

César Thomaz Verechia

Avaliação da biorremediação de solo contaminado por óleo de transformador

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT, para obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Área de concentração: Mitigação de Impactos Ambientais

Orientador: Prof. (a) Dr. (a) Maria Filomena de Andrade Rodrigues

São Paulo

Fevereiro 2008

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha orientadora, Professora Dra. Maria Filomena de Andrade Rodrigues e meu orientador anterior Professor Dr. José Gregório Cabrera Gómez, primeiro pela disponibilidade, aliada à competência e firmeza, na condução da pesquisa.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT), pela liberação da infra-estrutura necessária para a realização dos experimentos laboratoriais.

À querida Fabíola Stocco Baccarin, pela paciência e apoio nos momentos de cansaço e dificuldades.

Aos meus pais Nélio Augusto Verechia, Marília Mondin Thomaz Verechia e minha irmã Professora Dra. Flávia Thomaz Verechia, mesmo a distância, por acreditarem em minha capacidade e incentivos constantes.

Agradeço, especialmente, a minha avó Isa Mondin Borelli Thomaz e a minha tia avó Eneida Borelli Thomaz, pilares firmes de minha família, pelo encorajamento.

Ao Prof. Dr. José Roberto Kfoury Júnior da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo pelo o auxílio na condução das análises elementares de solo.

A técnica Maria Alice Alves Wada do Laboratório de Microbiologia pelo suporte na utilização do Laboratório de Biotecnologia do IPT.

## RESUMO

Foi possível detectar que muitas áreas contaminadas por meio de atividades antropogênicas estão aparecendo e aumentando. Pôde ser notado que não há muitos dados sobre áreas contaminadas em escala nacional. Este trabalho avaliou o uso de técnicas de biorremediação para o tratamento de solos contaminados com óleo mineral proveniente de equipamentos de rede elétrica, como, por exemplo, os transformadores elétricos. Foi utilizada a técnica de bioestimulação, que é o emprego de nutrientes para avaliar seu efeito na taxa de biorremediação e a atenuação natural, quando proporções diferentes de solo contaminado foram diluídas com solo não contaminado. Para aumentar a biodisponibilidade de contaminante, foi utilizado um biosurfactante. Foi avaliado também o aumento na taxa de sua biorremediação. As amostras de solo, não contaminado e do solo contaminado por óleo, foram coletadas em um local contaminado na zona sul da cidade de São Paulo e foram colocadas em reatores (microambientes) em proporções diferentes de massa para se avaliar a ação dos microrganismos e para se estudar o processo de bioestimulação. Em alguns reatores, contendo amostras de solo foram adicionados nutrientes dos tipos N e P e dois frascos contendo solo foram utilizados como controles estéreis. Estes foram obtidos, esterilizando-se amostras de solo contaminado com a adição de  $\text{HgCl}_2$ , base solo. Para cada reator foi fornecido ar isento de  $\text{CO}_2$  para acelerar o processo de biodegradação aeróbica. Desta forma, a biorremediação foi avaliada pela medida de evolução do  $\text{CO}_2$ , aprisionado pela solução de hidróxido de bário ( $\text{BaOH}_2$ ), ao longo do tempo. Ao final dos experimentos, verificou-se que a taxa de mineralização foi não foi representativa comparada com a taxa de degradação do óleo, portanto os resultados mostraram que a tecnologia de biorremediação aplicada ao óleo mineral isolante não foi efetiva. Para a mineralização do contaminante propõem-se ensaios com tempos mais longos e outras tecnologias devem ser testadas.

Palavras-chave: atenuação natural, bioestimulação, biorremediação do solo, óleo de transformador, solo contaminado, surfactante.

## ABSTRACT

### **Evaluation of bioremediation of soil contaminated by transformer oil.**

It was possible to detect that many contaminated areas through anthropogenic activities are appearing and increasing. It was noticed that there was not data for the whole the country. This work has evaluated the use of bioremediation techniques for the treatment of the soils contaminated by mineral oil coming from the equipments in the grid as, for instance, the electric transformers. It was used the bioestimulation technique, that is the use of nutrients to evaluate its effect on the rate of bioremediation and the natural attenuation when different proportions of contaminated soil were diluted with non contaminated soil. To increase the biodisponibility of the contaminant a biosurfactant was used and the increase of the rate of its bioremediation was evaluated too. The samples of the non contaminated soil and the samples of the contaminated soil by oil were colleted in a contaminated place in the south zone in São Paulo city and they were placed in reactors (microambients), in different proportions of mass to evaluate the action of the microorganisms and to study the process of bioremediation. For each reactor it was given the air without CO<sub>2</sub>, to accelerate the process of aerobic biodegradation. This way the bioremediation was evaluated by the measure of the evolution of CO<sub>2</sub>, retained by the aqueous solution of barium hydroxide (BaOH<sub>2</sub>), as time goes by. To the end of the experiments, verified itself that the mineralization rate was not representative compared with the degradation rate of the oil, therefore the results showed that the bioremediation technology applied to the insulating mineral oil was not effective. For the contaminant mineralization propose itself attempt in good more long times and other technologies should be tested.

Keywords: bioestimulation, contaminated soil, natural attenuation, soil bioremediation, surfactant, transformer oil.

## Lista de ilustrações

Figura 1	Estruturas esquemáticas de algumas moléculas orgânicas.....	17
Figura 2	Mecanismo principal da degradação aeróbia de hidrocarbonetos: processos de crescimento associados.....	21
Figura 3	Caminho metabólico periférico de compostos cicloalifáticos (cicloparafinas).....	22
Figura 4	A contaminação na zona não saturada pode estar presente em quatro estados físicos: gasoso, sorvida nos materiais do solo, dissolvidos na água, ou no líquido imiscível.....	23
Figura 5	LNAPL é retido como saturação residual zona vadosa. Lixiviação e infiltração da água e migração de vapores de hidrocarbonetos resultam na contaminação da água subterrânea.....	24
Figura 6	Efeito do aumento do nível de água na distribuição de LNAPL no meio poroso.....	25
Figura 7	Constatação de técnicas de remediação implantadas - Novembro 2007.....	27
Figura 8	Constatações de grupos de contaminantes – Novembro 2007.....	28
Figura 9	Micela água/óleo.....	36
Figura 10	Classificação estrutural de surfactantes.....	37
Figura 11	O envolvimento de biosurfactantes na absorção de hidrocarbonetos.....	38
Figura 12	Logística do gerenciamento das amostras de solo.....	46
Figura 13	Esquema simplificado da montagem do reator ensaio pelo método respirométrico.....	47
Figura 14	Gráfico com as concentrações acumuladas de CO <sub>2</sub> (mg) versus tempo (dias) – ensaio 1.....	53
Figura 14	Gráfico com as concentrações acumuladas de CO <sub>2</sub> (mg) versus tempo (dias) – ensaio 2.....	55
Foto 1	Mancha de óleo no solo.....	45
Foto 2	Trado manual.....	45

Foto 3	Microambiente de remediação nº 1 e frasco contendo solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ .....	49
Foto 4	Frascos contendo solução de $\text{NaOH}$ 10 N.....	49
Foto 5	Frascos contendo solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ sendo borbulhado por ar.....	50
Foto 6	Determinação titulométrica do $\text{Ba}(\text{OH})_2$ residual.....	50

## Lista de tabelas

Tabela 1	Resumo dos principais acidentes com petróleo e derivados no Brasil.....	13
Tabela 2	Bactérias predominantes em amostras de solo poluídos com hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, PAH e compostos clorados.....	20
Tabela 3	Descrição de cada microambiente de remediação do ensaio 1 .....	19
Tabela 4	Descrição de cada microambiente de remediação do ensaio 2.....	19
Tabela 5	Resultados da concentração de CO <sub>2</sub> evoluído de cada microambiente de remediação do ensaio 1.....	20
Tabela 6	Resultados da concentração de CO <sub>2</sub> evoluído de cada microambiente de remediação do ensaio 2 .....	52
Tabela 7	Resultados da análise elementar do solo.....	53
Tabela 8	Resultados da concentração de hidrocarbonetos de petróleo no solo.. .....	54
Tabela 9	Resultados da concentração de CO <sub>2</sub> evoluído de cada microambiente de remediação do ensaio 2.....	55



### Lista de abreviaturas e siglas

ABRADEE	Associação Brasileira de Distribuidores de Energia Elétrica
BTEX	Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CNUCED	Conselho da Terra de Políticas sobre Comércio e Mudança do Clima
CMC	Concentração Micelar Crítica
EUA	Estados Unidos da América
HPA	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
LNAPL	Light non-aqueous phase liquids (fase líquida leve não aquosa)
PA	Produto analítico
PCBs	Bifenilas Policloradas
RAMEB	Ciclodextrina aleatoriamente metilada
REPAR	Refinaria Presidente Getúlio Vargas
SC	Solo Contaminado
SNC	Solo Não Contaminado
TEDUT	Terminal Marítimo Almirante Soares Dutra
TPH	Total Petroleum Hydrocarbons (Hidrocarbonetos Totais de Petróleo)
TRI	Triton® X-100 (surfactante)
UFC	Unidades formadoras de colônias
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
USP	Universidade de São Paulo
USEPA	U.S. Environmental Protection Agency

**Lista de símbolos**

atm	atmosfera
Ba(OH) <sub>2</sub>	hidróxido de bário
C:N:P	relação molar carbono: nitrogênio:fósforo
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
° C	graus <i>Celsius</i>
g	gramas
HCl	ácido clorídrico
HgCl <sub>2</sub>	cloreto de mercúrio
KNO <sub>3</sub>	nitrato de potássio
m	metros
mg/kg	miligramas por quilo
min	minutos
N	Nitrogênio
NaOH	hidróxido de sódio
NPK	formulação de nutrientes composta por nitrogênio, fósforo e potássio
ppm	partes por milhão
P	fósforo
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	fosfato de potássio

## Sumário

<b>1.0 INTRODUÇÃO</b>	12
1.2 Hidrocarbonetos de petróleo e o meio ambiente	12
<b>2.0 OBJETIVO</b>	13
<b>3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	13
3.1 Problema do óleo	13
3.2 Óleo mineral isolante	16
3.3 Biorremediação	18
3.4 Microorganismos	20
3.5 Contaminação de solo e água subterrânea	23
3.6 Técnicas de remediação	25
3.7 Fatores que afetam a biorremediação	28
3.7.1 Concentração de contaminantes	30
3.7.2 Estrutura do solo	30
3.7.3 Nutrientes	30
3.7.4 Temperatura	30
3.7.5 Oxigênio	31
3.7.6 Umidade do solo	31
3.7.7 Valor de pH	31
3.7.8 Biodisponibilidade	32
3.8 Estudos de tratabilidade em laboratório	33
3.9 Métodos para avaliar a biorremediação	35
3.10 Utilização de surfactantes	35
3.11 Vantagens e desvantagens da biorremediação	43

<b>4.0 MÉTODOS E PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b>	44
4.1 Sondagens e coleta de amostras de solo	44
4.2 Geologia	46
4.3 Ensaio laboratoriais	46
4.3.1 Ensaio de biodegradabilidade 1	46
4.3.2 Ensaio de biodegradabilidade 2	50
<b>5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	52
5.1 Resultados Ensaio de biodegradabilidade 1	52
5.1 Resultados Ensaio de biodegradabilidade 2	54
<b>6.0 CONCLUSÃO</b>	57
<b>7.0 RECOMENDAÇÃO</b>	58
<b>8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	58
<b>9.0 ANEXOS</b>	63

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Hidrocarbonetos de petróleo e o meio ambiente

No presente trabalho, foi dada ênfase ao problema da contaminação de solo, que é o resultado de derramamentos e disposição inadequada de materiais tóxicos no solo, principalmente causados pelo desenvolvimento da sociedade industrial moderna. Os processos de manufatura requerem a extração e processamento de recursos naturais e/ou minerais, produtos florestais e petróleo. Estas extrações de petróleo resultam na produção de compostos orgânicos como, por exemplo, o óleo mineral isolante, utilizado como fluido dielétrico em equipamentos elétricos presentes em empresas do setor energético e indústrias.

A liberação não controlada de hidrocarbonetos de petróleo causa impactos no solo e águas subterrâneas. A contaminação pode resultar de tanques de armazenagem subterrâneos, refinarias de petróleo, oleodutos danificados, vazamentos de plantas químicas e ainda em instalações onde estão presentes equipamentos elétricos.

Conforme informado por Forti, Santos e Mattos (2005), o problema do óleo é antigo. Sua utilização em transformadores elétricos foi identificada, em 1892, com a primeira aplicação pela *GENERAL ELETRIC COMPANY* nos EUA.

Segundo dados de Luz-Júnior, Guimarães-Neto e Moita-Júnior (2005), os transformadores possuem um núcleo imerso em óleo mineral isolante. Durante a vida útil do equipamento, há a perda da qualidade do óleo mineral isolante, que é verificada pela polimerização da celulose oriunda do papel *kraft* e pela oxidação do óleo causado pelo estresse térmico, mecânico, elétrico e umidade, resultando na geração de arcos voltaicos, o que causa a queima do equipamento e consequentemente vazamentos de óleo para o solo.

Desde que as liberações de petróleo e seus derivados, causando contaminação de solo e águas subterrâneas tornaram-se um problema, um número enorme de tecnologias foi testado. Estes processos de tratamento incorporaram métodos físicos, químicos ou biológicos, ou a combinação deles.

A remediação de um local contaminado por óleo mineral pode envolver uma tecnologia *ex situ*, que inclui etapas de escavação, transporte e disposição em aterro industrial, incineração, biopilhas, compostagem, *landfarming*. No entanto estes métodos são caros e acabam transferindo o problema de um local para outro.

A biorremediação oferece uma série de vantagens em relação aos outros tratamentos físicos e químicos usados para remediar o solo e a água subterrânea.

De acordo com Gabriel (1992 apud EWEIS, 1998), o custo da “ação de limpeza, utilizando a biorremediação varia de US\$ 100 a US\$ 250 por metro cúbico de solo, enquanto que tecnologias mais convencionais como a incineração ou o aterro controlado, podem custar numa escala de US\$ 250 a US\$ 1,000 por metro cúbico de solo”.

No presente trabalho, foi proposta a remediação de solo pela técnica de biorremediação, que é a utilização de microrganismos presentes no próprio local, denominados autóctones, para degradar compostos orgânicos presentes no solo, no caso, o óleo mineral isolante, em gás carbônico e água.

## 2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de técnicas de biorremediação (bioestimulação, atenuação natural, utilização de surfactantes) para o tratamento de solos contaminados com óleo proveniente de equipamentos da rede elétrica.

## 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão de literatura preparada para este estudo consiste em 11 subitens os quais são descritos a seguir:

### 3.1 Problema do óleo

Cabe salientar que no Brasil não há dados concretos sobre vazamentos de óleo mineral isolante de equipamentos elétricos, mas apenas de vazamentos de petróleo e seus derivados, oriundos de acidentes em oleodutos, acidentes marítimos, ferroviários e rodoviários, conforme mostra a Tabela 1 que referencia os vazamentos de maior relevância ocorridos nos anos de 2000 a 2002 e 2006 a 2007. No período de 2002 a 2006 não foram relatados vazamentos na literatura pesquisada, mas infere-se que tais vazamentos possam ter ocorrido.

Tabela 1 - Resumo dos principais acidentes com petróleo e derivados no Brasil.

Local	Ano	Substância envolvida	Relato
Rio de Janeiro - RJ	2000	Óleo combustível	O rompimento de um duto da Petrobrás que liga a Refinaria Duque de Caxias ao terminal da Ilha d'Água provocou o vazamento de 1,3 milhão litros de óleo combustível na Baía de Guanabara. A mancha se espalhou por 40 quilômetros quadrados.
Osório - RS	2000	Óleo cru	Cerca de 18 mil litros de óleo cru vazaram em Tramandaí, no litoral gaúcho, quando eram transferidos de um navio petroleiro para o Terminal Almirante Soares Dutra (TEDUT), da Petrobrás.
São Sebastião - SP	2000	Óleo	O navio Mafra, da Frota Nacional de Petróleo, derramou 7.250 litros de óleo no canal de São Sebastião, litoral Norte de São Paulo.
Araucária - PR	2000	Óleo	Quatro milhões de litros de óleo foram

			despejados nos rios Barigüi e Iguaçu, no Paraná, devido a uma ruptura da junta de expansão de uma tubulação da Refinaria Presidente Getúlio Vargas (REPAR - Petrobrás).
Fernandes Pinheiro - PR	2000	Óleo diesel	Um trem da Companhia América Latina Logística - ALL, que carregava 60 mil litros de óleo diesel descarrilou. Parte do combustível queimou e o resto vazou em um córrego próximo ao local do acidente.
Fernandes Pinheiro - PR	2000	Óleo diesel	Um trem da Companhia América Latina Logística - ALL, que carregava 20 mil litros de óleo diesel e gasolina descarrilou. Parte do combustível queimou e o resto vazou em área de preservação permanente. O Ibama multou a empresa em R\$ 1,5 milhão.
São Sebastião e Ilhabela - SP	2000	Óleo	86 mil litros de óleo vazaram de um cargueiro da Petrobrás poluindo praias.
São Pedro da Cipa - MT	2001	Óleo diesel	Em um duto da Petrobrás, vazaram 4.000 mil litros de óleo diesel no Córrego Caninana, afluente do Rio Nhundiaquara, um dos principais rios da região.
Curitiba - PR	2001	Óleo	Acidente com um caminhão da Petrobrás na BR-277 entre Curitiba - Paranaguá ocasionou um vazamento de quase 30 mil litros de óleo nos Rios do Padre e Pintos.
Araucária - PR	2001	Óleo MS 30	Vazamento de óleo do tipo MS 30, uma emulsão asfáltica, atingiu o Rio Passaúna.
Campo Grande - MS	2001	Óleo diesel	Um trem da Ferrovia Novoeste descarrilou despejando 35 mil litros de óleo diesel em uma Área de Preservação Ambiental de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.
Barueri- SP	2001	Óleo	O rompimento de um duto da Petrobrás em Barueri em São Paulo ocasionou o vazamento de 200 mil litros de óleo que se espalharam por residências e atingiram as águas do Rio Tietê e do Córrego Cachoeirinha.
Buraquinho - BA	2001	Óleo	Um vazamento de óleo atingiu 30 km nas praias do litoral norte baiano entre as localidades de Buraquinho e o balneário da Costa do Sauípe.
Baía de Paranaguá - PR	2001	Nafta	O navio petroleiro Norma, que carregava nafta da frota da Transpetro - subsidiário da Petrobrás, chocou-se em uma pedra na baía de Paranaguá, litoral paranaense, vazando 392 mil litros do produto, atingindo uma área de 3 mil metros quadrados.
Rio de Janeiro - RJ	2001	Óleo combustível	Cerca de 50 mil litros de óleo combustível vazaram do transatlântico inglês Caronia, atracado no Pier da Praça Mauá, na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro.
Angra dos Reis - RJ	2002	Petróleo leve	O navio Brotas da Transpetro, subsidiária de transportes da Petrobrás, derramou cerca de 16 mil litros de petróleo leve (do tipo nigeriano), na baía de Ilha Grande, na região de Angra dos Reis, litoral sul do Rio de Janeiro.

Itu – SP	2002	Óleo diesel	Vazamento de óleo diesel num tanque operado pela Shell no bairro Rancho Grande de Itu, no interior paulista, cerca de oito mil litros de óleo vazaram do tanque, contaminando o lençol freático, que acabou atingindo um manancial da cidade.
Curitiba - PR	2002	Óleo	Um tanque de óleo se rompeu no pátio da empresa INGRAX, em Pinhais, na região metropolitana de Curitiba (PR), deixando vaziar 15 mil litros da substância.
Conselheiro Lafaiete	2006	Óleo	Derramamento de óleo na BR 040.
Arcos	2006	Óleo diesel	Vazamento de óleo diesel em área rural
Ribeirão Vermelho	2006	Óleo	Tombamento de locomotivas com vazamento de óleo.
Piraí -RJ	2006	Óleo	Tombamento de caminhão com óleo.
Tramandaí - RS	2006	Óleo	Derramamento de óleo no mar e praias.
São Sebastião - SP	2006	Petróleo	Vazamento de tanque de petróleo.
São José do Rio Preto - SP	2006	Óleo diesel	Tombamento e derramamento de óleo diesel.
Pederneiras - SP	2006	Óleo diesel	Derramamento de óleo diesel
Joaquim Felício - MG	2007	Óleo	Tombamento de 05 vagões no Km 952 da ferrovia entre Joaquim Felício e Catone causou um furo no tanque de combustível. Foram derramados 4.000 litros de óleo, além de produtos diversos que estavam sendo transportados.
Jeceaba	2007	Óleo diesel/óleo lubrificante	Acidente ferroviário envolvendo duas composições da MRS Logística S/A, no Pátio ferroviário de Jeceaba, provocou o vazamento de cerca de 10.000 litros de óleo diesel e 1.000 litros de óleo lubrificante de 03 locomotivas que tracionavam os trens. Parte de volume derramado atingiu o solo e parte escorreu para a canaleta de drenagem, atingindo o rio Paraopeba.
Belo Horizonte - MG	2007	Gasolina/óleo diesel	Uma carreta tanque transportando 15.000 litros de gasolina e 10.000 litros de óleo diesel tombou na BR 040. As travas das válvulas de saída impediram o derramamento total dos produtos.
Tenente Portela - RS	2007	Gasolina/óleo diesel	Um acidente com uma carreta levou ao derramamento de cerca de 15.000 litros de óleo diesel e gasolina na rodovia RS 472 (entre Palmitinho e Tenente Portela). O combustível foi embarcado em Araucária – PR e seria distribuído nos postos da região.
Ponta Grossa - PR	2007	Óleo diesel	Sete vagões carregados com combustível descarrilaram no pátio da América Latina Logística (ALL), em Ponta Grossa, nos Campos Gerais. Cada unidade carregada possuía cerca de 60 mil litros de óleo diesel

Fonte: AMBIENTE BRASIL (2006) e (IBAMA), 2007(adaptado).



Dados da USEPA mostram que o óleo espalhado pode prejudicar o meio ambiente de várias maneiras, incluindo os estragos físicos que diretamente impactam a fauna e seus *habitats* (aves ou mamíferos com uma camada de óleo), e a toxicidade do óleo se, que pode envenenar organismos expostos. A severidade de um impacto do derramamento de petróleo depende de uma variedade de fatores, incluindo as propriedades físicas do óleo, e o destino final do óleo espalhado. Cada *habitat*, seja de água doce ou marinhos têm sensibilidades diferentes aos efeitos prejudiciais de contaminação de óleo, assim como capacidades diferentes recuperar as condições originais antes do derramamento. Embora alguns organismos possam ser seriamente feridos ou possam ser mortos muito logo após o contato com o óleo em um derramamento, outros efeitos são mais sutis e podem durar freqüentemente um tempo mais longo.

Cameotra e Bollag (2003) relataram alguns acidentes ambientais como, por exemplo, o navio Amoco Cadiz que descarregou  $2 \times 10^5$  ton de óleo cru nas águas ao longo do litoral da Bretanha (França) em 1978. O navio Exxon Valdez descarregou  $4 \times 10^5$  ton de óleo em Príncipe William Sound em 1989. O navio Refúgio incendiou-se e afundou fora o litoral de Itália em 1991 com  $1,4 \times 10^5$  toneladas de óleo cru a bordo. Durante a Golfo Guerra em 1991, aproximadamente  $8,2 \times 10^5$  toneladas de óleo foram liberadas em Kuwait, ameaçando as plantas de desalinização de água e o habitat costeiro do Golfo Pérsico.

Conforme dados da empresa NYNÄS NAPHTHENICS AB (2004), o óleo mineral naftênico é classificado como perigoso ao meio ambiente de acordo com as Diretivas 67/548/EEC (*Dangerous Substances Directive*) e 1999/45/EC (*Dangerous Preparations Directive*), ambas da Comunidade Européia. Alguns dados de saúde mostram que os vapores do óleo podem irritar o trato respiratório, o contato prolongado do óleo com a pele pode causar irritações, o contato com olho pode causar irritação. Os dados ambientais mostram que o óleo possui biodegradação lenta, o produto pode ficar muito tempo no meio ambiente e há risco de contaminação do solo e água. Estudos indicaram biodegradação primária na escala de 20 a 60% baseado na evolução de  $\text{CO}_2$ . O óleo possui também o potencial de bioacumulação em peixes.

### 3.2 Óleo mineral isolante

Conforme dados da empresa NYNÄS NAPHTHENICS AB (2002), fabricante de óleos, os óleos minerais podem ser divididos em dois grupos distintos: óleos parafínicos e naftênicos. Os óleos naftênicos crus estão disponíveis em todo o mundo, com amplas reservas localizadas na Europa, América do Norte, América do Sul e Ásia. A estrutura do anel pode ter cinco, seis ou sete carbonos – sendo seis o número predominante (Figura 1).

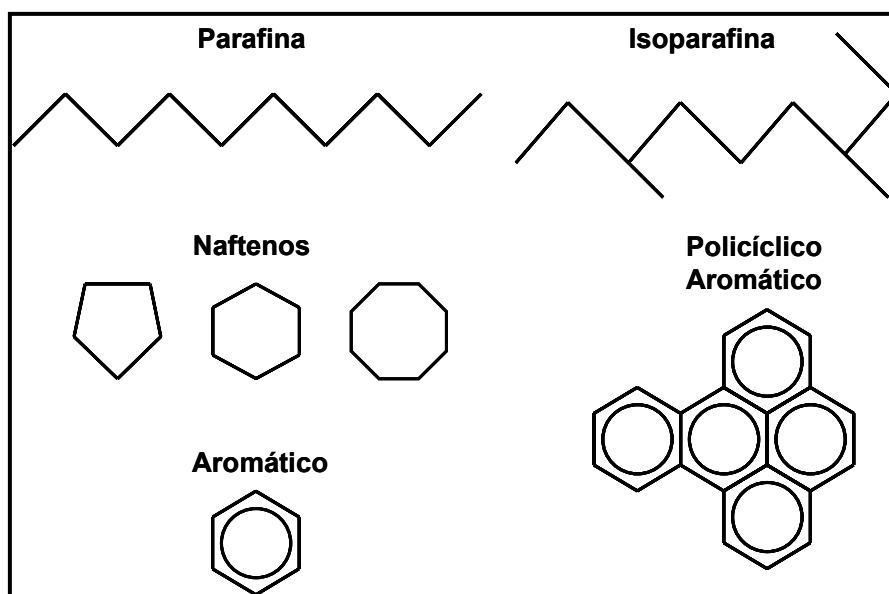


Figura 1. Estruturas esquemáticas de algumas moléculas orgânicas.

Fonte: NYNÄS NAPHTHENICS AB (2004) (traduzido e adaptado)

O óleo mineral naftênico é obtido graças a uma sofisticada técnica de refino e hidrotratamento que utiliza gás hidrogênio, que remove grande parte do conteúdo aromático policíclico do óleo naftênico, sem destruir seu excelente poder de solvência de acordo com NYNÄS NAPHTHENICS AB (2002). Os alcanos, também chamados de parafinas e naftenos, são os hidrocarbonetos mais facilmente degradados pelas bactérias. As parafinas são degradadas mais facilmente do que os naftenos, já as parafinas lineares são mais facilmente degradadas que as ramificadas, e os naftenos com poucos anéis, mais facilmente degradados que os naftenos com vários anéis. As ligações químicas dos compostos aromáticos são mais difíceis de serem rompidos pelas bactérias. Quanto menor a quantidade de anéis aromáticos, mais rápida será a biodegradação. O benzeno é o mais rapidamente degradável dos aromáticos, enquanto os poliaromáticos podem ser muito persistentes no meio ambiente, conforme NYNÄS NAPHTHENICS AB (2002).

Como foi estudado por Trudgill (1984; PITTER; CHUDOBA, 1990 apud EWEIS et al. 1998, p. 122), os hidrocarbonetos alicíclicos (cicloalcanos), como é o caso do óleo mineral objeto deste trabalho, são menos degradáveis que os hidrocarbonetos alifáticos. Entretanto, são mais degradáveis que os compostos policíclicos aromáticos. A degradabilidade dos cicloalcanos tende a diminuir com o aumento das estruturas em anéis, como é o caso dos compostos aromáticos. Quanto mais cicloalcanos alquil substituídos houver, maior será a solubilidade e, conseqüentemente, maior a facilidade de ocorrer a degradação microbiana.

### 3.3 Biorremediação

Fritsche e Hofrichter (2000) relataram que a biorremediação foi definida por como uma redução biológica catalisada de uma complexidade de compostos químicos. Processo este que é baseado em processos: crescimento e co-metabolismo. No primeiro processo os contaminantes são utilizados como fonte de energia resultando na degradação incompleta com há geração de subprodutos da degradação e posteriormente a degradação completa (mineralização) dos contaminantes. O segundo processo é definido como o metabolismo de um composto orgânico na presença de um substrato de crescimento que é usado como o carbono primário e fonte de energia. Para a degradação aeróbia ocorrer são necessárias enzimas, as oxigenases e peroxidases. As oxidases são oxireduases que utilizam o O<sub>2</sub> para incorporar oxigênio no substrato. Os microorganismos presentes na degradação de contaminantes precisam de oxigênio de dois *sítes* metabólicos, no ataque inicial do substrato e no final da cadeia respiratória (Figura 2).

O objetivo da biorremediação é mineralizar os contaminantes, transformando-os em gás carbônico, outro gás ou substância inorgânica, água e material celular da degradação dos microrganismos, conforme Eweis et al. (1998).

Eweis et al. (1998), afirmaram que os estudos de biorremediação estão num estágio avançado, ainda mais, quando se leva em conta a utilização da engenharia genética como colaboradora para desenvolver microrganismos especializados para degradar poluentes específicos. Com a biorremediação, o processo de degradação de compostos orgânicos que naturalmente demorariam muito para serem oxidados é acelerado. Assim o sucesso da biorremediação é medido pela percentagem da redução dos contaminantes no solo e água subterrânea.

Conforme citado por Dua et al. (2002), com os avanços da biotecnologia, a biorremediação vem se tornando um dos campos mais avançados na recuperação ambiental de áreas degradadas, utilizando microrganismos para degradar contaminantes como hidrocarbonetos do petróleo, HPA, PCBs, ftalatos, compostos nitroaromáticos, solventes industriais, pesticidas e metais.

Zhou e Hua (2004) afirmam que a biorremediação tem características de baixo consumo de energia, alta eficiência e é altamente segura ambientalmente, podendo degradar contaminantes por meio de bactérias, fungos, plantas e enzima de células livres.

Alguns compostos orgânicos possuem uma estrutura molecular que não propicia ou dificulta o processo de biorremediação, isto é, degradam-se parcialmente ao invés de se mineralizar totalmente, convertendo-se em substâncias bioimunes ou substâncias mais tóxicas que a substância original. Um exemplo citado por Eweis et al. (1998) é a conversão do composto orgânico 1,1,1 tricloroetano em cloreto de vinila, que é mais tóxico que seu antecessor.

No processo de biorremediação existem os microrganismos que utilizam oxigênio para oxidar e biodegradar a matéria orgânica (processo de biodegradação aeróbia), e os microrganismos que utilizam nitrato e sulfato (processo de biodegradação anaeróbia). A maioria dos artigos publicados recentemente relata sobre a biorremediação de solos contaminados com derivados de petróleo. Isto ocorre

devido à facilidade das bactérias produzirem substâncias, como por exemplo, enzimas, que quebram as ligações químicas da molécula dos hidrocarbonetos, oxidando-os a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, conforme Eweis et al. (1998).

Eweis et al. (1998) descrevem que a efetividade da biorremediação depende de três fatores: ambiental, físico, e químico. Em relação ao fator ambiental, o ambiente deve ser propício para o crescimento bactérias e a realização da biorremediação. O pH deve estar na faixa de 7 a 8, a temperatura na faixa de 5 a 40°C e nutrientes como nitrogênio e fósforo devem estar disponíveis, além do oxigênio e umidade. Já os fatores físicos são: a disponibilidade de microrganismos, água e oxigênio (como aceptor de elétrons). O fator químico mais importante é a estrutura molecular do contaminante e sua biodegradabilidade, que tem a ver com sua solubilidade, grau de ramificação e de saturação da molécula.

No Brasil, sabe-se que os custos de disposição em aterro controlado de resíduos de classe II é de cerca de R\$ 80,00/ton, e de classe I é R\$ 270,00/ton, adicionado do frete.

A biorremediação é uma solução de baixo custo comparada a outras tecnologias como a escavação seguida de incineração, o co-processamento em fornos de cimento (R\$ 500,00/ton de solo contaminado, mais o frete), com resultados promissores em curto tempo (de 6 meses a 2 anos), e sem a necessidade de consumir muita energia ou de transportar o solo contaminado para incineração ou aterro.

Eweis et al. (1998) citaram que outra vantagem da biorremediação é que na maioria dos casos os contaminantes são biodegradados ou transformados em substâncias que apresentam menos riscos, ao passo que, com outras tecnologias, a adsorção com carvão ativado, a solidificação e/ou estabilização, a lavagem de solo e a disposição em aterros industriais, simplesmente transferem o problema para outro local o que, eventualmente, será necessário remediar no futuro.

Conforme relata Vidali (2001), a biorremediação é uma técnica que possibilita destruir vários tipos de contaminantes, usando atividades naturais biológicas com baixo custo, técnicas de baixa tecnologia e com aceitação das partes interessadas. Porém, os períodos de tempo envolvidos são relativamente longos, e os níveis residuais dos contaminantes podem não ser valores aceitáveis. Além disso, as técnicas de biorremediação são menos custosas que os tradicionais métodos como incineração, e os poluentes podem ser tratados no próprio local, o que reduz os riscos de exposição ocupacional ou do transporte do solo contaminado.

Há também algumas desvantagens da biorremediação como: a dificuldade de prever sua eficiência e reproduzir em escala os ensaios de laboratório e piloto e o efeito tóxico dos surfactantes para as bactérias e migração do contaminante presente no solo para a água subterrânea. Para tanto, para se ter um processo de biorremediação eficiente, devem ser mantidas as condições ambientais adequadas ao crescimento microbiológico, já que os microrganismos sofrem influência da temperatura, do pH, da toxicidade do contaminante, da concentração do contaminante, da umidade, da concentração de nutrientes e da concentração de oxigênio, conforme Eweis et al. (1998).

### 3.4 Microorganismos

ZoBeli (1946 apud ZHONGYUN, 1998) reportou que 100 espécies de possuam propriedades de oxidação de hidrocarbonetos largamente distribuídas no solo. Os microrganismos no solo incluem bactérias, fungos, algas e protozoários. Os microrganismos mais abundantes no solo são as bactérias que podem ser heterotróficas ou autotróficas. As bactérias utilizam um ou mais compostos como fonte de carbono para crescer, enquanto as autotróficas utilizam material inorgânico como fonte de nutrientes e CO<sub>2</sub> como fonte de carbono conforme descrito por Pelczar et al. (1986 apud ZHONGYUN 1998). As bactérias heterotróficas são os microrganismos mais importantes na transformação de compostos orgânicos.

Fritsche e Hofrichter (2000) informaram que, embora muitas bactérias possam metabolizar poluentes orgânicos, uma única bactéria não possui a capacidade enzimática de degradar a maioria dos compostos orgânicos em uma área contaminada. Já comunidades de microrganismos misturadas têm o potencial mais poderoso de biodegradação, porque a informação genética de mais de um organismo é necessária para degradar as misturas complexas de compostos orgânicos presentes em áreas contaminadas. Na Tabela 8 são apresentadas as bactérias predominantes em áreas contaminadas com hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, PAH e compostos clorados.

Tabela 2 - Bactérias predominantes em amostras de solo poluídos com hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, PAH e compostos clorados.

Bactérias Gram-Negativas	Bactérias Gram-Positivas
<i>Pseudomonas</i> spp	<i>Nocardia</i> spp.
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Mycobacterium</i> spp.
<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Corynebacterium</i> spp
<i>Flavobacterium/Cytophaga</i> group	<i>Arthrobacter</i> spp.
<i>Xanthomonas</i> spp	<i>Bacillus</i> spp.

Fonte: Fritsche e Hofrichter (2000) (traduzido e adaptado).

Whyte et al. 2002 informaram que *Rhodococcus* spp., microrganismos degradantes de alcanos, foram encontrados com mais abundância em solos Árticos e Antárticos enquanto *Pseudomonas* spp. foram enriquecidos depois de acontecimentos de contaminação, e *Acinetobacter* spp nunca foram achados como membros predominantes de comunidades polares de microrganismos degradantes de alcanos, demonstrando que mesmo em um ambiente inóspito, alguns microrganismos são capazes de degradar alcanos.

De acordo com Balba, Al-Awadhi, Al-Daher (1998) os gêneros mais comuns responsáveis por degradação de óleos compreendem *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacchain*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Candida* e *Sporobolomyces*.

Riser-Roberts citaram que a mais rápida e completa degradação da maioria de poluentes é ocasionada sob condições aeróbicas. Assim Fritsche e Hofrichter (2000) descrevem que as características essenciais de microorganismos degradadores de poluentes orgânicos são (Figura 02):

- (1) Processos metabólicos para otimizar o contato entre as células microbianas e os compostos orgânicos poluentes. Os químicos devem estar acessíveis aos organismos, tendo atividades de biodegradação;
- (2) O ataque inicial intracelular de poluentes orgânicos é um processo oxidativo, a ativação e a incorporação de oxigênio são a chave enzimática da reação catalisada por oxigenases e peroxidases;
- (3) Vias periféricas de degradação convertem poluentes orgânicos passo a passo em intermediários do metabolismo central;

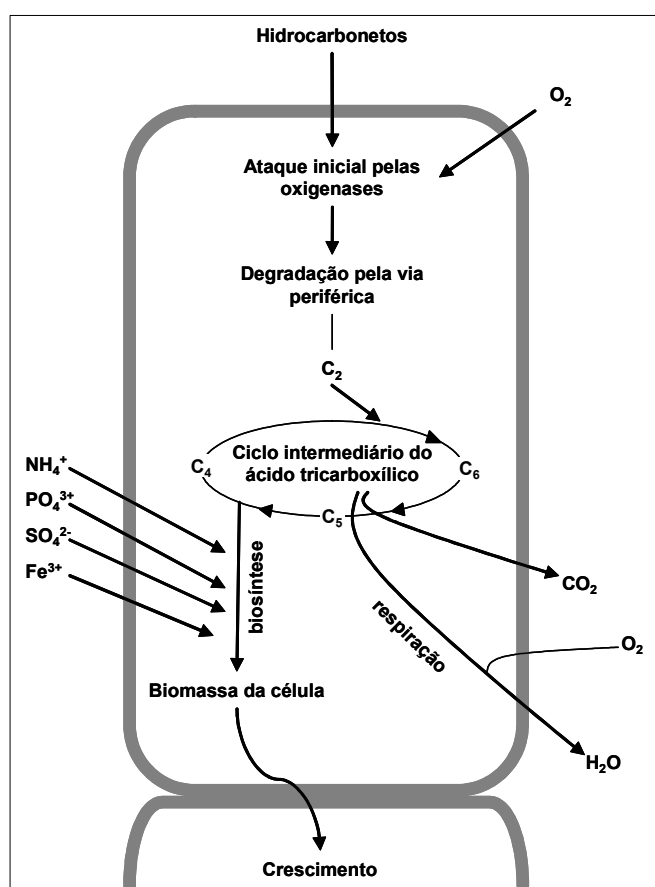


Figura 2. Mecanismo principal da degradação aeróbica de hidrocarbonetos: processos de crescimento associados.

Fonte: Fritsche e Hofrichter (2000) (traduzido e adaptado).

O ataque inicial das bactérias requer oxigênio molecular para degradar hidrocarbonetos alifáticos ou cicloparafinas, que é o caso do óleo estudado, óleo mineral naftênico. O cicloalcanos representam a menor parte de alguns óleos minerais e são mais resistentes ao ataque microbiano. O ataque primário é dificultado pela ausência de um radical metil exposto. Poucas espécies são capazes de degradar cicloalcanos; mais comum é seu co-metabolismo de culturas misturadas. Em geral o radical alquil da molécula de cicloalcanos é mais facilmente degradada. A Figura 3 apresenta as vias de degradação do ciclohexano.

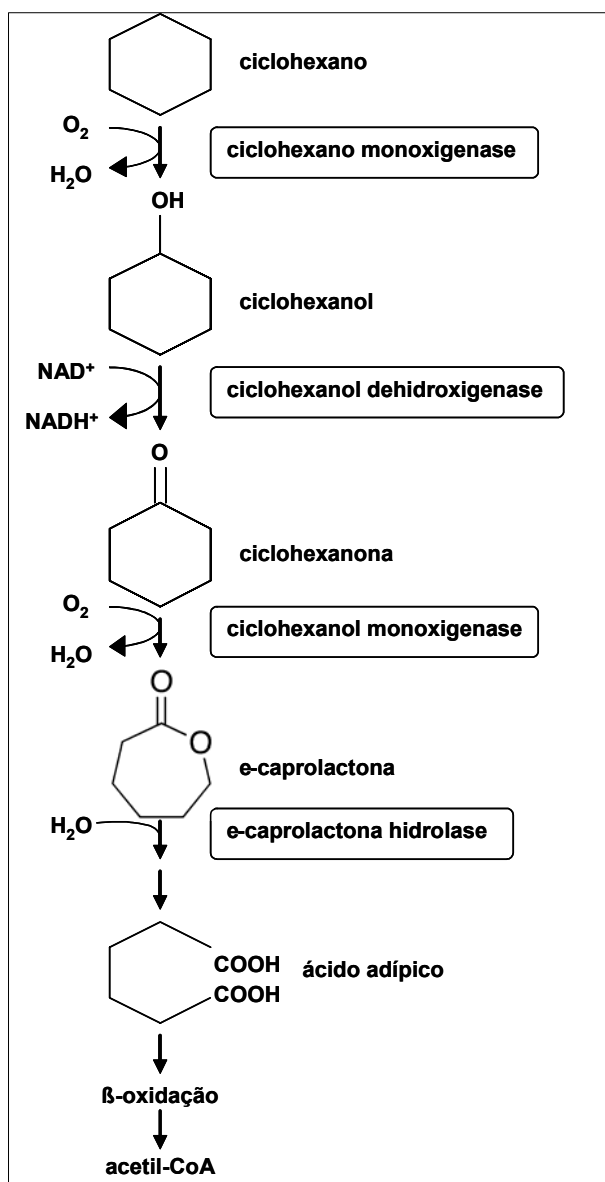


Figura 3. Caminho metabólico periférico de compostos cicloalifáticos (cicloparafinas).

Fonte: Fritsche e Hofrichter (2000) (traduzido e adaptado).

### 3.5 Contaminação de solo e água subterrânea

As fases líquidas leves não aquosas (*Light Nonaqueous Phase Liquids - LNAPL*), são os hidrocarbonetos que existem como uma fase separada, imiscível em contato com água e/ou ar, de acordo informações da *ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY* (1995). As diferenças nas propriedades físico-químicas da água e do LNAPL resultam na formação de uma relação física entre os líquidos, o que impede que os dois líquidos se misturem. Os LNAPL, como óleo mineral base naftênica, possuem densidades menores que a água, fazendo com que flutuem na sua superfície.

Se um volume pequeno de LNAPL for liberado na superfície do solo, ele se moverá na zona não saturada, onde uma fração do hidrocarboneto será retida pelas forças capilares como glóbulos residuais nos poros do solo (Figura 4). Se uma quantidade de LNAPL suficiente for liberada no solo, esta migrará até que encontre uma barreira física (por exemplo, solos de baixa permeabilidade), ou será afetada por forças da capilaridade perto do nível de água. Ao alcançar a franja capilar, o LNAPL pode mover-se lateralmente como uma camada contínua, denominada fase livre, ao longo do limite superior da zona saturada, devido às forças da gravidade e de capilaridade, conforme dados da *ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY* (1995).

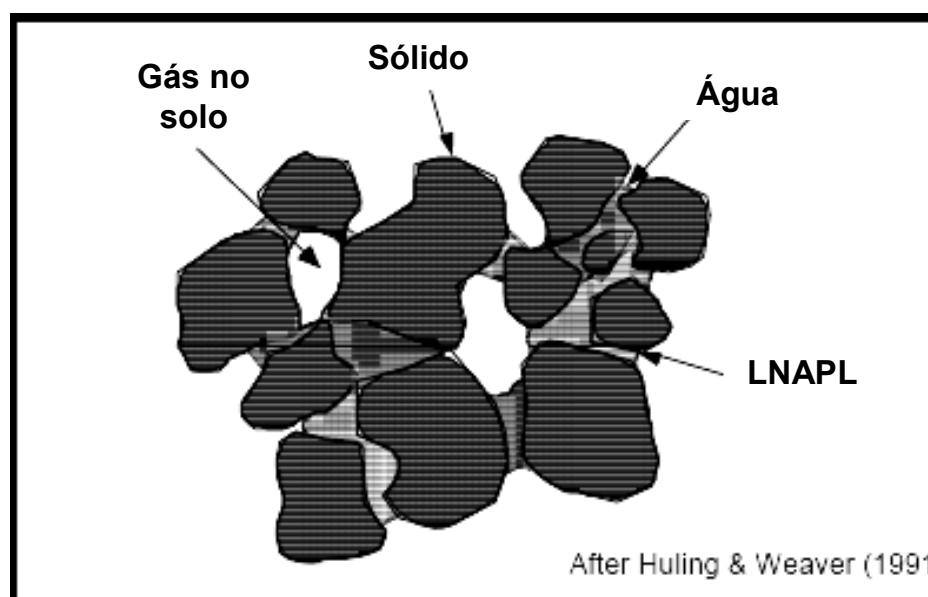


Figura 4. A contaminação na zona não saturada pode estar presente em quatro estados físicos: gasoso, sorvida nos materiais do solo, dissolvidos na água, ou no líquido imiscível.

Fonte: *ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY* (1995) (traduzido e adaptado).

Dados da *ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY* (1995), a migração lateral é controlada pela distribuição principal de LNAPL. No geral, a migração pode ser maior no sentido do fluxo da água subterrânea. Entretanto, a migração pode ocorrer



inicialmente em outros sentidos em resposta aos gradientes hidráulicos induzidos por uma grande quantidade de LNAPL. Uma acumulação relativamente grande de LNAPL pode resultar na compressão ou no colapso da franja capilar e, potencialmente, na sua depressão abaixo do nível de água.

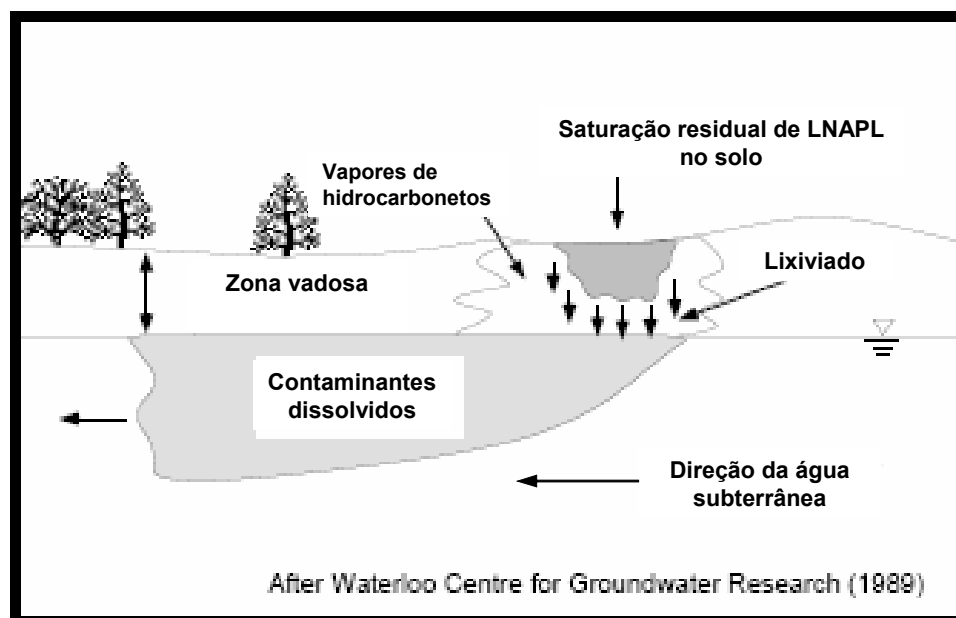


Figura 5. LNAPL é retido como saturação residual zona vadosa. Lixiviação e infiltração da água e migração de vapores de hidrocarbonetos resultam na contaminação da água subterrânea.

Fonte: *ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY* (1995) (traduzido e adaptado).

Dados da *ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY* (1995), devido às mudanças sazonais de elevação e rebaixamento do nível de água, o solo tende a contaminar-se com os LNAPL (Figura 6). Desta forma ocorre um aumento no volume de solo contaminado.

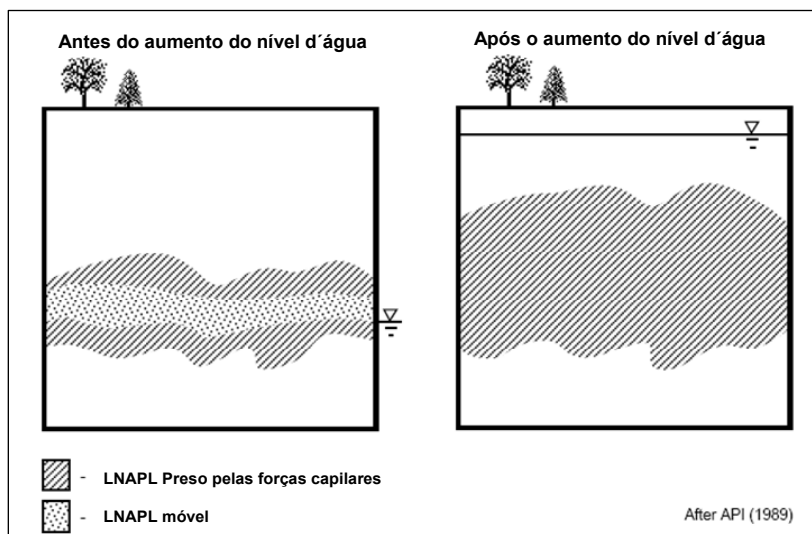


Figura 6. Efeito do aumento do nível de água na distribuição de LNAPL no meio poroso.

Fonte: *ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY* (1995) (traduzido e adaptado).

### 3.6 Técnicas de remediação

Para a solução do problema de contaminação de solos contaminados por LNAPL, neste caso o óleo mineral isolante, tem-se a remediação de áreas contaminadas que é definida por *COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL*, (1999), como a “aplicação de técnica ou conjunto de técnicas em uma área contaminada, visando à remoção ou contenção dos contaminantes presentes, de modo a assegurar uma utilização para a área, com limites aceitáveis de riscos aos bens a proteger”.

As tecnologias atualmente empregadas para remediação de uma área contaminada pertencem a três categorias:

- a) Retenção ou imobilização
- b) Mobilização
- c) Destruição

As tecnologias podem ser aplicadas *in situ*, ou seja, no próprio local da contaminação, ou *ex situ*, transferindo o material contaminado para outro local, para que seja descontaminado.

Na retenção *in situ*, os resíduos/solo são isolados com argila e barreiras hidráulicas com a função de impedir o espalhamento lateral dos contaminantes.

A retenção *ex situ* seria a disposição do solo contaminado em um aterro industrial controlado.

A imobilização *in situ* inclui a lavagem de solo, a extração de vapores do solo, o bombeamento e tratamento e a recuperação de fase livre e outras técnicas, conforme a Figura 7, que apresenta as técnicas de remediação empregadas atualmente no Estado de São Paulo.

Algumas tecnologias de tratamento por biorremediação, que é o objetivo deste trabalho, reportadas por Zhongyun (1998) incluem:

(1) bioamplificação definida como uma tecnologia de tratamento na qual as bactérias são adicionadas ao meio contaminado. Esta técnica é utilizada em biorreatores e sistemas *ex situ*;

(2) bioestimulação, que é um processo de tratamento que simula populações de micróbios indígenas no solo e água. O tratamento pode ser feito *in situ* ou *ex situ*.

(3) tratamento de bioreator: que é um processo conduzido em reatores frequentemente usados para tratar líquidos e lodos contaminados;

(4) tratamento *bioventing*, que é um método para forçar oxigênio no solo para estimular o crescimento microbiano;

(5) *landfarming*, que é usado para tratar contaminação em fase sólida/pastosa;

Vidali (2001) descreveu as principais técnicas de biorremediação *in situ* utilizadas:

*Bioventing*: é o tratamento mais comum *in situ* e envolve o fornecimento de ar e nutrientes por poços à terra contaminada para estimular as bactérias nativas. O consumo de oxigênio é baixo, somente o necessário para as bactérias, evitando-se a volatilização de contaminantes para a atmosfera;

Biodegradação *in situ*: envolve o suprimento de oxigênio e nutrientes por meio de soluções aquosas e do solo contaminado, podendo ser utilizados em solo e água subterrânea;

*Biosparging*; envolve a injeção de ar abaixo do nível de água para aumentar a concentração de oxigênio e aumentar a taxa de degradação biológica dos contaminantes pelas bactérias naturais do meio;

Bioamplificação: Envolve a utilização de microrganismos endógenos e exógenos nos locais contaminados;

Outras técnicas de biorremediação *ex situ* são descritas por Vidali (2001):

*Landfarming*: envolve a deposição do solo contaminado em uma área previamente preparada onde os contaminantes são degradados por microrganismos aeróbios;

Compostagem: envolve a combinação de solo contaminado com adubo orgânico que favorece o enriquecimento da população microbiana, favorecendo a degradação do contaminante;

Biopilhas: é um processo híbrido de *landfarming* e compostagem, favorecendo o meio ambiente para os microrganismos aeróbios e anaeróbios degradarem o contaminante;

Bioreatores: reatores são usados para o tratamento de solo e águas contaminadas, dividido em três fases: (sólido, líquido e gasoso).

As Figuras 7 e 8 mostram a constatação de técnicas de remediação implantadas e constatações de grupos de contaminantes cadastrados pela CETESB. Como pode ser observado, não existem referências ao óleo mineral isolante, mas dados da ABRADÉE de 2006, mostram que no Brasil existiam 48 empresas de distribuição de energia elétrica que utilizam transformadores á óleo em: subestações elétricas, rede aérea de distribuição e câmaras subterrâneas.

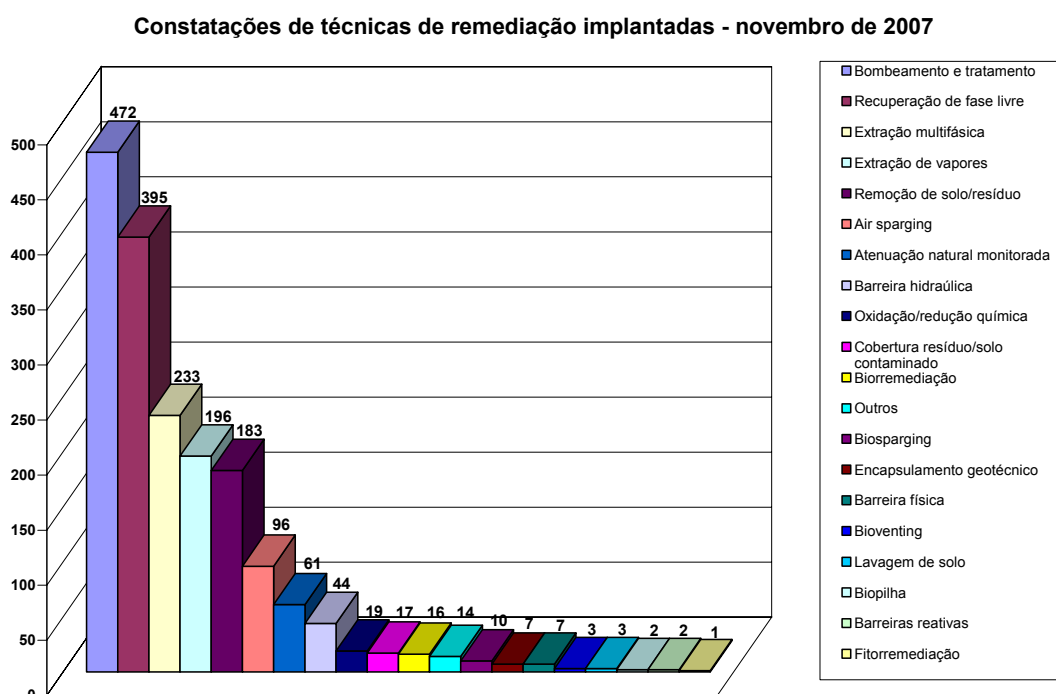


Figura 7. Constatação de técnicas de remediação implantadas - Novembro 2007.

Fonte: COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (2007) (adaptado)

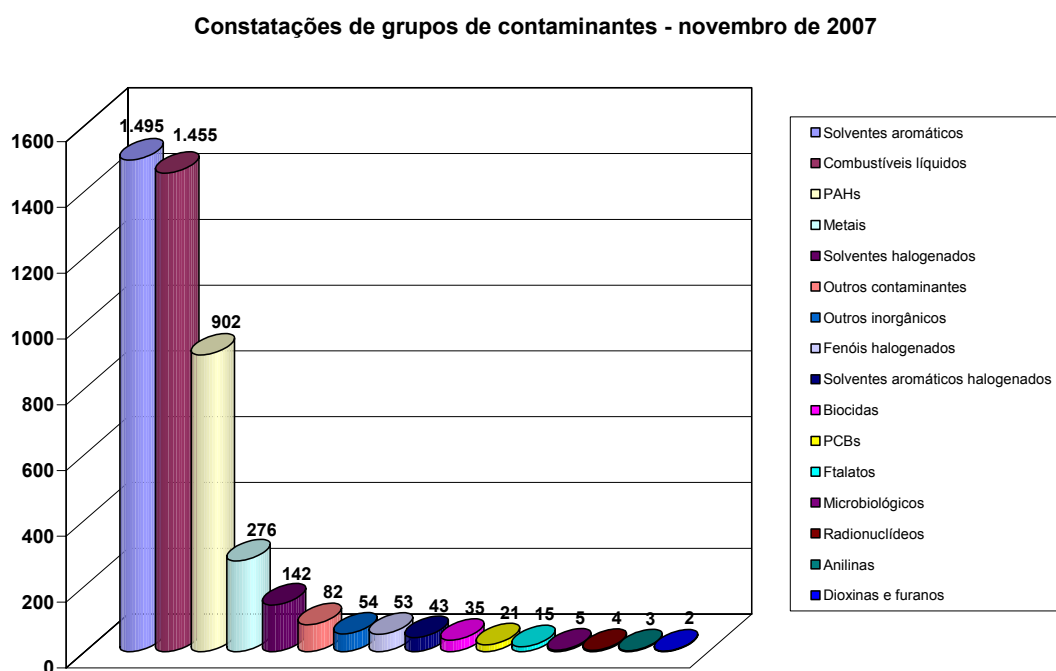


Figura 8. Constatações de grupos de contaminantes – Novembro 2007.

Fonte: COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (2007) (adaptado).

Dados da COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (2007), de 2.272 áreas contaminadas que estão sendo remediadas no Estado de São Paulo, apenas 7 % se utilizam da biorremediação (Figura 8), mostrando-se ainda num estágio inicial de utilização como forma de remediação de áreas contaminadas.

### 3.7 Fatores que afetam a biorremediação

Eweis et al. (1998) relataram que o tempo necessário para a degradação dos contaminantes será dado em função das características físico-químicas do solo, temperatura, pH e nutrientes necessários para o crescimento microbológico e biodisponibilidade.

Os principais elementos químicos de todas as células vivas, em base seca, são: carbono, oxigênio, nitrogênio, hidrogênio, fósforo e enxofre. Outros elementos como: potássio, cobalto, cálcio, cobre e zinco, servem de mediadores no transporte de elétrons em reações específicas catalisadas por enzimas, conforme Eweis et al. (1998). Na Tabela 3 pode ser visualizada a composição elementar típica de bactérias em base seca.

Tabela 3 - Composição elementar típica de bactérias em base seca.

<b>Elemento químico</b>	<b>% em pêso seco</b>
Carbono	50,0
Oxigênio	20,0
Nitrogênio	14,0
Hidrogênio	8,0
Fósforo	3,0
Enxofre	1,0
Potássio	1,0
Sódio	1,0
Cálcio	0,5
Magnésio	0,5
Cloro	0,5
Ferro	0,2
∑ de elementos traços	0,3

Fonte: Stanier et al. (1986 apud EWEIS et al., 1998, p.77) (traduzido e adaptado).

Para Zhou e Hua (2004), o sucesso da biorremediação depende dos fatores a seguir:

- **Microrganismos:** devem ter a capacidade de degradar contaminantes em uma concentração menor que a inicial sem gerar compostos tóxicos;
- **Locais de tratamento:** as concentrações de poluentes não devem inibir a ação microbiana;
- **Nutrientes:** estes devem estar biodisponíveis e sua concentração ótima é de C:N:P = 100 : 10 :1;
- **Oxigênio e aceptores de elétrons:** o fornecimento de oxigênio é outro fator que controla o processo de biorremediação: funciona como acceptor final de elétrons. Sua demanda deve estar entorno de 0,2 mg/L;
- **Fatores físico-químicos do solo:** estes incluem conteúdo de matéria orgânica e argila; capacidade de troca catiônica e pH, temperatura do solo. Zhou e Hua (2004) citam que alguns estudos mostraram o pH ótimo é na faixa de 5.5 a 8.5 e a temperatura ótima é na faixa de 15 a 45 °C.

Vidali (2001) descreveu que os valores ótimos para a degradação aeróbia de óleo são: umidade de 30 a 90%, pH do solo de 6.5 a 8.0, índice de oxigênio 10 a 40%, índice de nutrientes C:N:P = 100:10:1, temperatura 20 a 30°C, contaminante como hidrocarbonetos de 5 a 10% de solo em base seca, e metais pesados no máximo a 700 ppm de concentração.

### 3.7.1 Concentração de contaminantes

A taxa de mineralização de compostos orgânicos por microrganismos é inversamente proporcional à concentração dos compostos e cada composto possui uma toxicidade diferente para os microrganismos presentes no meio. A alta concentração de óleo inibe o crescimento microbiano conforme relatado por Colweel (1990, ALEXANDER, 1985 apud ZHONGYUN, 1998) e influi diretamente na taxa de biorremediação de acordo com Gianfreda, Andreoni (2007). Balba, Al-Awadhi, Al-Daher (1998) descreveram que a efetividade da biorremediação depende da molécula do hidrocarboneto e de sua toxicidade para os microorganismos presentes no meio.

Fava e Gioia (1998), descreveram o efeito tóxico aos microrganismos autóctones, resultado da adição de TRITON<sup>®</sup> X100 em um ensaio de biorremediação de lama contendo PCBs.

### 3.7.2 Estrutura do solo

Para Zhongyun (1998) a transmissão de água, nutrientes e oxigênio para as bactérias é função da estrutura do solo. Num solo mais argiloso e siltoso a transmissão é lenta. Solos permeáveis como areia e cascalhos são mais favoráveis e a limpeza pode ser mais rapidamente alcançada. Além disso, a remediação é função da distribuição do tamanho de partícula, porcentagem de carbono, e capacidade de troca catiônica.

### 3.7.3 Nutrientes

Odu (1978, PINHOLT, 1979 apud ZHONGYUN, 1998) relatam que os microrganismos heterotróficos encontrados em solos possuem habilidade para degradar produtos de petróleo, mas necessitam de nutrientes para crescer.

Jamison et al. (1975 apud ZHONGYUN, 1998), relataram que a adição de nitrogênio e fósforo aumentaram a degradação da gasolina. Além destes outros nutrientes são requeridos para o metabolismo da bactéria, como: potássio, magnésio e cálcio, enxofre, sódio, manganês, ferro, metais traço.

Iqbal, Metosh-Dickey e Portier (2007) relataram que quando a concentração de nutrientes é reduzida, o processo de biodegradação fica severamente comprometido.

### 3.7.4 Temperatura

Conforme reportado por Zhongyun (1998) a temperatura influencia a biodegradação de petróleo por seu efeito na natureza física e composição química do óleo, índice de metabolismo de hidrocarboneto por microrganismos, e composição da comunidade de microbial. Em temperaturas baixas, a viscosidade dos aumentos de óleo aumenta; a volatilização de alcanos tóxicos de cadeias curtas é reduzida, e sua

solubilidade na água é aumentada, demorando o princípio de biodegradação. Este fato, da baixa degradação, está ligado à diminuição da atividade enzimática.

Parr et al. (1983 apud ZHONGYUN 1998), informaram que a maioria dos microrganismos do solo tem ótimo crescimento na faixa de 20 a 35 °C.

Iqbal, Metosh-Dickey e Portier (2007) verificaram que em temperatura de 10 °C a adição de N e P não foi representativa na taxa de biorremediação de PAHs. A partir de 20 °C a adição de fósforo melhorou a taxa de biorremediação.

### **3.7.5 Oxigênio**

O oxigênio é requerido, pois nas etapas iniciais do catabolismo o substrato é oxidado pelas oxigenases. O oxigênio entra na etapa da respiração celular também. Portanto, condições aeróbias são requeridas para a biodegradação de hidrocarbonetos.

Durante a biodegradação aeróbia, o oxigênio molecular também é reduzido em água, enquanto hidrocarboneto de petróleo é oxidado para criar energia, massa celular, e dióxido de carbono.

Para se ter uma idéia, Dineen et al (1990 apud ZHONGYUN 1998) reportaram que são necessários 3,1 mg de oxigênio para degradar 1 mg de hidrocarboneto.

### **3.7.6 Umidade do solo**

Segundo Zhou e Hua (2004) a umidade do solo é um dos fatores chave da biorremediação, controlando e regulando as atividades de vida dos microrganismos, afetando a permeabilidade do solo, as características de materiais solúveis, a pressão osmótica, o pH do solo e a condutividade hidráulica na zona insaturada ou vadosa. Em alguns estudos reportados, os valores de umidade ótimos são 25 a 85%.

### **3.7.7 Valor de pH**

Para Zhongyun (1998) a atividade biológica no solo pode ser afetada pelo pH. Alguns microrganismos sobrevivem em uma larga escala de pH, outros são sensíveis a pequenas variações, O melhor crescimento bacteriano foi verificado na faixa de pH de 6,5 a 8,5. O pH do solo pode ser ajustado, se necessário, para aumentar a atividade microbiana.



### 3.7.8 Biodisponibilidade

Para ocorrer a biorremediação é necessário que haja biodisponibilidade. Assim, Semple, Morriss e Paton (2003) relataram que há dois conceitos para descrever o seqüestro de contaminante orgânicos hidrofóbicos no solo: (i) difusão através da matéria orgânica, na qual o contaminante é adsorvido pela matéria orgânica; e (ii) sorção-retardada, em que o contaminante é difundido pelos poros causados pela água no solo, e como estes poros são muitos pequenos, o contaminante fica protegido de um ataque da biota do solo, isto é, não está biodisponível. A biodisponibilidade do contaminante é função da taxa de transferência do composto do solo para a célula viva (transferência de massa), e a taxa de rapidez e metabolismo (atividade intrínseca da célula).

Para Volkering, Breure e Rulkens (1998) a biodisponibilidade de poluentes orgânicos hidrofóbicos dependem de 3 fatores: (i) emulsificação de líquidos poluentes de fase não aquosa com a formação de micro e macro emulsões que favorecem o transporte e dessorção do poluente, (ii) “solubilização” do poluente que é por causa das micelas (iii) facilidade de transporte do poluente com por exemplo a interação da molécula do poluente com a do surfactante, mobilização do poluente da matriz orgânica e diminuição da tensão superficial da água no solo.

Eweis et al (1998) relataram que a biodisponibilidade é limitada quando há a presença de uma barreira físico-química entre o contaminante e os microorganismos, interferindo na taxa de crescimento dos mesmos. Esta limitação de biodisponibilidade pode ser resolvida com a adição de surfactantes, mobilizando os contaminantes que possam estar adsorvidos no solo. Desta forma eles passam a estar biodisponíveis.

As fases de água e óleo por serem imiscíveis em uma mistura, dificultam o ataque dos microrganismos devido a falta de biodisponibilidade conforme descrito por Beal, Betts (2000). A solução proposta pelos autores foi à utilização de surfactantes para aumentar a biodisponibilidade.

Bosma et al. 1997 afirmaram que a sorção é o fator principal que impede a completa biorremediação da contaminação de hidrocarbonetos no solo, isto é, diminui a biodisponibilidade do contaminante. Como solução pode se utilizar surfactante atuando no processo de sorção, promovendo a biodisponibilização do contaminante para os microrganismos atuarem biodegradando-o.

Conforme estudado por Gianfreda (2004), a degradação dos contaminantes podem ocorrer de duas formas: se os contaminantes são solúveis, eles podem entrar nas células; se são insolúveis, eles devem ser convertidos em produtos solúveis cujo processo é realizado por enzimas extracelulares do tipo oxidoredutases e hidrolases. Seu estudo concluiu que diversas enzimas, extracelulares, podem atuar como catalisadores poderosos no biodegradação de poluentes prejudiciais, como os policíclicos aromáticos e os fenóis (lacase, cloroperoxidases, peroxidase), as bifenilas policloradas (dehalogenases, lacase) e o trinitrotolueno (lignina peroxidase, Mn-dependente peroxidase, celobiose desidrogenase). Porém, a aplicação em larga escala foi limitada em função do elevado custo da purificação de enzimas e da baixa estabilidade das enzimas em solo com baixa biodisponibilidade.

Semple, Morriss e Paton (2003) afirmaram que é possível quantificar o impacto do contaminante nos microrganismos no solo ou medir o catabolismo do contaminante para o CO<sub>2</sub>.

### 3.8 Estudos de tratabilidade em laboratório

Gallego et al. (2001) realizaram ensaios de biodegradação, utilizando solo arenoso coletado na cidade de Oviedo (Espanha), contaminado com 6.000 mg/kg de óleo diesel comercial, e inseriu-o em um bioreator de vidro borossilicato. O fornecimento de ar foi mantido constante e a temperatura foi ajustada para 10°C e variou ao longo do tempo de 15 a 25°C, sendo que a umidade do solo foi reposta com a inserção de 300 ml de água destilada nos frascos. Foram realizados 5 experimentos: a) como controle foi utilizado solo esterilizado e óleo diesel na proporção de 6.000 mg/kg; b) solo natural contaminado com 6.000 mg/kg; c) solo natural contaminado com 6.000 mg/kg e adicionado de 400 ml de solução de nutrientes NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (0.2%), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.07%), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0.18%) e MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.05%); d) solo natural contaminado com 6.000 mg/kg e adicionado de 250 ml lodo esterilizado – 65% de água – com a composição (% de matéria seca): 25% C, 4% H, 4% N e 0.5% S; e) solo natural contaminado com 6.000 mg/kg e adicionado de 250 ml de lodo ativado utilizado anteriormente. Os experimentos foram realizados por 45 dias e a cada 15 dias amostras eram coletadas. Foi verificado que no experimento c) de bioestimulação com nutrientes, a taxa de biodegradação do óleo diesel foi maior que 90%, seguida de 66% referentes ao estudo d) de biodegradação com lodo de esgoto, 44% com a bioamplificação e 35% com a atenuação natural no experimento b).

Margesin, Zimmerbauer e Schinner (2000) relatam que informações de investigação biológica do solo (respiração do solo, biomassa, atividade enzimática, contagem microbiana) podem dar informação sobre os microrganismos viáveis, a intensidade da duração dos poluentes do solo e a medida do impacto da contaminação do solo na saúde. Para tanto coletaram 8 kg solo da região de Vill/Innsbruck (Tirol, Áustria) no qual foram adicionados de 48 g CaCO<sub>3</sub> para manter o solo de neutro a levemente alcalino, e 1 l de água destilada. O solo foi mantido a 20°C por 3 dias e contaminado por 5.000 mg de óleo diesel. Desse solo, 7 amostras foram tratadas e colocadas em bandejas conforme descrito abaixo:

- Bandeira 1 (controle estéril): contaminado 5 g com NaN<sub>3</sub>;
- Bandeira 2: não conteve nenhum suplemento adicional a fim de avaliar a degradação do hidrocarboneto pelos microorganismos autóctones do solo;
- Bandeira 3 e 7: foram suplementados com diferentes fontes de nitrogênio e fósforo;
- Bandeira 3: inserido fertilizante agrícola N-P-K na proporção [15%N (9.5% NH<sub>3</sub>-N, 5.5% NO<sub>3</sub>-N), 5.5% P, 12.4% K], água esterilizada e proporção C:N = 20:1, sendo o C, a concentração de hidrocarboneto;

- Bandeja 4: inserido fertilizante agrícola nitrato de cálcio e amônio na proporção [27% N (5.5% NH<sub>3</sub>-N, 13.5% NO<sub>3</sub>-N)], água esterilizada e proporção C:N = 20:1, sendo o C, a concentração de hidrocarboneto;
- Bandeja 5: contendo a mesma fonte de N como na bandeja 4, N:P = 10:1 ajustado pela adição de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, dissolvido em água esterilizada;
- Bandeja 6: contendo uréia (47% N), dissolvida em água esterilizada e C:N = 20:1;
- Bandeja 7: contendo a mesma concentração de uréia da bandeja 6 e K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> na proporção N:P = 10:1.

As bandejas foram cobertas com papel perfurado e incubadas em local escuro a 20°C e com umidade relativa de 70% por 88 dias. Como resultado do experimento, foi evidenciado que a concentração de contaminante foi reduzida em até 88% nas bandejas 2 e 7, a degradação foi baixa na bandeja 2 em relação as bandeja 3 e 7, e não houve diferença entre a biodegradação ocorrida nas bandejas 3, 5 e 7. Como resultado, foi evidenciado que o solo contaminado pode ser recuperado, utilizando-se compostos inorgânicos como nutrientes. No estudo verificou-se também que nem todo hidrocarboneto reduzido à zero, após tratamento prolongado. Os hidrocarbonetos remanescentes (10-30%) consistem em hidrocarbonetos que estão estruturalmente menos disponível para biodegradação devido a sua recalcitrância e limitada biodisponibilidade. No estudo foi observado que o número de degradadores de hidrocarboneto aumentou depois de estímulo do processo de biodegradação, mas este aumento era também presente em terra sem adição de nutriente.

Kalyuzhnyl (2001) utilizou as espécies de *Rhodococcus ruber* e *Rhodococcus erythropolis* de um campo de óleo Bondyuzhskii, Rússia, numa concentração de 10<sup>9</sup>-10<sup>10</sup> bactérias por ml que foi diluída e adicionada de micronutrientes (N, P). Em um dos testes, esta solução foi irrigada três vezes em intervalos de três semanas, em uma área de 5000 m<sup>2</sup> (Vingayakha, Rússia), cujo teor de hidrocarbonetos no solo (10cm) era de 15 g/L. Como resultado, a eficiência da degradação de hidrocarbonetos foi acima de 99,0%.

Algumas bactérias aeróbias possuem a capacidade de degradarem pesticidas e hidrocarbonetos (n-alcanos e poliaromáticos),. São elas: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas*, *Rhodococcus* e *Mycobacterium*, conforme Vidali (2001).

Bell et al. (2003) relataram que *Rhodococci* spp. podem estar presentes no meio físico, mesmo sem haver biodisponibilidade de contaminante, e se mostraram promissores na degradação de pentaclorofenol em solo arenoso, compostos aromáticos, bifenilas policloradas e pesticidas (metamitron, s-triazina, n-metilcarbamatos).

Rouvière e Chen (2003) isolaram uma espécie bacteriana, a *Brachymonas petroleovorans* CHX, que é capaz de usar o ciclohexano como uma fonte do carbono para seu crescimento. Segundo Sluis et al. (2002), a enzima que catalisa a reação é homóloga à enzima butano monoxigenase.

### 3.9 Métodos para avaliar a biorremediação

Segundo Balba (1998), existem alguns métodos para avaliar a biorremediação que são: enumeração microbiana, atividade da desidrogenase, teste respirométrico do solo (evolução de CO<sub>2</sub>), teste de biodegradação em microcosmo, compostos biomarcadores, avaliação de impacto ecológico e toxicidade, teste de sobrevivência microbiana e uso de microrganismos modificados geneticamente.

Miles e Doucette (2001) escreveram que o simples microcosmo do método respirométrico forneceu um método barato e reprodutível para medição da biodegradação aeróbia de 11 hidrocarbonetos (n-hexano, n-heptano, n-octano, n-nonano, n-decano, n-undecano, n-dodecano, n-tridecano, n-tetradecano, n-pentadecano, n-hexadecano, naftaleno, 1-metil naftaleno, fenantreno), em 2 solos (franco-silte do nordeste de Utah e franco-silte de floresta da área de Long Canyon, Utah, ambos dos Estados Unidos da América). Este método pode ser aplicado para uma larga variedade de compostos orgânicos voláteis e semivoláteis.

Conforme Zhou e Hua (2004), além das análises químicas para avaliar a evolução da biorremediação, há o método ecotoxicológico, o qual inclui a análise de correlação da estrutura de toxicidade dos poluentes. Outro método existente é o da utilização do exame de ácido nucléico para detectar microrganismos com genes específicos para degradar poluentes, como por exemplo, os genes da monoxigenase e dioxigenase, que podem oxidar inicialmente compostos orgânicos aromáticos. O método isótopo estável pode determinar o fluxo de matéria orgânica ou poluentes inorgânicos afetados por processos de biorremediação, e por este mesmo método do isótopo estável do carbono e nitrogênio, o CO<sub>2</sub> gerado pode ser rastreado. Foi verificada que a eficácia da biorremediação depende de vários fatores, como por exemplo, a diluição do contaminante no meio e a volatilização, que pode induzir ao erro pois na realidade não ocorreu a biorremediação. Viu-se que o sucesso da aplicação da biorremediação é uma relação imediata com o tempo de remediação e o controle de gastos. No caso da remediação *in situ*, a investigação da área e a realização de análises químicas, utilizando-se de métodos analíticos apropriados é mais importante que a biorremediação em si, pois a chance de mau dimensionamento de um sistema de biorremediação diminui. Outro fator importante é que, nem sempre, os ensaios realizados em laboratório são reproduzidos em campo ou em outro local com características físico-químicas e biológicas diferentes.

### 3.10 Utilização de surfactantes

Os surfactantes podem ser usados na biorremediação, melhorando a biodisponibilidade do contaminante e, além disso, englobam um grupo de moléculas que possuem a habilidade de modificar as propriedades de líquidos aquosos e não aquosos, nos quais eles estão presentes, segundo Zoller e Broze (1999).

Os surfactantes possuem na sua molécula a cabeça hidrofílica (afinidade com a água), e a cauda hidrofóbica (que não apresenta solubilidade em água). As micelas são formadas pela interação entre as cadeias apolares do surfactante e pela repulsão dos grupos polares que formam pontes de hidrogênio com a água. Como

resultado, eles concentram na interface fases imiscíveis reduzindo, desse modo, a tensão superficial, conforme Zoller e Broze (1999).

Os surfactantes podem ser divididos em classes: aniônicos, catiônicos, anfóteros e não iônicos. A Figura 10 mostra a classificação estrutural dos surfactantes. Após determinada concentração de surfactante, as moléculas de surfactante, na solução, passam a se agregar sob a forma de micelas (concentração crítica micelar), agregando de 50 a 100 monômeros de surfactantes, muito mais estável que as moléculas menores, conforme Zoller e Broze (1999).

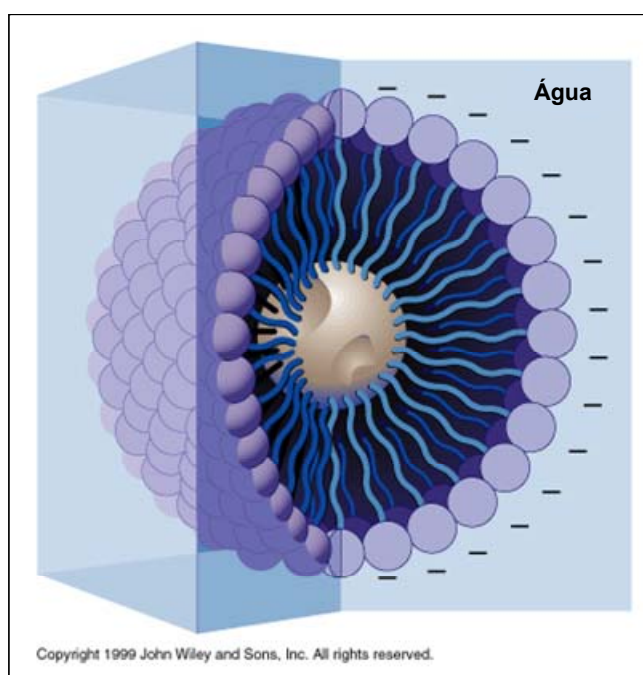


Figura 9. Micela água/óleo.

Fonte: Mallery, (2005) (traduzido e adaptado)

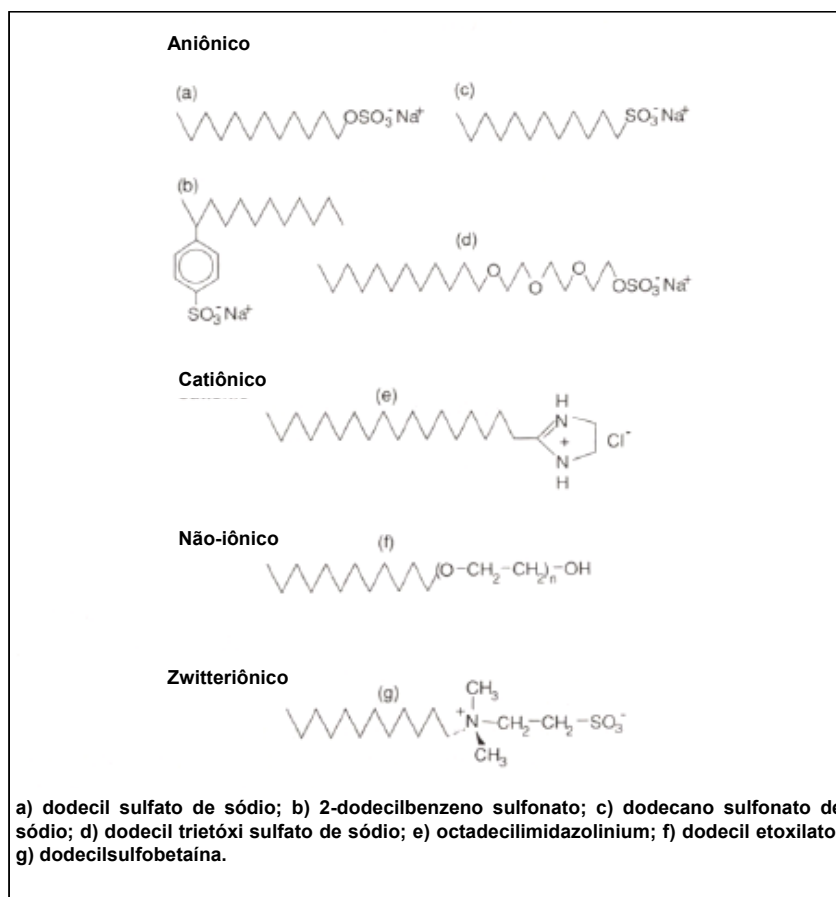


Figura 10. Classificação estrutural de surfactantes.

Fonte: Zoller e Broze (1999) (traduzido e adaptado)

Com a utilização de surfactantes no solo, estes atuam na dessorção do óleo presente no solo, formando as micelas e aumentando a área de superfície de contato do contaminante, o que facilita substancialmente a biodegradação do óleo.

O mecanismo de microrganismos de incorporarem as micelas ainda é desconhecido, mas os efeitos dos surfactantes foram estudados bem, conforme descrevem Fritsche e Hofrichter (2000), e podem ser vistos na Figura 11 onde o surfactante ramnolipídio atua na formação de micelas que são absorvidas pela célula da bactéria.

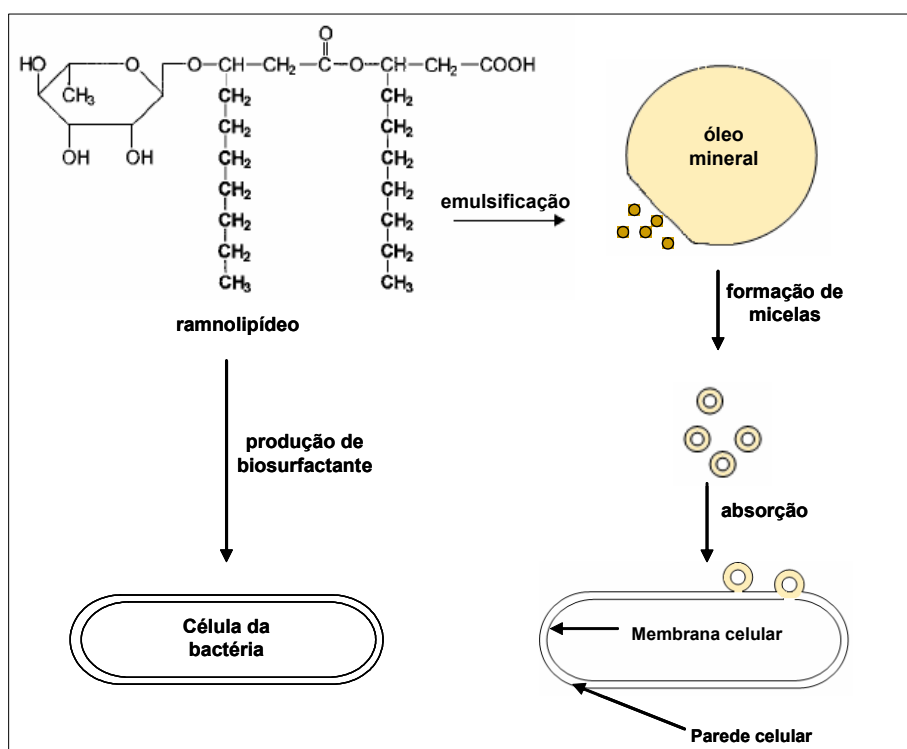


Figura 11. O envolvimento de biosurfactantes na absorção de hidrocarbonetos.

Fonte: Fritsche e Hofrichter (2000) (adaptado).

O rhamnolipídio produzido pela *Pseudomonas aeruginosa* foi um dos biosurfactantes mais largamente estudados e em seu estudo de biodegradação Benincasa (2007), utilizou-o na biodegradação de hidrocarbonetos presentes em solo contaminado coletado em Ribeirão Preto, São Paulo. Foi utilizado o método respirométrico, sendo que cada microcosmo continha 20 g de solo, com o conteúdo de água ajustado a 60% ou com uma solução de biosurfactante com uma concentração de 1 mg surfactante/g de solo. Segundo a autora, os resultados indicaram um aumento maior na atividade respiratória, quando a solução de biosurfactante foi adicionada, o que pode estar associado com o aumento na disponibilidade na fonte de carbono (hidrocarbonetos). Como resultado verificou-se que ocorreu aumento da degradação dos hidrocarbonetos em 20% com adição de surfactante, comparado somente com o microcosmo, contendo água.

Os rhamnolipídios são conhecidos na área ambiental desde 1971, quando foram utilizados para reduzir a tensão superficial, emulsificar hidrocarbonetos e estimular o crescimento de espécies de *Pseudomonas aeruginosa* degradadores de n-hexadecano. Uma vantagem de utilizar biosurfactantes é a disponibilidade de material prima, pois segundo Rosenberg e Ron 1999, de cada 160g/l de óleo de soja, 100 g/l de rhamnolipídios podem ser produzidos.

Os rhamnolipídios produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* retiraram quantidades grandes de óleo de fragmentos de rocha contaminada do Alasca (EUA) na década

de 1990, pelo derramamento de petróleo do navio petroleiro Valdez de Exxon (Harvey et al., 1990 apud KONG 2000). Dique et al. (1993) demonstraram o aumento na recuperação de hidrocarbonetos dos locais contaminados por ramnolipídios e a eficácia da biorremediação *in situ* no derramamento de petróleo causado pelo navio Exxon Valdez no Alasca.

Sabe-se que os surfactantes possuem propriedades de detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, umectação, solubilização e dispersão de fases. A biodisponibilidade, a velocidade e o grau da degradação são, na grande maioria, melhoradas por surfactantes, conforme estudo de Nitchke e Pastore (2002). Os biosurfactantes apresentam vantagens que os surfactantes convencionais: os biosurfactantes são mais eficientes e mais efetivos do que alguns surfactantes convencionais (detergentes aniônicos sulfatados), pois produzem menor tensão superficial em menores concentrações de biosurfactante, tolerância à temperatura, pH e força iônica, biodegradabilidade, baixa toxicidade, permitindo o uso em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos.

Os surfactantes são agentes de superfície ativa que reduzem a tensão superficial dos líquidos. Como exemplo, um surfactante natural, que reduz a tensão superficial da água de  $72 \text{ mN/m}^{-1}$  para  $27 \text{ mN/m}^{-1}$ , conforme informado por Christofi e Ivshina (2002). A maioria dos surfactantes utilizados são sintéticos devido ao elevado custo de se produzir biosurfactantes, os quais possuem vantagens como a biodegradabilidade e a baixa toxicidade. De acordo com Christofi e Ivshina (2002), as bactérias produtoras de surfactantes incluem a *Pseudomonas aeruginosa* (mono- e di-rhamnolipídio biosurfactante), a *Corynebacterium*, a *Nocardia* e a *Rhodococcus*, spp. (fosfolipídios, trehalose dimicolates/dicorinomicolates, glicolipídios, etc.), a *Bacillus subtilis* (surfactin), a *Bacillus licheniformis* (lipopeptídeo similar ao surfactin) e a *Arthrobacter paraffineus* (trehalose e sucrose lipídios). Nos estudos de Christofi e Ivshina (2002), uma biopilha de  $2 \text{ m}^2$  foi construída na Rússia, no verão, e foi adicionada ao solo 4.3% de óleo cru (compostos aromáticos, parafínicos, naftenos, asfaltenos), bem como a *Rhodococcus erythropolis* AC 271 e a *R. ruber* AC 231, previamente desenvolvida em n-hexadecano numa concentração de  $107 \text{ UFC/g}$  e umidade de 60 %. Após oito meses, a introdução de Rhodococci no meio acelerou o processo de biorremediação em 20 a 25%.

Zhou e Hua (2004) citaram que a biodisponibilidade de poluentes químicos está ligada diretamente à efetividade da biodegradabilidade durante o processo de biorremediação. Loeser et al. (2000 apud ZHOU e HUA, 2004) evidenciaram que a biodisponibilidade pode aumentar a taxa de biodegradação e a explotabilidade biológica. Para isso são utilizados surfactantes, conforme pesquisas de Loeser et. al 2000 e King et al. (2000 apud ZHOU e HUA 2004), que utilizaram surfactantes para degradar hidrocarbonetos de petróleo e policíclicos aromáticos e revelaram que havia uma certa biodegradabilidade por parte dos microrganismos do solo. Os surfactantes devem ser utilizados com cuidado e em uma concentração certa, pois podem transferir o contaminante para uma área ainda não contaminada. No caso dos contaminantes hidrofóbicos como, por exemplo, resíduos de petróleo, Zhou e Hua (2004) citam que algumas bactérias produzem um bioemulsificante que pode facilitar a biodegradação destes poluentes, tornando-os biodisponíveis para os microrganismos.

Deschenes et al. (1995); Thibault et al. (1996); Christofi et al. (1998); Ivshina et al. (1998 apud CHRISTOFI e IVSHINA, 2002), relatam que a utilização de surfactantes



aumenta a degradação de hidrocarbonetos, devido à dessorção destes do solo, aumentando a biodisponibilidade, permitindo a biodegradação.

Riis et al. (2000) citaram que uma das razões para que ocorra a degradação incompleta de óleo mineral é a sua biodisponibilidade, cujo problema é resolvido pela adição de surfactantes. Nos estudos foram utilizados microrganismos de uma biopilha em estagnação de degradação e lama altamente contaminada de uma planta de lavagem de solo. Vinte miligramas de óleo residual foram adicionados a frascos, contendo 40 ml de solução salina (pH 7.0), 0,03% de surfactante aminoácido N-acilado e inóculo (5mg de biomassa seca). Eles foram agitados por 14 dias a 30°C. Os estudos demonstraram que os aminoácidos (lauroil glutâmico e lauroil valina), utilizados como surfactantes, foram adequados e que eles próprios foram consumidos na biodegradação aeróbia de óleo mineral, que chegou, no caso da L-valina, a 75%. Sem a presença de surfactante, a degradação chegou a 55%.

Molnár et al. (2002) citaram que as experiências do laboratório foram realizadas para investigar o efeito da ciclodextrina aleatoriamente metilada (RAMEB), na biorremediação de vários tipos de solos com óleo diesel e de transformador e também nos solos dos locais contaminados com óleo combustível não totalmente degradado. O solo contaminado (microcosmo aeróbio) foi adicionado de nutrientes e suplementado com concentrações diferentes de RAMEB. Características favoráveis fazem da ciclodextrina um aditivo tecnológico tentador: não é tóxico, é biodegradável e em comparação com surfactantes, são menos suscetíveis a formar emulsões. Experimentos de laboratório em fase sólida foram realizados em reatores de pequena escala (250 g), com três solos diferentes (argila, argila e franco-húmico), por 4 semanas. As propriedades do solo (pH, condutividade elétrica, distribuição de tamanho das partículas), e a concentração de nutrientes inicial (o índice do húmus, nitrogênio, fósforo e carbono orgânico) foram analisadas. Os solos foram contaminados com 30.000 ppm de óleo diesel e óleo de transformador 30.000 ppm, com a adição de nutrientes inorgânicos (N, P), e complementado com RAMEB em concentrações de 0%; 0.1%; 0.3%; 0.5% e 0.7%, todos em peso.

Como resultados dos estudos de Molnár et al. (2002), em todos os sistemas de testes foram observados a degradação melhorada dos hidrocarbonetos e o aumento da atividade microbiana pelo efeito do RAMEB para o solo arenoso de 21% para 37%, do solo argiloso de 38% para 50% e do solo húmico de 40 para 61%. Os contaminantes residuais foram extraídos do solo com solvente e analisados por cromatografia com detector de ionização de chama (GC-FID). Com a utilização do RAMEB verificou-se que o aumento da biodisponibilidade do contaminante é proporcional a toxicidade do meio. Baseado nestas experiências com solos contaminados, o RAMEB pode ser usado como o aditivo para a biorremediação, sendo que o RAMEB tem o potencial de reduzir o tempo de descontaminação, especialmente nos solos de locais contaminados com hidrocarbonetos não totalmente degradados.

Molnár et al. (2005) utilizaram  $\beta$ -ciclodextrinas metiladas aleatoriamente para auxiliar na biorremediação de solos contaminados por óleo de transformador. Verificou-se que o uso de ciclodextrina aumenta a biodisponibilidade de poluentes oleosos intensificando a biorremediação do solo. Para o estudo foram utilizados óleo mineral isolante tipo TO40A, ciclodextrina 50 % em peso, seguido pelas experiências de

campo piloto e industrial. Setenta experimentos em série foram realizados em fase de batelada e contínua em reatores aeróbios da mistura pastosa para determinar a influência de características do solo e de alguns parâmetros, tais como a maneira e a extensão da adição de ciclodextrinas e seus efeitos na biorremediação de solos selecionados através das 4 a 9 semanas de experimento. No experimento em escala menor, laboratorial, 250 gramas de solo foram misturadas com óleo do transformador na escala 10.000 a 30.000 mg/kg, e adicionado de nutrientes  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  em uma proporção de massa de C:N:P de 100:10:1, e ciclodextrina em uma escala da concentração de 0 a 1% em peso. Em uma das experiências, a concentração do óleo do transformador diminuiu de 30.000 mg/kg iniciais para 11.600 mg/kg (redução de 61,33 %) e 7700 mg/kg (redução de 74,33 %) no reator de fase sólida com 0.1% e 0.5% de ciclodextrina, após cinco semanas de experimento. Foram realizados estudos laboratoriais ao longo de 10 meses baseados nos estudos em escala menor. Foram utilizados reatores de fase sólida de 60 litros em que 40 kg de solo de floresta marrom foram misturados com óleo do transformador na proporção de 30.000 mg/kg de solo, aplicada ciclodextrina na proporção de 0 a 0,5 % em peso, nutrientes inorgânicos na mesma proporção do estudo de menor escala e 10 a 15 % de umidade sob condições aeróbias. Estudos de campo piloto *ex situ*, durante 10 meses, foram realizados também demonstrando um aumento da biodegradação na ordem de 10 a 20% com a utilização de ciclodextrina a 1% em peso. Foram realizadas experiências de campo *in situ* baseadas nas experiências anteriores de laboratório e experimentos de campo *ex situ*. Esta experiência de campo foi executada em um local contaminado historicamente com o óleo de transformador. Foi utilizada uma tecnologia combinada *bioventing* da zona não saturada, com a aplicação de ciclodextrina e de nutrientes com posterior tratamento físico-químico *ex situ* da água subterrânea bombeada, cujo efeito significativo foi verificado pela redução do índice de hidrocarbonetos de petróleo da água subterrânea. As concentrações de  $\text{CO}_2$  evoluído e  $\text{O}_2$  consumido foram medidas com melhor resultado com uma concentração de 1% de RAMEB. A remoção do óleo do transformador no solo foi de aproximadamente 99% após as 47 semanas da biorremediação *in situ*.

A tecnologia de biorremediação melhorada por ciclodextrina foi avaliada e validada, além de ter sido aplicada como um aditivo na biorremediação de solos contaminados por óleo de transformador em diferentes experiências, do laboratório à escala de campo. A ciclodextrina é um composto biogênico, atóxico e lentamente biodegradável no solo e o risco ambiental associado ao seu uso é mais baixo do que aquele associado geralmente ao uso de surfactantes ou de solventes sintéticos, de acordo com Molnár et al. (2005).

Estudos de biorremediação aeróbia *in situ* na Finlândia, demonstraram que 27% dos hidrocarbonetos foram biodegradados por microrganismos endógenos, sendo que a temperatura média era de 8°C nos três meses de experimento, segundo Dua et al. (2004).

Hollender et al. (2003) demonstraram em seus estudos que o consumo de oxigênio e dióxido de carbono são dois parâmetros informativos que mostram a atividade de respiração microbiana. Amostras de solo foram coletadas de uma antiga planta de gás da Alemanha, cuja contaminação consistia em hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (BTEX, indano, indeno, bifenilas e policíclicos aromáticos) e heterocíclicos aromáticos (benzofurano e benzotiofeno). Foi utilizado um

respirômetro Micro-Oxymax, cuja produção de CO<sub>2</sub> e consumo de O<sub>2</sub> eram registrados automaticamente em intervalos regulares de tempo. Aos microambientes foram adicionados 50 g de solo seco e após 24 h foram adicionados também 1 ml de solução contendo 0.4 g de glucose e/ou 30mg de NH<sub>4</sub>Cl. O ensaio durou 150 h e foi realizado em triplicata, cujo resultado demonstrou um consumo de O<sub>2</sub> que variou entre 112 µmol/100g e 1378 µmol/100g. Os maiores consumos de O<sub>2</sub> indicaram a degradação de 95 % BTEX.

Pleshakova, Muratova e Turkovskaya (2001) citaram que a mais completa degradação de substratos complexos, incluindo o óleo mineral, é executada pelas associações microbianas que contém sistemas enzimáticos mais diversificados do que culturas puras. Em seus estudos Pleshakov, Muratova e Turkovskaya (2001) examinaram as propriedades da espécie *Acinetobacter calcoaceticus* TM-31 isoladas da associação microbiana de uma planta piloto de purificação de água, e localizaram os determinantes genéticos que controlam o biodegradação dos hidrocarbonetos atuais no óleo mineral tipo I-20 (30% de alcanos). Foi verificado que os plasmídios participam na degradação dos hidrocarbonetos, alcanos de cadeia pequena, arenos e outros xenobióticos. Para o estudo de biodegradação do óleo mineral, foram utilizados meios de cultura M9, na forma líquida, contendo 0.4 g/l de óleo como a única fonte do carbono e de energia que foram adicionados em um misturador com aeração a 160rpm e 28°C por um período de 1 a 14 dias. A biodegradação dos alcanos e dos compostos contendo o radical alquil foi avaliada por espectrometria de infravermelho, cromatografia gasosa e espectrometria de ultravioleta. Depois de 14 dias foi verificado que 40% dos alcanos presentes no óleo mineral foram biodegradados. Verificou-se também que a espécie *Acinetobacter calcoaceticus* TM-31 não degradou os anéis aromáticos dos componentes presentes no óleo.

Rahman et al 2002 investigaram o efeito do biosurfactante ramnolipídio, a adição de nutrientes (NPK) e consórcio de bactérias com o objetivo de aumentar a fertilidade natural do solo contaminado e aumentar a biorremediação de lodo de fundo de tanque de óleo cru. O estudo utilizou amostras de solo estéril e não-estéril, 10 a 20% de lodo oleoso base solo, 4 mg ramnolipídio, 1,2 % de água base solo, consórcio de bactérias. O resultado mostrou que n-alcanos com nC8-nC11 foram degradados completamente, seguidos de nC12, nC21, nC22, nC31 e nC32, nC40 com percentuais de degradação de 100%, 83-98%, 80-85% e 57-73% respectivamente. Foi verificado que a adição de ramnolipídios, aumentou significativamente a taxa de biodegradação das frações de hidrocarbonetos pelo consórcio bacteriano e a adição de nutrientes.

Moran et al., 2000; Rahman et al 2002 descrevem o benefício da utilização dos biosurfactantes como fornecimento contínuo de surfactante biodegradável e atóxico, e com um baixo custo.

Entretanto Rahman et al 2002 informam que os surfactantes devem ser utilizados com cuidado, pois podem aumentar a mobilidade dos contaminantes do solo para água subterrânea, estendendo a área da contaminação.

Helenius e Simons (1975 apud VOLKERING, BREURE e RULKENS, 1998) lembram que os surfactantes podem ter efeitos tóxicos nas bactérias e podem ser causados disrupção celular da membrana celular e reações do surfactante com as proteínas

da célula. Em pH maior que 7 surfactantes catiônicos são mais tóxicos, já os aniônicos são mais tóxicos em pH mais baixos.

Christofi e Ivshina (2002) relataram que surfactantes não iônicos, como por exemplo, o Triton® X-100, podem inibir a biodegradação em concentrações acima da CMC.

### 3.11 Vantagens e desvantagens da biorremediação

Segundo Ward (2004) a remediação do vazamento de óleo na costa do Alaska causada pelo navio Exxon Valdez, na década de 1990, demonstrou o potencial de aplicação do processo de biorremediação em larga escala para limpar o solo e água contaminada. Algumas vantagens, que foram listadas pelo autor, vêm a seguir:

- São alternativas geralmente menos caras de remediação;
- Os processos são flexíveis e adaptáveis às condições ambientais variáveis e os microrganismos envolvidos podem degradar estruturas químicas sintéticas incomuns;
- Os processos são percebidos como sendo ambientalmente benignos, visto que a incineração e outros processos que utilizam energia são percebidos como mais poluentes;
- Os processos são implementados *in situ* e com os contaminantes diluídos e extensamente difundidos.

Vidali (2001) também citou algumas das vantagens da biorremediação:

- A biorremediação é um processo natural e aceitável para o tratamento de resíduo tal como o solo, no qual micróbios são capazes de degradar um grande número de contaminante e, como resultado do processo de biorremediação, são gerados CO<sub>2</sub>, água e material celular;
- A biorremediação pode frequentemente ser realizada no próprio local e sem a necessidade de transportar o resíduo para fora do local, o que poderia causar ameaças potenciais à saúde humana e ao ambiente durante o transporte;
- A biorremediação pode provar ser menos cara que outras tecnologias para descontaminar resíduos perigosos.

Já algumas das desvantagens são:

- Nem todos os compostos são suscetíveis à rápida e completa degradação;
- Em alguns casos, os produtos da biodegradação podem ser mais tóxicos que o composto original;
- Processos biológicos são muito específicos e dependem da população microbiana e fatores ambientais;
- O processo de biorremediação é mais lento que a escavação e a incineração.

Crocetti et al. (2005) mostram que é possível a biorremediação de solos contaminados com óleo diesel (moléculas acima de 20 carbonos), utilizando aeração *in situ* forçada.

Newell et al. 1995 descrevem que numa biorremediação *in situ* seu projeto deve levar em conta as limitações como a injeção necessária de nutrientes e aceptores de elétrons na zona contaminada. Estes fatores podem ser limitados por materiais de baixa permeabilidade, dificultando a transferência de massa.

#### **4. MÉTODOS E PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS**

A técnica utilizada consistiu em avaliar diferentes condições para aumentar a taxa de biodegradação do óleo. Assim, a técnica utilizada foi a análise respirométrica sob diferentes condições, ou seja, a avaliação da mineralização do óleo.

As condições analisadas em laboratório foram:

- Avaliação do processo de atenuação natural, diluindo-se diferentes proporções do solo contaminado com solo não contaminado;
- Avaliação do efeito da bioestimulação, ou seja, a adição de nutrientes para avaliar seu efeito na taxa de biorremediação;
- Foram testados surfactante e biosurfactante para verificar se com o aumento da disponibilização do contaminante se observam aumentos nas taxas de biorremediação.

##### **4.1 Sondagens e coleta de amostras de solo**

A sondagem e amostragem de solo foram realizadas no dia 24/06/06, em função das manchas de óleo presentes no solo, oriundas de um derramamento ocorrido em 2005, além do cheiro característico de óleo. Foi realizada uma sondagem a trado manual até a profundidade máxima de 0,3 m, e coletada uma amostra de 2 kg de solo contaminado de acordo com os procedimentos de coleta de amostras da COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (1998). Posteriormente, foi coletada outra amostra, na mesma profundidade, de solo não contaminado.

A localização das sondagens e profundidades de coleta das amostras de solo contaminado e solo não contaminado foi estabelecida baseada em indícios visuais de contaminação e odor de óleo que o solo apresentou. Coletas estas que foram realizadas por meio de um trado manual (Foto 2), sendo as alíquotas acondicionadas em frascos apropriados, refrigeradas a 4°C e encaminhadas em 29/06/06, ao laboratório CEIMIC – Análises Ambientais, para análise do teor de hidrocarbonetos, conforme método 8015c *NONHALOGENATED ORGANICS BY GAS CHROMATOGRAPHY* da U.S. *Environmental Protection Agency* (USEPA). Os resultados analíticos e a cadeia de custódia são apresentados no item 9. Anexos.



Foto 1. Mancha de óleo no solo.



Foto 2. Trado manual.

As alíquotas das amostras de solo não contaminado e solo contaminado foram coletadas e encaminhadas em 31/07/06 para o laboratório Central Analítica - USP, para a realização de análises do teor de C, N, e H.

A segunda etapa do trabalho foi realizada em novembro de 2006, para a qual foram coletados 2 kg de solo contaminado, no mesmo local referenciado anteriormente, cuja logística seguiu as etapas descritas na Figura 1. As alíquotas foram acondicionadas em frascos apropriados, refrigeradas a 4°C e encaminhadas em 11/11/06, ao laboratório INNOLAB DO BRASIL, para análise do teor de hidrocarbonetos, conforme método 8015c *NONHALOGENATED ORGANICS BY GAS CHROMATOGRAPHY* da *U.S. Environmental Protection Agency* (U.S.EPA). Os resultados analíticos e a cadeia de custódia são apresentados no item 9. Anexos.

As amostras coletadas nas duas etapas foram gerenciadas conforme Figura 12, a seguir:

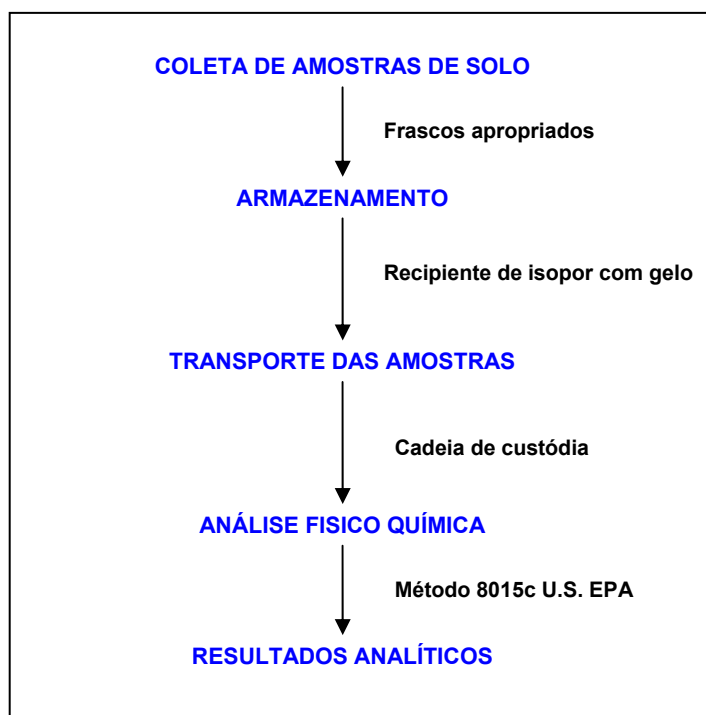


Figura 12. Logística do gerenciamento das amostras de solo.

## 4.2 Geologia

No local de coleta das amostras foi identificada, a partir das sondagens realizadas, a ocorrência predominante dos seguintes litotipos de solo:

- Até 0,3 m: aterro composto por silte arenoso com frações argilosas e fragmentos de entulho e pedras, coloração marrom avermelhado.
- 0,3 a 1,5 m: areia fina a média de matriz argilosa com mica, coloração avermelhada.
- Maior de 1,5 m: silte arenoso com mica de coloração roxa, amarela e cinza.

## 4.3 Ensaios laboratoriais

### 4.7.1 Ensaio de biodegradabilidade 1

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Biotecnologia do IPT no período de 29/06/2006 a 05/10/2006. Para tanto foram selecionados 12 frascos de vidro âmbar (microambiente de remediação), capacidade de 1 litro, previamente esterilizados a 1 atm, 121°C por 20 min, identificados, aos quais foram adicionados solos contaminados por óleo mineral naftênico e, como controle, foi utilizado o solo não contaminado. A massa de solo contaminado foi previamente homogeneizada manualmente com material inerte, por meia hora, para garantir a representatividade das amostras de cada microambiente de remediação.

Os controles estéreis foram obtidos, esterilizando-se as amostras de solo não contaminado e solo contaminado com a adição de  $\text{HgCl}_2$ , com concentração de 1%, em peso.

Aos microambientes de remediação (Figura 13) foram adicionados também, nutrientes na forma de  $\text{KNO}_3$  e  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , ambos de grau P.A., na proporção C:N:P = 100:10:1, para avaliar a bioestimulação. Estes nutrientes foram esterilizados a 1 atm,  $121^\circ\text{C}$  por 20 min em autoclave.

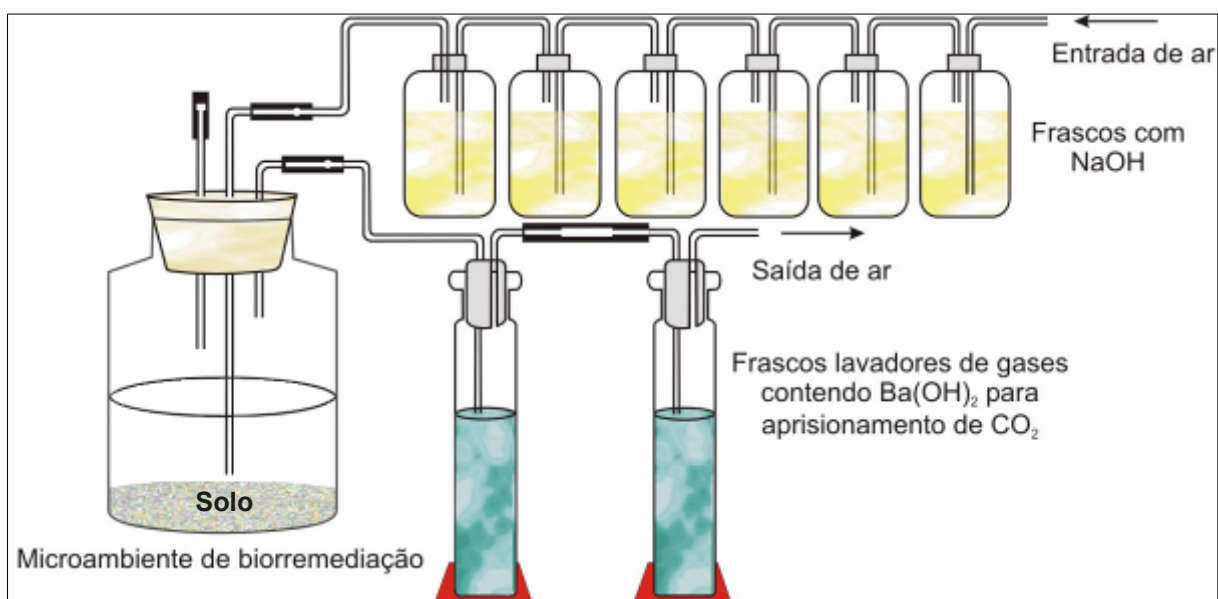


Figura 13. Esquema simplificado da montagem do reator ensaio pelo método respirométrico.

Fonte: Gomez et al. (2001) (adaptado).



Para cada um dos 12 frascos (microambiente de remediação) descritos na Tabela 4, foi fornecido ar atmosférico bombeado, isento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), após passagem por seis frascos, conectados em série, contendo 500 ml de NaOH 10 N. O CO<sub>2</sub>, oriundo de cada microambiente, foi absorvido em frascos lavadores de gases, contendo 100 ml de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,025 N. O Ba(OH)<sub>2</sub> residual, resultante da reação do CO<sub>2</sub> com o Ba(OH)<sub>2</sub>, foi titulado com solução de HCl 0,053 N, após adição do indicador fenolftaleína.

Tabela 4 - Descrição de cada microambiente de remediação do ensaio 1.

Conteúdo de cada microambiente de remediação	Frascos	Nutrientes	HgCl <sub>2</sub>	
200 g de SNC	F01			<b>Atenuação Natural</b>
150 g de SNC + 50 g de SC	F02			
100 g de SNC + 100 g de SC	F03			
50 g de SNC + 150 g de SC	F04			
200 g de SC	F05			
200 g de SNC	F06	X		<b>Bioestimulação</b>
150 g de SNC + 50 g de SC	F07	X		
100 g de SNC + 100 g de SC	F08	X		
50 g de SNC + 150 g de SC	F09	X		
200 g de SC	F10	X		
200 g de SC	F11		X	<b>Controle estéril</b>
200 g de SNC	F12		X	

Legenda: a letra X indica presença do item no microambiente de remediação.

O cálculo do CO<sub>2</sub> total absorvido em um determinado período de tempo foi calculado pela equação a seguir:

$$\text{massa de CO}_2 \text{ (mg)} = (\text{Volume de HCl}_{(1)} - \text{Volume HCl}_{(2)}) \times f_{\text{HCl}}$$

Sendo:

**Volume de HCl<sub>(1)</sub>** – volume da solução de HCl 0,053 N necessário para titular a solução de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,025 N contida nos frascos lavadores de gases no início do período.

**Volume de HCl<sub>(2)</sub>** – volume da solução de HCl 0,053 N para titular a solução de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,025 N após decorrido o período de absorção.

**f<sub>HCl</sub>**: fator igual a 1,1

A biodegradação acumulada, medida em miligramas, é calculada somando-se todas as massas de CO<sub>2</sub> (mg), observadas em cada um dos períodos de tempo analisados.



Foto 3. Microambiente de remediação nº 1 e frasco contendo solução de  $\text{BA}(\text{OH}_2)$ .



Foto 4. Frascos contendo solução de  $\text{NaOH}$  10 N.



Foto 5. Frascos contendo solução de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  sendo borbulhado por ar.



Foto 6. Determinação titulométrica do  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  residual.

#### 4.7.2 Ensaio de biodegradabilidade 2

Como os resultados do ensaio de biodegradabilidade 1 descritos no item 5.1 *Resultados ensaio de biodegradabilidade 1* demonstraram que os frascos com maior massa de solo contaminado, partiu-se para o ensaio de biodegradabilidade 2 descrito a seguir. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Biotecnologia do

IPT no período de 24/11/2006 a 11/07/2007. Em alguns frascos foram utilizados os surfactantes Triton® X-100 (sintético) e ramnolipídio, biosurfactante produzido pela espécie de bactéria *Pseudomonas spp.* conforme pode ser visto na Tabela 3.

O surfactante Triton® X-100 ( $C_8H_{17}C_6H_4O(CH_2CH_2O)_{9.5}H$ ) é uma substância não iônica que tem óxido de polietileno hidrofílico e um hidrocarboneto lipofílico ou grupo hidrofóbico.

Os ensaios da 2ª fase foram realizados em 7 frascos de vidro âmbar (microambiente de remediação), capacidade de 1 litro, previamente esterilizados a 1 atm, 121°C por 20 min, identificados, aos quais foram adicionados solos contaminados por óleo mineral naftênico. A massa de solo foi previamente homogeneizada manualmente com material inerte, por meia hora, para garantir a representatividade das amostras de cada microambiente de remediação.

Os controles estéreis foram obtidos, esterilizando-se as amostras de solo não contaminado e solo contaminado com a adição de  $HgCl_2$ , com concentração de 1%, em peso.

Aos microambientes de remediação (Figura 13), foram adicionados nutrientes na forma de  $KNO_3$  e  $K_2HPO_4$ , ambos de grau P.A., na proporção C:N:P = 100:10:1, para avaliar a bioestimulação. Estes nutrientes foram esterilizados a 1 atm, 121°C por 20 min em autoclave.

Tabela 5 - Descrição de cada microambiente de remediação do ensaio 2.

Frascos	Conteúdo de cada microambiente de remediação	Massa de solo por frasco	Nutrientes	$HgCl_2$	
F01	100 g de SC+ H <sub>2</sub> O	100 g	X		<b>Bioestimulação</b>
F02	100 g de SC + 0,3% Triton® X-100	100 g	X		
F03	100 g de SC + 0,3% Raminolipídio	100 g	X		
F04	100 g de SC + H <sub>2</sub> O	100 g			<b>Atenuação natural</b>
F05	100 g de SC + 0,3% Triton® X-100	100 g			
F06	100 g de SC + 0,3% Raminolipídio	100 g			
F07	100 g de SC + $HgCl_2$	100 g		X	<b>Controle estéril</b>

Legenda: a letra X indica presença do item no microambiente de remediação.

Para cada um dos 7 frascos (microambiente de remediação), foi fornecido ar atmosférico bombeado, isento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), após passagem por seis frascos, conectados em série, contendo 500 ml de NaOH 10 N. O CO<sub>2</sub>, oriundo de cada microambiente, foi absorvido em frascos lavadores de gases, contendo 100 ml de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,025 N. O Ba(OH)<sub>2</sub> residual, resultante da reação do CO<sub>2</sub> com o Ba(OH)<sub>2</sub>, foi titulado com solução de HCl 0,053 N, após adição do indicador fenolftaleína. O cálculo do CO<sub>2</sub> total absorvido em um determinado período de tempo foi calculado pela equação a seguir:

$$\text{massa de CO}_2 \text{ (mg)} = (\text{Volume de HCl}_{(1)} - \text{Volume HCl}_{(2)}) \times f_{\text{HCl}}$$

Sendo:

**Volume de HCl<sub>(1)</sub>** – volume da solução de HCl 0,053 N necessário para titular a solução de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,025 N contida nos frascos lavadores de gases no início do período.

**Volume de HCl<sub>(2)</sub>** – volume da solução de HCl 0,053 N para titular a solução de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,025 N após decorrido o período de absorção.

**f<sub>HCl</sub>**: fator igual a 1,1

A biodegradação acumulada, medida em miligramas, é calculada somando-se todas as massas de CO<sub>2</sub> (mg), observadas em cada um dos períodos de tempo analisados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Resultados Ensaio de biodegradabilidade 1

Na Tabela 6 são apresentados os resultados da concentração de CO<sub>2</sub> evoluído de cada microambiente de remediação do ensaio 1.

Tabela 6 - Resultados da concentração de CO<sub>2</sub> evoluído de cada microambiente de remediação do ensaio 1.

Data	Tempo (dias)	Atenuação Natural					Bioestimulação					Controle estéril	
		mCO <sub>2</sub> (F01)	mCO <sub>2</sub> (F02)	mCO <sub>2</sub> (F03)	mCO <sub>2</sub> (F04)	mCO <sub>2</sub> (F05)	mCO <sub>2</sub> (F06)	mCO <sub>2</sub> (F07)	mCO <sub>2</sub> (F08)	mCO <sub>2</sub> (F09)	mCO <sub>2</sub> (F10)	mCO <sub>2</sub> (F11)	mCO <sub>2</sub> (F12)
30/jun	1	0,0	0,0	0,0	0,9	1,3	0,0	1,4	1,1	2,2	1,2	0,9	0,0
4/jul	4	0,0	0,4	0,9	2,3	4,0	1,3	3,1	3,1	5,5	3,7	2,4	2,5
6/jul	7	1,0	2,2	3,0	5,2	7,1	3,2	4,8	6,3	8,3	6,0	4,2	3,5
12/jul	13	1,3	3,7	5,8	7,8	9,7	4,2	6,1	9,5	11,0	8,5	6,1	5,0
21/jul	22	1,4	5,9	7,8	10,7	12,8	4,8	7,6	11,7	13,6	11,6	7,0	6,4
3/ago	35	2,0	7,4	10,3	13,6	15,4	5,1	8,7	13,4	15,8	14,2	7,6	7,4
12/set	75	4,0	10,8	14,9	16,8	15,5	5,1	9,7	15,6	19,8	15,7	7,7	6,9
5/out	98	4,0	12,1	16,9	18,5	20,0	5,7	9,8	17,4	21,8	17,9	9,0	7,0
<b>TOTAL mgCO<sub>2</sub> (acumulado)</b>		<b>4,0</b>	<b>12,1</b>	<b>16,9</b>	<b>18,5</b>	<b>20,0</b>	<b>5,7</b>	<b>9,8</b>	<b>17,4</b>	<b>21,8</b>	<b>17,9</b>	<b>9,0</b>	<b>7,0</b>

Os resultados demonstraram que houve maior evolução de CO<sub>2</sub> no frasco F09 (25% de SNC e 75 % SC) com nutrientes, inferindo portanto, que houve bioestimulação comparado com o F04 (25% de SNC e 75 % SC) sem nutrientes que apresentou a 2ª maior concentração de CO<sub>2</sub>.

São apresentados na Tabela 7, os resultados da análise elementar do solo realizada, 31/07/2006.

Tabela 7 - Resultados da análise elementar do solo.

Amostra	%C	%H	%N
1 - Solo contaminado	1,36	1,07	0,04
2 - Solo contaminado	1,45	1,15	0,13
3 - Solo não contaminado	0,41	1,87	0,1
4 - Solo não contaminado	0,35	1,99	0,04

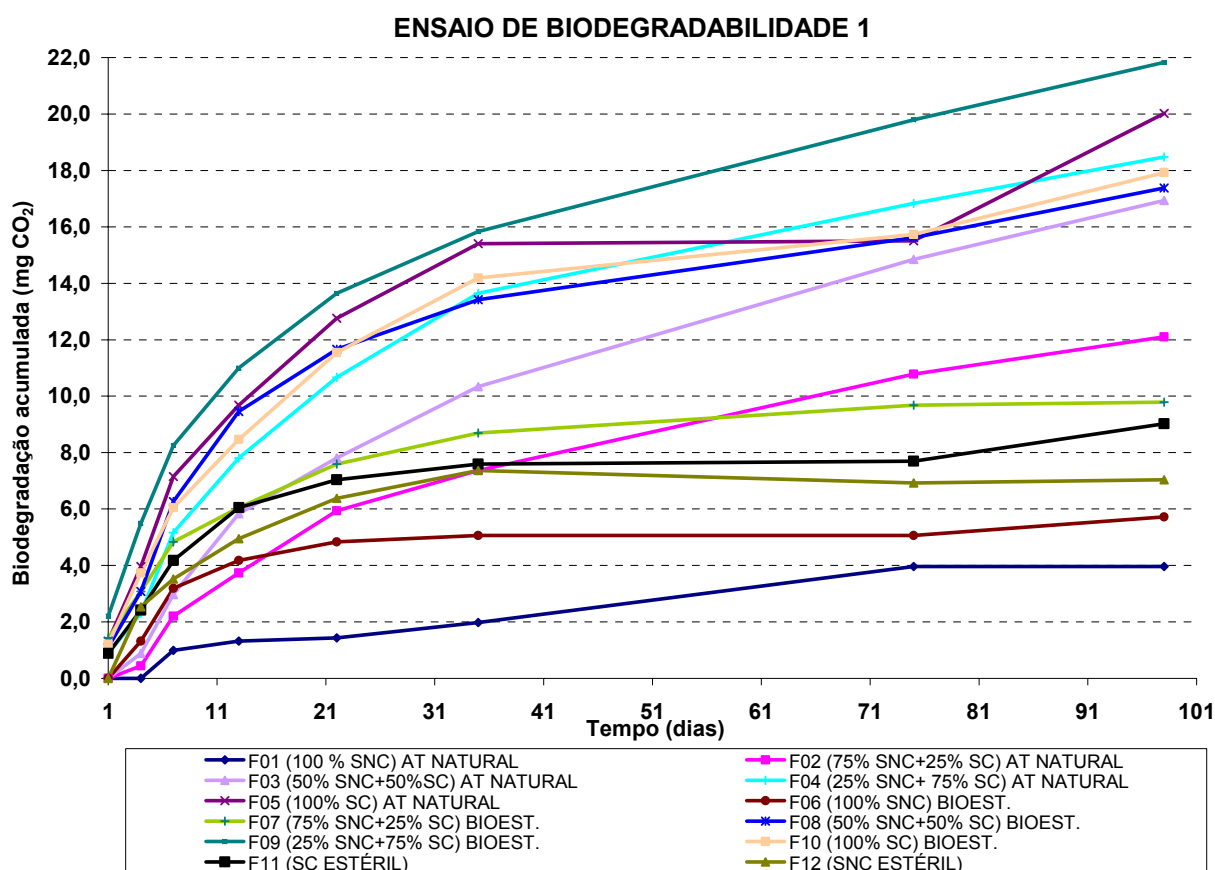


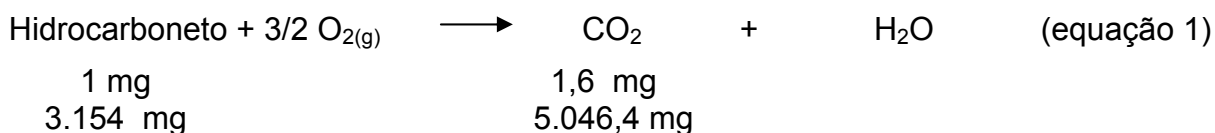
Figura 14. Gráfico com as concentrações acumuladas de CO<sub>2</sub> (mg) versus tempo (dias) – ensaio 1.

São apresentados na Tabela 8, os resultados da análise cromatográfica dos hidrocarbonetos presentes no solo, logo após a sua coleta em 11/11/2006.

Tabela 8 - Resultados da concentração de hidrocarbonetos de petróleo no solo.

<b>Amostra</b>	<b>Concentração (mg/kg)</b>
AS - 01 (faixa Diesel)	1.576
AS - 01 (faixa óleo lubrificante)	1.578
<b>TOTAL</b>	<b>3.154</b>

Tomando por base os dados do F09, onde houve maior evolução de 21,8 mg de CO<sub>2</sub>, temos que:



Analisando-se os dados da equação 1, supondo que 3.154 mg de hidrocarbonetos teoricamente fossem transformados em 5.046,4 mg de CO<sub>2</sub>, viu-se que 21,8 mg CO<sub>2</sub> evoluído equivale a 0,43 % da concentração teórica de CO<sub>2</sub>, o que é uma taxa muito baixa de mineralização do contaminante.

O objetivo do ensaio de biodegradabilidade 1 foi comprovar qual forma de degradação estava envolvida no processo, o que resultou na bioestimulação com nutrientes para as bactérias, que conseguiram degradar uma parte dos 3.154 mg/kg presentes de óleo, ou melhor 0,032% da massa de solo contaminada.

## 5.2 Resultados ensaio de biodegradabilidade 2

São apresentados na Tabela 9, os resultados da concentração de CO<sub>2</sub> evoluído de cada microambiente de remediação do ensaio 2.

Tabela 9 - Resultados da concentração de CO<sub>2</sub> evoluído de cada microambiente de remediação do ensaio 2.

Data	Tempo (dias)	mCO <sub>2</sub> (F01)	mCO <sub>2</sub> (F02)	mCO <sub>2</sub> (F03)	mCO <sub>2</sub> (F04)	mCO <sub>2</sub> (F05)	mCO <sub>2</sub> (F06)	mCO <sub>2</sub> (F07)
28/nov/06	4	1,1	4,6	4,7	4,6	3,6	0,0	2,1
8/dez/06	10	2,4	9,2	18,8	15,8	9,9	25,4	3,9
13/dez/06	15	5,6	15,8	30,7	22,8	17,6	39,3	6,5
30/jan/07	63	9,5	23,3	37,3	30,7	26,3	51,3	11,8
28/fev/07	92	13,6	30,9	46,0	38,5	34,2	62,3	17,3
4/abr/07	128	16,6	35,6	49,4	45,3	41,4	71,5	22,2
7/mai/07	161	18,3	39,7	51,7	50,2	47,1	78,5	25,1
24/mai/07	178	20,6	43,1	54,0	55,0	52,1	84,7	28,6
11/jul/07	226	21,7	46,2	55,6	59,0	56,2	89,8	31,1
<b>TOTAL mgCO<sub>2</sub> (acumulado)</b>		<b>21,7</b>	<b>46,2</b>	<b>55,6</b>	<b>59,0</b>	<b>56,2</b>	<b>89,8</b>	<b>31,1</b>

Os resultados demonstraram que houve maior evolução de CO<sub>2</sub> no frasco F06 com 0,3% ramnolipídio e ausência de nutrientes, sugerindo que houve atenuação natural.

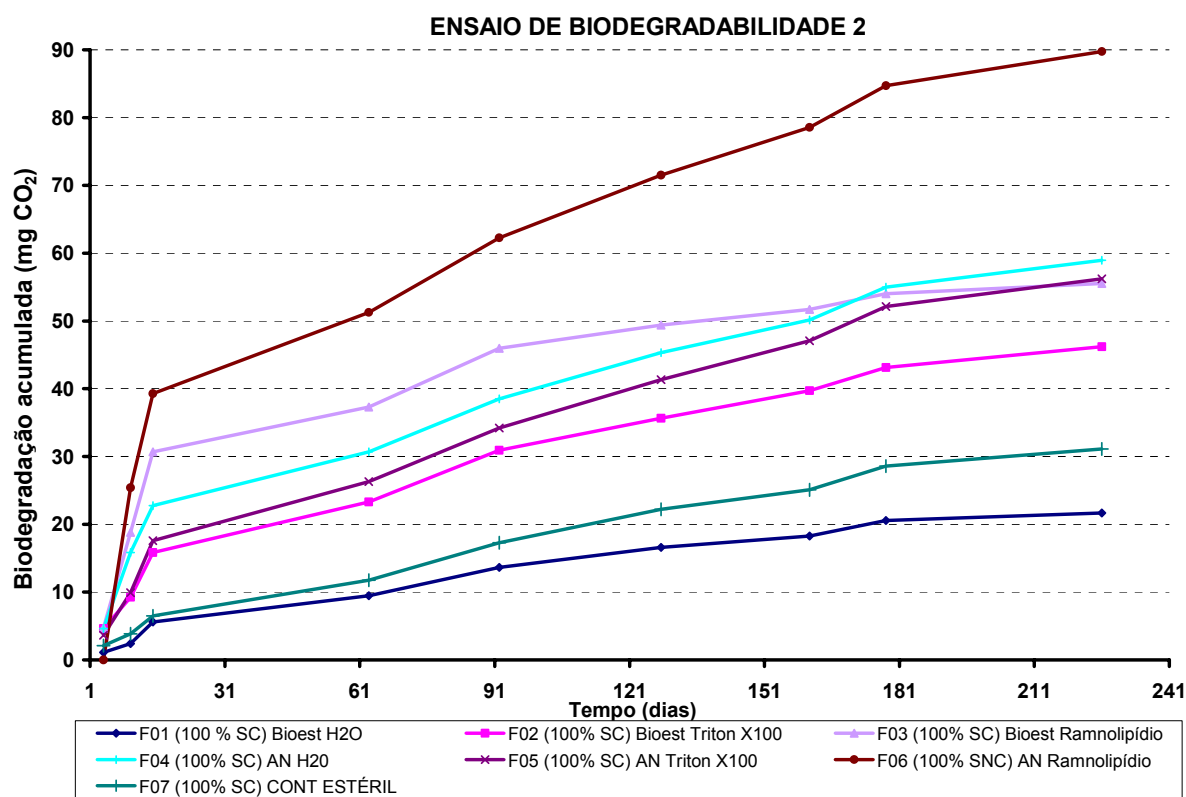


Figura 15. Gráfico com as concentrações acumuladas de CO<sub>2</sub> (mg) versus tempo (dias) – ensaio 2



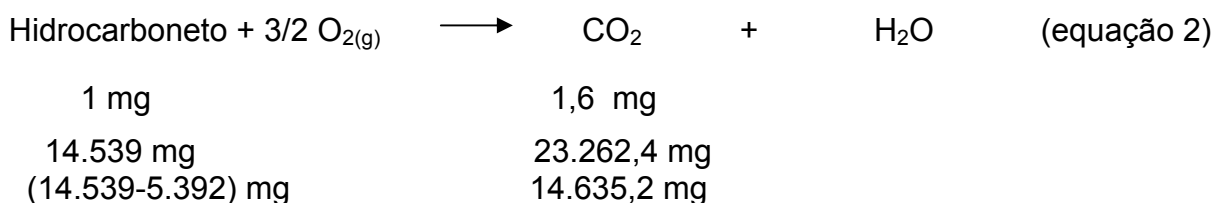
São apresentados na Tabela 10 os resultados da análise cromatográfica dos hidrocarbonetos presentes no solo, logo após a sua coleta em 28/09/2007 e após o término do ensaio de biodegradabilidade 2.

Tabela 10 - Resultados das análises de óleo no solo obtido

Amostra	Resultado do laudo nº 06/3685B <sup>1</sup>	Resultado do laudo nº 07/4011 <sup>2</sup>	% degradação
AS 02 (SC)	14.539 mg/kg de TPH		
AS 03 – F01	-	7.975 mg/kg de TPH	45,14 %
AS 04 – F04	-	5.392 mg/kg de TPH	62,91 %
AS 05 – F06	-	12.755 mg/kg de TPH	12,27 %

Os resultados sugerem que houve uma baixa mineralização, conforme exposto a seguir:

Tomando por base os dados do F04, onde houve maior degradação de TPH e evolução de 59 mg de CO<sub>2</sub>, temos que:



Analisando-se os dados da equação 2, supondo que 9.147 mg de hidrocarbonetos teoricamente fossem transformados em 14.635,2 mg de CO<sub>2</sub>, viu-se que 59 mg CO<sub>2</sub> equivale a 0,4 % da concentração teórica de CO<sub>2</sub>, o que é uma taxa muito baixa de mineralização do contaminante. Embora a taxa de degradação esteja diretamente relacionada à evolução de CO<sub>2</sub> pode ter havido a geração de compostos intermediários durante a biodegradação, sendo que estes não são mensuráveis pelo método analítico utilizado (*METHOD 8015C NONHALOGENATED ORGANICS BY GAS CHROMATOGRAPHY*), além disso, é sabido que os surfactantes podem ser biodegradados o que explica neste ensaio, a ocorrência de uma menor degradação quantificada em mg/kg de TPH e uma maior evolução de CO<sub>2</sub>. Outro fato que deve ser levado em conta é que na geração de composto intermediários, podem ter sido gerados compostos orgânicos voláteis que não foram avaliados no teste respirométrico.

<sup>1</sup> 08.12.2006

<sup>2</sup> 06.11.2007

Quanto a taxa de 62,91 % do contaminante verificado ao final do ensaio 2, no F06, a literatura mostra que a adição de surfactante ramnolipídio aumentou a taxa de degradação de hidrocarbonetos conforme verificado Rahman et al 2002, Molnár et al. (2002) e Riis et al. (2000). Neste caso sugere-se que houve menor degradação do óleo em função de aumento de toxicidade causado pelo biosurfactante, efeito relatado por Helenius e Simons (1975 apud VOLKERING, BREURE e RULKENS, 1998), Molnár et al. (2002), Molnár et al. (2005) e Benincasa et. al. 2004. Quanto a maior evolução de CO<sub>2</sub> no solo sugere-se que houve degradação de outros compostos intermediários do óleo, bem como degradação do biosurfactante, elevando a evolução de CO<sub>2</sub>. Este fato da biodegradabilidade do biosurfactante foi verificado por Nitchke e Pastore (2002), Moran et al., 2000; Rahman et al (2002).

## 6. CONCLUSÃO

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT) para avaliar a utilização de técnicas de biorremediação para o tratamento de solos contaminados com óleo proveniente de equipamentos da rede elétrica. Foi avaliado o potencial de biorremediação, utilizando solo contaminado com a presença de bactérias autóctones para a biodegradação do óleo mineral isolante. Os fatores analisados em cada microambiente de remediação foram a adição de nutrientes, concentração de TPH (óleo) e adição de surfactante. Baseado nos resultados obtidos destas experiências empíricas, as seguintes conclusões podem ser tiradas:

1. A degradação de óleo mineral isolante de equipamentos elétricos, utilizando-se microrganismos autóctones presentes no solo contaminado avaliado é possível e vai de encontro com os resultados encontrados por Molnár et al. (2002), Molnár et al. (2005) e Benincasa 2007;
2. A maior taxa de evolução de CO<sub>2</sub> do ensaio de biodegradabilidade 1 foi obtida do frasco F09 (25 % de SNC, 75 % de SC e adição de nutrientes), comparado com o resultado do frasco F04 (25 % de SNC, 75 % de SC e sem a adição de nutrientes), indicando que não há uma diferença significativa ao utilizar nutrientes, ao contrário do verificado por Rahman et a. (2002), Gallego et al. (2001), Kalyuzhnyl (2001), Margesin, Zimmerbauer e Schinner (2000);
3. A maior taxa de evolução de CO<sub>2</sub> do ensaio de biodegradabilidade 2 foi obtida do frasco F06 (100 g de SC, 0,3% ramnolipídio e sem adição de nutrientes), comparado com o resultado do frasco F04 (100 g de SC + H<sub>2</sub>O), indicando que o processo foi controlado pela atenuação natural e não pela bioestimulação provavelmente por um efeito tóxico da concentração de nutrientes que pode ter sido um fator limitante.
4. A adição do surfactante Triton X100 no frasco F02 e ramnolipídio no frasco F03 comparado com o frasco F01, aumentou a evolução de CO<sub>2</sub> em 113% e 156%, respectivamente que vai de encontro com o que foi verificado por Benincasa (2007).
5. A adição de nutrientes no ensaio de biodegradabilidade 2 não aumentou o processo de biodegradação do contaminante que difere do estudo realizado por ao

contrário do verificado por Rahman et al. (2002), Gallego et al. (2001), Kalyuzhnyl (2001), Margesin, Zimmerbauer e Schinner (2000).

6. Em relação ao ensaio de biodegradabilidade 2 cuja taxa de biodegradação foi de 62,91 % com uma evolução de 59 mg CO<sub>2</sub> no frasco F04, não quer dizer que houve a mineralização de 62,91%. Esta concentração de CO<sub>2</sub> evoluída e de cerca de 0,82 mg CO<sub>2</sub> por grama de solo o que difere dos resultados encontrados por Benincasa (2007). Inferi-se que pode ter havido a biotransformação do contaminante para ou subprodutos intermediários ou a volatilização de alguns de subprodutos como informado por Balba, Al-Awadhi, Al-Daher (1998) não são medidos pelo método respirométrico.

7. Surfactantes podem ser utilizados para aumentar a biodisponibilidade do contaminante e acelerar a mineralização do óleo em condições aeróbias. Foi verificado que a mineralização do óleo, mais carbono orgânico do microambiente de remediação ocorreram equivaleram a 0,4 % do que deveria ocorrer, portanto a tecnologia de biorremediação aeróbia não foi efetiva na mineralização do contaminante.

## 7. RECOMENDAÇÃO

Devem ser realizados ensaios mais detalhados de biodegradabilidade utilizando o método respirométrico, com o teste de outros biosurfactantes, monitorando os parâmetros de temperatura, concentração de nutrientes, concentração do contaminante, número de UFCs, tensão superficial e avaliação de compostos orgânicos voláteis, para uma melhor compreensão do mecanismo de biorremediação. Pode-se ser utilizada também a bioamplificação para verificar impacto na mineralização do óleo mineral. Além disso, os compostos intermediários gerados no processo devem ser analisados para se estudar a via de degradação do contaminante, em detalhes.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBIENTE BRASIL S/S LTDA. **Consulta geral a homepage oficial**. Disponível em: <<http://www.ambientebrasil.com.br>>. Acesso em: 17 fev. 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE DISTRIBUIDORES DE ENERGIA ELÉTRICA - ABRADDEE. **Consulta geral a homepage oficial**. Disponível em: <<http://www.abradee.org.br/>>. Acesso em: 18 jan. 2007.

BENINCASA, M. Rhamnolipid Produced from Agroindustrial Wastes Enhances Hydrocarbon Biodegradation in Contaminated Soil. **Current Microbiology**, New York, v. 54, n.6, p.445–449, Apr. 2007.

BENINCASA, M. et. al. Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 82, n.1, p.1–8, Oct. 2004.

- BALBA, M.T., AL-AWADHI, N.; AL-DAHER, R. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. **Journal of Microbiological Methods**. Amsterdam, n. 32, p.155-164, Apr. 1998.
- BOSMA, T. N. P.; MIDDELDORP, P. J. M.; SCHRAA G.; ZEHNDER A. J. B. Mass Transfer Limitation of Biotransformation: Quantifying Bioavailability. **Environmental science & technology**, Easton, v.31, p.248-252, Aug. 1997.
- BELL et al. The genus *Rhodococcus*. **Journal of Applied Microbiology**. Oxford, n. 85, p.195-210, Mar. 1998
- CAMEOTRA, S. S.; MAKKAR, R. S.; BANAT, I. M. Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, V.53, n.5, p.495-508, May. 2000.
- CAMEOTRA, S. S.; BOLLAG, J-M. Biosurfactant-Enhanced Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Critical reviews in environmental science and technology**, Boca Raton, v.30, n.2, p.111–126, Apr. 2003.
- CHARLES, T. J.; WHITE, L. G, GREER, G. W. Polyphasic microbial community analysis of petroleum hydrocarbon-contaminated soils from two northern Canadian communities. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v.33, n.3, p241-249, 2000.
- CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I.B. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, n. 93, p.915–929, Aug. 2002
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL-CETESB. **Consulta geral a homepage oficial**. Disponível em: <<http://www.cetesb.gov.sp.br>>. Acesso em: 18 jan. 2007.
- CROCETTI C. et al. Aeration enhanced bioremediation of oil contaminated soils: a laboratory treatability study. **GZA GeoEnvironmental, Inc.** [S.l.]. Disponível em: <<http://www.bioremediationgroup.org/BioReferences/Tier1Papers/Aeration.htm>>. Acesso em: fev. 2005.
- DUA, A et al. Biotechnology and bioremediation: successes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 59, n. 2-3, p.143-152, Jul. 2002.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY-EPA. **Consulta geral a homepage oficial**. Disponível em: <<http://www.epa.gov>>. Acesso em: 31 out. 2007.
- EWEIS, H. B. et al. **Bioremediation Principles**. [s.l.] The MacGraw-Hill, 1998. 296p.
- FAVA, F.; GIOIA, D. D. Effects of Triton X-100 and Quillaya Saponin on the ex situ bioremediation of a chronically polychlorobiphenyl-contaminated soil. **Applied microbiology and biotechnology**. Berlin, v.50, n.5, p.623-630, Nov. 1998.
- FORTI, L.; SANTOS, L. C.; MATTOS, M. F. C. **Avaliação dos aspectos e impactos à saúde e ao meio ambiente relacionados à aplicação do óleo isolante elétrico de base mineral, sintética e vegetal**. 2005. 73p. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade São Marcos, São Paulo, 2005.

FRITSCH, W.; HOFRICHTER, M. Aerobic Degradation by Microorganisms. In: JOHN WILEY & SONS, INC. **Environmental Process II, Volume 11B, Biotechnology: A Multi-Volume Comprehensive Treatise**. 2. ed. New York : VCH, 2000. cap. 6, p.146-155.

GALLEGO, J. R. L.; LOREDO, J.; LLAMAS, J. F.; VÁZQUEZ, F & SÁNCHEZ, J. Bioremediation of diesel-contaminated soils: Evaluation of potential *in situ* techniques by study of bacterial degradation. **Biodegradation**, Dordrecht, n. 12, n.5, p. 325–335, Sept. 2001.

GIANFREDA, L.; RAO M. A. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v.35, n.4, p.339-354, Sept. 2004.

HOLLENDER, J.; ALTHOFF, K.; MUNDT, M.; DOTT, W. Assessing the microbial activity of soil samples, its nutrient limitation and toxic effects of contaminants using a simple respiration test. **Chemosphere**, Oxford, v.53, n.3, p.269-275, Oct. 2003.

J., IQBAL; METOSH-DICKEY, C.; PORTIER, R. J. Temperature effects on bioremediation of PAHs and PCP contaminated south Louisiana soils: A laboratory mesocosm study. **Journal of Soils and Sediments**, v.7, n.3, Jun. 2007.

IZZHEUROVA, V.V et al. Degradation of Mineral Oil with a Strain of *Acinetobacter calcoaceticus*. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 37, n. 4, p. 342–347, Jul. 2001.

KALYUZHNYL, S. V. Environmental biotechnology: a tandem of biocatalytic and engineering approaches. **Russian Chemical Bulletin**, New York, v. 50, n. 10, p. 1818-1825, Oct. 2001

LEAHY, J. G.; COLWELL, R. R. Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 54, n.3, p. 305-315, Sept.1990.

LUZ JÚNIOR, G. E.; GUIMARÃES NETO, J. M. ; MOITA JÚNIOR, J. M . AÇÃO ADSORVENTE DA BAUXITA SOBRE ÓLEO ISOLANTE NOVO. **Química Nova**, São Paulo, v.28, n. 3, p.535-538, jun. 2005.

MARGESIN, R.; ZIMMERBAUER, A.; SCHINNER, F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. **Chemosphere**, Oxford, v. 40, n.4, p.339-346, Feb. 2000.

MENDHAM, J, MA. et al. **VOGEL Análise Química Quantitativa**. 6.ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2002. 462p.

MILES, R. A.; DOUCETTE ,W. J. Assessing the aerobic biodegradability of 14 hydrocarbons in two soils using a simple microcosm/respirometric method. **Chemosphere**, Oxford, v. 45, n.6-7, p. 1085-1090, Nov. 2001.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Perfil nacional da gestão de substâncias químicas. Brasília jan. 2003, 273p. v.1 Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/sqa/prorisc/index.cfm?submenu=8>>. Acesso em: 31 fev. 2006.

MOLNÁR, M.; LEITGIB, L.; GRUIZ, K.; FENYVESI, É., SZANISZLÓ, N., SZEJTLI, J., FAVA, F. Enhanced biodegradation of transformer oil in soils with cyclodextrin—from the laboratory to the field. **Biodegradation**, Dordrecht, v.16, n.2, p.159–168, Mar. 2005.

MOLNÁR, M., FENYVESI, É., GRUIZ, K.; LEITGIB, L., BALOGH, G., MURÁNYI, A.; J.SZEJTLI. Effects of RAMEB on Bioremediation of Different Soils Contaminated with Hydrocarbons. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, Dordrecht, v. 44, n.1-4, p.447–452, Oct. 2002.

NEWELL, C. J; STEVEN D. A; RANDALL R. R. S. G. HULING Light Non aqueous Phase Liquids. . **Ground Water Issue**, Washington, DC, ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 28p, 1995,. (Publication Number EPA/540/S-95/500).

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. BIOSURFACTANTES: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.5, p.772-776, 2002.

NEWTON. ASPECTOS DE SAÚDE E SEGURANÇA DO ÓLEO NAFTÊNICO. **Nynäs Naphthenics AB**, Estocolmo, 42p, Jan. 2002.

NYNÄS NAPHTHENICS AB. ÓLEO BÁSICO MANUAL. **Nynäs Naphthenics AB**, 28p., Estocolmo. Disponível em: <[www.nynas.com/naphthenics](http://www.nynas.com/naphthenics)>. Acesso em: fev. 2006.

\_\_\_\_\_. Naphthenics Safety Data Sheet. [S.l.]: **Nynäs Naphthenics AB**. 9p. Jul. 2006.

PLESHAKOVA, E. V.; MURATOVA, A. YU.; TURKOVSKAYA, O. V. Degradation of Mineral Oil with a Strain of *Acinetobacter calcoaceticus*. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 37, n. 4, p. 342–347, July 2001.

RAHMAN, K.S.M. et al. **Bioremediation of Petroleum Sludge using Bacterial Consortium with Biosurfactant**. Environmental Bioremediation Technologies Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007. p. 391-408.

RAHMAN, K. S. M., RAHMAN T. J., MCCLEAN S., MARCHANT R., BANAT I. M. Rhamnolipid Biosurfactant Production by Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Using Low-Cost Raw Materials. **Biotechnology progress**, New York, v.18, n.6, p.1277-1281, Jul. 2002,

RIIS, V. et al. Influence of special surfactants on the microbial degradation of mineral oils. **Chemosphere**, Oxford, v.41, n.7, p.1001-1006, Oct. 2000.

RON, E. Z.; ROSENBERG, E. Biosurfactants and their roles in bioremediation. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.13, n.3, p.249-252, Jun. 2002.

ROSENBERG, E.; RON, E. Z. High- and low-molecular-mass microbial surfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.52, n.2, p.154-162, Feb.1999.

ROUVIÈRE, P. E., Chen M. W. Isolation of *Brachymonas petroleovorans* CHX, a novel cyclohexane-degrading  $\beta$ -proteobacterium. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 227, n.1, p. 101-106, Oct. 2004

SALMINEN, J. M. P. M. TUOMI, A-Mi SUORTTI. K. S. JØRGENSEN Potential for aerobic and anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in boreal subsurface. **Biodegradation**, Dordrecht, v.15, n.1, p.29-39, Feb. 2004.

SANTOS, E. B. Guia para elaboração de dissertação de mestrado. 2. ed. **São Paulo: IPT /CENATEC**, 2005. 32p.

SEMPLE, K. T.; MORRISS, A. W. J.; PATON, G. I. Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, n.4, p.809-818, Dec. 2003.

SLATER, J.H.; LOVATT, D. Microbial Degradation of Organic Compounds, **New York: Dekker**, p. 439– 485, 1993.

SLUIS M. K. et al. Molecular analysis of the soluble butane monooxygenase from *Pseudomonas butanovora*. **Microbiology**, New York, vol. 148, p. 3617-3629, 2002.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC. **Consulta geral a homepage oficial**. Disponível em: <<http://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/micela/>>. Acesso em: 31 jul. 2005

UNIVERSITY OF MIAMI COLLEGE OF ARTS AND SCIENCES. **Consulta geral a homepage oficial** Disponível em: <<http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/bil255.htm>>. Acesso em: 31 jul. 2006.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **METHOD 8015C NONHALOGENATED ORGANICS BY GAS CHROMATOGRAPHY**. Disponível em: <[http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/8\\_series.htm](http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/8_series.htm)>. Acesso em: 18 fev. 2008.

VOLKERING, F.; BREURE, A.M.; RULKENS, W.H. Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. **Biodegradation**, Dordrecht, v.8, n.6, p.401-417, Nov. 1997.

ZHOU, Q. e HUA. Bioremediation: A review of applications and problems to be resolved. **Progress in Natural Science**, v. 14, n. 11, p. 937-944, Nov. 2004.

ZHONGYUN, M; **Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil using indigenous cultures**. 1998. 111f. Faculty of Engineering & Applied Science, Memorial University of Newfoundland, St. John's, 1998.

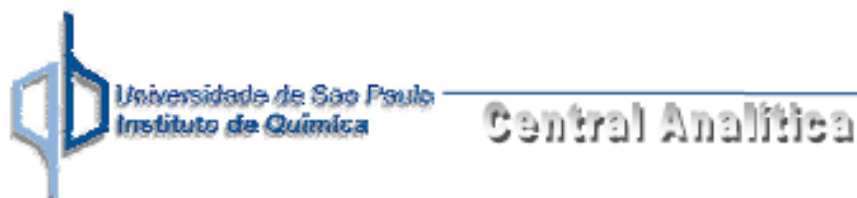
ZOLLER, U.; BROZE, G. **Handbook Of Detergents: properties**. New York: Marcel Dekker, 1999.

WARD, O. P. The industrial sustainability of bioremediation processes. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, Arlington, v. 31, n.1, p. 1-4, Jan. 2004.

WHYTE, L.G.; SCHULTZ, A.; BEILEN, J.B.; LUZ, A.P.; PELLIZARI, V., LABBÉ, D.; GREER, C.W. Prevalence of alkane monooxygenase genes in Arctic and Antarctic hydrocarbon-contaminated and pristine soils. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v.41, n.2, p.141-150, Aug. 2002.

## 9. ANEXOS

## Anexo A: Análise elementar solo contaminado

**Data: 31/07/06****Operadora: Adriana**

<b>Amostra</b>	<b>%C</b>	<b>%H</b>	<b>%N</b>
<b>Solo contaminado</b>	<b>1,36</b>	<b>1,07</b>	<b>0,04</b>
<b>Solo contaminado</b>	<b>1,45</b>	<b>1,15</b>	<b>0,13</b>



**Anexo B: Análise elementar solo não contaminado****Data: 31/07/06****Operadora: Adriana**

<b>Amostra</b>	<b>%C</b>	<b>%H</b>	<b>%N</b>
<b>Solo não contaminado</b>	<b>0,41</b>	<b>1,87</b>	<b>0,10</b>
<b>Solo não contaminado</b>	<b>0,35</b>	<b>1,99</b>	<b>0,04</b>

Anexo C: Cadeia de Custódia nº 0606063



**CADEIA DE CUSTÓDIA**  
(Chain of Custody)

A Cadeia de Custódia original vai para o Laboratório  
(Original Chain of Custody goes to Laboratory)

Páginas (Pages) até (of) 1

0606063

Empresa / Responsável pela coleta (Company / Sampler)		Nº do Projeto (Proj. #)		Nº Lab. (Lab. #)		Data (Date)		Hora (Time)		Identificação das Amostras (Sample Identification #)		Matriz das Amostras (Sample Matrix)		Número de Frascos (Number of Containers)		Análises (Analyses)									
CEIRA T. MARA VERELIND		01		01		13/06/06		13:00		AS01		Solo		01		TPH									
Requerido por (Assinatura) (Requested by - Signature)		Data/Hora (Date/Time)		Recebido por (Assinatura) (Received by - Signature)		Data/Hora (Date/Time)		Requerido por (Assinatura) (Requested by - Signature)		Data/Hora (Date/Time)		Recebido por (Assinatura) (Received by - Signature)		Data/Hora (Date/Time)		Análises (Analyses)									
<i>[Signature]</i>		23/06/06 13:00		<i>[Signature]</i>		23/06/06 13:15		<i>[Signature]</i>		23/06/06 13:15		<i>[Signature]</i>		23/06/06 13:15		Análises: NOME: CEIRA T. MARA VERELIND (Requested by) RA: 119169-8175 e-mail: CTVERELIND@SUZUKI.COM.BR cpl07									

R. Otacílio, 203 - São Paulo - SP Brasil CEP 05089-001 Tel./Fax: (11) 3832-2234

T= 40C

## Anexo D: VERIFICAÇÃO DE RECEBIMENTO DE AMOSTRAS Nº 0606063

"Qualidade Internacional  
Em São Paulo"



**VERIFICAÇÃO DE RECEBIMENTO DE AMOSTRAS**

Número do  
Projeto

**0606063**

Cliente

**CÉSAR THOMAZ**

Envio das Amostras:

Varig Log  
Cliente

Fedex  
Ceimic

Outros

	SIM	NÃO	COMENTÁRIOS
1. As amostras foram recebidas em caixas térmicas?	X		
2. A caixa térmica estava lacrada?		X	
3. Data da abertura da caixa térmica:	29/06/06		
4. Chain Of Custody (COC) estava presente?	X		
5. Temperatura da caixa térmica:	4	°C	
6. As amostras foram recebidas intactas (nenhum frasco quebrado)?	X		
7. Quantidade de amostra suficiente?	X		
8. Os frascos utilizados eram corretos para os parâmetros de análise?	X		
9. As amostras estavam preservadas corretamente?	X		
10. As amostras foram recebidas dentro do tempo de validade de análise?	X		
11. A identificação dos frascos coincidia com o COC?	X		
12. Frascos para compostos voláteis estavam isentos de bolhas de ar?	-	-	
13. O cliente foi comunicado?	X		

Comentários Adicionais:

Verificado por:

*M. F. Mendes*



**CEIMIC ANÁLISES AMBIENTAIS LTDA.**  
**"Química Analítica no Gerenciamento Ambiental"**

**TOTAL PETROLEUM HYDROCARBONS (TPH) by Modified Method 8015B**

METHOD BLANK

Client : **CESAR THOMAZ VERECHIA**  
 Project# : -  
 Project Name : IPT  
 Ceimic ID : 0606063

Blank ID : FP0629-B1  
 Date Extracted : 06/29/2006  
 Date Analyzed : 06/29/2006  
 Matrix : soil  
 %Solids : 100

Conc. Units : mg/Kg (ppm)

Target analyte	Sample Concentration	Quantitation Limit
C08-C11 (Gasoline range)	ND	2
C11-C14 (Kerosene range)	ND	2
C14-C20 (Diesel range)	ND	4
C20-C30 (Lubricant oil range)	ND	4

ND= Not Detected

The TPH detected in the sample matches: Not Applicable

The sample was screened for the following products:

Gasoline	JP-4 Jet Fuel	Fuel Oil #2	Lubricating Oil
Naphta	JP-5 Jet Fuel	Fuel Oil #4	Transmission Fluid
Mineral Spirits	JP-8 Jet Fuel	Fuel Oil #5	Hydraulic Jack Oil
Kerosene	Jet Fuel A	Fuel Oil #6	Bunker Oil
Creosote	Diesel Fuel	Mineral Oil	Motor Oil

Surrogate Compound	Surrogate Spike Recovery (%)	
	Recovery	QC Limits
n-Eicosane	90	48-118

Reported by: Paulo

Paulo C. Hokama  
 CRQ-IV 04203326

Approved by: Karen

Karen Hoster  
 CRQ-IV 04254827

**CEIMIC ANÁLISES AMBIENTAIS LTDA.**  
**"Química Analítica no Gerenciamento Ambiental"**

**TOTAL PETROLEUM HYDROCARBONS (TPH) by Modified Method 8015B**

**LABORATORY CONTROL SAMPLE**

Client : CESAR THOMAZ VERECHIA  
 Project# : -  
 Project Name : IPT  
 Ceimic ID : 0606063

Blank Spike ID : FP0629-LCS1  
 Date Extracted : 06/29/2006  
 Date Analyzed : 06/29/2006  
 Matrix : soil  
 %Solids : 100

Conc. Units : mg/Kg (ppm)

Target Analyte	Spike Added	Blank Spike Result	Blank Spike Recovery (%)	QC Limits(%)
Diesel Fuel	67	66	100	31-141

**Surrogate Spike Recovery (%)**

Surrogate Compound	Recovery	QC Limits
n-Eicosane	106	48-118

Reported by: pcst

Paulo C. Hokama  
 CRQ-IV 04203326

Approved by: KH

Karen Hoster  
 CRQ-IV 04254827



## Anexo G: Formulário RECEBIMENTO DE AMOSTRAS – INSPEÇÃO nº 06/3685



### RECEBIMENTO DE AMOSTRAS – INSPEÇÃO

Data: 14/11/2006  
 Projeto: IPT01  
 Cliente: Cesar Thomaz Verechia Protocolo: Lab nº.06/3685  
 Envio das amostras  Cliente  Transportadora Fox Cargo  Outros \_\_\_\_\_

1) Data da abertura da embalagem de transporte: 14/11/2006  
 Comentários: \_\_\_\_\_

2) As amostras foram recebidas em embalagem térmica? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

3) A embalagem térmica estava lacrada? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

4) Folha de Custódia de Amostras estava presente? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

5) Temperatura da caixa térmica: <4°C  
 Comentários: \_\_\_\_\_

6) As amostras foram recebidas intactas (nenhum frasco quebrado)? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

7) Quantidade de amostra suficiente? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

8) Os frascos utilizados são adequados para os parâmetros de análise? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

9) As amostras foram preservadas corretamente? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

10) As amostras foram recebidas dentro do tempo de validade da análise? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

11) A identidade dos fracos coincidiu com a FCC? (x) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

12) Frascos para VOC estavam isentos de bolhas de ar? ( ) Sim ( ) Não  
 Comentários: \_\_\_\_\_

13) O cliente foi comunicado de eventuais desvios? ( ) Sim (x) Não  
 Comentários: Sem não conformidades

Carlos Figueiredo  
 Nome do Funcionário

**Innolab do Brasil Ltda.**  
 Rua Sacadura Cabral, 236 – Saúde  
 Rio de Janeiro – Cep.20221-161  
 Tel.: (55 21) 2233-8302 / (55 21)2213-1042  
 Fax.: (55 21) 2233-4621

  
**CONFERIDO**



## Anexo H: Laudo analítico nº 06/3685B

Do grupo INNOLAB Certificado conforme  
ISO 17025



### Resultados

Pág. 1 de 2

Resp. Téc.: **Ana Maria Monsores**

Emitido em: **08.12.2006**

Lab-nº: **06/3685B**

#### Análise em amostras de solo

Cliente : Cesar Thomaz Verechia  
Localização do Projeto : Guarapiranga  
Data da Coleta : 05.11.2006  
Entrega das amostras : 14.11.2006  
Início dos ensaios/extração : 14.11.2006  
Término dos ensaios : 08.12.2006

INNOLAB do Brasil Ltda.  
Rua Sacadura Cabral - 236  
Saúde - Rio de Janeiro - RJ  
Cep. 20221-161  
CNPJ. 04.183.043/0001-00  
Tel. (21) 2233-8302  
Fax (21) 2233-4621

Projeto : IPT01  
Gerente do Projeto : Cesar Thomaz Verechia

Parâmetro	AS016	AS02	Branco (mg/kg)	L.D. (mg/kg)
<b>TPH Fingerprint</b>				
<b>Hidrocarbonetos alcanos</b>				
n-C11	nd	nd	nd	0,010
n-C12	0,960	2,190	nd	0,010
n-C13	nd	nd	nd	0,010
n-C14	nd	1,154	nd	0,010
n-C15	nd	nd	nd	0,010
n-C16	nd	1,713	nd	0,010
n-C17	2,698	24,738	nd	0,010
n-C18	1,903	7,920	nd	0,010
n-C19	nd	nd	nd	0,010
n-C20	nd	nd	nd	0,010
n-C21	0,886	nd	nd	0,010
n-C22	nd	nd	nd	0,010
n-C23	nd	nd	nd	0,010
n-C24	nd	nd	nd	0,010
n-C25	nd	nd	nd	0,010
n-C26	nd	nd	nd	0,010
n-C27	nd	nd	nd	0,010
n-C28	nd	nd	nd	0,010
n-C29	nd	nd	nd	0,010
n-C30	nd	nd	nd	0,010
n-C31	nd	0,957	nd	0,010
n-C32	nd	nd	nd	0,010
n-C33	nd	nd	nd	0,010
n-C34	nd	nd	nd	0,010
n-C35	nd	nd	nd	0,010
n-C36	nd	nd	nd	0,010
n-C37	nd	nd	nd	0,010
n-C38	nd	nd	nd	0,010
n-C39	nd	nd	nd	0,010

conferido

Do grupo INNOLAB Certificado conforme  
ISO 17025



DAP - PA - 1472.01



## Resultados

Pág. 2 de 2

Resp. Téc.: **Ana Maria Monsores**

Emitido em: **08.12.2006**

Lab-nº: **06/3685B**

Parâmetro	AS016	AS02	Branco (mg/kg)	L.D. (mg/kg)
TPH	1371	14539	nd	2
HRP	63	807	nd	2
MCNR	1308	13732	nd	2

### Padrões de Controle Analítico – (PCA)

Taxa de Recuperação (Faixa de Aceitação: 60-130%)  
(%)

PCA	95
-----	----


#### Notas:

TPH – Hidrocarbonetos Totais de Petróleo  
HRP – Hidrocarbonetos resolvidos do Petróleo  
MCNR – Mistura complexa não resolvida

#### Observações

1. Ref. Método – EPA 8015
2. L.D. – Limite de detecção reportado
3. na – Não analisado
4. nd – Não detectado
5. Os resultados contidos neste boletim referem-se exclusivamente às amostras nele descritas, que foram coletadas e enviadas pelo solicitante.

conferido

  
 José Antônio Pires de Mello  
 Diretor  
 B. Sc, Eng., Quím. e Quím. Industrial  
 CRQ – 03311142 CREA - 791006469

  
 Ana Maria Monsores  
 Química  
 CRQ 03416924



## Anexo J: Formulário RECEBIMENTO DE AMOSTRAS – INSPEÇÃO nº 07/4011



### RECEBIMENTO DE AMOSTRAS – INSPEÇÃO

Data: 29/09/07  
 Projeto: 01/IPT  
 Cliente: Cesar Thomaz Verechia Protocolo: Lab nº. 07/4011  
 Envio das amostras  Cliente  Transportadora TIMEX  Outros \_\_\_\_\_

1) Data da abertura da embalagem de transporte: <u>29/09/07</u> Comentários: _____
2) As amostras foram recebidas em embalagem térmica? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
3) A embalagem térmica estava lacrada? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
4) Folha de Custódia de Amostras estava presente? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
5) Temperatura da caixa térmica: <u>3°C</u> Comentários: _____
6) As amostras foram recebidas intactas (nenhum frasco quebrado)? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
7) Quantidade de amostra suficiente? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
8) Os frascos utilizados são adequados para os parâmetros de análise? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
9) As amostras foram preservadas corretamente? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
10) As amostras foram recebidas dentro do tempo de validade da análise? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
11) A identidade dos frascos coincidiu com a FCC? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
12) Frascos para VOC estavam isentos de bolhas de ar? (x) Sim ( ) Não Comentários: _____
13) O cliente foi comunicado de eventuais desvios? ( ) Sim (x) Não Comentários: <u>Sem não conformidades</u>

Fabio Padua *FABIO*  
 Nome do Funcionário

**Innolab do Brasil Ltda.**  
 Rua Sacadura Cabral, 236 – Saúde  
 Rio de Janeiro – Cep.20221-161  
 Tel.: (55 21) 2233-8302 / (55 21)2213-1042  
 Fax.: (55 21) 2233-4621

*[Assinatura]*  
**CONFERIDO**

## Anexo K: Laudo analítico 07/4011



## Resultados

Pág. 1 de 2

Resp. Téc.: Carina Casal

Emitido em: 06.11.2007

Lab-nº: 07/4011

## Análise em amostras de solo

Cliente : Cesar Thomaz Verechia  
 Localização do Projeto : Guarapiranga - São Paulo  
 Data da Coleta : 28.09.2007  
 Entrega das amostras : 29.09.2007  
 Início dos ensaios/extração : 01.10.2007  
 Término dos ensaios : 06.11.2007

INNOLAB do Brasil Ltda.  
 Rua Sacadura Cabral - 236  
 Saúde - Rio de Janeiro - RJ  
 Cep. 20221-161  
 CNPJ. 04.183.043/0001-00  
 Tel. (21) 3509-1750  
 Fax (21) 2233-4621

Projeto : 01/IPT  
 Gerente do Projeto : Cesar Thomaz Verechia

Parâmetro	AS03-F01	AS04-F04	AS05-F06	Branco (mg/kg)	L.D. (mg/kg)
<b>TPH Fingerprint</b>					
<b>Hidrocarbonetos alcanos</b>					
n-C11	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C12	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C13	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C14	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C15	0,686	0,355	1,082	nd	0,010
n-C16	0,553	nd	0,335	nd	0,010
n-C17	11,269	6,363	17,486	nd	0,010
n-C18	15,628	9,344	26,663	nd	0,010
n-C19	1,346	2,124	1,661	nd	0,010
n-C20	1,549	0,831	nd	nd	0,010
n-C21	nd	1,268	nd	nd	0,010
n-C22	nd	nd	0,259	nd	0,010
n-C23	1,473	nd	nd	nd	0,010
n-C24	0,266	nd	0,426	nd	0,010
n-C25	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C26	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C27	nd	nd	0,415	nd	0,010
n-C28	0,274	nd	0,295	nd	0,010
n-C29	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C30	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C31	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C32	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C33	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C34	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C35	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C36	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C37	nd	nd	nd	nd	0,010
n-C38	0,560	0,417	0,425	nd	0,010
n-C39	nd	nd	nd	nd	0,010

conferido



## Resultados

Pág. 2 de 2

Resp. Téc.: **Carina Casal**

Emitido em: **06.11.2007**

Lab-nº: **07/4011**

Parâmetro	AS03-F01	AS04-F04	AS05-F06	Branco (mg/kg)	L.D. (mg/kg)
TPH	7975	5392	12755	nd	2
HRP	483	281	771	nd	2
MCNR	7492	5111	11984	nd	2

### Padrões de Controle Analítico – (PCA)

Taxa de Recuperação (Faixa de Aceitação: 60-130%)  
(%)

PCA	71
-----	----

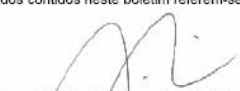
#### Notas:

TPH – Hidrocarbonetos Totais de Petróleo  
HRP – Hidrocarbonetos resolvidos do Petróleo  
MCNR – Mistura complexa não resolvida

#### Observações

1. Ref. Método – EPA 8015
2. L.D. – Limite de detecção reportado
3. na – Não analisado
4. nd – Não detectado
5. Os resultados contidos neste boletim referem-se exclusivamente às amostras nele descritas, que foram coletadas e enviadas pelo solicitante.

conferido

  
 José Antônio Pires de Mello  
 Diretor  
 B. Sc, Eng. Quím. e Quím. Industrial  
 CRO – 03311142 CREA - 791006469

  
 Carina Santos Casal  
 Chefe Laboratório  
 Químico  
 CRQ - 03418680

# 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](#)