Regulatory Council Biofuels Team, set. 2011. Disponível em: <<http://www.itrcweb.org/Guidance/ListDocuments?topicID=2&subTopicID=1>>.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 667–678, fev. 2010.

JIANG, Z.-F. et al. Genome Sequences of the Primary Endosymbiont “Candidatus Portiera aleyrodidarum” in the Whitefly Bemisia tabaci B and Q Biotypes. **Journal of Bacteriology**, v. 194, n. 23, p. 6678–6679, 1 dez. 2012.

JOHNSON, D. B.; HALLBERG, K. B. Acid mine drainage remediation options: a review. **The Science of the Total Environment**, v. 338, n. 1–2, p. 3–14, 1 fev. 2005.

JONES, R. M.; HEDRICH, S.; JOHNSON, D. B. *Acidocella aromatica* sp. nov.: an acidophilic heterotrophic alphaproteobacterium with unusual phenotypic traits. **Extremophiles: Life Under Extreme Conditions**, v. 17, n. 5, p. 841–850, set. 2013.

JUN, D. et al. Laboratory study on sequenced permeable reactive barrier remediation for landfill leachate-contaminated groundwater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 1, p. 224–230, 15 jan. 2009.

KAGEYAMA, A.; BENNO, Y. *Catenibacterium mitsuokai* gen. nov., sp. nov., a gram-positive anaerobic bacterium isolated from human faeces. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1595–1599, 2000a.

KAGEYAMA, A.; BENNO, Y. Emendation of genus *Collinsella* and proposal of *Collinsella stercoris* sp. nov. and *Collinsella intestinalis* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, n. 5, p. 1767–1774, 2000b.

KAKARLA, P. K. C.; WATTS, R. J. Depth of Fenton-Like Oxidation in Remediation of Surface Soil. **Journal of Environmental Engineering**, v. 123, n. 1, p. 11–17, 1997.

KAKSONEN, A. H. et al. *Desulfurispora thermophila* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, spore-forming sulfate-reducer isolated from a sulfidogenic fluidized-bed reactor. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 1089–1094, 2007.

KALUDJERSKI, M.; GUROL, M. D. Assessment of enhancement in biodegradation of dichlorodiethyl ether (DCDE) by pre-oxidation. **Water Research**, v. 38, n. 6, p. 1595–1603, mar. 2004.

KÄMPFER, P. et al. *Novosphingobium soli* sp. nov., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. Pt 2, p. 259–263, fev. 2011.

KÄMPFER, P. et al. *Rubrobacter aplysinae* sp. nov., isolated from the marine sponge *Aplysina aerophoba*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 705–709, 2014.

KANEL, S. R. et al. Comparative Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Iron Oxide and Hydrogen Peroxide in Soil Slurries. **Environmental Engineering Science**, v. 21, n. 6, p. 741–751, 1 nov. 2004.

KANG, H. et al. *Sediminibacterium goheungense* sp. nov., isolated from a freshwater reservoir. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. Pt 4, p. 1328–1333, abr. 2014.

KAO, C. M.; WU, M. J. Enhanced TCDD degradation by Fenton's reagent preoxidation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 74, n. 3, p. 197–211, 30 jun. 2000.

KARAVALAKIS, G.; STOURNAS, S.; KARONIS, D. Evaluation of the oxidation stability of diesel/biodiesel blends. **Fuel**, v. 89, n. 9, p. 2483–2489, set. 2010.

KATO, S.; HASHIMOTO, K.; WATANABE, K. Methanogenesis facilitated by electric syntrophy via (semi)conductive iron-oxide minerals. **Environmental Microbiology**, v. 14, n. 7, p. 1646–1654, jul. 2012.

KAY, C. M. et al. Evolution of Microbial “Streamer” Growths in an Acidic, Metal-Contaminated Stream Draining an Abandoned Underground Copper Mine. **Life**, v. 3, n. 1, p. 189–210, 7 fev. 2013.

KHODAVEISI, J. et al. Synthesis of calcium peroxide nanoparticles as an innovative reagent for in situ chemical oxidation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, n. 3, p. 1437–1440, 15 set. 2011.

KIM, Y.-J. et al. *Sediminibacterium ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field, and emended descriptions of the genus *Sediminibacterium* and of *Sediminibacterium salmoneum*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, n. Pt 3, p. 905–912, mar. 2013.

KLEINSTEUBER, S. et al. Molecular characterization of bacterial communities mineralizing benzene under sulfate-reducing conditions. **FEMS microbiology ecology**, v. 66, n. 1, p. 143–157, out. 2008.

KLEINSTEUBER, S.; SCHLEINIZ, K. M.; VOGT, C. Key players and team play: anaerobic microbial communities in hydrocarbon-contaminated aquifers. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 94, n. 4, p. 851–873, maio 2012.

KLINDWORTH, A. et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, p. e1, jan. 2013.

KNOTHE, G. Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value? **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 9, p. 847–854, 2002.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**, Biodiesel Processing and Production. v. 86, n. 10, p. 1059–1070, 25 jun. 2005.

KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**, Biofuels for Transportation. v. 88, n. 7, p. 669–677, jul. 2007.

KNOTHE, G.; DUNN, R. O. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 10, p. 1021–1026, out. 2003.

KOOL, D. M. et al. Rare Branched Fatty Acids Characterize the Lipid Composition of the Intra-Aerobic Methane Oxidizer “*Candidatus Methylopirabilis oxyfera*”. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 24, p. 8650–8656, 15 dez. 2012.

KREMBS, F. J. et al. ISCO for Groundwater Remediation: Analysis of Field Applications and Performance. **Ground Water Monitoring & Remediation**, v. 30, n. 4, p. 42–53, 1 nov. 2010.

KROP, H. B. et al. n-Octanol-water partition coefficients, aqueous solubilities and Henry's law constants of fatty acid esters. **Chemosphere**, v. 34, n. 1, p. 107–119, 1 jan. 1997.

KUEVER, J.; RAINEY, F. A.; HIPPE, H. Description of *Desulfotomaculum* sp. Groll as *Desulfotomaculum gibsoniae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 1801–1808, 1999.

KULICHEVSKAYA, I. S. et al. *Zavarzinella formosa* gen. nov., sp. nov., a novel stalked, Gemmata-like planctomycete from a Siberian peat bog. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. 2, p. 357–364, 2009.

KULIK, N. et al. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil. **Journal of Environmental Management**, v. 78, n. 4, p. 382–391, mar. 2006.

KUSANO, K. et al. *Propionibacterium cyclohexanicum* sp. nov., a new acid-tolerant omega-cyclohexyl fatty acid-containing propionibacterium isolated from spoiled orange juice. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 47, n. 3, p. 825–831, jul. 1997.

LAGE, I. DE C. **Avaliação de metodologias para determinação da permeabilidade em meios porosos: a área experimental da Fazenda Ressecada, SC**. Dissertação—Rio de Janeiro/RJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

LANDA, A. S. et al. Cometabolic degradation of trichloroethylene by *Pseudomonas cepacia* G4 in a chemostat with toluene as the primary substrate. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 9, p. 3368–3374, set. 1994.

LANDMEYER, J. E. et al. Methyl tert-Butyl Ether Biodegradation by Indigenous Aquifer Microorganisms under Natural and Artificial Oxidic Conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 6, p. 1118–1126, 1 mar. 2001.

LEAMER, R. W.; SHAW, B. A Simple Apparatus for Measuring Noncapillary Porosity on an Extensive Scale. **Agronomy Journal**, v. 33, n. 11, p. 1003–1008, 1 nov. 1941.

LEE, B. D.; HOSOMI, M. A hybrid fenton oxidation-microbial treatment for soil highly contaminated with benz(a)anthracene. **Chemosphere**, v. 43, n. 8, p. 1127–1132, jun. 2001.

LEE, Y.-J. et al. *Gracilibacter thermotolerans* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thermotolerant bacterium from a constructed wetland receiving acid sulfate water. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, n. 9, p. 2089–2093, 2006.

LEE, Y.-J.; ROMANEK, C. S.; WIEGEL, J. *Desulfosporosinus youngiae* sp. nov., a spore-forming, sulfate-reducing bacterium isolated from a constructed wetland treating acid mine drainage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. Pt 11, p. 2743–2746, nov. 2009.

LEUNG, D. Y. C.; KOO, B. C. P.; GUO, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 2, p. 250–256, jan. 2006.

LI, Y.; LIU, C.; CHERN, B. Oxidation of 2-chlorophenol wastewater by hydrogen peroxide in the presence of basic oxygen furnace slag. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 62, n. 3, p. 336–343, 1 mar. 1999.

LIANG, C. et al. Persulfate oxidation of trichloroethylene with and without iron activation in porous media. **Chemosphere**, v. 70, n. 3, p. 426–435, jan. 2008.

LIANG, C.; LEE, I.-L. In situ iron activated persulfate oxidative fluid sparging treatment of TCE contamination — A proof of concept study. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 100, n. 3–4, p. 91–100, 10 set. 2008.

LIANG, Y. et al. Microarray-based functional gene analysis of soil microbial communities during ozonation and biodegradation of crude oil. **Chemosphere**, v. 75, n. 2, p. 193–199, abr. 2009.

LIDE, D. R. **CRC Handbook of Chemistry and Physics, 86th Edition.** [s.l.] Taylor & Francis, 2005.

LIN, S.-S.; GUROL, M. D. Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide on Iron Oxide: Kinetics, Mechanism, and Implications. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 10, p. 1417–1423, 1998.

LIYOU, M.-J.; LU, M.-C. Catalytic degradation of explosives with goethite and hydrogen peroxide. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, n. 2–3, p. 540–546, 1 mar. 2008.

LIU, A. et al. A novel arsenate respiring isolate that can utilize aromatic substrates. **FEMS microbiology ecology**, v. 48, n. 3, p. 323–332, 1 jun. 2004.

LIU, G.; PORTERFIELD, D. M. Oxygen enrichment with magnesium peroxide for minimizing hypoxic stress of flooded corn. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 177, n. 5, p. 733–740, 1 out. 2014.

LIU, H. et al. In situ chemical oxidation of contaminated groundwater by persulfate: decomposition by Fe(III)- and Mn(IV)-containing oxides and aquifer materials. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 17, p. 10330–10336, 2 set. 2014.

LOVLEY, D. R. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. **Microbiological Reviews**, v. 55, n. 2, p. 259–287, jun. 1991.

LOVLEY, D. R. et al. *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. **Archives of Microbiology**, v. 159, n. 4, p. 336–344, abr. 1993.

LOVLEY, D. R. Microbial Fe(III) reduction in subsurface environments. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3–4, p. 305–313, 1 jul. 1997.

LOVLEY, D. R. Cleaning up with genomics: applying molecular biology to bioremediation. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 35–44, out. 2003.

- LOVLEY, D. R. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 4, n. 7, p. 497–508, jul. 2006.
- LU, M. et al. Remediation of petroleum-contaminated soil after composting by sequential treatment with Fenton-like oxidation and biodegradation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 7, p. 2106–2113, abr. 2010.
- LUNDSTEDT, S.; PERSSON, Y.; ÖBERG, L. Transformation of PAHs during ethanol-Fenton treatment of an aged gasworks' soil. **Chemosphere**, v. 65, n. 8, p. 1288–1294, nov. 2006.
- MAKKAR, N. S.; CASIDA, L. E. *Cupriavidus necator* gen. nov., sp. nov.; a Nonobligate Bacterial Predator of Bacteria in Soil†. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 323–326, 1987.
- MARGESIN, R.; SCHINNER, F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 5–6, p. 650–663, set. 2001.
- MARTENS, D. A.; FRANKENBERGER, W. T. J. Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil treated with an advanced oxidative process — Fenton's Reagent. **Journal of Soil Contamination**, v. 4, n. 2, p. 175–190, 1 abr. 1995.
- MARTINEC, T.; KOCUR, M. A taxonomic study of *Erwinia amylovora* (Burrill 1882) Winslow et al. 1920. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 5–14, 1964.
- MASELLA, A. P. et al. PANDAseq: paired-end assembler for illumina sequences. **BMC Bioinformatics**, v. 13, p. 31, 2012.
- MATTA, R.; HANNA, K.; CHIRON, S. Fenton-like oxidation of 2,4,6-trinitrotoluene using different iron minerals. **Science of The Total Environment**, v. 385, n. 1–3, p. 242–251, 15 out. 2007.
- MCCARTY, P. L. **Energetics and bacterial growth**. . In: 5TH RUDOLF RESEARCH CONFERENCE. New Brunswick, NJ: 1969

MCCORMICK, R. L. et al. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests. **Fuel Processing Technology**, Biofuels for Transportation. v. 88, n. 7, p. 651–657, jul. 2007.

MERGAERT, J. et al. Reclassification of non-pigmented *Erwinia herbicola* strains from trees as *Erwinia billingiae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 377–383, 1999.

MERGAERT, J.; VERDONCK, L.; KERSTERS, K. Transfer of *Erwinia ananas* (synonym, *Erwinia uredovora*) and *Erwinia stewartii* to the Genus *Pantoea* emend. as *Pantoea ananas* (Serrano 1928) comb. nov. and *Pantoea stewartii* (Smith 1898) comb. nov., Respectively, and Description of *Pantoea stewartii* subsp. *indologenes* subsp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 162–173, 1993.

MOORE, W. E. C.; CATO, E. P.; HOLDEMAN, L. V. *Ruminococcus bromii* sp. n. and Emendation of the Description of *Ruminococcus Sijpestein*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 22, n. 2, p. 78–80, 1972.

MORAES, E. DE M. et al. Determinação de ácidos voláteis por cromatografia gasosa em efluentes de reatores anaeróbios. In: CHERNICHARO, C. A. L. (Ed.). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos**. Belo Horizonte: PROSAB, 2001. p. 35–39.

MUYZER, G.; DE WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and environmental microbiology**, v. 59, n. 3, p. 695–700, 1993.

NAM, K.; RODRIGUEZ, W.; KUKOR, J. J. Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by biodegradation combined with a modified Fenton reaction. **Chemosphere**, v. 45, n. 1, p. 11–20, out. 2001.

NAZINA, T. N. et al. Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and

Geobacillus uzenensis sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of Bacillus stearothermophilus, Bacillus thermocatenuatus, Bacillus thermoleovorans, Bacillus kaustophilus, Bacillus thermodenitrificans to Geobacillus as the new combinations G. stearothermophilus, G. th. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 2, p. 433–446, 2001.

NDJOU'OU, A.-C.; BOU-NASR, J.; CASSIDY, D. Effect of Fenton Reagent Dose on Coexisting Chemical and Microbial Oxidation in Soil. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 8, p. 2778–2783, 1 abr. 2006.

NDJOU'OU, A.-C.; CASSIDY, D. Surfactant production accompanying the modified Fenton oxidation of hydrocarbons in soil. **Chemosphere**, v. 65, n. 9, p. 1610–1615, nov. 2006.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. Edição: 6th ed. ed. New York: W. H. Freeman, 2012.

NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal of Hazardous Materials**, v. 98, n. 1–3, p. 33–50, 17 mar. 2003.

NORRIS, R. D. **Handbook of Bioremediation**. 1 edition ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994.

NORTHUP, A.; CASSIDY, D. Calcium peroxide (CaO₂) for use in modified Fenton chemistry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, n. 3, p. 1164–1170, 15 abr. 2008.

OBIRI-NYARKO, F.; GRAJALES-MESA, S. J.; MALINA, G. An overview of permeable reactive barriers for in situ sustainable groundwater remediation. **Chemosphere**, v. 111, p. 243–259, set. 2014.

OGAWA, T. et al. Analysis of Oxidative Deterioration of Biodiesel Fuel. 2008.

OKAMURA, K.; KANBE, T.; HIRAISHI, A. Rhodoplanes serenus sp. nov., a purple non-sulfur bacterium isolated from pond water. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. Pt 3, p. 531–535, mar. 2009.

ØSTERSTRØM, F. F. et al. Oxidation Stability of Rapeseed Biodiesel/Petroleum Diesel Blends. **Energy & Fuels**, v. 30, n. 1, p. 344–351, 21 jan. 2016.

O’SULLIVAN, L. A.; MAHENTHIRALINGAM, E. Biotechnological potential within the genus Burkholderia. **Letters in Applied Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 8–11, 2005.

OUDE ELFERINK, S. J. W. H. et al. Desulfobacca acetoxidans gen. nov., sp. nov., a novel acetate-degrading sulfate reducer isolated from sulfidogenic granular sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 345–350, 1999.

PAGNIER, I.; RAOULT, D.; LA SCOLA, B. Isolation and characterization of Reyranelia massiliensis gen. nov., sp. nov. from freshwater samples by using an amoeba co-culture procedure. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. Pt 9, p. 2151–2154, set. 2011.

PALAIÁ, T.; SMITH, B.; LEWIS, R. W. ISCO Performance Monitoring. In: SIEGRIST, R. L.; CRIMI, M.; SIMPKIN, T. J. (Eds.). . **In Situ Chemical Oxidation for Groundwater Remediation**. SERDP/ESTCP Environmental Remediation Technology. [s.l.] Springer New York, 2011. p. 481–510.

PANAGOS, P. et al. Contaminated Sites in Europe: Review of the Current Situation Based on Data Collected through a European Network, Contaminated Sites in Europe: Review of the Current Situation Based on Data Collected through a European Network. **Journal of Environmental and Public Health, Journal of Environmental and Public Health**, v. 2013, 2013, p. e158764, 16 jun. 2013.

PARDO, F. et al. Remediation of a biodiesel blend-contaminated soil by using a modified Fenton process. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 21, n. 21, p. 12198–12207, nov. 2014.

PARDO, F. et al. Remediation of a Biodiesel Blend-Contaminated Soil with Activated Persulfate by Different Sources of Iron. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 2, p. 1–12, 5 fev. 2015a.

PARDO, F. et al. Remediation of a Biodiesel Blend-Contaminated Soil with Activated Persulfate by Different Sources of Iron. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 2, p. 17, 5 fev. 2015b.

PARSHINA, S. N. et al. Methanospirillum stamsii sp. nov., a psychrotolerant, hydrogenotrophic, methanogenic archaeon isolated from an anaerobic expanded granular sludge bed bioreactor operated at low temperature. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. Pt 1, p. 180–186, jan. 2014.

PATT, T. E.; COLE, G. C.; HANSON, R. S. Methylobacterium, a New Genus of Facultatively Methylophilic Bacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 26, n. 2, p. 226–229, 1976.

PAULIN, J. P. Erwinia amylovora: general characteristics, biochemistry and serology. In: VANNESTE, J. L. (Ed.). **Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora**. Wallingford: CABI, 2000. p. 87–115.

PAULS, R. E. A review of chromatographic characterization techniques for biodiesel and biodiesel blends. **Journal of Chromatographic Science**, v. 49, n. 5, p. 384–396, maio 2011.

PETRI, B. G. et al. Fundamentals of ISCO Using Hydrogen Peroxide. In: SIEGRIST, R. L.; CRIMI, M.; SIMPKIN, T. J. (Eds.). **In Situ Chemical Oxidation for Groundwater Remediation**. [s.l.] Springer New York, 2011. p. 33–88.

PHILIPPE, G.; VEGA, D.; BASTIDE, J. Microbial hydrolysis of methyl aromatic esters by Burkholderia cepacia isolated from soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 37, n. 3, p. 251–258, nov. 2001.

PIKUTA, E. et al. Desulfotomaculum alkaliphilum sp. nov., a new alkaliphilic, moderately thermophilic, sulfate-reducing bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 25–33, 2000.

POLLOCK, T. J. Gellan-related polysaccharides and the genus Sphingomonas. **Microbiology**, v. 139, n. 8, p. 1939–1945, 1993.

QU, J.-H.; YUAN, H.-L. *Sediminibacterium salmoneum* gen. nov., sp. nov., a member of the phylum Bacteroidetes isolated from sediment of a eutrophic reservoir. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. Pt 9, p. 2191–2194, set. 2008.

RAMAMOORTHY, S. et al. *Desulfosporosinus lacus* sp. nov., a sulfate-reducing bacterium isolated from pristine freshwater lake sediments. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, n. Pt 12, p. 2729–2736, dez. 2006.

RAMOS, D. T. **Bioestimulação de processos metanogênicos com acetato de amônio para degradação acelerada de hidrocarbonetos de petróleo em águas subterrâneas contaminadas com diesel B20**. Florianópolis/SC: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental., 2013.

RAMOS, D. T. et al. Assessment of microbial communities associated with fermentative-methanogenic biodegradation of aromatic hydrocarbons in groundwater contaminated with a biodiesel blend (B20). **Biodegradation**, v. 25, n. 5, p. 681–691, set. 2014.

RAMOS, D. T. et al. Biodiesel presence in the source zone hinders aromatic hydrocarbons attenuation in a B20-contaminated groundwater. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 193, p. 48–53, out. 2016.

RISER-ROBERTS, E. **Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical, and Chemical Processes**. 1 edition ed. Boca Raton: CRC Press, 1998.

RIVAS, F. J. Polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on soils: A short review of chemical oxidation based treatments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 138, n. 2, p. 234–251, 16 nov. 2006.

ROBERTSON, W. J. et al. *Desulfosporosinus meridiei* sp. nov., a spore-forming sulfate-reducing bacterium isolated from gasoline-contaminated groundwater. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. Pt 1, p. 133–140, jan. 2001.

ROMERO, A. et al. In situ oxidation remediation technologies: Kinetic of hydrogen peroxide decomposition on soil organic matter. **Journal of Hazardous Materials**, v. 170, n. 2–3, p. 627–632, 30 out. 2009.

ROUT, G.; SAMANTARAY, S.; DAS, P. Aluminium toxicity in plants: a review. **Agronomie**, v. 21, n. 1, p. 3–21, 2001.

RULÍK, M.; CHAUDHARY, P. P. Molecular identification of the occurrence of magnetotactic bacteria in fresh water sediments (Czech Republic). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1255–1261, 2014.

SAKAI, S. et al. *Methanocella paludicola* gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon, the first isolate of the lineage “Rice Cluster I”, and proposal of the new archaeal order Methanocellales ord. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. Pt 4, p. 929–936, abr. 2008.

SAKAI, S. et al. *Methanocella arvoryzae* sp. nov., a hydrogenotrophic methanogen isolated from rice field soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, n. Pt 12, p. 2918–2923, dez. 2010.

SAKAI, S. et al. Genome Sequence of a Mesophilic Hydrogenotrophic Methanogen *Methanocella paludicola*, the First Cultivated Representative of the Order Methanocellales. **PLOS ONE**, v. 6, n. 7, p. e22898, 29 jul. 2011.

SALINAS, M. B. et al. *Petrobacter succinatimandens* gen. nov., sp. nov., a moderately thermophilic, nitrate-reducing bacterium isolated from an Australian oil well. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 645–649, 2004.

SÁNCHEZ-ANDREA, I. et al. *Desulfosporosinus acididurans* sp. nov.: an acidophilic sulfate-reducing bacterium isolated from acidic sediments. **Extremophiles: Life Under Extreme Conditions**, v. 19, n. 1, p. 39–47, jan. 2015.

SANTOS-GARCIA, D. et al. Complete genome sequence of “*Candidatus Portiera aleyrodidarum*” BT-QVLC, an obligate symbiont

that supplies amino acids and carotenoids to *Bemisia tabaci*. **Journal of Bacteriology**, v. 194, n. 23, p. 6654–6655, dez. 2012.

SCHINK, B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR**, v. 61, n. 2, p. 262–280, jun. 1997.

SCHINK, P. B.; STAMS, A. J. M. Syntrophism Among Prokaryotes. In: ROSENBERG, E. et al. (Eds.). . **The Prokaryotes**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 471–493.

SCHLEIFER, K. H. et al. The Genus *Magnetospirillum* gen. nov. Description of *Magnetospirillum gryphiswaldense* sp. nov. and Transfer of *Aquaspirillum magnetotacticum* to *Magnetospirillum magnetotacticum* comb. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 14, n. 4, p. 379–385, 1 out. 1991.

SCHMIDTKE, T.; WHITE, D.; WOOLARD, C. Oxygen release kinetics from solid phase oxygen in Arctic Alaska. **Journal of Hazardous Materials**, v. 64, n. 2, p. 157–165, 29 jan. 1999.

SHIM, H. et al. Kinetics of BTEX biodegradation by a coculture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* under hypoxic conditions. **Biodegradation**, v. 16, n. 4, p. 319–327, ago. 2005.

SHINODA, Y. et al. Anaerobic degradation of aromatic compounds by magnetospirillum strains: isolation and degradation genes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1483–1491, ago. 2005.

SIEBER, J. R.; MCINERNEY, M. J.; GUNSALUS, R. P. Genomic insights into syntrophy: the paradigm for anaerobic metabolic cooperation. **Annual Review of Microbiology**, v. 66, p. 429–452, 2012.

SIEGRIST, R. L.; CRIMI, M.; BROWN, R. A. In Situ Chemical Oxidation: Technology Description and Status. In: SIEGRIST, R. L.; CRIMI, M.; SIMPKIN, T. J. (Eds.). . **In Situ Chemical Oxidation for Groundwater Remediation**. SERDP/ESTCP Environmental Remediation Technology. [s.l.] Springer New York, 2011. p. 1–32.

SIEGRIST, R. L.; CRIMI, M.; SIMPKIN, T. J. **In Situ Chemical Oxidation for Groundwater Remediation**. New York: Springer Science & Business Media, 2011. v. 3

SIGMA-ALDRICH. Disponível em:
<<http://www.sigmaaldrich.com/brazil.html>>. Acesso em: 13 jul. 2016.

SILVA, P. T. DE S. E. et al. Phenanthrene and pyrene oxidation in contaminated soils using Fenton's reagent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 2-3, p. 967-973, 30 jan. 2009.

SINGLETON, D. R. et al. Stable-Isotope Probing of Bacteria Capable of Degrading Salicylate, Naphthalene, or Phenanthrene in a Bioreactor Treating Contaminated Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 3, p. 1202-1209, 1 mar. 2005.

SIRGUEY, C. et al. Impact of chemical oxidation on soil quality. **Chemosphere**, v. 72, n. 2, p. 282-289, maio 2008.

SIZOVA, M. V. et al. Novel facultative anaerobic acidotolerant *Telmatospirillum siberiense* gen. nov. sp. nov. isolated from mesotrophic fen. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 30, n. 3, p. 213-220, abr. 2007.

SMITH, J. W. . et al. **The Natural Attenuation of Fatty Acid Methyl Esters (FAME) in Soil and Groundwater**. [s.l: s.n.].

SOGA, K.; PAGE, J. W. E.; ILLANGASEKARE, T. H. A review of NAPL source zone remediation efficiency and the mass flux approach. **Journal of Hazardous Materials**, v. 110, n. 1-3, p. 13-27, 5 jul. 2004.

SOLVAY AMERICA, INC. **Magnesium Peroxide**, 2013. Disponível em:
<<http://www.solvay.us/en/binaries/PSS-Magnesium-Peroxide-164348.pdf>>. Acesso em: 6 out. 2016

SOUSA, D. Z. Ecology and physiology of anaerobic microbial communities that degrade long chain fatty acids. 2006.

SOUSA, D. Z. et al. Effect of sulfate on methanogenic communities that degrade unsaturated and saturated long-chain fatty acids (LCFA). **Environmental Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 68-80, jan. 2009a.

SOUSA, D. Z. et al. Ecophysiology of syntrophic communities that degrade saturated and unsaturated long-chain fatty acids. **FEMS microbiology ecology**, v. 68, n. 3, p. 257–272, jun. 2009b.

SOUSA, D. Z. et al. Degradation of Long-Chain Fatty Acids by Sulfate-Reducing and Methanogenic Communities. In: TIMMIS, K. N. (Ed.). . **Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 963–980.

SPERGSER, J. et al. *Staphylococcus nepalensis* sp. nov., isolated from goats of the Himalayan region. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 2007–2011, 2003.

STAMS, A. J. M. et al. Exocellular electron transfer in anaerobic microbial communities. **Environmental Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 371–382, mar. 2006.

STAMS, A. J. M.; PLUGGE, C. M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 568–577, ago. 2009.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic chemistry**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1981.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters**. Edição: 3rd Revised ed. ed. New York: Wiley-Interscience, 1995.

SUTTON, D. D.; STARR, M. P. Anaerobic dissimilation of glucose by *Erwinia amylovora*. **Journal of Bacteriology**, v. 78, n. 3, p. 427–431, set. 1959.

SUTTON, N. B. et al. Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies. **Journal of Soils and Sediments**, v. 11, n. 1, p. 129–140, 10 ago. 2010.

SUTTON, N. B. et al. Geochemical and Microbiological Characteristics during in Situ Chemical Oxidation and in Situ Bioremediation at a Diesel Contaminated Site. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 4, p. 2352–2360, 18 fev. 2014.

SUTTON, N. B. et al. Microbial Community Response of an Organohalide Respiring Enrichment Culture to Permanganate Oxidation. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0134615, 2015.

TAKEUCHI, M.; HAMANA, K.; HIRAISHI, A. Proposal of the genus *Sphingomonas* sensu stricto and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. Pt 4, p. 1405–1417, jul. 2001.

TANG, H. et al. The oxidative stability of biodiesel: Effects of FAME composition and antioxidant. **Lipid Technology**, v. 20, n. 11, p. 249–252, 1 nov. 2008.

TANG, J. et al. Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 149, p. 109–117, 1 mar. 2012.

THOMÉ, A. et al. Review of Nanotechnology for Soil and Groundwater Remediation: Brazilian Perspectives. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 4, p. 1–20, 31 mar. 2015.

TSITONAKI, A. et al. In Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater Using Persulfate: A Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 55–91, 4 jan. 2010.

TYRE, B. W.; WATTS, R. J.; MILLER, G. C. Treatment of Four Biorefractory Contaminants in Soils Using Catalyzed Hydrogen Peroxide. **Journal of Environment Quality**, v. 20, n. 4, p. 832, 1991.

UEKI, A. et al. *Prevotella paludivivens* sp. nov., a novel strictly anaerobic, Gram-negative, hemicellulose-decomposing bacterium isolated from plant residue and rice roots in irrigated rice-field soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. Pt 8, p. 1803–1809, ago. 2007.

UFOP. **Raw Material Basis for Biodiesel Components in Diesel Fuels**, 2013. Disponível em: <http://www.ufop.de/files/5313/7872/9710/UFOP_Bericht_Tankstellen_beprobung_ENG.pdf>

US EIA. **Monthly Biodiesel Production Report**. U.S. Department of Energy, 2016. Disponível em: <<http://www.eia.gov/biofuels/biodiesel/production/biodiesel.pdf>>

US EPA. **Technical Guidance for the Natural Attenuation Indicators: Methane, Ethane, and Ethene. New England**. United States Environmental Protection Agency, 2001.

US EPA. **EPA's cleaning up the nation's waste sites: markets and technology trends (2004 edition)**. United States Environmental Protection Agency, 2004. Disponível em: <<https://www.epa.gov/superfund>>. Acesso em: 22 jul. 2016

US EPA. **Cleaning Up Underground Storage Tank (UST) Releases**. Overviews and Factsheets. Disponível em: <<https://www.epa.gov/ust/cleaning-underground-storage-tank-ust-releases>>. Acesso em: 27 maio. 2016.

USMAN, M. et al. Remediation of PAH-contaminated soils by magnetite catalyzed Fenton-like oxidation. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 117–118, p. 10–17, 18 maio 2012.

VALDERRAMA, C. et al. Oxidation by Fenton's reagent combined with biological treatment applied to a creosote-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, n. 2–3, p. 594–602, 30 jul. 2009.

VAN AKEN, B. *Methylobacterium populi* sp. nov., a novel aerobic, pink-pigmented, facultatively methylotrophic, methane-utilizing bacterium isolated from poplar trees (*Populus deltoides*xnigra DN34). **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 54, n. 4, p. 1191–1196, 1 jul. 2004.

VAN GYLSWYK, N. O.; ROCHE, C. E. G. Characteristics of *Ruminococcus*. **Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 11–17, 1970.

VÉSTEINSDÓTTIR, H.; REYNISDÓTTIR, D. B.; ÖRLYGSSON, J. *Hydrogenophilus islandicus* sp. nov., a thermophilic hydrogen-oxidizing bacterium isolated from an Icelandic hot spring. **International Journal**

of **Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. 2, p. 290–294, 2011.

VEZZULLI, L.; PRUZZO, C.; FABIANO, M. Response of the bacterial community to in situ bioremediation of organic-rich sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, n. 9–10, p. 740–751, nov. 2004.

VOGT, C.; KLEINSTEUBER, S.; RICHNOW, H.-H. Anaerobic benzene degradation by bacteria. **Microbial Biotechnology**, v. 4, n. 6, p. 710–724, nov. 2011.

VOL'NOV, I. I. **Peroxides, Superoxides, and Ozonides of Alkali and Alkaline Earth Metals**. Boston, MA: Springer US, 1966.

VOL'NOV, I. I.; LATYSHEVA, E. I. Thermal stability of magnesium peroxide. **Russian Chemical Bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11–15, 1970.

WAITE, A. J.; BONNER, J. S.; AUTENRIETH, R. Kinetics and Stoichiometry of Oxygen Release from Solid Peroxides. **Environmental Engineering Science**, v. 16, n. 3, p. 187–199, 1 maio 1999.

WALLING, C. Fenton's reagent revisited. **Accounts of Chemical Research**, v. 8, n. 4, p. 125–131, 1 abr. 1975.

WARD, N. L. et al. Three genomes from the phylum Acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 7, p. 2046–2056, abr. 2009.

WATTS, R. J. et al. Treatment of Pentachlorophenol-Contaminated Soils Using Fenton's Reagent. **Hazardous Waste and Hazardous Materials**, v. 7, n. 4, p. 335–345, 1 jan. 1990.

WATTS, R. J. et al. Mineral-Catalyzed Fenton-Like Oxidation of Sorbed Chlorobenzenes. **Water Environment Research**, v. 69, n. 3, p. 269–275, 1997.

WATTS, R. J. et al. Fenton-Like Soil Remediation Catalyzed by Naturally Occurring Iron Minerals. **Environmental Engineering Science**, v. 16, n. 1, p. 93–103, 1 jan. 1999a.

WATTS, R. J. et al. Hydrogen peroxide decomposition in model subsurface systems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 69, n. 2, p. 229–243, 29 out. 1999b.

WATTS, R. J. et al. Mineralization of a sorbed polycyclic aromatic hydrocarbon in two soils using catalyzed hydrogen peroxide. **Water Research**, v. 36, n. 17, p. 4283–4292, out. 2002.

WATTS, R. J.; HOWSAWKENG, J.; TEEL, A. L. Destruction of a Carbon Tetrachloride Dense Nonaqueous Phase Liquid by Modified Fenton's Reagent. **Journal of Environmental Engineering**, v. 131, n. 7, p. 1114–1119, 2005.

WATTS, R. J.; SMITH, B. R.; MILLER, G. C. Catalyzed hydrogen peroxide treatment of octachlorodibenzo-p-oxin (OCCD) in surface soils. **Chemosphere**, v. 23, n. 7, p. 949–955, 1 jan. 1991.

WATTS, R. J.; TEEL, A. L. Chemistry of Modified Fenton's Reagent (Catalyzed H₂ O₂ Propagations–CHP) for In Situ Soil and Groundwater Remediation. **Journal of Environmental Engineering**, v. 131, n. 4, p. 612–622, 2005.

WATTS, R. J.; TEEL, A. L. Treatment of Contaminated Soils and Groundwater Using ISCO. **Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management**, v. 10, n. 1, p. 2–9, 2006.

WATTS, R. J.; UDELL, M. D.; MONSEN, R. M. Use of Iron Minerals in Optimizing the Peroxide Treatment of Contaminated Soils. **Water Environment Research**, v. 65, n. 7, p. 839–844, 1993.

WIEDEMEIER, T. H. et al. **Technical Protocol for Implementing Intrinsic Remediation with Long-Term Monitoring for Natural Attenuation of Fuel Contamination Dissolved in Groundwater**. [s.l.: s.n.].

WIEDEMEIER, T. H. et al. **Natural Attenuation of Fuels and Chlorinated Solvents in the Subsurface**. 1 edition ed. New York: Wiley, 1999b.

WILLEMS, A. et al. Hydrogenophaga, a New Genus of Hydrogen-Oxidizing Bacteria That Includes *Hydrogenophaga flava* comb. nov.

(Formerly *Pseudomonas flava*), *Hydrogenophaga palleronii* (Formerly *Pseudomonas palleronii*), *Hydrogenophaga pseudoflava* (Formerly *Pseudomonas pseudoflava* and “*Pseudomonas carboxydoflava*”), and *Hydrogenophaga taeniospiralis* (Formerly *Pseudomonas taeniospiralis*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 319–333, 1989.

WU, J. J. et al. Oxidation of DMSO on goethite catalyst in the presence of H₂O₂ at neutral pH. **Catalysis Communications**, v. 7, n. 11, p. 901–906, nov. 2006.

WU, M. L. et al. XoxF-Type Methanol Dehydrogenase from the Anaerobic Methanotroph “*Candidatus Methyloimrabilis oxyfera*”. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 4, p. 1442–1451, 15 fev. 2015.

XIE, G.; BARCELONA, M. J. Sequential chemical oxidation and aerobic biodegradation of equivalent carbon number-based hydrocarbon fractions in jet fuel. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 20, p. 4751–4760, 15 out. 2003.

YABUUCHI, E. et al. Proposals of *Sphingomonas paucimobilis* gen. nov. and comb. nov., *Sphingomonas parapaucimobilis* sp. nov., *Sphingomonas yanoikuyae* sp. nov., *Sphingomonas adhaesiva* sp. nov., *Sphingomonas capsulata* comb. nov., and two genospecies of the genus *Sphingomonas*. **Microbiology and Immunology**, v. 34, n. 2, p. 99–119, 1990.

YABUUCHI, E. et al. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and Transfer of Seven Species of the Genus *Pseudomonas* Homology Group II to the New Genus, with the Type Species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, v. 36, n. 12, p. 1251–1275, 1 dez. 1992.

YAP, C. L.; GAN, S.; NG, H. K. Fenton based remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soils. **Chemosphere**, v. 83, n. 11, p. 1414–1430, jun. 2011.

YEH, C.-H.; LIN, C.-W.; WU, C.-H. A permeable reactive barrier for the bioremediation of BTEX-contaminated groundwater: Microbial

community distribution and removal efficiencies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, n. 1–3, p. 74–80, 15 jun. 2010.

ZULETA, E. C. et al. The oxidative stability of biodiesel and its impact on the deterioration of metallic and polymeric materials: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 12, p. 2159–2175, dez. 2012.

ANEXO I – LAUDO PERÓXIDO DE MAGNÉSIO

	CERTIFICADO DE ANÁLISE
	Produto: PERTOX MG 15

INFORMAÇÕES GERAIS				
FORNECEDOR:	POLAND QUÍMICA	NOME PARA CONTATO	Gizelle de F. G. de V. Gonçalves	
		PRODUTO/APLICAÇÃO:	Removedor Reboco	
CNPJ	00060.586/0002-60	NÚMERO DO LOTE:	GRA0180/13	
TELEFONE	(021)3680 - 5525	DATA DE FABRICAÇÃO:	OUTUBRO/2013	
FAX	(021)3978 - 5409	DATA DE VALIDADE:	ABRIL/2014	
INFORMAÇÕES DAS ANÁLISES				
<i>Análise</i>	<i>Técnica</i>	<i>Método analítico</i>	<i>Especificação</i>	<i>Resultado</i>
Aspecto/cor	Inspecção visual	-	Pó branco a levemente amarelado	ok
Teor de MgO ₂	Titulação %	ME036	Mín. 15,00	15,18
Umidade	- %	ME014-2	Máx. 11,00	6,69

Resultado de inspecção: Produto Aprovado			
Em caso de dúvidas sobre os resultados contatar o departamento de qualidade do fornecedor do produto:			
E-mail:	<i>cq@poland.com.br</i>	Telefone:	3680-5524 3680-5500

EMITIDO ELETRONICAMENTE SOB A RESPONSABILIDADE DO CONTROLE DE QUALIDADE


 Gizelle de F. G. de V. Gonçalves
 Gestora de C. Q.
 CRQ: 03420634

Emitido em: 10/10/2013

FICHA DE EMERGÊNCIA	
 <p>POLAND QUÍMICA POLAND QUÍMICA Ltda Rua Capitão Guynemer, 1080, Xerém- Duque de Caxias, RJ. CEP: 25.245-390 Tel.: (55-22) 2273-4433 / (21)3978-5411/5400 E-mail: sac@poland.com.br</p>	<p>Nome apropriado para o embarque:</p> <p style="text-align: center;">PERTOX MG 15</p> <p>Número de risco: 50 Número da ONU: 1476 Classe ou subclasse de risco: 5,1 Descrição da classe ou subclasse de risco: Líquido Pó oxidante Grupo de Embalagem: II</p>
Aspecto:	Pó branco homogêneo. Material incompatível com metais pesados, metais alcalinos, ácidos e aminas.
EPI (exclusivo para equipe de atendimento a Emergência)	Proteção para a cabeça: Usar capacete para evitar impacto na cabeça Proteção para os olhos: Usar óculos tipo ampla visão ou visor químico Proteção para as mãos: Usar luvas PVC ou de neoprene cano longo Proteção para os pés: Usar bota de PVC Proteção para o corpo: Usar Macacão de PVC ou de Tyvek; Proteção respiratória: Usar máscara com filtro para pó.
"O EPI do motorista está especificado na ABNT NBR 9735"	
RISCOS	
Fogo	Não inflamável
Saúde	O produto pode ser absorvido pela via oral, dérmico e inalatória. Apresenta elevado poder de irritabilidade Olhos: Irritante Pele: Causa irritação e dermatite; Vias respiratórias: Irritante as vias respiratórias podendo provocar dores de cabeça, tosse, falta de ar, vertigem, dificuldade de respirar e edema pulmonar;
Meio ambiente	Causa poluição de rios, flora, solo e prejudica a fauna
EM CASO DE ACIDENTE	
Vazamento	<ul style="list-style-type: none"> • Use o EPI – Equipamento de Proteção Individual recomendado acima; • Estacione em local seguro, desligando o motor e todos os sistemas elétricos do veículo; • Isole a área e procure estancar o vazamento. Deve-se diluir com vapores com grande quantidade de água em forma de neblina; • Avise imediatamente a Defesa Civil, o Corpo de Bombeiros e a Polícia Rodoviária; • Elimine quaisquer fontes de ignição; • Construa diques de areia para contenção do produto vazado; • Evite que os resíduos entrem em bueiros, esgotos ou cursos de água
Fogo	Extintores de Espuma, pó químico ou Dióxido de carbono (CO ₂). Use água em forma de neblina para resfriar o recipiente sob ação do fogo. Agir sempre a favor do vento.
Poliuição	Conte o derramamento. Recolher e colocar os resíduos em recipiente para eliminação, de acordo com as regulamentações locais. Utilizar preferencialmente aspirador industrial para coletar o resíduo.
Envolvimento de Pessoas	Levantar o acidentado para local arejado; Remover roupas e calçados contaminados; Em caso de contato com a pele ou os olhos, lavar imediatamente as partes atingidas com água corrente; Não provocar vômito e encaminhar ao serviço médico mais próximo;
Informações ao Médico	Informar qual o produto. Em caso de ingestão, recomenda-se a lavagem gástrica com especial atenção, visando garantir o impedimento da aspiração pulmonar
OBSERVAÇÕES	As Instruções ao motorista, em caso de emergência, encontram-se descritas exclusivamente no envelope para transporte.
Fabricante	Poland Química Ltda



FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO
NBR 14725:2009



1 – IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA

NOME/MARCA COMERCIAL	PERTOX MG15	CÓD. PRODUTO	
CLASSIFICAÇÃO FISCAL (NCM)			
TELEFONE	55 21 3978-5411 / 5410	Nº. FAX	55 22 2273-4433
INTERNET	www.poland.com.br	E-mail	sac@poland.com.br
ENDEREÇO	Rua Capitão Guynemer, 1080 – Xerém, Duque de Caxias, RJ – Brasil, CEP: 25245-390		
RESPONSÁVEL TÉCNICO	Roberta C. R. Souza		
PROQUÍMICA	0800-118270		
FONTES DE CONSULTA			
NORMA TÉCNICA	1.11.2 - ENTIDADES		
N – 2530 CRITÉRIOS PARA HOMOLOGAÇÃO	PETROBRÁS		
NBR 14725-4:2009 – Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos	ABNT		
N-2375	PETROBRÁS		

2 – IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

PERIGOS MAIS IMPORTANTES	Produto irritante		
EFEITOS ADVERSOS À SAÚDE HUMANA			
SISTEMA RESPIRATÓRIO	Irritante	3.2.4 - SISTEMA DIGESTIVO	Não determinado
OLHOS	Irritante	3.2.6 - PERIGOS CRÔNICOS	Não determinado
PELE E MUCOSAS	Irritante		
EFEITOS AMBIENTAIS			
AR	Não poluente	3.3.3 - SOLO	Altera a composição do solo
ÁGUA	Polui em altas concentrações	3.3.4 - ANÁLISE DO CICLO DE VIDA	Não determinado
VISÃO GERAL DE EMERGÊNCIAS			
Isolamento da área e pessoas não treinadas. Vedar vazamento. Evitar contaminação de reservatórios e cursos d'água. Se houver contato com produtos com pessoas, remover imediatamente roupas e sapatos.			
INFORMAÇÕES ADICIONAIS	Produto: Peróxido de Magnésio		

3 – COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÕES SOBRE OS INGREDIENTES

SUBSTÂNCIA			
NOME QUÍMICO	Óxido de Magnésio		
SINÔNIMIA			
COMPONENTES QUE CONTRIBUAM PARA PERIGO	2.2.2 - CAS	2.2.3 - EINECS	
PREPARADO			
NATUREZA QUÍMICA			
COMPONENTES QUE CONTRIBUAM PARA PERIGO	2.2.3 - CLASSIFICAÇÃO E ROTULAGEM DE PERIGO		
Informação confidencial retida	Irritante na pele/ perigoso ao meio aquático		

4 – MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS

PERTOX MG 15
E-mail: sac@poland.com.br

1 / 6

DATA: 10/10/2013
REVISÃO: 01



FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO
NBR 14725:2009



Inalação	Levar a pessoa para local arejado se houver inalação prolongada
Contato Com A Pele E Mucosas	Retirar as vestes e sapatos contaminados. Lavar a pele com água e sabão em abundância por pelo menos 15 minutos. Procurar assistência médica.
Contato Com Os Olhos	Lavar os olhos com água comum em abundância, por no mínimo 15 minutos. Procurar assistência médica.
Ingestão	Dar bastante água, procurar assistência médica.
Proteção Ao Prestador De Socorro E Informações Ao Médico	Produto: Mica

3 – MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

PROPRIEDADES CRÍTICAS	5.2 - ESPECIFICAÇÃO	5.3 - NORMA TÉCNICA (MÉTODO DE ANÁLISE)
PONTO DE FULGOR (°C)	NÃO INFLÂMVEL	Me - 012 - Poland
PONTO DE COMBUSTÃO(°C)	Não determinado	
PONTO DE AUTO IGNIÇÃO(°C)	Não determinado	
LIMITE INFERIOR DE INFLAMABILIDADE - LI (%)	Não determinado	
LIMITE INFERIOR DE EXPLOSIVIDADE - LIE (%)	Não determinado	
LIMITE SUPERIOR DE INFLAMABILIDADE - LSI (%)	Não determinado	
LIMITE SUPERIOR DE EXPLOSIVIDADE - LSE (%)	Não determinado	
CLASSIFICAÇÃO DE INFLAMABILIDADE	Produto Não Inflamável	
EXTINTORES RECOMENDADOS	Extintor de CO ₂ ou pó químico	
RECOMENDAÇÕES ESPECIAIS	Em caso de incêndio não usar jatos de água, para não espalhar o produto para outros locais, evitando assim a propagação do fogo. Se não houver derramamento e/ou fogo, usar jato ou neblina de água para resfriar as embalagens e proteger o produto.	
EQUIPAMENTOS ESPECIAIS PARA PROTEÇÃO DE BOMBEIROS	Utilizar roupas, luvas e botas especiais para combate a incêndio e conjunto autônomo para proteção respiratória.	

6 – MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

INSTRUÇÕES ESPECÍFICAS PARA PRECAUÇÕES PESSOAIS	Remover todas as possíveis fontes de ignição como chama, calor, faísca e eletricidade. Isolar a área atingida. Adotar proteção individual conforme item 8.
PRECAUÇÕES AO MEIO AMBIENTE	Evitar que o produto alcance rede ou sistema de drenagem, reservatório e cursos d'água. Se possível, estancar o vazamento utilizando método do item 8.3.
MÉTODOS DE LIMPEZA	Grandes derramamentos: remover mecanicamente. Pequenos derramamentos: limpar o local com pá e vassoura, colocar o produto em saco plástico. Lavar o resíduo com água.
MÉTODO DE NEUTRALIZAÇÃO	
TRATAMENTO/DISPOSIÇÃO FINAL	De acordo com item 13.
INFORMAÇÕES ADICIONAIS	Embalagens não classificadas: o produto pode ser utilizado. Embalagens classificadas: produto e embalagem devem ser descartados.



FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO
NBR 14725:2009



7 – MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

MANUSEIO

PREVENÇÃO DA EXPOSIÇÃO DO
TRABALHADOR

Durante manuseio, utilizar equipamentos de proteção especificados no item 8

PREVENÇÃO DE INCÊNDIO E EXPLOÇÃO

Evitar manuseio próximo a faíscas e locais de possíveis descargas elétricas

PRECAUÇÕES PARA MANUSEIO SEGURO

Manusear em áreas de ventilação adequada, e que não permitam sua infiltração ao solo. Não transportar embalagem de modo que ocorra atrito. Evitar choques da embalagem com outras superfícies.

ARMAZENAMENTO

TEMPERATURA (°C)

Ambiente

PRESSÃO kPa (kgf/cm²)

Ambiente

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Estocar em área específica, à sombra, longe de fontes de calor e/ou fogo e da umidade, com ventilação natural e protegido do sol e da chuva. Manter embalagens bem fechadas.

MATERIAIS SEGUROS PARA EMBALAGENS

Barricas de 50 Kg

IDENTIFICAÇÃO

Rótulos padronizados da [Poland Química Ltda.](#)

EMPLHAMENTO

Indefinido

VALIDADE

6 meses

MATERIAIS INCOMPATÍVEIS:

Material incompatível com metais pesados, metais alcalinos, ácidos e aminas.

RECOMENDAÇÕES ESPECIAIS

PACKING GROUP

8 – CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

MEDIDAS DE CONTROLE DE ENGENHARIA

Exaustão e ventilação local recomendadas. No transporte e estocagem, manter as embalagens bem fechadas.

PARÂMETROS DE CONTROLE ESPECÍFICOS

LIMITE DE EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL

Não aplicável

INDICADORES BIOLÓGICOS

Não aplicável

OUTROS LIMITES E VALORES

Não aplicável

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

RESPIRATÓRIA

Máscara para pó

OLHOS

Óculos de segurança

PELE E MUCOSAS

Luvas, avental e macacão

OUTRAS

Calçado fechado impermeável


FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO
 NBR 14725:2009


5- PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS		
PROPRIEDADES	9.2 - ESPECIFICAÇÃO	9.3 - NORMA TÉCNICA
ESTADO FÍSICO	Sólido, a 25 °C	Visual
APARÊNCIA	Pó	Visual
ODOR:	Inodoro	
COR:	Branca	Visual
MASSA MOLECULAR:	Não determinado	
PONTO DE COMBUSTÃO (°C)	Não determinado	
PONTO DE AUTO IGNIÇÃO (°C)	Não determinado	
PONTO DE FULGOR (°C)	Não inflamável	Me - 012 - Poland
LIMITE INFERIOR DE INFLAMABILIDADE - LII (%)	Não determinado	
LIMITE INFERIOR DE EXPLOSIVIDADE - LIE (%)	Não determinado	
LIMITE SUPERIOR DE INFLAMABILIDADE - LSI (%)	Não determinado	
LIMITE SUPERIOR DE EXPLOSIVIDADE - LSE (%)	Não determinado	
PONTO DE EBULIÇÃO (°C) a 101,325 kPa (760 mm Hg)	Não determinado	
PONTO DE FUSÃO (°C) a 101,325 kPa (760 mm Hg)	100 °C (decomposição)	
PRESSÃO DE VAPOR kPa (mm de Hg) a 20 °C	Não determinado	
DENSIDADE DE VAPOR (ar=1)	Não determinado	
DENSIDADE (água = 1)	3,50 ± 0,05	Me - 001 - Poland
VISCOSIDADE em Pas (cP) a 20 °C	Não determinado	
VOLÁTEIS (% volume)	Não determinado	
TAXA DE EVAPORAÇÃO (éter etílico = 1)	Não determinado	
pH (1 % a 25 °C)	Não determinado	Me - 002 - Poland
ATIVOS (% PESO)	15,0 min.	Me - 006 - Poland
SOLUBILIDADE EM ÁGUA (g/100g)	63	Visual
SOLUBILIDADE EM SOLVENTE ORGÂNICO	Não determinado	Visual
PONTO DE ANILINA (°C)	Não determinado	
TEOR DE UMIDADE%	MÁX. 11,0	Me-014-2

10- ESTABILIDADE E REATIVIDADE

ESTABILIDADE	Estável, sob condições apresentadas no item 7
CONDIÇÕES DETERMINANTES DE INSTABILIDADE	Estável
TEMPERATURA DE DECOMPOSIÇÃO (°C)	100
PRODUTOS DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA	Não determinado
REAÇÃO DESCONTROLADA	Não há
CONDIÇÕES FAVORÁVEIS À REAÇÃO DESCONTROLADA	Não há
MATERIAIS INCOMPATÍVEIS	Metais pesados, metais alcalinos, aminas e ácidos


FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO
 NBR 14725:2009

11 - INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

CLASSIFICAÇÃO				
ASFIXIANTE SIMPLES	Não asfixiante			
ASFIXIANTE QUÍMICO	Não asfixiante			
IRRITANTE	Infante			
CORROSIVO	Não Corrosivo			
SUBSTÂNCIA QUE ALTERA O COMPORTAMENTO	Não contém substância que altera o comportamento			
LIMITE DE ODORES	Não determinado			
LIMITES DE TOLERÂNCIA (L.T)	Não determinado			
COMPONENTE	11.3.2- LT- BRASIL	11.3.2- LT- TETO	11.3.3- LT- ACGIH	11.3.3.3 - TLV-STEL
	11.3.2.1- LT-MP ou 11.3.2.2- LT-TETO	11.3.2- 3- VM	11.3.3.1 - TLV-TWA ou 11.3.3.2- TLV-C	
LIMITE DE TOLERÂNCIA BIOLÓGICO				
CONCENTRAÇÕES E DOSES LETAIS				
INGESTÃO DL ₅₀ e/ou DL ₀₁ (mg/kg)	Não determinado			
INALAÇÃO CL ₅₀ e/ou CL ₀₁ (ppm)	Não determinado			
PELE DL ₅₀ e/ou DL ₀₁ (mg/kg)	Não determinado			
IDLH (Immediately Dangerous to Life or Health) (ppm)	Não determinado			

12 - INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

MOBILIDADE
 PERSISTÊNCIA / DEGRADABILIDADE
 BIOACUMULAÇÃO
 IMPACTO AMBIENTAL
 ECOTOXICIDADE

13 - CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

TRATAMENTO/DISPOSIÇÃO FINAL DO PRODUTO E DE SEUS RESTOS	Incrustação ou atenu sanitária, sob autorização do órgão competente
TRATAMENTO/DISPOSIÇÃO FINAL DA EMBALAGEM	Não utilizar para fins alimentícios. Envio para reciclagem somente para empresas licenciadas por órgão ambiental local. Caso não seja possível a reciclagem, descarte em atenu industrial.

14 - INFORMAÇÕES SOBRE O TRANSPORTE

RÓTULO DE RISCO	Produto Oxidante
CLASSIFICAÇÃO DA ONU:	
NÚMERO DA ONU	1470
NÚMERO DE RISCO	50
CLASSE E SUBCLASSE DO RISCO	5.1
GRUPO DO RISCO	
RISCO SUBSIDIÁRIO	
RECOMENDAÇÕES ESPECIAIS:	
Grupo de embalagem	II

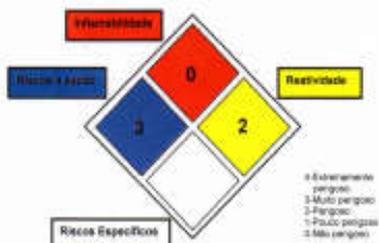


FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO
NBR 14725:2009



15 - REGULAMENTAÇÕES

SÍMBOLO DE ALERTA DA NFPA 704



16 - OUTRAS INFORMAÇÕES

NECESSIDADES ESPECIAIS DE TREINAMENTO

Boas Práticas de Manuseio de Produtos Químicos

USO RECOMENDADO E POSSÍVEIS RESTRIÇÕES AO
PRODUTO QUÍMICO

Situações de Emergência - Vazamentos Químicos

Somente para uso industrial, sob supervisão de profissionais da área química.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

The Merck Index

Handbook of Chemistry and Physics, 80th ed.

ANEXO II – LAUDO ÓXIDOS DE FERRO RECUPERADOS DO TRATAMENTO DA DRENAGEM ÁCIDA DE MINA



DIVISÃO QUÍMICA P & D	
ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA	Goetita em pó

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA AMOSTRA			
ELEMENTOS	TEOR (%)	ELEMENTOS	TEOR (%)
Al ₂ O ₃	0,69	B ₂ O ₃	-
CaO	3,64	Li ₂ O	-
Fe ₂ O ₃	78,29	BaO	0,25
K ₂ O	<0,05	Co ₂ O ₃	<0,1
MgO	0,11	Cr ₂ O ₃	<0,1
MnO	0,10	PbO	<0,1
Na ₂ O	0,34	SrO	<0,1
P ₂ O ₅	<0,05	ZnO	0,31
SiO ₂	0,97	ZrO ₂ +HfO ₂	<0,1
TiO ₂	<0,05	Perda fogo	13,53
Elementos Majoritários: Fe Elementos em pequeno percentual: S, Ca, Zn Elementos traços: Na, Al, Si, Cl, K, Mn, Co, Ni Dp < 1,0mm			

Eng. Leonardo Casaril
(48) 3463 8000

ANEXO III – BIODIESEL (B100)



BOLETIM DE ENSAIO

Certificado de Ensaio: 0097-13 G

Local: TQ - 5943012
 Tipo: COMPOSTA DE UM UNICO TANQUE
 Finalidade: VENDA NACIONAL
 Executante: UPBQ - UNIDADE DE PRODUCAO DE BIODIESEL DE QUIXADA

Número da Amostra: 195152
 Data/Hora do recebimento: 30/06/2013 09:11:00
 Data/Hora da amostragem: 30/06/2013 09:10:00
 Solicitante: UPBQ - UNIDADE DE PRODUCAO DE BIODIESEL DE QUIXADA

Produto: 9AY - BIODIESEL B100

Característica	Método	Result.	Und.	Esp
ASPECTO	VIS 000	LII		G T
MASSA ESPECIFICA A 20 GC	D 4052	877,5	kg/m3	G T
VISCOSIDADE CINEMATICA A 40 GC	D 445	4,367	mm2/s	G T
TEOR DE AGUA	D 6304	237	mg/kg	G T
CONTAMINACAO TOTAL	EN 12662	14,1	mg/kg	G T
PONTO DE FULGOR	D 93	168,5	grau C	G T
TEOR DE ESTER	EN 14103	99,1	% massa	G T
RESIDUO DE CARBONO (METODO MICRO)	D 4530	0,00	% massa	G T
CINZAS SULFATADA	NBR 6294	<0,005	% massa	G T
ENXOFRE TOTAL	D 5453	1,6	mg/kg	G T
TEOR DE SODIO+POTASSIO - NA+K	NBR 15556	<0,5	mg/kg	G T
TEOR DE CALCIO+MAGNESIO - CA+MG	NBR 15553	<1,0	mg/kg	G T
TEOR DE FOSFORO - P	NBR 15553	2,1	mg/kg	G T
CORROSIVIDADE AO COBRE 3H 50 GC	D 130	1A		G T
PONTO DE ENTUPIMENTO	D 6371	3	grau C	G T
INDICE DE ACIDEZ TOTAL	D 664	0,14	mg KOH/g	G T
GLICERINA LIVRE	D 6584	0,011	% massa	G T
GLICERINA TOTAL	D 6584	0,178	% massa	G T
TEOR DE MONOGLICERIDEOS	D 6584	0,499	% massa	G T
TEOR DE DIGLICERIDEOS	D 6584	0,154	% massa	G T
TEOR DE TRIGLICERIDEOS	D 6584	0,142	% massa	G T
INDICE DE IODO	EN 14111	89,4	g/100g	G T
ESTABILIDADE OXIDACAO A 110 GRAU CELSIUS	EN 14112	10,8	h	G T

NOTAS:

Produto especificado na(s) característica(s) avaliada(s).

Comentário da Amostra:

TANQUE:3012 VOLUME:1031m3
 LOTE: PBIOQX240627061312
 SEQUÊNCIA NO ANO.:50/2013
 LACRES AT:056848/056849
 MATERIAL GRAXO:66% DENDE; 34% SOJA
 DATA DA PRODUÇÃO:24.06.13 A 27.06.13

Os resultados deste boletim referem-se à amostra acima indicada, sendo sua circulação restrita à PETROBRAS e PROPRIETÁRIO DO PRODUTO

Responsável:
 TASSIO LESSA DO NASCIMENTO
 CRQ: 104000053 10ª REGIÃO