

APLICAÇÃO DE BIOPILHA NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS ARGILOSOS
CONTAMINADOS COM PETRÓLEO

Paulo Negrais Carneiro Seabra

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DOS
PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM
ENGENHARIA QUÍMICA.

Aprovada por:

Prof. Geraldo Lippel Sant'Anna Jr., Dr.Ing.

Prof. Denize Dias de Carvalho, D.Sc.

Prof. Henry Xavier Corseuil, Ph. D.

Prof. Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti, D.Sc.

Prof. Maria Cláudia Barbosa, D.Sc.

Prof. Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

OUTUBRO DE 2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SEABRA, PAULO NEGRAIS CARNEIRO

Aplicação de Biopilha na
Biorremediação de Solos Argilosos
Contaminados com Petróleo [Rio de
Janeiro] 2005

XIV, 169 p., 29,7 cm, (COPPE/UFRJ,
D.Sc., Engenharia Química, 2005)

Tese – Universidade Federal do Rio de
Janeiro, COPPE

1. Biorremediação; 2. Biopilha; 3. Petróleo

I. COPPE/UFRJ II. Título (série)

Aos meus filhos, Isabela, Rafael e Victor
À Luisa

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e, em especial:

- ✓ ao Professor Geraldo Lippel Sant’Anna Jr e à Professora Denize Dias de Carvalho pela orientação, incentivo, confiança e amizade.
- ✓ ao Professor Rainer Stegmann, chefe do Departamento de Gerenciamento de Resíduos da Universidade Técnica de Hamburgo-Harburgo (TUHH), por sua orientação, amizade e pela acolhida em seus laboratórios para a realização de parte deste trabalho.
- ✓ ao engenheiro Jörn Heerenklage por sua grande amizade, disponibilidade, confiança e orientação técnica que possibilitaram o bom desenvolvimento dos experimentos na TUHH.
- ✓ à Anja Scholz, Kim Kleeberg, Anjun Naveed e, em especial, à Gergana “Gery” Ivanova, pelo apoio analítico na TUHH.
- ✓ a todos do TUHH que colaboraram com o meu trabalho e me propiciaram um ótimo convívio.
- ✓ ao Frederico de Landa, Renata Casella, Eliane Ventura, Ronalt Vital, Adriana Ururahy Soriano, Eduardo Platte, Alexandre Amigo e a todos no Centro de Pesquisas e Desenvolvimento da Petrobras – CENPES, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.
- ✓ ao CENPES que forneceu os recursos logísticos e financeiros necessários para o desenvolvimento deste trabalho, principalmente, nas pessoas de Gina Vasquez Sebastien, Ricardo Castello Branco e Thais Murce da Silva.
- ✓ à Unidade de Negócios de Exploração e Produção Sergipe Alagoas (UN-SEAL) pela confiança e apoio depositado neste trabalho.
- ✓ à Andrea Rizzo, Ronaldo Santos e Renata dos Santos Raimundo, do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM), pelo apoio fundamental na realização dos ensaios de biopilha.
- ✓ ao Professor Everaldo Zonta da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela discussão fundamental sobre os resultados das análises físicas e químicas do solo.

- ✓ aos funcionários da ECT, Innolab, Embrapa Solos, UFRRJ e PUC, que realizaram análises físicas, químicas e ecotoxicológicas para este trabalho.
- ✓ aos meus filhos, Rafael, Victor e Isabela, pela paciência e apoio.
- ✓ por último, mas não menos importante, à Luisa pelo incentivo fundamental e participação neste trabalho.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

APLICAÇÃO DE BIOPILHA NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS ARGILOSOS CONTAMINADOS COM PETRÓLEO

Paulo Negrais Carneiro Seabra

Outubro/2005

Orientadores: Geraldo Lippel Sant'Anna Jr.

Denize Dias de Carvalho

Programa: Engenharia Química

Este trabalho consiste no estudo do efeito de parâmetros que influenciam a biodegradação de petróleo em solos com altos teores de argila e silte, para sistema de biopilha. Foram realizados experimentos em microcosmo (respirometria) e com biopilhas de 20L, todos com contaminação artificial. Observou-se que a porcentagem de óleo biodegradado foi inversamente proporcional à sua concentração inicial. Serragem e composto maduro de lixo urbano foram os melhores materiais estruturantes testados. Nas biopilhas, os valores de coeficiente de remoção de óleo encontrados ficaram na faixa de 0,0061 a 0,0109 dia⁻¹, acima dos encontrados em literatura. O tratamento em biopilha, também contribuiu para recuperar a qualidade dos solos em termos de ecotoxicidade. A formação de resíduos de ligação foi observada em balanço de carbono da biodegradação do óleo, realizado em biorreatores de coluna. A porcentagem de carbono sorvido na matéria orgânica do solo aumentou com o aumento da mineralização do óleo. Em resumo, a aplicação da biopilha no tratamento de solos argilosos contaminados com petróleo é viável, podendo eliminar os riscos do óleo residual ao meio ambiente a curto e médio prazo, por meio de sua biodegradação e humificação.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

APPLICABILITY OF BIOREMEDIATION OF CRUDE OIL-CONTAMINATED
CLAYEY SOIL BY BIOPILE

Paulo Negrais Carneiro Seabra

October/2005

Advisors:: Geraldo Lippel Sant'Anna Jr.

Denize Dias de Carvalho

Department: Chemical Engineering

This work presents applicability study of biopile to treat crude oil-contaminated clayey soils. One of its goals was to identify the most relevant parameters to the process. Tests were carried out in microcosm (respirometria) and 20-liter biopiles, all with artificially contaminated soils. The oil biodegradation rate decreased with the initial oil concentration increase. Sawdust and compost presented the best oil biodegradation results between the bulking materials tested. In 20-liter biopiles tests the oil removal coefficient obtained were between 0.0061 to 0.0109 day⁻¹, values above the average reported in literature. Potential residual ecotoxicity was eliminated in most of biopile treated soils. Using column bioreactors bound residues were quantified during carbon balance of crude oil biodegradation. Bound residues attached to the soil organic matter enhanced with the crude oil mineralization. These results demonstrated that high clay content soils can be remediated to acceptable levels by biopile systems within a reasonable time. The environmental contamination risks can be eliminated due to oil mineralization and the humidification.

Parte do estudo desenvolvido na presente tese gerou os seguintes trabalhos:

- SEABRA, P.N.C., SANT'ANNA JR., G.L., FREIRE, D.D.C., 2003, "Biorremediação de Solos Argilosos Contaminados com Petróleo". *Colóquio Anual de Engenharia Química 2003*, Programa de Engenharia Química/COPPE/UFRJ.
- SEABRA, P.N.C., SORIANO, A.U., DE LANDA, F.G., CASELLA, R.C., SANT'ANNA JR., G.L., FREIRE, D.D.C., 2005, "Bulking Materials to Improve the Biodegradation Rate in Clayey Soil", *8th International In Situ On-Site Bioremediation Symposium*, Baltimore, EUA, 6-9 Junho.

Índice de Figuras

FIGURA 2.1 - FLUXOGRAMA COM O RESUMO DAS ATIVIDADES EXPERIMENTAIS.	7
FIGURA 3.1 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE ALGUNS COMPOSTOS ENCONTRADOS NO PETRÓLEO.	10
FIGURA 3.2 - HORIZONTES TÍPICOS DE SOLO (MONTGOMERY, 1995).	14
FIGURA 3.3 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DE UM SOLO INTENSAMENTE INTEMPERIZADO (OXISOL) E UM MENOS INTEMPÉRICO, EXPRESSO EM PERCENTAGEM NA FORMA DE ÓXIDO EM MASSA (MCBRIDE, 1994).	15
FIGURA 3.4 - TRIÂNGULO DAS CLASSES BÁSICAS DE TEXTURA DO SOLO (VIEIRA, 1975).	17
FIGURA 3.5 - CLASSIFICAÇÃO DAS TECNOLOGIAS DE REMEDIAÇÃO EM FUNÇÃO DO TIPO DE ESTRATÉGIA (DOD ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY TRANSFER COMMITTEE, 1994).	24
FIGURA 3.6 - DISTRIBUIÇÃO DOS CONTAMINANTES ORGÂNICOS NAS DIVERSAS FASES NA ZONA NÃO-SATURADA DO SOLO.	38
FIGURA 3.8 SISTEMA DE BIOPILHA DINÂMICA NA CIDADE DE CARMÓPOLIS, BRASIL (SEABRA <i>ET AL.</i> , 2005).	45
FIGURA 4.1 – SOLO DE ENTRE RIOS – SOLO A.	59
FIGURA 4.2 – SOLO DE ALTO DE JERICÓ – SOLO B.	59
FIGURA 4.3 – RESPIRÔMETRO SAPROMAT (ADAPTADO DA VOITH).	63
FIGURA 4.4 - BRITADOR DE MANDÍBULA GRANDE.	70
FIGURA 4.5 – FLUXOGRAMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO.	71
FIGURA 4.6 – BANDEJAS COM SOLO DESAGREGADO E CONTAMINADO.	71
FIGURA 4.7 – BANDEJAS COM SOLO SUPRIDO DE NUTRIENTES COLOCADAS NO LABORATÓRIO DO CETEM.	72
FIGURA 4.8 - ESQUEMA DE REVOLVIMENTO DO SOLO NAS PILHAS	73
FIGURA 4.9 – DIAGRAMA DO SISTEMA DE BIORREATORES.	83
FIGURA 4.10 – SISTEMA DE BIORREATORES EM SALA CLIMATIZADA A 30 °C.	84
FIGURA 4.11 – DETALHE DO CONJUNTO DE BIORREATORES.	85
FIGURA 4.12 – DETALHE DO BIORREATOR.	86
FIGURA 4.13 - SISTEMA DE CONTROLE DE VAZÃO DE AR E MEDIÇÃO EM LINHA.	86
FIGURA 4.14 - APRESENTAÇÃO GRÁFICA DO APLICATIVO WORKBENCH.	86
FIGURA 5.1 – EVOLUÇÃO DOS TEORES DE HPT NOS ENSAIOS COM BIOPILHAS – SÉRIE 1.	100
FIGURA 5.2 – TAXAS MÉDIAS DE DESAPARECIMENTO DE HPT NOS ENSAIOS COM BIOPILHAS – SÉRIE 1.	101
FIGURA 5.4 – EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-1.	102
FIGURA 5.5 – EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-2.	103
FIGURA 5.6 – EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-3.	104
FIGURA 5.7 – EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-4.	105
FIGURA 5.8 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-5.	106
FIGURA 5.9 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-6.	107
FIGURA 5.10 - CONTAGEM DE MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS TOTAIS – SÉRIE 1.	109
FIGURA 5.11 - CONTAGEM DE MICRORGANISMOS DEGRADADORES DE ÓLEO – SÉRIE 1.	109
FIGURA 5.12 – EVOLUÇÃO DO DECRÉSCIMO DE HPT NA SÉRIE 2.	112
FIGURA 5.13 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-7.	113
FIGURA 5.14 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-8.	114
FIGURA 5.15 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-9.	115
FIGURA 5.16 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-10.	116
FIGURA 5.17 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-11.	117
FIGURA 5.18 - EVOLUÇÃO DOS CROMATOGRAMAS NA BIOPILHA P-12.	118
FIGURA 5.19 - CONTAGEM DE MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS TOTAIS – SÉRIE 2.	119
FIGURA 5.20 - CONTAGEM DE MICRORGANISMOS DEGRADADORES DE ÓLEO – SÉRIE 2.	120
FIGURA 5.21 - CRESCIMENTO DO BROTO E RAIZ DE <i>HORDEUM VULGARE</i> (CEVADA), EM	

PERCENTAGEM DO VALOR DO CONTROLE, SÉRIE 1.	124
FIGURA 5.22 - GERMINAÇÃO DA <i>AVENA SATIVA</i> (AVEIA), EM PERCENTAGEM DO VALOR DO CONTROLE, SÉRIE 1.	125
FIGURA 5.23 - GERMINAÇÃO DE <i>BRASSICA NAPUS</i> (NABO), EM PERCENTAGEM DO VALOR DO CONTROLE, SÉRIE 1.	126
FIGURA 5.26 - CRESCIMENTO DA RAIZ DA <i>HORDEUM VULGARE</i> (CEVADA), EM PERCENTAGEM DO VALOR DO CONTROLE, SOLO A - SÉRIE 2.	128
FIGURA 5.27 - CRESCIMENTO DA RAIZ DA <i>HORDEUM VULGARE</i> (CEVADA), EM PERCENTAGEM DO VALOR DO CONTROLE, SOLO B - SÉRIE 2.	128
FIGURA 5.29 - GERMINAÇÃO DA <i>BRASSICA NAPUS</i> (NABO), EM PERCENTAGEM DO COMPRIMENTO DO CONTROLE, SOLO A - SÉRIE 2.	130
FIGURA 5.30 - GERMINAÇÃO DA <i>BRASSICA NAPUS</i> (NABO), EM PERCENTAGEM DO COMPRIMENTO DO CONTROLE, SOLO B - SÉRIE 2.	130
FIGURA 5.31 - DESAPARECIMENTO ACUMULATIVO DE CARBONO NOS BIORREATORES BR1-3 E BR1-4.	132
FIGURA 5.32 - DESAPARECIMENTO ACUMULADO DE CARBONO NOS BIORREATORES BR1-5 E BR1-6.	133
FIGURA 5.33 - EVOLUÇÃO DOS TEORES DE CO ₂ NÃO ACUMULATIVOS NO EFLUENTE GASOSO DOS REATORES DA SÉRIE BR1.	134
FIGURA 5.34 - EVOLUÇÃO DOS TEORES DE COT NÃO ACUMULATIVOS NO EFLUENTE GASOSO DOS REATORES DA SÉRIE BR1.	136
FIGURA 5.35 - DESAPARECIMENTO ACUMULATIVO DO CARBONO DO PETRÓLEO NOS BIORREATORES DA SÉRIE BR1.	137
FIGURA 5.36 - DESAPARECIMENTO ACUMULATIVO DE CARBONO NOS BIORREATORES BR2-3 E BR2-4.	138
FIGURA 5.37 - DESAPARECIMENTO DE CARBONO NOS BIORREATORES BR2-5 E BR2-6.	139
FIGURA 5.38 - EVOLUÇÃO DOS TEORES DE CO ₂ NÃO ACUMULATIVOS NO EFLUENTE GASOSO DOS REATORES DA SÉRIE BR2.	140
FIGURA 5.39 - DESAPARECIMENTO DE CARBONO DOS BIORREATORES DA SÉRIE BR2, EM TERMOS DE BIODEGRADAÇÃO.	141
FIGURA 5.40 - FLUXO DE BALANÇO DE CARBONO NA BIODEGRADAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS (KÄRTER E RICHNOW, 2001)	144
FIGURA 5.41 - BALANÇO DE CARBONO COM O TEMPO DO REATOR BR2-3.	146
FIGURA 5.42 - BALANÇO DE CARBONO COM O TEMPO DO REATOR BR2-4.	147
FIGURA 5.43 - BALANÇO DE CARBONO COM O TEMPO DO REATOR BR2-6.	148

Índice de Tabelas

TABELA 3.1 – PRINCIPAIS TIPOS DE RESÍDUOS ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE PETRÓLEO E GÁS.	11
TABELA 3.2 - FAIXAS DE TAMANHO DE PARTÍCULAS DO SOLO DE ACORDO COM OS DIVERSOS SISTEMAS DE CLASSIFICAÇÃO (ADAPTADO DE GEE E BAUDER, 1986).	16
TABELA 3.3 - POROSIDADE E CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA DE ALGUNS MATERIAIS (DUNNE E LEOPOLD, 1978).	18
TABELA 3.4 – GRAUS DE INTEMPERISMO (STRAHLER E STRAHLER, 1973).	21
TABELA 3.5 – DISTRIBUIÇÃO DO USO DE TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO DE SOLOS EM SÍTIOS DENTRO DO PROGRAMA SUPERFUNDO (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001).	25
TABELA 3.6 – FATORES QUE INFLUENCIAM A BIODEGRADAÇÃO DE UM CONTAMINANTE NO SOLO (VON FAHNESTOCK <i>ET AL.</i> , 1998; DOD, 2002).	28
TABELA 3.7 – ESTRUTURA QUÍMICA E BIODEGRADABILIDADE (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1995).	31
TABELA 3.8 - PROPRIEDADES FÍSICAS DE ALGUNS HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS E AROMÁTICOS (EASTCOTT, 1988; HOWARD, 1990).	32
TABELA 3.9 – SELEÇÃO DOS ORGANISMOS PARA TESTES EM SOLOS E SEDIMENTOS.	37
TABELA 3.10 – BALANÇO DE MASSA PARA O CARBONO (HUPE <i>ET AL.</i> , 1998).	40
TABELA 3.11 – VANTAGENS E DESVANTAGENS DO SISTEMA DE BIOPILHA PARA TRATAMENTO SOLOS CONTAMINADOS.	46
TABELA 3.12 – CASOS DE CAMPO DE TRATAMENTO POR BIOPILHA DE SOLOS CONTAMINADOS COM PETRÓLEO OU DERIVADOS.	48
TABELA 3.13 – ESTUDOS PUBLICADOS MOSTRANDO A INIBIÇÃO INDUZIDA PELA ADIÇÃO DE NITROGÊNIO NA BIORREMEDIÇÃO.	54
TABELA 4.1 – CARACTERÍSTICAS DOS SOLOS A, B E C.	59
TABELA 4.2 - CONDIÇÕES DOS TESTES REALIZADOS NO CENPES.	65
TABELA 4.3 - CONDIÇÕES DOS TESTES REALIZADOS NO TUHH.	66
TABELA 4.4 – CONDIÇÕES DOS TESTES DE BIOPILHA EM ESCALA DE BANCADA.	69
TABELA 4.5 - CONDIÇÕES DO TESTE DE TOXICIDADE COM <i>VIBRIO FISCHERI</i> .	78
TABELA 4.6 – PROPRIEDADES DOS SOLOS PADRÕES USADAS COMO CONTROLES ADICIONAIS AO TESTE.	79
TABELA 4.7 – CONDIÇÕES DOS TESTES.	81
TABELA 5.1 – CONSUMO MÉDIO DE OXIGÊNIO NOS TESTES DE RESPIROMETRIA REALIZADOS NO CENPES.	91
TABELA 5.2 - CONSUMO MÉDIO DE OXIGÊNIO NOS TESTES DE RESPIROMETRIA REALIZADOS NA TUHH.	95
TABELA 5.3 – TEORES DE HPT E CONSTANTE DE REMOÇÃO DE CONTAMINANTE.	98
TABELA 5.4 – CONTAGEM DE MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS TOTAIS.	108
TABELA 5.6 - TEORES DE HPT E CONSTANTE DE DEGRADAÇÃO DE CONTAMINANTE.	111
TABELA 5.7 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE POR MICROTOX PARA A SÉRIE 1.	122
TABELA 5.8 - RESULTADOS DOS TESTES ECOTOXICOLÓGICOS USANDO VEGETAIS, EM PORCENTAGEM EM RELAÇÃO AO CONTROLE - SÉRIE 1.	123
TABELA 5.9 - RESULTADOS DOS TESTES ECOTOXICOLÓGICOS USANDO VEGETAIS, EM PORCENTAGEM EM RELAÇÃO AOS RESPECTIVOS CONTROLES - SÉRIE 2.	127
TABELA 5.10 – QUANTIDADE DE CARBONO RELACIONADA À BIOMASSA.	140
TABELA 5.11 – EVOLUÇÃO COM O TEMPO DO HPT EXTRAÍVEIS NOS BIORREACTORES.	142
TABELA 5.12 – BALANÇO DE CARBONO EM TERMOS DO ENCONTRADO NO ÓLEO CRU ORIGINAL.	142

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS	5
CAPÍTULO 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
3.1. PETRÓLEO	9
3.2. RESÍDUOS SÓLIDOS DE PRODUÇÃO DE PETRÓLEO E GÁS	11
3.3. SOLO	13
3.3.1. COMPOSIÇÃO DO SOLO	15
3.3.2. TEXTURA DO SOLO	16
3.3.3. POROSIDADE E PERMEABILIDADE DO SOLO	17
3.3.4. DENSIDADE ABSOLUTA OU MASSA ESPECÍFICA DO SOLO	18
3.3.5. MINERAIS DE ARGILA	19
3.3.6. MATÉRIA ORGÂNICA	22
3.4. ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO DE SOLO CONTAMINADO	24
3.5. BIORREMEDIAÇÃO	27
3.5.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA	28
3.5.2. SOLUBILIDADE EM ÁGUA	31
3.5.3. CONCENTRAÇÃO DO CONTAMINANTE	33
3.5.4. TEMPERATURA DO SOLO	33
3.5.5. UMIDADE DO SOLO	34
3.5.6. PH	34
3.5.7. ECOTOXICIDADE EM SOLO	34
3.5.8. BIODISPONIBILIDADE DE COMPOSTOS ORGÂNICOS NO SOLO	37
3.5.9. RESÍDUOS DE LIGAÇÃO	39
3.6. BIOPILHA	42
3.6.1. DESCRIÇÃO GERAL DO PROCESSO	42
3.6.2. VANTAGENS E DESVANTAGENS	45
3.6.3. APLICAÇÃO	46
3.6.3.1. Experiências com Hidrocarbonetos de Petróleo	47
3.6.3.2. Cinética de Biodegradação	49
3.6.3.3. Influência do Oxigênio	49
3.6.3.4. Materiais Estruturantes (Bulking Materials)	50
3.6.3.5. Bioaumentação	51
3.6.3.6. Teor de Argila	52
3.6.3.7. Teor de metais	53
3.6.3.8. Influência da concentração de nitrogênio	53
3.6.3.9. Estudos no Brasil	54
3.6.3.10. Parâmetro e valores alvos	55
CAPÍTULO 4 - MATERIAIS E MÉTODOS	57
4.1. SOLOS	58

4.2. PETRÓLEO	62
4.3. PRIMEIRA FASE DOS EXPERIMENTOS - RESPIROMETRIA	63
4.3.1. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	63
4.3.1.1. Procedimentos Experimentais no CENPES	64
4.3.1.2. Procedimentos Experimentais no TUHH	65
4.3.2. MÉTODOS ANALÍTICOS	66
4.3.2.1. pH	66
4.3.2.2. Umidade	67
4.3.2.3. Granulometria e textura do solo	67
4.3.2.4. Nitrogênio total no solo	68
4.3.2.5. Fósforo assimilável no solo	68
4.3.2.6. Cromatografia do Petróleo Total (Whole Oil)	68
4.3.2.7. Análise Elementar do Petróleo	68
4.4. SEGUNDA FASE DOS EXPERIMENTOS - BIOPILHAS EM BANCADA	69
4.4.1. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	69
4.4.1.1. Série 1	70
4.4.1.2. Série 2	74
4.4.2. MÉTODOS ANALÍTICOS	74
4.4.2.1. pH	74
4.4.2.2. Umidade	74
4.4.2.3. Óleos e Graxas	75
4.4.2.4. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais	75
4.4.2.5. Determinação de Famílias Químicas	75
4.4.2.6. Microrganismos Heterotróficos Totais	75
4.4.2.7. Microrganismos Degradadores de Hidrocarbonetos	76
4.4.2.8. Granulometria e Textura do solo	77
4.4.2.9. Nitrogênio total no solo	77
4.4.2.10. Fósforo assimilável no solo	77
4.4.2.11. Método de Avaliação de Toxicidade por Microtox	77
4.4.2.12. Método de Avaliação de Toxicidade pela Inibição no Crescimento de Raízes	79
4.4.2.13. Método de Avaliação de Toxicidade pela Germinação	80
4.5. TERCEIRA FASE DOS EXPERIMENTOS – REATORES EM COLUNA	81
4.5.1. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	81
4.5.2. MÉTODOS ANALÍTICOS	87
4.5.2.1. Extração de óleo	87
4.5.2.2. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais	88
4.5.2.3. Umidade	88
4.5.2.4. pH	89
4.5.2.5. Massa do Carbono Microbiano (Método SRI)	89
 CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	 90
 5.1. RESPIROMETRIA	 91
5.2. BIOPILHAS EM BANCADA	98
5.2.1. SÉRIE 1	98
5.2.1.1. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais	98
5.1.1.2. Contagem Microbiana	108
5.2.2. SÉRIE 2	111
5.2.2.1. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais	111
5.2.2.2. Contagem Microbiana	119
5.2.3. ECOTOXICIDADE	121
5.2.3.1. Testes com Microtox	121

5.2.3.2. Testes com Vegetais	122
5.3. REATORES EM COLUNA	132
5.3.1. SÉRIE BR1	132
5.3.2. SÉRIE BR2	138
 <u>CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES</u>	 <u>149</u>
 <u>CAPÍTULO 7 - SUGESTÕES</u>	 <u>153</u>
 <u>CAPÍTULO 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	 <u>155</u>
 <u>ANEXOS</u>	 <u>166</u>
 ANEXO A (CARACTERIZAÇÃO DO PETRÓLEO)	 167

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O solo tem uma importância primordial para o homem e a natureza. Ele é uma base para a vida e um habitat para as pessoas, animais, plantas e outros organismos. Grande parte dos nossos alimentos provém do solo, que como parte integrante dos sistemas naturais, cumpre papel importante nos ciclos da água e dos nutrientes. O solo é um espaço com intensa atividade microbiológica, meio para a decomposição, equilíbrio e renovação química, fruto de suas propriedades filtrante, de tamponamento e de conversão de substratos, que o torna na mais importante proteção aos recursos hídricos, em especial às águas subterrâneas.

A contaminação de solos iniciou-se com o surgimento das primeiras sociedades humanas. Existem registros sobre solos poluídos por rejeitos de mineração e de fundição de metais já no século I a.C. Com o advento da Revolução Industrial, a contaminação de solos por rejeitos aumentou consideravelmente.

Contudo, a conscientização em grande escala das conseqüências da poluição dos solos só se iniciou nos anos 70. Um dos primeiros casos a chamar atenção dos meios de comunicação foi o de Love Canal, próximo à Nova Iorque, onde um condomínio de 2.500 casas foi construído sobre um antigo aterro de rejeitos perigosos contendo solventes químicos. Desde então, a contaminação de solos e seu tratamento têm despertado um crescente interesse nos EUA, Canadá e Europa.

Em 1980, o Congresso americano estabeleceu o CERCLA (*Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act*) – também conhecido como Superfundo – lei que estabelece o uso de recursos do contribuinte americano para localizar, investigar e remediar cerca de 1.300 áreas terrestres prioritárias nos EUA, todas contaminadas com resíduos perigosos (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY/SUPERFUND, 2001).

A Holanda, em 1983, foi o primeiro país a desenvolver um critério de qualidade para solos e águas subterrâneas, a chamada “Lista ABC”. Neste sistema, levaram-se em consideração três fatores importantes para a avaliação da magnitude da contaminação: natureza e concentração dos contaminantes; condições específicas do sítio que afetam o transporte e o destino dos contaminantes; uso e função do solo, grau de exposição e risco (CASARINI, 2000). No Brasil, a partir dos anos 90, o estado de São Paulo foi o primeiro da União a editar padrões de referência de qualidade e valores de intervenção

para solos e águas subterrâneas (CETESB, 2001a).

A indústria de petróleo gera quantidades significativas de resíduos sólidos nas suas diversas atividades - exploração, produção, transporte, refino e comercialização. No caso da área de produção de petróleo e gás, os principais resíduos sólidos gerados são borras oleosas de fundo de tanques de armazenamento, borras oleosas de limpeza de caixas de separação água e óleo, solos escavados contaminados por vazamentos de petróleo e água de produção, ampla gama de resíduos contaminados por petróleo (estopas, *pigs* etc.), água produzida, embalagens e resíduos domésticos.

Solos contaminados por vazamentos de petróleo e água produzida podem ser tratados por diversos processos biológicos, físicos, químicos, físico-químicos ou térmicos (DEUEL e HOLLIDAY, 1997).

A aplicação de processos biológicos ao tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo tem despertado um grande interesse das comunidades científica e industrial, nas duas últimas décadas. São processos de tratamento que utilizam organismos (bactérias, fungos e/ou vegetais) para reduzir ou eliminar compostos orgânicos perigosos ao meio ambiente e à saúde humana, que se acumularam no ambiente. Entre as principais vantagens do emprego dos processos biológicos está o seu baixo custo, comparando-se com os processos convencionais (DAVIS *et al.*, 1995). Além disso, são processos naturais, com baixo consumo de energia e que causam poucas mudanças nas características físicas, químicas e biológicas do meio.

Entre as técnicas biológicas de tratamento de solos contaminados, encontra-se o sistema de biopilha. Para solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, existe um grande número de casos práticos de aplicação de biopilha (DOD ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY TRANSFER COMMITTEE, 2001; U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001). Nesse sistema, o solo escavado contaminado é colocado em pilhas de até 3 metros de altura, cujo teor do contaminante orgânico é reduzido pela atividade degradativa dos microrganismos presentes no solo. Umidade, nutrientes, oxigênio, temperatura e pH podem ser controlados para estimular a biodegradação dos poluentes.

O bom desempenho de um sistema de biopilha está relacionado à boa transferência de massa (ar, água e nutrientes) no seu interior. Como a permeabilidade do solo diminui

com o aumento dos teores de argila e silte, a aeração adequada e uniforme da pilha, durante o tratamento, é dificultada, produzindo efeitos adversos no processo de biodegradação dos contaminantes. A permeabilidade do solo pode ser aumentada com a adição de materiais estruturantes (areia, palha, cavaco de madeira, serragem, esterco seco etc.) e pela moagem do solo.

No Brasil, há uma grande quantidade de solos contaminados por hidrocarbonetos que precisam de tratamento de baixo custo e ambientalmente correto. A biopilha é um processo que atende a esses quesitos. Contudo, o emprego desta técnica apresenta um desafio tecnológico devido aos elevados teores de argila e silte encontrados em muitos dos solos brasileiros. Deste modo, é necessário avaliar a aplicabilidade da biopilha para essas condições.

Para tanto, é importante conhecer a influência das argilas presentes nos solos brasileiros nos processos biodegradativos dos contaminantes. Este assunto é praticamente inexplorado na literatura técnica, tendo em vista que boa parte desta tem sido desenvolvida em países com clima temperado, com uma proporção menor de solos argilosos que a encontrada em regiões de clima tropical.

O presente trabalho consiste no estudo da aplicabilidade da biopilha na biorremediação de solos com elevados teores de argila e silte contaminados com petróleo. Visa identificar os parâmetros de maior influência no processo, e estabelecer condições ótimas de operação de biopilhas com solos deste tipo.

O capítulo 2 apresenta os objetivos da presente tese e a estratégia empregada para alcançá-los. O capítulo 3 mostra a revisão bibliográfica sobre biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo e biopilha. Além disso, são fornecidos conceitos e aspectos básicos sobre petróleo, resíduos sólidos gerados na produção de petróleo e gás e estratégias de tratamento de solos contaminados.

Os materiais e metodologias usados para o desenvolvimento da tese estão descritos no capítulo 4. Os resultados e sua discussão estão no capítulo 5, enquanto as conclusões são apresentadas no capítulo 6. Por fim, as sugestões estão descritas no capítulo 7.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo geral:

- Estudar o efeito de diversos parâmetros que influenciam a biodegradação do óleo cru presente em solos com elevados teores de argila e silte, visando estabelecer condições ótimas de operação para sistema de biopilha.

Os objetivos específicos são:

- Avaliar o efeito do teor inicial de óleo cru no solo, do ajuste de pH e do aporte de nutrientes (NPK) no processo de biodegradação do óleo;
- Avaliar a incorporação ao solo de alguns tipos de materiais estruturantes em diferentes teores;
- Definir a frequência ótima de revolvimento da biopilha;
- Obter os parâmetros biocinéticos de degradação dos hidrocarbonetos;
- Obter o balanço de massa de carbono da biodegradação do óleo cru para os solos estudados;
- Estudar o impacto ambiental do contaminante residual após o tratamento, avaliado por meio de testes de ecotoxicidade.

Para tanto, os experimentos foram divididos em três estágios: (a) respirometria; (b) biopilhas em escala de bancada; (c) biorreatores tipo coluna.

No primeiro estágio, foram estimados parâmetros de biodegradação do óleo cru e de consumo de oxigênio, em função da concentração inicial de óleo, da temperatura, da correção de pH, do tipo e quantidade de material estruturante, entre outras condições. Para tanto, foi empregado um respirômetro (escala microcosmo) para medir o consumo de oxigênio relacionado com a atividade microbiana de biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo.

Na segunda fase dos experimentos, foram usadas biopilhas em escala de bancada (20 litros) para estudar a influência do revolvimento das pilhas e do material estruturante na biodegradação dos hidrocarbonetos. A qualidade dos solos tratados foi avaliada por testes ecotoxicológicos.

Por fim, na terceira fase dos experimentos efetuou-se o balanço de massa de carbono da biodegradação do óleo cru em solo tropical, porém não argiloso. Os experimentos foram realizados em biorreatores de vidro, tipo coluna.

A Figura 2.1 mostra um fluxograma com o resumo das atividades experimentais realizadas.

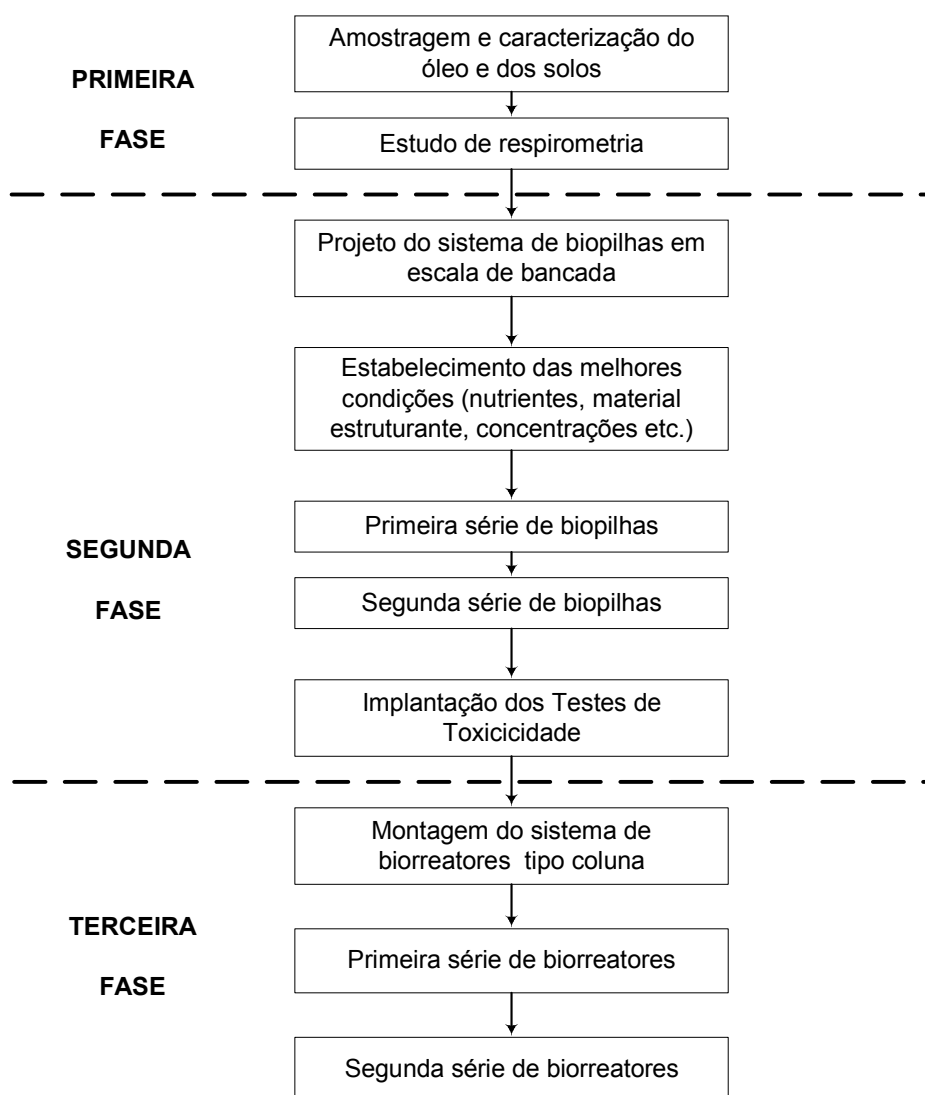


Figura 2.1 - Fluxograma com o resumo das atividades experimentais.

CAPÍTULO 3

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Petróleo

O petróleo é constituído de várias centenas de compostos orgânicos (Figura 3.1). Esses podem ser divididos em: hidrocarbonetos alifáticos (alcanos, alcenos e cíclicos); hidrocarbonetos aromáticos (mono e poli aromáticos); asfaltenos (fenois, ácidos graxos, cetanos, ésteres etc.); e compostos polares (piridina, quinolinas, carbazóleo, amidas, tiofeno etc.).

Entre os hidrocarbonetos alifáticos, os alcanos (normal e iso, conhecidos como parafinas) são encontrados no petróleo na faixa de 5 até 40 átomos de carbono. O gás natural associado ao petróleo contém os alcanos mais voláteis, isto é, aqueles com baixas massas molares - metano em sua maioria e quantidades progressivamente menores de etano, propano e butano. Os cicloalcanos presentes são conhecidos também por naftênicos. Os alcenos (também chamados de olefinas) são raros no petróleo.

Os hidrocarbonetos aromáticos compreendem o benzeno, os alquilbenzenos (tolueno, xilenos, etilbenzeno etc.) e os policíclicos (naftaleno, antraceno, fenantreno etc.).

As resinas e os asfaltenos compreendem a fração pesada do petróleo, com estruturas químicas complexas e com alta condensação de anéis aromáticos. Normalmente, contém átomos de nitrogênio, enxofre e oxigênio.

A composição de seiscentos e trinta e seis petróleos de diversas regiões do mundo foi avaliada, mostrando que as proporções de hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos aromáticos, resinas e asfaltenos variavam muito (TISSOT e WELTE, 1978). A composição desses petróleos variou dentro das seguintes faixas:

- 40 a 80% de hidrocarbonetos alifáticos;
- 15 a 40% de hidrocarbonetos aromáticos;
- 0 a 20% de resinas e asfaltenos.

Estudando 60 petróleos diferentes, avaliou-se a variação da composição dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) prioritários da EPA (KERR *et al.*, 1999). As concentrações encontradas de seis dos sete HPA carcinogênicos foram bem baixas, na média de 0,06 mg/kg de óleo para o indeno(1,2,3-cd)pireno a 5,5 mg/kg de óleo para o benzo(a)antraceno. A média de concentração do criseno foi de 28,5 mg/kg de óleo.

Outro estudo avaliou a variação da concentração de 18 metais pesados em 26 amostras de petróleo (MAGAW *et al.*, 1999). A concentração média dos metais foi inferior a 1,5 mg/kg de óleo, excetuando níquel, vanádio e zinco, cujas concentrações médias foram de 20, 63 e 3 mg/kg de óleo, respectivamente.

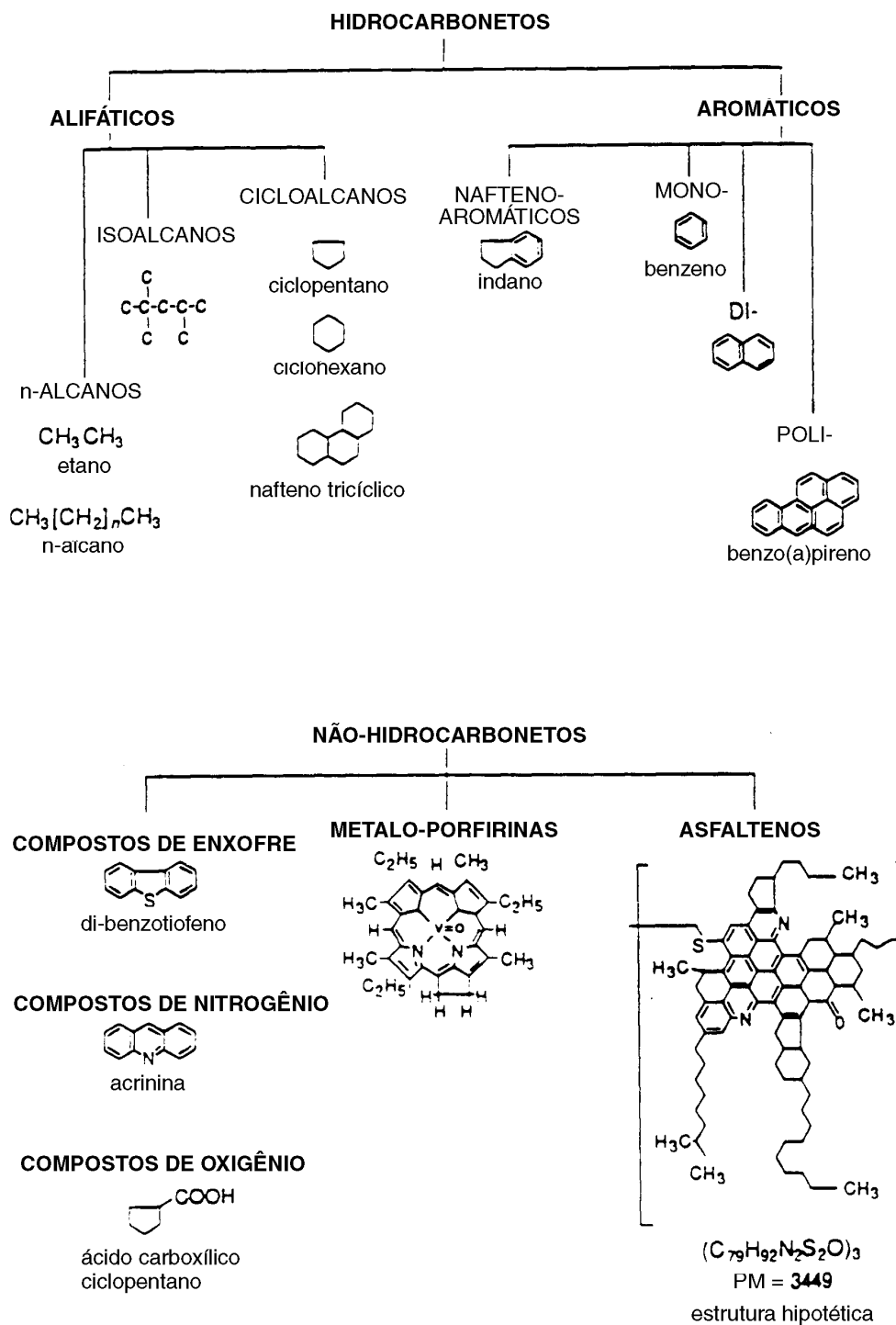


Figura 3.1 – Estruturas químicas de alguns compostos encontrados no petróleo.

3.2. Resíduos Sólidos de Produção de Petróleo e Gás

Nas atividades de produção de petróleo e gás, é gerada uma grande variedade de resíduos sólidos. Uma listagem extensiva desses resíduos foi publicada no *Environmental Guidance Document: Waste Management in Exploration and Production Operations*, (AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE, 1997). Em termos de volume, as águas produzidas e os resíduos de perfuração são os mais gerados. Os EUA geraram em 1995 cerca de 149 milhões de barris de resíduos de perfuração, 17,9 bilhões de barris de água produzida e 20,6 milhões de barris de resíduos associados à produção de petróleo e gás (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002).

A maior parte dos resíduos gerados nas operações de produção de petróleo e gás são atualmente excluídos da regulamentação americana para resíduos perigosos RCRA – *Resource Conservation and Recovery Act* (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002). Contudo, estes resíduos seguem regulamentações estaduais específicas. A Tabela 3.1 mostra os principais tipos de resíduos associados à produção de petróleo e gás e os seus volumes relativos, com base em estudo realizado pela API em 1985 (USDOE & IOGCC, 1993).

Tabela 3.1 – Principais tipos de resíduos associados à produção de petróleo e gás.

MATERIAL	% EM VOLUME
Resíduos de “workover” (lamas e outros fluidos de completção, óleo cru, produtos químicos, filtros usados, borras, cimento, materiais radioativos de ocorrência natural –NORM, areias, águas ácidas)	34
Areia produzida, borras de separadores água-óleo	21
Outros resíduos fluidos de produção	14
Entulhos oleosos, filtros e solos contaminados	12
Água de resfriamento e outros resíduos líquidos	8
Resíduos de desidratação e adoçamento de gases	4
Emulsões não tratadas	2
Solventes e desengraxantes usados	2
Fluidos hidráulicos e lubrificantes usados	1
Outros resíduos sólidos de produção	1

Os solos contaminados correspondem à maior parte dos 12% do total de resíduos gerados associados à produção de petróleo e gás, que incluem também entulhos e filtros contaminados.

No Brasil, cada unidade de negócios de produção de petróleo e gás tem uma geração de resíduos diferente, tanto em termos de tipo como de quantidade. Essa variação é função do tipo de petróleo produzido, dos sistemas de processamento do petróleo e do nível de gestão ambiental da unidade produtora.

3.3. Solo

A palavra solo é originária do latim *solum*, que significa chão, piso ou terra. A sua definição varia de acordo com o interesse de quem o analisa. Para um agricultor, o solo é onde sua plantação cresce. O engenheiro, por outro lado, pode ver o solo como o meio material que suporta edificações e estradas. Para os geólogos, o solo é visto como o produto do intemperismo da crosta terrestre.

Podemos considerar a seguinte definição de solo: *é a superfície inconsolidada que recobre as rochas e mantém a vida animal e vegetal da Terra. É constituído de camadas que se diferem por suas características físicas, químicas, mineralógicas e biológicas, que se desenvolvem com o tempo sob a influência do clima e da própria atividade biológica* (VIERA, 1975).

A pedologia ou ciência do solo lida com a origem do solo, suas características, descrição, classificação, não envolvendo a relação solo-planta, tema da edafologia.

O solo é a resultante da ação conjunta dos agentes intempéricos sobre restos minerais depositados (sedimentos) e enriquecidos de detritos orgânicos. A formação do solo se processa em duas fases: (a) gênese ou geogênese, ramo da geologia, que estuda a destruição das rochas, o transporte e a deposição dos materiais alterados; (b) pedogênese, ramo da pedologia, que engloba os conhecimentos referentes aos fatores (clima, biosfera, rocha matriz, relevo e tempo) e às reações que contribuem para a transformação da matéria mineral, resultante dos processos genéticos, em solo e sua posterior evolução.

Segundo VIEIRA (1975), o perfil do solo é a seção vertical que, partindo da superfície aprofunda-se até a região onde a ação do intemperismo alcança, mostrando, na maioria das vezes, uma série de camadas dispostas horizontalmente denominadas horizontes. Assim, o perfil representa o resultado de vários fatores que influenciam na formação do solo, refletindo o histórico de sua evolução.

Algumas características físicas e biológicas do solo, tais como textura, cor, consistência, estrutura e atividade biológica, entre outras, são consideradas para a identificação e diferenciação das camadas que compõem os horizontes. Análises químicas, físicas e mineralógicas também são empregadas nesta avaliação. A natureza e o número de

horizontes variam grandemente nas diferentes unidades de solo. Na caracterização morfológica de um perfil é usada nomenclatura internacional, onde as letras maiúsculas servem para caracterizar os horizontes típicos e as mesmas letras com índices numéricos para as subdivisões de cada um. Na Figura 3.2 são apresentados os principais horizontes com sua descrição sucinta.

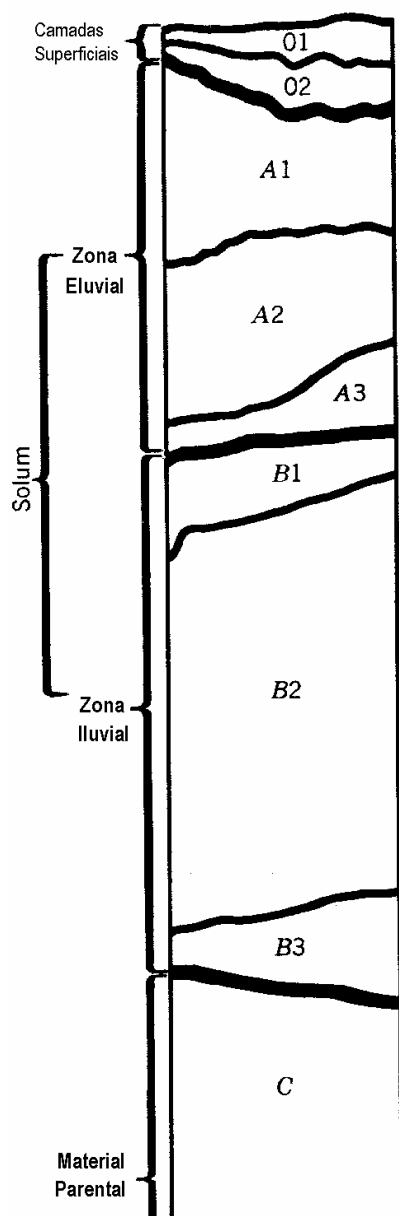


Figura 3.2 - Horizontes típicos de solo (MONTGOMERY, 1995).

O1 – folhas e resíduos orgânicos não decompostos (serrapilheira).

O2 – material orgânico decomposto.

A1 – horizonte rico em matéria orgânica fina, conseqüentemente de cor escura, pobre em argila e em íons de ferro e de alumínio, onde ocorre a máxima atividade biológica.

A2 – horizonte mais claro com a máxima eluviação (movimento descendente de soluções várias ou suspensões coloidais).

A3 – transição entre o horizonte A e o horizonte B.

B1 – transição similar ao B2.

B2 – horizonte enriquecido pela iluviação (concentração) de argilas, compostos de ferro e alumínio, e húmus.

B3 – transição entre o horizonte B e o horizonte C.

C – material original que formou os horizontes A e B, com pouca influência de organismos vivos. Também chamado de material parental.

R – horizonte que representa a rocha inalterada que pode ser ou não a rocha matriz do solo acima desenvolvido.

3.3.1. Composição do Solo

Os componentes do solo se apresentam em três fases: (a) sólida (partículas minerais e matéria orgânica); (b) líquida (água); (c) gasosa (nitrogênio, oxigênio, dióxido de carbono, metano etc.). O solo é formado, além dos constituintes acima mencionados, pelos seres vivos, constituídos basicamente de pequenos animais e microrganismos (ALEXANDER, 1997).

A composição elementar química, a distribuição do tamanho das partículas, a mineralogia e o perfil de um solo estão relacionados à natureza da rocha matriz e ao grau de alteração sofrido pelo material. A Figura 3.3 mostra a comparação da composição elementar média de uma rocha granítica da crosta terrestre com dois tipos de solo, estes de diferentes idade e origem. Um solo é relativamente novo, de origem glacial (franco siltoso de Iowa), e o outro é altamente intemperizado de região tropical – oxisol de Cuba (MCBRIDE, 1994). Este último, solo do tipo laterítico, se desenvolveu com a perda de muita sílica e de muitos de seus elementos básicos (Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+) – estes quatro elementos formam hidróxidos alcalinos relativamente fortes – que se encontravam presentes na rocha matriz. Assim, este solo é muito distinto da sua rocha matriz, diferentemente de solos mais jovens. Este é o caso de muitos dos solos brasileiros. Contudo, mesmo os solos jovens desenvolveram propriedades físicas e mineralógicas que são fundamentalmente diferentes daquela do material matriz.

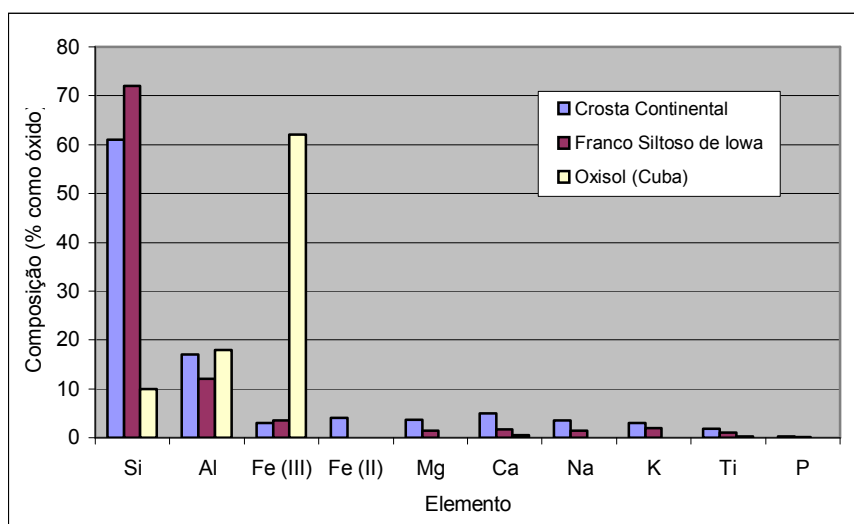


Figura 3.3 – Composição elementar de um solo intensamente intemperizado (oxisol) e um menos intempérico, expresso em percentagem na forma de óxido em massa (MCBRIDE, 1994).

3.3.2. Textura do Solo

Com o objetivo de descrever fisicamente o solo, foram estabelecidas classes básicas de textura. A textura é determinada com base no teor de areia, silte e argila no solo. A fração argila de um solo é qualquer mineral cujo tamanho de partícula é inferior a $2\mu\text{m}$ de diâmetro, na maioria dos sistemas de classificação. Essa fração não deve ser confundida com as argilas minerais, que serão abordadas em item posterior.

A divisão em faixas de tamanho de partículas independe de sua composição química, cor, ou quaisquer outras propriedades. Existem diversos sistemas de classificação (GEE e BAUDER, 1986). Para tanto, é importante identificar qual deles que será usado para classificar um determinado solo, para que se possam comparar corretamente os dados de interesse. Na Tabela 3.2, os diferentes sistemas classificação de tamanho de partículas podem ser comparados.

Tabela 3.2 - Faixas de tamanho de partículas do solo de acordo com os diversos sistemas de classificação (adaptado de GEE e BAUDER, 1986).

(1)		USDA	CSSC	ISSS	ASTM	EMBRAPA
0,0002			ARGILA FINA			
0,001		ARGILA	ARGILA GROSSA	ARGILA GROSSA		ARGILA
0,002			SILTE FINO		FINOS (ARGILA e SILTE)	
0,003			SILTE MÉDIO	SILTE		SILTE
0,004	(2)		SILTE GROSSO			
0,006						
0,008						
0,01						
0,02						
0,03						
0,04		300				
0,06		270	AREIA MUITO FINA	AREIA FINA		AREIA FINA
0,08		200	AREIA FINA		AREIA FINA	
0,1		140	AREIA FINA			AREIA GROSSA
0,2			AREIA MÉDIA		AREIA MÉDIA	
0,3	60		AREIA GROSSA	AREIA GROSSA		
0,4		40	AREIA GROSSA			
0,6			AREIA MUITO GROSSA			
0,8		20				
1,0						
2,0		10			AREIA GROSSA	
3,0						
4,0		4	CASCALHO FINO		CASCALHO FINO	CASCALHO
6,0						
8,0						
10		1/2 in	CASCALHO	CASCALHO		
20		3/4 in	CASCALHO GROSSO		CASCALHO GROSSO	
30						
40						
60		3 in	SEIXOS		SEIXOS	SEIXOS
80						

USDA : U.S. Department of Agriculture; CSSC : Canada Soil Survey Committee;
ISSS : International Soil Science Society; ASTM : American Society for Testing & Materials
(1) tamanho da partícula, mm; (2) número ASTM de peneira (aberturas/in) ou tamanho.

A retenção de água e as propriedades de transporte de massa no solo são determinadas por sua textura. As areias drenam água rapidamente, enquanto nos solos argilosos, os espaços porosos têm baixa interconexão para uma drenagem adequada. As raízes têm dificuldades de penetração em solos com alta proporção de argila e silte. Para a agricultura, as texturas do tipo franca são melhores para o crescimento das plantas. A classificação da textura de um dado solo pode ser obtida pelo diagrama ilustrado na Figura 3.4. As várias classes de solo são separadas uma das outras por linhas definidas, sem que suas propriedades mudem abruptamente nestas fronteiras.

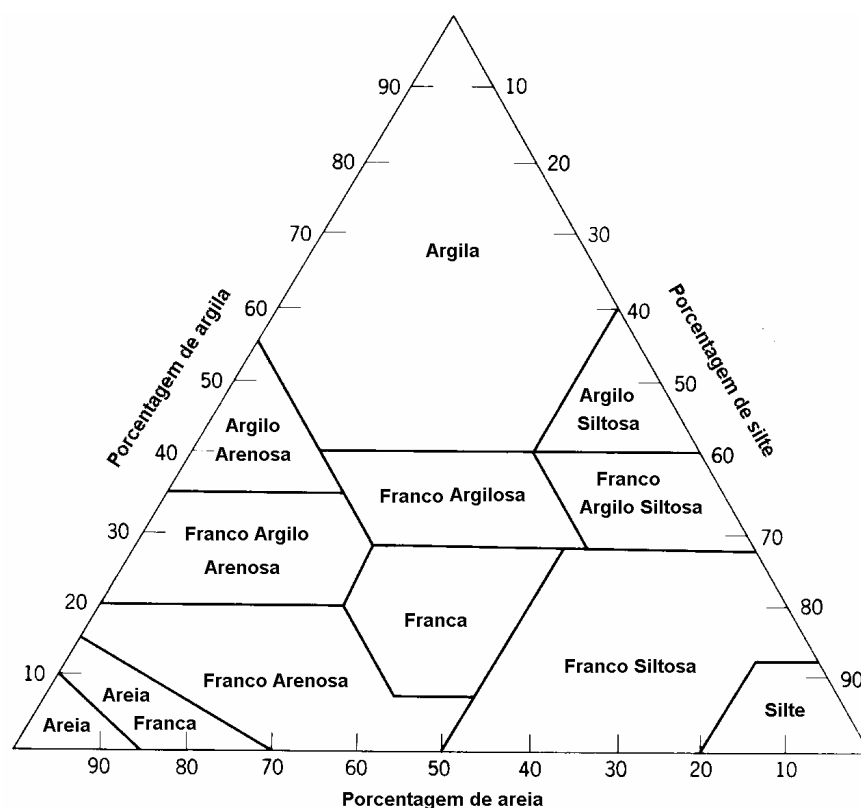


Figura 3.4 - Triângulo das classes básicas de textura do solo (VIEIRA, 1975).

3.3.3. Porosidade e Permeabilidade do Solo

A porosidade do solo é a relação entre o volume dos espaços vazios e o seu volume total. A permeabilidade (k) é a medida da facilidade de um fluido (água, vapor etc.) se mover através do meio poroso. Ela independe das propriedades físicas do fluido,

dependendo apenas do meio poroso. Já a condutividade hidráulica (K), que está diretamente relacionada com a permeabilidade, é função do meio e do fluido, neste caso a água. Na Tabela 3.3, estão alguns exemplos de materiais com as respectivas faixas de valores de porosidade e condutividade hidráulica.

Tabela 3.3 - Porosidade e condutividade hidráulica de alguns materiais (DUNNE e LEOPOLD, 1978).

MATERIAL	POROSIDADE (%)	CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA (cm/s)
<i>Não Consolidado</i>		
Argila	45 – 55	menor que 10^{-5}
Areia fina	30 – 52	$10^{-5} - 10^{-2}$
Cascalho	25 – 40	1 – 10
Argila depositada por geleiras	25 – 45	$10^{-6} - 10^{-2}$
<i>Consolidado (Rocha)</i>		
Arenito e conglomerado	5 – 30	$3,5 \times 10^{-4} - 3,5 \times 10^{-3}$
Calcário (cristalino, não fraturado)	1 – 10	$3,5 \times 10^{-8} - 10^{-3}$
Granito (não intemperizado)	inferior a 1 – 5	$3,5 \times 10^{-7} - 3,5 \times 10^{-6}$
Rocha vulcânica	1 – 30 (na maioria dos casos menor que 10)	$3,5 \times 10^{-6} - 3,5 \times 10^{-3}$ (depende da presença ou não de fraturas ou bolhas de gás interconectadas)

3.3.4. Densidade Absoluta ou Massa Específica do Solo

A densidade absoluta aparente (*bulk density*) do solo é a razão entre a sua massa seca e o seu volume, de acordo com a expressão abaixo:

$$\text{Densidade absoluta aparente} = \text{Massa do solo seco} / \text{Volume do solo} \quad (\text{Eq. 1})$$

exemplos: solo argiloso granulado de superfície = 1,0 a 1,3 g/cm³

solo arenoso com partículas grandes = 1,3 a 1,8 g/cm³

Já a densidade absoluta das partículas do solo é a razão entre a sua massa e o seu volume ocupado. Assim, a densidade das partículas de qualquer solo é constante e independe de sua porosidade. A densidade das partículas não varia muito, a não ser que haja uma grande variação no conteúdo da matéria orgânica ou na composição mineralógica. Para muitos solos minerais esta densidade é de cerca de $2,6 \text{ g/cm}^3$.

3.3.5. Minerais de Argila

Na evolução de um solo, os processos químicos de intemperismo produzem mudanças bem profundas nas partículas minerais do solo, dissolvendo ou alterando os minerais oriundos da rocha mãe (chamados de minerais primários) produzindo silicatos laminares e óxidos. Esses produtos minerais de intemperismo são chamados coletivamente de minerais secundários, tendo tamanhos típicos da fração de argila do solo ($< 2\mu\text{m}$ de diâmetro). Como eles possuem uma área superficial muito alta, eles contribuem, junto com o húmus, para a reatividade química do solo (MCBRIDE, 1994).

Qualquer partícula mineral com tamanho inferior a $2\mu\text{m}$ de diâmetro, por definição, é parte da fração de argila do solo (ver Tabela 3.2). Contudo, o termo mineral de argila se refere aos silicatos laminares secundários, que são os constituintes inorgânicos preponderantes da fração fina mineral dos solos das regiões temperadas. São essencialmente silicatos de alumínio hidratados, com magnésio ou ferro substituindo parcialmente o alumínio em alguns minerais e que, em alguns casos, incluem elementos alcalinos ou alcalino-terrosos como constituintes essenciais, todos pertencentes aos filossilicatos.

Os silicatos mais freqüentemente encontrados nos solos são principalmente minerais dos grupos da caolinita, da montmorilonita e da illita.

No reticulado de íons de muitos minerais de argila figuram as duas unidades seguintes (COSTA, 1999): (a) unidade octaédrica: constituído por um íon central de alumínio, ferro ou magnésio e com íons O^{2-} ou OH^- nos vértices, formando um octaedro; (b) unidade tetraédrica: formada por um íon de silício que ocupa o centro de um tetraedro cujos vértices são ocupados por íons O^{2-} ou, em certos casos, OH^- .

Estas duas unidades estruturais unem-se entre si por ligações covalentes formando

camadas. Unidades octaédricas repetidas constituem camadas octaédricas; unidades tetraédricas repetidas constituem camadas tetraédricas (COSTA, 1999).

As unidades estruturais dos minerais de argila são em geral formadas pela ligação de 2 ou 3 camadas (1 ou 2 tetraédricas e 1 octaédrica) em lâminas. As ligações entre as unidades de cada camada e entre as camadas de cada lâmina são ligações com forte caráter covalente, o que se traduz em unidades estruturais mais fixas.

Em vários minerais de argila, a estrutura está eletrostaticamente desequilibrada, como resultado da substituição de íons durante a formação dos minerais, sem alteração das dimensões das unidades estruturais, sendo por isso denominadas substituições isomórficas. É o caso da substituição de Si^{4+} por Al^{3+} ou de Al^{3+} por Fe^{2+} ou Mg^{2+} por Li^+ , originando excesso de cargas negativas. As cargas negativas resultantes deste processo denominam-se intrínsecas ou permanentes (COSTA, 1999). Os minerais de argila são, por isso, eletronegativos, se bem que, em certas condições, possam apresentar zonas de carga positiva.

Alguns autores englobam os óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio entre os minerais de argila, também produtos de origem secundária (MCBRIDE, 1994). Eles são componentes comumente encontrados na fração da argila em solos tropicais úmidos e subtropicais.

Os colóides de ferro e alumínio têm comportamento físico e químico muito diferente dos silicatos: têm menor poder de retenção para a água; têm muito menor adesividade, plasticidade e tenacidade. Possuem baixa capacidade de troca catiônica, mas as superfícies desenvolvem pequenas mudanças (negativa ou positiva) como resposta ao pH da solução do ambiente do entorno.

Os silicatos laminares são a parte dominante da fração de argila em solos que não sofreram um intenso ou prolongado processo intempérico (solos em regiões glaciais ou áridas). Contudo, em grandes extensões da superfície da Terra são caracterizadas por solos antigos que se formaram da rocha mãe há milhões de anos atrás. A fração mineral encontrada nestes solos é composta em grande parte por minerais não silicatos, principalmente óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio. Como estes solos são encontrados principalmente em regiões tropicais ou subtropicais e uma grande parte dos primeiros trabalhos em mineralogia e em química do solo foi desenvolvida em climas

mais temperados. Só mais recentemente os óxidos e hidróxidos têm recebido uma maior atenção da comunidade científica.

A Tabela 3.4 apresenta estágios de intemperismo, com minerais representativos e grupos de solos típicos.

Tabela 3.4 – Graus de intemperismo (STRAHLER e STRAHLER, 1973).

Estágio de Intemperismo	Minerais Representativos	Grupos de Solo Típicos
<i>Estágios Iniciais de Intemperismo</i>		
1	Gipsita (também halita, nitrato de sódio)	Solos dominados por estes minerais, nas frações da argila e do silte fino, são os solos jovens de todo o mundo, mas principalmente os solos das regiões desérticas, onde a escassez da água mantém mínimo o intemperismo químico.
2	Calcita (também dolomita, apatita)	
3	Olivina-hornblenda (também piroxênios)	
4	Biotita (também glauconita, nontronita)	
5	Albita (também arnotita, microcínio, ortoclásio)	
<i>Estágios Intermediários de Intemperismo</i>		
6	Quartzo	Solos dominados por estes minerais nas frações da argila e do silte fino são principalmente aqueles de regiões temperadas desenvolvidas sob árvores e gramíneas. Incluem a maioria dos solos dos cinturões de trigo e milho.
7	Muscovita (também ilita)	
8	Silicatos	
9	Montmorilonita	
<i>Estágios Avançados de Intemperismo</i>		
10	Caolinita	Muitos dos solos intensivamente intemperizados das regiões úmidas e quentes dos trópicos têm fração de argila dominada por estes minerais e são frequentemente caracterizados por sua infertilidade.
11	Gibbsita	
12	Hematita (também goetita, limonita)	
13	Anatásio (também rutilio, zircão)	

Solos, cuja fração de argila é dominada por argilas de silicato, são representativos dos estágios de intemperismo de 7 a 10, e são amplamente distribuídos pelo mundo. Solos, cuja fração de argila é dominada por argilas óxidas, são representativos dos estágios de intemperismo de 11 a 13, e são comuns em trópicos úmidos.

Assim, como muito dos solos brasileiros têm elevados teores de óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio, é necessário compreender melhor a sua influência no destino e na biodegradação dos contaminantes.

3.3.6. Matéria Orgânica

A matéria orgânica do solo é constituída por materiais orgânicos frescos (tecidos vegetais e animais), produtos excretados pelos organismos, produtos de decomposição e compostos de síntese.

A matéria orgânica transformada e alterada pela ação dos microorganismos e outros organismos do solo é definida como húmus. Constitui um conjunto muito complexo de compostos orgânicos coloidais de cor escura e submetidos a um constante processo de transformação. Ele pode ser dividido em dois subgrupos: as huminas e as substâncias húmicas (SCHWARZENBACH *et al.*, 1993). As huminas ou substâncias querogênicas não são solúveis em água, tanto em condições ácidas como básicas. As substâncias húmicas são divididas em ácidos fúlvicos, solúveis em solução ácida, e os ácidos húmicos, não solúveis em solução ácida. Outros autores consideram o conjunto da matéria orgânica dos solos como substâncias húmicas em geral (EVANGELOU, 1998).

O húmus contém uma grande variedade de grupos orgânicos funcionais, tais como carboxila (COOH), hidroxila (OH) e carbonila (C=O). As moléculas húmicas são normalmente carregadas negativamente em função da dissociação do próton desses grupos funcionais. Estas substâncias têm sua estrutura molecular alterada em função de mudanças no pH e na concentração de eletrólitos (EVANGELOU, 1998). A estrutura das substâncias orgânicas contém cerca de 40–50% de carbono em massa, mas contém também quantidades significativas de oxigênio e algum nitrogênio (SCHWARZENBACH *et al.*, 1993).

As substâncias húmicas fornecem nutrientes aos microorganismos e são fontes de energia. Elas têm poder aglomerante, unindo-se à fração mineral, gerando bons flocos no solo, que dão origem a estruturas estáveis na forma de grumos, de elevada porosidade e permeabilidade. Estas substâncias têm grande capacidade de retenção de água, o que facilita a fixação da vegetação, dificultando a ação dos agentes erosivos. O húmus tem ainda propriedades coloidais, devido ao seu tamanho e carga (retém água, incham, contraem, fixam soluções em superfície etc.). Influi no pH, produzindo compostos orgânicos que tendem a acidificar o solo.

O conceito de matéria orgânica do solo se refere à fase morta, mas na prática incluem-se também os microorganismos, dada a impossibilidade de separá-los da matéria orgânica transformada.

As interações entre contaminante e a matéria orgânica do solo é um tema complexo e aberto a investigações. Mesmo conduzindo-se processos de biorremediação de modo extensivo, resta no solo material orgânico residual (resíduos de ligação), cujas características e possíveis efeitos tóxicos demandam por estudos aprofundados.

3.4. Estratégias de Tratamento de Solo Contaminado

Três estratégias básicas são usadas, em separado ou em conjunto, para a remediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo: destruição ou alteração dos contaminantes; extração ou separação dos contaminantes do local; imobilização dos contaminantes.

As tecnologias capazes de destruir os contaminantes ou alterar sua estrutura química são divididas em métodos térmicos, biológicos e químicos. Esses métodos podem ser aplicados *in situ* ou *ex-situ*. Nos processos *in situ*, a remediação é feita no próprio meio contaminado, sem a escavação do solo. No caso de técnicas *ex-situ*, o solo é escavado, para ser tratado numa instalação de depuração específica no local (*on-site*) ou fora dele (*off-site*).

A Figura 3.5 ilustra a classificação das tecnologias de remediação em função do tipo de estratégia. Geralmente, uma única tecnologia não pode remediar totalmente um sítio contaminado, sendo assim necessária a combinação de diversas técnicas (DOD, 1994).

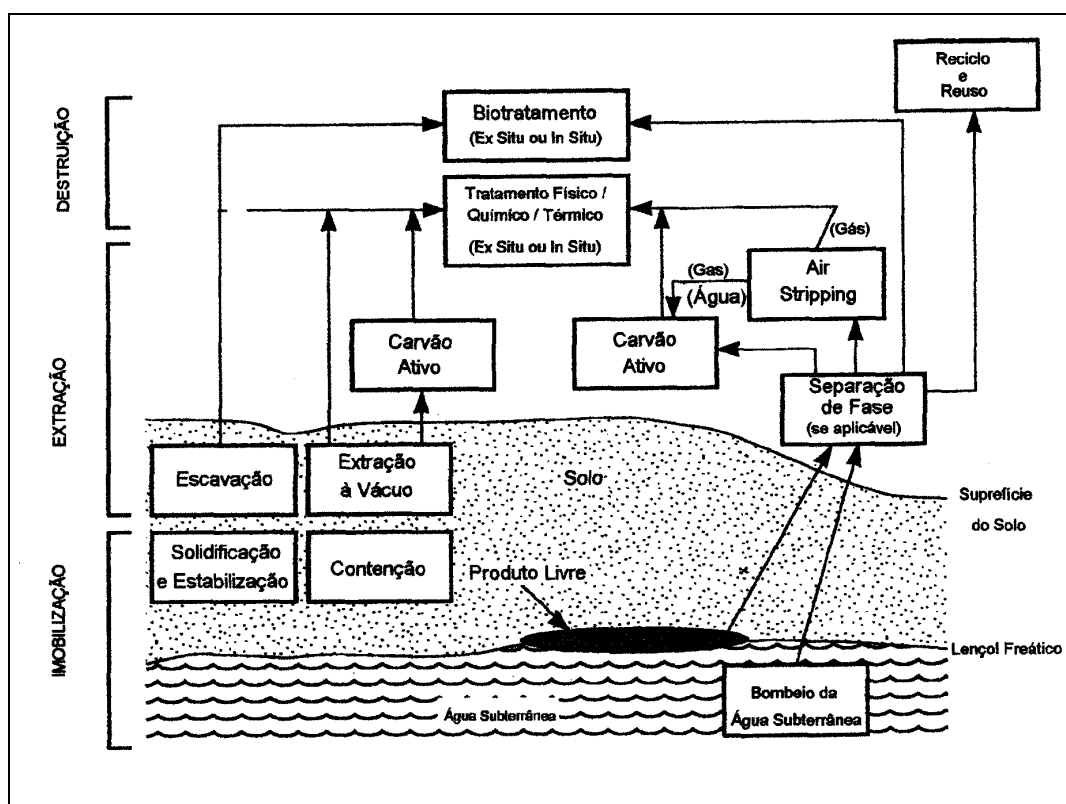


Figura 3.5 - Classificação das tecnologias de remediação em função do tipo de estratégia (DOD ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY TRANSFER COMMITTEE, 1994).

As funções naturais do solo são perturbadas em consequência da estratégia utilizada no seu tratamento. No caso do uso de técnicas *in-situ*, as funções do solo podem sofrer mudanças em sua estrutura ou modificações no balanço hídrico. Já as técnicas *ex-situ* podem modificar as características do solo de modo mais intenso. Neste caso, o solo tratado pode ter diminuição das quantidades de matéria orgânica, nutrientes e capacidade de troca catiônica, com consequente redução de suas propriedades filtrantes, de tamponamento e de depuração.

A Tabela 3.5 mostra a distribuição de tecnologias utilizadas nos sítios tratados entre 1982 e 1999, no âmbito do mencionado programa Superfundo (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001).

Tabela 3.5 – Distribuição do uso de tecnologias de tratamento de solos em sítios dentro do programa Superfundo (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001).

TECNOLOGIA	NÚMERO DE SÍTIOS	%
Solidificação/Estabilização	137	18.5
Incineração (<i>off-site</i>)	94	12.7
Dessorção Térmica	61	8.3
Biorremediação	49	6.6
Incineração (<i>on-site</i>)	42	5.7
Tratamento Químico	10	1.4
Neutralização	7	0.9
Lavagem de Solo	6	0.8
Aeração Mecânica do Solo	5	0.7
Extração do Vapor do Solo	5	0.7
Extração por Solvente	4	0.5
Queima/Detonação a Céu Aberto	2	0.3
Vitrificação	2	0.3
Separação Física	1	0.1
EX SITU TOTAL	425	57.5
Extração do Vapor do Solo	196	26.5
Solidificação/Estabilização In Situ	46	6.2
Biorremediação In Situ	35	4.7
Inundação de Solo In Situ	16	2.2
Recuperação Térmica Melhorada	6	0.8
Tratamento Químico	5	0.7
Fitorremediação	5	0.7
Extração de Duas Fases	3	0.4
Separação Elétrica	1	0.1
Vitrificação	1	0.1
IN SITU TOTAL	314	42.5
TOTAL	739	100.0

Entre as técnicas *ex-situ*, há aquelas que usam a capacidade dos microrganismos de degradar compostos orgânicos presentes no solo contaminado. Essas técnicas, também conhecidas como biorremediação, vêm sendo aplicadas há mais de 20 anos para tratar os resíduos oleosos produzidos pela indústria petrolífera, como é o caso da técnica do *landfarming*. No item 3.5, a biorremediação será abordada em maiores detalhes.

3.5. Biorremediação

As técnicas de biorremediação podem ser executadas tanto *in situ* como *ex-situ*. Em função do tema deste trabalho, a partir desse ponto só serão discutidos processos *ex-situ*.

Em linha geral, as técnicas biológicas *ex-situ* de tratamento de solo contaminado podem ser divididas em três grupos básicos: em fase lama (normalmente em biorreatores); tratamento na camada reativa do solo (*landfarming*, *landtreatment* etc.); empilhamento do solo (compostagem e biopilha).

Nos sítios do programa americano Superfundo, a distribuição de tecnologias de biorremediação *ex-situ* empregadas, em número de casos, foi a seguinte (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001):

▪ <i>Landtreatment</i>	33
▪ <i>Compostagem</i>	8
▪ <i>Biopilha</i>	3
▪ <i>Fase Lama</i>	2
▪ <i>Outros</i>	3

O emprego das técnicas de biopilha e compostagem é ainda relativamente baixo nos sítios do Superfundo, porém, têm sido empregados mais em locais contaminados por vazamentos de tanque de estocagem enterrados de petróleo e derivados.

Uma das maiores vantagens das técnicas de biorremediação é a possibilidade de serem executadas no próprio sítio contaminado. Em relação às técnicas convencionais (incineração, aterro etc.), são normalmente mais econômicas, eliminam permanentemente o risco da contaminação, têm boa aceitação da opinião pública e há um encorajamento das agências reguladoras ambientais com respeito à sua utilização, podendo ser associadas com outros métodos químicos ou físicos de tratamento.

Contudo, há diversas limitações para o uso da biorremediação. Diversas substâncias não são susceptíveis à biodegradação, como os metais pesados, radionuclídeos e alguns compostos organoclorados. Em alguns casos, a biodegradação do contaminante pode levar à formação de metabólitos tóxicos.

A biorremediação pode ser realizada com a adição de nutrientes e a otimização de condições ambientais do solo (pH, temperatura, umidade etc.), chamada de

bioestimulação, ou pela adição de microrganismos com a capacidade de degradar rapidamente contaminantes específicos, conhecida como bioaumentação (*bioaugmentation*). A bioaumentação normalmente é acompanhada de otimização de condições ambientais do solo.

Vários são os fatores que influenciam a taxa de biodegradação dos compostos presentes no petróleo. Um dos fatores básicos é que os microrganismos com capacidade de utilizar os poluentes orgânicos como fonte de energia e massa celular tenham contato direto com os contaminantes.

Uma dada população microbiana necessita de condições ambientais específicas, que se não existirem, manterá esta população no estado latente até que as condições ideais reapareçam. Os principais fatores que influenciam a biodegradação de um contaminante no solo estão listados na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 – Fatores que influenciam a biodegradação de um contaminante no solo (VON FAHNESTOCK *et al.*, 1998; DOD, 2002).

Fatores Químicos e Físicos do Contaminante	Fatores Químicos e Físicos do Solo	Fatores Biológicos
Composição química	Temperatura	Distribuição dos microrganismos no solo
Estado físico	Potencial redox	Tipos de microrganismos degradadores
Concentração	Umidade	Técnica de inoculação
Toxicidade	pH	Técnica de adaptação
Solubilidade em água	Teor de matéria orgânica	Produção de metabólitos tóxicos
	Nutrientes	

3.5.1. Composição Química

A capacidade dos microrganismos de degradarem o petróleo e seus produtos, utilizando-os como fonte de energia e carbono, é bem conhecida (ATLAS, 1988; ROSATO, 1997). Algumas generalizações podem ser feitas quanto à susceptibilidade dos hidrocarbonetos

de petróleo ao ataque microbiano (BARTHA e ATLAS, 1987):

- a) Os hidrocarbonetos presentes em uma mistura complexa como o petróleo são, em sua maioria, biodegradados por culturas microbianas mistas, de maneira simultânea, mas em diferentes velocidades. A velocidade de biodegradação dos hidrocarbonetos do petróleo varia em função do desaparecimento de certos componentes e da mudança da biota presente no sistema;
- b) A presença de um dado hidrocarboneto em uma mistura de compostos de petróleo, como substrato, pode ter uma influência positiva (pelo processo de cometabolização) ou negativa (pela sua toxicidade) na biodegradação desta mistura;
- c) A utilização de alcanos C1-C4 é restrita a poucas espécies. Os alcanos na faixa de C5-C9 são tóxicos a muitos microrganismos, devido ao seu efeito solvente, isto é, tendem a romper a estrutura da membrana lipídica dos microrganismos (SIKKEMA *et al.*, 1995). Os n-alcanos C10-C22, normalmente, são facilmente metabolizados. Os alcanos com massas molares maiores, do tipo graxa sólida, não são facilmente biodegradados, por serem sólidos e hidrófobos à temperatura fisiológica. Contudo, já foi observada uma lenta biodegradação de n-alcanos com mais de 44 átomos de carbono;
- d) Os iso-alcanos são menos biodegradáveis comparando-se com os n-alcanos correspondentes. O radical metila pode retardar ou bloquear completamente a biodegradação;
- e) Alcenos (olefinas) tendem a ser mais tóxicos, ao menos em condições aeróbias. São menos degradáveis, comparando-se com os n-alcanos análogos. Contudo, os alcenos são raros no petróleo bruto;
- f) Os hidrocarbonetos monoaromáticos podem ser tóxicos, mas em baixas concentrações diversos microrganismos podem utilizá-los rapidamente. Hidrocarbonetos poliaromáticos, contendo de 2 a 4 anéis, podem ser biodegradados a taxas que decrescem com o aumento número de anéis aromáticos. Naftalenos, compostos com dois anéis aromáticos, tendem a degradar mais lentamente que os compostos monoaromáticos. Contudo, vários trabalhos mostraram uma degradação mais rápida do naftaleno e metilnaftaleno, em relação ao benzeno e n-hexadecano, em sedimentos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo (LEE e HOEPEL, 1991). Em sedimentos contaminados com óleo cru, os monoaromáticos são

degradados mais rapidamente que a fração de alcanos. A variação no processo de degradação dos hidrocarbonetos aromáticos pode ser atribuída ao tipo de combustível e a fatores ambientais presentes, já que a biodegradabilidade é quase sempre ligada à viabilidade dos microrganismos. Hidrocarbonetos poliaromáticos com cinco ou mais anéis são de biodegradação difícil e lenta;

- g) Os cicloalcanos de baixo peso molecular raramente servem como substrato, sendo degradados lentamente e em baixas concentrações. Os cicloalcanos altamente condensados são refratários à biodegradação;
- h) Os compostos heterocíclicos que contém nitrogênio, enxofre e/ou oxigênio, quando não muito condensados, podem sofrer degradação limitada. Asfaltenos altamente condensados são muito resistentes à biodegradação.

Dois excelentes trabalhos compilaram diversos estudos sobre a biodegradação de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (WATKINSON *et al.*, 1990; SMITH, 1990). Nesses artigos são apresentados os mecanismos de biodegradação dos hidrocarbonetos mais estudados.

A Tabela 3.7 apresenta um resumo da relação entre a estrutura química de alguns hidrocarbonetos de petróleo, em que derivados são principalmente encontrados e sua biodegradabilidade.

Tabela 3.7 – Estrutura química e biodegradabilidade (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1995).

Biodegradabilidade	Exemplo de constituintes	Derivados nos quais os constituintes são usualmente encontrados
Mais degradável	n-butano, n-pentano, n-octano	Gasolina
	Nonano	Óleo diesel
	Metilbutano, dimetilpentenos, metiloctanos	Gasolina
	Benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos	Gasolina
	Propilbenzenos	Óleo diesel, querosene
	Decanos	Óleo diesel
	Dodecanos	Querosene
	Tridecanos	Óleos combustíveis para aquecimento
	Tetradecanos	Óleos lubrificantes
	Naftalenos	Óleo diesel
	Fluorantenos	Querosene
	Pirenos	Óleos combustíveis para aquecimento
Menos degradável	Acenaftenos	Óleos lubrificantes

3.5.2. Solubilidade em Água

O comportamento de uma mistura de hidrocarbonetos em água é bem diferente do que em solo. A grande diferença entre ambientes aquáticos e terrestres está relacionada ao movimento e a distribuição do óleo no meio físico, além da presença de matéria particulada, que afeta as características físicas e químicas do óleo e, conseqüentemente, a sua suscetibilidade à biodegradação (BOSSERT e BARTHA, 1984). Os vazamentos terrestres são caracterizados, principalmente, pelo movimento vertical dos hidrocarbonetos através das camadas do solo. A infiltração dos hidrocarbonetos pelo solo reduz a emissão de compostos voláteis para a atmosfera. As partículas sólidas podem reduzir, por sorção, a toxicidade dos componentes do óleo.

A baixa solubilidade dos hidrocarbonetos em água é uma barreira ao acesso dos microrganismos ao óleo. Os hidrocarbonetos aromáticos são mais solúveis em água que os alifáticos, mas sua solubilidade diminui bastante com a adição de radicais alquil (YAWS e YANG, 1990). Na Tabela 3.8, pode-se verificar que a solubilidade de alguns compostos alifáticos decresce com o aumento da massa molar. Nesta mesma tabela estão listadas algumas propriedades físicas de alguns compostos aromáticos.

A formação de emulsões pela produção microbiana de biossurfactantes é um processo importante na captura dos hidrocarbonetos pelos fungos e bactérias (SINGER e FINNERTY, 1984).

Tabela 3.8 - Propriedades físicas de alguns hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (EASTCOTT, 1988; HOWARD, 1990).

Composto	Nº de carbonos (anéis de benzeno)	Massa molar	P.F. (C°)	P.E. (C°)	Solubilidade (mg/L)
N-Alcanos					
etano	2	30,1	-172,0	-88,6	63,7
n-hexano	6	86,2	-94,3	68,7	12,3
n-decano	10	128,3	-31,0	174,0	0,05
n-hexadecano	16	226,4	19,0	287,0	$5,2 \times 10^{-5}$
n-eicosano	20	282,6	36,7	343,0	$3,1 \times 10^{-7}$
n-hexacosano	26	366,7	56,4	412,2	$1,3 \times 10^{-10}$
Iso-Alcanos					
2-metilpentano	6	86,2	154,0	60,3	13,8
2,2,4-trimetilpentano	8	114,2	107,2	127,0	2,4
4-metiloctano	9	128,3	-	142,0	0,12
Alcenos					
1-hexeno	6	84,2	-139,8	63,5	50,0
trans-2-hepteno	7	98,2	-109,5	98,0	15,0
1-octeno	8	112,2	-121,0	121,0	2,7
Monoaromáticos					
benzeno	(1)	78,11	5,5	80,1	1791,0
tolueno	(1)	92,13	-95,0	110,6	534,8
o- xileno	(1)	106,16	-25,0	144,4	175,0
etilbenzeno	(1)	106,16	-94,9	136,2	152,0
Poliaromáticos					
naftaleno	(2)	128,16	80,0	218,0	31,7
antraceno	(3)	178,22	217,0	354,0	0,0451
fenantreno	(4)	178,22	101,0	340,0	1,1
pireno	(5)	202,4	150	> 360	0,132

3.5.3. Concentração do Contaminante

A taxa de biodegradação de muitos compostos orgânicos, principalmente em ambientes aquáticos, é normalmente proporcional à sua concentração. Há compostos, como os hidrocarbonetos poliaromáticos, cujas taxas de biodegradação são limitadas mais por suas baixas solubilidades aquosas do que pela concentração presente no meio (THOMAS *et al.*, 1986). Assim, a forte dependência da taxa de biodegradação em relação à concentração é, geralmente, observada com hidrocarbonetos de maior solubilidade em água.

Altas concentrações de hidrocarbonetos podem causar inibição da biodegradação devido à limitação de nutrientes ou de oxigênio, ou ainda, pelo efeito tóxico exercido pelos hidrocarbonetos voláteis (FUSEY e OUDOT, 1984). Dibble e Bartha (1979) demonstraram que o aumento da massa de hidrocarboneto em um lodo oleoso aplicado em solo, na faixa de 1,25 a 5 % de massa de hidrocarboneto por massa de solo seco, provocou aumento da evolução de CO₂. Contudo, para o teor de 10 % em hidrocarbonetos houve decréscimo em 15 % na evolução de CO₂, em relação à respiração do solo.

Linhares e Seabra (1991), usando a mesma técnica de evolução de CO₂, mostraram que já havia um decréscimo de CO₂ formado para o nível de 5 % de hidrocarbonetos, usando uma borra oleosa de refinaria aplicada em solo. O decréscimo da atividade microbiana com o aumento da concentração é causado pelos componentes tóxicos do resíduo.

3.5.4. Temperatura do Solo

Normalmente, a temperatura do solo é um dos fatores mais importantes no controle da atividade microbiana e das taxas de biodegradação da matéria orgânica. As taxas de degradação enzimática e o metabolismo microbiano, teoricamente, dobram a cada aumento de 10 °C de temperatura, até atingir temperaturas inibitórias, usualmente, em torno de 40 °C, para a maioria dos microrganismos (ATLAS, 1981; LEAHY e COLWELL, 1990). A temperatura pode também influenciar indiretamente a biodegradação de um componente ou mistura, pela mudança de suas propriedades físicas, composição química ou toxicidade à microflora. Em baixas temperaturas, a

viscosidade do óleo aumenta e sua solubilidade em água diminui, a volatilização dos alcanos tóxicos de baixo peso molecular é reduzida, adiando o início da biodegradação.

3.5.5. Umidade do solo

O solo deve conter umidade suficiente para estimular o crescimento de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos, mas não demais que leve à redução da permeabilidade do solo. A água é necessária para o crescimento microbiano, a difusão dos nutrientes e a eliminação dos excretas. O nível de umidade do solo influencia os tipos de microrganismos presentes e os processos de volatilização. Normalmente, os teores de água no solo, ideais para atividade microbiana, ficam na faixa de 25 a 85 % da capacidade de campo, dependendo do tipo de solo e do contaminante (PAUL e CLARK, 1989).

Holman e Tsang (1995) mostraram que a biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos foi mais eficiente em teores de umidade entre 50 e 70% da capacidade de campo, para um solo franco siltoso. Para sistemas de biopilha, Von Fahnstock e colaboradores (1998) recomendam a faixa ótima de umidade de 10% a 20%, em peso, correspondendo à faixa de 70% a 95% da capacidade de campo do solo.

3.5.6. pH

O pH do solo influencia os processos de biorremediação. A maioria das bactérias vive na faixa de pH de 5 a 9, com um valor ótimo, em geral, um pouco acima de 7 (DRAGUN, 1988). Uma mudança no pH pode causar alteração na comunidade microbiana, uma vez que cada espécie possui um pH ótimo específico.

De modo geral, poucos são os solos que necessitam de ajuste radical de pH antes da preparação de uma biopilha. Se o pH é muito ácido, adiciona-se cal para aumentá-lo. No caso de o pH ser muito básico, pode-se adicionar sulfato de amônia ou sulfato de alumínio para reduzi-lo (HUESEMANN, 1994).

3.5.7. Ecotoxicidade em Solo

As análises químicas podem somente fornecer informações sobre a presença,

concentração e variabilidade dos contaminantes no solo. Elas não são capazes de prever de modo seguro os efeitos prejudiciais dos contaminantes aos seres vivos, já que a disponibilidade biológica dos poluentes nos solos pode variar consideravelmente em função das espécies químicas e das condições ambientais existentes. Para superar esta limitação, é necessário empregar-se ensaios ecotoxicológicos para avaliar os efeitos adversos causados pelo descarte de substâncias químicas no ambiente, de forma a integrar os efeitos combinados da mistura de todos os agentes químicos presentes em uma amostra (WONG *et al.*, 1999, SATERBAK *et al.*, 2000).

Os testes ecotoxicológicos têm aplicação em avaliação de risco ambiental de sítios contaminados, no controle da eficiência de processos de remediação de solos e na avaliação do potencial ecotoxicológico de solos tratados, como pré-requisito para o seu uso futuro.

Um fator básico na escolha dos testes ecotoxicológicos a serem usados é conhecer quais são as propriedades, tanto dos contaminantes como do meio físico, que controlam o transporte e o destino desses contaminantes no ambiente. As propriedades dos contaminantes importantes são a solubilidade aquosa, a pressão de vapor, a constante da lei de Henry, a partição contaminante/meio – coeficiente de partição solo/água (K_d), o coeficiente de partição carbono orgânico/água (K_{OC}) e o coeficiente de partição octanol/água (K_{OW}) – a massa específica e a viscosidade. Já entre as propriedades do meio poroso (solo) que influenciam o transporte dos contaminantes, destacam-se a textura do solo e a distribuição de tamanho das partículas, a porosidade, a permeabilidade, o teor de matéria orgânica e a capacidade de troca catiônica. Assim, cada rota de exposição requer a escolha de organismos testes adequados.

Em comparação com os testes de toxicidade em meio aquático, há poucos protocolos para avaliar a toxicidade em solos. Contudo, diversas técnicas estão sendo padronizadas, aumentando assim o número de opções. Alguns investigadores têm tentado superar esta falta de testes padronizados para ambientes terrestres com o preparo e análise de extratos por intermédio de testes de toxicidades aquáticos. Porém, esta abordagem não leva em consideração a toxicidade do contaminante sorvido na matriz do solo. A água intersticial pode subestimar os tipos e as concentrações dos contaminantes orgânicos biodisponíveis presentes (LISS e AHLF, 1997). Por outro lado, a análise dos extratos com testes de toxicidade aquáticos pode ser útil para explorar a mobilidade dos

contaminantes. Entretanto, componentes naturais do solo podem ser solubilizados nos extratos em concentrações não toleradas por organismos aquáticos, levando a resultados positivos falsos. Van Gestel *et al.* (2001) destacam que testes em organismos aquáticos apresentam algumas vantagens como baixos custos e respostas rápidas, mas apresentam baixa relevância ecológica.

Os microrganismos são os principais componentes bióticos do solo e têm um papel chave na degradação da matéria orgânica e no ciclo de nutrientes. Assim, as bactérias do solo podem ser utilizadas como indicadores de contaminação. A indicação de um efeito tóxico pode ser evidenciada por mudança na densidade populacional bacteriana, na sua diversidade e em suas atividades biológicas.

Alguns testes de toxicidade microbianos são usados para avaliar extratos de solo. O teste Microtox é o mais conhecido e emprega uma bactéria marinha bioluminescente – *Vibrio fischeri*. Alguns contaminantes inibem o metabolismo da bactéria, diminuindo a intensidade de luz emitida. Já o teste ATP-TOX mede o efeito de uma amostra no crescimento bacteriano. Neste caso, as bactérias são suspensas na água do extrato de solo. Cada bactéria tem um teor relativamente constante de adenosina tri-fosfato (ATP) no interior de sua célula. Assim, a medida do teor de ATP de uma suspensão de bactérias dará uma indicação confiável da população bacteriana. Esses métodos são descritos por Britton e colaboradores (1989).

O efeito de um dado composto no ambiente também pode ser avaliado por testes de respirometria. A respiração do solo é fortemente dependente de condições fisiológicas dos microrganismos e de outros fatores como o teor água, temperatura, suprimento de nutrientes e pH. Existem diversos métodos para quantificar a respiração do solo (EISENTRAEGER *et al.*, 2000).

Entre os testes que empregam organismos que têm contato direto com os sólidos contaminados, os mais usados são o ensaio de mortandade de minhocas (*Eisenia foetida*), o de germinação de alface (*Latuca sativa*) e o de crescimento de raiz de alface (*Latuca sativa*). Estes ensaios estão descritos em detalhe por Greene *et al.* (1989).

O conjunto de testes para avaliar a qualidade de um solo, quanto à possibilidade de seu reciclo e reuso, deve ao menos conter os grupos listados na Tabela 3.9 (KÖRDEL e HUND-RINKE, 2001).

Tabela 3.9 – Seleção dos organismos para testes em solos e sedimentos.

Organismos	Função	Via de exposição importante
microorganismos	ciclo de nutrientes, degradação de contaminantes orgânicos	água intersticial
minhocas	estrutura do solo, produtividade	água intersticial (alimento)
colembola	contribuição à formação de substâncias húmicas	alimento
vegetais	produtores	água intersticial

3.5.8. Biodisponibilidade de Compostos Orgânicos no Solo

Os poluentes presentes em solos e sedimentos, em muitos casos, são oriundos de contaminações antigas, ocorridas há mais de dez anos. Vários estudos mostraram que pesticidas persistentes (DDT, dieldrin, heptachlor, entre outros) e outros compostos orgânicos inicialmente desapareciam do solo numa velocidade razoável, mas em seguida a velocidade diminuía de modo considerável. Muitas das vezes, nessa segunda fase a velocidade de desaparecimento era muito baixa e de difícil detecção. A explicação para este processo é de que esses compostos orgânicos são intemperizados, isto é, biodegradados pelos microrganismos (assim como perdas por volatilização e por outros processos abióticos), levando de forma clara à diminuição progressiva de sua biodisponibilidade aos microrganismos (ALEXANDER, 1995).

A taxa e a extensão da biodegradação de compostos orgânicos no solo, principalmente para compostos hidrofóbicos, são afetadas pelas complexas interações entre as moléculas dos contaminantes, as partículas do solo, da água intersticial e dos microrganismos degradadores dos contaminantes. A Figura 3.6 mostra que os compostos orgânicos podem estar dissolvidos na fase aquosa que envolve as partículas do solo, dissolvidos na fase vapor, sorvidos nas partículas sólidas ou na matéria orgânica nos poros do solo ou ainda como líquido de fase não aquosa – NAPL (*Non Aqueous Phase Liquid*).

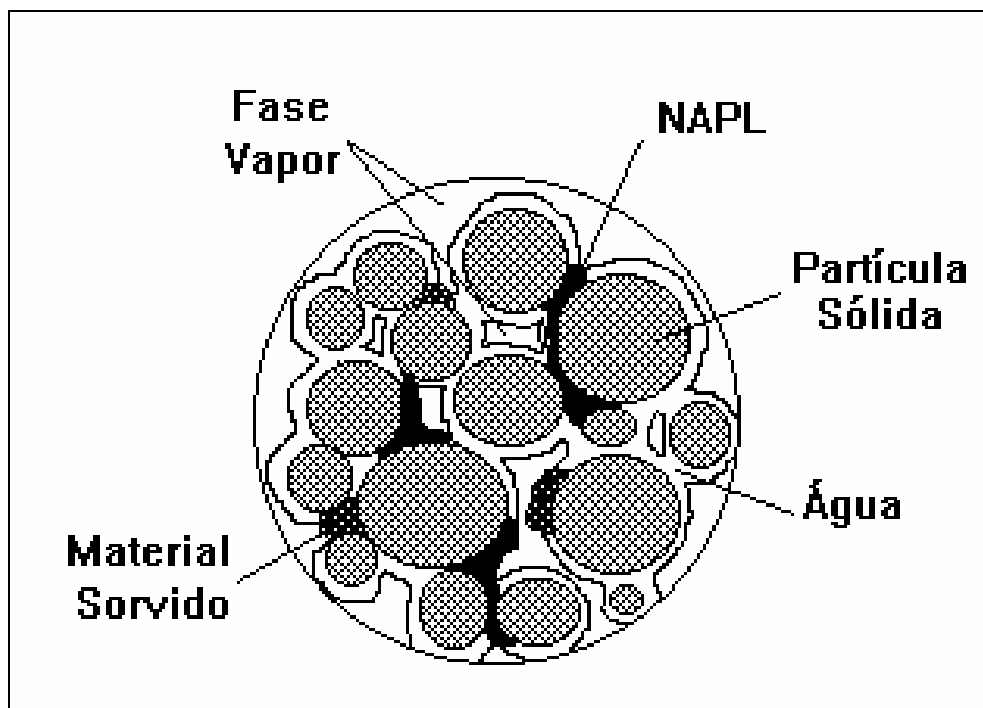


Figura 3.6 - Distribuição dos contaminantes orgânicos nas diversas fases na zona não-saturada do solo.

Nos casos em que a taxa de biodegradação dos contaminantes é próxima a taxa de dessorção destes contaminantes da fase sólida do solo e a de dissolução do NAPL, a biorremediação é limitada pela sua biodisponibilidade. Quando a taxa de biodegradação é muito menor que a de dessorção, então, fatores microbianos limitam a biorremediação.

Processos intensivos de mistura de solo, adição de agentes surfactantes e estimulação eletrocinética são consideradas como soluções tecnológicas para aumentar a biodisponibilidade dos compostos orgânicos. Mesmo sabendo que muitas bactérias têm capacidade de degradar compostos hidrofóbicos, pouco se conhece das estratégias que elas usam para melhorar seu acesso a poluentes hidrofóbicos no solo (WICK *et al.*, 2001). A mais conhecida é a produção de biosurfactantes. Os glicolipídios e os fosfolipídios são os dois mais comuns grupos de biosurfactantes encontrados, contudo, o tipo, a quantidade e a qualidade do surfactante microbiológico dependem da natureza do substrato, entre outros fatores (WILLUMSEN e KARLSON, 1997).

Os biosurfactantes são usualmente produzidos por microrganismos crescendo em substratos pouco solúveis em água (NEU, 1996). O aumento da biodegradação dos compostos hidrofóbicos é causado pela solubilização ou emulsificação dos poluentes

sorvidos ou em fase livre, com ajuda dos surfactantes. Os surfactantes não aumentam a concentração aquosa de um composto, mas formam uma pseudofase miscelar dentro da fase aquosa. Esta fase miscelar acumula o contaminante e facilita o seu transporte, aumentando o seu acesso aos microrganismos (ZHANG *et al.*, 1997).

3.5.9. Resíduos de Ligação

Todos os compostos químicos orgânicos antropogênicos formam resíduos não extraíveis, em extensão variável, quando em contato com o solo. Esse fenômeno tem sido estudado há muitos anos, especialmente no campo da agroquímica do solo (por exemplo, pesticidas). Processos análogos têm sido observados durante a biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos. A formação de resíduos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos tóxicos e carcinogênicos é de particular interesse.

Os resíduos de ligação (*bound residues*) de pesticidas despertaram o interesse da comunidade científica há mais de três décadas quando estudos demonstraram que uma parte significativa dos pesticidas não era biodegradada, mas sim ligada aos minerais de argila e à matéria orgânica do solo (KÄSTNER e RICHNOW, 2001).

A formação de resíduos de ligação no solo é atribuída principalmente a interações físicas e químicas dos compostos xenobióticos com a matéria natural orgânica. Os principais fatores que influenciam a sua formação são:

- Reatividade química das substâncias antropogênicas;
- Reatividade do substrato ligante (matriz macromolecular);
- Processos de transformação microbiana;
- Presença de agentes catalisadores como enzimas, minerais de argila, oxigênio e compostos de manganês e ferro.

Os resíduos de ligação têm sido considerados como o principal sumidouro de compostos orgânicos no solo. Eles são usados em estratégias alternativas à biorremediação de contaminantes antropogênicos (BOLLAG, 1992).

O processo geral de formação de resíduos de ligação é freqüentemente considerado como uma transformação de poluentes antropogênicos em húmus, já que o carbono

xenobiótico fica associado com a matéria orgânica natural presente no solo. Assim, o carbono xenobiótico é seqüestrado pelas matrizes orgânicas macromoleculares, de difícil acesso, com o uso de procedimentos analíticos convencionais. Com a ligação, o composto xenobiótico perde a sua identidade estrutural, o que inclui suas características físicas, químicas e biológicas.

Hupe e colaboradores (1998) desenvolveram estudo para levantar o balanço de carbono do óleo diesel durante a sua biodegradação em solo. Ao final do teste, 59% do carbono presente no óleo diesel inicialmente adicionado ao solo foi convertido de dióxido de carbono, 4% foi volatilizado, 4% foi incorporado à biomassa e 8% foi extraído por processo convencional de extração, como é apresentado na Tabela 3.10. A diferença obtida no balanço de carbono foi de 24%. Provavelmente esta quantidade ficou sorvida no húmus do solo, como resíduo de ligação.

Tabela 3.10 – Balanço de massa para o carbono (HUPE *et al.*, 1998).

FRAÇÃO	PERCENTAGEM DO CARBONO DO ÓLEO DIESEL NA FRAÇÃO
Hidrocarbonetos de petróleo totais extraíveis	8
Volatilizado	4
Convertido em CO ₂	59
Não quantificado (sorvido na matriz do solo)	24
Biomassa microbiana	4

A atividade microbiana estimula a formação de resíduos de ligação e está associada à biodegradação da respectiva substância química. Quando da sua ligação com o material residual, a sua biodisponibilidade no solo fica bastante reduzida. Se por um lado a toxicidade real da substância diminui, por outro a sua persistência no ambiente é aumentada. As conseqüências ecológicas dos resíduos de ligação não foram ainda bem avaliadas. É necessário saber por quanto tempo o material ligado à matriz húmica do solo ficará imobilizado. Como os resíduos não extraíveis macromoleculares são de difícil exame por procedimentos analíticos convencionais, as conseqüências ecológicas desses resíduos precisam ser mais bem estudadas, principalmente em termos de sua

estabilidade química a longo prazo.

Num contexto de avaliação de risco ambiental, o emprego de técnicas de biorremediação deve levar em consideração a formação de metabólitos não extraíveis.

3.6. Biopilha

3.6.1. Descrição Geral do Processo

O sistema de biopilha é uma variação da técnica de compostagem de materiais orgânicos. Na compostagem, o resíduo orgânico é metabolizado e transformado em húmus e em subprodutos inertes, tais como dióxido de carbono, água e sais minerais, tanto em condições aeróbias como anaeróbias. Esse método de estabilização de resíduos orgânicos tem sido empregado há várias décadas para esterco de animais, bio-sólidos municipais, poda de jardinagem e resíduos urbanos orgânicos, entre outros (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1998). As condições termofílicas (50 a 65°C) devem ser mantidas durante o processo até se atingir o estágio maduro (ou de cura), quando as temperaturas decrescem.

Na compostagem, os resíduos são colocados em leiras ou pilhas, que são periodicamente reviradas mecanicamente para que haja incorporação de oxigênio. O outro processo de suprimento de oxigênio se dá por intermédio de sistemas de distribuição com tubos perfurados. Nesse caso, a leira é mantida estática até o final do processo.

Nos últimos anos, a compostagem também tem sido empregada no tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, HPA, pesticidas e explosivos (TNT, RDX etc.), com bons resultados (DOD, 1994, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1998). Material estruturante (cavaco de madeira, resíduos de agricultura etc.) é misturado ao solo para melhorar a sua textura, visando melhorar a permeabilidade de gases e líquidos na leira.

O termo biopilha (em inglês *biopile*, *heap pile bioremediation*, *biocell*, *bioheap*, *biomound* ou *static-pile composting*) começou a ser empregado no início dos anos 90, quando solos contaminados por produtos orgânicos industriais começaram a ser misturados com materiais estruturantes e nutrientes, visando o estímulo da biodegradação desses contaminantes de maneira controlada. Atualmente, muitas publicações utilizam os termos biopilha e compostagem quase como sinônimos. Contudo, de modo geral, para sistemas com revolvimento periódico das pilhas tem se empregado o termo compostagem. Além disso, a compostagem seria mais bem caracterizada quando há um grande teor de matéria orgânica a ser estabilizado,

acarretando temperaturas elevadas (na faixa termofílica), o que não ocorre normalmente com os solos contaminados.

O sistema de biopilha é uma tecnologia já desenvolvida em escala industrial, basicamente para solos arenosos. O solo escavado contaminado é colocado em pilhas ou células, cujo teor do contaminante presente é reduzido por biodegradação. Umidade, nutrientes, oxigênio, temperatura e pH podem ser controlados para estimular a atividade degradativa dos microrganismos presentes no solo (DOD, 1994; OFFICE OF UNDERGROUND STORAGE TANKS, 1995).

As biopilhas são normalmente dispostas em locais impermeabilizados com mantas para reduzir os riscos de migração do lixiviado para regiões de subsuperfície não contaminados. No processo estático, o oxigênio é fornecido por meio de uma rede de tubos perfurados instalado acima da base, conectada a um soprador ou bomba a vácuo. Em alguns casos, é necessário construir um sistema de coleta de lixiviado para o seu tratamento, especialmente quando existe sistema de distribuição de umidade. Usualmente, as biopilhas são cobertas com mantas impermeáveis para minimizar o escape de poluentes, principalmente voláteis, além de proteger o solo do vento e das chuvas (VON FAHNESTOCK *et al.*, 1998).

Outra maneira de fornecer o oxigênio é revolver periodicamente a pilha usando sistema mecânico, chamado de sistema dinâmico. Este sistema é mais indicado quando o solo a ser tratado apresenta tendência de formação de grumos, normalmente em função da presença de teores de argila e silte elevados.

A altura típica de uma biopilha varia de 2 a 3 metros, largura entre 5 e 10 metros e comprimento máximo de 30 m. A inclinação deve ter um ângulo inferior a 35°, dependendo da textura do solo.

A biopilha é usada em tratamentos de curta duração, de 3 a 6 meses, em condições otimizadas. O sistema de biopilha é de projeto e construção relativamente simples. Na sua construção, o solo pode ser misturado com: (a) esterco maduro ou composto, para aumentar a população microbiana e ser um suprimento adicional de nutrientes; (b) corretivo de solo (ex. sulfato de cálcio hidratado - gesso); (c) material estruturante (serragem ou palha, por exemplo), para garantir que o meio tenha uma textura mais permeável; (d) substância química para ajuste do pH do solo, que deve estar dentro da

faixa de 6 a 8.

No caso de aeração forçada, deve-se periodicamente adicionar água à biopilha devido ao processo de secagem do solo. O acúmulo excessivo de umidade pode ocorrer em áreas com baixa drenagem, o que prejudica a biodegradação do contaminante.

Devido à presença de compostos voláteis no contaminante, estes tendem a se evaporar durante a extração ou injeção de ar, necessitando-se de um sistema de captura e tratamento dos vapores. Isto pode ser obtido com a colocação de uma cobertura na biopilha e com a instalação de um sistema de coleta dos vapores. A Figura 3.7 mostra um sistema típico de biopilha estática. Um sistema dinâmico é apresentado na Figura 3.8



Figura 3.7 – Esquema típico de um sistema de biopilha estática (LEAHY e BROWN, 1994).



Figura 3.8 Sistema de biopilha dinâmica na cidade de Carmópolis, Brasil (SEABRA *et al.*, 2005).

3.6.2. Vantagens e Desvantagens

Como todos os processo de tratamento de solos contaminados, há vantagens e desvantagens no emprego de biopilhas, que estão listadas na Tabela 3.11 (DOD, 1994; OFFICE OF UNDERGROUND STORAGE TANKS, 1995; VON FAHNESTOCK *et al.*, 1998; DOD, 2002).

Tabela 3.11 – Vantagens e desvantagens do sistema de biopilha para tratamento solos contaminados.

VANTAGENS		DESVANTAGENS	
✓	Projeto e implementação simples	✓	Redução de concentração de poluente > 95% é difícil de ser alcançada.
✓	Períodos de tratamento curtos: de seis meses a dois anos, em condições otimizadas.	✓	Pode não ser efetivo para altos teores de contaminantes > 50 000 mg de hidrocarbonetos de petróleo totais/kg de solo seco.
✓	Custos relativamente baixos: US\$ 30-90/t de solo contaminado (OFFICE OF UNDERGROUND STORAGE TANKS, 1995). Outros trabalhos indicam valores um pouco superiores, de US\$ 100-200/t, incluindo a preparação do local e a colocação de manta protetora (DOD, 2002).	✓	Presença de concentrações elevadas de metais pesados (> 2500 ppm) pode inibir o crescimento microbiano.
✓	Pode ser aplicado a solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo (óleo diesel, borras oleosas, querosene de aviação, óleo cru) e alguns pesticidas.	✓	Constituintes voláteis tendem mais a evaporar do que serem biodegradados durante o tratamento.
✓	Necessita de superfície menor do que o sistema de <i>landfarming</i> .	✓	Os vapores gerados precisam sofrer tratamento antes de seu descarte para a atmosfera.
✓	O projeto pode contemplar um sistema de coleta de emissões de vapores.	✓	Baixo desempenho em solos com baixa condutividade hidráulica ($K < 10^{-4}$ cm/s) e com teor de silte mais argila superior a 10%, em peso.

3.6.3. Aplicação

A biopilha já provou ser eficiente na diminuição da concentração de praticamente todos os constituintes presentes em produtos de petróleo, para solos arenosos (DOD, 2002). Os produtos de petróleo mais leves (mais voláteis), como a gasolina, tendem a ser removidos por evaporação durante o processo de aeração e, em menor extensão, pela degradação microbiana. Os produtos médios (ex: óleo diesel e querosene) contém menor quantidade de constituintes leves que a gasolina. Neste caso, o processo de biodegradação é mais importante que o de evaporação. Nos produtos de petróleo pesados (ex.: óleos combustíveis e lubrificantes) o mecanismo dominante de

desaparecimento destes produtos é a biodegradação. Contudo, compostos de petróleo com altas massas molares normalmente requerem um maior tempo de degradação do que os constituintes de produtos médios.

Compostos voláteis e semivoláteis halogenados, além de pesticidas, também podem ser tratados, mas a eficiência do processo variará e poderá ser aplicado a somente alguns compostos presentes nessas classes de contaminantes.

3.6.3.1. Experiências com Hidrocarbonetos de Petróleo

A tecnologia de biopilha já foi testada no tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, tanto em escala piloto como em escala de campo (SAMSON *et al.*, 1994; PUUSTINEN *et al.*, 1995; LUNDGREN *et al.*, 1997; CHACONAS *et al.*, 1997; CYR *et al.*, 1997; VON FAHNESTOCK *et al.*, 1997; KONING *et al.*, 1998; JØRGENSEN *et al.*, 2000, NAMKOONG *et al.*, 2002).

Na Tabela 3.12 está apresentado um resumo de alguns dos estudos de campo em que se empregou biopilha no tratamento de solos contaminados com petróleo ou derivados, com a identificação do sítio, tipo de contaminante presente no solo, tempo de tratamento e eficiência de remoção de contaminante.

Chaconas e colaboradores (1997) mostraram que o tratamento de solo contaminado com hidrocarbonetos, na faixa do óleo diesel, apresentou maior nível de degradação que o observado no mesmo solo contaminado por hidrocarbonetos na faixa de óleo lubrificante. McMillen e colaboradores (1996) estudaram o tratamento do solo retirado de fosso de *flare*, na realidade uma mistura de borra oleosa com solo, em ambiente frio. Após oito semanas de tratamento, de 62 a 86% dos HPT foram degradados, mostrando que mesmo em baixas temperaturas o processo de biodegradação se mostrou eficiente.

Tabela 3.12 – Casos de campo de tratamento por biopilha de solos contaminados com petróleo ou derivados.

Sítio	Contaminante	Tempo de tratamento (semanas)	Eficiência de remoção (%)	Referência
Alberta, Canadá	Lodo de fosso de <i>flare</i> (óleo intempérico)	8	62 a 86	MCMILLEN <i>et al.</i> , 1996
Nebraska, EUA	Óleo diesel	52	38,9	CYR <i>et al.</i> , 1997
Marine Corps, Havaí, EUA	Diesel e QAV	7	57,1	VON FAHNESTOCK <i>et al.</i> , 1997
EUA	Hidrocarbonetos intempéricos	45	55	HAYES <i>et al.</i> , 1995
SERDP, EUA	Óleo lubrificante (>C22)	47	70,4	CHACONAS <i>et al.</i> , 1997
SERDP, EUA	Faixa do óleo diesel	47	87,6	CHACONAS <i>et al.</i> , 1997
Helsinki, Finlândia	Óleo lubrificante	21	70	JØRGENSEN <i>et al.</i> , 2000

A variação de eficiência se deve às características dos contaminantes, ao seu grau de intemperismo, ao tipo de solo, entre outros fatores. Os produtos mais leves como o óleo diesel foram mais biodegradados do que produtos mais pesados (óleo lubrificante). O único caso destoante foi o trabalho realizado por Cyr e colaboradores (1997), que mesmo para um contaminante como óleo diesel, obtiveram eficiência de degradação baixa. A possível explicação seria o tipo de solo tratado, silte arenoso, que dificultaria o transporte de oxigênio pela pilha.

Quando o contaminante era um óleo intempérico, o nível de degradação alcançado foi baixo (HAYES *et al.*, 1995, MCMILLEN *et al.*, 1996). Isto se explica pela baixa biodisponibilidade das frações residuais (resíduos de ligação) em contaminações antigas, assunto discutido no item 3.5.9.

3.6.3.2. Cinética de Biodegradação

Em sistema de biopilha, a cinética de biodegradação dos contaminantes orgânicos presentes no solo é considerada de 1ª ordem, como assumido por diversos autores (HEUSEMANN, 1997; SONG *et al.*, 1990; FILAURO *et al.*, 1998; PORTA *et al.*, 1998; TAMBURINI, 1998; JØRGENSEN *et al.*, 2000; NAMKOONG *et al.*, 2002).

A cinética de degradação de 1ª ordem é expressa pela Equação 2:

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (\text{Eq. 2})$$

onde: $\frac{dC}{dt}$ = taxa de desaparecimento do contaminante;

C = concentração do contaminante num tempo t [mg/kg de solo]

k = coeficiente de remoção de contaminante [dia^{-1}].

Integrando-se a equação anterior com a condição inicial ($t=0$, $C=C_0$), tem-se a Equação 3:

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde: C_0 = concentração do contaminante no tempo zero [mg/kg de solo].

t = tempo [dia]

Namkoong e colaboradores (2002) estudaram o uso de corretivos (lodo de esgoto e composto) na biorremediação de solo contaminado com óleo diesel. Variando as relações solo e corretivo, obtiveram-se coeficientes de remoção (k) para n-alcanos na faixa de 0,068 a 0,272 dia^{-1} . Esta faixa de valores, segundo esses autores, é duas vezes maior que a obtida para os hidrocarbonetos de petróleo total - HPT (0,036 a 0,124 dia^{-1}).

3.6.3.3. Influência do Oxigênio

Mesmo que diversas substâncias orgânicas presentes em solos contaminados sofram degradação em ambiente anaeróbio, os processos nos quais o oxigênio é o aceptor de

elétrons são mais rápidos e devem ser incentivados nas biopilhas. Para tanto, o oxigênio é fornecido por meio de uma rede de tubos perfurados instalado acima da base, conectada a um soprador ou bomba a vácuo (sistema estático). Outra maneira de fornecer o oxigênio é revolver periodicamente a pilha usando um sistema mecânico (sistema dinâmico).

Hupe e colaboradores (1998) estudaram a influência da concentração do oxigênio presente na corrente do gás sintética insuflado em biopilha usada para tratar solo contaminado por óleo diesel. Não foi observada influência significativa do teor de oxigênio no gás, dentro da faixa de 1 a 80% em volume, no decréscimo dos contaminantes e na mineralização total. A explicação para este fato é que, durante o teste, os compostos mais biodegradáveis são eliminados mais rapidamente, deixando no meio os compostos mais refratários (iso-alcanos etc.), que após as sete semanas de teste se tornaram os preponderantes.

Outro trabalho avaliou a distribuição do oxigênio em pilhas, sem sistema de aeração, em função da altura das pilhas, e sua influência na biodegradação de contaminantes em biopilha (KONING *et al.*, 1999). Segundo os autores, sem aeração a transferência de oxigênio nas biopilhas é determinada pela difusão e é usualmente limitada a profundidades de 2 metros. Pilhas com alturas superiores a 3 metros precisam ter aeração forçada ou revolvimento freqüente.

3.6.3.4. *Materiais Estruturantes (Bulking Materials)*

Para solos com teores elevados de finos (silte e argila), a desagregação do solo e/ou a mistura com agente estruturante normalmente é necessária para melhorar a estrutura e a porosidade do solo.

Os agentes estruturantes mais comuns são serragem, palhas de diversas origens, cavacos de madeira, areia, entre outros materiais. Em alguns casos emprega-se composto maduro como material estruturante, que teria também o papel de aumentar a população microbiana e ser um suprimento adicional de nutrientes (STEGMANN *et al.*, 1991).

A concentração de corretivo necessária dependerá do tipo de solo, isto é, com o aumento do teor de argila e silte presentes será necessário aumentar a relação de agente

estruturante corretivo para melhorar a estrutura do solo. Contudo, o teor do material estruturante é limitado por motivos econômicos e, em muitos casos, por restrições de agências de controle ambiental.

A razão de material estruturante para solo contaminado deve ser tal que não haja inibição da atividade microbiana (THOMAS *et al.*, 1992). Para solo artificialmente contaminado por óleo diesel, Stegmann e colaboradores encontraram o melhor nível de biodegradação para a razão de solo-composto maduro de 2/1, usando composto com tempo de maturação de seis meses (STEGMANN *et al.*, 1991).

Park e colaboradores (2001) estudaram o emprego de composto como material estruturante no tratamento de solo contaminado por óleo diesel, nas seguintes razões de solo solo-composto: 1/0,1; 1/0,3; 1/0,5; 1/1. A maior redução de HPT foi de 98,4%, após 30 dias de tratamento, conseguida com a relação solo-composto de 1/0,5. A adição de composto acima desta relação não aumentou o nível de degradação do diesel.

3.6.3.5. Bioaugmentação

A adição de microrganismos no sistema de biopilha para estimular a biodegradação dos contaminantes presentes é chamada de bioaugmentação (*bioaugmentation*). A bioaugmentação pode ser realizada com culturas exógenas ou isoladas da própria microflora presente no solo a ser tratado.

Diversos trabalhos mostraram que o uso da bioaugmentação não incrementou o nível de biodegradação dos poluentes se comparada com a simples correção de fatores ambientais (nutrientes, água, pH etc.) (HUESEMANN e MOORE, 1993; MARGESIN e SCHINNER, 1997; WHYTE *et al.*, 1999).

Jørgensen e colaboradores avaliaram dois inóculos comerciais, em solos contaminados por óleos diesel e lubrificantes (JØRGENSEN *et al.*, 2000). Os testes não evidenciaram benefício significativo no uso desses produtos na biodegradação dos hidrocarbonetos. Em alguns casos, a aplicação de culturas microbianas comerciais levou mesmo à uma inibição do processo de biodegradação (MOLLER *et al.*, 1995). Porém, estudo com pilhas aeradas em escala piloto (volume de cada pilha igual a 535 m³) mostrou que a adição de produto microbiológico comercial levou a uma redução da concentração de

HPT em 71%, versus a redução de 44% na pilha sem a adição desse produto, após 18 semanas de tratamento (MORRISON *et al.*, 1997). A bioaumentação pode ser benéfica em certos casos em que há compostos recalcitrantes ou que o solo tenha uma baixa atividade microbiana. No artigo de Morrisson e colaboradores, não há indicação que as duas situações estavam presentes.

O uso de composto e de lodo de esgoto doméstico como fonte de microrganismos e nutrientes tem sido investigado por vários autores (THOMAS *et al.*, 1992; LA GRECA *et al.*, 1994; NAMKOONG *et al.*, 2002). A eficiência de degradação aumenta com o aumento da relação composto ou lodo com o solo. Porém, os teores de composto ou lodo necessários para obter uma melhoria significativa têm que ser muito elevados, na faixa de 33% em base mássica (NAMKOONG *et al.*, 2002).

Cunningham e Philip compararam a bioestimulação com a bioaumentação, em solos contaminados por óleo diesel, e o uso de esterco de cavalo (fonte de microrganismos) não apresentou melhoria na biodegradação dos hidrocarbonetos (CUNNINGHAM e PHILIP, 2000). Outro estudo avaliou o emprego de solos já tratados com fonte de inóculo, no tratamento de solos contaminados por diesel (HWANG *et al.*, 2001). Os resultados não foram conclusivos.

3.6.3.6. Teor de Argila

Altos teores de argila no solo causam efeito adverso no processo de biodegradação em biopilhas, basicamente, de duas maneiras. Na primeira, há a tendência de formação no solo de agregados ou grumos, o que reduz a permeabilidade do solo e, assim, dificulta a aeração adequada e uniforme na pilha. O outro fator negativo é a diminuição da biodisponibilidade dos contaminantes orgânicos e, conseqüentemente, a porcentagem de sua biodegradação, devido ao forte poder de adsorção de contaminantes orgânicos pelas argilas (HUESEMANN, 1994).

A formação no solo de agregados pode ser minimizada com adição de materiais estruturantes (areia, palha, cavaco de madeira, serragem, esterco seco etc.) ou pela moagem do solo.

3.6.3.7. *Teor de metais*

Concentrações traços de alguns metais são essenciais para o crescimento de microrganismos, porém, quando elevadas podem apresentar efeito deletério. Altas concentrações de metais no solo podem retardar ou mesmo interromper o processo de biorremediação. De maneira geral, o teor de metais pesados e de transição no solo a ser tratado deve ser inferior a 2.500 mg/kg. Concentrações maiores de metais catiônicos podem ser toleradas se o pH no solo for superior a 6,5 ou quando a capacidade de troca catiônica seja alta (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1983).

Lundgren e colaboradores (1997) estudaram solos contaminados por petróleo, com a presença de altos teores de metais pesados (níquel, cobre, zinco e chumbo). A concentração média desses metais de 17.000 mg/kg de solo seco não teve efeito negativo no nível de biodegradação dos hidrocarbonetos. Nos estudos em escala piloto, a taxa média de remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo nos 46 primeiros dias foi de 287 mg/kg dia. Para os primeiros 228 dias, a taxa média de remoção foi de 145 mg/kg dia. Quando do estudo em escala de campo, a remoção média dos HPT foi de 252 mg/kg dia, num período de 138 dias. Uma possível explicação para a tolerância a este alto teor de metais seria a presença de íons de ferro em alta concentração (69.300 mg/kg). Os íons de ferro teriam um efeito estimulante na atividade biodegradativa no solo.

3.6.3.8. *Influência da concentração de nitrogênio*

O aporte de nitrogênio para sistemas de biorremediação é normalmente expresso pela razão C:N. Essa abordagem tem sido empregada em diversos projetos de biorremediação, mas uma grande variação de relações tem sido usada. Normalmente, são aceitas razões na faixa de 20:1 a 10:1, contudo, o uso de razões na faixa de 200:1 a 9:1 têm sido reportadas (HUESEMANN, 1994). A recomendação de quantidade de nitrogênio pode ser também baseada em massa de solo (g N/kg de solo), em vez do nível de C do substrato. Huesemann recomenda a não adição de nitrogênio se o nitrogênio inorgânico do solo exceder a 50 mg N/kg solo e não adicionar mais do que 250 mg de N/kg solo de uma única vez para evitar a lixiviação e a toxicidade

(HUESEMANN, 1994). Alguns trabalhos já mostraram níveis de inibição por adição de nitrogênio, para solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, na faixa de 100 a 4.000 mg N/kg solo (Tabela 3.13).

Uma concepção diferente para a medição de nitrogênio para processos de biorremediação foi apresentada por Walworth *et al.* (1997). Ela se baseia no teor de nitrogênio na fase aquosa do solo. A super fertilização, que deprime a atividade dos microrganismos que degradam os hidrocarbonetos de petróleo, seria controlada pelo teor de água no solo. Solos molhados fornecem um maior volume de água para diluir o composto de nitrogênio que solos secos. Assim, a resposta à adição de nitrogênio estaria intimamente relacionada com a umidade do solo. Nesse estudo, o nível ótimo de nitrogênio em água foi de 2.000 mg N/kg H₂O, para os solos estudados (WALWORTH *et al.*, 1997).

Tabela 3.13 – Estudos publicados mostrando a inibição induzida pela adição de nitrogênio na biorremediação.

Referência	Textura do Solo	Nível de Inibição por N (mg N/kg solo)
BROWN <i>et al.</i> , 1983	Argilo arenosa	913
DIBBLE e BARTHA, 1979	Franco arenosa	1667
HUNTJENS <i>et al.</i> , 1986	Areia	400
GENOUW <i>et al.</i> , 1994	Areia franca	4005
MORGAN e WATKINSON, 1992	Areia	1750
ZHOU e CRAWFORD, 1995	Areia	119

3.6.3.9. Estudos no Brasil

Uma das primeiras teses de pós-graduação em que foi estudado o sistema de biopilha foi defendida por Daniella Pala (2002). Nela foi estudada a influência de fatores que influenciam a biodegradação de um tipo de petróleo presente em solo contaminado acidentalmente. Os primeiros testes foram desenvolvidos em reatores de fase lama e de leito fixo. A remoção de material oleoso (em termos de óleos e graxas) foi de cerca de

80%, num período de 30 dias nos reatores de fase lama. Contudo, nos testes em biopilha de bancada, a remoção dos contaminantes foi mínima.

Outro estudo foi desenvolvido no Centro de Pesquisas da Petrobrás – CENPES – para avaliar a tratabilidade de um solo contaminado por óleo combustível (SORIANO *et al.*, 2002). Os resultados mostraram boa biodegradabilidade. Silva *et al.* (2004) estudaram o uso de biopilha em solo arenoso do Rio Grande do Norte artificialmente contaminado com óleo diesel (2 e 4% m/m). O teor de nitrogênio foi o fator mais relevante no processo de biodegradação do óleo.

Nos últimos dois anos, a técnica de biopilha foi aplicada em diversas regiões do Brasil em escala semi-industrial e industrial. Contudo, poucos foram os registros dos resultados na literatura técnica. Seabra e colaboradores (2005) desenvolveram o tratamento de solos argilosos e arenosos contaminados por derramamentos acidentais de petróleo com biopilhas dinâmicas. No caso de solos argilosos, cujo teor médio de HPT inicial foi de 5,8% em massa, o melhor desempenho de remoção de HPT alcançado foi de 86,2%, após 24 semanas de tratamento. A remoção de HPT (concentração inicial de 1,7%, em base mássica) obtida para solos arenosos foi de 70%, mas com apenas 12 semanas de tratamento. Em ambos os casos empregaram-se casca de arroz como material estruturante, com relações volumétricas de solo-casca de 9:1 a 4:1.

3.6.3.10. *Parâmetro e valores alvos*

No mundo, existem basicamente dois tipos de abordagem usados na proteção da qualidade de solo e águas subterrâneas. A primeira trabalha com valores de referência de qualidade e de intervenção, como na Holanda, Alemanha, Dinamarca e Canadá. Estes valores são obtidos utilizando avaliação de risco ao homem para casos genéricos de contaminação. Na outra abordagem, os valores de intervenção são obtidos também com o emprego de avaliação de risco ao ser humano e ao meio ambiente, porém utilizando os dados obtidos de cada sítio contaminado específico. Este tem sido o enfoque da França e a da grande maioria dos estados dos EUA (VISSER, 1994; CETESB, 1997).

No Brasil, só o estado de São Paulo, por intermédio da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, é que estabeleceu valores orientadores de proteção

da qualidade de solo e de águas subterrâneas (CETESB, 2001a). A CETESB chegou a esses valores orientadores a partir de modelos de análise de risco, baseando-se na definição de cenários de uso e ocupação do solo, nas diferentes via de exposição e na quantificação de variáveis toxicológicas (CASARINI, 2000).

Em diversos países onde se empregam valores de referência de qualidade e de intervenção para solos, os hidrocarbonetos de petróleo total (HPT), como um todo, são pouco utilizados. Dependendo dos hidrocarbonetos presentes no petróleo ou no derivado que tenha contaminado o solo, pode-se ter risco potencial a um dado receptor sensível. Como exemplo, podem-se citar os hidrocarbonetos monoaromáticos, mais precisamente benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX). Estes, além de serem tóxicos e carcinogênicos, têm solubilidade em água relativamente alta, apresentando um risco potencial de contaminação às águas subterrâneas. Assim, um teor de 2.000 mg/kg de gasolina, cujas concentrações de BTEX são normalmente superiores a 40% em peso, pode apresentar maior risco ao ambiente que, por exemplo, 10.000 mg/kg de um óleo combustível pesado, que contém baixos teores de BTEX.

Uma das legislações em vigor que considera um valor para HPT é a holandesa e a de Berlim (Alemanha). A Holanda estabelece um limite de intervenção para óleos minerais de 5.000 mg/kg (LECOMTE e MARIOTTI, 1997). Este valor leva em consideração um solo padrão com 25% de argila e 10% de matéria orgânica. Na chamada Lista de Berlim, os valores variam de 300 a 5.000 mg/kg de HPT, dependendo da sensibilidade ambiental do local.

O que foi dito até então diz respeito a solos contaminados. São poucos os países onde se estabeleceu um padrão de qualidade para solos tratados por biopilha, como o existente na Alemanha. Isto é, até que ponto um solo contaminado é considerado tratado. Em diversos casos, principalmente nos EUA, tem se usado como meta teores de HPT na faixa de 500 a 1000 mg/kg de solo seco (VON FAHNESTOCK *et al.*, 1998). Em alguns casos, dependendo das características do solo, os valores podem chegar a 10.000 mg de HPT/kg de solo. Em outros casos, os BTEX e os HPA também são estabelecidos como compostos alvos.

CAPÍTULO 4

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram divididos em três etapas: (a) respirometria; (b) pilhas em escala de bancada; (c) reatores tipo coluna.

Todos os experimentos foram realizados com dois tipos de solos da Unidade de Negócios de Exploração e Produção Sergipe Alagoas da Petrobras (UN-SEAL), coletados no município de Carmópolis, Sergipe. Em cada ensaio, o solo foi contaminado com um petróleo cru representativo dessa unidade de produção de petróleo.

A seguir, serão apresentados os dados físico-químicos dos solos e a caracterização química do óleo cru, além dos procedimentos experimentais, equipamentos e materiais empregados em cada etapa.

4.1. Solos

Todos os experimentos foram realizados com três tipos de solos do município de Carmópolis, Sergipe, coletados em quatro períodos diferentes, entre agosto de 2002 e setembro de 2004. O primeiro solo (Solo A) foi coletado junto ao poço CP-132, na localidade de Entre Rios (teores de silte e argila mais altos) (Figura 4.1). O segundo solo (Solo B) foi coletado junto à mina de argila de Alto de Jericó (teores de silte e argila mais baixos) (Figura 4.2). O terceiro solo (Solo C) foi também coletado junto ao poço CP-132, porém apresenta uma textura arenosa.

Amostras do solo foram enviadas para o Laboratório de Água, Solos e Plantas (LASP) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - Solos) e para o Laboratório de Análise de Solo, Plantas e Resíduos (LABFER) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) para a realização das análises de fertilidade, condutividade elétrica (CE), capacidade de troca catiônica (CTC), granulometria, carbono orgânico total, pH e capacidade de campo.



Figura 4.1 – Solo de Entre Rios – Solo A.



Figura 4.2 – Solo de Alto de Jericó – Solo B.

A Tabela 4.1 reúne as principais propriedades físico-químicas do Solo A - original e triturado, do Solo B e Solo C, coletadas em diferentes bateladas.

Tabela 4.1 – Características dos Solos A, B e C.

Parâmetro	Solo A				Solo B		Solo C
	A1	A2	A2 (*)	A3 (*)	B1	B2	C
Areia (%)	27,3	27,4	55,6	58,2	45,8	46,4	75,0
Silte (%)	33,9	34,4	20,1	21,3	17,9	18,9	21,0
Argila (%)	38,8	38,2	24,3	20,5	36,3	34,7	4,0
Tipo de textura	Franco-argiloso	Franco-argiloso	Franco-arenoso	Franco-arenoso	Argilo-arenoso	Argilo-arenoso	Areia franca
Grau de floculação (%)	11	11	25	—	100	99	—
Relação Silte/Argila	0,87	0,9	0,83	1,04	0,49	0,54	5,25
pH	8,1	7,8	8,3	7,9	4,5	5,1	6,2
Ca ²⁺ (cmolc/kg)	5,9	7,5	6,1	5,6	0,8	0,6	9,1
Mg ²⁺ (cmolc/kg)	3,3	2,6	3,2	3,3		0,4	2,3
K ⁺ (cmolc/kg)	0,06	0,08	0,09	1,2	0,03	0,02	0,46
Na ⁺ (cmolc/kg)	0,46	0,69	0,37	0,59	0,02	0,07	0,25
Valor de S (soma) (cmolc/kg)	9,7	10,87	9,76	10,6	0,8	1,09	12,11
Al ⁺³ (cmolc/kg)	0	0	0	0	0,5	0,3	0
H ⁺ (cmolc/kg)	0	3,7	0	1,6	0,8	0,9	2,5
CTC (cmolc/kg)	9,7	14,57	9,76	12,2	2,1	2,29	14,62
Carbono orgânico (g/kg)	17,8	45,6	17,7	—	0,8	3,4	28,8
Nitrogênio (g/kg)	1,1	2,4	1,3	1,3	0,2	0,2	2,2
C/N	16,2	19,0	17,0	—	4,0	13,6	13,2
Potássio assimilável (mg/kg)	7	8	6	—	6	9	650
(100xNa+)/CTC (%)	5	5	4	5	< 1	3	1,7
C.E. do extrato (mS/cm a 25°C)	1,2	4,36	1,02	0,9	0,18	0,22	0,99
Capacidade de campo (%)	—	33,4	16,0	22,5	—	17,2	—

(*) após trituração

O Solo A tem uma textura franco-argilosa, com porcentagem de finos (silte e argila) de

72,7 % (A1) e 72,6% (A2). O grau de flocculação das argilas nas amostras A1 e A2 é de 11%. Isto mostra uma tendência das argilas de se dispersarem em água, não havendo a tendência de formação de agregados. O pH do solo é levemente básico (em torno de 8). O seu teor de carbono orgânico é elevado, de 17,7 g/kg e 45,6 g/kg, para os solos A1, e A2, respectivamente. Os resultados da relação C/N ficaram na faixa de 16,2 a 19, o que indica uma boa fertilidade para o Solo A. A capacidade de troca catiônica (CTC) do solo é na faixa de 9,7 a 14,57 cmolc/kg e sua condutividade elétrica é na faixa de 1,2 a 4,36 mS/cm a 25°C. A capacidade de campo foi de 33,4%. Estes dados mostram ser este um solo de boas características para a agricultura.

O Solo A2 foi triturado para os ensaios com biopilhas em bancada. Após a trituração a textura do solo ficou mais arenosa em relação ao material não submetido a este processamento. Outra mudança observada foi na capacidade de campo que diminuiu para 16%.

O Solo B tem uma textura argilo-arenosa, com uma percentagem de finos na faixa de 53,6% a 54,2%. O grau de flocculação das argilas é de 100%, o que mostra tendência de formação de agregados. O pH encontrado neste solo ficou entre 4,5 e 5,1, de característica ácida. A quantidade de carbono encontrada neste solo é baixa, na faixa de 0,8 a 3,4 mg/kg, quando comparado com os valores encontrados em todas as bateladas do Solo A. A relação C/N ficou na faixa de 4 a 17. A capacidade de troca catiônica encontrada foi muito baixa, em torno de 2 cmolc/kg. A condutividade elétrica do Solo B é muito baixa (0,18 a 0,22 mS/cm a 25°C).

Já o Solo C apresenta uma textura areia franca, com uma percentagem de finos baixa (25%). O pH é levemente ácido, igual a 6,2. A quantidade de carbono orgânico é de 28,8 g/kg e a relação C/N é igual a 13,6, o que indica um solo com boa fertilidade.

4.2. Petróleo

O petróleo escolhido para ser usado nas três etapas dos experimentos foi o Sergipano Terra, da UN-SEAL, coletado na Estação de Atalaia, em Aracajú, em 22/08/2002 (primeira coleta) e em 01/06/2004 (segunda coleta). Este petróleo tem uma faixa de grau API de 24,1 a 26,2, que o classifica como um petróleo médio (entre 22 e 30 grau API).

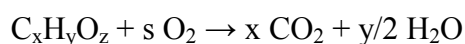
O petróleo foi analisado em termos de hidrocarbonetos totais de petróleo por GC-FID, famílias químicas por cromatografia líquida e análise elementar. Uma caracterização parcial do óleo está no Anexo A (análise elementar e de famílias químicas).

Em termos de famílias químicas, o petróleo usado nos experimentos contém 65,22% de hidrocarbonetos saturados, 21,40% de hidrocarbonetos aromáticos e 13,38% de resinas e asfaltenos, em massa. Portanto, o óleo tem um caráter parafínico. Os resultados em massa da análise elementar são: 86,2% de carbono; 12,3% de hidrogênio; 0,44% de enxofre; <0,3% de nitrogênio.

4.3. Primeira Fase dos Experimentos - Respirometria

4.3.1. Procedimentos Experimentais

O processo de degradação do contaminante estudado é o aeróbio. Isto é, o oxigênio é o aceptor de elétrons no processo de oxidação de um dado composto orgânico genérico $C_xH_yO_z$, segundo a expressão abaixo (SONTHEIMAR *et al.*, 1980):



O número de moléculas de oxigênio consumido é calculado segundo a Equação 4:

$$s = x + y/4 - z/2 \quad (\text{Eq. 4})$$

Usando o resultado da análise elementar do óleo normalizada (87,51% de carbono e 12,49% de hidrogênio), obteve-se uma fórmula molecular hipotética do óleo igual a $C_{7,3}H_{12,4}$. A demanda total de oxigênio teórica calculada para biodegradar o óleo é igual a 3,322g O_2 /g de óleo.

Com o emprego do equipamento de respirometria Sapromat (Figura 4.3), se obteve a curva de consumo de oxigênio (em massa) com o tempo.

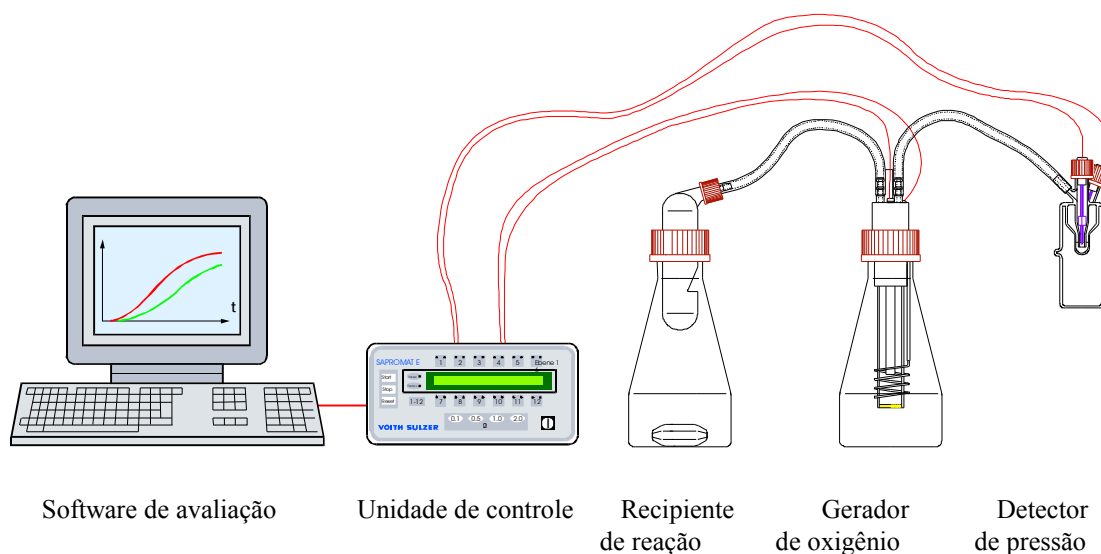


Figura 4.3 – Respirômetro Sapromat (adaptado da Voith).

Segue o conjunto de variáveis estudadas e suas faixas de variação:

- Temperatura $\Rightarrow$ 2 níveis (22 e 30°C)
- Teor de óleo a ser incorporado $\Rightarrow$ 3 níveis (3, 5 e 10% em peso)
- Correção de pH e adição de nutrientes $\Rightarrow$ 2 níveis (Sim e Não)
- Tipo de solo $\Rightarrow$ 2 níveis (teores de finos baixo e alto)
- Colocação de material estruturante na relação solo/material estruturante de 9/1 e 4/1 (em base mássica e volumétrica) $\Rightarrow$ 2 níveis.

Nesta fase do estudo foram testados sete diferentes tipos de materiais estruturantes: casca de coco, fibra de coco, casca de arroz, casca de pinho, torta de cana, composto obtido do processo de compostagem de lixo doméstico (com 6 meses de maturação) e serragem.

Os testes foram realizados em dois tempos. O primeiro conjunto de testes foi realizado nos laboratórios do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento Leopoldo A. Miguez de Mello (CENPES). A segunda série de ensaios respirométricos foi executada nos laboratórios do Departamento de Gerenciamento de Resíduos (*Abfallwirtschaft*) da Universidade Técnica de Hamburgo-Harburgo (*Technische Universität Hamburg-Harburg*) - TUHH. Os procedimentos seguidos nas duas séries de testes foram diferentes e serão apresentados nos itens seguintes.

4.3.1.1. Procedimentos Experimentais no CENPES

O procedimento de operação do sistema Sapromat está descrito no método Petrobrás PE-3E-00657-0 (PETROBRAS, 2003a). O consumo de oxigênio foi medido em frascos de vidro com capacidade de 500mL, contendo 100g do Solo A1 previamente peneirado para a retirada de raízes e pedras (≤ 2 mm), misturado com o petróleo Sergipano Terra na concentração estipulada, em triplicata. O material estruturante testado foi adicionado posteriormente, nas relações solo-material estruturante igual a 9:1 e 4:1, em base mássica, dependendo do ensaio. A umidade foi mantida na faixa de 60 a 70% do valor de capacidade de campo do solo. Os únicos nutrientes adicionados foram potássio e fósforo na relação C/P/K igual à 100/1/1. Para tanto foi usado KH_2PO_4 . Os frascos

foram imersos em banho-maria, com temperatura controlada em 22° C ou 30° C. Cada série de testes teve a duração mínima de 12 dias consecutivos (288 horas). Foram realizadas sete séries de teste, cujas condições estão resumidas na Tabela 4.2. O respirômetro utilizado foi o Sapromat modelo E, fabricado pela H+P Labortechnik GmbH.

Tabela 4.2 - Condições dos testes realizados no CENPES.

Teste	Solo	Temperatura	Adição de PK	Material estruturante	Razão da mistura solo:material estruturante (base mássica)	Concentração de óleo (base mássica)
SAP-1	A1	22°C	-	—	—	3%, 5%, e 10%
SAP-2	A1	22°C	+	—	—	3% e 10%
SAP-3	A1	22°C	+	serragem	9:1	3%, 5%, e 10%
SAP-4	A1	30°C	+	serragem	9:1	3%, 5%, e 10%
SAP-5	A1	30°C	+	torta de cana e fibra de coco	9:1	5%
SAP-6	A1	30°C	+	casca de pinho	4:1 e 9:1	3%
SAP-7	A1	30°C	+	casca de arroz	9:1	3%

4.3.1.2. Procedimentos Experimentais no TUHH

O consumo de oxigênio foi medido em frascos de vidro com capacidade de 500mL, colocando-se 47,5g de solo (massa seca), já misturado com o óleo na concentração estipulada (5%, m/m), em triplicata. O material estruturante testado foi adicionado posteriormente, nas relações solo-material estruturante iguais a 9:1 e 4:1, agora em base volumétrica, dependendo do ensaio. A umidade foi mantida entre 70 e 80 % de valor de capacidade de campo. Os únicos nutrientes adicionados foram potássio e fósforo na relação C/P/K igual à 100/1/1. Para tanto foi usado KH_2PO_4 . Os frascos foram imersos em banho-maria, com temperatura controlada em 30° C. Cada série de testes teve a duração mínima de 110 horas consecutivas.

Foram realizadas dez séries de testes, cujas condições estão resumidas na Tabela 4.3. Os solos usados nestes experimentos foram B2 e C. O respirômetro utilizado foi o Sapromat modelo D12, fabricado pela IBUK.

Tabela 4.3 - Condições dos testes realizados no TUHH.

Teste	Solo	Temperatura	Adição de PK	Material estruturante	Razão da mistura solo:material estruturante (base volumétrica)	Concentração de óleo (base mássica)	Duração do teste (horas)
SAP-8	C	30°C	-	—	—	5%	762
SAP-9	C	30°C	+	—	—	5%	110
SAP-10	C	30°C	-	casca de arroz	9:1	5%	492
SAP-11	C	30°C	+	casca de arroz	9:1	5%	264
SAP-12	C	30°C	-	casca de coco	9:1	5%	762
SAP-13	C	30°C	-	composto	9:1	5%	492
SAP-14	B2	30°C	+	—	—	5%	685
SAP-15	B2	30°C	+	casca de arroz	9:1	5%	685
SAP-16	B2	30°C	+	composto	9:1	5%	685
SAP-17	B2	30°C	+	composto	4:1	5%	685

4.3.2. Métodos Analíticos

4.3.2.1. pH

O pH das amostras de solo virgem e contaminado com óleo foi determinado conforme o método Petrobras PE-3E-00575-0 (PETROBRAS, 2003a). Nesta, a amostra de solo é inicialmente peneirada para a retirada de raízes e pedras. Em seguida, 30g de solo são

misturadas a uma quantidade de água destilada suficiente para formar uma pasta consistente e homogênea. As leituras de pH das amostras são realizadas num potenciômetro (Digimed, modelo DM21, com eletrodo combinado), introduzindo o eletrodo combinado de pH na pasta.

Nas análises feitas na TUHH, empregou-se outro procedimento, resumido a seguir. Inicialmente, 10 gramas do solo são misturados em 75 mL de uma solução de CaCl_2 (0,01 mol/L). Agita-se a mistura com um bastão de vidro por alguns segundos, deixando a solução em repouso por 24 horas à temperatura ambiente. As leituras de pH das amostras são realizadas num potenciômetro (Wissenschaftlich Technische Werkstätten – WTW, modelo pH91), introduzindo o eletrodo combinado de pH na solução.

4.3.2.2. *Umidade*

A umidade nas amostras de solo foi determinada conforme a metodologia Petrobras PE-3E-00462-0 (PETROBRAS, 2003b). Inicialmente, as raízes e pedras são retiradas da amostra de solo por intermédio de uma peneira. Após uma boa homogeneização, 10g da amostra são colocadas em placa de Petri (em triplicata), que são transferidas para estufa de secagem previamente regulada para $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1$. Após 16 horas em estufa, as placas são transferidas para um dessecador, por aproximadamente 30 minutos. O cálculo da umidade é feito por gravimetria, subtraindo a massa final da massa inicial, considerando a média das três réplicas.

Nas análises feitas na TUHH, empregou-se uma variação do procedimento acima descrito. As únicas diferenças estão na temperatura da estufa de secagem ($105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1$) e no tempo de secagem (24 horas).

4.3.2.3. *Granulometria e textura do solo*

As análises são realizadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, segundo o seu manual de métodos para solo (CLAESSEN *et al.*, 1997).

4.3.2.4. Nitrogênio total no solo

A análise foi realizada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, segundo o seu manual de métodos para solo (CLAESSEN *et al.*, 1997). O nitrogênio é convertido em sulfato de amônio por meio de oxidação com uma mistura de CuSO_4 , H_2SO_4 ou K_2SO_4 (mineralização). Posteriormente em meio alcalino, o sulfato de amônio convertido da matéria orgânica libera amônia que, em câmara de difusão, é complexada em solução de ácido bórico contendo indicador misto, sendo finalmente determinado por acidimetria (H_2SO_4 ou HCl). As análises realizadas na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro seguiram o método descrito por Tedesco *et al.* (1995).

4.3.2.5. Fósforo assimilável no solo

A análise é realizada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, segundo o seu manual de métodos para solo (CLAESSEN *et al.*, 1997). As análises realizadas na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro seguiram o método descrito por Tedesco *et al.* (1995).

4.3.2.6. Cromatografia do Petróleo Total (Whole Oil)

A análise é feita com a injeção no cromatógrafo gasoso da amostra do petróleo total (*whole oil*), com detector do tipo FID, conforme a metodologia Petrobrás PE-3C-00160-C (PETROBRÁS, 2002). Para tanto, empregou-se o cromatógrafo gasoso Agilent, modelo 6890, com coluna DB-5.

4.3.2.7. Análise Elementar do Petróleo

A análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio de petróleo e de seus produtos é realizada conforme a metodologia Petrobrás PE-3E-00093-0 (PETROBRAS, 2003c). Para tanto, empregou-se o analisador elementar Perkin Elmer 2400.

4.4. Segunda Fase dos Experimentos - Biopilhas em Bancada

Os testes em bancada foram realizados nos laboratórios do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) em escala de 20 L. Empregaram-se solos (A2, A3 e B2) coletados no Campo de Carmópolis, da UN-SEAL, cujas características estão apresentadas na Tabela 4.1. Os solos foram contaminados artificialmente com petróleo Sergipano Terra, da UN-SEAL, cuja caracterização é mostrada na no item 4.2.

4.4.1. Procedimentos Experimentais

O experimento foi realizado em duas séries de ensaios, cada uma com seis condições diferentes, listadas na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Condições dos testes de biopilha em escala de bancada.

SÉRIE	PILHA	SOLO	FREQUÊNCIA DE REVOLVIMENTO	ESTRUTURANTE			
				Tipo	Relação Solo/ Estruturante (volumétrica)	Volume (L)	Massa (kg)
1	P-1	A2(*)	14 dias	sem	—	—	—
	P-2	A2(*)	14 dias	casca de arroz	10:1	2	0,235
	P-3	A2(*)	28 dias	casca de arroz	10:1	2	0,250
	P-4	A2(*)	7 dias	casca de arroz	10:1	2	0,265
	P-5	A2(*)	14 dias	serragem	10:1	2	0,205
	P-6	A2(*)	14 dias	casca de coco	10:1	2	1,800
2	P-7	A3(*)	7 dias	sem	—	—	—
	P-8	A3(*)	7 dias	casca de arroz	10:1	2	0,220
	P-9	A3(*)	7 dias	casca de arroz	5:1	4	0,435
	P-10	A3(*)	7 dias	sem (**)	—	—	—
	P-11	B2	7 dias	sem	—	—	—
	P-12	B2	7 dias	casca de arroz	10:1	2	0,225

(*) solo triturado (**) controle abiótico

4.4.1.1. Série 1

O Solo A2, cuja umidade era de 15,5% (m/m) quando de sua retirada das bombonas, foi espalhado em uma lona em área com plena circulação de ar, localizada na usina piloto do CETEM, para que fosse seco por evaporação natural. Após a secagem natural, que durou 6 dias, a umidade chegou a 0,79% (m/m). Em seguida, o solo foi encaminhado para a desagregação, em um sistema em série composto por um britador de mandíbula grande (Figura 4.4), um britador mandíbula pequeno e um moinho de rolos. O material resultante de cada etapa passou por uma peneira de 4# (4,76 mm), cujo material passante foi utilizado na montagem das biopilhas. O fluxograma completo do processo de preparação do solo está apresentado na Figura 4.5.



Figura 4.4 - Britador de mandíbula grande.

Os testes foram realizados em bandejas de 37 litros de volume. O solo com granulometria inferior a 4,76mm foi distribuído nas bandejas, cada uma recebendo 20 litros deste solo (24,70kg). Em seguida, foi adicionado a cada uma das bandejas 1,235 kg do óleo cru de Sergipe Terra, de forma a simular um nível de contaminação de 5% (m/m). Após a contaminação do solo, as bandejas foram deixadas na usina piloto do CETEM por dois dias, de forma a favorecer a perda por evaporação das frações mais leves dos hidrocarbonetos presentes no óleo cru (Figura 4.6).

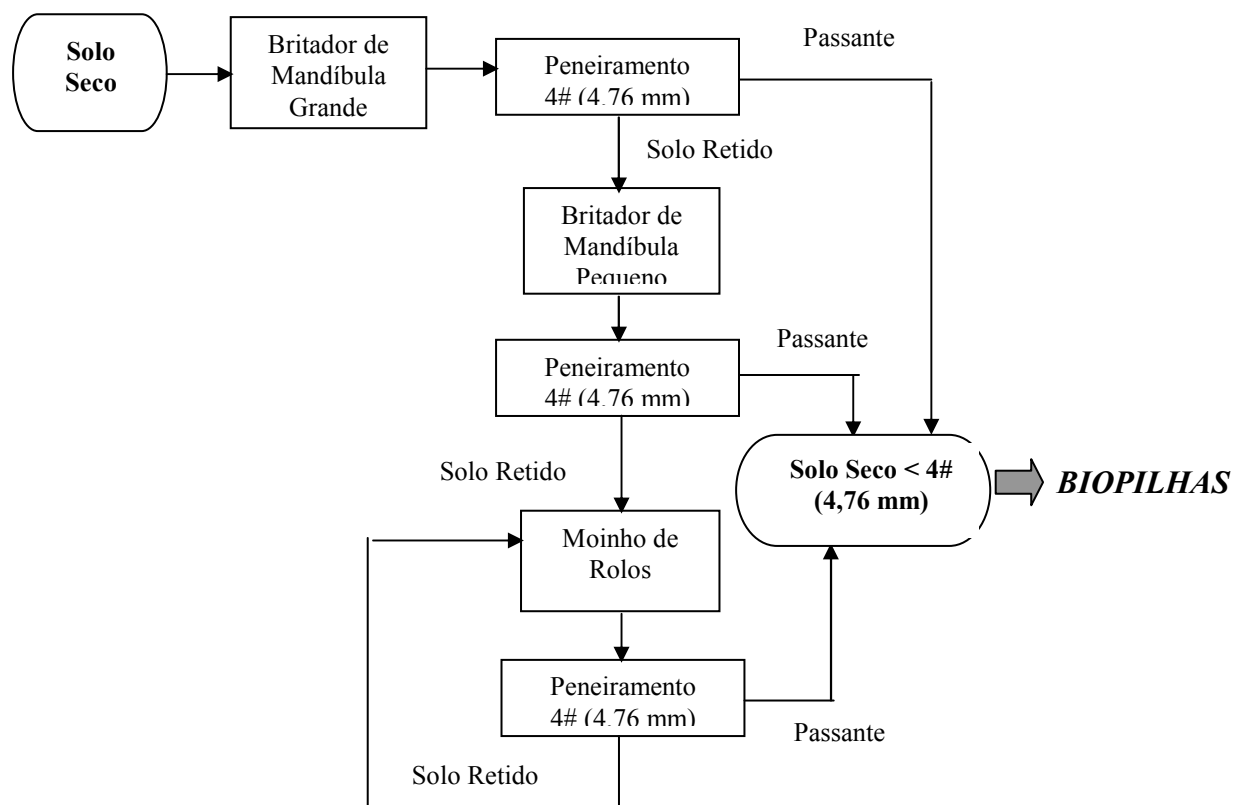


Figura 4.5 – Fluxograma representativo do processo de preparação das amostras de solo.



Figura 4.6 – Bandejas com solo desagregado e contaminado.

Após os dois dias da intemperização do óleo cru, incorporaram-se os nutrientes em cada bandeja. Os resultados dos ensaios de fertilidade no Solo A2 (após sua trituração e peneiramento) mostraram que a quantidade de nitrogênio já presente no solo era suficiente (1,3 g/Kg, na massa bruta, Tabela 4.1), segundo a concepção de Walworth e colaboradores (1997). Esta se baseia no teor de nitrogênio disponível na fase aquosa do solo. Considerando-se que uma super fertilização com nitrogênio deprime a atividade dos microrganismos que degradam os hidrocarbonetos de petróleo, esta seria controlada pelo teor de água no solo.

Solos molhados fornecem um maior volume de água para diluir o composto de nitrogênio do que um solo seco. Assim, a resposta à adição de nitrogênio estaria intimamente correlacionada com a umidade do solo. Nesse estudo, o nível ótimo de nitrogênio em água foi de 2.000 mg N/kg H₂O, para os solos estudados (WALWORTH *et al.*, 1997). Considerando um teor de umidade correspondente a 50 % da capacidade de campo (CC) do solo, o que dá 16,7% (m/m), o valor de nitrogênio encontrado em solução (7.784,4 mg N/kg de água) está acima do limite mínimo preconizado por Walworth e colaboradores. Portanto, só foram corrigidos os teores de fósforo e potássio, adicionando-se 4,64 g de KH₂PO₄ por bandeja. Posteriormente, acrescentaram-se os materiais estruturantes nas relações indicadas na Tabela 4.4. Depois, a umidade foi corrigida para 50% da CC e as bandejas foram transferidas para o laboratório do CETEM (Figura 4.7).



Figura 4.7 – Bandejas com solo suprido de nutrientes colocadas no laboratório do CETEM.

O revolvimento do solo nas bandejas foi executado manualmente com um ancinho de jardim, cujo garfo foi alongado para que se pudesse atingir o fundo das bandejas. Visando uma padronização, o procedimento de revolvimento era executado com o arraste do solo com o ancinho 4 vezes em cada sentido longitudinal da bandeja, 2 vezes em cada sentido transversal da bandeja e 1 vez do centro para os lados, também no sentido transversalmente à bandeja. A Figura 4.8 mostra o esquema do revolvimento do solo. A frequência de revolvimento para cada ensaio está indicada na Tabela 4.4.

Durante o experimento, a correção da umidade era feita com um regador, após o revolvimento, quando necessária.

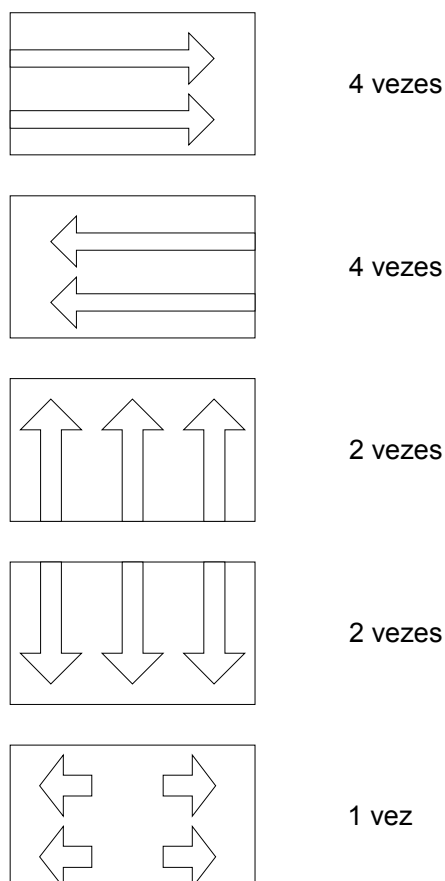


Figura 4.8 - Esquema de revolvimento do solo nas pilhas

4.4.1.2. Série 2

Nesta série, foram empregados dois solos, o Solo A3 e o do Alto de Jericó (Solo B2).

Ambos passaram por uma etapa inicial de preparação que consistiu no espalhamento, em uma lona, dos solos úmidos (165 kg de Solo A com 16,86% de umidade e 314 kg de Solo B com 8,25% de umidade), em área com plena circulação de ar, localizada na usina piloto do CETEM, para que ocorresse a secagem desses solos por evaporação natural. Em seguida, somente o Solo A foi encaminhado para a etapa de desagregação. Os solos, em seguida foram peneirados, sendo aproveitado o material com granulometria inferior a 4# (4,76 mm).

A seguir, os solos sofreram secagem natural, por aproximadamente 6 dias. Após o que, foi registrado uma massa de 136 kg de Solo A (teor de umidade final 1,65 %) e 289 kg de Solo B (teor de umidade final 0,29%).

A adição do óleo cru, agente estruturante e nutrientes seguiu o mesmo procedimento usado na Série 1. A única diferença ocorreu na Pilha P-10, para o qual não houve adição de nutrientes e houve aporte de azida de sódio (0,3% m/m). Esta pilha tinha a função de ser um controle abiótico.

4.4.2. Métodos Analíticos

4.4.2.1. pH

O pH das amostras de solo virgem e contaminado com óleo foi determinado conforme o método Petrobras PE-3E-00575-0 (PETROBRAS, 2003a), conforme descrito no item 4.3.2.1.

4.4.2.2. Umidade

A umidade nas amostras de solo foi determinada conforme o método Petrobras PE-3E-00462-0 (PETROBRAS, 2003b), já descrito no item 4.4.2.2.

4.4.2.3. Óleos e Graxas

O teor de óleos e graxas das amostras de solo virgem e contaminada com óleo foi determinado conforme o método Petrobras PE-3E-00697-0 (PETROBRAS, 2005a). O procedimento se inicia com a extração com o equipamento ASE (*Accelerated Solvent Extractor*), modelo 200 da Dionex. Após determinar a umidade da amostra de solo, 2 gramas da amostra desidratada são colocados em célula de aço inox do com capacidade de 33 mL. Em seguida, é adicionado 4 mL de diclorometano na célula de extração iniciando-se o processo automático de extração. Após a extração, transfere-se o extrato para o copo concentrador do equipamento Turbovap modelo II. Concentra-se o extrato até o volume de 1mL. Para a determinação do teor de óleo e graxas, o extrato em um frasco é mantido em banho-maria (45°C) e purgado com nitrogênio até a secura. Da diferença entre o peso do frasco limpo e o do frasco com o extrato seco, quantifica-se a massa de óleo extraída da amostra de solo.

4.4.2.4. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais

A análise dos hidrocarbonetos de petróleo totais (HPT) em amostras de solo foi realizada no extrato obtido no item 4.4.2.3., por cromatografia gasosa, segundo a metodologia EPA 8015B (USEPA, 1996a). O equipamento usado foi um HP 5890 com coluna cromatográfica HP-5.

4.4.2.5. Determinação de Famílias Químicas

A obtenção de famílias químicas (hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos aromáticos, resinas e asfaltenos) foi feita por cromatografia líquida de média pressão (marca Magot) usando coluna de vidro com eluição gravitacional, segundo o método Petrobras PE-3C-00368-0 (PETROBRAS, 2001a).

4.4.2.6. Microrganismos Heterotróficos Totais

A suspensão original do solo foi preparada utilizando-se 20g de solo e 95mL de solução salina 0,85% (p/v). Após o preparo, a suspensão é submetida à agitação a 150 rpm, por

20 minutos. A determinação do número de microrganismos heterotróficos totais é feita pela técnica do número mais provável (NMP), utilizando-se meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB). Preparam-se sucessivas diluições da suspensão original em meio TSB até atingir a diluição 10^{-9} , utilizando-se 3 tubos por diluição. A incubação é feita a 30°C por 48h. Ao término do ensaio, a quantificação é feita com o emprego de tabela de NMP.

4.4.2.7. *Microrganismos Degradadores de Hidrocarbonetos*

As populações de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos foram determinadas pela técnica do número mais provável (NMP), utilizando-se meio mineral Bushnell-Haas, respectivamente, conforme o método Petrobras PE-3E-00547-0 (PETROBRAS, 2003d). O meio mineral Bushnell-Haas tem a seguinte composição:

Sulfato de magnésio (MgSO_4)	0,20 g/L
Cloreto de cálcio (CaCl_2)	0,02 g/L
Fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4)	1,00 g/L
Fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4)	1,00 g/L
Nitrato de amônio (NH_4NO_3)	1,00 g/L
Cloreto férrico (FeCl_3) – solução 60% (p/v)	2 gotas
Água destilada	1000 mL

20 g de amostra de solo são transferidas para um frasco contendo 95 mL de solução salina 0,85% (m/v). Em seguida, iniciam-se diluições sucessivas da amostra inicial até se atingir a diluição 10^{-6} , em microplacas. Adiciona-se em cada poço da microplaca, 5µL de petróleo de referência (tipo Árabe Leve). A incubação é feita durante sete dias a 30°C, quando se observa diariamente alteração da turbidez do meio de cultura e o desaparecimento do petróleo. Ao término do ensaio, a quantificação é feita com o emprego de tabela de NMP.

4.4.2.8. *Granulometria e Textura do solo*

As análises foram realizadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, conforme descrito no item 4.3.2.3.

4.4.2.9. *Nitrogênio total no solo*

A análise foi realizada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, segundo o procedimento descrito no item 4.3.2.4.

4.4.2.10. *Fósforo assimilável no solo*

A análise foi realizada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, conforme descrito no item 4.3.2.5.

4.4.2.11. *Método de Avaliação de Toxicidade por Microtox*

A avaliação da toxicidade das amostras de solo virgem e contaminada com óleo foi determinada conforme procedimento descrito na norma L5.227 (CETESB, 2001b), complementados por solubilização da amostra de solo em água destilada (1:4), seguida de centrifugação (6000 rpm) e ajuste osmótico. Os testes foram conduzidos com quatro diluições sucessivas a partir deste extrato aquoso.

O teste consiste em expor uma suspensão de uma cultura de bactérias da espécie *Vibrio fischeri* a diferentes concentrações da amostra. A toxicidade é medida em termos de redução da luminescência emitida naturalmente pela bactéria. A concentração efetiva da amostra que causa 50% do efeito medido (CE50) é obtida em leituras após 5 e 15 minutos de exposição. A luminescência é medida no sistema Microtox®, que consiste de um fotômetro com controle de tempo e temperatura integrado a um computador para compilação dos dados e cálculo dos resultados.

As condições do teste de toxicidade com *Vibrio fischeri* estão resumidas na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Condições do teste de toxicidade com *Vibrio fischeri*.

PARÂMETRO	CONDIÇÃO ESTABELECIDADA
Tipo de teste	Agudo, estático, sem renovação.
Água de diluição	NaCl 2%
Frasco teste	Cubeta de borossilicato
Volume de solução	1 mL
nº de organismos/frasco	Suspensão de células (1 milhão de bactérias)
nº de réplicas	1
Luminosidade	Sem luz
Fotoperíodo	Não tem
Temperatura	15 °C
Agitação	Não tem
Tempo de exposição	5 e/ou 15 minutos
Parâmetro final de avaliação	Inibição da emissão de luminescência
Leitura	Fotômetro de absorção de luz (MICROTOX 500)
Expressão dos resultados	CE50 _{5minutos} e/ou CE50 _{15minutos}
Cálculo estatístico	Programa computacional do próprio equipamento
Substância de referência	Sulfato de cobre

O controle do teste é feito mantendo-se um grupo de organismos sob as mesmas condições daqueles expostos à amostra, mas apenas com o meio apropriado, isento de qualquer contaminante. Além disso, cada teste ou lote de testes deve ser acompanhado de um teste de sensibilidade com uma substância de referência padrão, que tem sua toxicidade conhecida, para verificar se os organismos estão respondendo dentro da faixa de sensibilidade previamente estabelecida para as condições de laboratório. Para o teste com *Vibrio fischeri*, a substância padrão utilizada foi o sulfato de cobre.

São consideradas tóxicas amostras que causam efeitos em no mínimo 50% dos organismos-teste em qualquer concentração. São consideradas não tóxicas amostras que, sem qualquer diluição, ou seja, na maior concentração testada, não apresentam efeitos adversos superior ao limite de aceitação para o controle.

4.4.2.12. Método de Avaliação de Toxicidade pela Inibição no Crescimento de Raízes

O método de avaliação de toxicidade pela inibição no crescimento das raízes empregado foi o ISO número 11269-1 (ISO, 1993). Empregaram-se sementes de cevada - *Hordeum vulgare*, germinadas e plantadas no solo com o comprimento da radícula inferior a 2mm. Os testes foram realizados com solo padrão alemão LUFA 2.2 como controle. As principais características deste solo estão mostradas na Tabela 4.6.

Cada solo testado foi peneirado (4 mm), antes do seu uso, e replicado 3 vezes. Os testes foram realizados em câmara de crescimento a uma temperatura na faixa de 18°C (mínimo) a 24°C (máximo) e iluminação de 13000 ± 2000 luxes (16 horas por dia). As mudas (seis por vaso) foram permitidas crescer por exatamente 4 dias. Depois, o comprimento da raiz e do broto de cada muda foi determinado. Os testes foram realizados nos laboratórios da ECT Oekotoxikologie GmbH, em Flörsheim, Alemanha.

Tabela 4.6 – Propriedades dos solos padrões usadas como controles adicionais ao teste.

Parâmetros	LUFA 2.2	LUFA 2.3
Carbono orgânico [%]	$2,26 \pm 0,12$	$1,02 \pm 0,17$
Partículas < 0,02 mm [%]	$15,7 \pm 2,6$	$20,8 \pm 2,6$
pH (0,01 mol CaCl ₂)	$5,8 \pm 0,3$	$6,3 \pm 0,4$
Capacidade Troca Catiônica [meq/100 g]	11 ± 2	10 ± 2
Distribuição de tamanho de partículas de acordo com o Dep. de Agricultura dos EUA		
< 0,002 mm [%]	$8,0 \pm 1,1$	$8,5 \pm 1,4$
0,002 – 0,05 mm [%]	$14,9 \pm 2,6$	$29,2 \pm 3,2$
0,05 – 2,0 mm [%]	$77,1 \pm 3,1$	$62,3 \pm 4,1$
Tipo de solo	areia franca	franco arenoso
Capacidade de campo [g/kg solo]	486 ± 41	352 ± 34
Massa por volume [g/L]	1148 ± 40	1335 ± 85

4.4.2.13. Método de Avaliação de Toxicidade pela Germinação

O método empregado para a avaliação de toxicidade pela germinação foi o ISO número 11269-2 (ISO, 1995). Sementes de *Avena sativa* (aveia) e de *Brassica napus* (nabo) foram plantadas em solo de controle padrão (LUFA 2.3, ver características na Tabela 4.6), um solo específico de controle e nas amostras tratadas, onde foram permitidos brotar e crescer. Cada solo testado foi peneirado (4 mm), antes do seu uso, e replicado 4 vezes. O desenvolvimento das plantas foi observado por 19 dias seguintes ao dia em que pelo menos 50% das plantas brotou no solo controle (dia 0 do teste). O teste foi realizado em câmara de crescimento a uma temperatura na faixa de 18°C (mínimo) a 24°C (máximo) e iluminação de 13000 ± 2000 luxes (16 horas por dia). Os testes foram realizados nos laboratórios da ECT Oekotoxikologie GmbH, em Flörsheim, Alemanha.

4.5. Terceira Fase dos Experimentos – Reatores em Coluna

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Departamento de Gerenciamento de Resíduos (*Abfallwirtschaft*) da Universidade Técnica de Hamburgo-Harburgo (*Technische Universität Hamburg-Harburg*) - TUHH.

4.5.1. Procedimentos Experimentais

As condições das duas séries de testes estão mostradas na Tabela 4.7. Na série BR1, os testes com contaminação de óleo foram feitos em duplicata para avaliar a dispersão dos resultados em função de heterogeneidade do solo. O reator BR1-1 foi usado para medir a respiração do solo enquanto que o reator BR1-2 foi usado para medir a influência da casca de arroz na produção de CO₂. O teor de óleo usado foi de 5% (m/m) em relação ao solo seco. O solo usado foi o C sem ter sido peneirado.

Tabela 4.7 – Condições dos testes.

Série	Reator	Teor de óleo [%, m/m]	Tipo de Estruturante	Relação Solo/ Estruturante (volumétrica)	Massa de solo seco [g]	Vazão média de ar [L/h]
BR1	BR1-1	sem	sem	—	2171,44	2,29
	BR1-2	sem	casca de arroz	10:1	2175,66	2,84
	BR1-3	5	sem	—	2042,85	2,44
	BR1-4	5	sem	—	2045,45	2,28
	BR1-5	5	casca de arroz	10:1	2036,58	2,26
	BR1-6	5	casca de arroz	10:1	2059,70	2,27
BR2	BR2-1	sem	sem	—	2511,15	2,52
	BR2-2	sem	composto	10:1	2504,58	2,62
	BR2-3	5	sem	—	2397,61	2,57
	BR2-4	5	composto	10:1	2563,61	2,47
	BR2-5	3	sem	—	2460,42	2,46
	BR2-6	3	composto	10:1	2460,84	2,52

A segunda série de experimentos – BR2 – empregou também o solo C. O reator BR2-1 foi usado para medir a respiração do solo enquanto que o reator BR2-2 foi usado para medir a influência do composto na produção de CO₂. Nos testes da segunda serie (BR2) foi testado o composto como material estruturante e variou-se a concentração de contaminante (3 e 5% em massa).

A Figura 4.9 mostra um diagrama simplificado do sistema utilizado para a avaliação do balanço de massa de carbono no processo de biodegradação. O sistema é composto de seis reatores (colunas) de vidro com volume de 3,4L (volume de headspace = 0,56L e volume abaixo da tela de contenção do solo = 0,38L), cada. O ar que circula pelos reatores vem do exterior do laboratório e passa por um sistema de limpeza com filtro de carvão ativado, de fabricação da Bernath Atomic GmbH & Co., modelo 2000, antes de ser injetado nas colunas. O ar é distribuído para os seis reatores por meio de um sistema de seis válvulas, cuja vazão de ar é controlada por um sistema de controle eletrônico de vazão da Bronkhorst High-Tech B.V., modelo F 201D-FD. O controlador eletrônico de vazão possui um canal para cada válvula, cujo parâmetro controlado é corrente elétrica, na faixa de 4 a 20 mA (correlação linear da faixa de 0 a 6 L/h). O acompanhamento da vazão, temperatura ambiente, teor de CO₂ e COT (carbono orgânico total) é feito pelo aplicativo WorkBench PC 2.0 para DOS. A medição destes parâmetros é feita em um reator por vez, durante uma hora. Os valores registrados nos 30 minutos iniciais não são contabilizados no cálculo da média, para que qualquer possível instabilidade no sistema não seja levada em conta no calculo da média. Enquanto isso, as outras 5 válvulas continuam controlando o fluxo de ar para os outros reatores, sem qualquer registro dos parâmetros.

O ar que sai do reator passa por um banho a 11 °C para retirada de umidade antes de entrar no analisador de CO₂ (analisador infravermelho de fabricação da Analytical Development Company Limited, tipo SBE). Este equipamento tem dois canais de faixa de concentração de CO₂ (0 – 1% e 0 – 10%). O gás de calibração usado é uma mistura de 0,9% de CO₂ e 99,1% de nitrogênio, que é injetado semanalmente.

O ar, após passar no analisador de CO₂, é injetado no analisador de COT, que possui um detector FID (usa hidrogênio para a chama), de fabricação da Bernath Atomic GmbH & Co., modelo 3002 RC. A vazão de entrada do gás no analisador de CO₂ é mantida constante em 60 L/h (2,5 L/h de gás efluente da coluna e 57,5 L/h de ar do ambiente

passado pelo sistema de carvão ativado). O analisador possui 5 canais de faixa de concentração de COT (0 – 10 ppm; 0 – 100 ppm; 0 – 1000 ppm; 0 – 10000 ppm; 0 – 100000 ppm). O sistema está ajustado automaticamente para iniciar sempre empregando o canal de maior faixa de concentração de COT (0 – 100000 ppm). O gás de calibração usado é ar sintético com 77,3 ppm de propano, que é injetado semanalmente.

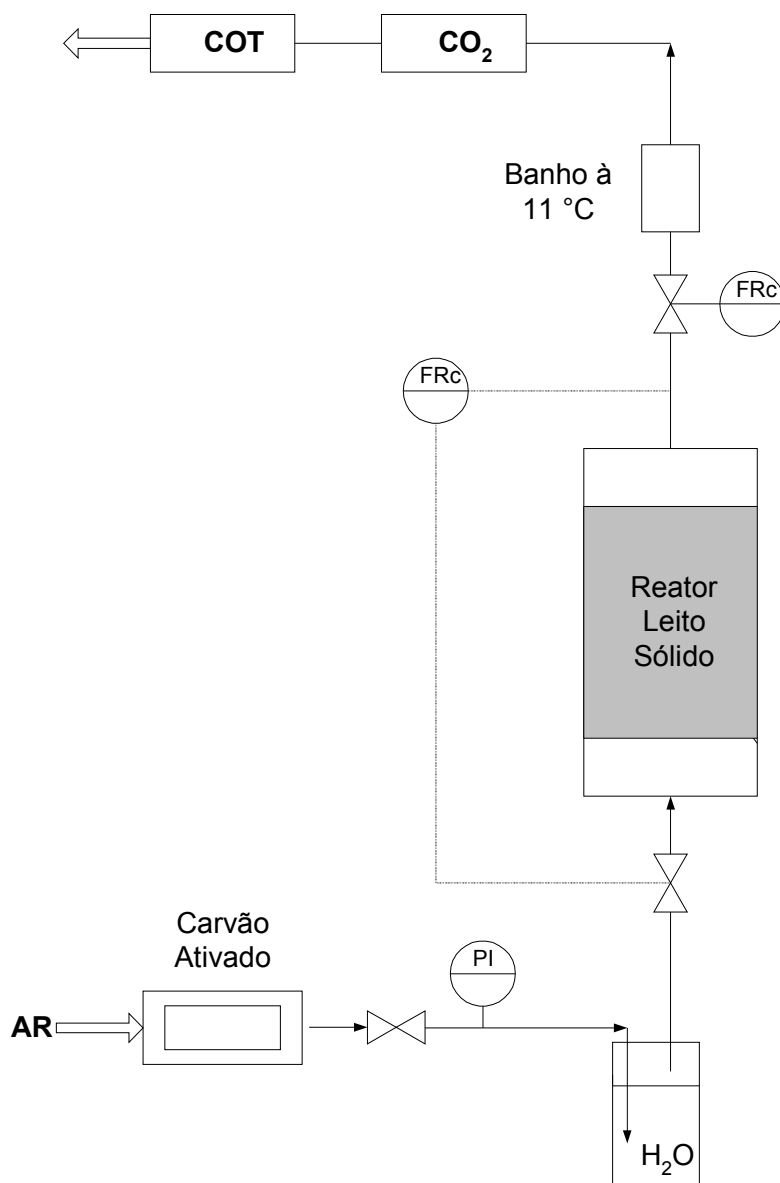


Figura 4.9 – Diagrama do sistema de biorreatores.

A Figura 4.10 mostra a sala climatizada onde os ensaios com os biorreatores foram realizados. A temperatura da sala foi mantida a 30 °C em todos os experimentos.

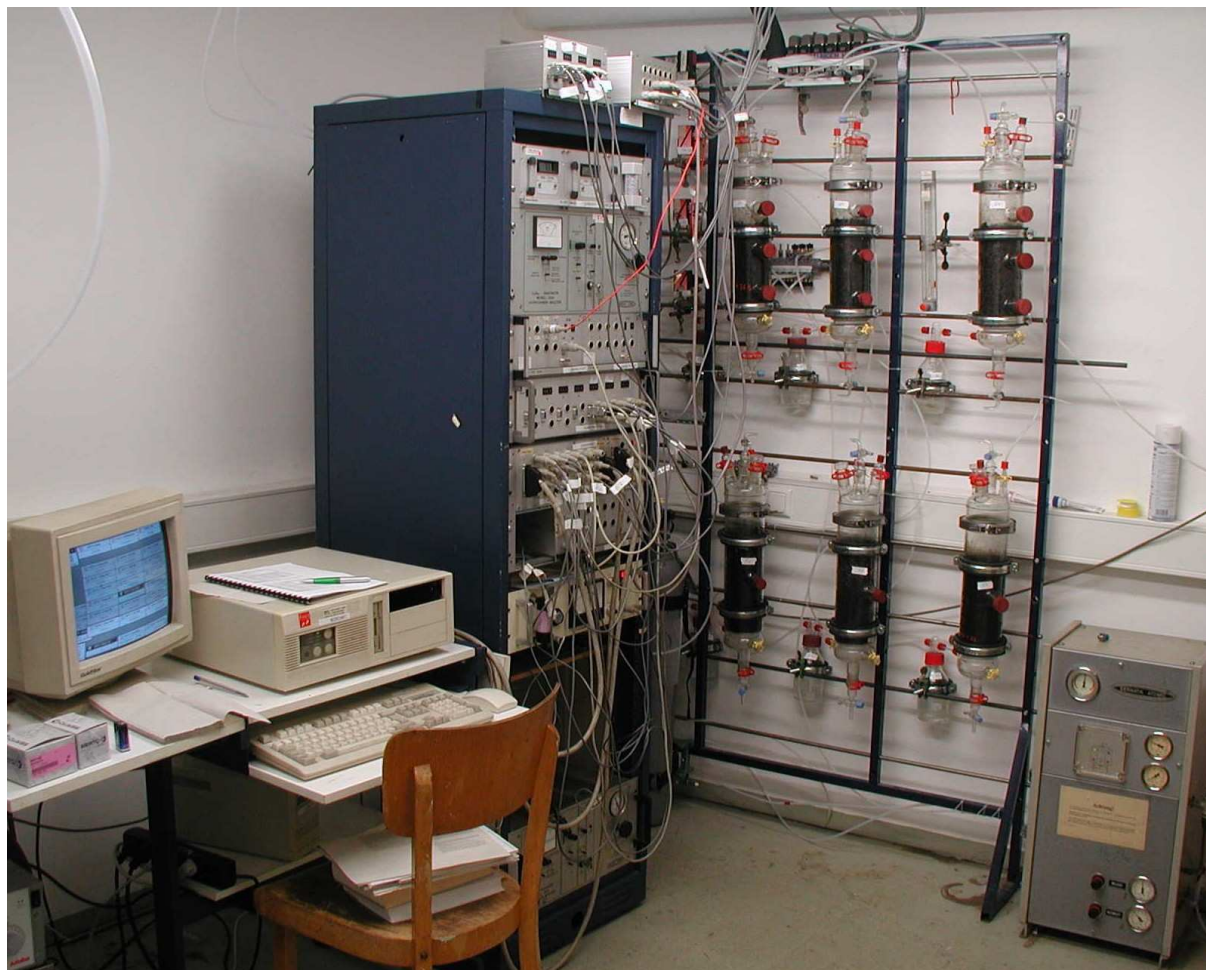


Figura 4.10 – Sistema de biorreatores em sala climatizada a 30 °C.

Os biorreatores foram montados em “rack” (Figura 4.11). A foto em “close” de um dos reatores é vista na Figura 4.12, onde se vê o umidificador da corrente de ar que entra no reator, em baixo à esquerda.



Figura 4.11 – Detalhe do conjunto de biorreatores.

O sistema de controle de vazão de ar e medição em linha de CO_2 e COT é mostrado na Figura 4.13. A apresentação gráfica do aplicativo WorkBench é mostrada na tela do computador (Figura 4.14).



Figura 4.12 – Detalhe do biorreator.

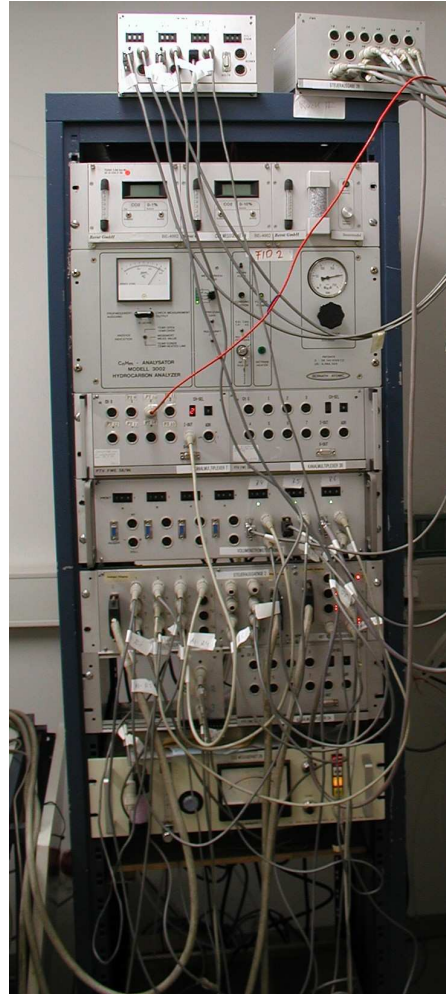


Figura 4.13 - Sistema de controle de vazão de ar e medição em linha.

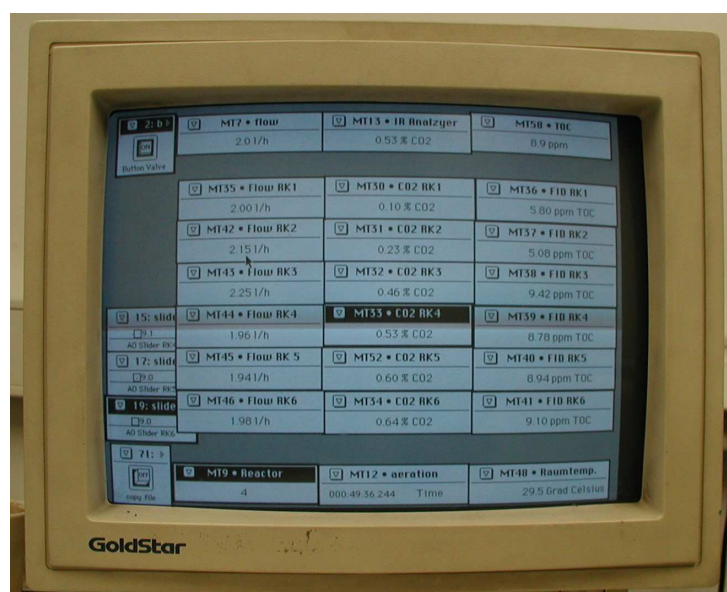


Figura 4.14 - Apresentação gráfica do aplicativo WorkBench.

4.5.2. Métodos Analíticos

4.5.2.1. Extração de óleo

O método de extração de óleo é um método modificado do então existente no Gaslabor do Departamento de Gerenciamento de Resíduos da TUHH. De cada amostra de solo contaminado com óleo retiraram-se no mínimo 3 alíquotas, 10g cada. Para solos não contaminados, foi amostrada somente uma alíquota. Cada alíquota é colocada em tubo de centrífuga de Teflon com tampa rosqueada com capacidade de 50mL. Usa-se um teste branco para cada série de extração.

Em seguida, adicionam-se 20 mL de acetona em cada tubo, incluindo o do teste em branco, e agita-se vigorosamente o tubo por alguns segundos. Depois se adicionam 10 mL de heptano somente no tubo do teste em branco. Nos frascos contendo alíquotas de solo são adicionados 10 mL de heptano contendo 30mg de C9 e 30mg de C40 (padrões internos), e agita-se vigorosamente o tubo por alguns segundos. Os tubos são colocados em agitador por 30 minutos (625 agitações por minuto). Para tanto, foi usado o agitador da Ika Labortechnik, modelo HS 501 digital.

Posteriormente, adiciona-se água deionizada em cada tubo até quase a boca de cada tubo e agita-se vigorosamente tubo por alguns segundos. Depois, colocam-se os tubos em uma centrífuga refrigerada com uma aceleração de 10000 g, a 15°C e durante 10 minutos. Após a centrifugação, a fase oleosa (acima da fase aquosa) é transferida cuidadosamente para outro tubo de centrífuga de Teflon usando-se pipeta Pasteur. A seguir, adiciona-se pela segunda vez água deionizada à fase oleosa até a metade do tubo e agita-se vigorosamente tubo por alguns segundos. Colocam-se a seguir os tubos na centrífuga refrigerada com uma aceleração de 10000 g, a 15°C e durante 10 minutos. Depois, a fase oleosa é transferida cuidadosamente para um frasco de vidro com uma pipeta Pasteur.

Após esses procedimentos, se inicia a etapa de “clean up” do extrato (retirada da umidade remanescente). Para tanto, utiliza-se uma bureta e adicionam-se os seguintes materiais abaixo descritos, respeitando a seguinte sequência de enchimento:

1. Lã de vidro;

2. 2g de Na₂SO₄, previamente seco a 550 °C por 2 horas e armazenado em dessecador;
3. 2g de Florisil® (84.0% SiO₂, 15.5% MgO, e 0.5% Na₂SO₄ - 60/80 mesh, previamente seco a 160 °C por 16 horas e armazenado em dessecador);
4. 2g de Na₂SO₄, previamente seco a 550 °C por 2 horas e armazenado em dessecador;
5. Lã de vidro.

Finalmente, o extrato passado na bureta é transferido para fracos cromatográficos.

4.5.2.2. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais

O extrato obtido no item anterior foi injetado em cromatógrafo gasoso Varian, modelo Chrompack CP 9002, detector FID. A coluna cromatográfica usada foi a BPX-5. A programação de temperatura do forno usada se inicia com 45°C (mantida constante por 3 minutos) com aquecimento de 30 por minuto até atingir 360°C (mantida constante por 5 minutos). Esta programação foi usada para quantificar os hidrocarbonetos na faixa de 9 a 40 carbonos.

4.5.2.3. Umidade

A umidade nas amostras de solo foi determinada conforme o método interno do Gaslabor da TUHH. Inicialmente, as raízes e pedras são retiradas da amostra de solo por intermédio de uma peneira. Após boa homogeneização, 10g da amostra são colocadas em placa de Petri (em triplicata), que são transferidas para estufa previamente regulada para 105 °C ± 0,1. Após 24 horas em estufa, as placas são transferidas para um dessecador, por aproximadamente 30 minutos. O cálculo da umidade é feito por gravimetria, subtraindo-se a massa final da massa inicial, considerando a média das três réplicas.

4.5.2.4. pH

O pH das amostras de solo virgem e contaminado com óleo foi determinado conforme o método interno do Gaslabor da TUHH, previamente descrito no item 4.3.2.1.

4.5.2.5. Massa do Carbono Microbiano (Método SRI)

O procedimento usado para a quantificação da massa de carbono microbiano baseia-se no método SRI modificado, desenvolvido pelo Professor Theodore Beck da *Bayerische Landesanstalt für Bodenkunde und Pflanzenbau* (ALEF, 1994). Ele consiste em colocar 50g da amostra de solo com 0,5 g de glicose em frasco de 250 mL, em duplicata. Os frascos são colocados no respirômetro Sapromat, com a temperatura regulada à 22°C. Observa-se a curva de evolução do consumo de oxigênio nas primeiras 2 a 4 horas. A taxa de consumo de oxigênio obtida da inclinação da curva, expressa em mg de O₂/h.100 g de solo seco, é multiplicada pelo fator 28 para fornecer a massa de carbono relativa aos microorganismos presentes na amostra de solo, em mg de C de biomassa por 100 g de solo seco. O fator 28 tem origem na equação desenvolvida por Anderson e Domsch (1978) que relaciona a produção de CO₂ com a quantidade de C da biomassa presente no solo. Aproximadamente 40 mg de C de biomassa produz 1mL de CO₂ por hora.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Respirometria

Os resultados de consumo de oxigênio dos testes de respirometria realizados no CENPES estão apresentados na Tabela 5.1. Do consumo de O₂ já está descontado o consumo dos controles. O solo usado foi o A1 e a concentração inicial de petróleo variou de 3% a 10%, m/m. Os testes tiveram a duração de 288 horas, desse modo o consumo de oxigênio corresponde a quantidade total consumida nesse intervalo de tempo em relação à massa de óleo originalmente presente no solo.

Tabela 5.1 – Consumo médio de oxigênio nos testes de respirometria realizados no CENPES.

TESTE	CONDIÇÃO	Consumo médio de O ₂ (mg/g de óleo.h)		
		Concentração de óleo (m/m)		
		3%	5%	10%
SAP-1	Controle (solo + óleo) (22°C)	0,0218	0,0157	0,0068
SAP-2	+ Nutriente (PK) (22°C)	0,0301	—	0,0146
SAP-3	+ Serragem (10% m/m) + PK (22°C)	0,1845	0,2432	0,1016
SAP-4	+ Serragem (10% m/m) + PK (30°C)	0,4748	0,3261	0,1543
SAP-5	+ Torta de cana (10% m/m) + PK (30°C)	—	0,0206	—
SAP-5	+ Fibra de coco (10% m/m) + PK (30°C)	—	0,0441	—
SAP-6	+ Casca de pinho (10% m/m) + PK (30°C)	0,0503	—	—
SAP-6	+ Casca de pinho (20% m/m) + PK (30°C)	0,0400	—	—
SAP-7	+ Casca de arroz (10% m/m) + PK (30°C)	0,0236	—	—

A concentração inicial de óleo cru teve influência na taxa de consumo de oxigênio, pelos resultados apresentados na Tabela 5.1. Os testes com a concentração inicial de óleo igual a 3% mostraram valores de consumo de oxigênio maiores em praticamente todos os testes, quando comparados com os dos testes com 5% e 10% de óleo. Os valores do consumo de oxigênio alcançados nos ensaios com 3% de óleo foram aproximadamente o dobro dos obtidos nos testes com 10% de óleo. Os valores do consumo de oxigênio encontrados nos testes com 5% de óleo ficaram, de modo geral,

entre os obtidos nos testes com 3 e 10% de óleo. O único teste no qual o efeito da concentração do contaminante não seguiu este padrão foi o SAP-3, cujo resultado com 5% de óleo apresentou o maior consumo de oxigênio (0,2432 mg/g óleo.h).

Com o aumento da concentração de óleo há um aumento das demandas de nutrientes e aceptores de elétrons, nem sempre supridas facilmente nas condições dos experimentos. A transferência de massa dos constituintes do óleo da fase livre ou sorvido nas partículas para as fases aquosa e gasosa também seria um fator limitante para o processo de biodegradação. Além disso, as concentrações dos compostos tóxicos presentes no óleo aumentam com a quantidade de óleo, causando a elevação do efeito tóxico destes compostos nas bactérias biodegradadoras de óleo.

A adição de nutrientes (fósforo e potássio) produziu um aumento no consumo de oxigênio, nos ensaios com 3% e 10% de concentração inicial de óleo. No teste SAP-2 (3% de óleo), o aporte de nutrientes incrementou os valores de consumo de oxigênio de 0,0218 para 0,0301 mg O₂/g óleo.h. Já no caso do ensaio com 10% de óleo (SAP-2), o aumento da demanda de oxigênio foi de 0,0068 para 0,0146 mg O₂/g óleo.h.

O efeito da temperatura na biodegradação do óleo foi também estudado. O incremento na temperatura de 22°C para 30°C elevou a taxa de consumo de oxigênio nos ensaios com 3% de óleo em mais de duas vezes, de 0,1845 (SAP-3) para 0,4748 mg O₂/g óleo.h (SAP-4). Este aumento foi menos acentuado nos testes com 10% de contaminante. Provavelmente, neste caso o fator limitante para a biodegradação do óleo tenha sido a transferência de massa dos contaminantes, e não aspectos microbiológicos controlados pela temperatura.

O primeiro material estruturante testado foi a serragem. Este material é considerado um bom estruturante (MCMILLEN *et al.*, 1996, VON FAHNESTOCK *et al.*, 1998). A adição da serragem causou um aumento na taxa de consumo de oxigênio nos ensaios com 3% de óleo, quando o valor subiu de 0,0301 (SAP-2) para 0,1845 mg O₂/g óleo.h (SAP-3). No caso dos ensaios com 10% de óleo, o incremento foi ainda mais expressivo, passando de 0,0146 para 0,1016 mg O₂/g óleo.h.

O segundo material testado foi a torta de cana, que é um rejeito da fabricação de açúcar, facilmente encontrado em Sergipe. O seu teor de carbono é de 110,9 g/kg, nitrogênio de 4,9 g/kg, fósforo assimilável de 2.650 mg/kg, pH de 7,6 e CTC de 43,7 cmol/kg. A sua

utilização foi testada somente com 5% de óleo e o seu efeito no consumo de O₂ foi bem negativo (0,0206 mg O₂/g óleo.h), comparando-se com o valor obtido com a serragem. Uma possível razão para este baixo desempenho seria o alto teor de carbono orgânico existente no material (110,9 g/kg), além da grande disponibilidade de nutrientes, o que estimulou a metabolização desse carbono pelos microorganismos, em detrimento do consumo dos hidrocarbonetos.

O uso da fibra de coco como material estruturante também não apresentou um bom desempenho, quanto ao consumo de oxigênio. Este foi um pouco maior (0,0441 mg O₂/g óleo.h) que o obtido com a torta de cana.

O consumo de oxigênio alcançado com o uso da casca de pinho (0,0503 mg O₂/g óleo.h) foi bem inferior ao obtido com serragem (0,4748 mg O₂/g óleo.h). Também foi observado o baixo desempenho da casca de arroz (0,0236 mg O₂/g óleo.h). Este baixo desempenho da casca de arroz pode ser explicado pela baixa relação solo e material estruturante (S/ME) em base volumétrica usada no teste, aproximadamente igual a 1. Esta baixa relação mostrou ser inibitória para a biodegradação dos hidrocarbonetos presentes no solo.

A variação da quantidade do material estruturante foi estudada no ensaio SAP-6, onde a casca de pinho foi adicionada em duas relações diferentes S/ME (4:1 e 9:1). O valor da taxa de consumo de oxigênio caiu com a diminuição da relação S/ME, isto é, com o aumento da proporção de casca de pinho utilizada. Uma possível explicação para este comportamento seria o efeito negativo da resina de pinho na biodegradação do óleo (CLARKSON *et al.*, 1995). Outra possibilidade seria o incremento da toxicidade relacionada com a liberação de toxinas produzidas por fungos. Seabra e colaboradores (2005) reportaram que o aumento do emprego de material celulósico, no caso casca de arroz, induziu o aparecimento de uma grande quantidade de fungos nas primeiras semanas de tratamento, que desapareceram posteriormente. Neste mesmo experimento, foi também observado um acréscimo da toxicidade por meio do teste de Microtox, durante este mesmo período.

A segunda série de testes de respirometria foi realizada nos laboratórios da TUHH. As condições dos testes realizados estão apresentadas na Tabela 4.4. Foram usadas amostras dos solos C e B2. O teor de óleo escolhido nesta série de ensaios foi de 5%

(m/m) e a temperatura de 30°C.

Foram testados casca de coco, casca de arroz e composto. Contudo, nessa série, as relações solo/material estruturante (S/ME) usadas foram em base volumétrica. Na série de experimentos realizada no CENPES, o uso da relação S/ME em base mássica levou ao emprego de relações S/ME volumétricas muito elevadas, em função da baixa massa específica de alguns materiais estruturantes usados, como no caso da casca de arroz (aproximadamente 125 mg/mL, em base úmida). Este grande volume de material estruturante levou a uma diminuição na eficiência da biodegradação do óleo cru, ocorrido com a casca de arroz. Neste caso, os microrganismos presentes no solo preferiram degradar os compostos orgânicos presentes na casca em detrimento do óleo. Além disto, não é interessante utilizar relações S/ME elevadas (acima de 30%), pois neste caso estaríamos diluindo o solo contaminado, condição normalmente não aceita pelos órgãos de controle ambiental.

Na Tabela 5.2, os resultados de consumo de oxigênio médio por massa de óleo por hora são apresentados em diferentes tempos de ensaio. As faixas de valores de consumo de oxigênio foram obtidas em mais de um teste desenvolvido em uma mesma condição.

Em todos os ensaios com o solo C, observou-se uma diminuição da taxa média de consumo de oxigênio com o tempo. O solo contaminado sem o aporte de material estruturante (SAP-8) apresentou valores do consumo médio de oxigênio na faixa de 0,3083 a 0,3822 mg O₂/g óleo.h, após 110 horas de ensaio. O consumo de oxigênio diminui com o tempo, chegando a 0,1657 mg O₂/g óleo.h, após 685 horas de ensaio.

Este padrão se repetiu também nos ensaios em que houve a adição de um material estruturante. Por exemplo, no ensaio com adição de casca de arroz (10%, m/m) e sem o emprego de nutrientes (SAP-10), o consumo médio de oxigênio caiu da faixa de 0,4222-0,5099 mg O₂/g óleo.h (tempo de 110h) para 0,2667 mg O₂/g óleo.h (tempo de 492 horas). Isto sugere que o decréscimo da taxa biodegradação do óleo cru no transcorrer do teste é possivelmente função do desaparecimento dos compostos mais facilmente biodegradáveis. Com o tempo os compostos remanescentes se mostraram mais recalcitrantes à biodegradação em função de sua menor biodisponibilidade.

A adição de potássio e fósforo (PK) ao Solo C, na relação mássica C/P/K igual a 100/1/1, não mostrou qualquer efeito estatisticamente significativo na biodegradação do

óleo. O teor de potássio assimilável encontrado neste solo é de 650 mg/kg, bastante alto, quando comparado com os teores dos solos A e B.

O uso da casca de arroz proporcionou um incremento no consumo médio de oxigênio (0,4222 - 0,5099 mg O₂/g óleo.h, tempo de 110 horas), quando comparado com o ensaio sem o aporte de material estruturante (0,3083 - 0,3822 mg O₂/g óleo.h). Este incremento de consumo médio de oxigênio não se alterou com o aporte de PK.

A utilização do composto, a 10% m/m, levou a um acréscimo considerável no consumo de oxigênio, 78% a mais do obtido sem a adição de material estruturante. Obteve-se 0,6153 mg O₂/g óleo.h no tempo 110 horas, contra 0,3083 - 0,3822 mg O₂/g óleo.h no ensaio sem o uso de estruturante. Com o tempo esta diferença foi diminuindo, em função da redução da biodisponibilidade das substâncias remanescentes. Mas ainda assim, manteve-se uma diferença de cerca de 74% para mais no consumo de oxigênio, no tempo de 492 horas. Quanto ao emprego da casca de coco (na faixa de tamanho de 2 a 5 mm), não se verificou qualquer benefício na biodegradação dos hidrocarbonetos.

Tabela 5.2 - Consumo médio de oxigênio nos testes de respirometria realizados na TUHH.

Solo	Teste	Condição	Concentração do ME	Consumo de O ₂ (mg O ₂ /g óleo.h)			
				Tempo = 110h	Tempo = 288h	Tempo = 492h	Tempo = 685h
A4	SAP-8	Solo + óleo	—	0,3083 – 0,3822	0,2124 – 0,2375	0,1790 – 0,2008	0,1657
	SAP-9	Solo + óleo + PK	—	0,3696	—	—	—
	SAP-10	Solo + óleo + casca de arroz	10 % (v/v)	0,4222 – 0,5099	0,3103	0,2667	—
	SAP-11	Solo + óleo + casca de arroz + PK	10 % (v/v)	0,4785	—	—	—
	SAP-12	Solo + óleo + casca de coco	10 % (v/v)	0,2824	0,1844	0,1516	0,1394
	SAP-13	Solo + óleo + composto	10 % (v/v)	0,6153	0,4108	0,3318	—
B2	SAP-14	Solo + óleo + pH + PK	—	0,0526	0,0483	0,0409	0,0432
	SAP-15	Solo + óleo + casca de arroz + pH+ PK	10 % (v/v)	0,0688	0,0494	0,0374	0,0408
	SAP-16	Solo + óleo + composto + pH+ PK	10 % (v/v)	0,0687	0,0517	0,0415	0,0382
	SAP-17	Solo + óleo + composto + pH+ PK	20 % (v/v)	0,0741	0,0531	0,0412	0,0378

Uma série de experimentos foi realizada com o solo B, cujos resultados de respirometria podem ser vistos na Tabela 5.2. Os valores de taxa de consumo de oxigênio alcançados com o solo B foram bem inferiores aos dos ensaios com o solo tipo C. Uma possível explicação para esta diferença seria o baixo teor de carbono orgânico (3,4 g/kg) e de pH (5,1) encontrados no solo B. Isto manteria uma baixa densidade microbiana no solo, o que levaria à uma baixa atividade biodegradativa do óleo. Outra possibilidade seria o longo armazenamento do solo, superior a seis meses, antes do início dos testes. Isto levou a desidratação do solo, cujo teor de umidade antes do início dos testes era inferior à 2%. Isto também levaria a uma baixa densidade microbiana no solo.

Para o solo B, o aporte da casca de arroz apresentou uma melhoria na biodegradação do óleo nas primeiras 110 horas de teste (aumento de 30,8% no consumo de O₂), comparando-se com os resultados do ensaio sem estruturante. Com o transcorrer do ensaio a diferença de taxa de consumo de oxigênio entre as duas condições praticamente desapareceu no tempo de 288 horas, este aumento no consumo de O₂ foi de apenas 2%.

A utilização de composto, na concentração de 10% m/m, mostrou o mesmo comportamento da adição da casca de arroz, causando um incremento de cerca de 30% do consumo de oxigênio observado apenas nas primeiras 110 horas de teste. A partir do tempo 288 horas, este aporte não se mostrou vantajoso para o processo de biodegradação do contaminante. O aumento da quantidade de composto (20% m/m) gerou um maior incremento no consumo de oxigênio, de cerca de 40% em relação ao ensaio SAP-14, porém, observado apenas no período inicial do teste (110h).

Em resumo, verificou-se que o aporte de nutrientes (PK) e o uso de temperatura mais elevada (30°C) incrementaram a taxa de consumo de oxigênio relacionada à biodegradação do óleo cru. No caso do efeito da temperatura, este foi mais intenso nos sistemas com menores teores de óleo (Tabela 5.1). O efeito da aplicação de serragem com nutrientes foi muito mais intenso nos sistemas com teores de óleo mais elevados. Dentre os materiais empregados nos testes com o Solo C o composto foi aquele que mais incentivou a biodegradação do óleo. O desempenho da casca de arroz foi considerado bom, porém inferior ao do composto. Teores mais elevados de material estruturante não se mostraram benéficos para a biodegradação do óleo, produzindo em alguns casos efeitos deletérios.

O valor de consumo de oxigênio considerado adequado e apreciável (SAP-13) foi de 0,3316 mg de O₂/g de óleo.h. para 492 horas de teste. Isto corresponde a um valor acumulado de 163,2 mg O₂/g de óleo. Este valor está aquém da faixa obtida por Stegmann *et al.* (1991) – 350 a 1330 mg O₂/g de óleo, após 300 horas de ensaio. Contudo, no trabalho de Stegmann foi empregado um solo contaminado por óleo diesel, fração bem mais leve que o petróleo de Sergipe, empregado no presente trabalho. Além disso, a quantidade de óleo empregada por Stegmann foi seis vezes menor. Portanto, o nível de consumo alcançado no presente trabalho pode ser considerado bastante satisfatório.

5.2. Biopilhas em Bancada

5.2.1. Série 1

5.2.1.1. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais

Este tipo de experimento permitiu o acompanhamento dos teores de hidrocarbonetos de petróleo totais (HPT) extraíveis das amostras das biopilhas. A Tabela 5.3 mostra os resultados de remoção de HPT na primeira serie de ensaios, após 16 semanas de tratamento. São mostrados também os teores de HPT inicial (T0) e final (T16), os coeficientes de remoção de HPT e o número de amostragens por pilha para a sua obtenção, usando regressão linear, e os respectivos coeficientes de correlação (R^2).

Tabela 5.3 – Teores de HPT e constante de remoção de contaminante.

Pilha	% estruturante e frequência de revolvimento em dias	HPT [mg/kg solo seco]		Remoção após 16 semanas [%]	Coeficiente de remoção [dia ⁻¹]	R^2	Nº de amostras por pilha
		T0	T16				
P-1	14 d	38516,4	11889,9	69,13	0,0098	0,9488	4
P-2	10% arroz e 14 d	38688,5	12679,2	67,23	0,0093	0,9420	4
P-3	10% arroz e 28 d	40273,8	14488,2	64,03	0,0087	0,9656	4
P-4	10% arroz e 7 d	36323,9	14468,9	60,17	0,0081	0,9182	4
P-5	10% serragem e 14 d	43701,8	13876,5	68,25	0,0096	0,9530	4
P-6	10% coco e 14 d	39149,8	14862,4	62,04	0,0083	0,9702	4

Os resultados de remoção de HPT mostram que a percentagem de desaparecimento de HPT não teve grande variação entre as pilhas, variando de 60,17% a 69,13%. A pilha controle (P-1) foi aquela onde ocorreu a melhor remoção de HPT (69,13%). Isto sugere que o aporte dos estruturantes não apresentou benefício à remoção do petróleo.

Entre os materiais estruturantes utilizados, a casca de arroz e a serragem apresentaram resultados de remoção de HPT muito próximos entre si, 67,23 % e 68,25 %, respectivamente, e em relação ao controle. A casca de coco teve uma eficiência de remoção de HPT um pouco menor (62,04 %).

A influência da frequência de revolvimento do solo na remoção do óleo foi avaliada. Comparando-se os resultados obtidos nas pilhas P-2, P-3 e P-4, houve um desempenho levemente superior da pilha com o revolvimento do solo a cada 14 dias (Pilha P-2) – 67,23% de remoção de HPT. O pior desempenho foi obtido com o revolvimento a cada 7 dias, 60,17%. Com isso, pode-se inferir que a frequência de revolvimento do solo não teve influência significativa na eficiência de remoção dos HPT, nas condições e na escala testadas.

No sistema de biopilha, a cinética de biodegradação dos contaminantes orgânicos presentes no solo pode ser considerada de 1ª ordem, como sugerido por diversos autores (JØRGENSEN *et al.*, 2000; NAMKOONG *et al.*, 2002). Em relação aos valores de coeficiente de remoção encontrados, na faixa de 0,0081 a 0,0098 dia⁻¹, eles foram relativamente baixos quando comparados, por exemplo, a valores obtidos na biorremediação de solos contaminados por óleo diesel (0,036 a 0,124 dia⁻¹) (NAMKOONG *et al.*, 2002). Contudo, em experimentos com petróleo, foram encontrados coeficientes de 0,0032 dia⁻¹ (LUNDGREN *et al.*, 1997) e 0,0038 dia⁻¹ (CHACONAS *et al.*, 1997). Isto mostra que as eficiências de degradação obtidas nos experimentos em bancada foram superiores às encontradas em literatura para solos contaminados por petróleo.

Observa-se na Figura 5.1 um decréscimo no teor de HPT extraíveis mais acentuado nas oito primeiras semanas do teste. Da oitava à décima sexta semana, houve uma diminuição na taxa de desaparecimento de HPT em todas as pilhas. Uma possível explicação para este comportamento seria o decréscimo acentuado da quantidade dos compostos mais facilmente biodegradáveis nas 8 primeiras semanas de tratamento. Nas semanas subsequentes, a biodisponibilização dos compostos orgânicos presentes no óleo residual foi bastante diminuída, o que se refletiu em menores taxas de remoção dos poluentes no solo.

A Figura 5.2 mostra a taxa de remoção dos contaminantes em cada período de oito semanas em que se dividiu o ensaio, e no período total. Nas primeiras oito semanas de tratamento a pilha P-5 (com 10% de serragem) apresentou a maior taxa média de remoção, igual a 361,6 mg de HPT/kg.dia. As taxas médias de remoção de HPT diminuíram na segunda parte do experimento, sendo que as pilhas P-2 e P-5 apresentaram as maiores taxas médias, em torno de 170 mg de HPT/kg.dia. Para todo o

período do experimento, a pilha P-5 apresentou o melhor desempenho (266,3 mg de HPT/kg.dia). Estes valores são indicativos de um bom desempenho do sistema. Balda *et al.* (1998) conseguiram taxa média de desaparecimento de HPT de 71,2 mg de HPT/kg.dia, num tempo de tratamento de 12 meses para um solo arenoso contaminado por petróleo.

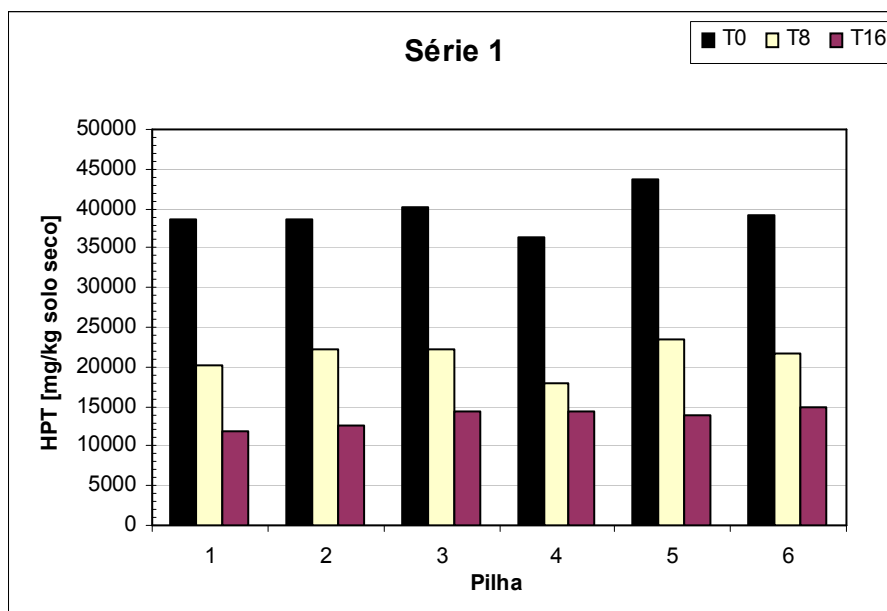


Figura 5.1 – Evolução dos teores de HPT nos ensaios com biopilhas – Série 1.

Os cromatogramas do óleo extraído de todas as pilhas estão apresentados das Figuras 5.3 a 5.8. O padrão da evolução dos picos dos cromatogramas com o tempo praticamente se repetiu em todas as pilhas. Já no tempo de quatro semanas os cromatogramas apresentavam os picos bem reduzidos em função do desaparecimento dos compostos mais leves. Isto ficou mais acentuado no tempo de 16 semanas. Convém ressaltar que o desempenho das seis biopilhas foi similar como atestam os dados quantitativos de HPT residual (Figura 5.1), de taxas médias de remoção de HPT (Figura 5.2) e os aspectos qualitativos dos cromatogramas mostrados nas Figuras 5.4 a 5.9.

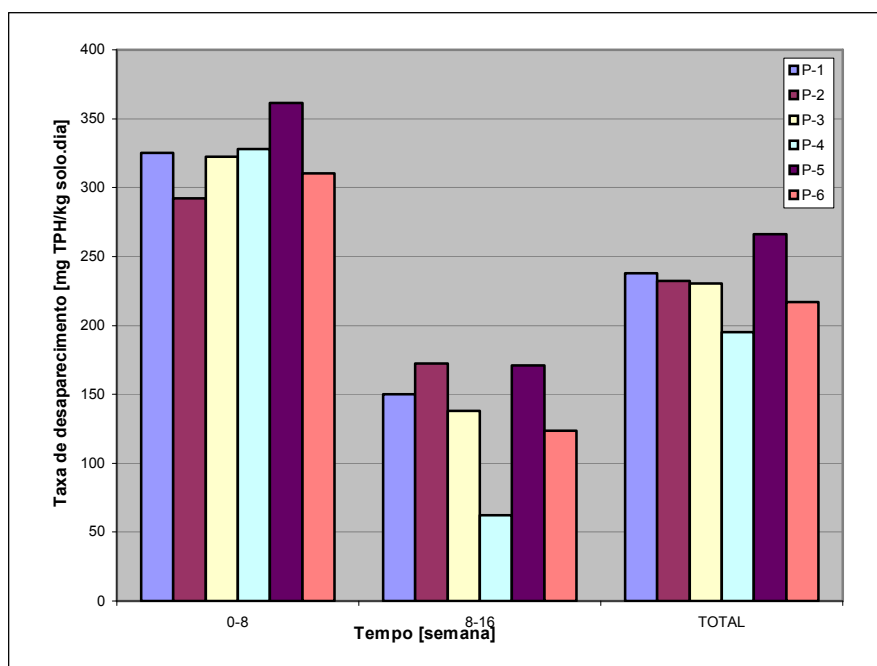
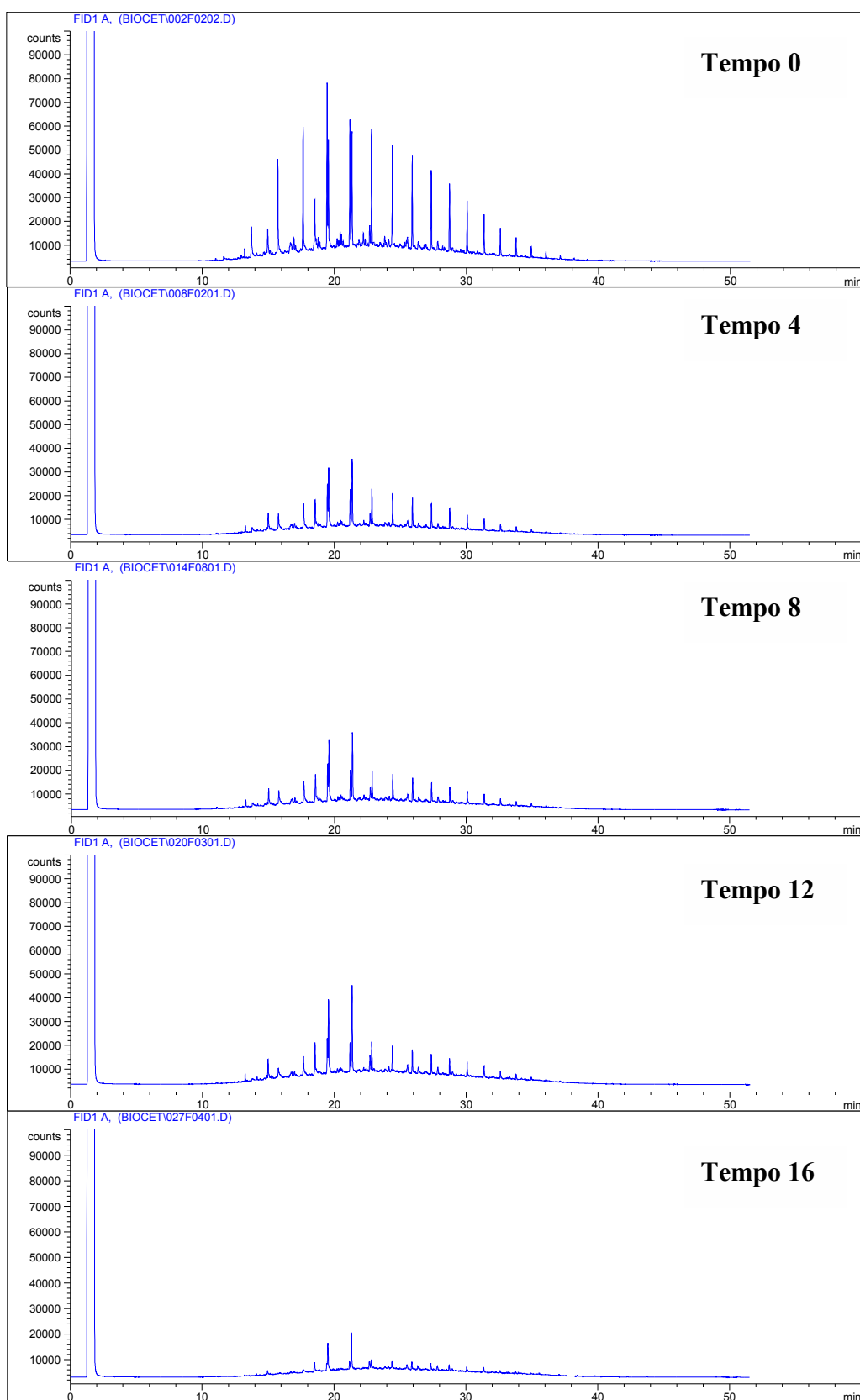
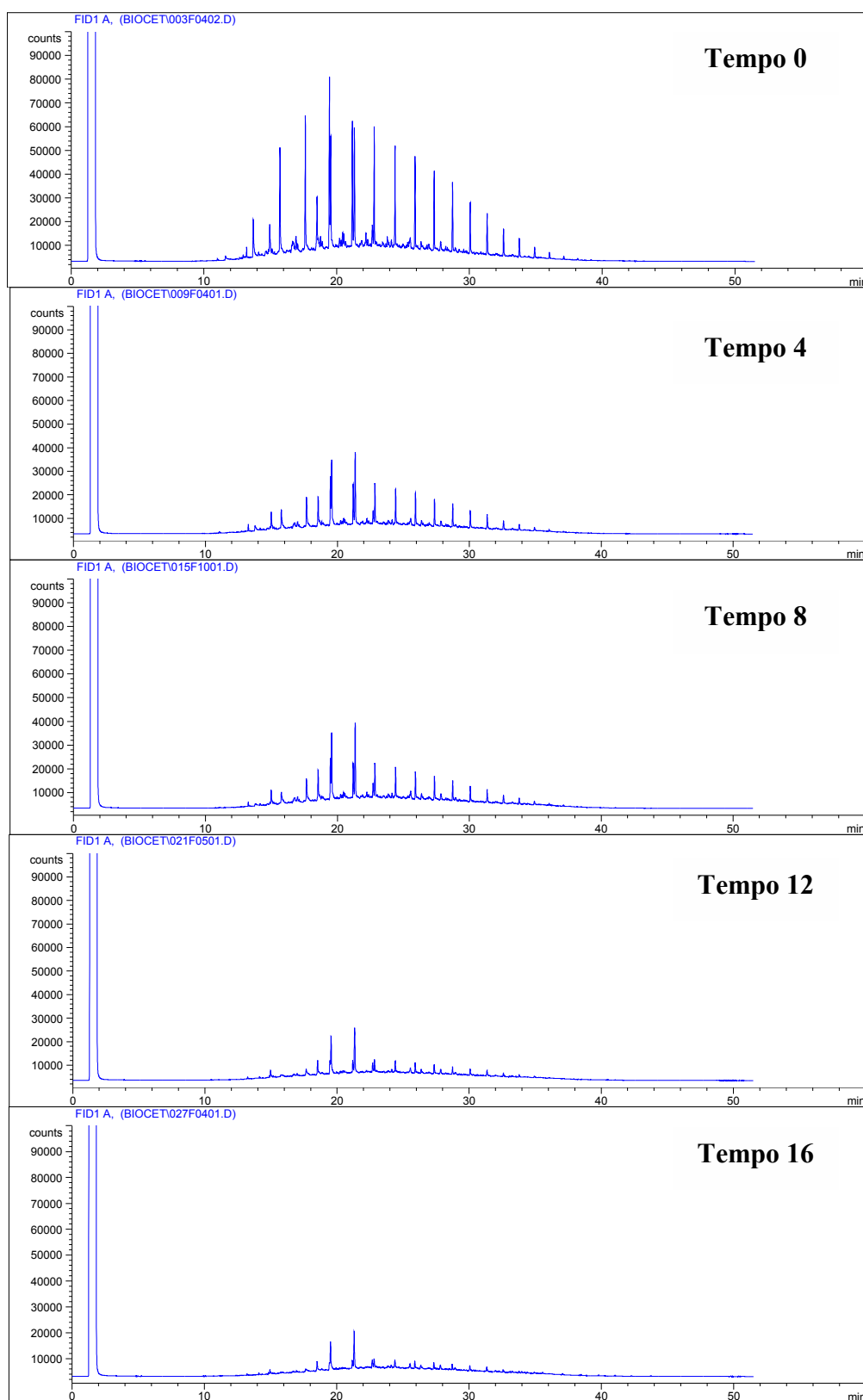
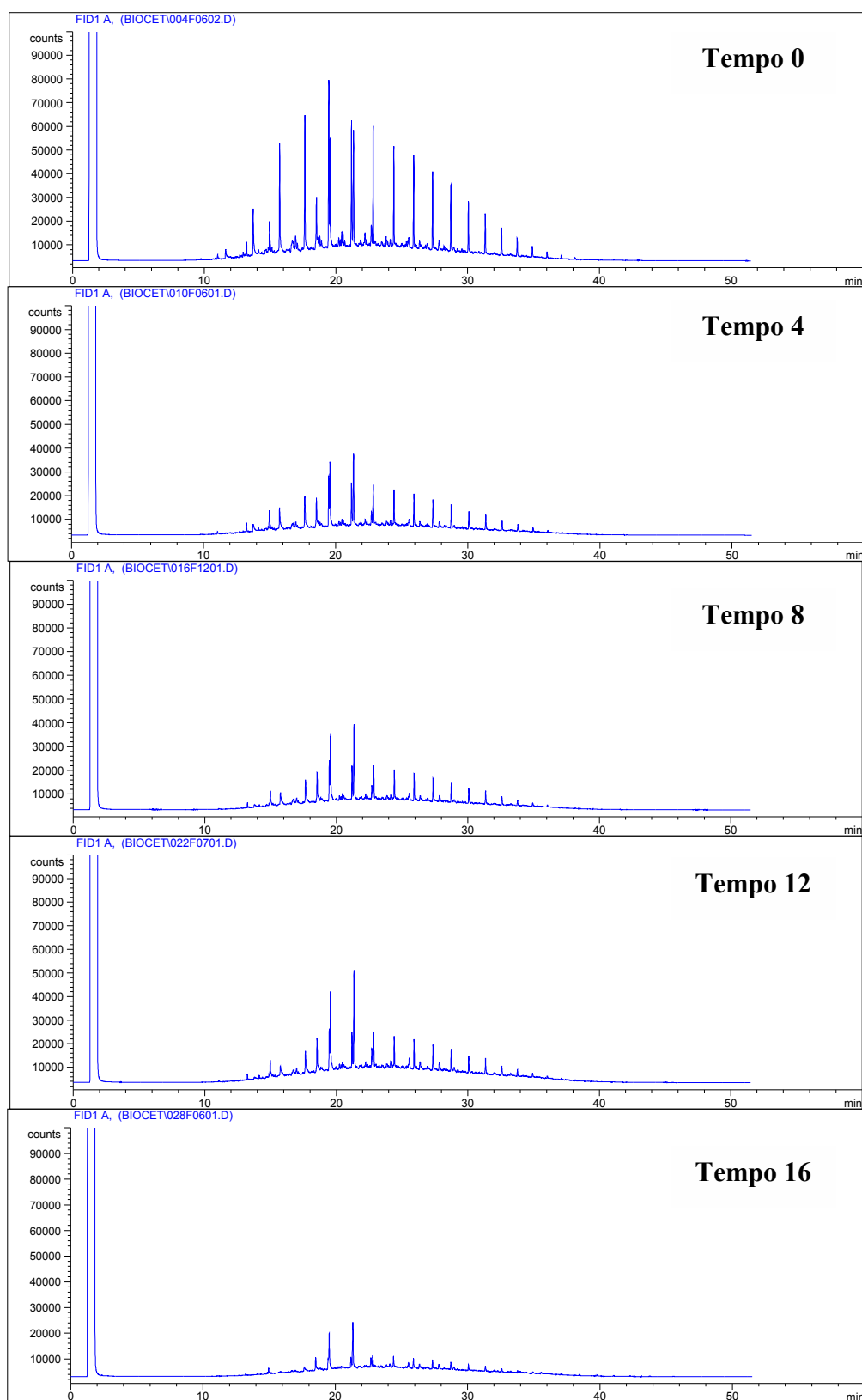
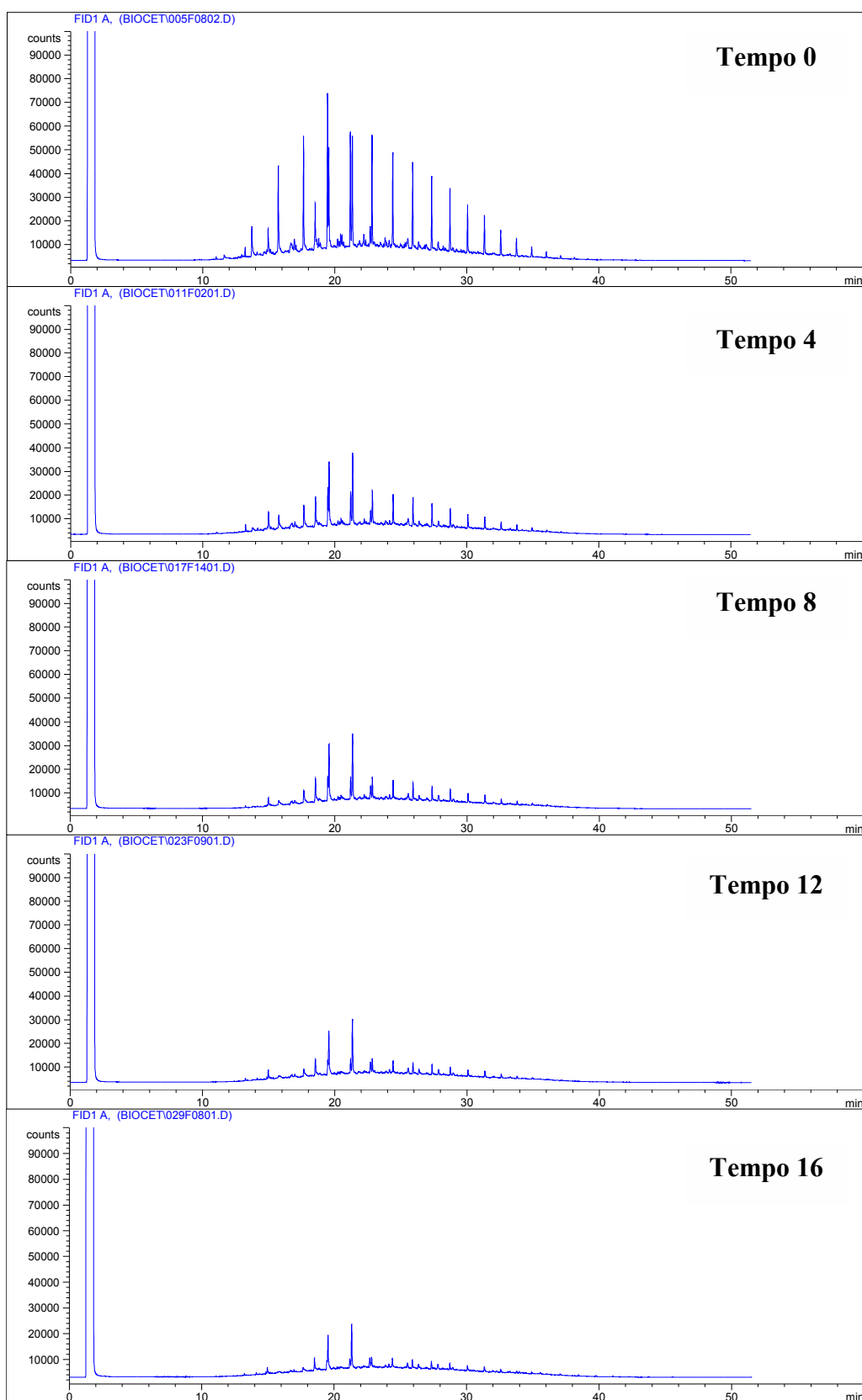


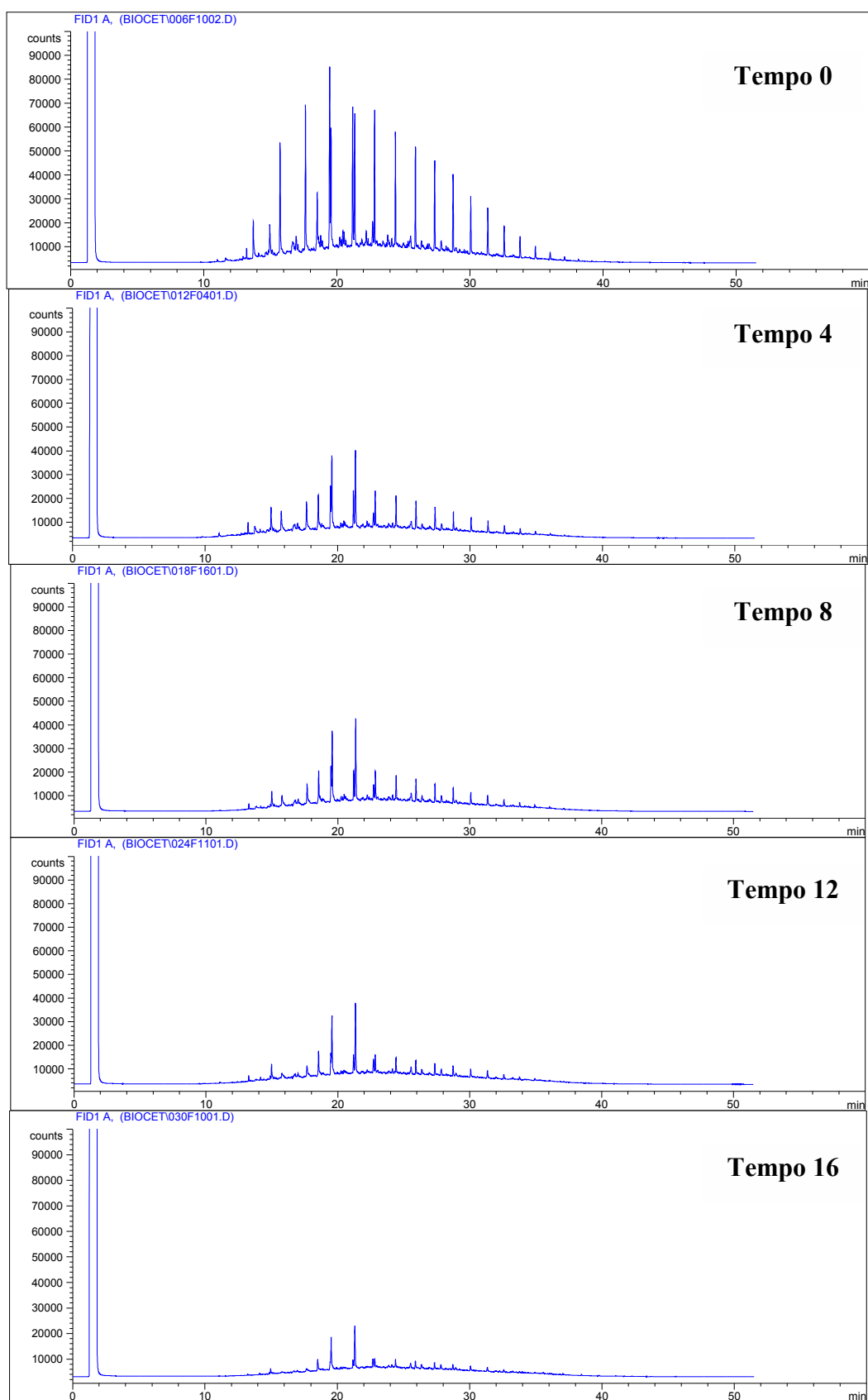
Figura 5.2 – Taxas médias de desaparecimento de HPT nos ensaios com biopilhas – Série 1.

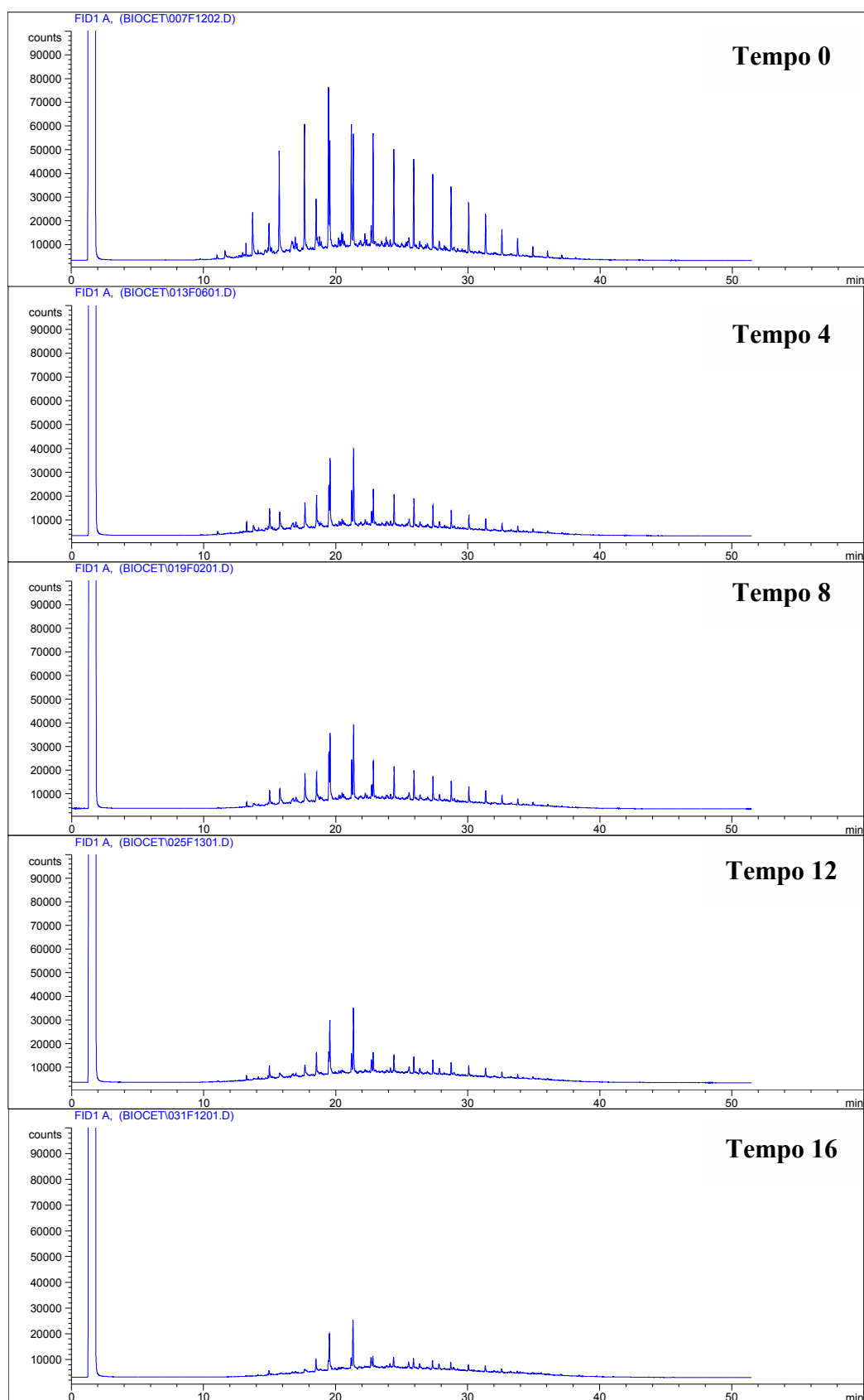
BIOPILHA P-1**Figura 5.4 – Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-1.**

BIOPILHA P-2**Figura 5.5 – Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-2.**

BIOPILHA P-3**Figura 5.6 – Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-3.**

BIOPILHA P-4**Figura 5.7 – Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-4.**

BIOPILHA P-5**Figura 5.8 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-5.**

BIOPILHA P-6**Figura 5.9 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-6.**

5.1.1.2. Contagem Microbiana

Os resultados da contagem de microrganismos heterotróficos totais são mostrados na Tabela 5.4. A quantidade de microrganismos medida antes da contaminação do solo foi de $5,23 \times 10^6$ NMP/g de solo seco. Com a contaminação, houve um leve decréscimo na contagem microbiana, mantido nas quatro primeiras semanas de teste, observado em todas as pilhas. Este resultado mostra certo efeito tóxico do óleo na população microbiana. O aumento na contagem foi observado na oitava semana, quando os valores passaram para a faixa de 10^7 a 10^8 NMP/g de solo seco. Na última medida (T16), a contagem diminuiu cerca de uma ordem de grandeza (10^7) em todas as pilhas. A Figura 5.10 mostra a evolução da contagem das heterotróficas na forma de gráfico de barras.

Tabela 5.4 – Contagem de microrganismos heterotróficos totais.

TEMPO	PILHA					
	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	P-6
	(NMP/g solo seco)					
Solo limpo	5,23E+06	5,23E+06	5,23E+06	5,23E+06	5,23E+06	5,23E+06
T0	2,57E+06	2,54E+06	1,14E+06	6,24E+06	2,57E+06	2,63E+06
T4	1,06E+06	8,07E+05	2,48E+06	1,61E+06	1,08E+06	1,37E+06
T8	5,86E+07	5,82E+07	7,48E+07	2,36E+08	5,91E+08	2,44E+08
T12	5,98E+07	8,21E+07	6,19E+08	8,28E+07	8,39E+07	2,46E+08
T16	2,38E+07	5,97E+07	2,42E+07	1,35E+07	2,37E+07	1,33E+07

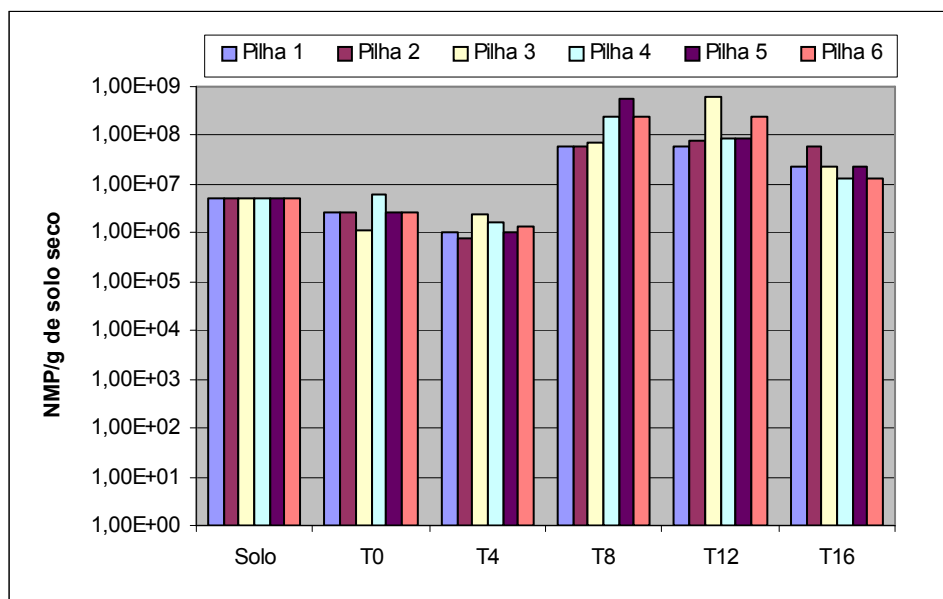


Figura 5.10 - Contagem de microrganismos heterotróficos totais – Série 1.

Em termos de bactérias degradadoras de óleo, antes da contaminação a contagem no solo era bem baixa, $5,23 \times 10^3$ NMP/g de solo seco. Com a contaminação, não houve aumento considerável da contagem de degradadores de óleo nas primeiras quatro semanas. O aumento da contagem só ficou evidenciado a partir de oito semanas de tratamento (T8), quando as contagens atingiram a faixa de 10^7 NMP/g de solo seco (Figura 5.11 e Tabela 5.5), a qual se manteve até o final do teste. Estes resultados mostram que houve presença significativa de degradadores de óleo durante grande parte dos experimentos.

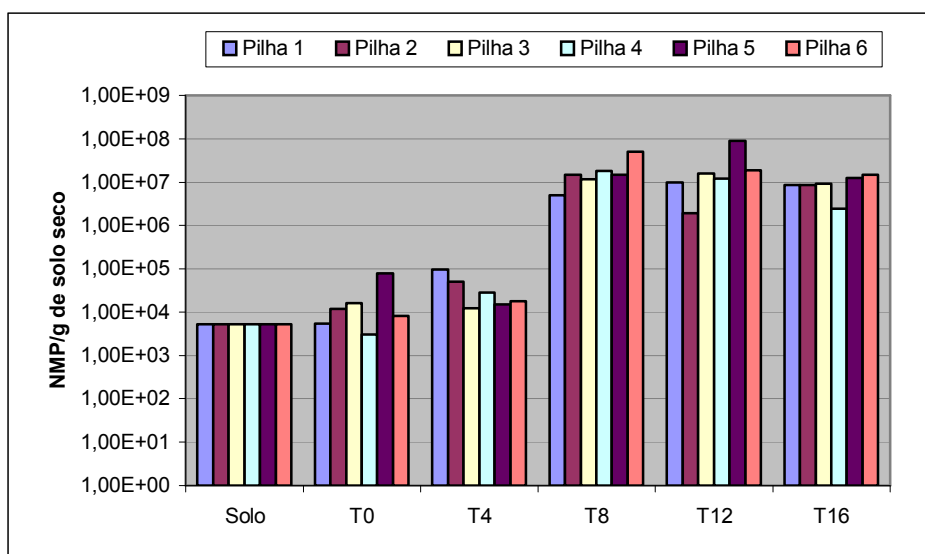


Figura 5.11 - Contagem de microrganismos degradadores de óleo – Série 1.

Tabela 5.5 – Contagem de microrganismos degradadores de óleo.

TEMPO	PILHA					
	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	P-6
	(NMP/g solo seco)					
Solo	5,23E+03	5,23E+03	5,23E+03	5,23E+03	5,23E+03	5,23E+03
T0	5,42E+03	1,18E+04	1,60E+04	3,07E+03	8,00E+04	8,17E+03
T4	9,58E+04	5,10E+04	1,22E+04	2,90E+04	1,52E+04	1,75E+04
T8	5,05E +06	1,48E+07	1,18E+07	1,83E+07	1,50E+07	4,98E+07
T12	9,78E+06	1,91E+06	1,57E+07	1,22E+07	8,94E+07	1,91E+07
T16	8,46E+06	8,67E+06	9,13E+06	2,46E+06	1,26E+07	1,49E+07

5.2.2. Série 2

5.2.2.1. Hidrocarbonetos de Petróleo Totais

Na segunda série de experimentos, dois tipos de solos foram testados: solos A3 e B2. Os resultados de porcentagem de remoção de HPT após 16 semanas de tratamento estão mostrados na Tabela 5.6, assim como o coeficiente de remoção de HPT e os respectivos coeficientes de correlação.

Tabela 5.6 - Teores de HPT e constante de degradação de contaminante.

Pilha	Solo	% de estruturante (v/v) e frequência de revolvimento em dias	HPT (mg/kg solo seco)			Após 16 semanas			
			T0	T8	T16	Remoção (%)	Coeficiente de remoção (dia ⁻¹)	R ²	Nº de amostras
P-7	A	7 d	58577,1	35449,3	18747,6	67,99	0,0109	0,9533	4
P-8	A	10% arroz e 7 d	53643,1	32109,9	19498,3	63,65	0,0096	0,9609	4
P-9	A	20% arroz e 7 d	57708,7	35306,9	22463,7	61,07	0,0087	0,9968	4
P-10	A	azida de sódio e 7 d	61847,3	47107,1	34857,1	43,64	0,0051	0,9861	4
P-11	B	7 d	60216,7	44406,1	30735,9	48,96	0,0061	0,9813	4
P-12	B	10% arroz e 7 d	59469,5	42543,9	27043,5	54,53	0,0069	0,9896	4

O aporte da casca de arroz não trouxe benefício na remoção de HPT, quando comparado com o resultado da pilha sem material estruturante (P-7), após 16 semanas de teste. A remoção de HPT na pilha P-7 foi de 67,99%, contra 63,65% e 61,07% para as pilhas com 10% e 20% de casca de arroz, respectivamente. O efeito negativo no processo de desaparecimento do petróleo foi maior com o aumento da concentração da casca de arroz.

O teste com a pilha P-10, com a adição de azida de sódio, não pôde quantificar o desaparecimento dos HPT referente aos processos abióticos. As concentrações de microrganismos totais e biodegradadores de óleo foram inferiores aos das outras pilhas, porém altos suficientes para que a biodegradação do óleo ocorresse. Tanto assim, que o valor encontrado para o desaparecimento de HPT foi 43,64%, muito elevado para um ensaio pretensamente abiótico. Os resultados microbiológicos serão mostrados no próximo item. Para que a pilha se mantivesse abiótica, seria necessária a adição contínua da azida, e, provavelmente, em concentração mais elevada que a usada no teste.

A análise dos resultados para o solo B mostra que o aporte do arroz foi positivo para o desaparecimento dos hidrocarbonetos, diferentemente do caso do solo A. A remoção de HPT foi de 54,53% na pilha P-12 (com o aporte de arroz), contra 48,96% da pilha P-11 (sem o aporte de arroz).

O gráfico da Figura 5.12 mostra a evolução da diminuição dos teores de HPT com o tempo.

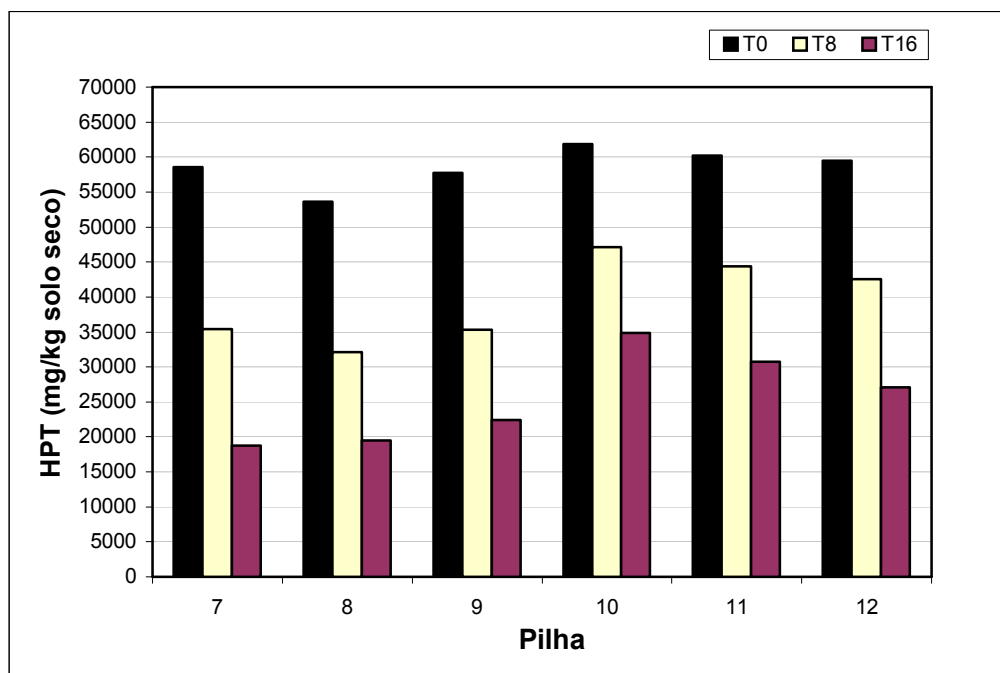
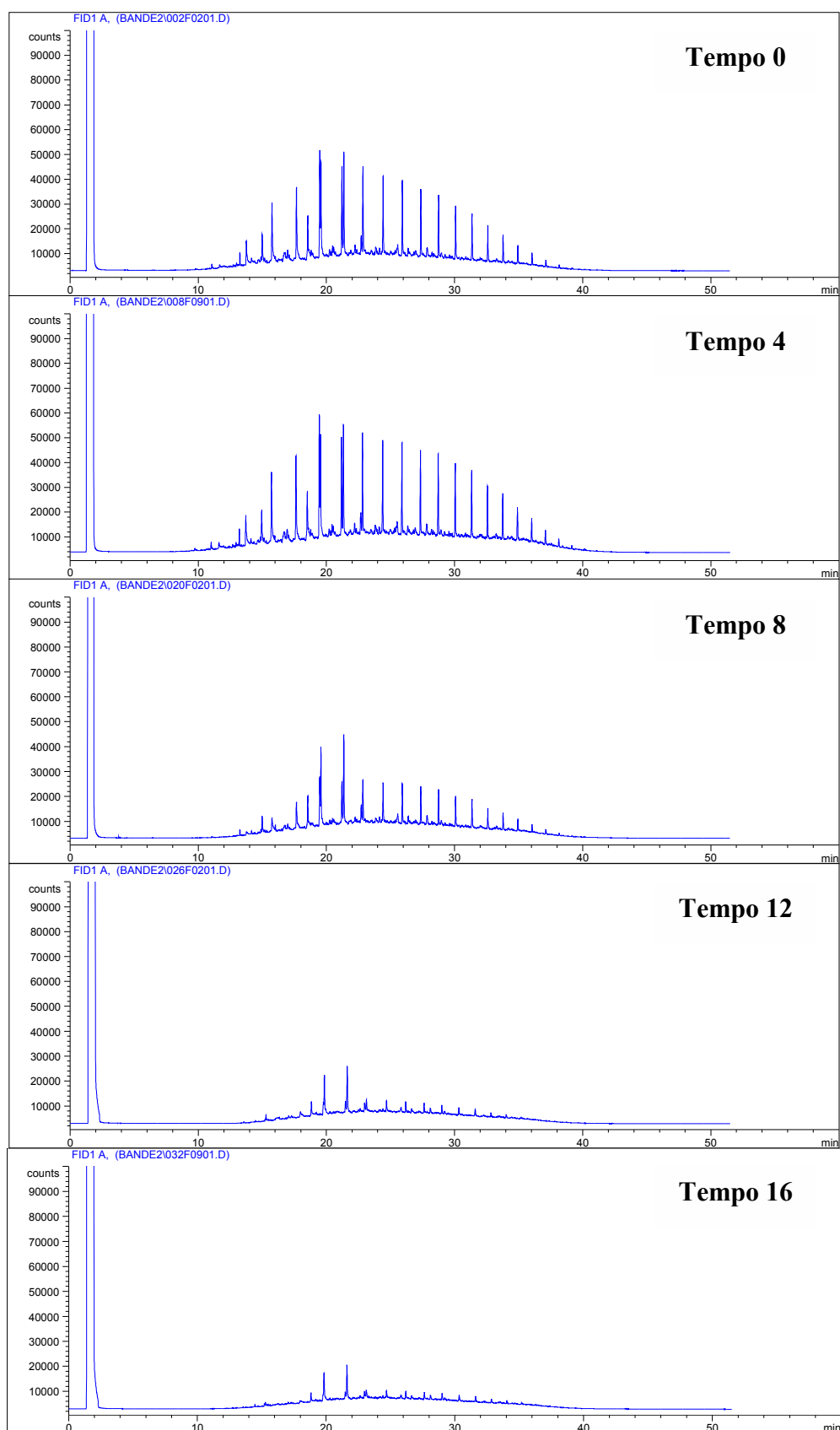
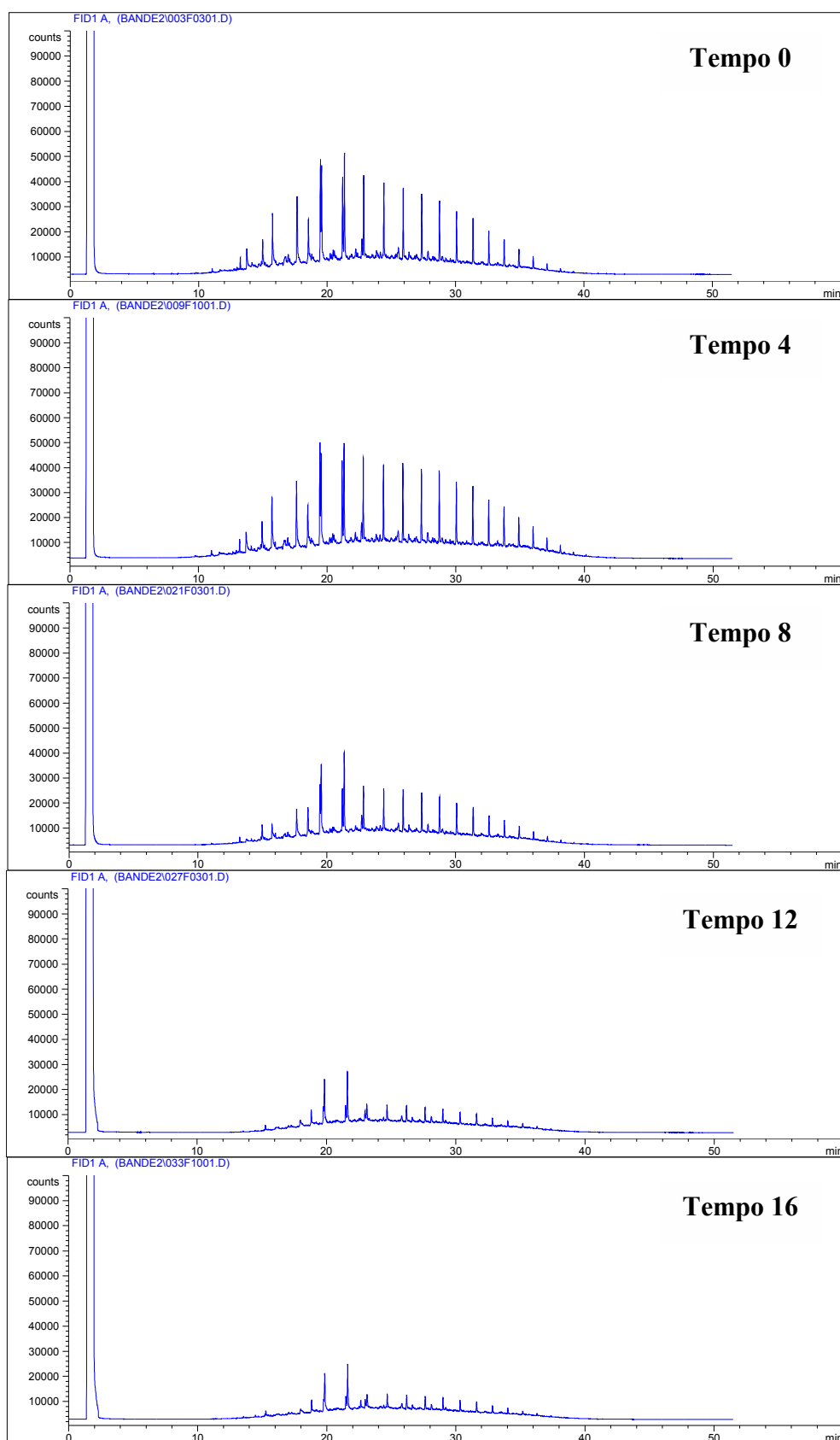


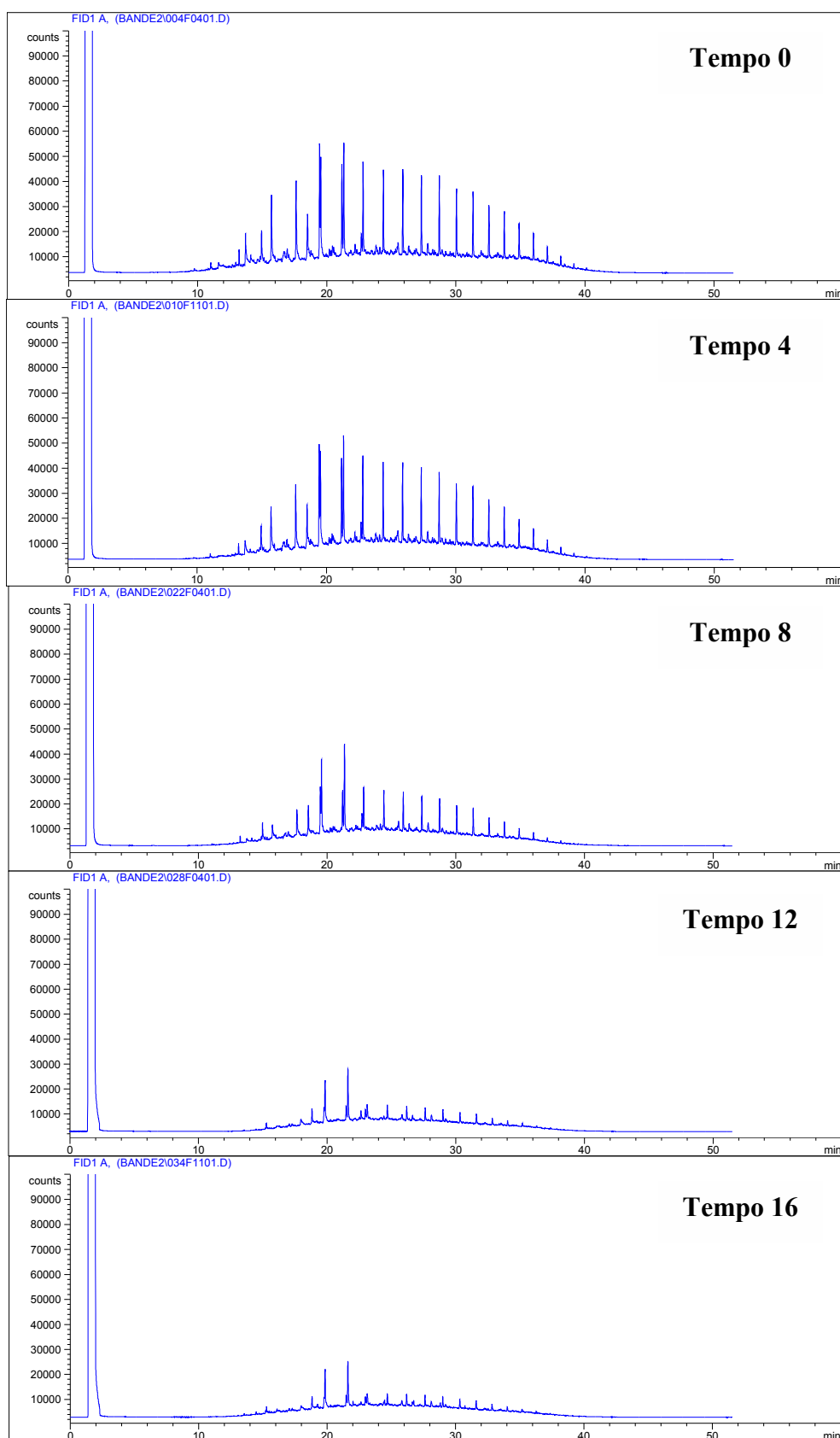
Figura 5.12 – Evolução do decréscimo de HPT na Série 2.

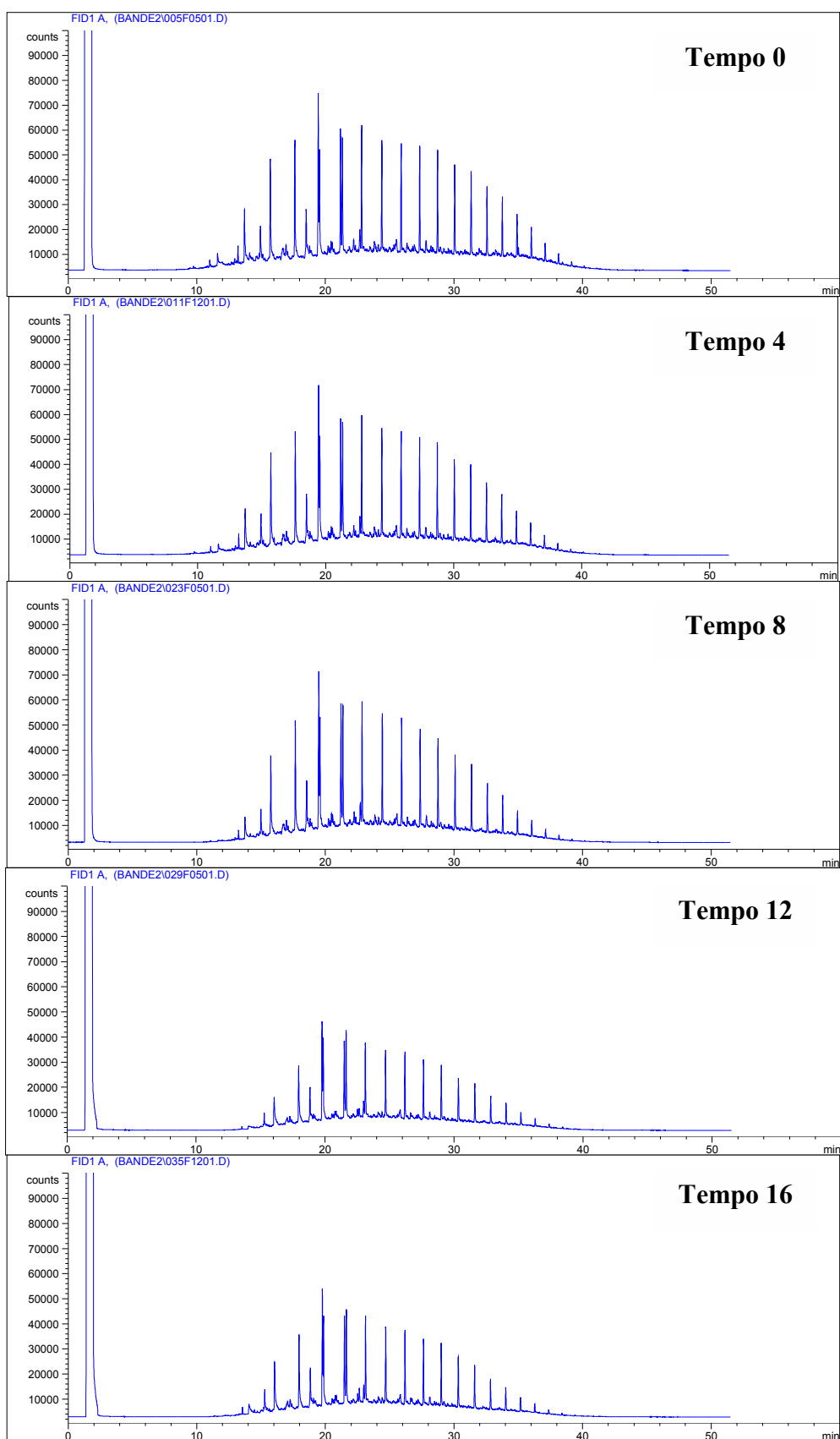
Os cromatogramas dos extratos de cada pilha da serie 2 estão mostrados nas Figuras 5.13 a 5.18. Os cromatogramas referentes às pilhas com o solo A apresentam picos menores que os referentes ao solo B. Isto, adicionalmente, indica que o nível de biodegradação do petróleo foi maior no solo A. Em termos de porcentagem de desaparecimento de HPT, os valores alcançados com o solo A foram superiores aos obtidos com o solo B (Tabela 5.6). Os resultados melhores obtidos com o solo A se devem à sua melhor qualidade, tanto em termos de fertilidade (macro e micro-nutrientes) como de textura mais equilibrada (franco-argiloso).

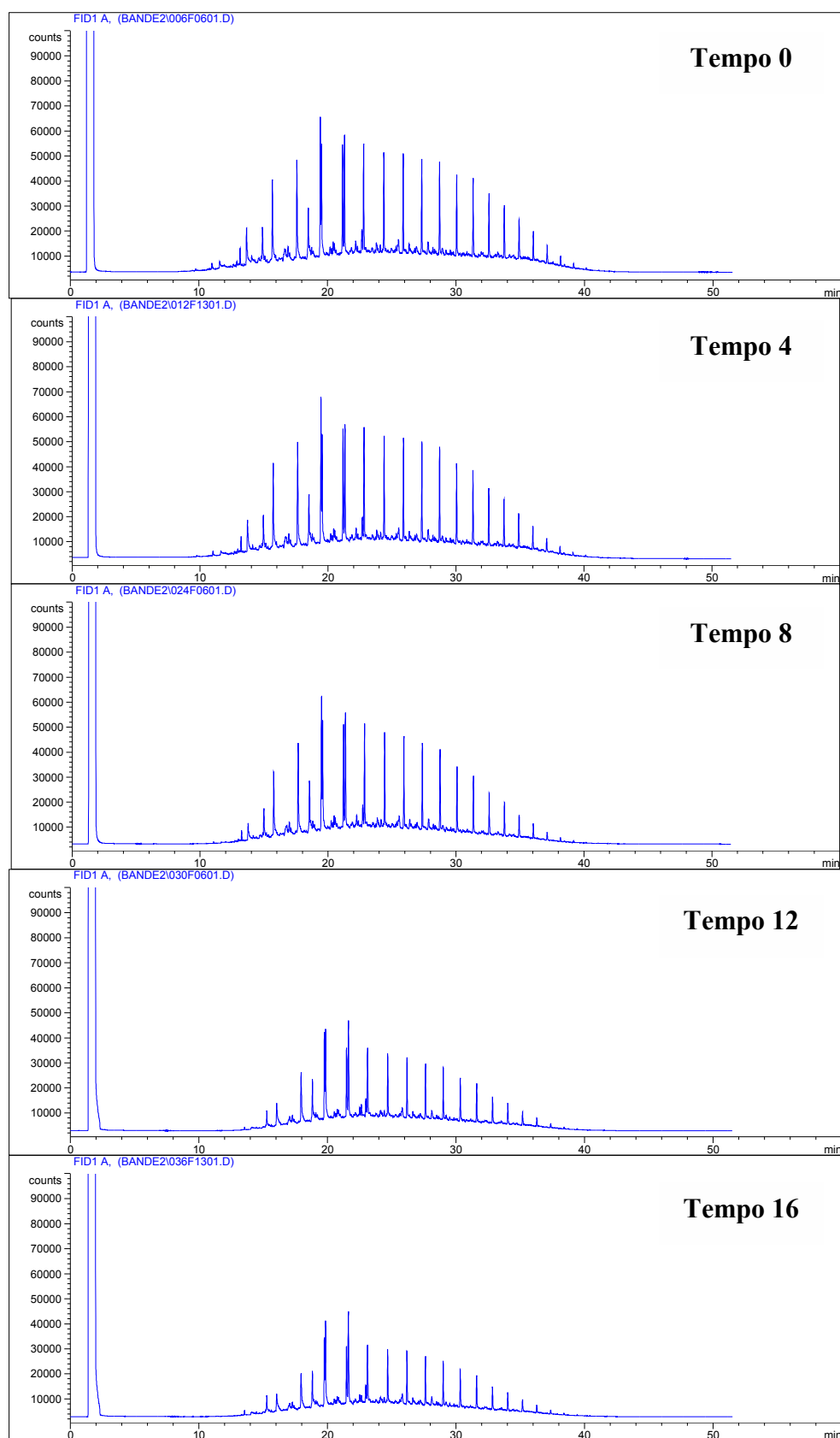
A despeito das características menos favoráveis do solo B, observam-se das 5.17 e 5.18 que a biodegradação do contaminante está seguindo o seu curso, embora de modo mais lento do que no solo A.

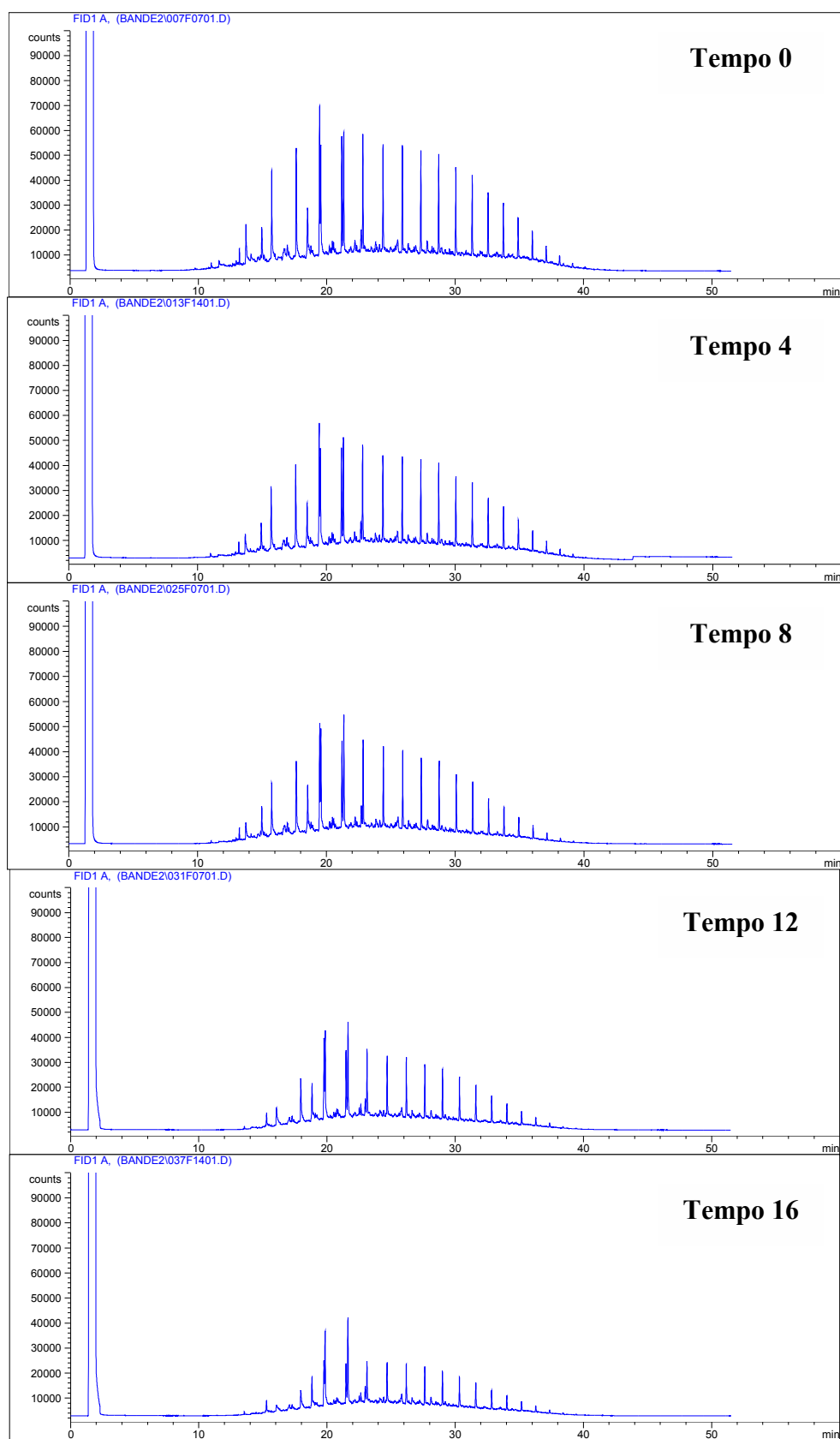
BIOPILHA P-7**Figura 5.13 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-7.**

BIOPILHA P-8**Figura 5.14 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-8.**

BIOPILHA P-9**Figura 5.15 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-9.**

BIOPILHA P-10**Figura 5.16 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-10.**

BIOPILHA P-11**Figura 5.17 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-11.**

BIOPILHA P-12**Figura 5.18 - Evolução dos cromatogramas na Biopilha P-12.**

5.2.2.2. Contagem Microbiana

A contagem de bactérias heterotróficas nas biopilhas, no início do teste, ficou acima 10^6 NMP/g de solo seco (Figura 5.19). Após 4 semanas de ensaio as contagens apresentaram leve aumento para as pilhas com o Solo A. No transcorrer do teste, para as pilhas contendo o Solo A, a contagem microbiana se manteve constante, com uma ligeira queda na última semana (T16). Para as pilhas com o Solo B observaram-se oscilações na contagem, com apreciável queda no tempo T4, para a pilha P-11. A densidade microbiana nas pilhas contendo solo do tipo A foi, em geral, maior do que a observada nas pilhas com o Solo B. Isto também reflete a melhor qualidade do solo A, com teores de nutrientes e carbono mais elevadas. O ensaio pretensamente abiótico (P-10) mostrou atividade microbiana, ao longo do teste, o que invalidou a avaliação do desaparecimento de HPT por processos abióticos.

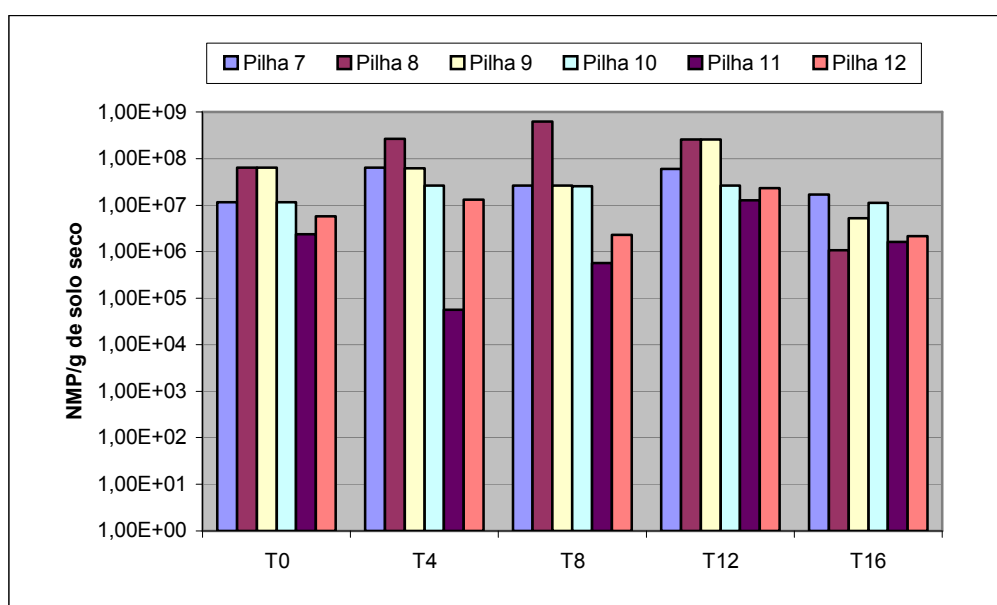


Figura 5.19 - Contagem de microrganismos heterotróficos totais – Série 2.

A análise do gráfico da Figura 5.20 mostra que as contagens de bactérias degradadoras de óleo foram também maiores na biopilhas com o solo A, com exceção da pilha abiótica (P-10). Este resultado permite verificar a relação existente entre densidade de microorganismo degradadores de óleo com o nível de desaparecimento dos HPT.

As contagens apresentaram tendência de crescimento nas primeiras oito semanas, com posterior decréscimo. As pilhas P-11 e P-12 apresentaram, durante quase todo o ensaio, densidade microbiana significativamente menor que a observada nas demais pilhas, indicando que o solo B apresentou características prejudiciais ao crescimento microbiano. Provavelmente, o menor teor de matéria orgânica presente no solo B possa ser a explicação para estes resultados. Outro fator para uma menor densidade microbiana no solo B seria a sua textura argilosa. As argilas apresentam uma afinidade com os certos contaminantes orgânicos deixando-os menos biodisponíveis ao ataque dos microrganismos.

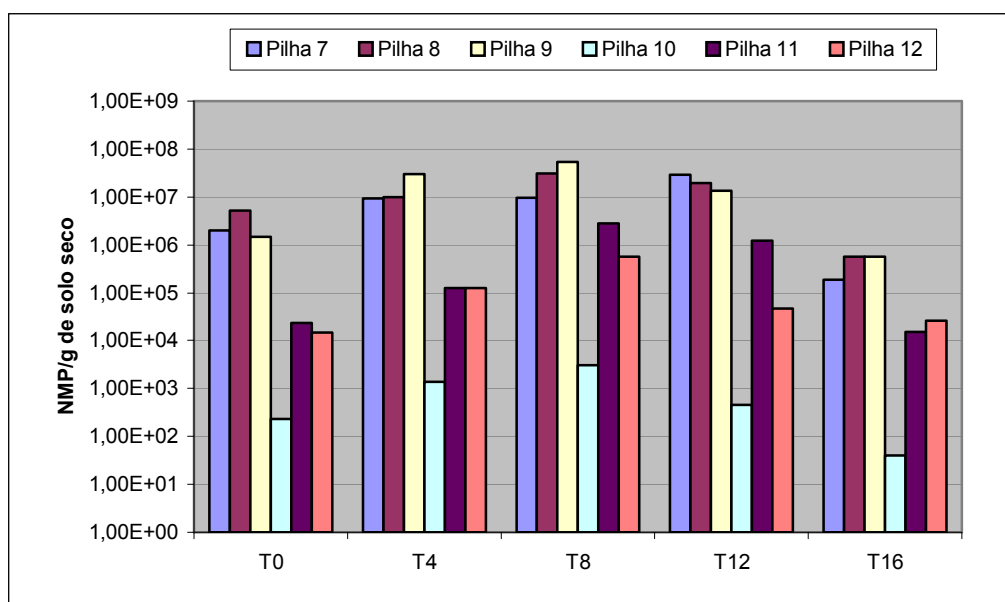


Figura 5.20 - Contagem de microrganismos degradadores de óleo – Série 2.

Pode-se resumir os resultados das análises química e microbiológica, afirmando que o aporte da casca de arroz não trouxe benefício na remoção de HPT, no caso do solo A. Entretanto, no caso do solo B, o aporte do arroz foi positivo para o desaparecimento dos hidrocarbonetos. Observou-se também que as eficiências de degradação obtidas nos experimentos em bancada foram superiores às relatadas em literatura.

A frequência de revolvimento do solo não teve influência estatisticamente significativa na eficiência de remoção dos HPT, nas condições e na escala testadas. Os resultados microbiológicos mostraram que houve presença significativa de degradadores de óleo durante grande parte dos experimentos.

5.2.3. Ecotoxicidade

Os testes usados para avaliar a toxicidade presente em solos das Séries 1 e 2 de experimentos foram: Microtox (emissão de luminescência pela bactéria *Vibrio fischeri*); inibição de crescimento do broto e raiz do *Hordeum vulgare* (cevada); inibição de germinação de sementes de *Avena sativa* (aveia) e de *Brassica napus* (nabo).

5.2.3.1. Testes com Microtox

A Tabela 5.7 apresenta os resultados de toxicidade pelo Microtox em amostras de solo coletadas durante os ensaios da Série 1. A amostra de solo contaminada antes de qualquer tratamento (T0) apresentou efeito tóxico, na maior concentração testada, de 47,4%, resultando em uma $CE50_{15min}$ igual a 88,29% do extrato.

Após 16 semanas de tratamento foi observada uma redução do efeito tóxico em todas as seis pilhas, ainda que um efeito tóxico residual tenha ficado remanescente (de 21 a 40% de efeito adverso na maior concentração testada do extrato aquoso). Para todas as pilhas não foi possível estimar a $CE50_{15min}$ já a partir da quarta semana de tratamento.

Tabela 5.7 – Resultados da avaliação da ecotoxicidade por Microtox para a Série 1.

Pilha	Tempo	pH	Salinidade (g/l)	Maior concentração testada (%)	Efeito em 15 minutos	
					CE50%	Efeito da maior concentração testada (%)
P-1	T0	7,38	0	81	88,29	47,4
	T4	6,68	0	81	> 81	28
	T12	7,54	0	81	> 81	32
	T16	7,20	0	81	> 81	21
P-2	T0	7,38	0	81	88,29	47,4
	T4	6,79	0	81	> 81	37
	T12	7,17	0	81	> 81	34
	T16	7,11	0	81	> 81	40
P-3	T0	7,38	0	81	88,29	47,4
	T4	6,56	0	81	> 81	38
	T12	7,15	0	81	> 81	40
	T16	7,18	0	81	> 81	38
P-4	T0	7,38	0	81	88,29	47,4
	T4	6,75	0	81	> 81	28
	T12	7,12	0	81	> 81	38
	T16	7,08	0	81	> 81	36
P-5	T0	7,38	0	81	88,29	47,4
	T4	6,88	0	81	> 81	35
	T12	7,18	0	81	> 81	42
	T16	7,18	0	81	> 81	34
P-6	T0	7,38	0	81	88,29	47,4
	T4	6,96	0	81	> 81	26
	T12	7,19	0	81	> 81	39
	T16	7,20	0	81	> 81	36

5.2.3.2. Testes com Vegetais

A Tabela 5.8 apresenta um resumo dos resultados dos testes ecotoxicológicos usando vegetais, dado em porcentagem em relação ao solo de controle (Solo A limpo), para a Série 1.

Tabela 5.8 - Resultados dos testes ecotoxicológicos usando vegetais, em porcentagem em relação ao controle - Série 1.

%		<i>Hordeum vulgare</i> (cevada)		<i>Avena sativa</i> (aveia)		<i>Brassica napus</i> (nabo)	
Amostra	Estruturante [% v/v]	Comprimento		Germinação do broto		Germinação do Broto	
		broto	raiz	comprimento	massa	comprimento	massa
Solo A limpo	—	100	100	100	100	100	100
Solo A contaminado	—	—	—	85	45	55	19
Solo A tratado P-1	—	109	110	93	59	61	27
Solo A tratado P-2	casca de arroz [10]	81	66	87	48	39	8
Solo A tratado P-3	casca de arroz [10]	94	66	87	45	29	4
Solo A tratado P-5	serragem [10]	74	72	86	47	55	20
Solo A tratado P-6	casca de coco [10]	99	98	88	57	75	35
Areia	—	63	110	—	—	—	—
LUFA	—	110	122	110	117	110	152

Os resultados dos testes de inibição no crescimento da cevada (*Hordeum vulgare*) mostram que o solo limpo A (controle) apresenta uma qualidade próxima à do solo de referência LUFA 2.2. Este comportamento foi observado tanto no crescimento da raiz como no do broto (Figura 5.21).

O solo que passou pelo tratamento, sem a adição da casca de arroz (P-1), não apresentou efeito tóxico à cevada, comparado com o solo limpo (Figura 5.21). Isto também aconteceu com a pilha em que foi empregada a casca de coco (P-6). Já o aporte da serragem não conduziu à mesma recuperação da qualidade do solo. Isto ficou mais evidente nos dados da inibição do crescimento da raiz da cevada. A adição de casca de arroz trouxe certa recuperação da qualidade do solo, porém abaixo daquela promovida pela casca de coco e serragem.

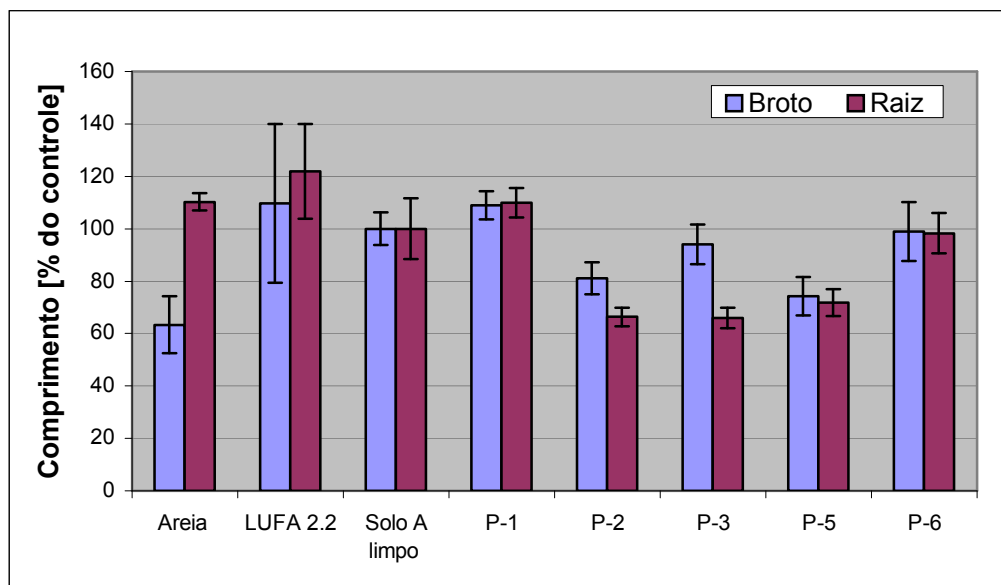


Figura 5.21 - Crescimento do broto e raiz de *Hordeum vulgare* (cevada), em percentagem do valor do controle, Série 1.

Os resultados do teste de germinação com a *Avena sativa* (aveia) estão mostrados na Figura 5.22, em percentagem do valor do controle. O efeito negativo do contaminante na germinação da aveia pode ser observado, com maior clareza na massa do broto.

As amostras dos solos que sofreram tratamento nas biopilhas não apresentaram diferença significativa de qualidade em relação ao solo contaminado antes do tratamento, em termos de comprimento do broto. Também em termos de massa, as amostras de solos tratados não apresentaram qualquer melhoria significativa na qualidade. A única amostra que demonstrou uma leve melhora de qualidade foi àquela processada sem o aporte de qualquer material estruturante. Em termos gerais, todos os solos tratados não apresentaram diminuição significativa do efeito tóxico para a germinação da aveia.

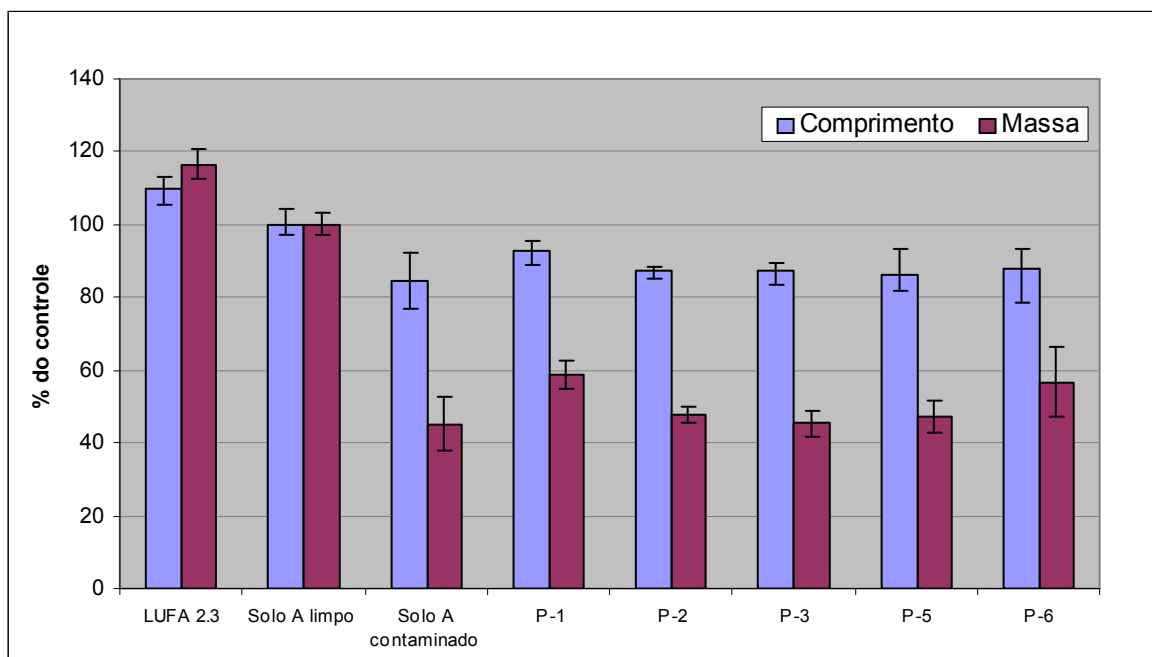


Figura 5.22 - Germinação da *Avena sativa* (aveia), em percentagem do valor do controle, Série 1.

No caso do teste com *Brassica napus* (nabo), o efeito negativo do óleo no desenvolvimento do broto foi maior que o observado com a *Avena sativa* (Figura 5.23). Este efeito foi mais evidenciado na massa do broto de nabo.

Quanto aos solos tratados, o material que recebeu o aporte da casca de coco (P-6) foi o único que apresentou melhora na qualidade em relação ao solo contaminado original. O material das pilhas P-1 e P-5, sem aporte de material estruturante e com serragem, respectivamente, não mostraram uma melhora significativa na qualidade. A casca de arroz (P-2 e P-3) apresentou uma diminuição mais acentuada na germinação da *Brassica napus*.

Analisando o conjunto de resultados de fitotoxicidade, pode-se concluir que nenhuma das condições usadas para o tratamento do solo contaminado conseguiu restabelecer a qualidade do solo limpo, dentro do prazo de 16 semanas. A maioria dos tratamentos não alcançou nem mesmo uma melhora da qualidade em relação ao solo originalmente contaminado. As exceções foram as pilhas P-1 e P-6, que alcançaram leve melhora na qualidade do solo, porém ainda aquém do nível de qualidade do solo limpo. Uma possível explicação para o melhor desempenho da pilha P-1, em termos

ecotoxicológicos, seria o menor teor de óleo residual alcançado (11889,9 mg HPT/kg de solo seco) na série. Contudo, o valor final de HPT alcançado na P-6 foi o mais elevado da série (14862,4 mg HPT/kg de solo seco). Com isso, o teor de óleo residual isoladamente não poderia explicar estes resultados.

Uma outra possibilidade seria a proliferação de fungos observada na superfície das pilhas que receberam material estruturante, na primeira semana de tratamento. Com isto, houve a produção de uma quantidade de toxinas suficientes para causar efeito negativo no crescimento dos vegetais. A pilha P-5, que recebeu a serragem, foi aquela onde se observou a proliferação de fungos mais intensa. As pilhas que receberam casca de arroz (P-2 e P-3) tiveram um crescimento menor de fungos, enquanto que a pilha com casca de coco teve o menor aparecimento dos fungos. Já a pilha que não recebeu material estruturante (P-1) não teve qualquer crescimento de fungos. Assim, dessas observações qualitativas infere-se que as pilhas onde houve maior proliferação de fungos foram detectados efeitos tóxicos mais fortes nos vegetais testados. Os fungos vieram a desaparecer visualmente a partir da segunda semana de tratamento, em todas as pilhas.

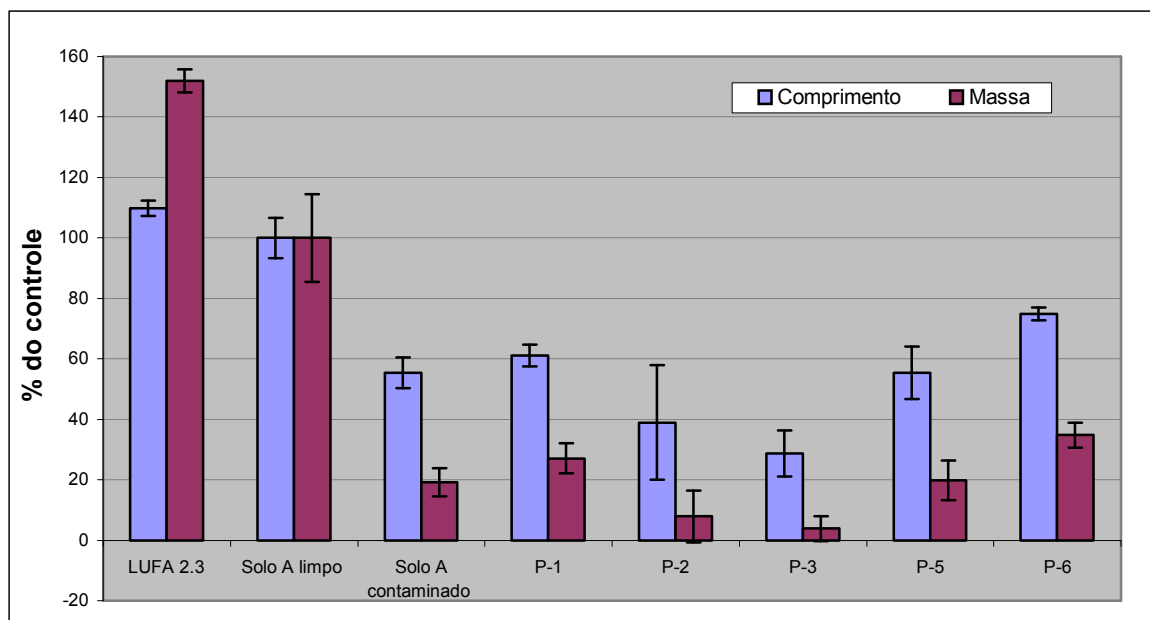


Figura 5.23 - Germinação de *Brassica napus* (nabo), em percentagem do valor do controle, Série 1.

A segunda série de experimentos foi conduzida com os solos A e B. O resumo dos resultados dos testes ecotoxicológicos usando vegetais está apresentado na Tabela 5.9.

Tabela 5.9 - Resultados dos testes ecotoxicológicos usando vegetais, em porcentagem em relação aos respectivos controles - Série 2.

%		<i>Hordeum vulgare</i> (cevada)		<i>Avena sativa</i> (aveia)		<i>Brassica napus</i> (nabo)	
Amostra	Estruturante [% v/v]	Comprimento		Germinação do Broto		Germinação do Broto	
		raiz	broto	comprimento	massa	comprimento	massa
Solo A limpo	—	100	—	100	100	100	100
Solo A contaminado	—	122	—	32	39	21	0
Solo A tratado P-7	—	85	—	138	229	181	433
Solo A tratado P-8	casca de arroz [10]	93	—	139	260	174	389
Solo A tratado P-9	casca de arroz [20]	110	—	137	245	113	78
Areia	—	67	—	—	—	—	—
LUFA	—	79	—	146	332	532	5111
Solo B limpo	—	100	—	100	100	100	100
Solo B contaminado	—	0	—	0	0	0	0
Solo B tratado P-11	—	226	—	125	185	243	525
Solo B tratado P-12	casca de arroz [10]	224	—	131	219	339	875

A Figura 5.26 mostra os resultados dos testes de inibição com a cevada (*Hordeum vulgare*) para os testes com o solo A (Entre Rios). Pode-se observar que o crescimento da raiz da cevada foi maior no solo contaminado que no solo limpo (controle). Uma possível razão para este resultado seria a dificuldade encontrada no controle da umidade para o início dos experimentos. As amostras estavam bastante secas e apresentavam um comportamento hidrofóbico muito grande.

O crescimento de raiz nas amostras P-7 e P-8 se situou abaixo ao do controle. Para a amostra P-9 o crescimento médio foi superior ao do controle. Contudo, estatisticamente não houve diferenças significativas de efeito tóxico à cevada para os solos das três pilhas.

Os fungos não se proliferaram visualmente das pilhas da Série 2, conseqüentemente, o efeito tóxico não foi observado em nenhum dos testes ecotoxicológicos nos solos tratados, ao contrário do ocorrido nos solos da Série 1.

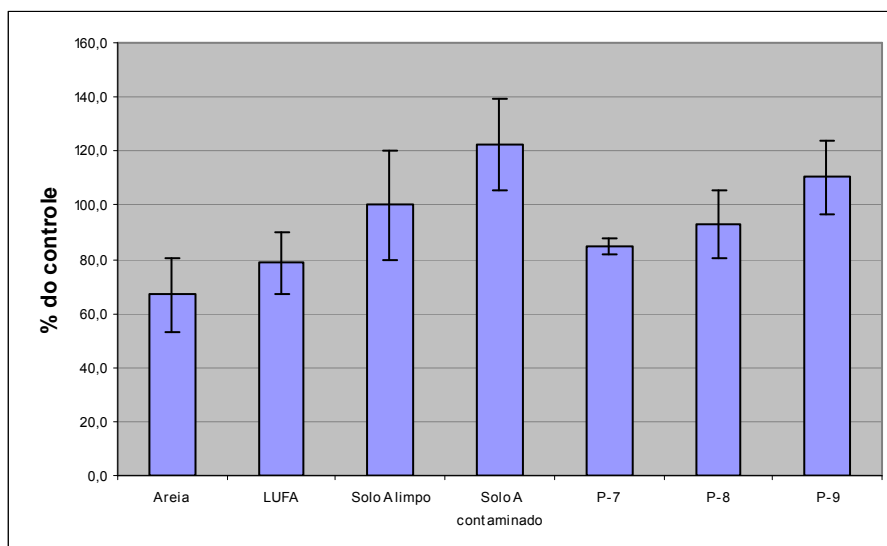


Figura 5.26 - Crescimento da raiz da *Hordeum vulgare* (cevada), em percentagem do valor do controle, Solo A - Série 2.

O efeito tóxico ao crescimento da raiz da *Hordeum vulgare* nas amostras do solo B apresentou resultado bastante diferente do observado para as amostras de solo A. A contaminação causou um efeito extremamente negativo à cevada, pois todos os brotos morreram (Figura 5.27). Isto indica que os hidrocarbonetos residuais ou metabólicos foram fitotóxicos. Porém, as amostras de solos tratados com a biopilha mostraram-se com melhor qualidade do que a do solo controle (solo B limpo). O efeito da utilização do estruturante (casca de arroz) no crescimento da raiz da cevada (P-12) não se diferenciou daquele promovido pelo solo tratado sem este estruturante (P-11).

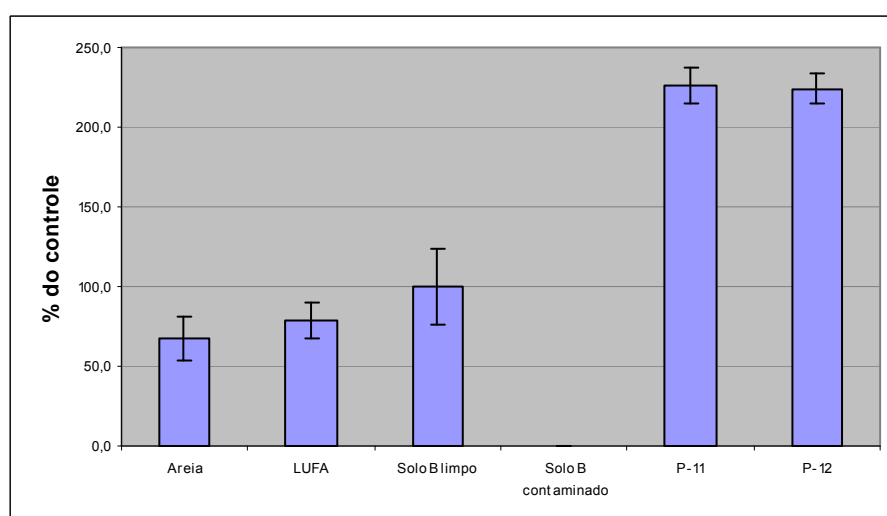


Figura 5.27 - Crescimento da raiz da *Hordeum vulgare* (cevada), em percentagem do valor do controle, Solo B - Série 2.

O efeito na germinação da aveia (*Avena sativa*) está mostrado na Figura 5.28. A contaminação por hidrocarbonetos teve um efeito negativo tanto no crescimento da raiz como na massa do vegetal. Todos os solos que passaram por tratamento biológico tiveram sua qualidade incrementada, superando mesmo a do solo limpo. Estes resultados foram observados nos ensaios com os solos A e B.

Quanto à influência da adição da casca de arroz na qualidade do solo B limpo, os resultados de germinação mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa de qualidade entre o solo B limpo e o com a adição da casca de arroz (Figura 5.28). Assim, a casca de arroz não apresentou efeito tóxico na inibição da germinação da aveia.

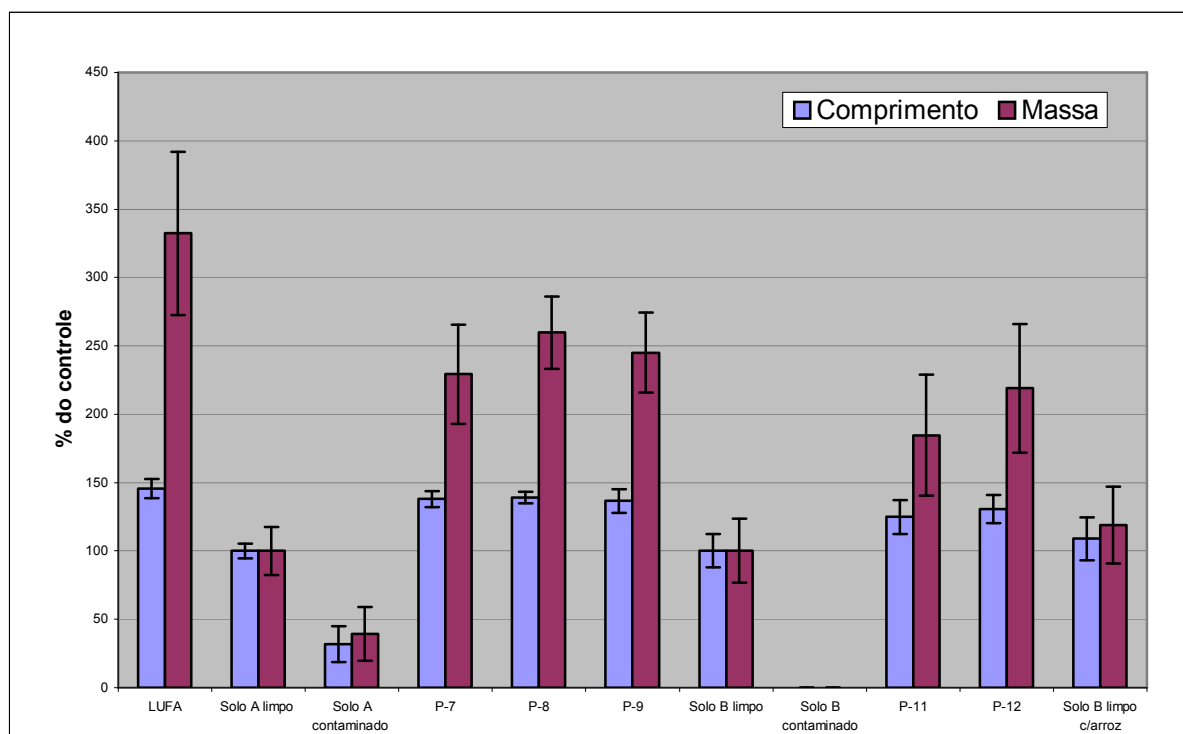


Figura 5.28 - Germinação da *Avena sativa* (aveia), em percentagem do valor do controle, Série 2.

O teste de germinação com *Brassica napus* (nabo) mostrou ser esta espécie mais sensível aos hidrocarbonetos que a aveia (Figuras 5.29 e 5.30). Como nos testes com aveia, os solos A e B tratados mostraram uma recuperação de sua qualidade em comparação com os respectivos solos contaminados.

No caso dos ensaios com o solo B, a qualidade do solo após o tratamento teve um incremento superior ao do solo limpo. Aparentemente a adição da casca de arroz melhorou a estrutura do solo, aumentando o volume dos macro-poros, facilitando assim a germinação e o crescimento dos vegetais.

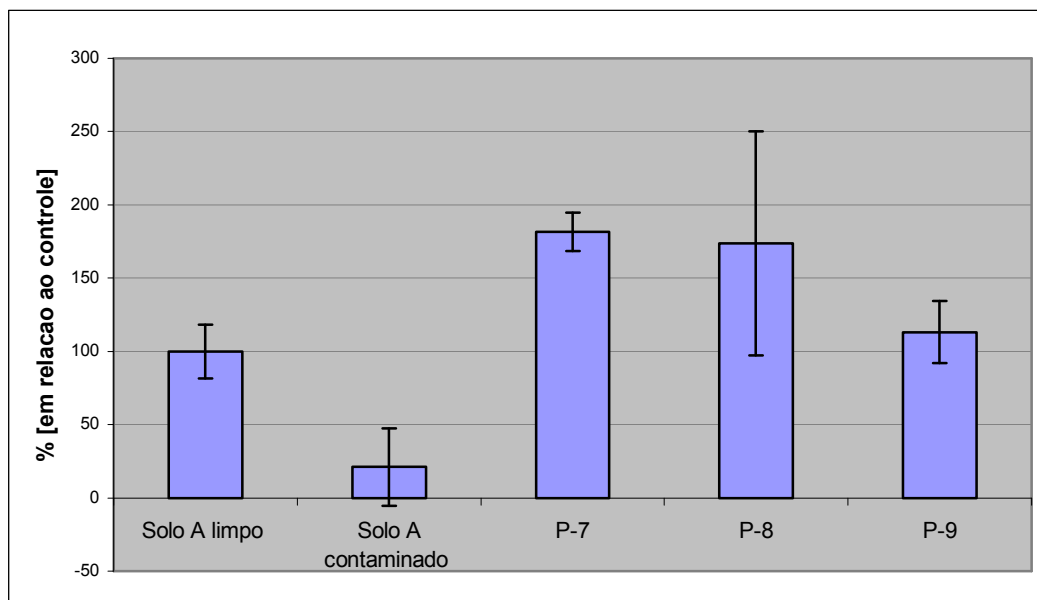


Figura 5.29 - Germinação da *Brassica napus* (nabo), em percentagem do comprimento do controle, Solo A - Série 2.

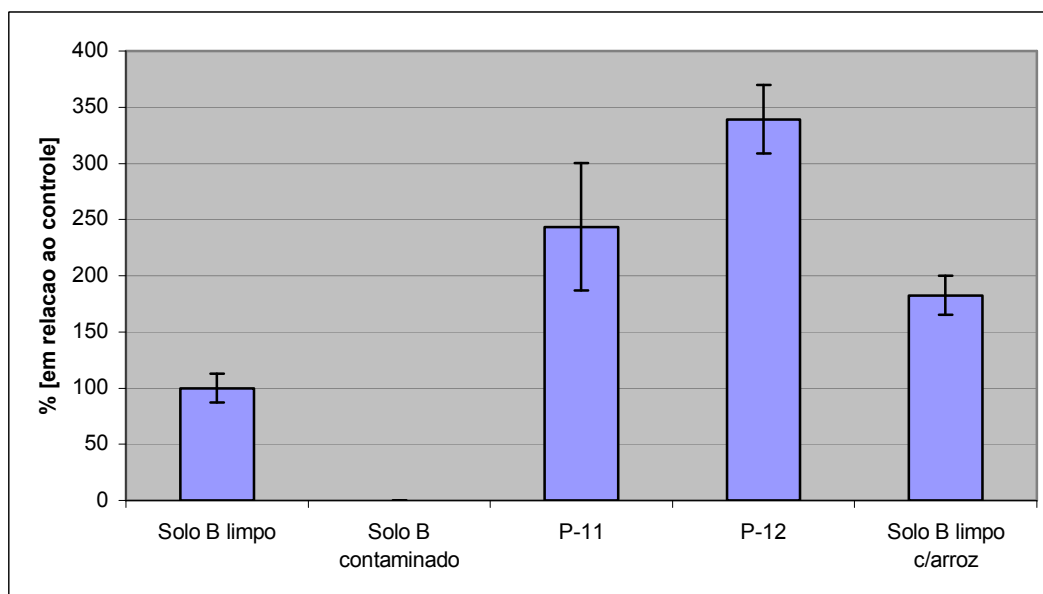


Figura 5.30 - Germinação da *Brassica napus* (nabo), em percentagem do comprimento do controle, Solo B - Série 2.

Em resumo, os testes de ecotoxicidade com vegetais mostraram ser uma ferramenta importante no controle da eficiência de processos de remediação de solos. Eles fornecem predição mais consistente dos efeitos prejudiciais dos contaminantes aos organismos do solo, o que é concordante com os resultados obtidos por Van Gestel *et al.* (2001).

Para os vegetais *Hordeum vulgare* (cevada) e *Avena sativa* (aveia) o tratamento do solo por 16 semanas em biopilhas (Série 1) não promoveu expressiva redução de ecotoxicidade, embora tenha havido significativo progresso na biodegradação expresso pela redução dos teores de HPT extraíveis. O crescimento de fungos nos estágios iniciais do processo pode ter afetado os resultados de ecotoxicidade. Nos ensaios da Série 2, o tratamento em biopilha, em geral, contribuiu para melhorar a qualidade dos solos em termos de ecotoxicidade. Para o Solo B os ganhos de qualidade foram ainda maiores.

O vegetal *Brassica napus* (nabo) mostrou-se a espécie mais sensível à presença do óleo residual. Todos os testes apresentaram um crescimento menor nos solos tropicais do que nos solos LUFA.

5.3. Reatores em Coluna

5.3.1. Série BR1

O ensaio com os reatores de coluna BR1 teve a duração de 30 dias corridos. Na corrente de saída dos reatores BR1-3 e BR1-4, foram medidos automaticamente os teores dos compostos orgânicos voláteis (COVs), quantificados em termos de COT, e de CO_2 . Os valores acumulativos de COT e de CO_2 , que correspondem à percentagem do carbono original presente no petróleo adicionado ao solo, para cada reator, são mostrados no gráfico da Figura 5.31.

As curvas para os dois reatores mostram uma boa repetibilidade, uma vez que foram operados sob as mesmas condições.

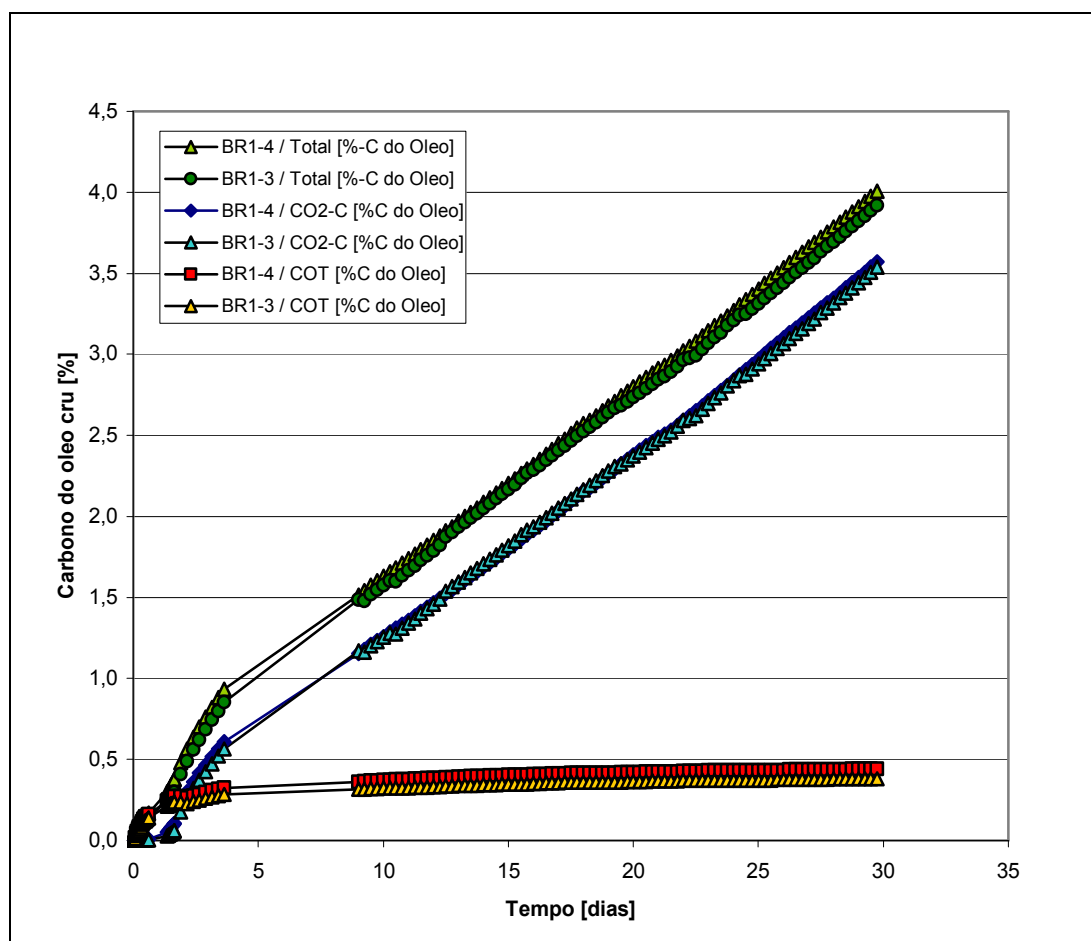


Figura 5.31 - Desaparecimento acumulativo de carbono nos biorreatores BR1-3 e BR1-4.

Houve grande aumento na taxa de emissão de COVs no primeiro dia de operação, em função da circulação de ar. Em seguida, essa taxa apresentou tendência de estabilização. Uma análise mais detalhada da evolução dos COVs será feita mais a frente.

A análise na produção de CO₂ mostra que houve uma fase *lag* que durou cerca de dois dias, provavelmente em função do choque aos microorganismos do solo pela adição do petróleo. Em seguida, houve uma elevada taxa de produção de CO₂ entre os dias 2 e 4. Após este período, a taxa de produção de CO₂ se estabilizou em um nível mais baixo até o final dos ensaios.

A evolução das quantidades acumuladas de CO₂ e do COT na saída dos reatores BR1-5 e BR1-6 é apresentada na Figura 5.32. Estes reatores receberam o aporte de 10% (v/v) de casca de arroz. A repetibilidade dos resultados dos dois reatores foi boa, porém não no mesmo nível do obtido para os reatores BR1-3 e BR1-4.

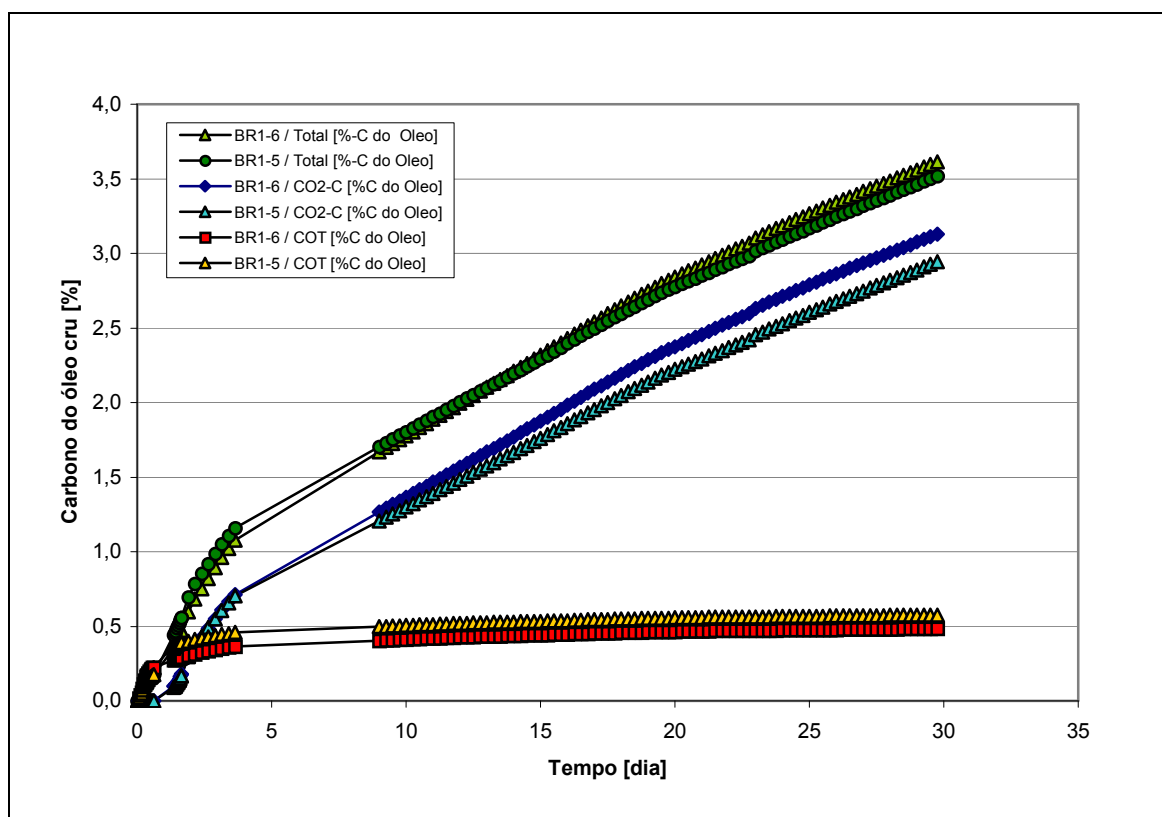


Figura 5.32 - Desaparecimento acumulado de carbono nos biorreatores BR1-5 e BR1-6.

Observa-se também uma forte emissão de COVs nos dois primeiros dias de teste, como ocorreu nos reatores BR1-3 e BR1-4. Em seguida, houve diminuição e estabilização na taxa de emissão de COVs. A produção de CO₂ nos dois primeiros dias de teste foi praticamente nula, o que indica uma fase lag em virtude do choque à microbiota do solo pela adição do petróleo, tal como ocorrido nos reatores BR1-3 e BR1-4. Passada esta fase, houve um forte crescimento na produção de CO₂ que durou cerca de dois dias. Logo depois, a produção de CO₂ se estabilizou em um valor mais baixo até o término dos experimentos.

A evolução dos teores de CO₂ na corrente do gás exausto dos reatores pode ser visualizada no gráfico da Figura 5.33. O reator BR1-1 (controle da respiração do solo) teve produção de CO₂ praticamente constante no transcorrer de todo ensaio. O teor de CO₂ se manteve em torno de 0,1% de volume da fase gasosa. O reator que teve o aporte de casca de arroz (BR1-2), mas sem a adição do óleo, teve uma produção de CO₂ mais elevada do que a do reator só com o solo. As concentrações de CO₂ medidas estiveram na faixa de 0,2% a 0,3% de volume da fase gasosa. Isto evidenciou uma pequena produção de CO₂ em função de processo de metabolização da matéria orgânica presente na casca de arroz. Normalmente, a casca de arroz é considerada relativamente inerte quanto à sua biodegradação, isto é, tem uma lenta metabolização microbiana de seu carbono em comparação com outros substratos.

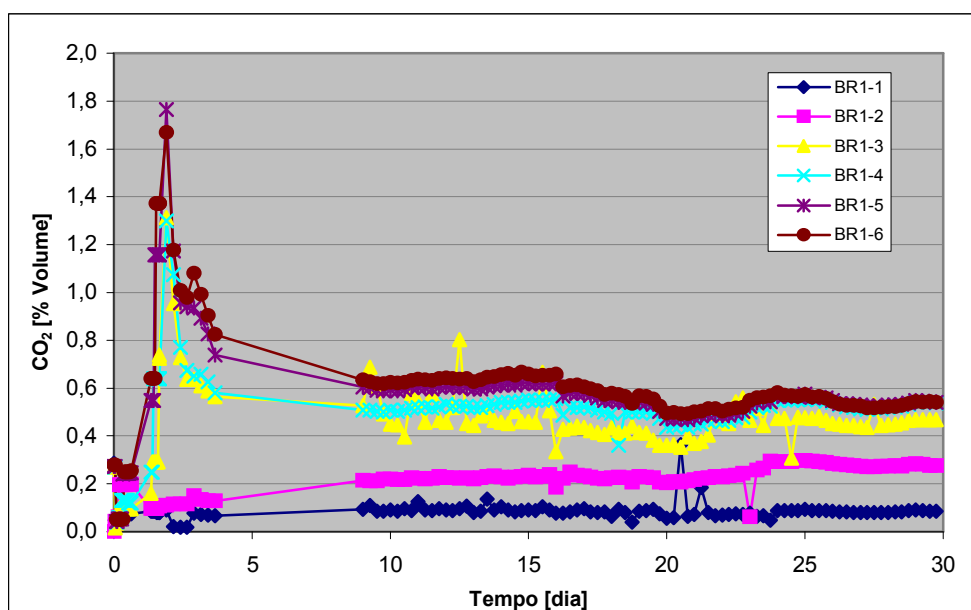


Figura 5.33 – Evolução dos teores de CO₂ não acumulativos no efluente gasoso dos reatores da série BR1.

Nos reatores onde houve contaminação do solo com o óleo cru de Sergipe, observa-se que no segundo dia houve um pico na concentração de CO_2 na corrente gasosa da saída dos reatores. O pico de teor de CO_2 medida na saída dos reatores BR1-3 e BR1-4 foi de 1,3% de volume da fase gasosa. A partir do décimo dia de experimentos o valor de CO_2 se manteve constante em torno de 0,5% de volume.

A fase gasosa efluente dos reatores BR1-5 e BR1-6, que receberam solos contaminados e o aporte de 10% de casca de arroz, apresentou também um pico de concentração de CO_2 (1,7% de volume) em torno do segundo dia de ensaio. Em seguida, a concentração de CO_2 foi diminuindo até se estabilizar na faixa de 0,5% a 0,6% de volume gasoso.

Os resultados dos reatores com solo contaminado evidenciam que a mineralização do óleo foi mais intensa nos primeiros dias de tratamento, diminuindo nas semanas seguintes para um patamar constante.

Os valores de COT não cumulativo na saída dos reatores mostram que houve forte emissão nas primeiras 24 horas de ensaio (Figura 5.34). Os reatores com a adição de casca de arroz mostraram picos de COT na ordem de 0,500 g de C/kg de solo seco por dia, superior aos verificados nos reatores sem utilização da casca ($\sim 0,400$ g de C/kg de solo seco por dia). Uma possível explicação para esta diferença seria um aumento dos macro-poros do solo pela adição da casca, o que favoreceria a saída dos COVs do meio poroso.

Após a ocorrência dos picos de COVs, os teores de voláteis decresceram rapidamente até um patamar de cerca de 0,002 g de C/kg de solo seco por dia, observado em todos os reatores, incluindo os controles. Com isso, mostra-se que a contribuição da volatilização no desaparecimento do óleo cru durante o teste foi muito baixa.

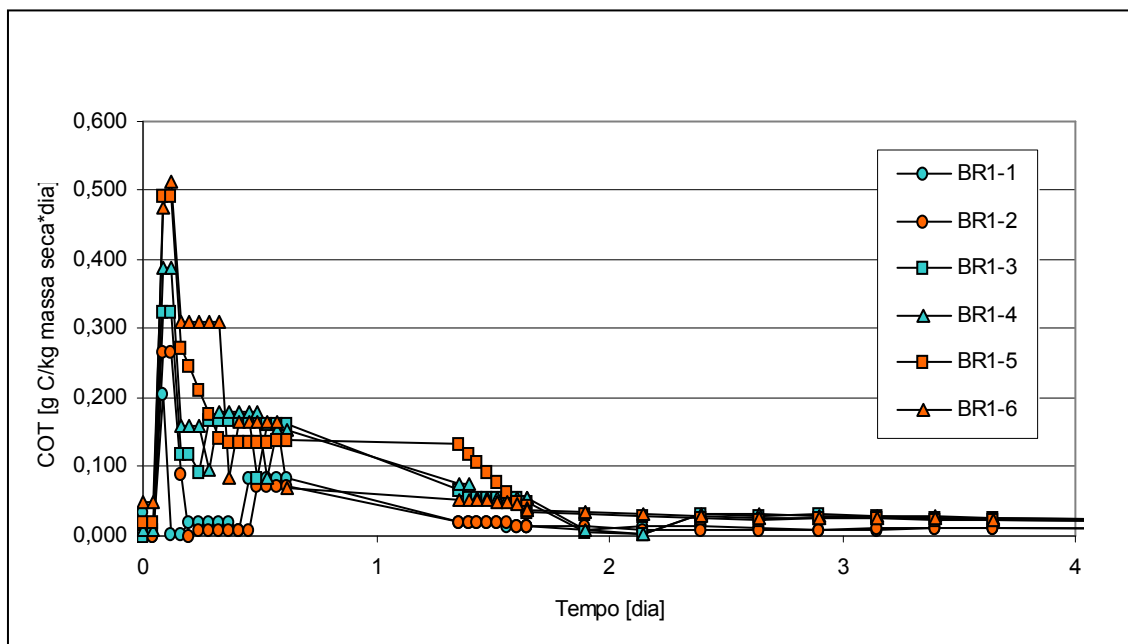


Figura 5.34 - Evolução dos teores de COT não acumulativos no efluente gasoso dos reatores da série BR1.

O balanço completo de carbono durante o processo de desaparecimento do óleo cru não foi possível de ser obtido nesta série de ensaios. Os valores de HPT e de biomassa obtidos se mostraram inconsistentes. Por isso, só foi possível fazer um balanço parcial de carbono, levando-se em conta quanto de óleo foi transformado em CO_2 pela mineralização e quanto foi transferido para a fase gasosa por volatilização.

O gráfico da Figura 5.35 mostra que o desaparecimento acumulativo do carbono do óleo cru, em termos de mineralização e volatilização, foi similar entre os reatores com e sem o aporte da casca de arroz. Deste modo, fica evidente que a casca de arroz não promoveu aumento na eficiência de desaparecimento do óleo cru.

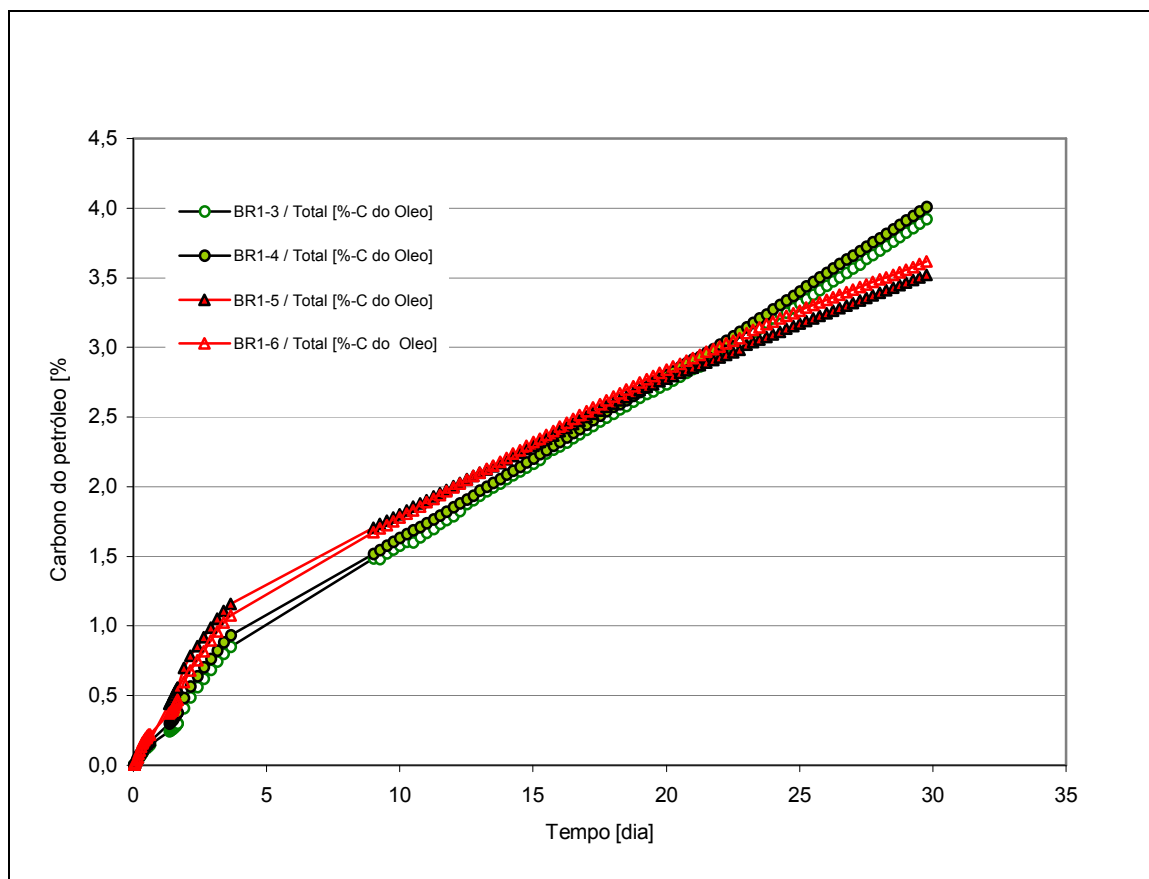


Figura 5.35 – Desaparecimento acumulativo do carbono do petróleo nos biorreatores da série BR1.

5.3.2. Série BR2

Na série BR2 não houve réplicas em função da boa repetibilidade obtida na série BR1. O ensaio teve a duração de 69 dias. Os valores acumulativos de COT e de CO₂, que correspondem à percentagem do carbono original presente no óleo cru adicionado ao solo, para cada um dos reatores BR2-3 e BR2-4, são mostrados no gráfico da Figura 5.36. Em ambos os reatores foram adicionados 5% de óleo cru (m/m).

Observa-se que no reator BR2-3 a vaporização dos compostos voláteis oriundos do óleo foi mais elevada (cerca de 2 vezes) do que no reator BR2-4, que teve a adição do composto. Uma possível explicação para este comportamento seria uma maior atividade microbiana presente no reator BR2-4. Com isto, os compostos orgânicos voláteis seriam degradados mais facilmente nesse reator, o que diminuiria a concentração de voláteis no gás de saída do reator.

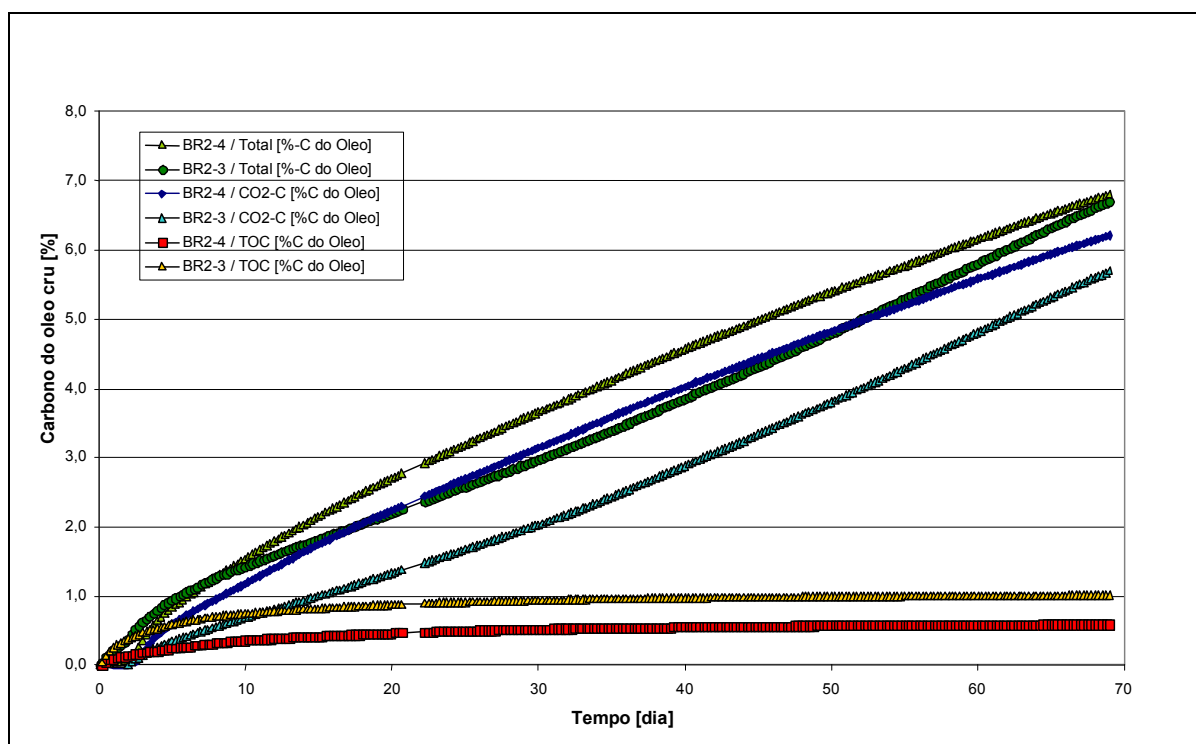


Figura 5.36 - Desaparecimento acumulativo de carbono nos biorreatores BR2-3 e BR2-4.

A mineralização do carbono do óleo cru a CO₂ foi mais elevada no reator BR2-4 em

praticamente todo o período de teste. Só ao final do experimento houve uma tendência a produção acumulada de CO_2 dos dois reatores se igualar.

Os reatores BR2-5 e BR2-6 receberam solo contaminado pelo óleo cru de Sergipe à 3% (m/m). No gráfico da Figura 5.37, o consumo do carbono original do óleo, em termos de mineralização (produção de CO_2), foi estimulado com a adição do composto. O consumo de carbono no reator com o aporte de composto (BR2-6) foi cerca do dobro do obtido no reator sem a adição do composto (BR2-5). O pico do teor de CO_2 no reator BR2-6 ocorreu entre o dia 2 e 3, atingindo 2,9% vol, contra 0,5% no reator BR2-5. Isto evidenciou o benefício do emprego do composto como material para melhorar a estrutura do solo, assim como fonte de nutrientes.

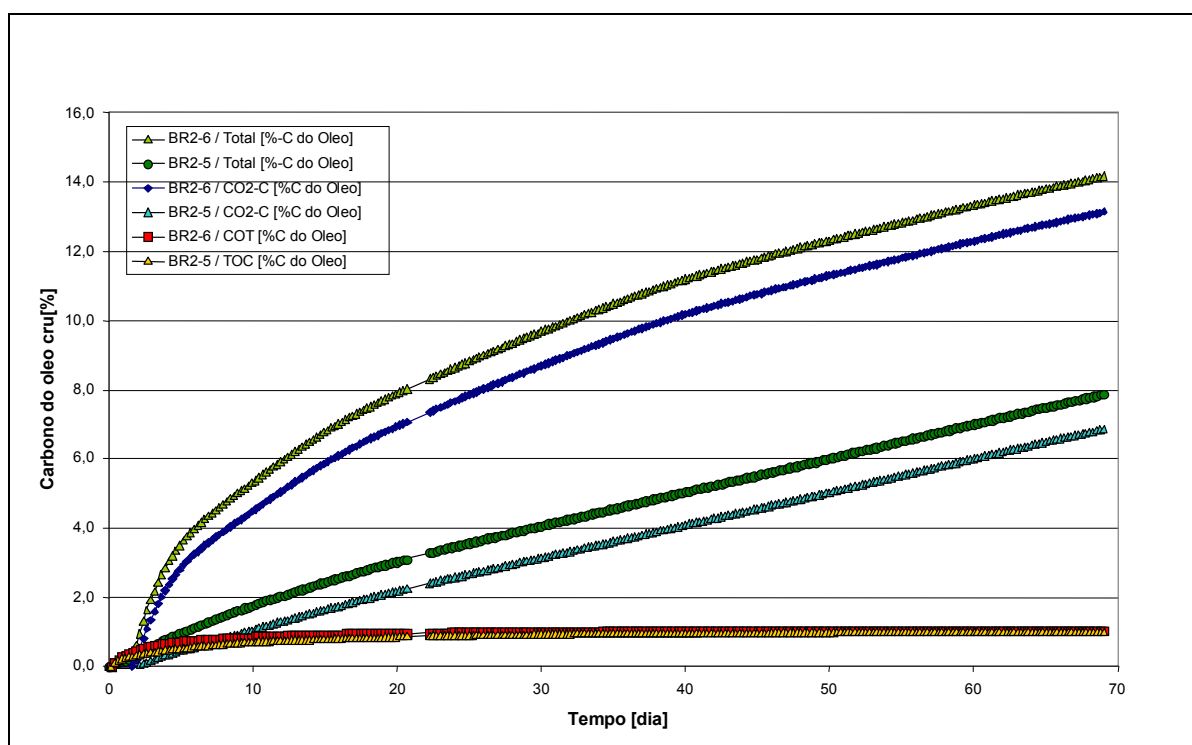


Figura 5.37 - Desaparecimento de carbono nos biorreatores BR2-5 e BR2-6.

Os teores de CO_2 não acumulativos podem ser visualizados no gráfico da Figura 5.38. O reator BR2-6 apresentou a concentração de CO_2 na saída do reator mais elevada entre todos os reatores, principalmente nos cinco primeiros dias de ensaio. Isto mostra que o composto estimulou maior nível de mineralização do óleo cru, provavelmente em função da melhora na estrutura do solo trazida pelo composto.

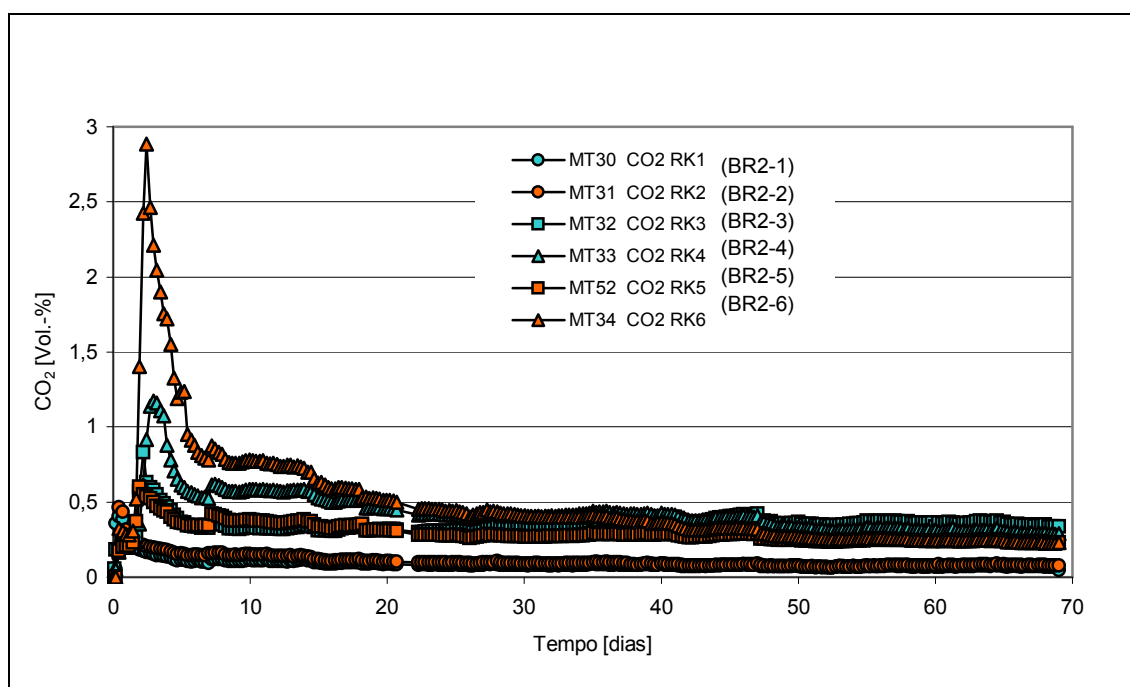


Figura 5.38 – Evolução dos teores de CO₂ não acumulativos no efluente gasoso dos reatores da série BR2.

A Tabela 5.10 mostra o resultado da quantificação de carbono relacionada à biomassa obtida pelo método não padronizado SRI (item 4.5.2.5). Observa-se, na maioria dos reatores, a tendência de crescimento da quantidade de biomassa nos primeiros sete dias de ensaio, com a posterior diminuição de seu valor. Contudo, o uso deste método se mostrou limitado em função da dificuldade de interpretar os resultados obtidos.

Tabela 5.10 – Quantidade de carbono relacionada à biomassa.

mg C/100g massa seca de solo	TEMPO [dia]				
<i>Biorreator</i>	<i>0</i>	<i>7</i>	<i>21</i>	<i>47</i>	<i>69</i>
BR2-1	20,7	18,2	9,8	11,2	5,6
BR2-2	15,2	19,6	8,4	12,6	11,2
BR2-3	11,2	11,2	11,8	13,4	19,0
BR2-4	3,7	20,7	10,1	17,4	n.a.
BR2-5	5,0	13,4	10,6	11,8	11,8
BR2-6	10,0	21,3	15,7	17,9	16,8

n.a. = não analisado

O gráfico da Figura 5.39 mostra os dados consolidados da evolução da percentagem da biodegradação do carbono presente originalmente no óleo adicionados aos solos. O reator BR2-6 foi o que apresentou a maior percentagem de biodegradação de carbono – 13,3%, após 67 dias de tratamento. Ele recebeu 10% em volume de composto. Já para o reator sem o aporte de composto a percentagem de degradação de carbono foi de 6,87%. Com isso, ficou evidenciado o benefício da adição de composto ao solo na biodegradação do óleo cru.

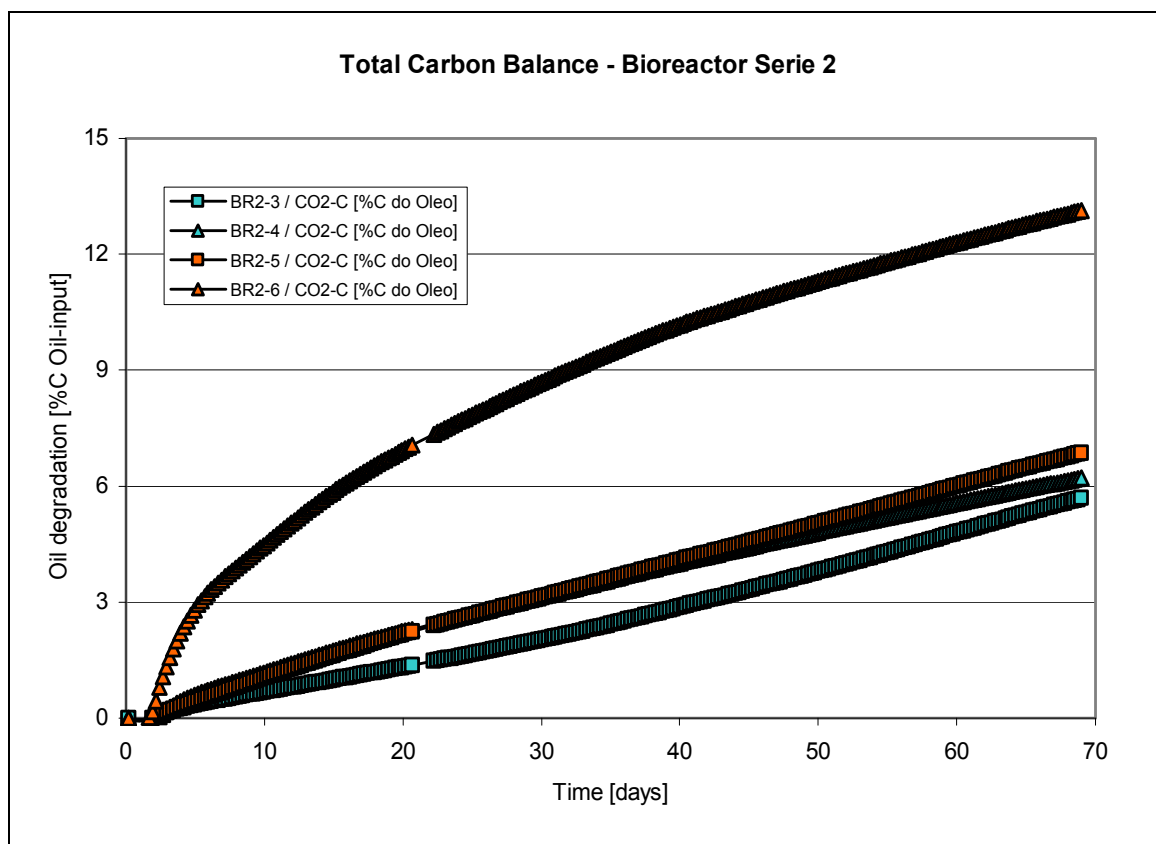


Figura 5.39 - Desaparecimento de carbono dos biorreatores da série BR2, em termos de biodegradação.

A realização do balanço de carbono durante o processo de estimulação da biodegradação do óleo cru foi possível nos primeiros 47 dias de teste. O teor de carbono mineralizado foi obtido pela análise de CO_2 na saída da corrente gasosa de cada reator. O carbono volatilizado foi tirado da análise de COT, também da corrente gasosa de saída do reator. A quantidade de carbono da biomassa foi obtida pelo ensaio de SRI. E por fim, a

quantidade de carbono extraído foi obtida pela análise de hidrocarbonetos de petróleo totais extraíveis (Tabela 5.11). A diferença encontrada no balanço de massa é considerada carbono não medido.

Tabela 5.11 – Evolução com o tempo do HPT extraíveis nos biorreatores.

mg HPT/kg massa seca de solo	TEMPO [dia]				Remoção dos HPT
<i>Biorreator</i>	<i>0</i>	<i>7</i>	<i>21</i>	<i>47</i>	[%]
BR2-1	233	80	500	<10	—
BR2-2	160	n.a.	20	0	—
BR2-3	53080	50485	49890	45800	14,4
BR2-4	51795	46030	45070	39503	23,7
BR2-5	32827	24953	23055	21550	34,3
BR2-6	30840	21177	19580	17307	43,9

Os resultados do balanço de carbono em relação ao óleo cru estão na Tabela 5.12. No reator BR2-3, a porcentagem de carbono metabolizado a CO₂ foi de 0,49% após 7 dias de teste. Este valor subiu para 3,52% no tempo de 47 dias. O nível de volatilizado atingiu à 0,98% do carbono inicial no tempo igual a 47 dias. Neste tempo, os valores de carbono da biomassa e do óleo residual extraído foram de 0,20 e 86,28%, respectivamente. A diferença no balanço, o chamado carbono não medido, foi aumentando no transcorrer do teste, tendo variado de 3,54% (T7) para 9,02% (T47).

Tabela 5.12 – Balanço de carbono em termos do encontrado no óleo cru original.

% C inicial	BR2-3			BR2-4			BR2-5			BR2-6		
	7dias	21 dias	47 dias	7dias	21 dias	47 dias	7dias	21 dias	47 dias	7dias	21 dias	47 dias
Mineralizado	0,49	1,37	3,52	0,84	2,30	4,59	0,61	2,24	4,75	3,58	7,06	10,98
Extraído	95,11	93,99	86,28	88,87	87,02	76,27	76,02	70,23	70,09	68,67	63,49	56,12
Volatilizado	0,67	0,88	0,98	0,29	0,47	0,56	0,67	0,86	0,97	0,78	0,96	1,02
Biomassa	0,19	0,19	0,20	0,39	0,17	0,27	0,40	0,29	0,30	0,65	0,44	0,46
Não Medido	3,54	3,57	9,02	9,61	10,04	18,31	22,30	26,38	23,89	26,32	28,05	31,42

O reator BR2-4 apresentou um nível de biodegradação um pouco mais elevado que o do BR2-3. Após 47 dias de teste a porcentagem de carbono metabolizado a CO₂ chegou à 4,59%. O carbono não quantificado também aumentou para 18,31%. O nível de carbono

volatilizado foi inferior ao emitido no reator BR2-3. Este resultado mostra uma leve melhoria na mineralização do óleo em função da adição de 10% de composto.

Nos ensaios onde houve a contaminação com 3% de óleo cru (BR2-5 e BR2-6), o nível de carbono mineralizado alcançado foi superior ao dos ensaios com adição de óleo mais elevada (5%, m/m). O reator BR2-5, sem o aporte de composto, mostrou um nível de biodegradação correspondente à 4,75% do carbono inicial. O reator que recebeu o composto (BR2-6) mostrou um desempenho na biodegradação do óleo bem superior ao obtido no reator sem o material estruturante, conseguindo atingir 10,98%.

Contudo, o material não medido nos reatores BR2-5 e BR2-6 aumentaram em relação aos ensaios com 5% de óleo. No reator BR2-6 a porcentagem de carbono não medido foi de 31,42%. Com o aumento da porcentagem de carbono mineralizado a CO₂ houve também um aumento do material não medido.

Esta diferença de balanço observada, chamada de carbono não medido, pode ser explicada pela formação de resíduos de ligação. O processo geral de formação de resíduos de ligação é freqüentemente considerado como uma transformação de poluentes antropogênicos em húmus, já que o carbono xenobiótico fica associado com a matéria orgânica natural presente no solo. Assim, o carbono xenobiótico é sequestrado pelas matrizes orgânicas macromoleculares, de difícil acesso com procedimentos analíticos convencionais. Com a ligação, o composto xenobiótico perde a sua identidade estrutural, o que inclui suas características físicas, químicas e biológicas (KÄSTNER e RICHNOW, 2001). O esquema da Figura 5.40 mostra o fluxo de carbono durante a degradação microbiana de compostos orgânicos em solo.

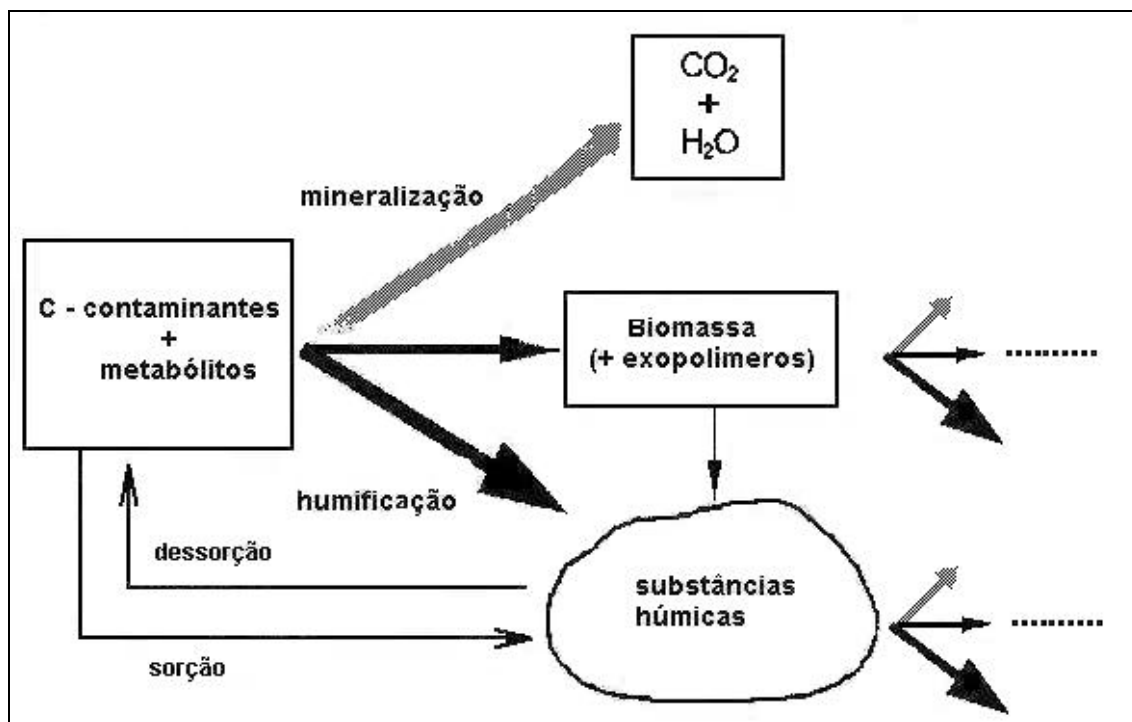


Figura 5.40 – Fluxo de balanço de carbono na biodegradação de substâncias orgânicas (KÄRTER e RICHNOW, 2001)

A formação de resíduos de ligação de hidrocarbonetos foi evidenciada em testes onde se empregou hexadecano ^{14}C (KÄSTNER *et al.*, 1995). Lotte e colaboradores (2001) realizaram um estudo com solo contaminado por óleo diesel (1% em relação ao solo, em base seca), tendo sido observada uma diferença no balanço de 35% após 53 dias de teste. Esta diferença foi explicada pela formação de resíduos de ligação sorvidos à matriz do solo. Este estudo foi realizado em sistema de balanço de carbono similar ao usado na presente tese.

Assim, pode-se considerar que o carbono não medido nos experimentos em coluna foi aquele que não pode ser extraído pelo método utilizado para a quantificação dos HPT. Pode-se, então, concluir que este carbono ficou sorvido na matriz do solo. Ele estaria ligado à matéria orgânica, aos minerais de argila ou ao complexo argila-húmus.

A Figura 5.41 ilustra a variação dos diversos compartimentos de balanço de carbono para o reator BR2-3. A porcentagem de carbono sorvido no solo aumentou com o aumento da mineralização do óleo cru. Este comportamento foi também seguido no reator BR2-4 (Figura 5.42). Mas foi no reator BR2-6 onde essa tendência ficou mais evidente (Figura 5.43). À medida que o processo de mineralização do carbono do óleo

foi tendo curso a quantidade de carbono sorvido foi aumentando. Com o tempo, é esperado que a quantidade de carbono sorvido se estabilize. O processo de mineralização do óleo residual e de seus metabólitos tenderá a decrescer consideravelmente com a diminuição de sua biodisponibilidade. Esta variação do carbono mineralizado e sorvido com o tempo foi observada por diversos autores (KONING *et al.*, 1998, LOTTE *et al.*, 2001, KÄSTNER *et al.*, 2001).

Acredita-se que a estabilidade dos resíduos de ligação em relação ao acesso químico, mecânico e microbiológico aumenta com o grau de humificação. Porém, é necessário desenvolver mais pesquisas para conhecer melhor as consequências ecológicas dos resíduos de ligação. Principalmente em ambientes tropicais, onde se está sujeito a condições de temperatura e chuvas mais severas.

A avaliação da eficiência de um processo de biorremediação de solo contaminado por óleo, com o uso de análise de HPT extraíveis, pode levar a um erro de interpretação, pois neste caso não se leva em conta o quanto do óleo ficou sorvido na matéria orgânica do solo. Isto é exemplificado com o reator BR2-6, no qual o valor encontrado de desaparecimento de HPT foi de 43, 9% (Tabela 5.11), que pode ser confundido como a percentagem de óleo biodegradado. Contudo, pelo balanço de carbono, a mineralização correspondeu a 10,98% do carbono presente no petróleo (Tabela 5.12).

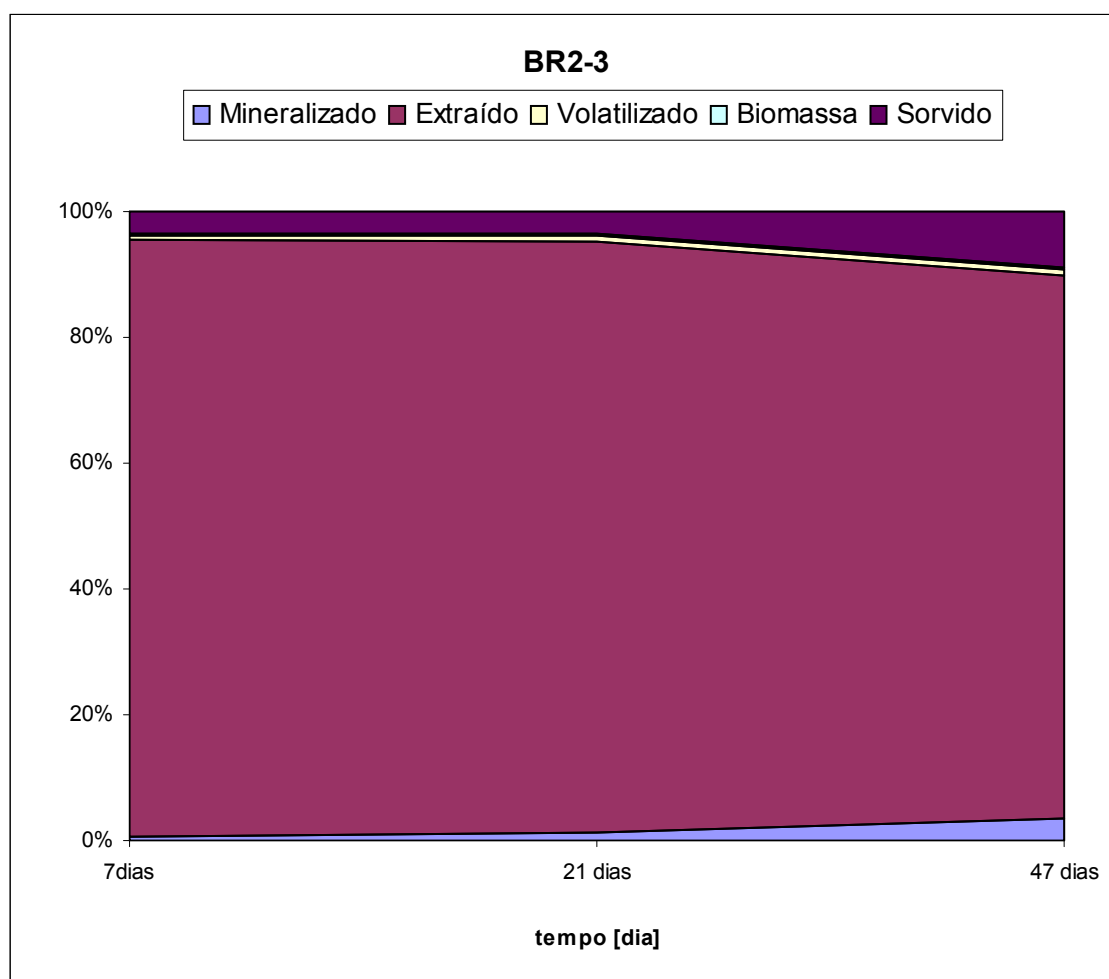


Figura 5.41 – Balanço de carbono com o tempo do reator BR2-3.

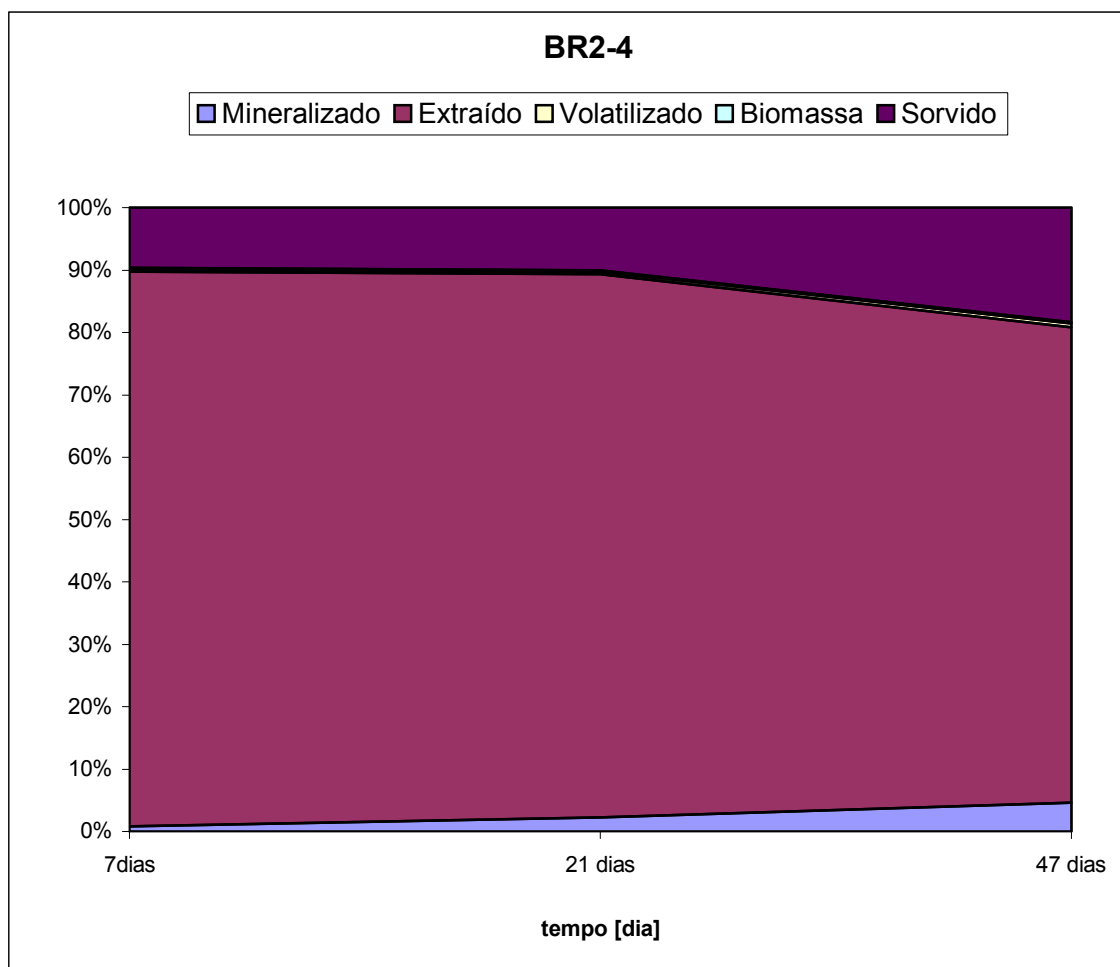


Figura 5.42 - Balanço de carbono com o tempo do reator BR2-4.

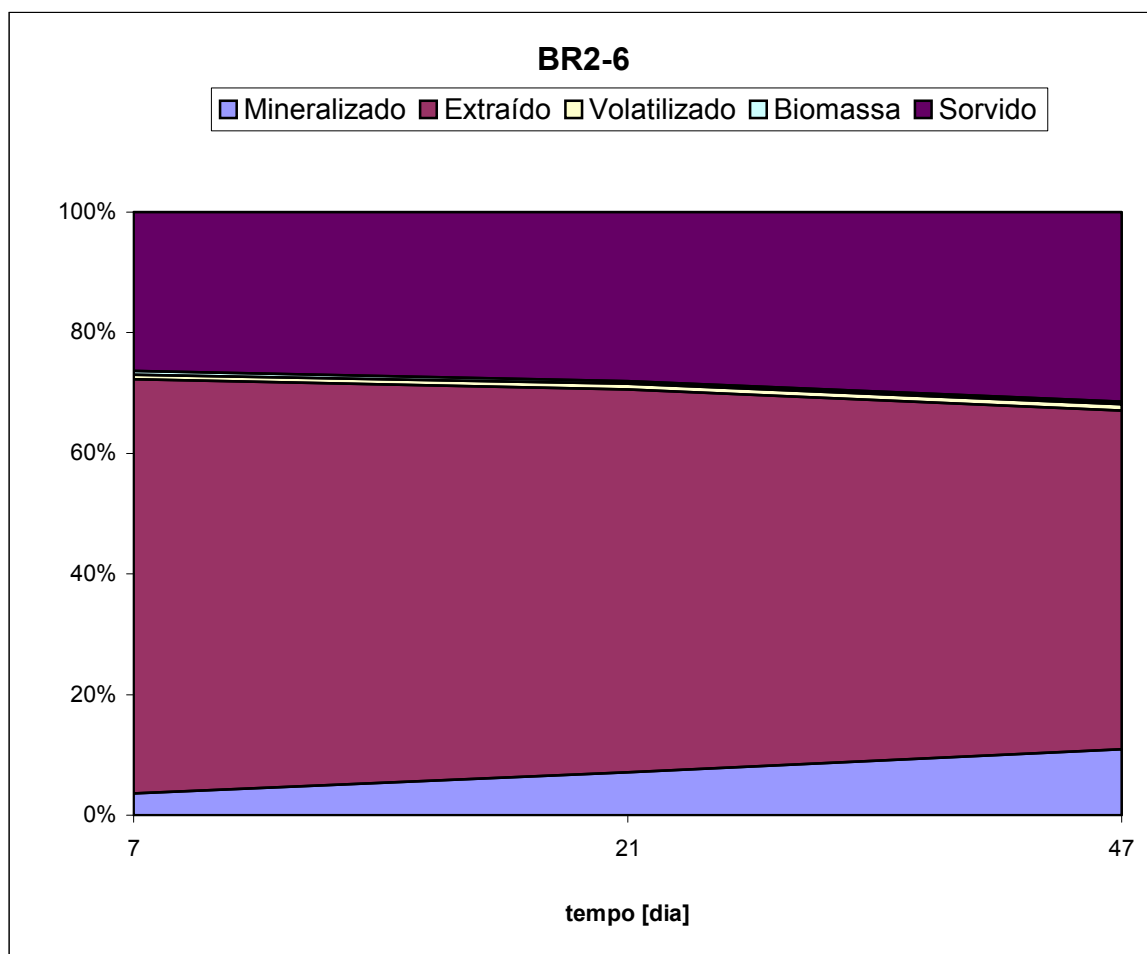


Figura 5.43 - Balanço de carbono com o tempo do reator BR2-6.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

RESPIROMETRIA

- ✓ A concentração inicial de óleo cru teve influência na taxa de consumo de oxigênio. Quanto maior a concentração inicial de óleo menor foi a taxa de consumo de oxigênio. Com o aumento da concentração de óleo há um aumento das demandas de nutrientes e aceptores de elétrons, nem sempre supridas facilmente nas condições dos experimentos. Além disso, as concentrações dos compostos tóxicos presentes no óleo aumentam com a quantidade de óleo, causando a elevação do efeito tóxico destes compostos nas bactérias biodegradadoras de óleo.
- ✓ Verificou-se que o aporte de nutrientes (PK) incrementou taxa de consumo de oxigênio relacionada à biodegradação do óleo cru. Para solos com teores de potássio e fósforo assimiláveis altos, a adição de nutrientes se mostrou inócua. Este foi o caso do solo usado nos ensaios de respirometria na TUHH (Solo C).
- ✓ O incremento na temperatura de 22°C para 30°C elevou a taxa de consumo de oxigênio nos ensaios com o solo A. O incremento da demanda de oxigênio chegou a duplicar nos ensaios com 3% de óleo. Este efeito foi mais intenso nos sistemas com teores de óleo menores. Este aumento foi menos acentuado nos testes com 10% de contaminante. Provavelmente, neste caso o fator limitante para a biodegradação do óleo tenha sido a transferência de massa do contaminante, e não os aspetos microbiológicos controlados pela temperatura.
- ✓ Dentre os materiais estruturantes empregados nos testes com o solo A, a serragem foi aquele que mais incentivou a biodegradação do óleo. No caso dos testes como o solo B, o melhor estruturante foi o composto.
- ✓ Teores mais elevados de material estruturante não se mostraram benéficos na biodegradação do óleo, produzindo, em alguns casos, efeitos deletérios.
- ✓ Em todos os ensaios com o solo B, observou-se uma diminuição da taxa de consumo de oxigênio com o tempo. Isto evidencia o decréscimo da taxa biodegradação do óleo cru no transcorrer do teste em função do desaparecimento, em primeiro lugar, dos compostos mais facilmente biodegradáveis. Com o tempo os compostos remanescentes se mostraram mais recalcitrantes à biodegradação em função de sua menor biodisponibilidade.

BIOPILHAS

- ✓ O aporte da casca de arroz não trouxe benefício na remoção de HPT, quando comparado com o resultado obtido na pilha sem material estruturante, no caso do solo A. A análise dos resultados para o solo B mostra que o aporte do arroz foi positivo para o desaparecimento dos hidrocarbonetos, elevando a percentagem de remoção de HPT de 48,98 % para 54,53 %;
- ✓ A frequência de revolvimento do solo não teve influência significativa na eficiência de remoção dos HPT, nas condições e na escala testadas;
- ✓ O decréscimo no teor de HPT extraíveis foi mais acentuado nas oito primeiras semanas do teste. Da oitava à décima sexta semana, houve diminuição na taxa de desaparecimento de HPT em todas as pilhas. Uma possível explicação para este comportamento seria o decréscimo acentuado da quantidade dos compostos mais facilmente biodegradáveis nas oito primeiras semanas de tratamento. Nas semanas subsequentes, a biodisponibilização dos compostos orgânicos presentes no óleo residual foi bastante diminuída, o que se refletiu em menores taxas de remoção dos poluentes no solo;
- ✓ Os resultados de contagem microbiana indicaram níveis elevados de degradadores de óleo ($>10^4$ NMP/g de solo seco) ao longo dos experimentos durante grande parte dos experimentos;
- ✓ Os testes de ecotoxicidade com vegetais mostraram ser uma ferramenta importante no controle da eficiência de processos de remediação de solos. Eles forneceram uma predição mais segura dos efeitos prejudiciais dos contaminantes aos organismos do solo;
- ✓ Nos solos em que houve proliferação de fungos, os testes ecotoxicológicos indicaram um efeito tóxico causado provavelmente pelas toxinas produzidas por esses microrganismos;
- ✓ *Brassica napus* (nabo) foi a espécie que se mostrou mais sensível à presença do óleo residual;
- ✓ Não foi possível estabelecer correlação entre os diversos vegetais usados nos

ensaios de ecotoxicidade, contudo esses testes mostraram ser uma ferramenta importante para a avaliação do processo de biorremediação de solos.

REATORES

- ✓ O composto foi o material estruturante que mais benefício trouxe à biodegradação do óleo cru. A casca de arroz, por sua vez, não propiciou aumento na eficiência de desaparecimento do petróleo;
- ✓ A contribuição da volatilização no desaparecimento do petróleo durante o teste foi muito baixa, correspondendo a menos de 1% do carbono contido no petróleo;
- ✓ No balanço de carbono, foi observada uma diferença, chamada de carbono não medido, que pode explicada pela formação de resíduos de ligação. Estes estariam sorvidos na matriz do solo, ligados à matéria orgânica;
- ✓ A porcentagem de carbono sorvido no solo aumentou com o aumento da mineralização do óleo cru. No caso do ensaio em que houve maior nível de mineralização (BR2-6), a porcentagem de carbono sorvido chegou a 31,42 %, após 47 dias de ensaio. Com o tempo, é esperado que a quantidade de carbono sorvido se estabilize.

GERAL

- ✓ A aplicação da biopilha no tratamento de solos argilosos contaminados com petróleo é viável, podendo eliminar os risco do óleo residual ao meio ambiente a curto e médio prazo, por meio de sua mineralização e humificação;
- ✓ O sistema de balanço de carbono usado neste trabalho mostrou-se muito útil para avaliar os processos sofridos pelos contaminantes orgânicos em solo.

CAPÍTULO 7

SUGESTÕES

- ✓ É necessário desenvolver mais pesquisas para conhecer melhor as conseqüências ecológicas dos resíduos de ligação. É importante verificar a sua estabilidade química, mecânica e microbiológica, principalmente em ambientes tropicais, onde se está sujeito a condições de temperatura e chuvas mais severas;
- ✓ É necessário aplicar e desenvolver ensaios de ecotoxicidade em solo, com o uso de uma maior gama de organismos (minhocas, colembola etc.), principalmente organismos nativos, para uma melhor compreensão dos efeitos biológicos da presença de substâncias orgânicas no solo e aprimorar a consistência dos resultados e de sua interpretação.

CAPÍTULO 8

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEF, K., 1994, *Biologische Bodensanierung*. Weinheim, VCH.
- ALEXANDER, M., 1977, *Introduction to Soil Microbiology*. 2 ed. New York, John Wiley.
- ALEXANDER, M., 1995, "How Toxic are Toxic Chemicals in Soil?", *Environ. Sci. Technol.*, v. 29, pp. 2713-2717.
- AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE, 1997. *Environmental Guidance Document: Waste Management in Exploration and Production Operations*. Publication API E5, 2 ed., American Petroleum Institute, Washington D.C.
- ANDERSON, J.P.E., DOMSCH, K.H., 1978, "A Physiological Method for the Quantitative Measurement of Microbial Biomass in Soils", *Soil., Biol., Biochem.*, v. 10, pp. 215-221.
- ATLAS, R.M., 1988, "Biodegradation of Hydrocarbons in the Environment", *Basic Life Science*, v. 45, pp. 211-222.
- BALDA, M.T., AI-DAHER, R., AI-AWADHI, N., CHINO, H., TSUJI, H., 1998 "Bioremediation of Oil-Contaminated Desert Soil: The Kuwaiti Experience". *Environment International*, v.24, pp. 163-173.
- BARTHA, R., ATLAS, R. M., 1987, "Transport and Transformation of Petroleum in Biological Processes". In: Boesch, D.F., Rabalais, N.N. (eds), *In Long-Term Environmental Effects of Offshore Oil and Gas Development*, pp. 287-341, London, Elsevier Applied Science.
- BOLLAG, J.M., 1992, "Decontaminating Soil with Enzymes". *Environ. Sci. Technol.*, v. 26, pp. 1876-1881.
- BOSSERT, I., BARTHA, R, 1984, "The Fate of Petroleum in Soil Ecosystems". In: Atlas, R. M. (ed.), *Petroleum Microbiology*, pp. 434-476, New York, Macmillan Publ. Co.
- BRITTON, G., DUTKA, B.J., HENDRICKS, C.W., 1989, Chapter 6, Section 4. In: W. Warren-Hicks, B.R. Parkhurst, S.S. Baker Jr. (eds), *Ecological Assessment of Hazardous Waste Sites: A Field and Laboratory Reference*. Environmental Research Laboratory, Office of Research Development, U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, OR, EUA.
- BROWN, K.W., DONNELLY, K.C., DEUIL JR, L.E., 1983, "Effects of Mineral Nutrients, Sludge Application Rate, and Application Frequency on Biodegradation of Two Oily Sludges". *Microb. Ecol.*, v. 9, pp. 363-373.
- CASARINI, D.C.P., 2000, "Proposta de Valores de Referencia de Qualidade e Intervenção para Solos e Água Subterrâneas no Estado de São Paulo". *II Seminário Internacional Sobre Qualidade de Solos Águas Subterrâneas: Proposta de Valores Orientadores para o Estado de São Paulo*, São Paulo, 14 de março de 2000.
- CETESB, 1997, *Estabelecimento de Padrões de Referencia de Qualidade e Valores de Intervenção para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo: 1997*. Relatório parcial, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, São Paulo, SP.

- CETESB, 2001a, *Relatório de Estabelecimento de Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo*. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, São Paulo, SP.
- CETESB, 2001b. Teste de Toxicidade com a Bactéria Luminescente *Vibrio Fischeri*. Método de ensaio nº L5.227, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, São Paulo, SP.
- CHACONAS, J.D.J, VAN DEINSE, H., MEDEARIS, S., GRASMICK, D., MAJOR, W.R., CHAUDHRY, T., 1997, “Bioremediation of Diesel-Contaminated Soils at Navy National Test Site”. In: *In Situ and On-site Bioremediation: Volume 1*, [Pat. Int. In Situ On-Site Bioremediation. Symp., New Orleans, USA, April 28- May 1 1997], 4th, pp. 497-502. Alleman, B.C., Leeson, A. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- CLAESSEN, M.E.C., BARRETO, W.O., DE PAULA, J.L., DUARTE, M.N., 1997, *Manual de Métodos de Análise de Solos*. 2 ed. Rio de Janeiro Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –Embrapa.
- CLARKSON, W., RATERMAN, K., BARKER, G., DENHAM, D., KRIEGH, K., LAUTZENHISER, D., 1995, Assessment of Composting for Bioremediation of Pit Sledges and Weathered Crude Oil. In: *2nd USDOE and Tulsa University Petroleum Environmental Conference Proceedings*, pp. 435-54.
- COSTA, J.B., 1999, *Caracterização e Constituição do Solo*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
- CUNNINGHAM, C.J., PHILIP, J.C., 2000, “Comparison of Bioaugmentation and Biostimulation in Ex Situ Treatment of Diesel Contaminated Soil”. *Land Contamination and Reclamation*, v. 8, pp. 261-269.
- CYR, G.G., SPIELES, P.R., 1997, “Enhanced Biopile Aeration Using a Wind-Powered Ventilation System: Case Study”. In: *In Situ and On-site Bioremediation: Volume 1*, [Pat. Int. In Situ On-Site Bioremediation. Symp., New Orleans, USA, April 28-May 1 1997], 4th, pp. 473-78. Alleman, B.C., Leeson, A. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- DAVIS, K.L., REED, G.D., WALTER, L., 1995, “A Comparative Cost for Petroleum Remediation Technologies”. In: Hinchee et al. (eds.), *Applied Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon*, Battelle Press, Columbus, Ohio.
- DEUEL, L.E. JR., HOLLIDAY, G.H., 1997, *Soil Remediation for the Petroleum Extraction Industry*. Tulsa, PennWell.
- DIBBLE, J. T.; BARTHA, R., 1979, “Effect of Environmental Parameters on the Biodegradation of Oil Sludge”, *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 37, pp. 729-739.
- DOD ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY TRANSFER COMMITTEE, 1994, *Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide*. 2 ed. EPA/542/B-94/01.
- DOD ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY TRANSFER COMMITTEE, 2002, *Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide*. 4 ed. SFIM-AEC-ET-CR-97053.
- DRAGUN, J., 1988, “Microbial Degradation of Petroleum Products in Soil”. In:

- Calabrese, E.J., Kostecki, P.T. (eds), *Soils Contaminated by Petroleum Products: Environmental and Public Health Effects*, pp. 289-300., New York, John Wiley & Sons, Inc.
- DUNNE, T., LEOPOLD, L.B., 1978, *Water in Environmental Planning*. W.H. Freeman and Company.
- EASTCOTT, L., SHIU, W.Y., MACKAY, D., 1988, "Environmentally Relevant Physical-Chemical Properties of Hydrocarbons: A Review of Data and Development of Simple Correlations", *Oil Chem. Pollut.*, v. 4, pp 191-216.
- EISENTRAEGER, A., MAXAM, G., RILA, J.P., DOTT, W., 2000, "A Stepwise Procedure for Assessment of the Microbial Respiratory Activity of Soil Samples Contaminated with Organic Compounds", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 47, pp. 65-73.
- EVANGELOU, V.P., 1998, *Environmental Soil and Water Chemistry, Principles and Applications*. New York, John Wiley and Sons.
- FILAURO, G., ANDREOTTI, G., ARLOTTI, D., REISINGER, H.J., 1998, "Blow out of Trecate 24 Crude Oil Well: How Bioremediation Techniques are Solving a Major Environmental in a Valuable Agricultural Area". In: *Contaminated Soil '98* [Proceedings of Sixth International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil, 17-21 May 1998, Edinburg, UK], pp. 403-412. Thomas Telford, London.
- FUSEY, P., OUDOT, J., 1984, "Relative Influence of Physical Removal and Biodegradation in the Depuration of Petroleum Contaminated Seashore Sediments", *Mar. Pollut. Bull.*, v. 15, pp. 136-141.
- GEE, G.W., BAUDER, J.W., 1986, "Particle-Size Analysis". In: Klute, A. (ed), *Methods of Soil Analysis Part 1: Physical and Mineralogical Methods*, 2 ed, monograph 9 (part 1), Madison, USA, American Society of Astronomy, Inc./Soil Science Society of America Inc. Publisher.
- GENOUW, G., DE NAEYER, F., VAN MENEEN, P., VAN DE WERF, H., DE NIJS, W., VERSTRAETE, W., 1994, "Degradation of Oil Sludge by Landfarming – A Case-Study at the Ghent Harbour", *Biodeg.*, v. 5, pp. 37-46.
- GREENE, J.C., BARTELS, WARREN-HICKS, W.J., PARKHURST, B.R., LINDER, G.L., PETERSON, S.A., MILLER, W.E., 1989, *Protocols for Short-Term Toxicity Screening of Hazardous Waste Sites*. Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, OR, EPA/600/3-88/029.
- HAYES, K.W., MEYERS, J.D., HUDDLESTON, R.L., 1995, "Biopile Treatability, Bioavailability, and Toxicity Evaluation of a Hydrocarbon-Impacted Soil". In: *Applied Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons*: [Pat. In Situ On-Site Bioremediation. Int. Symp., San Diego, USA, April 24-27 1 1995], pp. 249-256. Hincsee, R.E., Miller, R.N., Johnson, P.C. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- HOLMAN, H.Y., TSANG, Y.W., 1995, "Effects of Soil Moisture on Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons". In: *In Situ Aeration: Air Sparging, Bioventing, and Related Remediation Processes* [Pat. In Situ On-Site Bioremediation. Int. Symp., San Diego, USA, April 24-27 1 1995], pp. 323-332. Hincsee, R.E., Miller, R.N., Johnson, P.C. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.

- HOWARD, P. H., 1990, *Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals - Vol. I and II*. Chelsea, Lewis Publishers, Inc.
- HUESEMANN, M.H., 1994, "Guidelines for Land-Treating Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soils", *Journal of Soil Contamination*, v. 3, n.3, pp. 229-318.
- HUESEMANN, M.H., 1997, "Incomplete Hydrocarbon Biodegradation in Contaminated Soils: Limitations in Bioavailability or Inherent Recalcitrance?". *Bioremediation*, vol. 1, n.1, pp. 27-39.
- HUESEMANN, M.H., MOORE, K.O., 1993, "The Effects of Soil Type and Loading, Oxygen, and Commercial Bacteria on Crude Oil Bioremediation Kinetics as Measured by Soil Respirometry". In: *Proceedings of the Second International Symposium: In Situ and On-Site Bioreclamation*, Battelle, Columbus, pp. 58-71.
- HUNTJENS, J.L.M., DE POTTER, H., BARENDRECHT, J., 1986, "The Degradation of Oil in Soil". In: Assink, J.M., vander Brink, W.J. (eds), *Contaminated Soil*, pp. 121-124., Dordrecht, Martinus Nijhoff Publishers.
- HUPE, K., HEERENKLAGE, J., WOYCZECOWSKI, H., BOLLOW, S., STEGMANN, R., 1998, "Influence of Oxygen on the Degradation of Diesel Fuel in Soil Bioreactors", *Acta Biotechnology*, pp. 109-122.
- HWANG, E.Y., NAMKOONG, W., PARK, J.S., 2001, "Recycling of Remediated Soil for Effective Composting of Diesel-Contaminated Soil", *Compost Science and Utilization*, v. 9, pp. 143-148.
- ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 1993, *ISO Norm 11269-1 - Soil Quality – Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora – Part 1: Method for the Measurement of Inhibition of Root Growth*. ISO, Geneva.
- ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 1995, *ISO Norm 11269-2 - Soil Quality – Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora – Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence and Growth of Higher Plants*. ISO, Geneva.
- JØRGENSEN, K.S., PUUSTINEN, J., SUORTTI, A.M., 2000, "Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil by Composting in Biopiles", *Environmental Pollution*, v.107, pp. 245-254.
- KÄSTNER, M., LOTTER, S., HEERENKLAGE, J., BREUER-JAMMALI, M., STEGMANN, R., MAHRO, B., 1995, "Fate of ¹⁴C-Labeled Anthracene and Hexadecane in Compost-Manured Soil", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 43, pp. 1128-1135.
- KÄSTNER, M., RICHNOW, H.H., 2001, "Formation of Residues of Organic Pollutants Within the Soil Matrix – Mechanisms and Stability". In: Stegmann, R., Brunner, G., Calmano, W., Matz, G. (eds), *Treatment of Contaminated Soil*, pp. 219-251, Berlin, Springer-Verlag.
- KERR, J.M., MELTON, H.R., MAGAW, R.I., MCMILLEN, S.J., NAUGHTON, G., 1999, "Polyaromatic Hydrocarbon Content in Crude Oils Around the World". In: *SPE/EPA Exploration and Production Environmental Conference*, Austin, EUA, February 28- March 3.

- KONING, M., HUPE, K., LÜTH, J.C., COHRS, I., QUANDT, C., STEGMANN, R., 1998, "Comparative Investigations Into the Biological Degradation of Contaminants in Fixed-Bed and Slurry Reactors". In: *Contaminated Soil '98* [Proceedings of Sixth International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil, 17-21 May 1998, Edinburg, UK], pp. 531-538. London, Thomas Telford.
- KONING, M., BRAUKMEIER, J., LÜTH, J.C., RUIZ-SAUCEDO, U., STEGMANN, R., VIEBRANZ, N., SCHULZ-BERENDT, V., 1999, "Optimization of the Biological Treatment of TPH-Contaminated Soils in Bio-piles". In: *Bioreactor and Ex Situ Biological Treatment Technologies* [5th Battelle Memorial In Situ On-Site Bioremediation. International Symp., San Diego, USA, April 19-22 1999], vol. 5, pp. 43-49. Battelle Press, Columbus, Ohio.
- KÖRDEL, W., HUND-RINKE, K., 2001, "Ecotoxicological Assessment of Soils – Bioavailability from an Ecotoxicological Point of View". In: Stegmann, R., Brunner, G., Calmano, W., Matz, G. (eds), *Treatment of Contaminated Soil*, pp. 161-177, Berlin, Springer-Verlag.
- LA GRECA, M.D., BUCKINGHAM, P.L., EVANS, J.C., 1994, *Hazardous Waste and Management*, New York, McGraw-Hill.
- LEAHY, J.G., COLWELL, R.R., 1990, "Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment", *Microbiol. Rev.*, v. 54, pp. 305-315.
- LEAHY, M.C., BROWN, R.A., 1994, "Bioremediation: Optimizing Results", *Chemical Engineering*.
- LECOMTE, P., MARIOTTI, C., 1997, *Handbook of Diagnostic Procedures for Petroleum-Contaminated Sites (Rescopp Project, EU813)*. Chichester, John Wiley & Sons.
- LEE, R.F., HOEPEL, R., 1991, "Hydrocarbon Degradation Potencial in Reference Soils and Soils Contaminated with Jet Fuel", pp. 570-580. In: Hinchee, R.E., Olfenbittel, R.F. (eds), *In Situ Bioreclamation: Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation*, Boston, Butterworth-Heinemann.
- LINHARES, M. M., SEABRA, P. N., 1991, "Método para Avaliação da Aplicabilidade e Taxa de Aplicação de Resíduos em Solo", *Boletim Técnico da Petrobras*, v. 34, pp. 49-52.
- LISS, W., AHLF, W., 1997, "Evidence from Whole-sediment, Porewater, and Elutriate Testing in Toxicity Assessment of Contaminated Sediments", *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v. 36, pp. 140-147.
- LOTTER, S., HEERENKLAGE, J., STEGMANN, R., 2001, "Carbon Balance and Modelling of Oil Degradation in Soil Bioreactors". In: Stegmann, R., Brunner, G., Calmano, W., Matz, G. (eds), *Treatment of Contaminated Soil*, pp. 355-363, Berlin, Springer-Verlag.
- LUNDGREN, T., HATER, G.R., GREEN, R.B., 1997, "Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil Containing Heavy Metal in Sweden". In: *In Situ and On-site Bioremediation: Volume I*, [Pat. Int. In Situ On-Site Bioremediation. Symp., New Orleans, USA, April 28- May 1 1997], 4th, pp. 487-92. Alleman, B.C., Leeson, A. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.

- MAGAW, R.I., MCMILLEN, S.J., GALA, W.R., TREFRY, J.H., TROCINE, R.P., 1999, "A Risk Evaluation of Metals in Crude Oils". In: *SPE/EPA Exploration and Production Environmental Conference*, Austin, USA, February 28- March 3.
- MARGESIN, R., SCHINNER, F., 1997, "Efficiency of Indigenous and Inoculated Cold-Adapted Soil Microorganisms for Biodegradation of Diesel Oil in Alpine Soils", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 7, pp.2600-2664.
- MCBRIDE, M.B., 1994, *Environmental Chemistry of Soils*. New York, Oxford University Press.
- MCMILLEN, S.J., KERR, J.M., BRUNET, J.M., MOIR, M.E., NICHOLSON, P., QUALIZZA, C.V., MOREAU, R., HERAUF, D., 1996, "Composting in Cold Climates: Results from two Field Trials" In: *SPE International Conference on Health, Safety, and Environmental*, New Orleans, USA, June 9-12, pp. 19-30.
- MOLLER, J., GAARN, H., STECKEL, T., WEDEBYE, E.B., WESTERMANN, P., 1995, "Inhibitory Effects on Degradation of Diesel Oil in Soil-Microcosms by a Commercial Bioaugmentation Product", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 54, n.6, pp.913-918.
- MONTGOMERY, C.W., 1995, *Environmental Geology*. 4 ed. Dubuque, C. Brown Publishers.
- MORGAN, P., WATKINSON, R.J., 1992, "Factors Limiting the Supply and Efficiency of Nutrient and Oxygen Supplements for the In Situ Biotreatment of Contaminated Soil and Groundwater", *Wat. Res.*, v. 26, pp. 73-78.
- MORRISON, J.M., HICKMAN, G.T., STEFANOFF, J.G., DIAZ, J.A., HERBST, J., 1997, "Evaluation of Aerated Biopile Treatment Options". In: Alleman, B.C., Leeson, A. (eds.), *In Situ and On-Site Bioremediation: Volume 1*, pp. 455-460 , Columbus, Battelle Press.
- NAMKOONG, W., HWANG, E.Y., PARK, J.S., CHOI, J.Y., 2002, "Bioremediation of Diesel-Contaminated Soil with Composting", *Environmental Pollution*, v. 119, pp. 23-31.
- NEU, T.R., 1996, "Significance of Bacterial Surface-Active Compounds in Interaction of Bacteria with Interface". *Microbiol. Reviews*, v. 60, pp. 151-166.
- NORRIS et al., 1994, *Handbook of Bioremediation*. Boca Raton, EPA, RSKERL, Lewis Publishers, CRC Press.
- OFFICE OF UNDERGROUND STORAGE TANKS, 1995, *How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tanks Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers*. EPA 510-B-95-007.
- PALA, D.M., 2002, *Estudo da Biorremediação de Solo Impactado por Petróleo*. Dissertação de mestrado, Programa em Engenharia Química/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- PARK et al., 2001, "Evaluation of Compost Addition and its Effects on Biodegradation of Diesel-oil in Contaminated Soil Composting", *Journal of Industrial and Engineering Chemistry (Seoul)*, v. 7, n. 3, pp. 127-136.
- PAUL, E.A., CLARK, F.E., 1989, *Soil Microbiology and Biochemistry*. San Diego,

Academic Press, Inc.

- PETROBRAS, 2001a, *Análise de Óleos por Cromatografia Líquida em Coluna Gravimétrica*. Método Petrobrás/Cenpes PE-3C-00368-0.
- PETROBRAS, 2002, *Análise de Óleo Total (Whole Oil) por Cromatografia Gasosa*. Método Petrobrás/Cenpes PE-3C-00160-C.
- PETROBRAS, 2003a, *Determinação de pH em Amostras de Solo*. Método Petrobras/Cenpes PE-3E-00575-0.
- PETROBRAS, 2003b, *Determinação de Umidade em Solo Contaminado por Óleo*. Método Petrobras/Cenpes PE-3E-00462-0.
- PETROBRAS, 2003c, *Análise Elementar de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio pelo Analisador Perkin Elmer 2400*. Método Petrobras/Cenpes PE-3E-00093-0.
- PETROBRAS, 2003d, *Quantificação de Bactérias Degradadoras de Hidrocarbonetos (Bactérias Hidrocarbonoclásticas)*. Método Petrobras/Cenpes PE-3E-00547-0.
- PETROBRAS, 2005, *Determinação de Óleos e Graxas por Gravimetria em Amostras de Solo e Sedimentos*. Método Petrobras/Cenpes PE-3E-00697-0.
- POPE, D.F., MATTHEWS, J.E., 1993, *Bioremediation Using the Land Treatment Concept*. EPA Report EPA/600/R-93/164.
- PORTA, A., TROVATO, A., MCCARTHY, K., UHLER, A., ANDREOTTI, G., 1997, "Degradation of Saturated and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Formation of their Metabolites in Bioremediated Crude Oil-Containing Soils". In: *In Situ and On-site Bioremediation: Volume 1*, [Pat. Int. In Situ On-Site Bioremediation. Symp., New Orleans, USA, April 28- May 1 1997], 4th, pp. 505-510. Alleman, B.C., Leeson, A. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- PUUSTINEN, J., JØRGENSEN, K.S., SUORTTI, A.M., 1995, "Bioremediation of Oil-Contaminated Soil from Service Stations: Evaluation of Biological Treatment". In: van den Brink, W.J., Bosman, R., Arendt, F. (eds), *Contaminated Soil 95*, pp. 1325-1326., Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- ROSATO, Y.B., 1997, "Biodegradação do Petróleo". In: Melo, I.S., Azevedo, J.L. (eds), *Microbiologia Ambiental*, pp. 307, Jaguariúna, Embrapa-CNPMA.
- SAMSON, R., GREER, C.W., HAWKES, T., DESROCHERS, R., NELSON, C.H., ST-CYR, M., 1994, "Monitoring an Aboveground Bioreactor at a Petroleum Refinery Site Using Radiorespirometry and Gene Probes: Effects of Winter Conditions and Clayey Soil". In: Hinchee, R.E., Alleman, B.C., Hoeppel, R.E., Miller, R.N. (eds), *Hydrocarbon Bioremediation*, pp. 329-333, Baco Raton, Lewis Publishers.
- SATERBAK, A., TOY, R.J., MCMAIN, B.J., WILLIAMS, M.P., DORN, P.B., 2000, "Ecotoxicological and Analytical Assessment of Effects of Bioremediation on Hydrocarbon-Containing Soils", *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.19, n.11, pp. 2643-2652.
- SCHWARZENBACH, R.P., GSCHWEND, P.M., AND IMBODEN, D.M., 1993, *Environmental Organic Chemistry*. New York, John Wiley and Sons.
- SEABRA, P.N.C, LANDA, F.G, FROTA, G.B., PLATTE, E.B., CASELLA, R.C., 2005, *Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in High Clay Content Soils*. 8th

- International In Situ On-Site Bioremediation Symposium, Baltimore, EUA, 6-9 Junho.
- SIKKEMA, J., DE BONT, J.A.M., POOLMAN, B., 1995, "Mechanisms of Membrane Toxicity of Hydrocarbons", *Microbiological Reviews*, v. 59, pp. 201-222.
- SILVA, E.P., MACEDO, G.R., DUARTE, M.M.L., COSTA, A.S.S., 2004, *Avaliação Preliminar da Aplicação de Tecnologia de Biopilhas para a Biorremediação do Solo de Guamaré/RN*. Rio Oil and Gás Expo and Conference 2004, Rio de Janeiro.
- SINGER, M. E., FINNERTY, W. R., 1984, "Microbial Metabolism of Straight-Chain and Branched Alkanes". In: R. M. Atlas (ed), *Petroleum Microbiology*, pp. 1-60, New York, Macmillan Publ. Co.
- SMITH, M.R., 1990, "The Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons by Bacteria". In: *Biodegradation*, v. 1, pp. 191-206.
- SMITH, R.S.M., 1992, *Bioremediation: A Pilot Study of Hydrocarbon Contaminated Clean-up in Soil*. Geological Engineering Program Report, University of New Brunswick.
- SONG, H.G., WANG, X., BARTHA, R., 1990, "Bioremediation Potential of Terrestrial Fuel Spills", *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 56, pp. 652-656.
- SONTHEIMAR et al., 1980, *Wasserchemie für Ingenieure*. Karlsruhe, DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut, Universität Karlsruhe, Eigenverlag.
- SORIANO, A.U., SEABRA, P.N., VITAL, R.L., 2002, *Avaliação da Biotratabilidade de Solo Contaminado Proveniente da REVAP (Área do Diclão)*. Relatório técnico Petrobras CENPES/PDEP/BIO 20/2002.
- STEGMANN, R., LOTTE, S., HEERENKLAGE, J., 1991, "Biological Treatment of Oil-Contaminated Soils in Bioreactors". In: *Proceedings of First International Symposium on In Situ and On-Site Bioreclamation*, San Diego, EUA, pp. 188-208.
- STRAHLER, A.N., STRAHLER, A.H., 1973, *Environmental Geoscience: Interaction Between Natural Systems and Man*. Santa Barbara, Hamilton Publishing Company.
- TAMBURINI, D., PORTA, A., AMBERT, J., DI LUISE, G., 1997, "Evaluation of Optimum Hydrocarbons Degradation Conditions: A Biotreatability Study". In: *In Situ and On-site Bioremediation: Volume 1*, [Pat. Int. In Situ On-Site Bioremediation. Symp., New Orleans, USA, April 28- May 1 1997], 4th, pp. 467-472. Alleman, B.C., Leeson, A. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- TEDESCO, M.J., GIANELLO, C., BISSANI, C.A., BOHEN, H., VOLKWEISS, S.J., 1995, *Análise de Solo, Plantas e Outros Materiais*. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- THOMAS, J. M., YORDY, J. R., AMADOR, J. A., ALEXANDER, M., 1986, "Rates of Dissolution and Biodegradation of Water-Insoluble Compounds", *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 52, pp. 290-296.
- THOMAS, J.M., WARD, C.H., RAYMOND, R.L., WILSON, J.T., LOEHR, R.C., 1992, "Bioremediation". In: *Encyclopedia of Microbiology*, San Diego, Academic

Press.

- TISSOT, B.P., WELTE, D.H., 1978, *Petroleum Formation and Occurrence*. Berlim, Springer-Verlag.
- URURAHY, F.P., 1998, *Biodegradação de Resíduo Oleoso Proveniente de Refinaria de Petróleo*. Tese de D.Sc., Escola de Química/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- USAEC., 1997, *Soil Slurry Treatment in Innovative Technology Demonstration, Evaluation and Transfer Activities*. FY 96 Annual Report, Report No. SFIM-AEC-ET-CR-97013, pp. 95-97.
- US DOE and IOGCC, 1993, *Oil and Gas Exploration and Production Waste Management: A 17-State Study*, Office of Fossil Energy, U.S. Department of Energy, and Interstate Oil and Gas Compact Commission.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1983, *Hazardous Waste Land Treatment*. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1995, *How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites*. Office of Solid Waste and Emergency Response, EPA-510-B-95-007, Washington, D.C.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1996, *Method 8270C - Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)*. Office of Solid Waste, Washington, D.C.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1998, *An Analysis of Composting as an Environmental Remediation Technology*. Office of Solid Waste and Emergency Response, EPA-530-R-98-008.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001, *Treatment Technologies for Site Cleanup: Annual Status Report (Tenth Edition)*. Office of Solid Waste and Emergency Response, EPA-542-R-01-004.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY/SUPERFUND, 2001, <http://www.epa.gov/superfund/index.htm>.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002, *Exemption of Oil and Gas Exploration and Production Wastes from Federal Hazardous Waste Regulations*. Office of Solid Waste and Emergency Response, EPA-530-K-01-004.
- VAN GESTEL, C.A.M., VAN DER WAARDE, J.J., DESKSEN, J.G.M., VAN DER HOEK, E.E., VEUL, M.F.X.W., BOUWENS, S., RUSCH, B., KRONENBURG, R., STOKMAN, G.N.M., 2001, "The Use of Acute and Chronic Bioassays to Determine the Ecological Risk and Bioremediation Efficiency of Oil-Polluted Soils", *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.20, n.7, pp. 1438-1449.
- VIEIRA, L.S., 1975, *Manual da Ciência do Solo*. São Paulo Editora Agronômica Ceres Ltda.
- VISSER, W.J.F., 1994, *Contaminated Land Policies in Some Industrialized Countries*. 2 ed. The Hague, Technical Soil Protection Committee.
- VON FAHNESTOCK, F.M., WICKRAMANAYAKE, G.B., MAJOR, W.R., KRATZKE, R.J., 1997, "Biopile Treatment of Petroleum-Hydrocarbon-

- Contaminated Soils at Marine Corps Base, Hawaii". In: *In Situ and On-site Bioremediation: Volume 1*, [Pat. Int. In Situ On-Site Bioremediation. Symp., New Orleans, USA, April 28- May 1 1997], 4th, pp. 479. Alleman, B.C., Leeson, A. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- VON FAHNESTOCK, F.M., WICKRAMANAYAKE, G.B., KRATZKE, R.J., MAJOR, W.R., 1998, *Biopile Design, Operation and Maintenance Handbook for Treating Hydrocarbon-Contaminated Soils*. Columbus, Battelle Press.
- WATKINSON, R.J., MORGAN, P., 1990, "Physiology of Aliphatic Hydrocarbon-Degrading Microorganisms", *Biodegradation*, v. 1, pp. 79-92.
- WALWORTH J.L., WOOLARD, C.R., BRADDOCK, J.F., REYNOLDS, C.M., 1997, "The Role of Soil Nitrogen Concentration in Bioremediation". In: *In Situ and On-site Bioremediation: Volume 4*, [Pat. Int. In Situ On-Site Bioremediation. Symp., New Orleans, USA, April 28- May 1 1997], 4th, pp. 283-288. Alleman, B.C., Leeson, A. (eds), Battelle Press, Columbus, Ohio.
- WICK, L.Y., SPRINGAEL, D., HARMS, H., 2001, "Bacterial strategies to improve the bioavailability of hydrophobic organic pollutants". In: Stegmann, R., Brunner, G., Calmano, W., Matz, G. (eds), *Treatment of Contaminated Soil*, pp. 201-217, Berlin, Springer-Verlag.
- WILLUMSEN, P.A., KARLSON, U., 1997, "Screening of Bacteria, Isolated from PAH-Contaminated Soils, for Production of Biosurfactants and Bioemulsifiers", *Biodegradation*, v. 7, pp. 415-423.
- WHYTE, L.G., BOURBONNIERE, L., BELEROSE, C., GREER, C.W., 1999, "Bioremediation Assessment of Hydrocarbon-Contaminated Soils from the High Arctic", *Bioremediation Journal*, v. 3, n.1, pp. 69-79.
- WONG, D.C.L., CHAI, E.Y., CHU, K.K., DORN, P.B., 1999, "Prediction of Ecotoxicity of Hydrocarbon-Contaminated Soils Using Physicochemical Parameters", *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.18, n.11, pp. 2611-2621.
- YAWS, C. L., YANG, H. C., 1990, "Water Solubility Data for Organic Compounds", *Pollut. Eng.*, v. 22, pp. 70-75.
- ZHANG, Y., MAIER, W.J., MILLER, R.M., 1997, "Effect of Rhamnolipids on the Dissolution, Bioavailability, and Biodegradation of Phenanthrene", *Environ. Sci. Technol.*, v. 31, pp. 2211-2217.
- ZHOU, E., CRAWFORD, R.L., 1995, "Effects of Oxygen, Nitrogen, and Temperature on Gasoline Biodegradation in soil". *Biodegradation*, v. 6, pp. 127-140.

ANEXOS

ANEXO A (Caracterização do Petróleo)

 PETRÓLEO BRASILEIRO S.A. PETROBRAS		CERTIFICADO DE ENSAIO C.E. N°: 77/2003		Scad2000 - Sistema de Controle de Análises Emitido em: 06/02/2003 FOLHA: 1 DE 1									
GERÊNCIA - CENPES/QM													
IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA Amostra N°: 2002-034983-11 Descrição: ÓLEO PARAFÍNICO DA UN-SEAL ID. Solic.: ÓLEO SERGIPANO TERRA 22/08/02 Projeto: 703093 Data da entrada: 18/09/2002			IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE Nome: ADRIANA URURAHY SORIANO Div./Entid.: ETA Endereço/Sala: 554 Tel/Fax/Ramal: 812-7124 Correio: BU8E										
Laboratório: LAB. DE NITROGÊNIO, ENXOFRE E CARBONO Aprovado por: SELMA C MELLO		Técnico: AILZA LIRA Ramal: 812-6183		Data da Execução: 22/09/2002 Data da Aprovação: 23/09/2002									
151.003.0 ENXOFRE(LECO SC-432-DR EM PETRÓLEO E DERIVADOS(UOP 864-89+D-1552/95) (UOP 864-89,D1552-95)													
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Analito</th> <th>Resultado</th> <th>Unidade</th> <th>Incerteza</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TEOR DE ENXOFRE</td> <td>0,44</td> <td>%</td> <td>/</td> </tr> </tbody> </table>						Analito	Resultado	Unidade	Incerteza	TEOR DE ENXOFRE	0,44	%	/
Analito	Resultado	Unidade	Incerteza										
TEOR DE ENXOFRE	0,44	%	/										
OBS:													
Laboratório: ANÁLISE TÉRMICA Aprovado por: DENISE D FILGUEIRAS		Técnico: FLAVIA P COSTA Ramal: 812-6179		Data da Execução: 02/01/2003 Data da Aprovação: 02/01/2003									
245.001.0 ANÁLISE ELEMENTAR ORGÂNICA-CHN ()													
EQUIPAMENTO: Perkin Elmer % m de: Carbono: 86,2 Hidrogênio: 12,3 Nitrogênio: < 0,3 (abaixo do limite de detecção do aparelho) OBSERVAÇÃO: Ensaio realizado fora do CENPES (USP) 1. A amostra não foi submetida a nenhum tratamento 2. O ensaio é a média de duas determinações 3. Reprodutibilidade: $\pm 0,3$ para cada elemento													
Os Resultados reportados neste documento referem-se a amostra ensaiada. Este C. E. somente pode ser reproduzido na sua totalidade e com autorização do cliente. Dúvidas e sugestões, favor contactar o Responsável pela aprovação deste documento.													
CENPES - CRIANÇA UNIVERSITÁRIA - GASTÃO V - CILAS DO PRÊDIO - CEP 21949-900 - RIO DE JANEIRO - RJ - BRASIL 0614.1 (0-20-21) 300-3433 / 3000-5100 - FAX: (0-20-21) 399-6399													



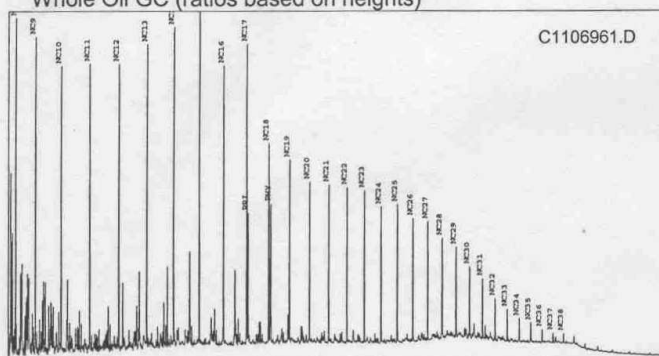
Summary Page (using heights)

Country: BRA
Basin:
Formation:

Field:
Well Name OLEOSERGIPANOT
Lat:

Sample: 020732585
Depth:
Lon:

Whole Oil GC (ratios based on heights)



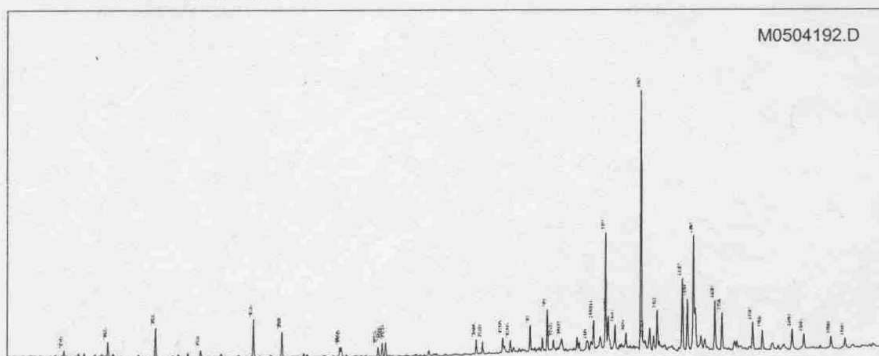
GC Parameters

Pristane/Phytane: 0.93
Pri/nC17: 0.43
Phy/nC18: 0.69
CPI-1: 1.09
17/(17+C27): 0.72

Bulk Parameters

API Gravity:
% Sulfur:
Nickel:
Vanadium:
delC13 Whole Oil: -26.39
delC13 Saturates:
delC13 Aromatics:
% Saturates: 65.22
% Aromatics: 21.40
% NONHGPC: 13.38

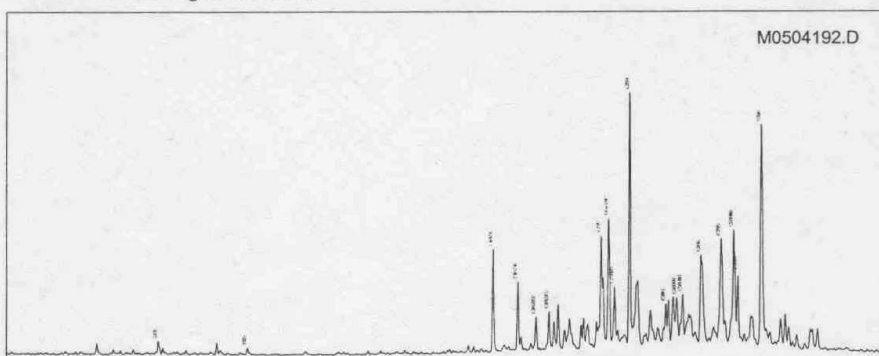
Mass Chromatogram m/z 191



Terpane & Sterane Ratios

Hopanes/Steranes: 1.78
Tricyclics/Hopanes: 0.30
Total Hopanes(ppm): 3482.11
Ts/(Ts+Tm): 0.38
Nomeo/H29: 0.29
H28/H29: 0.03
H29/H30: 0.45
OL/H30: 0.00
GAM/H30: 0.44
H35/H34: 0.61
TET/26Tri: 0.34
21/23Tri: 0.78
26/25Tri: 1.49
Total Steranes(ppm): 1775.82
20S/(20S+20R) St: 0.32
aββ/(aββ+aaa): 0.35
% 27 aββR&S (218): 34.54
% 28 aββR&S (218): 23.00
% 29 aββR&S (218): 42.47
DIA/REG Cholestanes: 0.47
25NOR/Hopane: 1.69
TPP (m/z 259): 0.43
TET24/H30: 0.04
H29/C29Ts: 3.49

Mass Chromatogram m/z 217



Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)