

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ENGENHARIA

CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

WENDER MESSIATTO DA SILVA

**UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO
CONTAMINADO POR DERIVADOS DE PETRÓLEO**

Ilha Solteira

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ENGENHARIA

CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

WENDER MESSIATTO DA SILVA

**UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO
CONTAMINADO POR DERIVADOS DE PETRÓLEO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia – UNESP - Campus de Ilha Solteira, como um dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de conhecimento: Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais

Profa. Dra. Juliana Heloisa Pinê Américo Pinheiro

Orientadora

Prof. Dr. William Deodato Isique

Coorientador

Ilha Solteira

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S586u Silva, Wender Messiatto da.
Utilização de microrganismos na biorremediação de solo contaminado por derivados de petróleo / Wender Messiatto da Silva. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2018. 28 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia. Área de conhecimento: Recursos Hídricos, 2018

Orientador: Juliana Heloisa Pinê Américo Pinheiro

Co-orientador: William Deodato Isique

Inclui bibliografia

1. Leveduras. 2. Biorremediação. 3. Benzeno. 4. Tolueno. 5. Xileno.
6. Consórcio microbiano.


Sônia Mello Estrada de Souza
OSTENSIVEL
Bibliotecária
CRB 8-4740

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR DERIVADOS DE PETRÓLEO

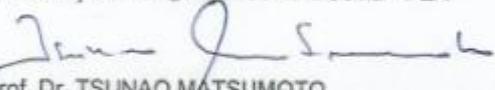
AUTOR: WENDER MESSIATTO DA SILVA

ORIENTADORA: JULIANA HELOISA PINE AMERICO PINHEIRO

COORIENTADOR: WILLIAM DEODATO ISIQUE

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA CIVIL, área: RECURSOS HIDRICOS E TECNOLOGIAS AMBIENTAIS pela Comissão Examinadora:


Prof. Dra. JULIANA HELOISA PINE AMERICO PINHEIRO
/ Fundação Educacional de Andradina - FEA


Prof. Dr. TSUNAO MATSUMOTO
Departamento de Engenharia Civil / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. LUIZ FERNANDO ROMANHOLO FERREIRA
Laboratório de Tratamento de Resíduos e Efluentes / Instituto de Tecnologia e Pesquisa

Ilha Solteira, 09 de abril de 2018

Dedico a Deus e a minha família incentivadora composta pelo meu pai Euclides e a minha mãe Terezinha que me possibilitaram mais essa conquista e aos meus irmãos Danilo e Guilherme, todos grandes exemplos de vida para mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Eterno Deus, o Altíssimo, Criador dos céus e da terra, por abençoar e fazer com que tudo cooperasse para o meu bem, a quem devo a obtenção do título de mestre e por ter colocado em meu caminho as pessoas aqui mencionadas e não mencionadas que oraram e acreditaram que esta etapa da minha vida se concluiria.

Aos meus pais Euclides e Terezinha por sempre terem sido presentes na minha vida, nos momentos bons e nos momentos difíceis foram meu porto seguro e aos meus irmãos Danilo e Guilherme pelos incentivos e ajudas das mais diversificadas formas. A minha avó Maria Rosa e a todos os meus tios e primos que acreditaram em mim e pediram a Deus em suas orações que me acrescentasse sabedoria para realizar as atividades da pós-graduação. Sem o apoio e carinho da minha família nenhuma das minhas conquistas seriam possíveis.

À minha namorada Márcia e aos meus amigos Aline, Claudemir, Deile, Jair, Gefferson, Rômulo, Larissa, Aparecida, Gustavo, Lucas, Gilberto, Edivã, Cléber, Rogério, Bruno, Suelen, Vera e Cecília por sempre dar palavras de ânimo e acreditarem em mim, mesmo em circunstâncias adversas.

Aos professores e funcionários da AEMS pelo bom convívio.

À minha orientadora Juliana H. P. Américo Pinheiro e ao coorientador William Deodato Isique por serem tão solícitos em me ajudar, sempre com muitos conselhos, sempre presentes durante as execuções dos ensaios e durante a escrita da dissertação. Eu estendo estes agradecimentos ao professor Tsunao pela recomendação do tema desta pesquisa e por ter dado dicas valiosas no decorrer do trabalho.

Eu agradeço a todos os professores do DEC em especial Lollo, Tsunao, Mauro, Sérgio de Mello, Milton, Libânio, Liliane, Marco, Dib, Luzenira, Segantini, Nascimento e César e aos do Campus 2, Maurício (do DEFERS) e Rafael (do DBZ).

Aos colegas e amigos Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, pelo convívio saudável e aprendizado compartilhado.

Aos funcionários do DEC e em especial ao José Carlos, pelas conversas amigáveis. Aos técnicos de laboratório ao Mário e Natália, pelo auxílio e apoio durante a execução dos ensaios.

Ao pessoal do Departamento de Física e Química, em especial ao Welton pelas análises do MEV e Danilo pelo ensaio DRX.

Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, demais membros do conselho e Seção Técnica de Pós-Graduação.

À empresa Legacy pelo fornecimento da base microbiológica utilizada na biorremediação.

Ao apoio financeiro da CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

A todos que colaboraram de forma, direta ou indiretamente, para que o objetivo da realização fosse alcançado, ainda que não citei aqui, meu muito obrigado!

RESUMO

Os impactos ambientais decorrentes de vazamentos em postos de combustíveis têm sido preocupantes para órgãos ambientais ao redor do mundo, sobretudo por deteriorarem a qualidade das águas subterrâneas utilizadas como fonte de abastecimento, sendo os compostos benzeno, tolueno e xilenos (BTX) os de maior preocupação à saúde pública. A biorremediação é uma técnica viável do ponto de vista econômico e ecológico quando se utiliza consórcio microbiano de bactérias e fungos aliado a solução de nutrientes. Este trabalho verificou os efeitos da biorremediação sobre microambientes formados em erlenmeyers contendo solo arenoso fino de textura arenosa fina, bastante comum no noroeste paulista, contaminado por soluções sintéticas de BTX por intermédio de consórcio de microrganismos (bactérias ácido lácticas, leveduras, bactérias fototróficas e actinomicetes). O desempenho de um consórcio de microrganismos foi verificado por meio de alterações de pH, teor de umidade, teor de carbono e pela de remoção de BTX do microambiente constituído de solo arenoso fino contaminado por solução sintética de BTX mediante a bioestimulação comparando-se os efeitos do ácido esteárico como surfactante. O uso de ácido esteárico como surfactante prejudicou o processo de biorremediação nos microambientes, com isso a remoção de BTX foi menor do que nos microambientes que não possuíam ácido esteárico. De acordo com resultados deste trabalho, um valor adequado para a aplicação da solução de microrganismos em campo é o de 0,02 mL de solução de microrganismos por cm³ de solo arenoso fino, pois ao se utilizar 6,25 mL de solução de microrganismos para 300 cm³ de solo arenoso fino no período de 7, 30 e 58 dias de experimento foi constatado resultados econômicos e relativamente eficientes no curto prazo.

Palavras-Chave: Leveduras. Biorremediação. Benzeno. Tolueno. Xileno. Consórcio microbiano.

ABSTRACT

The environmental impacts resulting to leaks at fuel stations has been worrying for environmental agencies around the world mainly for deteriorating the quality of the groundwater used as a water supply whereby the BTX compounds (benzene, toluene and xylene) the most worrisome public health. Bioremediation is a viable technique because the use of bacterial, fungal and yeast microbial consortia is economic and ecological associated with nutrient solutions. The effects of bioremediation verified through a consortium of microorganisms (lactic acid bacteria, yeasts, phototrophic bacteria and actinomycetes) on microenvironment in enlermeyers containing fine sandy texture lateritic soil, very common in São Paulo northwest region, contaminated by synthetic solutions of BTX. The performance of a consortium of microorganisms verified by pH changes, moisture content and organic carbon content of the microenvironments and the rate of BTX removal in fine sandy soil contaminated with BTX synthetics solutions by bioestimulation, comparing the effects of stearic acid as surfactant. The use of stearic acid as a surfactant impaired the bioremediation process in the microenvironments, thus the removal of BTX was lower than in microenvironments that did not possess stearic acid. According to the results of this work, a value of microorganisms per cm³ of microorganisms solution to the soil is 0.02 mL of microorganisms solution 300 cm³ of fine sandy soil in the period of 7, 30 and 58 days of experiment was confirmed and is useful in the short term.

Keywords: Yeasts. Biorremediation. Benzene. Toluene. Xylene. Microbial consortium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Processo de refino de petróleo.....	22
Figura 2	- Contaminação do lençol d'água por vazamento em tanque de combustível.....	26
Figura 3	- Escavação com surgimento do lençol freático e pluma de contaminação por derivado de petróleo.....	27
Figura 4a	- Contaminação do solo e da água subterrânea por um tanque enterrado com derramamento de combustível.....	29
Figura 4b	- Contaminação do solo e água subterrânea por derramamento de combustível em um tanque na superfície do solo.....	29
Figura 5a	- Comportamento da fase livre numa estação seca.....	30
Figura 5b	- Comportamento da fase livre e da fase residual numa estação de chuvas.....	31
Figura 6	- Formação de <i>blobs</i> de contaminantes nos poros.....	32
Figura 7	- Resposta típica à temperatura de bactérias mesofílicas que degradam contaminantes de petróleo.....	39
Figura 8	- Variação da atividade biológica com a mudança do pH dos solos.....	39
Figura 9	- Processo de biodegradação por meio do consórcio microbiano...	49
Figura 10	- Gráfico de ensaio de difração de raio-x de um solo arenoso fino oriundo de Ilha Solteira – SP.....	52
Figura 11	- Sequência de atividades dos ensaios de biorremediação.....	56
Figura 12	- Solo arenoso fino após compactação por agitação magnética no erlenmeyer mantendo-se um volume de 300 cm ³	57
Figura 13	- Curva granulométrica do solo arenoso fino utilizado nos ensaios de biorremediação.....	63
Figura 14	- Gráfico do ensaio de Casagrande para obtenção do limite de liquidez do solo arenoso fino.....	64
Figura 15	- Curva de compactação do solo arenoso fino pelo ensaio proctor normal.....	65

Figura 16	- Gráfico de difração de raio-x do solo arenoso fino utilizado nos microambientes.....	66
Figura 17	- Imagem obtida por microscopia eletrônica de varredura de um consórcio microbiano pertencente a um microambiente demonstrando desenvolvimento fúngico.....	67
Figura 18	- Teor de carbono para amostras esterilizadas e não esterilizadas num período de 15 dias de experimento.....	69
Figura 19	- Variação do pH no período de 8,16, 25 e 45 dias para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas.....	71
Figura 20	- Concentração de benzeno em 30 dias de experimento para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas.....	72
Figura 21	- Concentração de tolueno em 30 dias de experimento para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas.....	75
Figura 22	- Concentração de xileno em 30 dias de experimento para amostras esterilizadas e não esterilizadas.....	76
Figura 23	- Variação do pH para um período de 8, 16, 25 e 45 dias.....	78
Figura 24	- Concentração de benzeno, tolueno e xileno num período de 30 dias de acordo com diferentes quantidades de solução de microrganismos.....	80
Figura 25	- Comportamento do teor de umidade e do teor de carbono para 25 e 65 dias.....	83
Figura 26	- Concentração de benzeno a partir da aplicação de diferentes volumes de solução de microrganismos no período de 7 e 58 dias.....	86
Figura 27	- Concentração de tolueno a partir da aplicação de diferentes volumes de solução de microrganismos no período de 7 e 58 dias.....	88
Figura 28	- Remoção de xileno a partir da aplicação de diferentes volumes de solução de microrganismos no período de 7 e 58 dias.....	89
Figura 29	- Comparação entre o microambiente esterilizado e o não esterilizado para as concentrações de benzeno, tolueno e xileno em 7 e 58 dias para 1,5 mL de volume de solução de microrganismos.....	91

Figura 30	- A variação do teor de umidade das amostras esterilizadas e não esterilizadas no período de 7, 38 e 57 dias.....	93
Figura 31	- Concentração de benzeno em 14, 32 e 42 dia para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas.....	97
Figura 32	- Concentração de tolueno em 14, 32 e 42 dias para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas.....	99
Figura 33	- Concentração de xileno em 14, 32 e 42 dias para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas.....	101
Figura 34	- pH das amostras dos microambientes com ácido esteárico e sem ácido esteárico para 0, 5, 9, 16 e 24 dias.....	103
Figura 35	- Concentração de benzeno para amostras sem ácido esteárico e com ácido esteárico para um período de 5, 9, 16 e 24 dias.....	105
Figura 36	- Concentração de tolueno para amostras sem ácido esteárico e com ácido esteárico para um período de 5, 9, 16 e 24 dias.....	107
Figura 37	- Concentração de xileno para amostras sem ácido esteárico e com ácido esteárico para um período de 5, 9, 16 e 24 dias.....	108
Figura 38	- Perfil cromatográfico do benzeno, tolueno e xileno.....	127
Figura 39	- Curva analítica do benzeno.....	128
Figura 40	- Curva analítica do tolueno.....	128
Figura 41	- Curva analítica do xileno.....	129

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Características físico-químicas do benzeno, tolueno e xileno.....	24
Tabela 2	- Solubilidade e coeficiente de partição octanol-água (Log K _{ow}) de alguns derivados de petróleo.....	28
Tabela 3	- Valor máximo permitido para benzeno, tolueno e xileno em águas de abastecimento.....	34
Tabela 4	- Técnicas de remediação utilizados em áreas contaminadas por benzeno, tolueno e xileno.....	36
Tabela 5	- Elementos pertencentes a solução de nutrientes.....	55
Tabela 6	- Amostras para verificação do teor de carbono em 15 dias, pH em 8, 16, 25 e 45 dias e a variação da concentração de benzeno, tolueno e xileno aos 30 dias.....	68
Tabela 7	- Amostras para verificar o pH em 8, 16, 25 e 45 dias e concentração de benzeno, tolueno e xileno num período de 30 dias.....	77
Tabela 8	- Amostras para verificar o teor de umidade e o teor de carbono em 25 e 65 dias, e a concentração de benzeno, tolueno e xileno em 7 e 58 dias.....	82
Tabela 9	- Amostras para verificação do pH, teor de umidade e teor de carbono em 7, 38 e 59 dias e da concentração de benzeno, tolueno e xileno em 14, 32 e 42 dias.....	91
Tabela 10	- pH em 7, 38 e 59 dias para amostras esterilizadas e não esterilizadas.....	92
Tabela 11	- A variação do teor de carbono em 17, 38 e 57 dias.....	94
Tabela 12	- Amostras para verificar a diferença entre da concentração de benzeno, tolueno e xileno para amostras contendo ácido esteárico e amostras não contendo ácido esteárico.....	102
Tabela 13	- Dados da cromatografia líquida de alta eficiência.....	129

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AE	Amostras com ácido esteárico
ANP	Agência Nacional de Petróleo
BRP	Barreira reativa permeável
BTX	Benzeno, tolueno e xilenos
CAS	Número do composto químico de acordo com a American Chemical Society
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COV	Carbonos orgânicos voláteis
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
DNAPL	Líquidos não miscíveis mais densos que a água
DRX	Difração de raio-x
EM	Microrganismos eficazes
IP	Índice de plasticidade
K_{ow}	Coefficiente de partição octanol-água
LL	Limite de liquidez
LP	Limite de plasticidade
LNAPL	Líquidos não miscíveis menos densos que a água
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NBR	Norma Brasileira
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA-ACS	Puro para Análise de acordo com a American Chemical Society
SAE	Amostras sem ácido esteárico
VMP	Valor máximo permitido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVO.....	20
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3.1	DERIVADOS DE PETRÓLEO E SEUS IMPACTOS AO MEIO AMBIENTE	21
3.2	BIOCOMBUSTÍVEIS.....	32
3.3	IMPACTOS DO BENZENO, TOLUENO E XILENO AO SER HUMANO....	33
3.4	REMEDIAÇÃO DE SOLOS.....	35
3.4.1	Processos físico e químico.....	36
3.4.2	Processos de biorremediação.....	37
3.4.2.1	<i>Bioaugmentação.....</i>	43
3.4.2.2	<i>Bioestimulação.....</i>	44
3.4.2.3	<i>Bioventilação.....</i>	44
3.4.2.4	<i>Compostagem.....</i>	44
3.4.2.5	<i>Eletrobiorremediação.....</i>	45
3.4.2.6	<i>Fitorremediação.....</i>	45
3.5	BIODISPONIBILIDADE.....	46
3.6	SURFACTANTES E BIODISPONIBILIDADE NA BIORREMEDIAÇÃO.....	47
3.7	MICROORGANISMOS EFICAZES.....	49
3.8	ÍNDICES FÍSICOS E LIMITES DE CONSISTÊNCIA DE UM SOLO.....	48
3.9	TÉCNICA DE DIFRAÇÃO DE RAIO X.....	51
3.10	TEOR DE UMIDADE E TEOR DE CARBONO.....	51
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E MATERIAL UTILIZADO.....	53
4.2	SOLUÇÕES UTILIZADAS NOS MICROAMBIENTES PARA TESTES.....	53
4.2.1	Solução de óleo diesel para analisar remoção de benzeno tolueno e xileno.	53
4.2.2	Solução sintética de benzeno, tolueno e xileno.....	54
4.2.3	Solução de nutrientes.....	54
4.2.4	Solução de microrganismos.....	55
4.3	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA VERIFICAR A PRESENÇA DE MICROORGANISMOS.....	55
4.4	SOLO ARENOSO FINO.....	55
4.5	ENSAIOS DE BIORREMEDIAÇÃO.....	56
4.5.1	Ensaio 1.....	58
4.5.2	Ensaio 2.....	58
4.5.3	Ensaio 3.....	59
4.5.4	Ensaio 4.....	60
4.5.5	Ensaio 5.....	60
4.5.6	Ensaio 6.....	61
4.6	pH DOS MICROAMBIENTES.....	61

4.7	TEOR DE UMIDADE E TEOR DE CARBONO DO MICROAMBIENTES..	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	63
5.1	SOLO ARENOSO FINO.....	63
5.1.1	Índices físicos e limites de consistência de um solo.....	63
5.1.2	Caracterização mineralógica por difração de raio x.....	66
5.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA DETECÇÃO DE PRESENÇA DE MICRORGANISMOS.....	67
5.3	ENSAIOS DE BIORREMEDIAÇÃO.....	67
5.3.1	Ensaio 1.....	68
<i>5.3.1.1</i>	<i>Teor de carbono em 15 dias de experimento.....</i>	<i>69</i>
<i>5.3.1.2</i>	<i>pH em 8, 16, 25 e 45 dias de experimento.....</i>	<i>70</i>
<i>5.3.1.3</i>	<i>Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 30 dias de experimento.....</i>	<i>72</i>
5.3.2	Ensaio 2.....	77
<i>5.3.2.1</i>	<i>pH em 8, 16, 25 e 45 dias de experimento.....</i>	<i>78</i>
<i>5.3.2.2</i>	<i>Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 30 dias de experimento.....</i>	<i>79</i>
5.3.3	Ensaio 3.....	82
<i>5.3.3.1</i>	<i>Comportamento do teor de umidade e do teor de carbono em 25 e 65 dias....</i>	<i>83</i>
<i>5.3.3.2</i>	<i>Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 7 e 58 dias.....</i>	<i>84</i>
5.3.4	Ensaio 4.....	90
5.3.5	Ensaio 5.....	91
<i>5.3.5.1</i>	<i>pH em 7, 38 e 59 dias.....</i>	<i>92</i>
<i>5.3.5.2</i>	<i>Teor de umidade em 17, 38 e 57 dias.....</i>	<i>93</i>
<i>5.3.5.3</i>	<i>Teor de carbono em 17, 38 e 57 dias.....</i>	<i>94</i>
<i>5.3.5.4</i>	<i>Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 14, 32 e 42 dias.....</i>	<i>95</i>
5.3.6	Ensaio 6.....	102
<i>5.3.6.1</i>	<i>Solubilidade de benzeno, tolueno e xileno.....</i>	<i>102</i>
<i>5.3.6.2</i>	<i>pH em 0, 5, 9, 16 e 24 dias.....</i>	<i>103</i>
<i>5.3.6.3</i>	<i>Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 5, 9, 16 e 24 dias.....</i>	<i>104</i>
6	CONCLUSÕES.....	110
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	111
	REFERÊNCIAS.....	112
	APÊNDICE A - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	126

1 INTRODUÇÃO

O aumento da industrialização, da população e da urbanização provocou a vulnerabilidade natural dos aquíferos decorrente de má gestão das atividades antrópicas (UECHI et al., 2017). Conseqüentemente, a poluição ambiental é uma das maiores ameaças à flora e à fauna (PEIXOTO et al., 2011; VARJANI, 2017). Uma perturbação ambiental típica é a liberação de combustíveis fósseis em fontes de águas doces do planeta sendo uma grave ameaça à biosfera das águas subterrâneas, um dos habitats mais inexplorados do planeta (GRIEBLER et al., 2014).

O petróleo é um importante elemento utilizado como combustível em transportes e geração de energia, sendo assim o petróleo é uma fonte importante na demanda global de energia (FINOTTI et al., 2009; HAN et al., 2015; MNIF et al., 2017). Devido ao aumento do uso de derivados de petróleo, houve maior ocorrência de degradação do meio ambiente por meio de falhas em etapas de armazenamento, manuseio e destinação de produtos nocivos (PUGAS, 2015, FERNÁNDEZ et al., 2016). A qualidade de águas superficiais e subterrâneas foi prejudicada, bem como os recursos naturais e a saúde da população devido vazamentos de hidrocarbonetos de petróleo. A contaminação ambiental por hidrocarbonetos de petróleo causa preocupação a órgãos ambientais ao redor do mundo, pois alguns dos contaminantes são de difícil degradação e requerem sistemas de remediação, que na maioria das vezes, demandam tempo e altos investimentos para adequar a área contaminada ao nível exigido pela legislação (BRAGATO, 2006; LOURENÇO, 2006; PUGAS, 2015; VERHNJAK, 2015).

O benzeno, tolueno e xilenos (BTX) são compostos voláteis comumente constatados em derrames de petróleo (PINEDO et al., 2013). A contaminação química da água por BTX em pequenas quantidades acarreta em resistência a métodos de degradação biológica ou a não remoção efetiva por métodos de tratamento físico-químicos (NASCIMENTO et al., 2014).

Processos físico-químicos convencionais, além de altos custos operacionais, podem resultar em acumulação de resíduos perigos sem eliminar, destruir ou converter poluentes (MAZZEO et al., 2010; VARJANI; UPASANI, 2017). Portanto, a remediação por meio de microrganismos é viável do ponto de vista econômico e tem a vantagem de evitar a recontaminação de poluentes secundários que ocorrem durante processos de remediação físicos e químicos (CHENG et al., 2017; VARJANI; UPASANI, 2017).

A biorremediação é uma das tecnologias mais ecológicas utilizadas na atualidade (MARIANO et al., 2007; MEGHARAJ et al., 2011; FERNÁNDEZ et al., 2016). Em vários países da Europa, Estados Unidos e Canadá, entre outros países desenvolvidos, a técnica de

biorremediação têm sido amplamente utilizada, entretanto no Brasil a utilização da biorremediação ainda está no campo da teoria, porém existe probabilidade de expansão (ANDRADE et al., 2010).

A aplicação de surfactantes para aumentar a biodisponibilidade de poluentes orgânicos persistentes requer um planejamento cuidadoso e seleção com base na informação prévia sobre o destino e o comportamento do surfactante e do poluente alvo (MEGHARAJ et al., 2011). No entanto, a toxicidade dos surfactantes na biota do solo pode impedir a biodegradação de poluentes além de perturbar o equilíbrio das funções ecológicas (ROSAL et al., 2010). Durante o processo de biorremediação, a degradação de contaminantes sorvidos podem presumivelmente ocorrer por meio da dessorção por intermédio dos microrganismos pela produção de biosurfactantes com desenvolvimento da interface entre fase sólida e o contaminante (TANG et al., 1998).

Segundo Mohanty et al. (2013), a não degradabilidade por parte dos organismos vivos e a alta toxicidade relativa para microrganismos degradadores de hidrocarbonetos e ao ambiente limitam o uso de surfactantes. A toxicidade dos surfactantes é causada pela interação do surfactante com as moléculas de proteína essenciais para a função celular (VOLKERING et al., 1998). Este trabalho verificou a possibilidade do ácido esteárico, ácido graxo cuja fórmula química é $C_{18}H_{36}O_2$, sendo que ainda não há relatos na literatura do uso de ácido esteárico na biorremediação de solos contaminados por BTX.

Os surfactantes produzidos por microrganismos são denominados como biosurfactantes (KAVITHA et al., 2014). Os biosurfactantes, os quais possuem baixa toxicidade e biodegradabilidade favorável ao meio ambiente, podem ser considerados como melhores alternativas aos surfactantes químicos na melhoria da solubilidade, biodisponibilidade e biodegradação de hidrocarbonetos (MNIF et al., 2017).

Os microrganismos que podem produzir biosurfactantes e degradar hidrocarbonetos são *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *Rhodococcus* sp., *Bacillus* sp., *Acinetobacter* sp., *Ochrobactrum* sp., e *Exiguobacterium* (VARJANI, 2017). Os biosurfactantes são moléculas anfifílicas que podem estimular as taxas de dissolução ou dessorção, a solubilização ou mesmo emulsão de poluentes de hidrocarbonetos (KAVITHA et al., 2014).

De acordo com Varjani (2017) geralmente dois mecanismos que utilizam contaminantes de hidrocarbonetos hidrofóbicos de petróleo como substratos são considerados para ação das bactérias: (1) contato interfacial devido contato direto de hidrocarbonetos e células e (2) biosurfactante em contato com células e hidrocarbonetos emulsionados.

Segundo Varjani (2017) as espécies conhecidas da literatura capazes de degradar solos contaminados por monoarômáticos é *Rhodococcus* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Halassolituus* sp., *Aspergillus* sp., *Candida* sp., *Penicillium* sp., *Pseudozima* sp. *Acinetobacter* sp., *Archaeoglobus fulgidus*, *Aromatoleum aromaticum*, *Bacillus* sp., *Halomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp., e *Sphingobacterium* sp.

O termo *Efficient Microorganisms* (EM) foi uma tecnologia descoberta e desenvolvida pelo Dr. Teruo Higa da Universidade de Ryukus de Tóquio no Japão. Segundo Higa (2000) o produto EM-1[®] é formado por bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* e *Streptococcus lactis*), leveduras (*Saccharomyces* spp.), bactérias fototróficas (*Rhodospseudomonas plastris* e *Rhodobacter sphaeroides*) e actinomicetes (*Streptomyces* spp.). O produto EM-1[®] é constituído por microrganismos que não são geneticamente modificados, também não são patogênicos, nem quimicamente sintetizados e pode ser utilizado na agricultura, pecuária, avicultura, suinocultura, aquicultura, além disso, pode ser aplicado de várias formas na indústria, meio ambiente e na vida cotidiana das pessoas. O EM-1[®] não é tóxico, corrosivo, radioativo, volátil nem tem período de carência. Este trabalho estudou a possibilidade de uso do produto EM-1[®] na biorremediação de solo contaminado por BTX.

A eficiência do processo de biorremediação para solos contaminados por hidrocarbonetos pode ser aumentada utilizando a bioaugmentação e bioestimulação (FERNÁNDEZ et al., 2016). Este trabalho teve o interesse de verificar a remoção de BTX em microambientes (erlenmeyers) por meio de biorremediação de um solo arenoso fino contaminado por solução de diesel em água e soluções sintéticas de BTX (com presença ou ausência de surfactante) por meio de um consórcio microbiano aliado a adição de nutrientes. O solo de textura arenosa fina utilizado neste trabalho tem vasta presença no noroeste paulista, sendo que os efeitos da biorremediação de BTX por biota autóctone e consórcio microbiano dado pelo EM-1[®] no solo arenoso fino deste estudo ainda são desconhecidos na literatura. A utilização de microambientes para podem fornecer conhecimento da taxa de remoção de BTX, variação do pH, do teor de umidade e do teor de carbono com o passar do tempo podem fornecer embasamento para melhor alocação de recursos no campo.

2 OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi apresentar uma metodologia de avaliação da atuação de um consórcio de microrganismos na recuperação da qualidade de um solo arenoso fino contaminado por soluções sintéticas de BTX.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DERIVADOS DE PETRÓLEO E SEUS IMPACTOS AO MEIO AMBIENTE

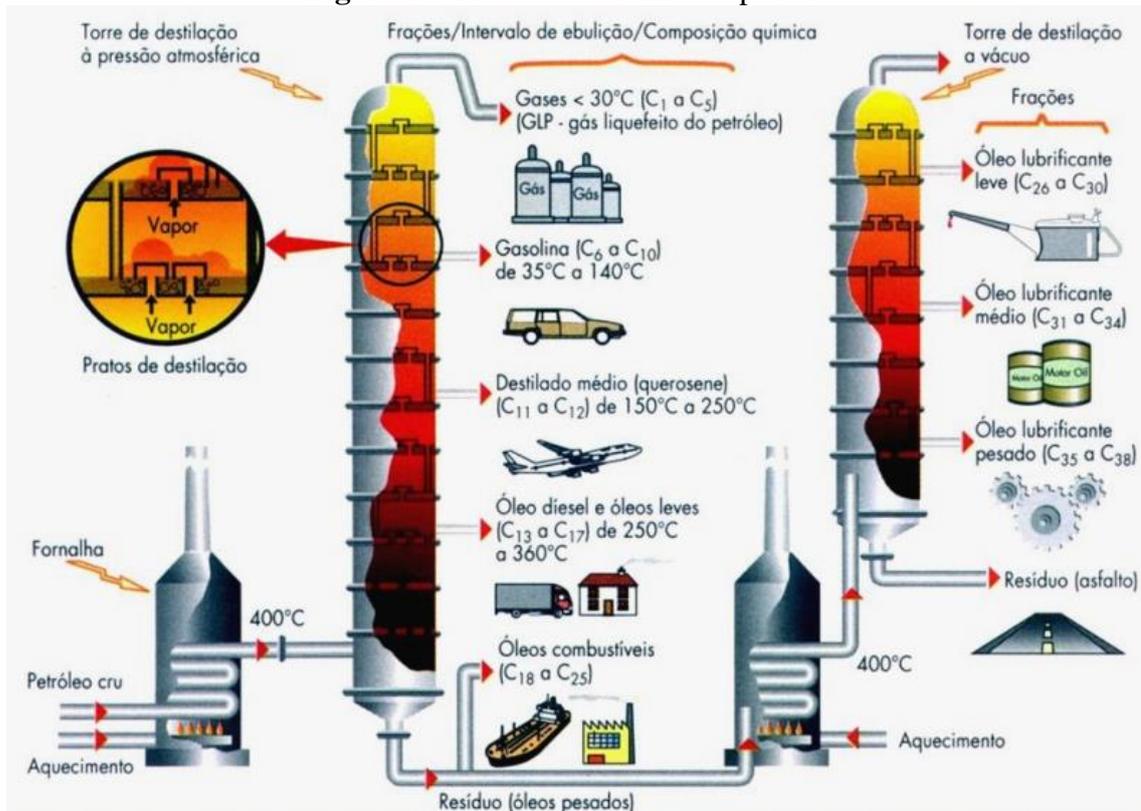
O petróleo bruto é um líquido natural, oleoso e inflamável que está presente particularmente sob a superfície terrestre (CHANDRA et al., 2013). Geralmente é marrom escuro ou preto, embora possa ser amarelado ou mesmo esverdeado (VARJANI; UPASANI, 2017). No estado bruto, o petróleo representa uma mistura de uma grande variedade (milhares) de substâncias orgânicas, principalmente hidrocarbonetos, com alguma mistura de compostos orgânicos contendo oxigênio, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e alguns metais incluindo alguns constituintes organometálicos, principalmente o complexo de vanádio e níquel (COSTA et al., 2012; CHANDRA et al., 2013; VARJANI et al., 2013; VARJANI et al., 2015).

O petróleo tem sido a principal fonte de combustível veicular (PUGAS, 2015). As etapas do ciclo de vida dos combustíveis de petróleo são extração do petróleo bruto, refino, transporte, distribuição e combustão (HAN et al., 2015).

Apesar dos avanços em energia gerados por tecnologias sustentáveis e renováveis, é previsto que os combustíveis fósseis continuem a ser a principal fonte de energia global num futuro próximo (YANG et al., 2017). Há preocupações ambientais claras relacionadas à exploração de novas reservas de petróleo, tanto no Brasil como em outros lugares, dado o cenário global de aumento da produção e demanda de petróleo (COSTA et al., 2012).

O óleo diesel, a gasolina automotiva e o querosene são obtidos por separação a partir da destilação fracionada do óleo cru, de acordo com o grau de volatilização, constituindo-se de uma mistura de hidrocarbonetos formado por diversos tipos de moléculas sobretudo por átomos de hidrogênio, carbono, oxigênio, nitrogênio e enxofre combinados de forma variável e alguns metais em baixas concentrações para atender especificações e regulamentações locais (PUGAS, 2015). Ao passar pelo refino com etapas vários subprodutos são gerados de acordo com as temperaturas envolvidas conforme pode ser visto na Figura 1.

Figura 1 – Processo de refino de petróleo



Fonte: Feltre (1995).

Das centenas de hidrocarbonetos pertencentes, a gasolina automotiva possui aproximadamente 14% de compostos cíclicos e aromáticos, 80% de parafinas e 6% de olefinas (VERHNJAK, 2015). A octanagem da gasolina é a capacidade de um combustível misturado com o ar de resistir a altas temperaturas na câmara de combustão sem sofrer detonações, mantendo a eficiência do motor. O Brasil, no ano de 1989, substituiu o antidetonante à base de chumbo por quantidades significativas de compostos aromáticos BTX que apresentam elevada octanagem (PUGAS, 2015).

O óleo diesel combustível é comumente utilizado em tráfegos rodoviário e ferroviário e muitas vezes resultam em derramamentos em solo e conseqüentemente ocorre contaminação de águas subterrâneas (JOUSSE et al., 2017). O diesel é uma mistura complexa de cerca de 40% de n-alcenos, 40% de cicloalcenos e cerca de 20% de hidrocarbonetos aromáticos (CHIA-HSIEN et al., 2011).

Qualquer substância indesejada introduzida no ambiente é referida como um contaminante (MEGHARAJ et al., 2011). Uma área contaminada, por definição, é onde existem concentrações de contaminação de maneira planejada, acidental ou natural, por substâncias ou resíduos depositados, acumulados, armazenados, enterrados ou infiltrados que causam danos à saúde humana, ao meio ambiente ou a outro bem (RODRIGUES, 2015).

Os contaminantes orgânicos derivados de petróleo são persistentes no solo, além de ter alta mobilidade, podem alterar a composição química do solo, água e outros componentes ecológicos (FENT, 2004). Por este motivo, estes contaminantes presentes no solo afetam as atividades microbianas do solo e todo o seu ecossistema (ALRUMMAN; PATON, 2015).

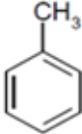
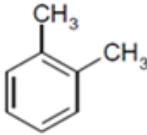
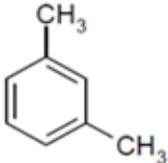
A poluição química tem implicações significativas para a segurança alimentar e causa impactos ecotoxicológicos em uma região irrigada por água contaminada com hidrocarbonetos de petróleo (FENT, 2004). A natureza química dos hidrocarbonetos de petróleo afeta a natureza e a função do solo comprometendo a atividade enzimática dos microrganismos (ALRUMMAN; PATON, 2015). A presença de hidrocarbonetos altera o ciclo de nutrientes (reduz a quantidade de nutrientes) no solo deixando-os inférteis sendo inadequados para o crescimento das plantas por aumentar a sua toxicidade (ZABBEY et al., 2017). Há evidências de que em virtude da bioacumulação de componentes tóxicos de hidrocarbonetos em raízes e em outros elementos agrícolas pode prejudicar a cadeia alimentar de um determinado local e com isso, a saúde humana é prejudicada por ser intoxicada após o consumo (FENT, 2004).

A contaminação de águas superficiais por hidrocarbonetos de petróleo compromete os ecossistemas aquáticos. Por este motivo, a pesca pode ser prejudicada, incorrendo em um prejuízo econômico-social, dado que a toxicidade sufoca os peixes e reduz a capacidade dos rios suportarem variedades de espécies de peixes (ZABBEY et al., 2017).

Dos compostos BTX, o benzeno é o mais preocupante pois adsorve fortemente ao solo, assim sendo a remoção fica dificultosa (BRAGATO, 2006). Por consequência, um aquífero contaminado por benzeno torna-o inutilizável para consumo humano (FINOTTI et al., 2009).

A Tabela 1 a seguir demonstras as características físico-químicas do BTX.

Tabela 1 - Características físico-químicas do benzeno, tolueno e xileno

Benzeno		Outros Nomes	Benzol, ciclohexatrieno, hidreto de fenila e nafta de carvão
		Fórmula Química	C ₆ H ₆
		Peso Molecular	78,11 g/mol
		Pressão de Vapor	0,125 atm
		Ponto de Ebulição	80,1°C
		Densidade	0,8765 mg/L
		Solubilidade em Água	1780 mg/L
		Observação	Líquido incolor, volátil e inflamável
Tolueno		Outros Nomes	Toluol, metilbenzeno, metilbenzol ou fenilmetano
		Fórmula Química	C ₇ H ₈
		Peso Molecular	92,13 g/mol
		Pressão de Vapor	0,0375 atm
		Ponto de Ebulição	110,69°C
		Densidade	0,8669 mg/L
		Solubilidade em Água	515 mg/L
		Observação	Líquido incolor, volátil e com odor aromático
O -Xileno		Outros Nomes	<i>Orto</i> -xileno
		Fórmula Química	C ₈ H ₁₀
		Peso Molecular	106,2 g/mol
		Pressão de Vapor	0,0115 atm
		Ponto de Ebulição	144°C
		Densidade	0,8802 mg/L
		Solubilidade em Água	220 mg/L
		Observação	O xileno é constituído de 20% de <i>o</i> -xileno
M -Xileno		Outros Nomes	Meta-xileno
		Fórmula Química	C ₈ H ₁₀
		Peso Molecular	106,2 g/mol
		Pressão de Vapor	0,0109 atm
		Ponto de Ebulição	139°C
		Densidade	0,8842 mg/L
		Observação	O xileno é constituído de 40% de <i>m</i> -xileno
		P -Xileno	
Fórmula Química	C ₈ H ₁₀		
Peso Molecular	106,2 g/mol		
Pressão de Vapor	0,0115 atm		
Ponto de Ebulição	138°C		
Densidade	0,8611 mg/L		
Observação	O xileno é constituído de 20% de <i>o</i> -xileno		

Fonte: Adaptado de Rodrigues (2015).

Sempre que um grande volume de hidrocarbonetos atinge a zona saturada do solo, ele pode deslocar a água dos poros (TERAMOTO; CHANG, 2017). A contaminação pode ocorrer e propagar na própria área e com isso impactar seus arredores alterando características naturais ou qualidades do meio (RODRIGUES, 2015).

Os BTX são carbonos orgânicos voláteis COV e podem se volatilizar da água para o ar (CHEN et al., 2010). Sendo assim, a contaminação do solo e das águas subterrâneas com BTX é frequentemente acompanhada pela liberação de vapores que migram da superfície para a atmosfera (FINOTTI et al., 2009). A volatilização do BTX, ainda que em diferentes tipos de solos secos, cresce linearmente a medida que a temperatura aumenta (CHEN et al., 2010). Devido à sua volatilidade dos compostos BTX, estes geralmente estão presentes em pequenas quantidades em águas rasas, porém, as concentrações são mais elevadas nas águas subterrâneas (MAZZEO et al., 2010). Chen et al., (2010) estudaram o comportamento da volatilização dos COV dados pelo BTX em um solo extremamente arenoso, em um solo siltoso e na água apenas. A volatilização ocorreu de forma total em apenas 8 horas no meio aquoso, em 10 horas no solo arenoso e em 12 horas no solo siltoso.

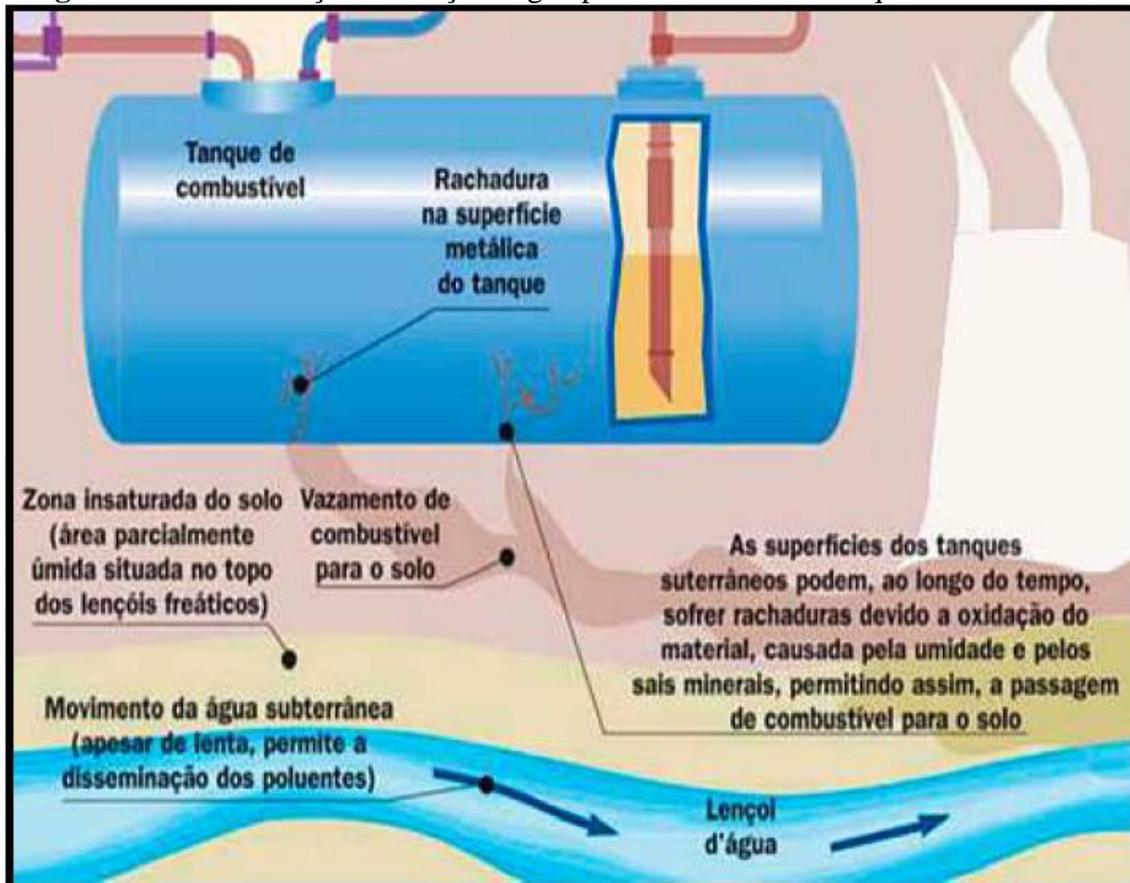
A contaminação pode ocorrer por defeitos em estruturas dos tanques de estocagem em postos de abastecimento, vazamentos de tubulações em refinarias e acidentes em operações de transportes terrestres (BAEDECKER et al., 2011). Como existe grande dificuldade de detectar pequenos vazamentos, os administradores dos postos geralmente tomam providências apenas quando é perceptível uma perda significativa de combustível (BRAGATO, 2006; PUGAS, 2015).

Segundo ANP (2013), até o ano de 2013 existiam 39450 postos de combustíveis no Brasil, sendo desconhecido o número real de postos com vazamentos ou que apresentam iminência de vazamento. A região sudeste é a maior consumidora de gasolina do país e o Estado de São Paulo possui maior número de postos de combustíveis, 23% do total do território nacional.

Devido a ocorrência de poluição ambiental, ocasionada por combustíveis derivados de petróleo, foram criados em âmbito estadual e federal, leis, decretos, resoluções e normas para proteção e monitoramento da qualidade do solo e dos recursos hídricos nas áreas de influência dos postos de combustíveis. Portanto, de acordo com a legislação brasileira, os postos de revenda de combustíveis devem ser cadastrados e licenciados pelos órgãos ambientais competentes (VERHNJAK, 2015).

Os tanques subterrâneos que não são protegidos contra a corrosão e sem condições resistir a subsidência do solo são muito propensos a causar vazamentos (MOURA, 2012; VERHNJAK, 2015). A Figura 2 mostra como pode-se ocorrer um vazamento devido a rachaduras na superfície metálica de um tanque de combustível.

Figura 2 - Contaminação do lençol d'água por vazamento em tanque de combustível



Fonte: Verhnjak (2015).

Os pontos de solda em chapas de tanques de combustíveis sofrem corrosão (e consequentemente vazamentos) devido agentes como umidade, acidez, salinidade, flutuação do lençol freático e presença de oxigênio causando degradação dos tanques de combustíveis. As tubulações e conexões também sofrem o efeito da corrosão ou rupturas decorrentes de esforços atuantes no solo (PUGAS, 2015).

Além disso, falhas humanas nas operações de descarga de combustível e defeitos nas estruturas dos tanques são uma das principais causas de vazamentos nos postos de combustíveis. A contaminação pode-se decorrer em aspectos operacionais como falha no acionamento automático de bloqueio do fluxo dos bicos de abastecimento (PUGAS, 2015).

O risco de contaminação, associado a vazamentos, aumenta quando há desconhecimento das características geológico-geotécnicas, tais como erosão e colapsividade do solo, além de má execução de obras de engenharia (VERHNJAK, 2015). A circulação de veículos, principalmente veículos pesados, nos postos de gasolina interferem nas tubulações e tanques subterrâneos que ficam sujeitos a efeitos de vibração e sobrepeso, podendo gerar rupturas, sobretudo nas conexões. Com isso uma fonte de derramamento ou vazamento de combustíveis é gerada (PUGAS, 2015).

O uso das águas subterrâneas no Brasil e em todo o mundo tem aumentado devido as vantagens de sua utilização pois a qualidade de águas subterrâneas, na grande maioria das vezes é superior às superficiais incorrendo em menores custos de uso e de tratamento (UECHI et al., 2017). Porém, quando há perda de qualidade das águas subterrâneas os custos de tratamento tornam-se mais onerosos para garantia dos níveis de potabilidade vigente (AVANZI, 2012; TRINDADE, 2015). A Figura 3 demonstra uma contaminação de água subsuperficial por derivado de petróleo

Figura 3 – Escavação com surgimento do lençol freático e pluma de contaminação por derivado de petróleo



Fonte: Becegato et al. (2016).

A alta mobilidade dos hidrocarbonetos BTX no sistema solo-água ocorre devido ao baixo coeficiente de partição octanol-água ($\text{Log } K_{ow}$) e conseqüentemente ocorre migração preferencial dessas substâncias na água subterrânea por haver redução da absorção pelo solo (NAKHLA, 2003). Os hidrocarbonetos aromáticos, inclusive os BTX, têm maior mobilidade nos sistemas solo-água que os alifáticos por possuir menor valor do coeficiente de partição octanol-água (MOURA, 2012). Portanto, o coeficiente de partição octanol-água indica uma medida de hidrofobicidade. Deste modo é possível comparar a possibilidade de encontrar um

composto em águas subterrâneas com relação ao outro composto. Quanto maior o valor numérico do coeficiente de partição octanol/água, menos moléculas dissolvidas serão transferidas para a água (VERHNJAK, 2015). A Tabela 2 apresenta a solubilidade e o coeficiente de partição octanol-água de alguns compostos existentes em derivados de petróleo.

Tabela 2 - Solubilidade e coeficiente de partição octanol-água (Log K_{ow}) de alguns derivados de petróleo

Composto	Solubilidade em água (mg/L)	Log K_{ow}
Benzeno	1760	2,12
Tolueno	532	2,73
Xileno	163-185	2,95-3,26
Nonano	0,122	4,67
Decano	0,021	6,69
Dodecano	0,005	7,24

Fonte: Tiburtius et al. (2004).

Os líquidos não miscíveis, ou imiscíveis, dividem-se em DNAPL (Dense Non-Aqueous Phase Liquids) e LNAPL (Light Non-Aqueous Phase Liquids). A água possui sua massa específica com valores próximos de 1 kg.L^{-1} . Os LNAPL tendem a acumular acima do nível da água (TERAMOTO; CHANG, 2017). A quantidade em que os hidrocarbonetos de petróleo se dissolvem na água subterrânea depende muito da composição do combustível (VASUDEVAN et al., 2016). Líquidos menos densos que a água formam uma camada sobre a parte superior do lençol freático, inclusive a fração BTX da gasolina, diesel e querosene. A presença de LNAPL em aquíferos é frequentemente associada à emissão acidental de combustíveis no solo (TERAMOTO; CHANG, 2017). Derramamentos de derivados de petróleo e vazamentos em tubos subterrâneos e tanques de armazenamento são as principais fontes contaminação por produtos petrolíferos que residem na zona insaturada e no lençol freática como LNAPLs (BAEDECKER et al., 2011).

Após a ocorrência de um derramamento de líquido imiscível em água na superfície do solo, os componentes mais solúveis em água caminharão à frente dos componentes menos solúveis da zona não saturada do solo até a zona de capilaridade, ou franja capilar. Ao preencher a maior parte dos poros, as forças capilares reduzirão o movimento vertical do líquido imiscível em água e ao atingir a saturação residual, fluirão ao longo do topo da franja capilar na mesma direção do fluxo subterrâneo (VERHNJAK, 2015; PUGAS, 2015).

A Figura 4a demonstra a contaminação do solo e da água subterrânea por um tanque enterrado com derramamento de combustível, enquanto que na Figura 4b a contaminação do ocorre por derramamento de um tanque na superfície do solo.

Figura 4a - Contaminação do solo e da água subterrânea por um tanque enterrado com derramamento de combustível

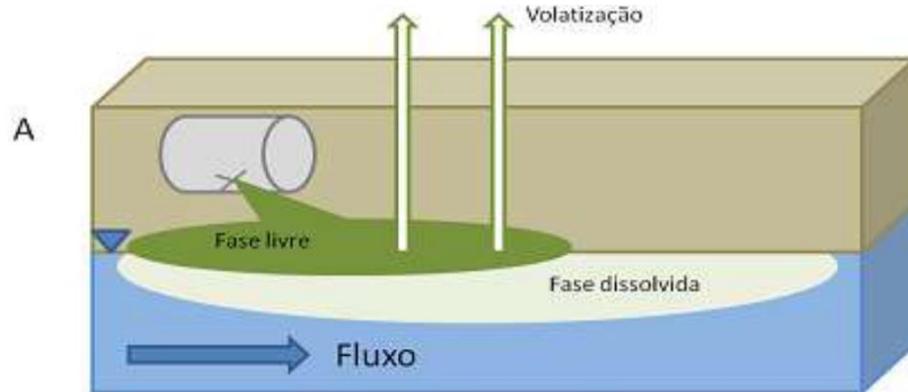
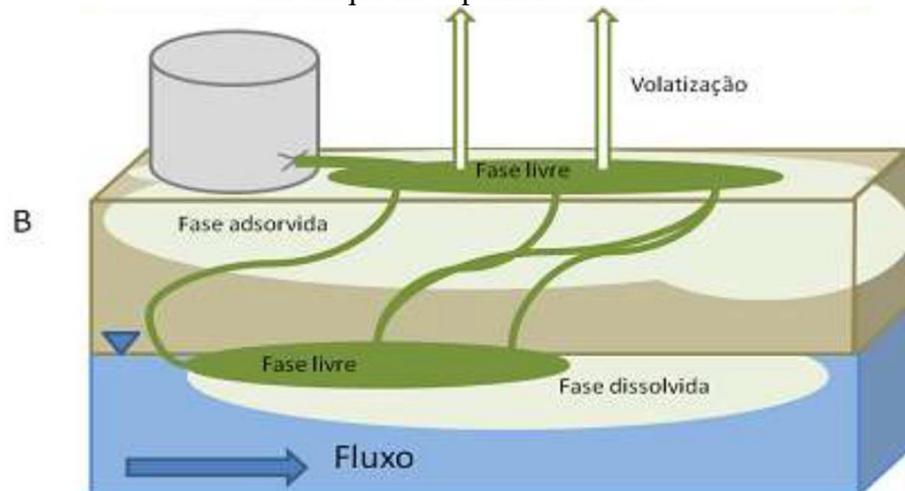


Figura 4b - Contaminação do solo e água subterrânea por derramamento de combustível em um tanque na superfície do solo



Fonte: Avanzi (2012).

A fase livre é constituída da porção de hidrocarbonetos não miscíveis em água que flutuam sobre o aquífero livre. A espessura da fase livre pode ser estimada em função da espessura da camada sobrenadante, viscosidade do hidrocarboneto, magnitude e frequência das oscilações freáticas, quantidade de oxigênio disponível, porosidade do solo e do tempo transcorrido desde o vazamento (VERHNJAK, 2015). A fase adsorvida (fase residual) ocupa uma faixa sobre a extremidade da fase livre constituindo um halo de dispersão entre a fonte de contaminação e o nível freático, sendo uma fina película de hidrocarbonetos adsorvidos aos coloides orgânicos e minerais do solo, ou então, retidos por forças de capilaridade do solo (VERHNJAK, 2015). A fase dissolvida é dada pelo produto dissolvido e transportado na

água subterrânea. A solubilidade dos constituintes dos hidrocarbonetos interfere na quantidade de material dissolvido (GALANTE, 2008). A fase vapor é presente de forma mais significativa na região não saturada do subsolo e compreende a fase gasosa dos componentes voláteis dos combustíveis e que ocupa os poros do solo (VERHNJAK, 2015).

As mudanças no nível d'água subterrânea têm sido identificadas como a causa de mudanças significativas na concentração de hidrocarbonetos dissolvidos (TERAMOTO; CHANG, 2017). O nível d'água pode subir e descer em decorrência de estações secas e úmidas alternadas, o que pode levar a uma redistribuição vertical do LNAPL à medida que este migra para baixo, partes do aquífero quando o nível da água diminui (JEONG; CHARBENEAU, 2014). Quando o nível de água aumenta, uma nova fase residual é formada na zona não saturada, pois a fase livre tende a se espalhar. Por sua vez, quando o nível d'água diminui, a fase livre é formada novamente, pois a fase residual tende a se remobilizar (VERHNJAK, 2015). A Figura 5a demonstra o comportamento da fase livre e residual numa estação seca, enquanto que a Figura 5b demonstra o comportamento da fase residual de acordo com a elevação do nível d'água numa estação chuvosa.

Figura 5a - Comportamento da fase livre numa estação seca



Figura 5b - Comportamento da fase livre e da fase residual numa estação de chuvas

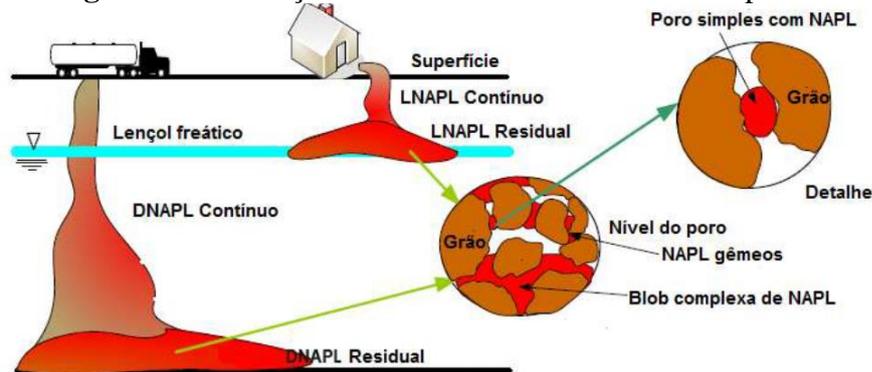


Fonte: Verhnjak (2015).

Para um DNAPL, os contaminantes migram por meio da zona não saturada e cessa seu movimento quando atinge a fase residual, devido a sua alta massa específica, baixa viscosidade e solubilidade. Desta forma, ocorre a liberação de alguns de seus compostos mais solúveis na fase gasosa contida na zona não saturada e em contato com a água infiltrada é formada uma pluma de contaminantes na zona saturada (VERHNJAK, 2015).

O líquido de fase não aquosa em ambientes de águas subterrâneas pode continuar sendo uma fonte de exposição e risco durante décadas, ou até por séculos (CLEMENT et al., 2004). Um líquido oleaginoso (LNAPL ou DNAPL) na forma de bolhas pode ser encontrado em um aquífero. Plumias de água contaminada podem surgir devido este suprimento contínuo de dissolução gradual. (LOURENÇO, 2006). Yoon (2007) definiu a formação de *blobs* como sendo um fluido em quantidade suficiente para gerar uma 'gota' dentro de poros do solo, conforme pode ser visualizado na Figura 6.

Figura 6 - Formação de *blobs* de contaminantes nos poros



Fonte: Toledo (2013).

Os vazamentos de combustíveis causam poluição do ar causada pela evaporação desses compostos e a poluição do aquífero no qual se deu o vazamento com a dissolução no período de chuva, uma vez que de 20 a 50% dos compostos ficam retidos no solo (YOON, 2007).

3.2 BIOCOMBUSTÍVEIS

Os impactos ao meio ambiente ocasionados pelo uso de combustíveis fósseis levaram a sociedade moderna a procurar formas menos onerosas de produção de energia do ponto de vista ambiental (FINOTTI et al., 2009; SCHAMBECK et al., 2015).

O etanol e biodiesel são dois exemplos dos chamados biocombustíveis (FINOTTI et al., 2009). Estes combustíveis ganharam importância no fornecimento global de combustíveis líquidos nos últimos anos (BARROS; SZKLO, 2015). No Brasil, em 2005, houve a introdução de biodiesel, principalmente a base de soja, na matriz energética (BRASIL, 2005). De acordo com a Lei nº 13.263, de 23 de março de 2016 no Artigo 1º foi estabelecida a adição obrigatória (em porcentagem em volume) de biodiesel ao óleo diesel vendido ao consumidor final, em qualquer parte do território nacional (BRASIL, 2016):

- I - 8% (oito por cento), em até doze meses após a data de promulgação desta Lei;
- II - 9% (nove por cento), em até vinte e quatro meses após a data de promulgação desta Lei;
- III - 10% (dez por cento), em até trinta e seis meses após a data de promulgação desta Lei.

Schambeck et al. (2015) estudaram a influência do biodiesel de soja na biodegradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno e tolueno em água subterrânea sintética sob condições anaeróbias. Foi constatado que não houve biodegradação do benzeno e do tolueno devido a ocorrência de biodegradação preferencial do biodiesel sob as condições experimentais definidas pelos autores.

A gasolina comercial brasileira em contato com a água subterrânea causa maior contaminação do lençol freático quando comparada com as gasolinas convencionais de outros países devido o etanol aumentar a solubilização de hidrocarbonetos na água. O etanol possui maior mobilidade na água subterrânea que os compostos BTX (CORSEUIL; MARINS, 1997; LOURENÇO, 2006; RODRIGUES, 2015).

No Brasil, a quantidade de etanol adicionado à gasolina varia de 25% a 27% (ANP, 2015). Esta adição altera os coeficientes de partição octanol-água ($\text{Log } K_{ow}$) dos hidrocarbonetos e conseqüentemente aumenta a solubilidade e o transporte dos compostos orgânicos na fase aquosa, sendo assim, ocorre comportamento diferente no deslocamento do contaminante comparando-se com a gasolina pura porque as moléculas de álcool passam a ser preferenciais às estruturas benzênicas. A mistura de etanol na gasolina afeta a seqüência e função da flora microbiana autóctone no aquífero afetado, estruturas funcionais microbianas relacionadas e processos de biorremediação (MA et al., 2015). O ambiente subterrâneo contaminado com gasolina contendo etanol, decorrente da alta solubilidade deste, gera uma concentração muito maior em águas subterrâneas do que do BTX (COSTA et al., 2009).

Em altas concentrações, o etanol torna-se tóxico ou inibitório para microrganismos degradadores do BTX. Além disso, o consumo do oxigênio ocorre preferencialmente na degradação do etanol ao invés dos compostos BTX (CORSEUIL; MARINS, 1997; LOURENÇO, 2006). Com isso, ocorre aumento do tempo de atenuação por meio de processos naturais da eliminação de contaminantes presentes na água (CORSEUIL e MARINS, 1997; FINOTTI et al., 2009; VERHNJAK, 2015; PUGAS, 2015).

3.3 IMPACTOS DO BENZENO, TOLUENO E XILENO AO SER HUMANO

De acordo com Umbuzeiro et al. (2010), o Brasil vem utilizando critérios definidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para estabelecimento de padrões de qualidade para consumo de águas de abastecimento público. O valor máximo permitido (VMP) é o nível máximo de um contaminante presente na água para consumo humano segundo a Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde. A Tabela 3 apresenta o VMP para os compostos BTX em águas de abastecimento.

Tabela 3 – Valor máximo permitido para benzeno, tolueno e xileno em águas de abastecimento

Composto	Valor Máximo Permitido (µg/L)
Benzeno	5
Tolueno	200
Xileno	300

Fonte: Ministério da Saúde (2011).

De acordo com Rodrigues (2015), o benzeno pode ser absorvido pelo corpo humano via ingestão, inalação e contato dérmico e a distribuição no corpo humano ocorre de maneira muito rápida. A permanência média no organismo é de 0,9 a 2,6 horas, de forma predominante no tecido gorduroso e medula óssea. O benzeno possui potencial carcinogênico além de poder afetar o sistema nervoso central levando a pessoa exposta a ter tonturas e atordoamento (FINOTTI et al., 2009). A exposição de seres humanos a altas concentrações de benzeno leva à degeneração progressiva da medula óssea, causam anemia aplástica, leucemia e alterações imunológicas (RODRIGUES, 2015).

O tolueno possui um efeito tóxico, agudo e crônico (TORMOEHLEN et al., 2014). Segundo Rodrigues (2015), o tolueno, assim como o benzeno, é absorvido via ingestão, inalação e contato dérmico e a distribuição no organismo humano é predominante em tecido gorduroso com meia-vida variando de 0,5 a 3,2 dias em tecidos altamente vascularizados após absorção, tais como aos pertencentes ao cérebro, medula óssea, fígado, rins e tecidos nervosos. Do tolueno inalado, de 10% a 20% é expirado para a atmosfera com uma meia-vida de cerca de 25 minutos. Após a absorção, o tolueno é principalmente metabolizado no fígado e cerca de 80% da dose absorvida causa uma cadeia de reações oxidativas pela intervenção de várias enzimas tornando a molécula mais hidrofílica havendo a excreção de metabólitos pela urina. O tolueno, após intoxicação aguda, pode causar euforia, instabilidade emocional e motora, sendo que horas após a exposição ocorre sonolência e comprometimento das funções motoras e intelectuais, inclusive a memória (RODRIGUES, 2015).

O xileno prejudica a condenação motora e é absorvido pelo organismo pela inalação. Após absorção ocorre o metabolismo pelo fígado e a distribuição por todo o corpo tendo maior afinidade com tecidos adiposos e cérebro, porém a eliminação pelo organismo ocorre de forma rápida, principalmente pela urina (RODRIGUES, 2015).

3.4 REMEDIAÇÃO DE SOLOS

A remediação é o processo de retorno da funcionalidade de solo, água e ar ao que existia antes da poluição (ZABBEY et al., 2017). A avaliação dos solos expostos a produtos petrolíferos pode ser realizada a partir da comparação entre as concentrações medidas e os valores de intervenção. Dessa maneira, um estudo comparativo para as diversas substâncias e produtos de petróleo deve ser conduzido para determinar a correlação potencial entre os contaminantes e as necessidades reais para garantir a qualidade do solo (PINEDO et al., 2013; ZHOU et al., 2017).

Os impactos socioeconômicos, ambientais e secundários gerados por hidrocarbonetos de petróleo requerem remediação de solos contaminados para mitigar efeitos adversos (ZABBEY et al., 2017). A Lei Estadual nº 13577 de 08 de julho de 2009, aprovada pela Assembleia Legislativa do Estado de São Paulo, define a remediação de área contaminada como a adoção de medidas para a eliminação ou redução dos riscos em níveis aceitáveis para o uso a que se destina.

A remediação, seja biológica, química ou uma combinação de ambos os meios, é a única alternativa pois o problema da poluição deve ser resolvido sem o transferir para o futuro (MEGHARAJ et al., 2011). Os métodos podem ser físicos, químicos ou biológicos (HAMBY, 1996; KHAN et al., 2004; LIM et al., 2016). Segundo Mariano et al. (2007) não existem regras que generalizem a determinação do melhor tipo de tratamento para uma área contaminada por hidrocarbonetos, cada caso deve ser analisado individualmente e de acordo com suas características peculiares.

Ao restaurar uma área contaminada por BTX, é interessante utilizar métodos que sejam eficientes, econômicos e com pequeno impacto ambiental (LOURENÇO, 2006; VARJANI et al., 2017). O Tabela 4 apresenta algumas técnicas de remediação recomendadas pela literatura.

Tabela 4 – Técnicas de remediação utilizados em áreas contaminadas por benzeno, tolueno e xileno

Tecnologia	Tipo	Processo	Descrição
Atenuação Natural	<i>In Situ</i>	Biológico	Monitoramento inteligente de parâmetros indicadores de atenuação natural para validar a estabilização ou redução de plumas dissolvidas (VEHRNJAK, 2015).
Processos Oxidativos Avançados	<i>In Situ</i>	Físico-químico	Utiliza reagentes oxidantes que promovem a transformação de substâncias indesejadas em compostos inócuos como gás carbônico e água (PUGAS, 2015).
Barreira Reativa Permeável	<i>In Situ</i>	Físico-químico	Utiliza um meio reativo colocado no subsolo transversalmente à direção da pluma de água subterrânea em que a água subterrânea contaminada atravessa a barreira de forma passiva conforme escoar sob seu gradiente natural, sem interferir de forma impactante características hidrogeológicas, e com isso a concentração do contaminante é reduzida. (TRINDADE, 2015)
Lavagem de Solo	<i>In Situ/Ex Situ</i>	Físico-químico	A lavagem do solo por meio de fluidos apropriados promove a extirpagem e a biodegradação. Compostos químicos como surfactantes podem ser adicionados para acelerar a transferência de fase dos contaminantes (VEHRNJAK, 2015).
Bioventilação	<i>In Situ</i>	Biológico	Acelera a remoção de compostos orgânicos voláteis por meio da aeração da zona vadosa (VEHRNJAK, 2015).
<i>Air Sparging</i>	<i>In Situ</i>	Físico	Remoção física de contaminantes voláteis e semi-voláteis por meio de processos de aeração do solo na zona saturada (VEHRNJAK, 2015).
Extração por Solvente	<i>Ex Situ</i>	Químico/Físico	Remove a porção afetada do solo e lavagem do mesmo com solventes adequados tais como detergentes, tensoativos ou solventes orgânicos para óleo ou petróleo (VEHRNJAK, 2015).

Fonte: Elaboração do próprio autor.

3.4.1 Processos físico e químico

O tratamento físico remove os contaminantes do solo sem alterá-los quimicamente, contudo possui limitações dos quais os elevados custos de tratamento podem ser destacados (MARIANO et al., 2007; VARJANI; UPASANI, 2017). Os métodos físicos envolvem principalmente a substituição do solo e a dessorção térmica, porém o método físico é trabalhoso, caro e adequado para pequenos locais contaminados (KHAN et al., 2004).

O método químico envolve a lavagem de solo contaminado utilizando água limpa, reagentes ou solventes que podem lixiviar os contaminantes do solo (HAMBY, 1996; LIM et al., 2016).

3.4.2 Processos de biorremediação

Muitas plantas, microrganismos e alguns eucariotas menores podem utilizar poluentes de hidrocarbonetos de petróleo como nutrientes sendo efetivos na descontaminação de certos tipos de poluentes (PIEPER; REINEKE, 2000; PEIXOTO et al., 2011). A adsorção, volatilização, diluição, convecção podem contribuir para a atenuação do BTX, além da biodegradação (ZHOU et al., 2017).

Segundo Varjani et al. (2015) os microrganismos degradadores de hidrocarbonetos estão presentes em muitos ambientes, mesmo quando o ambiente ainda não possui contaminação. Os microrganismos autóctones degradantes de hidrocarbonetos desempenham um papel importante no processo de biorremediação.

O processo de biorremediação é definido como o uso de micróbios para desintoxicar ou remover poluentes com base em atividades enzimáticas para transformar ou degradar contaminantes ofensivos (RON; ROSENBERG, 2014; MNIF et al., 2017). Devido à atividade de microrganismos ocorrer de várias maneiras, os poluentes de hidrocarbonetos podem ser biodegradados completamente ou parcialmente em horas, dias ou meses (ATLAS, 1981). A biodegradação de um poluente envolve uma série de etapas usando diferentes enzimas e sequências de reações metabólicas (PEIXOTO et al., 2011; ABBASIAN et al., 2015).

Geralmente são utilizados bactérias, fungos filamentosos e leveduras na biorremediação de solos, sendo as bactérias as mais empregadas em trabalhos que envolvem a biodegradação de contaminantes (ANDRADE et al., 2010). As bactérias são relatadas como degradadores primários e a maioria dos agentes ativos na degradação do poluente do petróleo (ATLAS, 1981).

Menos de 0,1% dos microrganismos que decompõem hidrocarbonetos estão em ecossistemas não contaminados, sendo que esse número pode ser aumentado de 1 para 10% da população total em ambientes contaminados por hidrocarbonetos (ATLAS, 1991; VARJANI, 2017). No entanto, tem sido relatado que em ambientes poluídos a diversidade microbiana em geral diminui (ATLAS, 1981; ABBASIAN et al., 2015).

A biodegradação microbiana de poluentes de hidrocarbonetos de petróleo emprega as atividades catalíticas enzimáticas de microrganismos para aumentar a taxa de degradação de poluentes (VARJANI et al., 2017). No processo de biodegradação, os microrganismos obtêm energia ou assimilam os hidrocarbonetos de petróleo na biomassa celular (VARJANI et al., 2017). Desta forma, os microrganismos ganham energia durante a degradação do poluente e obtêm carbono, o qual é um componente essencial de todos os constituintes celulares, portanto a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo é energeticamente favorável

(ABBASIAN et al., 2015). Os microrganismos atenuam, degradam ou reduzem os poluentes orgânicos perigosos para compostos inócuos como CO₂, CH₄, H₂O e biomassa sem afetar negativamente o meio ambiente (RON; ROSENBERG, 2014).

Técnicas de biorremediação têm sido pesquisadas extensivamente com sucesso na remoção de hidrocarbonetos do solo em laboratórios e em campo (LIM et al., 2016). Segundo Paul et al. (2005) apenas uma fração da diversidade microbiana total foi aproveitada até agora, dado que o recurso genético para a degradação de poluentes recalcitrantes e xenobióticos é vasto.

A biorremediação é a técnica mais promissora, relativamente eficiente e econômica que implica na capacidade dos microrganismos em eliminar contaminantes (MARIANO et al., 2007; MEGHARAJ et al., 2011; MNIF et al., 2017; VARJANI et al., 2017). Contudo, em termos de tempo, a biorremediação é uma técnica de longa duração (pode levar até vários anos) para obter-se a remoção adequada de contaminantes (ZABBEY et al., 2017).

Os microrganismos desempenham um papel importante em importantes ciclos biogeoquímicos em quase todos os ambientes e formam a espinha dorsal da maioria dos ecossistemas (ZHOU et al., 2014; VARJANI et al., 2017). Os microrganismos respondem de forma diferente a vários tipos de estresse e ganham aptidão em ambientes poluídos, porém este processo pode ser acelerado pela aplicação de técnicas de engenharia genética (MEGHARAJ et al., 2011).

Compostos orgânicos, como o tolueno, são tóxicos para os microrganismos, porque perturbam as membranas celulares (MEGHARAJ et al., 2011). Nos solos contaminados por hidrocarbonetos aromáticos, os microrganismos resistentes aos solventes serão os primeiros a eliminar poluentes (HUERTAS et al., 1998).

A eficácia da biodegradação de hidrocarbonetos em solos contaminados depende das condições ambientais que estimulam a atividade de biodegradação, dos tipos de hidrocarbonetos no solo contaminado e da biodisponibilidade dos contaminantes para a flora bacteriana (MARQUEZ-ROCHA et al., 2001).

Como as necessidades e a complexidade do conhecimento variam de acordo com diferentes processos de biorremediação, o conhecimento das limitações da biorremediação e das condições locais maximizam os benefícios e minimizam os custos de tratamento (MEGHARAJ et al., 2011).

Os hidrocarbonetos são transportados para células microbianas por meio: (a) da interação de células microbianas com poluentes de hidrocarbonetos dissolvidos em fase

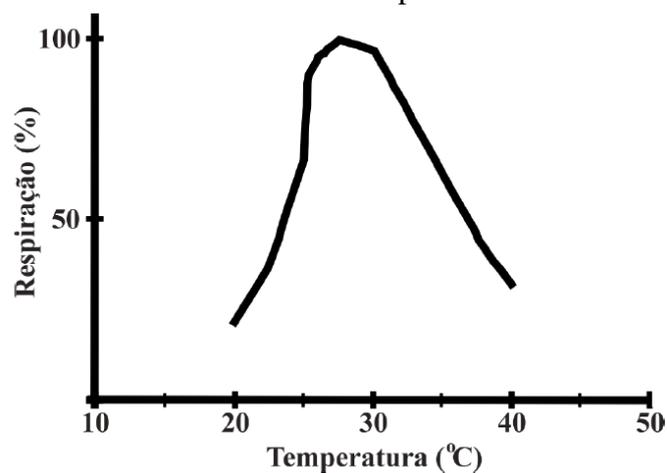
aquosa; (b) do contato direto de células com hidrocarbonetos e (c) da interação de células com gotículas de hidrocarbonetos muito menores que as células (KAVITHA et al., 2014).

A exposição súbita às pressões do solo (por exemplo, condições nutricionais no solo, inanições ou susceptibilidade/tolerância) determinam a resposta fisiológica dos microrganismos, subseqüentes sobrevivências e atividades (MEGHARAJ et al, 2011).

A biorremediação é um método para promover a biodegradação natural de hidrocarbonetos ao fornecer nutrientes e oxigênio requeridos por microrganismos (VARJANI et al., 2017; ZABBEY et al., 2017).

A atividade microbiológica é afetada pela temperatura e pH (TATE, 1995). Pela Figura 7 é possível observar que as bactérias mesofílicas metabolizam contaminantes de forma mais intensa na faixa de temperatura entre 25°C a 30°C.

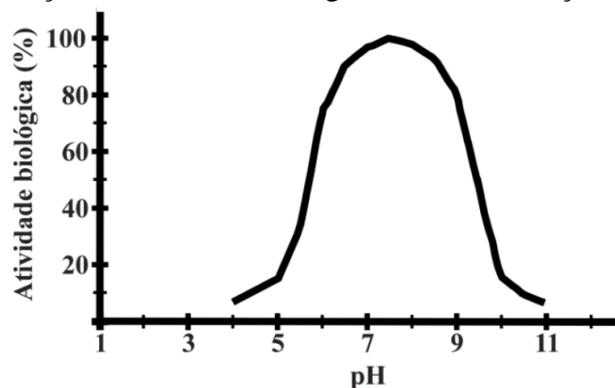
Figura 7 - Resposta típica à temperatura de bactérias mesofílicas que degradam contaminantes de petróleo



Fonte: Andrade et al. (2010)

A atividade máxima dos microrganismos ocorre com o pH entre os valores 6,5 e 8,5, conforme pode ser visto pela Figura 8.

Figura 8 - Variação da atividade biológica com a mudança do pH dos solos



Fonte: Andrade et al. (2010).

Para ocorrer a biodegradação de hidrocarbonetos é indispensável que haja a ocorrência de uma reação de oxirredução em que os hidrocarbonetos são oxidados por serem doadores de elétrons, com isso os aceptores de elétrons são reduzidos. Vários compostos podem atuar como aceptores de elétrons, incluindo o oxigênio (O_2), nitrato (NO_3^-), óxido de ferro Fe (III), sulfato (SO_4^{2-}) (MARIANO et al., 2007).

Os compostos BTX são tipicamente removidos a uma mesma proporção pelo metabolismo aeróbico e anaeróbico (ABBASIAN et al., 2015). Entretanto, a alta demanda bioquímica de oxigênio devido à presença de poluentes orgânicos favorece condições anaeróbicas quanto a biodegradação (RAMOS et al., 2013).

Segundo Guerin (2000), convém manter o solo saturado, a taxa de umidade e de alteração constantes para que haja maior eficiência no processo de biorremediação. O teor de umidade aumenta a degradação de poluentes além de favorecer o transporte de poluentes e dos produtos degradados (MICHELS et al., 2000).

A temperatura afeta o estado físico dos hidrocarbonetos presentes no local poluído e os micróbios que os consomem (CHANDRA et al., 2013). Além disso, afeta a taxa de crescimento e metabolismo microbiano, solubilidades dos gases, matriz do solo, estado físico e químico de contaminantes (MEGHARAJ et al., 2011).

A variação de temperatura dos solos logo abaixo de 50 cm é pouco significativa (ANDRADE et al., 2010). A temperatura causa efeito na composição das comunidades (todos os organismos que interagem vivendo juntos em um habitat específico) e na velocidade de degradação, pois os poluentes persistem mais tempo a uma temperatura mais baixa (MICHELS et al., 2000). A temperatura no processo de biorremediação é importante, pois o calor que é gerado pelo metabolismo microbiano é aprisionado na matriz do solo em biodegradação. A maior parte da decomposição microbiana e a formação de biomassa ocorrem de forma mais intensa durante o estágio termofílico (MEGHARAJ et al., 2011).

No ambiente natural existe a articulação de comunidades microbianas para mediar e transferir substratos e produtos entre espécies e comunidades (ABRAHAM et al., 2002). A biodegradação no ambiente natural é um sistema muito complexo, além do sistema individual de células, no ambiente natural há vários componentes bióticos e abióticos (MEGHARAJ et al., 2011). O processo de biodegradação se desencadeia como uma rede em que os microrganismos são interconectados (cooperação metabólica), as atividades metabólicas, além de substratos e compostos fluem livremente, atuando sobre as espécies microbianas que estão no meio (PAZOS et al., 2003). As populações microbianas de solo ou ambientes aquáticos

são compostos de comunidades diversas, sinérgicas ou antagônicas ao invés de uma única estirpe (MEGHARAJ et al., 2011).

Uma única espécie pode metabolizar apenas uma faixa limitada de substratos de hidrocarbonetos, todavia um consórcio constituído de muitas espécies bacterianas diferentes e com amplas capacidades enzimáticas geralmente é o que está envolvido na degradação do petróleo (VARJANI et al., 2013; SANTISI et al., 2015).

A seleção de um consórcio microbiano capaz de degradar compostos hidrofóbicos especificamente pode melhorar a eficiência do processo de biorremediação (MNIF et al., 2017). Desta forma, consórcios microbianos compostos de elementos concorrentes entre si são relevantes do ponto de vista ecológico por degradarem os poluentes químicos diferentes e responder a diferentes estímulos ambientais, sendo mais eficiente que o crescimento de um único tipo de microrganismos (SUPAPHOL et al., 2006; VARJANI et al., 2013).

A utilização de consórcio de microrganismos provou ser mais potencial que culturas individuais para metabolizar ou degradar uma diversidade de hidrocarbonetos de forma completa (VARJANI et al., 2017). Estudos recomendam a utilização de diferentes tipos de cepas bacterianas e de fungos para a remediação de contaminantes de hidrocarbonetos (LIM et al., 2016). O potencial para degradar poluentes orgânicos varia entre os grupos microbianos ou guildas diferentes (grupo de espécies que exploram a mesma classe de recursos ambientais de forma semelhante) e é dependente da dose de poluentes orgânicos (MEGHARAJ et al., 2011).

Devido a adaptabilidade, os fungos possuem mais vantagens que as bactérias (SANTAELLA et al., 2009). Como vantagens de se utilizar fungos, no processo de biodegradação, estão a sua grande capacidade de crescimento, ainda que sujeitos a altas concentrações de produtos tóxicos e sob condições de estresse tais como pH baixo e meio com poucos nutrientes (GRIFFIN, 1994).

Os fungos podem sobreviver e crescer em meios contendo altas concentrações de compostos recalcitrantes podendo utilizá-los como fontes de energia (EGGEN; MAJCHERCZYK, 1998; OLIVEIRA et al., 2006). Além disso, os fungos podem adaptar se adaptar a uma grande variedade de concentrações de oxigênio dependendo do meio em que se encontram, além da respiração aeróbia convencional, podem utilizar rotas metabólicas alternativas (desnitrificação e amonificação) (TAKAYA et al., 2002). Enzimas extracelulares oxidativas podem ser produzidas pelos fungos para possibilitar a degradação de compostos assimiláveis ao seu metabolismo. A adição de substratos primários prontamente assimiláveis,

como glicose pode intensificar a atividade fúngica (GRIFFIN, 1994; SANTAELLA et al., 2005).

O desenvolvimento de estratégias de manejo nutricional, controle de taxas de degradação e produtos da degradação devem ser adaptados a combinações específicas locais e dos contaminantes (MEGHARAJ et al., 2011). A "abordagem da taxa de recursos" para obter informações ecofisiológicas de microrganismos degradantes de poluentes tem muitas implicações práticas fornecendo o quadro teórico para otimizar a formulação e aplicação de nutrientes em abordagens de bioestimulação (MEGHARAJ et al., 2011).

Os hidrocarbonetos de petróleo não contêm grandes quantidades de nutrientes, como nitrogênio e fósforo necessários para o crescimento microbiano (VARJANI; UPASANI, 2017). Contudo concentrações excessivas de nutrientes, especialmente níveis elevados de nitrogênio, fósforo e potássio, inibem a biodegradabilidade de contaminantes de hidrocarbonetos (VARJANI, 2017).

Os microrganismos requerem nitrogênio e fósforo para incorporação na biomassa, a disponibilidade desses nutrientes na mesma área que os hidrocarbonetos é crucial (ATLAS, 1981; RON; ROSENBERG, 2014). Como uma regra geral para a remediação do derramamento de petróleo, é aplicado cerca de 1-5% N em peso de óleo com uma proporção de N: P entre 5:1 e 10: 1, (SWANNELL et al., 1996). Essas adições podem ser insuficientes ou imprecisas para os locais poluídos com diferentes tipos de poluentes (MEGHARAJ et al., 2011). Wolicka et al. (2009) otimizaram a relação C: N: P (ao nível de 100: 9: 2, 100: 10: 1 ou 250: 10: 3) antes de iniciar a remediação in situ do BTX.

Segundo Smith et al. (1998), as mudanças do suprimento de nutrientes, em proporção de fornecimento constante, alteram a biomassa total do degradador de hidrocarbonetos assim como as taxas de degradação de hidrocarbonetos. Os autores utilizaram a teoria da taxa de recursos utilizados para a decomposição de hidrocarbonetos e os resultados mostraram que as mudanças nas taxas de fornecimento de nitrogênio e fósforo alteraram a taxa de biodegradação de hidrocarbonetos e a composição das comunidades microbianas também foram alteradas significativamente.

Sebate et al. (2004) propuseram um protocolo para ensaios de biotratabilidade em duas fases para a aplicação bem sucedida da tecnologia de biorremediação. Na primeira fase, o tipo e a atividade metabólica dos microrganismos autóctones no local poluído e a presença de possíveis inibidores devem ser testados para saber se a biorremediação em si é apropriada. Na segunda fase, as influências de nutrientes, de surfactantes e de alterações específicas por

inóculos devem ser avaliadas em microambientes para identificar um tratamento adequado para o local poluído.

Muitos solos são muito pobres em nutrientes ou não contêm microrganismos adequados, com isso a biodegradação será inadequada e em muitos casos terá longa duração (MEGHARAJ et al., 2011). Bento et al. (2003) recomendou a necessidade de um estudo detalhado das propriedades do solo e das propriedades dos microrganismos autóctones do solo para a biodegradação. As propriedades do solo tais como porosidade, teor de umidade, geometria dos poros, camadas horizontais e verticais do solo, entre outras características, podem influenciar a difusão ou a volatilização e com isso também influenciar a biorremediação (HERS et al., 2000).

A estratégias de biorremediação incluem o uso de microrganismos do próprio local sem interferências de técnicas ativas de remediação (biorremediação interna ou natural); a adição de nutrientes, oxigênio e biossurfactantes como agentes estimulantes (bioestimulação); e a inoculação de consórcio microbiano enriquecido (bioaumento) (BENTO et al., 2003). A vantagem desses processos é a mineralização de poluentes, ou seja, a conversão para dióxido de carbono, água e biomassa (MARIANO et al., 2007).

3.4.2.1 Bioaugmentação

Para a técnica de bioaugmentação, pode se utilizar uma única variedade de microrganismo ou um consórcio microbiano misto conhecido ou um consórcio microbiano autóctone previamente isolado do solo contaminado e cultivado com hidrocarbonetos como sendo fonte de carbono (FERNÁNDEZ et al., 2016; ZABBEY et al., 2017). Atualmente, em uma técnica típica de bioaugmentação, os microrganismos são transferidos para um local poluído para acelerar a desintoxicação e/ou degradação (MEGHARAJ et al., 2011). Sendo assim, um consórcio exógeno previamente extraído de outros locais contaminados por hidrocarbonetos pode ser utilizado (UENO et al., 2007).

Outra estratégia bastante utilizada em bioaugmentação é a pré-exposição e posterior reexposição de um poluente químico para aumentar o potencial metabólico de microrganismos (REDDY; SETHUNATHAN, 1983). Em comparação com os membros autóctones, os empenhos da bioaugmentação muitas vezes falham devido à menor eficiência, competitividade e adaptabilidade (MEGHARAJ et al., 2011).

A bioaugmentação é uma forma promissora de biorremediação por ser econômica, de alto desempenho e com baixa tecnologia, em que a eficácia pode ser influenciada por fatores abióticos (pH, temperatura, propriedades do solo, estrutura química, concentração e

disponibilidade de poluente) e bióticos como a seleção dos microrganismos adequados, competição com microrganismos autóctones ou predação por protozoários (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010).

Várias abordagens genéticas foram desenvolvidas e utilizadas para otimizar as enzimas, vias metabólicas e organismos relevantes para a biodegradação (PIEPER; REINEKE, 2000). Contudo, não há relatos de uma única estirpe de microrganismos com a capacidade metabólica necessária para degradar todos os componentes do petróleo (ZABBEY et al., 2017).

3.4.2.2 Bioestimulação

Parâmetros ambientais que podem ser ajustados com a introdução de nutrientes, biopolímeros e biosurfactantes são descritos como bioestimulação (PRINCE et al., 2003; JIANG et al., 2016).

O ajuste de parâmetros ambientais pode estimular o crescimento de microrganismos que degradam o petróleo e também estimular a taxa de degradação de forma sensível (ZABBEY et al., 2017). A bioestimulação envolve a melhoria das condições operacionais que afetam o processo de biorremediação, tais como: Concentração de nutrientes, pH e teor de umidade para melhoria do potencial de microrganismos autóctones (FERNÁNDEZ et al., 2016).

3.4.2.3 Bioventilação

A bioventilação envolve a adição de oxigênio aos vazios do solo com o interesse de estimular o crescimento dos microrganismos (ZABBEY et al., 2017). O oxigênio é um fator essencial e muitas vezes limitante na biodegradação pois melhora o metabolismo microbiano dos organismos e com isso, há maior produção de energia (LIM et al., 2016).

A bioventilação se mostra eficaz e eficiente na remediação de uma mistura de diesel com biodiesel apresentando uma maior taxa de remediação, em comparação com a atenuação natural. Houve um relato de 85% de eficiência da degradação de contaminantes quando a técnica de bioventilação foi utilizada, enquanto que a eficiência da degradação de contaminantes foi de 64% quando se utilizou atenuação natural, ambas as técnicas estudadas num período de 60 dias (THOMÉ et al., 2014).

3.4.2.4 Compostagem

Tradicionalmente, a prática da compostagem se destina a reduzir o volume e o teor de água dos resíduos vegetais, destruir os agentes patogênicos e remover os compostos que produzem odor. Esta tecnologia também pode ser aplicada no tratamento de solo ou sedimentos contaminados (inclusive por hidrocarbonetos de petróleo). Parâmetros importantes para compostagem dependem do tipo de poluentes e dos resíduos usados para compostagem (MEGHARAJ et al., 2011).

A eficiência da compostagem depende essencialmente da temperatura e da razão de alteração solo/resíduos como os dois parâmetros operacionais importantes para a biorremediação (ANTIZAR-LADISLAO et al., 2005).

A mistura de solo remediado com solo contaminado pode aumentar a eficácia da compostagem porque o solo remediado com microrganismos aclimatados influencia significativamente a degradação do poluente no processo de compostagem (HWANG et al., 2001).

3.4.2.5 Eletrobiorremediação

A eletrobiorremediação está se popularizando como tecnologia híbrida de biorremediação e eletrocinética para o tratamento de compostos orgânicos hidrofóbicos (MEGHARAJ et al., 2011). Esta técnica de biorremediação envolve a passagem de uma corrente direta por meio do solo poluído entre eletrodos distribuídos adequadamente além de fenômenos microbiológicos para degradação de poluentes e fenômenos eletrocinéticos para a aceleração e orientação do transporte de poluentes (ou seus derivados) e dos microrganismos que degradam poluentes (LI et al., 2010).

A eletrocinética utilizada para solos é o de campos elétricos fracos, de cerca de 0,2 a 2,0 V cm⁻¹, e os fenômenos básicos que compõem a eletrobiorremediação são a difusão, eletrólise, eletro-osmose, eletroforese e eletromigração (SAICHEK; REDDY, 2005).

3.4.2.6 Fitorremediação

A fitorremediação utiliza enzimas presentes nas raízes das plantas para auxiliar a degradação dos contaminantes e depende das condições ecológicas e climáticas predominantes. Esta técnica de remediação envolve o uso de plantas verdes vivas ou suas raízes para consertar ou absorver contaminantes do solo do solo. Com isso, a concentração de contaminantes no solo é reduzida e, conseqüentemente, há diminuição do risco representado por tais contaminantes para o meio ambiente e à saúde humana (ZABBEY et al., 2017).

As plantas têm uma grande quantidade de quilômetros de raízes por hectare, sugerindo o potencial de degradação de poluentes na rizosfera (BOYAJIAN; CARREIRA, 1997). A fitorremediação possui reduzidos custos de manutenção e é fácil de introduzir em campos que há capacidade de suporte para o crescimento de plantas, porém a fitorremediação é uma estratégia de remediação lenta e só pode ser considerada para remoção de contaminantes a longo prazo (ZABBEY et al., 2017).

3.5 BIODISPONIBILIDADE

As taxas de solubilidade e dissolução desempenham um papel crucial na biodisponibilidade (KAVITHA et al., 2014). A biodisponibilidade é a capacidade de determinadas espécies de sorverem o contaminante para depois degradarem-no. Para o tratamento eficiente de biorremediação, os poluentes como substratos devem estar disponíveis e acessíveis tanto para microrganismos quanto para as enzimas extracelulares para que o metabolismo ocorra. A interação direta é dependente da estrutura da parede celular, isto é, sua hidrofobicidade superficial (VARJANI; UPASANI, 2017).

Outro fator limitante importante a ser observado é o movimento de microrganismos (MEGHARAJ et al., 2011). As células microbianas imobilizadas têm vantagens em relação às células microbianas livres, pois aumentam a sobrevivência e a retenção de agentes de processamento biológico em locais contaminados (VARJANI; UPASANI, 2017).

O destino dos poluentes é amplamente influenciado pelos processos concorrentes de degradação e sorção que se referem a adsorção, que ocorre nas superfícies (como por exemplo entre um composto carregado e argila), e à absorção que é a sorção além da superfície em uma porção separada definida pela superfície (como por exemplo, partição em matéria orgânica) (MEGHARAJ et al., 2011). A alta adsorção sobre as partículas do solo limita a disponibilidade de hidrocarbonetos de alto peso molecular à flora bacteriana e com isso a limitação da sua biodegradação se torna um gargalo importante (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011).

Existem duas maneiras de se considerar a biodisponibilidade e a biodegradação de contaminantes orgânicos (SINGH et al., 2008):

- (i) O pré-requisito da liberação dos contaminantes a partir da fase sorvida para a fase aquosa pela degradação microbiana (HARMS; ZEHNDER, 1995).
- (ii) A biodegradação do contaminante na fase sorvida, sem ser desorvida pelas enzimas (SINGH et al., 2003).

Os contaminantes orgânicos também podem ser degradados sem dessorção prévia. A solubilidade aquosa, a volatilidade ou a reatividade dos poluentes orgânicos variam muito e todos eles podem influenciar a biodisponibilidade na água e nos solos (MEGHARAJ et al., 2011).

A captura de poluentes ao longo do tempo pode ocorrer devido ao contato e interação do solo com moléculas poluentes. Existem também diferenças na biodisponibilidade devido a naturezas químicas dos poluentes, tipo de solo e outros fatores, como o teor de umidade e a temperatura (MEGHARAJ et al., 2011).

3.6 SURFACTANTES E BIOSURFACTANTES NA BIORREMEDIAÇÃO

Alguns surfactantes sintéticos, em solo contaminado, tem sido utilizados como uma das estratégias de tratamento, para aumentar a transferência de massa de poluentes orgânicos hidrofóbicos (LAHA et al., 2009). Eles são comumente usados para melhorar a degradação microbianas de compostos hidrofóbicos na água e solo (CHAMKHA et al., 2011; MOHANTY et al., 2013).

Os compostos ativos na superfície podem melhorar a mobilidade e remoção de compostos hidrofóbicos de solos contaminados reduzindo as tensões interfaciais entre o óleo e a água, bem como a viscosidade, e conseqüentemente, a biodegradação é favorecida (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011).

A atividade do surfactante e a hidrofobicidade são benéficas para a interação entre microrganismos e substratos insolúveis, além de superar as limitações de difusão durante o transporte do substrato para as células (KAVITHA et al., 2014).

Os BTX são os menos insolúveis em água sendo considerado um óleo solúvel (MOTTA et al., 2009). A adição de surfactante aumenta a migração de hidrocarbonetos pelo solo após a dissolução e emulsão (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011). A dissolução de contaminantes hidrofóbicos é devida a incorporação de moléculas para núcleo hidrofóbico das micelas em solução (GUHA; JAFFÉ, 2009). Os surfactantes podem cobrir hidrocarbonetos hidrofóbicos como um envelopamento para que o complexo completo seja transportado por meio da membrana celular, o que permite que o metabolismo ocorra no citoplasma (RON; ROSENBERG, 2014).

Uma boa estratégia é selecionar bactérias capazes de catabolizar o contaminante alvo além de produzir surfactante (MEGHARAJ et al., 2011). Em relação à adesão mediada por surfactante, a maioria das bactérias degradantes de poluentes de hidrocarbonetos de petróleo

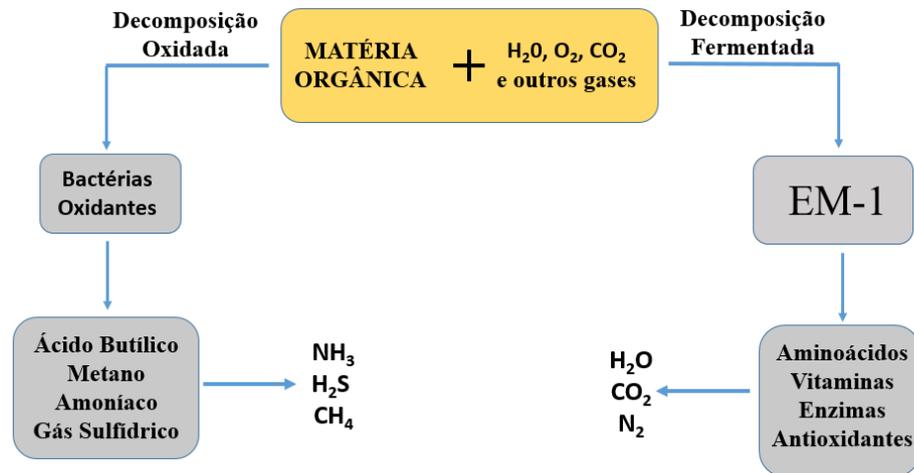
produzem e secretam biossurfactantes de natureza química diversa que permitem a emulsificação de compostos hidrofóbicos (RON; ROSENBERG, 2014).

Os emulsionantes derivados de micróbios ou os biossurfactantes são moléculas anfifílicas que consistem em uma cabeça hidrofílica e uma cauda hidrofóbica. Os biossurfactantes poderiam ser facilmente produzidos a partir de recursos renováveis por meio de fermentação microbiana, possuindo vantagem adicional sobre o surfactante quimicamente sintético (MNIF; GHRIBI, 2015). Estes biossurfactantes de baixo e alto peso molecular encontram seus usos nas indústrias de processamento alimentícia, de cosméticos e farmacêutica, além de tentativas de utilização na biorremediação (CHRISTOFI; IVSHINA, 2002). Porém, os biossurfactantes podem ser tóxicos para os microrganismos que degradam os contaminantes, ou podem ser utilizados preferencialmente (MEGHARAJ et al., 2011).

3.7 MICRORGANISMOS EFICAZES

Conforme informações do fabricante do EM-1[®], a Ambiem Ltda Brasil de Lauro de Freitas-BA (2017), o produto elimina odores e promove a decomposição rápida de matéria orgânica por meio de fermentação ao acelerar a quebra de compostos como proteínas, açúcares, gorduras, minerais e até mesmo fibras, com exclusão competitiva de microrganismos indesejáveis que provocam ineficiência do sistema. Outra forma do produto agir é por meio da produção de substâncias bioativas benéficas que promovem enzimas, ácidos orgânicos, aminoácidos e antioxidantes melhorando a saúde do meio. O EM-1[®] facultativamente pode atuar aerobiamente ou anaerobiamente e é um líquido em suspensão homogênea de cor marrom e odor agridoce, com uma massa específica média de 1,02 g/cm³, com o pH variando de 3,0 a 3,5 e uma concentração superior a 4x10³ UFC/mL. A Figura 9 demonstra a atuação do consórcio microbiano no processo de biodegradação.

Figura 9 – Processo de biodegradação por meio do consórcio microbiano



Fonte: Ambiem Ltda Brasil - Lauro de Freitas-BA (2017).

3.8 ÍNDICES FÍSICOS E LIMITES DE CONSISTÊNCIA DE UM SOLO

Os índices físicos do solo podem ser obtidos de acordo com o livro Curso Básico de Mecânica do Solos de autoria de Pinto (2006).

Para que haja garantia da uniformidade do teor de umidade w , é necessário conhecer o teor de umidade inicial do solo antes de passar pela estufa a 105°C . Desta forma, a massa do solo seco será conhecida após a amostra passar pela estufa por um período de 24h, expresso pela Equação 1.

$$W_i = \frac{m - m_s}{m_s} \quad \text{Equação 1}$$

Sendo:

w_i – Teor de umidade inicial (%);

m – Massa do solo úmido antes de passar por estufa a 105°C (g);

m_s – Massa de sólidos do solo (g).

O teor de umidade corrigido a partir do solo seco, representado pela Equação 2, é obtido após adicionar água para que o teor de umidade esteja nas condições experimentalmente determinadas.

$$W_f = \frac{m_w}{m_s} \quad \text{Equação 2}$$

A massa de água m_w a ser adicionada na mistura do solo é obtida pela Equação 3 a seguir.

$$m_w = W_f \cdot m_s \quad \text{Equação 3}$$

Sendo:

m_w – Massa de água a ser adicionada para garantia do teor de umidade desejado (g);

w_f – Teor de umidade final desejado (%)

A massa específica do solo ρ é dada pela Equação 4.

$$\rho = \frac{m_s + m_w}{V_t} \quad \text{Equação 4}$$

Sendo:

ρ - Massa específica do solo (g/cm^3);

V_t – Volume total de solo (cm^3).

A massa específica seca ρ_d pode ser conhecida pela Equação 5:

$$\rho_d = \frac{\rho}{1 + w_f} \quad \text{Equação 5}$$

ρ_d – Massa específica seca do solo arenoso fino (g/cm^3).

A massa específica dos grãos do solo arenoso fino $\rho_{s,\text{sólidos}}$ é obtida pelos procedimentos da ABNT NBR 6508: 1984 e em conjunto com Equação 5 é possível obter o índice de vazios pela Equação 6.

$$e = \frac{\rho_{\text{sólidos}}}{\rho_d} - 1 \quad \text{Equação 6}$$

$\rho_{\text{sólidos}}$ - Massa específica dos grãos do solo (g/cm^3).

A partir da porosidade n e o índice de vazios é possível obter o volume de vazios V_v fornecido na Equação 7.

$$n = \frac{e}{1 + e} = \frac{V_v}{V_t} \quad \text{Equação 7}$$

Então, o volume de vazios V_v pode ser expresso pela Equação 8.

$$V_v = \frac{e}{1 + e} V_t \quad \text{Equação 8}$$

O volume de sólidos pode ser conhecido por meio da Equação 9.

$$V_s = V_t - V_v \quad \text{Equação 9}$$

V_s – Volume total de sólidos do solo (cm^3).

O índice de plasticidade (IP) dado pela Equação 10, pode ser obtido a partir do limite de liquidez (LL), o qual é dado pelos procedimentos da ABNT NBR 6459: 1984, e do limite de plasticidade (LP) cujo valor é calculado pela ABNT NBR 7180: 1984.

$$IP = LL - LP \quad \text{Equação 10}$$

Sendo assim, para limites de consistência de Atemberg, valores inferiores a LP o solo se comporta como de sólido, com valores entre LL e LP este apresenta plasticidade e para valores superiores a LL o comportamento é líquido.

3.9 TÉCNICA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A técnica de difração de raios X (DRX) é utilizada para identificar constituintes dos materiais (YACOUB, 2017). Esta técnica é uma ferramenta importante para analisar argilominerais, pois é possível obter de forma rápida e com grande precisão uma dimensão dos principais planos cristalográficos do mineral. Nesta técnica são gerados os raios X a partir do bombardeamento de elétrons de alta energia em um alvo metálico. (CEDEÑO, 2015).

A partir de uma interferência construtiva entre os raios X emitidos pelo tubo de raios X e os planos cristalinos formados pelo alinhamento dos átomos do material. O efeito da difração de raios X pode ser descrito pela Equação 11 dada pela lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d \cdot \sin\theta \quad \text{Equação 11}$$

Onde,

n: Ordem de reflexão;

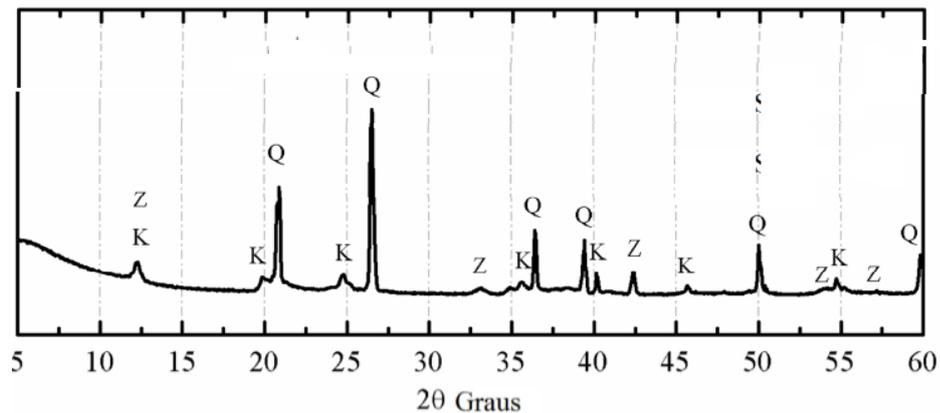
λ : Comprimento de onda dos raios X;

d: Distância entre os planos atômicos paralelos sucessivos no cristal e;

θ : Ângulo formado com o plano atômico entre o feixe incidente e o refletido.

Yacoub (2017) utilizou um solo arenoso fino coletado na mesma área em que foi coletado o solo arenoso fino utilizado nos microambientes do presente trabalho e obteve um gráfico referente a um ensaio DRX exposto na Figura 10, em que o quartzo (SiO_2), caulinita K ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5$) zeólita ($\text{NaCaAl}_3\text{Si}_3\text{O}_{12}$) são representados pelas letras Q, K e Z, respectivamente. As medidas foram feitas com uma faixa de 5° a 60° com uma radiação $\text{K}\alpha$ Cu 30 kV e 40 kV ângulo de passo 0,02 e um tempo de acumulação de 2 segundos.

Figura 10 - Gráfico de ensaio de difração de raio-x de um solo arenoso fino oriundo de Ilha Solteira – SP



Fonte: Yacoub (2017).

3.10 TEOR DE UMIDADE E TEOR DE CARBONO

De acordo com a metodologia de Robertson (2011) o Teor de Umidade (%) pode ser conhecido por meio da Equação 12 e o Teor de Carbono (%) pode ser conhecido por meio da Equação 13 a seguir.

$$\text{Teor de Umidade (\%)} = \frac{(M_{\text{Solo Úmido}}) - (M_{\text{Solo Seco}})}{M_{\text{Solo Seco}}} \cdot 100 \quad \text{Equação 12}$$

Sendo (em g):

$M_{\text{Solo Úmido}}$: Massa do solo arenoso fino contaminado úmido.

$M_{\text{Solo Seco}}$: Massa do solo arenoso fino contaminado após estufa a 105°C.

O Teor de Carbono (%) pode ser conhecido pela Equação 13 a seguir.

$$\text{Teor de Carbono (\%)} = \frac{(M_{\text{Solo Seco}}) - (M_{\text{Solo Queimado}})}{M_{\text{Solo Seco}}} \cdot 100 \quad \text{Equação 13}$$

Sendo em (g):

$M_{\text{Solo Seco}}$: Massa do solo arenoso fino contaminado retirado do microambiente após estufa a 105°C.

$M_{\text{Solo Queimado}}$: Massa do solo arenoso fino após forno mufla a 550°C.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E MATERIAL UTILIZADO

Os experimentos foram realizados, em uma sala aclimatizada a uma temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, no Laboratório de Hidráulica e Saneamento da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, onde foi realizado a agitação das soluções sintéticas de óleo diesel e de BTX PA-ACS como os ensaios em microambientes.

Nos presente trabalho foi utilizado solo arenoso fino (Solo Torre de Ilha Solteira-SP), benzeno PA ACS CAS 71-43-2 (Dinâmica Química Contemporânea LTDA), tolueno PA-ACS CAS 108-88-33 (Dinâmica Química Contemporânea LTDA), xileno PA-ACS CAS 1330-20-7 (Dinâmica Química Contemporânea LTDA), EM-1[®] (Ambiem Ltda Brasil, Lauro de Freitas-BA), melação de cana *in natura* proveniente de usina sucroalcooleira, glicose anidra PA-ACS, sulfato de amônio e alumínio dodecahidratado (Synth), fosfato de potássio monobásico PA-ACS (Synth), sulfato de ferro (oso) PA-ACS (Synth), sulfato de magnésio PA-ACS (Synth), diesel combustível de postos de abastecimento de Ilha Solteira-SP, ácido esteárico CAS 57-11-4 (Leonfarma Labor Farmacia Ltda – ME), ácido clorídrico P.A. (Synth), cloreto de sódio P.A. (Synth), diclorometano Vetec grau HPLC, acetona CAS 67-64-1 (Dinâmica Química Contemporânea LTDA), água deionizada obtida pelo equipamento de purificação de água (Gehaka modelo DG500), dessecadores (Chiarotti), vidraria básica para laboratório de química, cadinhos de porcelana (Chiarotti – vários tamanhos), êmbolo plástico artesanal para coleta de solo (diâmetro interno de 0,5 mm), cromatógrafo Shimadzu (especificações no item 4.6.1), autoclave vertical 225L – Primatec, forno mufla (EDGCOM IP 220V), forno estufa de esterilização e secagem (Fanem, modelo 315 SE), agitador vórtex (MOD QL901-220V - Biomixer), balança analítica (Shimadzu, modelo AY220), agitadores magnéticos (Nova Ética, modelo 113), centrífuga (Fanem Excelsa II, modelo 206BL) e pHmetro Metrhohm calibrado com solução tampão de pH 4,00 e 7,00.

4.2 SOLUÇÕES UTILIZADAS NOS MICROAMBIENTES PARA TESTES

4.2.1 Solução de óleo diesel para analisar remoção de benzeno, tolueno e xileno

A solução de óleo diesel em água deionizada cuja proporção diesel/água deionizada (em volume) foi adotada com o valor de 5%, produzida por meio de agitação magnética para promover o contato da água com o óleo diesel por um período de 24 horas. O pH da solução de óleo diesel em água deionizada foi de $6,78 \pm 0,18$.

4.2.2 Solução sintética de benzeno, tolueno e xileno

A solução sintética de BTX foi com uma temperatura em torno de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e promoveu-se o contato por meio de agitação magnética, por um período de 24 horas, de uma solução de BTX PA-ACS constituída de benzeno (CAS 71-43-2), tolueno (CAS 108-88-33) e xileno (CAS 1330-20-7) em água deionizada com uma proporção em volume de 1:1:1:17. Foram utilizados dois balões volumétricos (volume em mL 50:50:50:850 de B:T:X:água) sendo que em um deles foi adicionado ácido esteárico para a realização de comparação com outro balão, com a mesma proporção em volume para verificar a eficácia do ácido esteárico em solubilizar o BTX PA-ACS e para favorecer a bioacessibilidade dos microrganismos (VARJANI; UPASANI, 2017). Mohanty et al. (2013) observou que surfactantes podem ser tóxicos aos microrganismos, portanto é necessário verificar o impacto do surfactante na taxa de biodegradação e nas alterações de pH dos microambientes.

A quantidade de surfactante utilizada foi baseada nos estudos de Ilori et al. (2005) e Cerqueira e Costa (2008) cuja relação BTX/ácido esteárico não poderia ter uma toxicidade excessiva ao microambiente, portanto foi aplicada a mesma relação que estes autores utilizaram sendo a de 1% para a relação massa de surfactante por massa de solução para que de forma preventiva não ocorresse intoxicação excessiva nos microambientes que viriam a receber a solução sintética de BTX contendo ácido esteárico. A quantidade adicionada de ácido esteárico como surfactante foi de 10 g (1% para a relação massa surfactante por massa de solução) ao balão volumétrico de 1 L contendo a relação 1:1:1:17 de BTX. Os valores de pH foram de $7,18 \pm 0,22$ para a solução sintética com ácido esteárico e de $7,55 \pm 0,35$ para a solução sem ácido esteárico.

4.2.3 Solução de nutrientes

Os nutrientes favorecem o crescimento e a reprodução de microrganismos (MICHELS et al., 2000). A formulação de estratégias de tratamento com nutrientes e a manutenção do controle sobre as taxas de degradação precisam ser adaptados a combinações específicas dos locais contaminados e dos poluentes (MEGHARAJ et al., 2011).

De acordo com as recomendações de Garcia-Peña et al. (2001) e Rodrigues (2006), para bioestimular a biota presente no solo arenoso fino dos elenmenyers foi adicionado micronutrientes aos microambientes (uma vez por semana a partir do primeiro dia com as seguintes concentrações sendo eles $\text{NH}_4\text{Al}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Como sugeriu Santaella et al. (2005) também foi adicionado glicose $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

como macronutriente apenas na primeira aplicação apenas para promover o crescimento inicial dos fungos. A Tabela 5 descreve os elementos pertencentes a solução de nutrientes.

Tabela 5 - Elementos pertencentes a solução de nutrientes

Nutriente	Concentração (mg/L)
Glicose anidra	200,00
Sulfato de ferro (oso)	0,10
Sulfato de magnésio	2,00
Sulfato de potássio monobásico	4,00
Sulfato de amônio e alumínio	20,00

Fonte: Elaboração do próprio autor.

A solução de nutrientes foi esterilizada por 15 minutos em autoclave a 120°C para ser aplicada semanalmente 4 mL nas amostras dos Ensaios 1, 2, 3 e 4 e 2 mL nas amostras dos Ensaios 5 e 6.

4.2.4 Solução de microrganismos

A ativação do produto EM-1[®] em 5% foi realizada com a mescla de 0,1 L de EM-1[®] e 0,1 L de melão de cana-de-açúcar *in natura* com pH de 5,73 em 1,8 L de água não clorada (deionizada) em um béquer e a mistura foi realizada com um bastão de vidro. O produto ficou em repouso (8 dias) em um balão volumétrico fechado até possuir um pH de 3,83 para ser aplicado no solo arenoso fino para constituir os microambientes.

4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA VERIFICAR A PRESENÇA DE MICRORGANISMOS

A técnica Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV consiste de um canhão de elétrons, compartimento para amostra e detectores. Os elétrons secundários (que originalmente residem na amostra) recebem o feixe proveniente do canhão de elétrons (com baixa energia, apenas alguns eV). Com isso, os elétrons das amostras são diferenciados dos elétrons retroespalhados oriundos do canhão de elétrons.

As imagens obtidas por MEV da solução de microrganismos foram realizados no Departamento de Física e Química da FEIS/UNESP por um aparelho Carl Zeiss, modelo EVO LS15.

4.4 SOLO ARENOSO FINO

O solo arenoso fino utilizado nesta pesquisa foi coletado em uma área situada no município de Ilha Solteira – SP com coordenadas geográficas -20.390863° S e 51.525715° O.

Os ensaios físicos do solo arenoso fino foram baseados nas normas brasileiras da ABNT e foram realizados nos laboratórios de Geotecnia e Pavimentação, ambos pertencentes ao Laboratório de Engenharia Civil da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira.

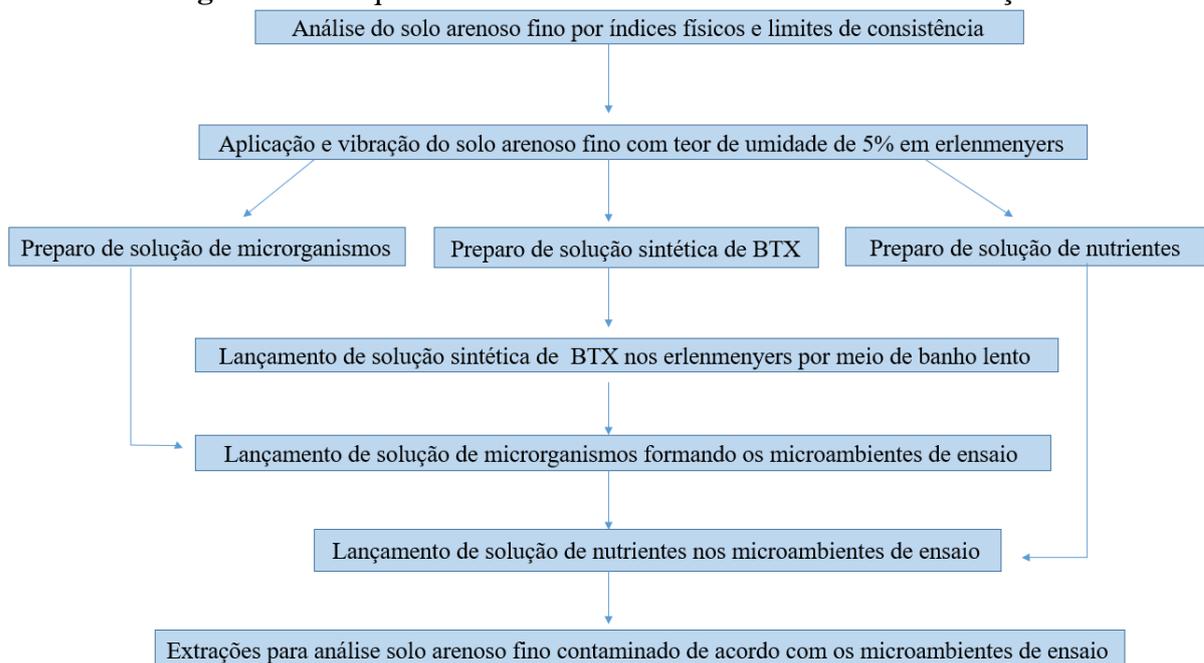
O ensaio de caracterização mineralógica por difração de raio X (DRX) foi realizado no laboratório do DFQ (Departamento de Física e Química) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira por meio do aparelho Shimadzu X-Ray Diffractometer XRD-6000.

4.5 ENSAIOS DE BIORREMEDIAÇÃO

Os ensaios em microambientes foram realizados no Laboratório de Saneamento do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Ilha Solteira para se obter informações sobre a biorremediação em um solo arenoso fino contaminado por BTX.

O diagrama exposto na Figura 11 demonstra a seqüência de atividades referentes aos ensaios de biorremediação.

Figura 11 – Sequência de atividades dos ensaios de biorremediação



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Os experimentos de biorremediação foram realizados por meio de ensaios em microambientes situados em erlenmeyers (todos previamente esterilizados por 15 minutos na autoclave a 120°C). O planejamento experimental ocorreu por meio de 6 tipos ensaios contendo diferentes quantidades da solução de microrganismos (exceto amostras controle), solo arenoso fino contaminado por solução sintética de óleo diesel (Ensaio 1, 2, 3, 4 e 5) ou

por solução sintética contendo BTX PA-ACS (Ensaio 6) dissolvido em água deionizada para verificar o desempenho da biorremediação com presença de surfactante.

Os microambientes foram padronizados com o mesmo teor de umidade inicial e com o mesmo índice de vazios em cada ensaio. Com isso, o desencadeamento do processo de biorremediação teve condições de ocorrer tanto aerobiamente (acessibilidade do O₂ da atmosfera) quanto anaerobiamente devido a presença de rotas metabólicas alternativas dos microrganismos biodegradantes, pois por meio de adição da solução de nutrientes há possibilidade de ocorrência de respiração fúngica alternativa (TAKAYA et al., 2002)

O solo, após ter sido destorroado, foi exposto ao sol durante 7 dias seguidos no período diurno. O revolvimento do solo arenoso fino foi realizado dioturnamente para acelerar o processo de evaporação até que o teor de umidade (massa de água por massa de sólidos) obtivesse um valor inferior a 5%, e com isso, se necessário houvesse a adição de água para garantir um teor de umidade inicial de 5% para todas as amostras.

Com auxílio de um agitador magnético foi possível padronizar o índice de vazios do solo por meio de vibração dos erlenmeyers. Para os Ensaios 1, 2, 3 e 4 foi utilizado 370g de solo arenoso fino e a vibração ocorreu até o solo ocupar o volume de 300 cm³. De semelhante modo, nos Ensaios 5 e 6, os erlenmeyers foram vibrados até a massa de 185g de solo arenoso fino com teor de umidade de 5% para ocupar o volume de 150 cm³. A Figura 12 demonstra a compactação do solo com umidade de 5% ocupando 300 cm³ do erlenmeyer.

Figura 12 – Solo arenoso fino após compactação por agitação magnética no erlenmeyer mantendo-se um volume de 300 cm³



Fonte: Próprio autor.

Para que os microambientes recebessem as massas líquidas de forma homogênea em todo os vazios do solo arenoso fino, com um umedecimento descendente gradativo, foi utilizado um funil havia um estrangulamento adaptado no furo da parte interior para

desenvolvimento de um banho lento sobre toda superfície do solo arenoso fino situado nos erlenmeyers.

De acordo com Chen et al. (2010), a volatilização dos COV pertencentes aos compostos BTX em solos ocorre de forma praticamente total em um período situado entre 8 e 12 horas. Desta forma, após o banho lento das soluções sintéticas nos erlenmeyers, o microambiente permaneceu em descanso por um período de 24 horas para que a volatilização ocorresse de forma mais intensa, e assim, somente depois a solução de microrganismos foi aplicada nos erlenmeyers. Além do mais, o período de 24 horas serviu como aclimação para haver uma seleção natural entre a solução de microrganismos e a biota autóctone em contato com a solução sintética.

4.5.1 Ensaio 1

O Ensaio 1 foi realizado em 9 erlenmeyers com solo arenoso fino esterilizado em autoclave (15 minutos a 120°C) e em 9 erlenmeyers com arenoso fino solo não esterilizado. Em cada erlenmeyer foi adicionado 100 mL de solução sintética de diesel em 370 g de solo arenoso fino que ocupou um volume de 300 cm³ de solo arenoso fino. Este ensaio teve a finalidade de verificar:

- A variação do teor de carbono num período de 15 dias;
- A variação do pH em 8 dias, 16 dias, 25 dias e 45 dias de experimento;
- A concentração de BTX aos 30 dias para as amostras esterilizadas e não esterilizadas.

Diferentes volumes de solução de microrganismos foi adicionada para os microambientes esterilizados e para os microambientes não esterilizados, exceto nas amostras controle. Os microambientes que não eram amostras controle receberam um volume de solução de microrganismos que variou entre 0,78 mL a 100 mL e em todas as amostras o teor de umidade possuíram o mesmo valor.

Para o Ensaio 1, a massa de água total adicionada aos microambientes foi excedente ao índice de vazios do solo arenoso fino nos erlenmeyers. Com isso, para aumentar o contato entre o solo arenoso fino, a solução sintética de diesel, a solução de microrganismos e de nutrientes foi realizada uma agitação manual por meio de um bastão de vidro deixando o erlenmeyer.

4.5.2 Ensaio 2

O Ensaio 2 teve como finalidade observar a tendência de comportamento do pH a num período de 8, 16, 25 e 45 dias e a redução de concentração de BTX num período de 30 dias,

de acordo com a variação da quantidade de aplicação da solução de microrganismos. Este ensaio foi constituído de 9 erlenmeyers com solo arenoso fino não esterilizado em que foi adicionado 100 mL de solução sintética de diesel em 370 g de solo arenoso fino com um volume de 300 cm³ de solo arenoso fino em cada erlenmeyer sendo que o teor de umidade nos microambientes possuiu o mesmo valor.

Diferentes volumes de solução de microrganismos foram adicionados aos 9 microambientes não esterilizados, exceto nas amostras controle. Os microambientes que não eram controle receberam um volume de solução de microrganismos que variou entre 0,20 mL e 25 mL.

A massa total de água adicionada aos microambientes do Ensaio 2 foi suficiente para deixar solo arenoso fino saturado nos erlenmeyers. Não foi utilizado nenhum artifício para favorecer o contato entre os elementos do microambiente. O umedecimento ocorreu de acordo com fluxo gravitacional da massa líquida lançada na superfície superior do banho lento.

4.5.3 Ensaio 3

O Ensaio 3 foi constituído de 9 erlenmeyers contendo solo arenoso fino não esterilizado dos quais foi adicionado 100 mL de solução sintética de diesel em 370 g em um volume de 300 cm³ de solo arenoso fino em cada erlenmeyer. Assim como no Ensaio 2, diferentes volumes de solução de microrganismos foram adicionados aos 9 microambientes não esterilizados, exceto nas amostras controle.

A finalidade do Ensaio 3 foi de:

- Verificar a redução da umidade com o passar do tempo num entre 25 dias e 65 dias além de comparar o teor de carbono pertencente aos microambientes nos dois períodos de estudo.
- Verificar a redução da concentração de BTX a partir de valores otimizados obtidos por meio do Ensaio 2.

Os microambientes que não eram amostras controle receberam um volume de solução de microrganismos que variou entre 1,25 mL a 6,25 mL e todos os microambientes possuíram o mesmo teor de umidade.

Para o Ensaio 3, assim como no Ensaio 2, a massa de água total adicionada aos microambientes foi suficiente para deixar solo arenoso fino saturado nos erlenmeyers. Não foi utilizado nenhum artifício para favorecer o contato entre os elementos do microambiente. O umedecimento ocorreu de acordo com fluxo gravitacional da massa líquida lançada na superfície superior do banho lento.

4.5.4 Ensaio 4

O Ensaio 4 foi constituído de 1 erlenmeyer com solo arenoso fino esterilizado em autoclave (15 minutos a 120°C) e 1 erlenmeyer com solo arenoso fino não esterilizado, ambos contendo 100 mL de solução sintética de diesel adicionada em 370 g em um volume de 300 cm³ de solo arenoso fino em cada erlenmeyer. Para o Ensaio 4, o volume da solução de microrganismos foi de 1,50 mL, sendo assim, para garantia da mesma quantidade de massa de líquida foi adicionada 23,5 mL de água deionizada, e com isso o volume total foi de 25 mL de massa líquida constituída de água deionizada e solução de microrganismos para uniformidade das amostras. Como o Ensaio 4 seguiu procedimentos similares aos do Ensaio 2 e 3, a massa de água total adicionada aos microambientes foi suficiente para deixar o solo arenoso fino saturado nos erlenmeyers. Não foi utilizado nenhum artifício para favorecer o contato entre os elementos do microambiente, portanto o umedecimento ocorreu de acordo com fluxo gravitacional da massa líquida lançada na superfície superior do banho lento.

4.5.5 Ensaio 5

O Ensaio 5 possuiu microambientes esterilizados e não esterilizados para verificação de pH por meio de amostras coletadas em 7, 38 e 59 dias e para verificação do teor de umidade, do teor de carbono e da obtenção da concentração de BTX período de 14, 32 e 42 dias.

Os microambientes do Ensaio 5 foram realizados em duplicata. O Ensaio 5 foi constituído de 6 erlenmeyers com solo arenoso fino esterilizado em autoclave (15 minutos a 120°C) e 6 erlenmeyers com solo arenoso fino não esterilizado. Foi adicionado um volume de 50 mL de solução sintética de diesel em 185 g em um volume 150 cm³ de solo arenoso fino nos erlenmeyers.

Diferentes volumes de solução de microrganismos foram adicionados sobre os microambientes esterilizados e sobre os não esterilizados, exceto nas amostras controle. A quantidade adicionada de solução sintética de diesel foi de 50 mL para todos os microambientes e sob as mesmas condições e a variação do teor de umidade ocorreu devido o volume de solução de microrganismos adicionado ser diferente entre as 6 amostras em comparação.

Os microambientes que não eram amostras controle receberam um volume de solução de microrganismos que variou entre 2 mL a 20 mL. A massa de água total adicionada aos microambientes foi suficiente para deixar solo arenoso fino saturado nos erlenmeyers e o

umedecimento ocorreu de acordo com fluxo gravitacional da massa líquida lançada na superfície superior do banho lento.

4.5.6 Ensaio 6

O Ensaio 6 foi constituído de microambientes contendo 185 g em um volume de 150 cm³ de solo arenoso fino nos erlenmeyers. Também foi adicionado por meio de banho lento, 50 mL de solução sintética de BTX PA-ACS. Em 5 erlenmeyers aplicou-se solução sintética de BTX PA-ACS contendo ácido esteárico (amostras AE) e em 5 erlenmeyers aplicou-se solução sintética de BTX PA-ACS em não houve adição de surfactante para constituir amostras sem ácido esteárico (SAE).

Diferentes volumes de solução de microrganismos foram adicionados (de 2 mL a 25 mL), exceto nas amostras controle, sobre os microambientes que continham ácido esteárico (AE) e sobre os microambientes que não continham ácido esteárico (SAE) para comparação da remoção de BTX e a variação de pH em 5, 9, 16 e 24 dias. A variação do teor de umidade ocorreu devido as quantidades de soluções de microrganismos adicionadas serem diferentes entre as amostras em comparação.

4.6 pH DOS MICROAMBIENTES

Para observar o comportamento da variação de pH dos microambientes foi efetuada uma adaptação do método de Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA (2011) para obtenção do pH do solo arenoso fino contaminado. Devido a quantidade de solo retirada dos microambientes não poder ser excessiva, a mesma proporção solo:água de 1:2,5 foi mantida, porém ao invés de se utilizar 10 mL de solo para 25 mL de água deionizada, homogeneizados em um copo plástico com um bastão de vidro, foi utilizado 2,5 mL de solo contaminado (coletado por meio do êmbolo artesanal de 5 mm de diâmetro) em 6,25 mL de água deionizada, homogeneizados em um tubo de ensaio por meio do agitador vórtex durante 1 minuto e após a homogeneização, a amostra ficou em descanso período 1 hora para somente depois as medições de pH fossem efetuadas por meio de um pHmetro digital com eletrodo devidamente calibrado.

4.7 TEOR DE UMIDADE E TEOR DE CARBONO DOS MICROAMBIENTES

O teor de umidade e teor de carbono dos microambientes foram conhecidos pela metodologia de Robertson (2011). Foi coletado por meio do êmbolo artesanal de 3 a 5 gramas de solo arenoso fino e este foi depositado em um cadinho de porcelana. Antes da pesagem das

amostras, os cadinhos passaram por processo de queima no forno mufla a 550°C para não haver umidade nas paredes do cadinho nem possíveis resíduos orgânicos. As massas foram conhecidas por meio de uma balança analítica com precisão de 0.0005 g. Inicialmente, o solo arenoso fino contaminado coletado dos microambientes foi adicionado aos cadinhos para obtenção da massa do cadinho e do solo úmido. Logo após, os cadinhos que continham solo arenoso fino contaminado úmido foram encaminhados a uma estufa a 105° C por um período de 24 horas. As amostras foram deixadas em um dessecador por 30 minutos para manter o teor de umidade próximo de 0% e com a temperatura próxima da ambiente para não haver alterações na precisão da balança analítica. Após passar por estufa a 105°C, tendo a massa de solo arenoso fino contaminado seco conhecida, os cadinhos que continham solo arenoso fino seco foram encaminhados ao forno mufla a 550°C para que permanecesse no cadinho apenas o material inorgânico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

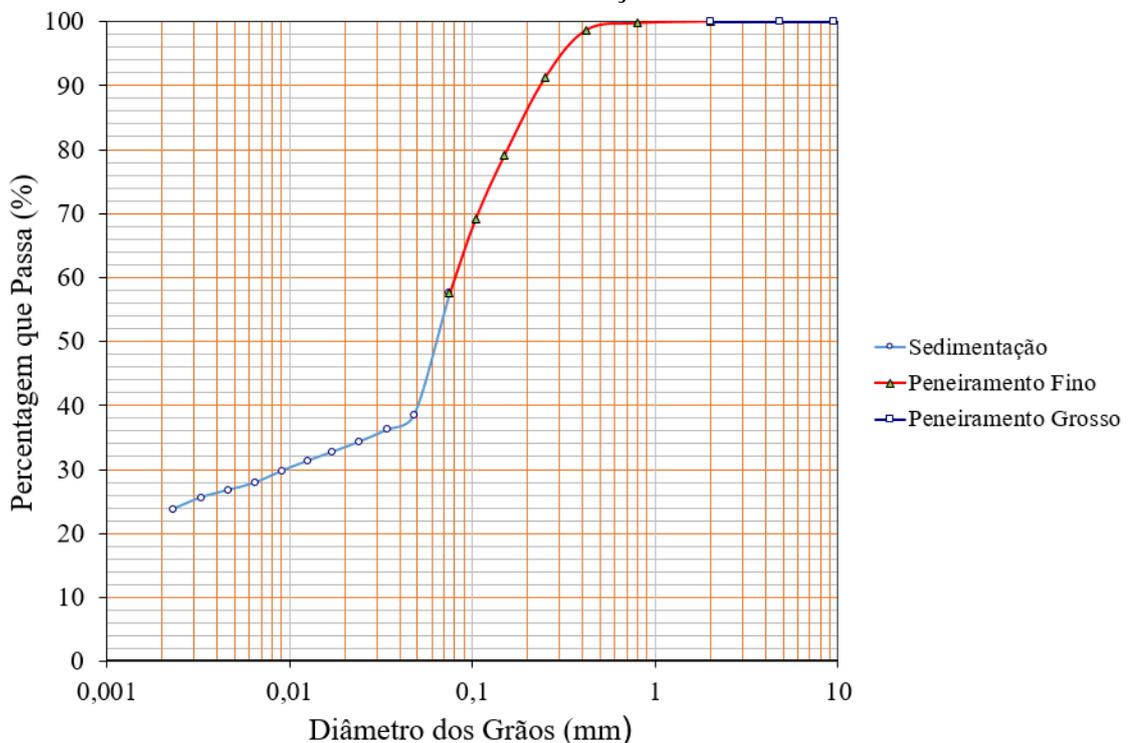
Por meio da aplicação de técnica de bioaumentação e bioestimulação foi possível obter uma visão holística do comportamento da biorremediação mediante os parâmetros escolhidos para analisar os Ensaios 1, 2, 3, 4, 5 e 6. A biorremediação sofreu interferência de fatores abióticos como pH, temperatura, propriedades do solo, concentração e disponibilidade de poluentes e fatores bióticos como a seleção natural dos microrganismos mais resilientes decorrente de competição com microrganismos autóctones ou predação por protozoários (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010).

5.1 SOLO ARENOSO FINO

5.1.1 Índices físicos e limites de consistência de um solo

Por meio de ensaios de peneiramento e sedimentação apresentados ABNT NBR 7181: 1984, o solo apresentou textura arenosa fina com a composição de 30,7% de argila, 16,3% de silte, 45,10% de areia fina, 6,6% de areia média e 1,4% de areia grossa. A curva granulométrica do solo pode ser visualizada pelo gráfico expresso na Figura 13.

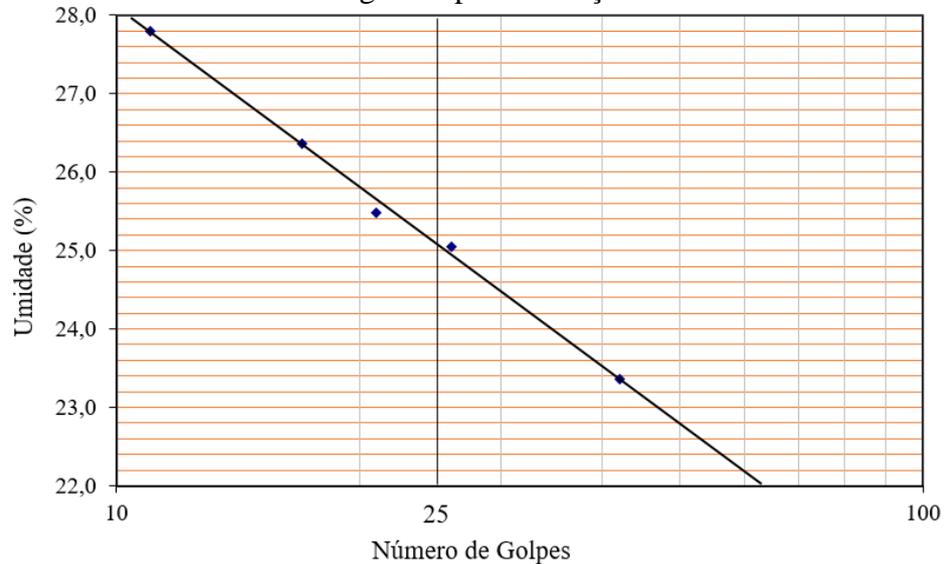
Figura 13 - Curva granulométrica do solo arenoso fino utilizado nos ensaios de biorremediação



Fonte: Elaboração própria do autor.

O limite de liquidez (LL) foi obtido por meio de procedimentos da ABNT NBR 6459: 1984 e pode ser visualizado no gráfico demonstrado na Figura 14 em que para 25 golpes do aparelho de Casagrande o teor de umidade foi de 25,1%.

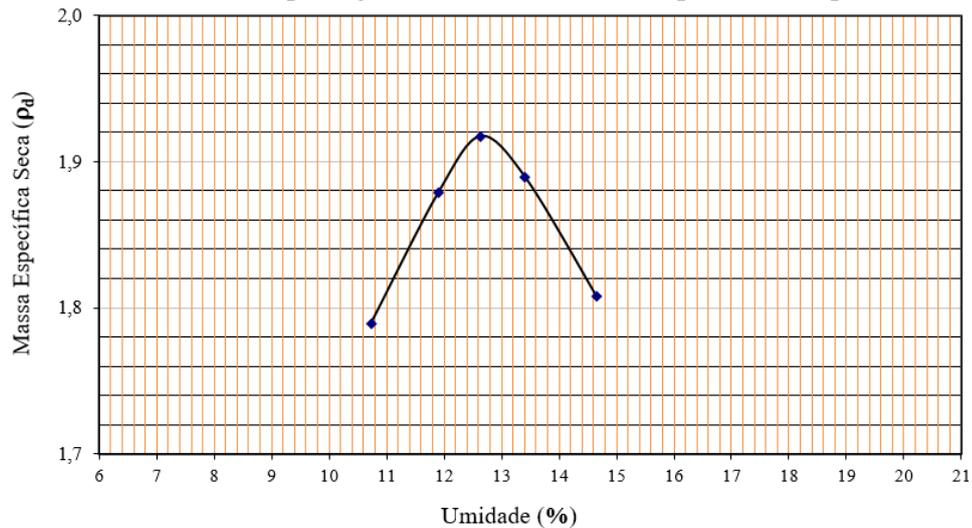
Figura 14 - Gráfico do ensaio de Casagrande para obtenção do LL do solo arenoso fino



Fonte: Elaboração do próprio autor.

O limite de plasticidade (LP) foi obtido pelo procedimento da ABNT NBR 7180: 1984 cujo valor foi de 15,9 %, portanto o índice de plasticidade (IP) foi de 9,2%. Sendo assim, para limites de consistência de Aterberg, teor de umidade para valores inferiores a 15,9% o solo deste presente trabalho tem comportamento de sólido, 15,9% e 25,1% apresenta plasticidade e com valores acima de 25,1%, o solo tem comportamento líquido.

Para o ensaio de compactação proctor normal, de acordo com os procedimentos da ABNT NBR 7182: 1986, a massa específica seca para o solo arenoso fino foi de $1,915 \text{ g/cm}^3$ com um teor de umidade ótima de 12,6 % conforme pode ser visto no gráfico exposto na Figura 15.

Figura 15 - Curva de compactação do solo arenoso fino pelo ensaio proctor normal

Fonte: Elaboração do próprio autor.

A umidade do solo foi corrigida para manter o valor constante de 5% para a garantia das mesmas condições de acomodação e compactação nos erlenmeyers. O solo de textura arenosa fina com o teor de umidade de 5% se apresentou bastante seco e com baixa coesão (abaixo do limite de plasticidade e da umidade ótima). Por meio de inspeção táctil-visual prévia e imediatamente após a inserção do solo arenoso fino nos erlenmeyers e, posteriormente com a realização da compactação por meio vibracional com uso do agitador magnético, foi observado um ligeiro comportamento fofo do solo arenoso fino. Este comportamento do solo arenoso fino também foi constatado pela curva de compactação do ensaio de proctor normal exposta na Figura 15 em que a umidade de 5% está inacessível por ser exageradamente baixa com relação à umidade ótima e por estar distante da reta pertencente ao ramo seco da curva do ensaio de proctor normal. Após a compactação, nos Ensaios 1, 2, 3, 4, 5 e 6, foi de 1,172 de g/cm^3 , a massa específica seca do solo arenoso fino foi de 1,116 g/cm^3 , massa específica dos grãos do de 2,668 g/cm^3 , índice de vazios de 1,391 e porosidade de 0,582. Para os Ensaios 1, 2, 3 e 4, os erlenmeyers foram ocupados com 351,50 g de massa de sólidos e 18,50 g para manter os 5% de teor de umidade. Por sua vez, para os Ensaios 5 e 6, a massa de sólidos foi de 175,75 g enquanto que a massa de água foi de 9,25 g mantendo os 5% de umidade.

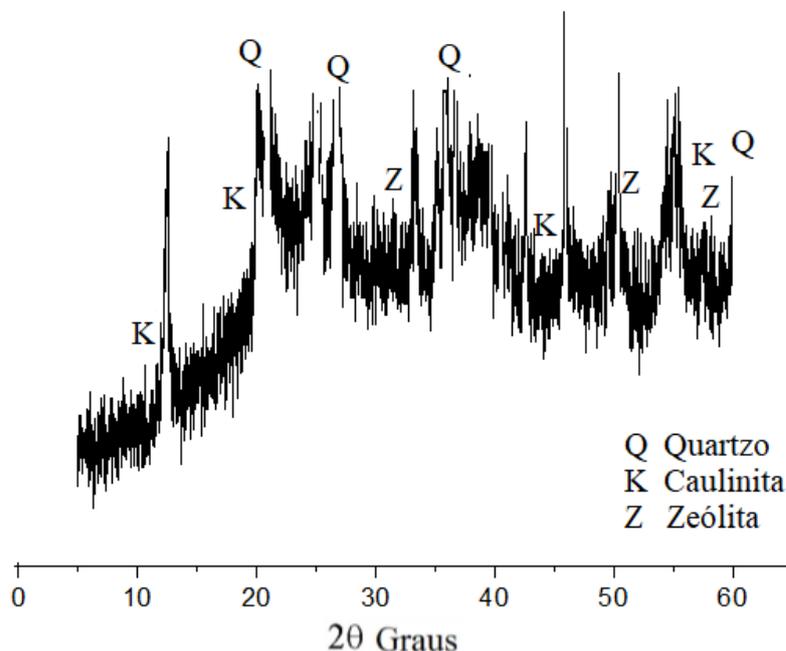
Desta forma, sob estas condições, o solo arenoso fino nos erlenmeyers possuiu grande potencial de receber e propagar os líquidos das soluções sintéticas bem como o volume das soluções de microrganismos e solução de nutrientes entre os vazios do solo, pois o teor umidade inicial será superior ao limite de liquidez do solo arenoso fino nos microambientes. Quando o valor do teor de umidade é elevado há um favorecimento no

processo de biodegradação, pois há maior bioacessibilidade aos microrganismos (GUERIN, 2000; MICHELS et al., 2000).

5.1.2 Caracterização mineralógica por difração de raio x

Yacoub (2017) utilizou um solo arenoso fino coletado na mesma área em que foi coletado o solo arenoso fino utilizado nos microambientes deste trabalho e obteve um gráfico referente a um ensaio DRX, exposto na Figura 10, em que o quartzo (SiO_2), caulinita K ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5$) zeólita ($\text{NaCaAl}_3\text{Si}_3\text{O}_{12}$) são representados pelas letras Q, K e Z, respectivamente.

Figura 16 – Gráfico de difração de raio-x do solo arenoso fino utilizado nos microambientes



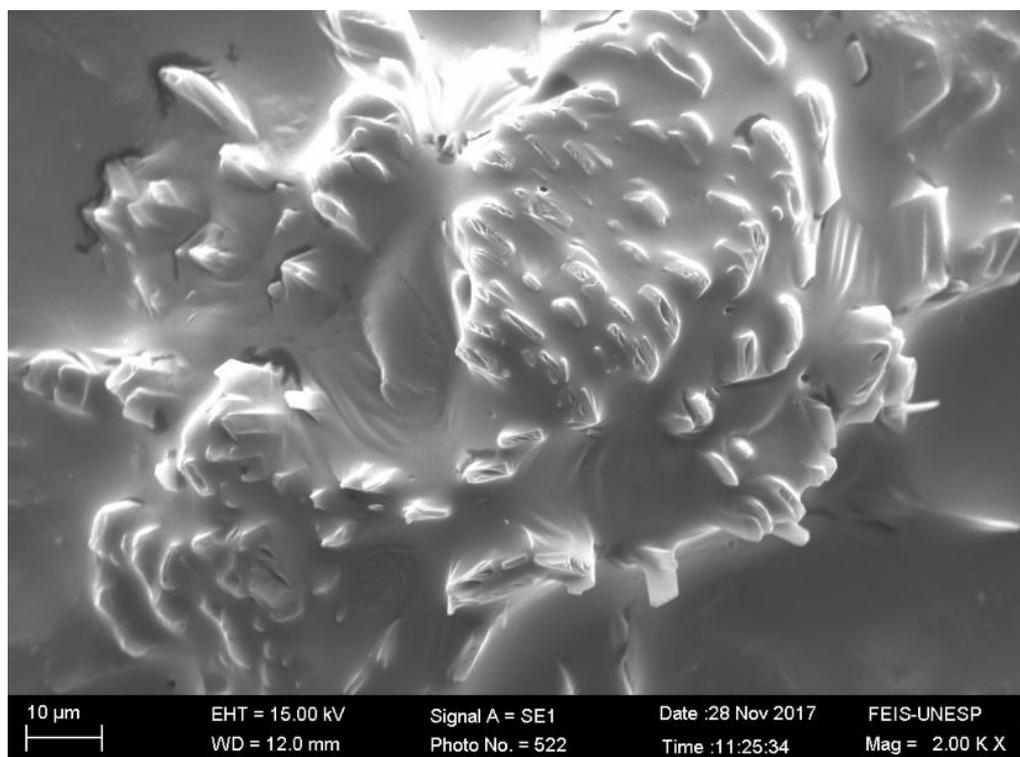
Fonte: Elaboração do próprio autor.

Por meio do gráfico de difração raio-x exposto na Figura 16 foi possível detectar na composição mineralógica picos similares aos de Yacoub (2017) no eixo 2θ graus ao se comparar com a Figura 10. Com isso, foi possível detectar qualitativamente a presença de quartzo Q (SiO_2), pertencente sobretudo à fração de areia, 22, 27, 40 e 60 no eixo 2θ graus. Segundo Megharaj et al. (2011) elementos com capacidade adsorptiva da fração de argila desfavorecem a bioacessibilidade da remediação por microrganismos nos microambientes. O solo arenoso fino apresentou caulinita K ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5$) em 12, 21, 42 e 58 no eixo 2θ graus, além de zeólita Z ($\text{NaCaAl}_3\text{Si}_3\text{O}_{12}$) em 45, 50 e 58 no eixo 2θ graus, sendo que a caulinita e a zeólita pertencem a fração de argila do solo arenoso fino.

5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA DETECÇÃO DE PRESENÇA DE MICRORGANISMOS

A presença de microrganismos oriundos da solução de microrganismos foi detectada por meio da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV. Por meio de um feixe de elétrons, imagens foram formadas e representaram características superficiais das amostras e geraram informações morfológicas de um dos consórcios microbianos apresentado na Figura 17.

Figura 17 – Imagem obtida por microscopia eletrônica de varredura de um consórcio microbiano pertencente a um microambiente demonstrando desenvolvimento fúngico



Fonte: Elaboração do próprio autor.

5.3 ENSAIOS DE BIORREMEDIÇÃO

Os métodos atuais de biorremediação possuem tecnologia promissora e são relativamente eficientes e viáveis economicamente, porém podem haver fatores limitantes como a baixa capacidade microbiana local e a baixa biodisponibilidade de poluentes orgânicos (MEGHARAJ et al., 2011). A eficiência do processo de biorremediação do solo arenoso fino contaminado por BTX, nos microambientes utilizados neste trabalho, foi aumentada utilizando a bioaugmentação e bioestimulação (FERNÁNDEZ et al., 2016).

A biodegradação é um processo conhecido como coordenação metabólica que envolve a transferência de substratos e produtos para uma comunidade microbiana bem

harmonizada (ABRAHAM et al., 2002). De acordo com Paul et al. (2005) apenas uma fração da diversidade microbiana total foi aproveitada até agora para a degradação de poluentes recalcitrantes e xenobióticos. O consórcio microbiano pertencente à solução de microrganismos, composto pelos microrganismos pertencentes ao EM-1[®] dado bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* e *Streptococcus lactis*), leveduras (*Saccharomyces* spp.), bactérias fototróficas (*Rhodospseudomonas plastris* e *Rhodobacter sphaerodes*) e actinomicetes (*Streptomyces* spp.), apresentou resultados satisfatórios na redução da concentração de BTX pelo processo de bioaugmentação e bioestimulação nos microambientes do presente estudo.

Como a necessidade e a complexidade do conhecimento variam de acordo com diferentes processos de biorremediação, o presente trabalho serviu de base para maximizar os benefícios e minimizar os custos de tratamento, pois valores de referência obtidos por testes de eficácia da biorremediação fornecem embasamento para aplicação em campo com maior economia e eficiência no processo de biorremediação (MEGHARAJ et al., 2011).

5.3.1 Ensaio 1

A Tabela 6 demonstra as características do Ensaio 1, a partir das quantidades em volume, massa e teor de umidade pertencentes aos microambientes, para a verificação da variação do teor de carbono num período de 15 dias, verificação da variação do pH em 8, 16, 25 e 45 dias de experimento, bem como a taxa de remoção de BTX aos 30 dias para as amostras esterilizadas e não esterilizadas

Tabela 6 – Amostras para verificação do teor de carbono em 15 dias, pH em 8,16, 25 e 45 dias e a variação da concentração de benzeno, tolueno e xileno aos 30 dias

Amostras do Ensaio 1	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	XI Controle
Volume solução sintética de diesel (mL)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Volume de solução de microrganismos (mL)	100,00	50,00	25,00	12,50	6,25	3,12	1,56	0,78	0,00
Volume de adição de água deionizada (mL)	0,00	50,00	75,00	87,50	93,75	96,88	98,44	99,22	100,00
Massa de líquidos total (g)	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50
Teor de umidade inicial (%)	62,16	62,16	62,16	62,16	62,16	62,16	62,16	62,16	62,16
Volume de vazios (cm ³)	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53
Volume de sólidos (cm ³)	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47
Volume de total de líquidos (cm ³)	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50	218,50

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 1

I: Amostra com 100 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IV: Amostra com 12,5 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

V: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VI: Amostra com 3,12 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VII: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

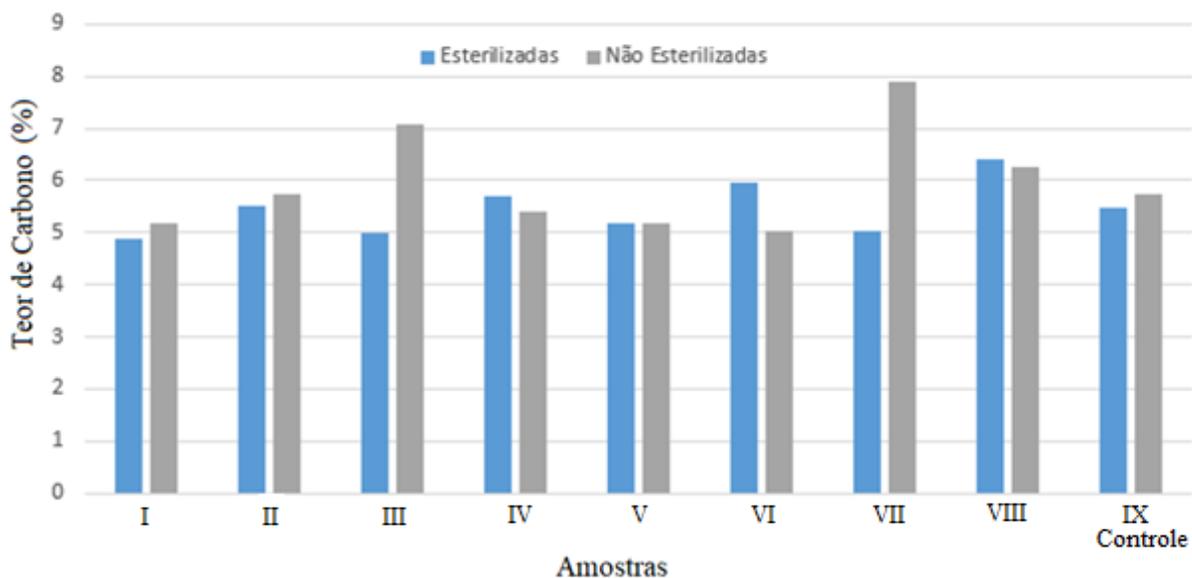
VIII: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

5.3.1.1 Teor de carbono em 15 dias de experimento

A partir da metodologia de Robertson (2011), o teor de carbono pode ser conhecido segundo a Figura 18, que demonstra a variação do teor de carbono num período de 15 dias para os microambientes de amostras esterilizadas e não esterilizadas.

Figura 18 – Teor de carbono para amostras esterilizadas e não esterilizadas num período de 15 dias de experimento



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 1

I: Amostra com 100 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IV: Amostra com 12,5 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

V: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VI: Amostra com 3,12 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VII: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VIII: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

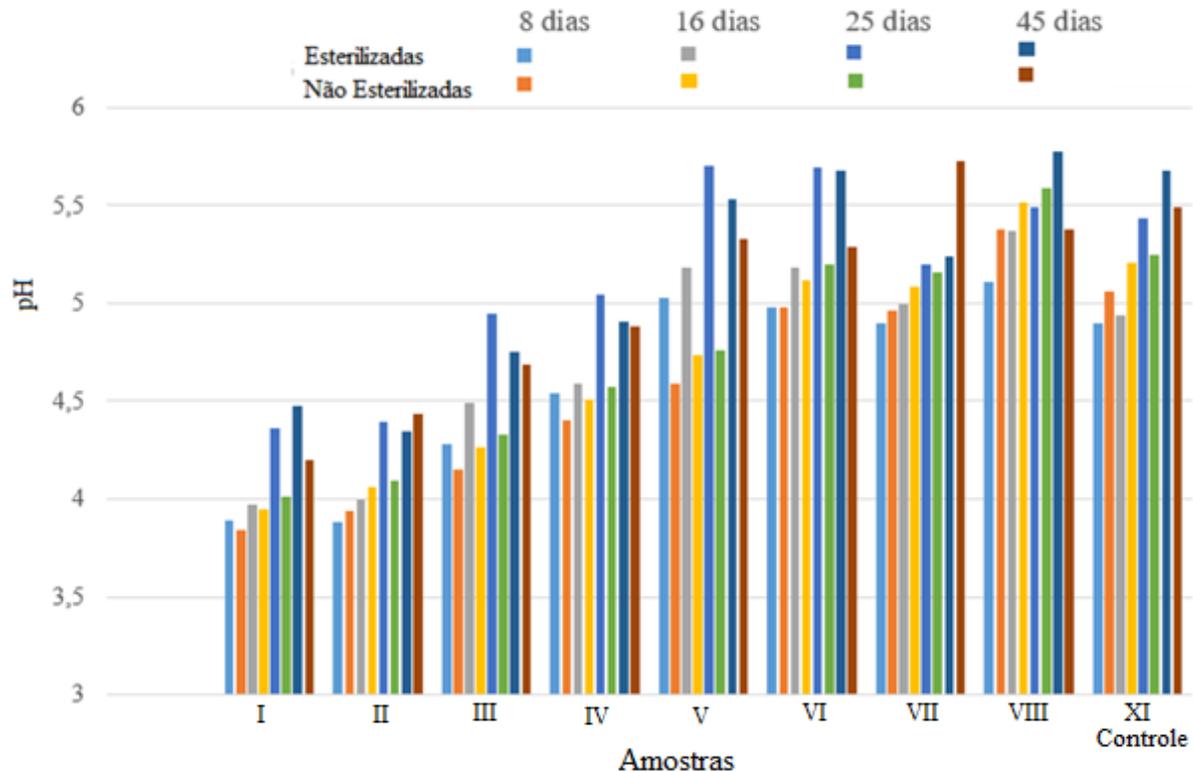
De acordo com a Figura 18, ao se comparar o resultado das amostras esterilizadas e não esterilizadas dos microambientes, é possível observar que os valores do teor de carbono num período de 15 dias se mantiveram relativamente próximo na maioria das amostras, exceto nas amostras III, VI e VII. Houve menor variação dos valores nas amostras esterilizadas que nas amostras não esterilizadas. Foi possível detectar uma tendência de valores de teor de carbono próximos a 5% nas amostras I, III, V e VII.

Os BTX são carbonos orgânicos voláteis, sendo assim há a ocorrência do processo de volatilização do meio aquoso para o ar (CHEN et al., 2010). De acordo com Abbasian et al. (2015) os microrganismos ganham energia durante a degradação do poluente para carbono e assim obtêm energia. Devido a biorremediação de BTX por parte dos microrganismos nos microambientes, com a formação de compostos inócuos como CO₂, CH₄ e biomassa, não foi possível obter uma relação entre o comportamento da transformação de BTX em outras formas de carbono após o processo de biorremediação, de acordo com os resultados apresentados na Figura 18, pelo método de Robertson (2011). Desta forma, não foi possível detectar uma relação entre o comportamento do teor de carbono e a quantidade de solução de microrganismos aplicados, bem como o teor de umidade nos microambientes.

5.3.1.2 pH em 8, 16, 25 e 45 dias de experimento

No Ensaio 1, foi possível verificar a variação do pH em 8, 16, 25 e 45 dias de experimento conforme pode ser visto na Figura 19.

Figura 19 - Variação do pH no período de 8,16, 25 e 45 dias para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 1

I: Amostra com 100 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IV: Amostra com 12,5 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

V: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VI: Amostra com 3,12 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VII: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VIII: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

De forma geral, é possível notar que o pH foi maior nos microambientes que receberam menores quantidades de solução de microrganismos, devido a sua acidez inicial,

com o pH de 3,83. Além disso, o solo arenoso fino (com pH de 4,15) interferiu de modo que o pH dos microambientes fosse ácido, inclusive nos microambientes das amostras controle.

Não foi possível detectar diferenças de variação de pH entre amostras esterilizadas e não esterilizadas. Ao se observar a Figura 19, apesar de ocorrências de oscilações, o pH tendeu a crescer com o decorrer do tempo. A partir dos resultados de cada amostra, pertencente aos respectivos microambientes, houve aumento da atividade de respiração dos microrganismos decorrente de maior atividade celular para eliminar CO₂ e com isso, elevou-se o pH (RON; ROSENBERG, 2014).

5.3.1.3 Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 30 dias de experimento

A redução da concentração de BTX aos 30 dias foi verificada para as amostras esterilizadas e não esterilizadas, demonstradas na Figura 20 (benzeno), Figura 21 (tolueno) e Figura 22 (xileno). A interação entre os microrganismos autóctones e os adicionados por meio da solução de microrganismos interferiu no desempenho da biorremediação (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010). O estudo da biorremediação por meio de microambientes em erlenmeyers forneceram uma resposta rápida para tomada de decisão (MAZZEO et al., 2010; CHENG et al., 2017, ZABBEY et al., 2017).

O solo arenoso fino contaminado por BTX foi biorremediado de forma predominante pelos microrganismos mais resistentes, sendo que estes foram os primeiros a eliminar contaminantes (HUERTAS et al., 1998). A resposta fisiológica dos microrganismos determinou as subseqüentes sobrevivências e atividades de acordo com condições nutricionais nos microambientes e tolerância à toxicidade do BTX (MEGHARAJ et al., 2011). A atividade microbiológica foi afetada pela temperatura e pH (TATE, 1995). Com a temperatura de 28°C ± 2°C, a qual é adequada para a atividade de bactérias mesofílicas, porém o pH ideal deveria possuir valores de 6,5 a 8,5 para a atividade bacteriana, uma vez que em todos os microambientes tiveram o pH abaixo de 6 (ANDRADE et al., 2010). Sendo assim, nos microambientes, os fungos possuíram vantagens em relação às bactérias quanto a adaptabilidade, (SANTAELLA et al., 2009) pois no processo de biorremediação de BTX, os fungos possuíram capacidade de crescimento, ainda que sujeitos a presença do BTX, produto tóxico e recalcitrante, sob condições de estresse devido ao baixo pH (GRIFFIN, 1994; EGGEN; MAJCHERCZYK, 1998; OLIVEIRA et al., 2006). Além disso, os fungos podem ter se adaptado à concentração de oxigênio de acordo com o meio que se encontraram, além da respiração aeróbia convencional, podem utilizar rotas metabólicas alternativas (desnitrificação e amonificação) (TAKAYA et al., 2002).

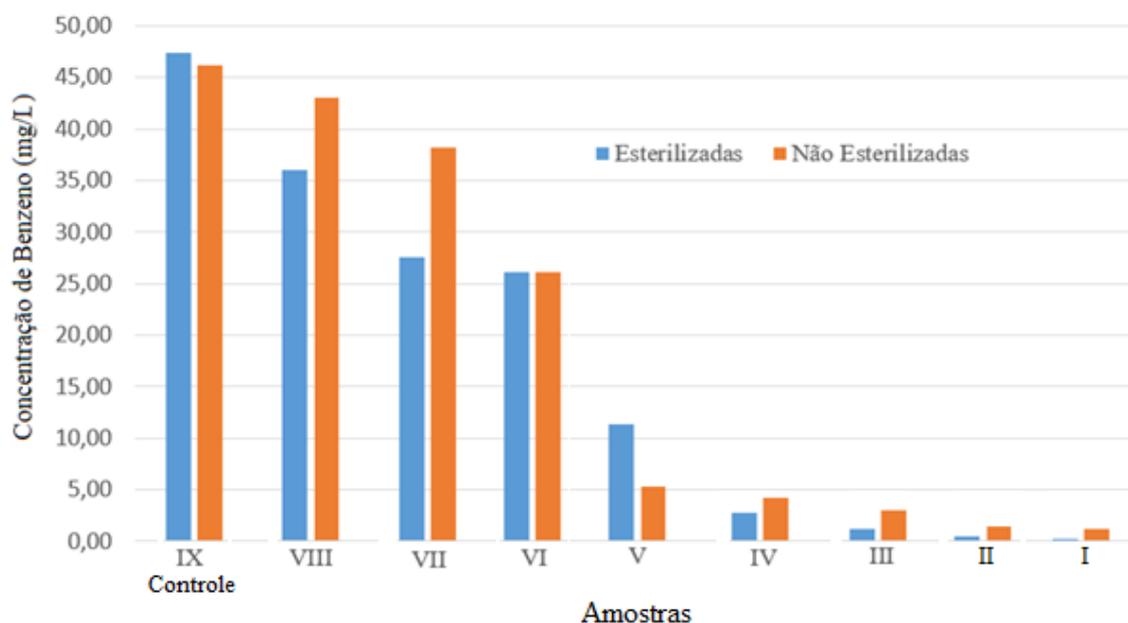
A redução de concentração de benzeno aos 30 dias ocorreu de forma mais acentuada a partir da adição de 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino (Amostra V) tanto para as amostras esterilizadas quanto para as não esterilizadas. Entre as amostras V e I, em comparação com as amostras IX e V, a concentração de benzeno decresceu de forma menos intensa, porque o valor de contaminação química do solo arenoso fino por benzeno em pequenas quantidades de concentração de benzeno acarretou em resistência a métodos de degradação biológica (NASCIMENTO et al., 2014).

Nas amostras esterilizadas a redução da concentração de benzeno foi superior, provavelmente porque a competição entre a solução de microrganismos e os microrganismos autóctones não foi benéfica ao processo de biorremediação no período estudado que foi de 30 dias (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010).

Ao se comparar as amostras controle (amostra IX), entre as amostras esterilizadas e não esterilizadas das amostras controle, é possível visualizar que a diferença de valores da concentração de benzeno devido à presença de microrganismos autóctones foi pouco significativa com relação às amostras esterilizadas.

Com exceção das amostras IX controle e V, ocorreu maior redução da concentração de benzeno nas amostras não esterilizadas, a bioaugmentação apresentou menor eficiência devido à competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos (MEGHARAJ et al., 2011).

Figura 20 – Concentração de benzeno em 30 dias de experimento para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 1

I: Amostra com 100 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

III: Amostra com 25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IV: Amostra com 12,5 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

V: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VI: Amostra com 3,12 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VII: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VIII: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

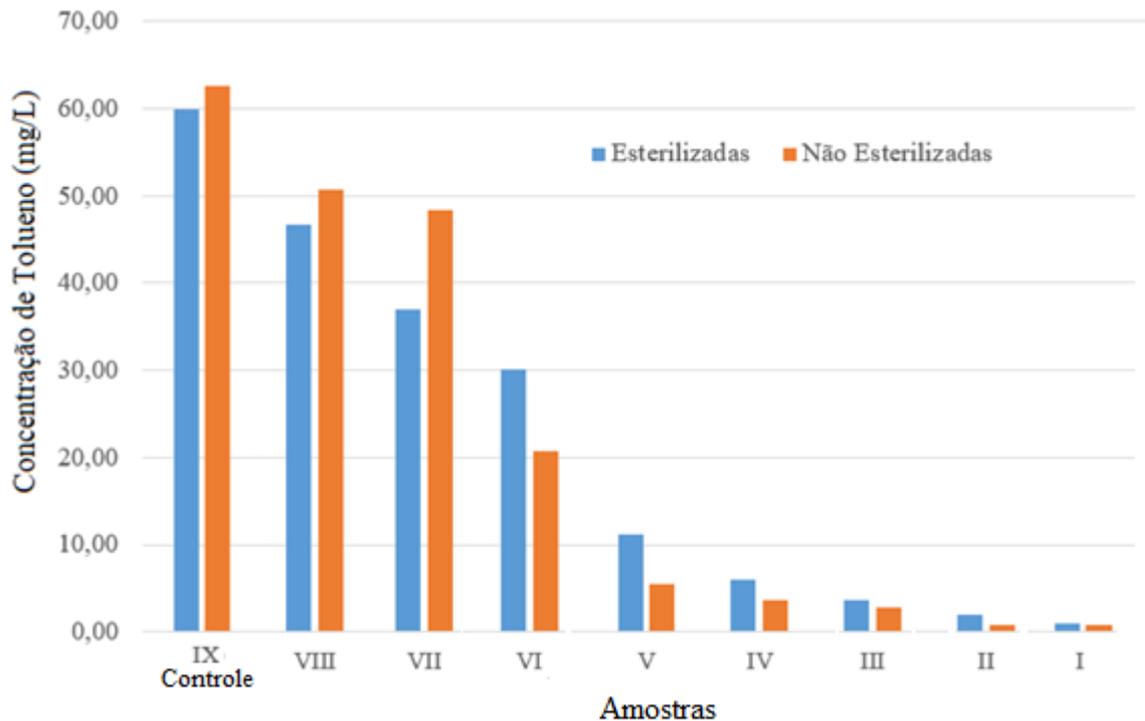
Da Figura 21 é possível perceber que houve maior eficiência de remoção de tolueno nos microambientes que receberam maiores quantidades de solução de microrganismos. Foi possível verificar que a microbiota autóctone foi pouco efetiva ao se observar que houve pouca diferença entre os valores da concentração de tolueno das amostras esterilizadas e das amostras não esterilizadas, porém foi mais evidente uma pequena diferença de valores nas amostras controle (IX Controle).

A redução da concentração de tolueno ocorreu de forma mais acentuada a partir da adição de 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino (Amostra V), tanto para as amostras esterilizadas quanto para as não esterilizadas, sendo que a concentração de benzeno decresceu de forma menos intensa entre as amostras V e I, isto porque o valor de contaminação química do solo arenoso fino por benzeno em pequenas quantidades de concentração de xileno acarretou em resistência a métodos de degradação biológica (NASCIMENTO et al., 2014).

Nas amostras I, II, III, IV, V e VI os microambientes não esterilizados obtiveram uma redução de concentração de tolueno superior em relação aos microambientes esterilizados, com isso é possível constatar que a interação entre a solução de microrganismos e os microrganismos autóctones foi benéfica para o processo de biorremediação nestes microambientes. Neste caso, a bioaumentação se apresentou eficiente na competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos (MEGHARAJ et al., 2011). Entretanto, para as amostras VII e VIII a interação solução de

microrganismos e os microrganismos autóctones foi prejudicial ao processo de biorremediação.

Figura 21 – Concentração de tolueno em 30 dias de experimento para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 1

I: Amostra com 100 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

II: Amostra com 50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

III: Amostra com 25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IV: Amostra com 12,5 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

V: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VI: Amostra com 3,12 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VII: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

VIII: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%.

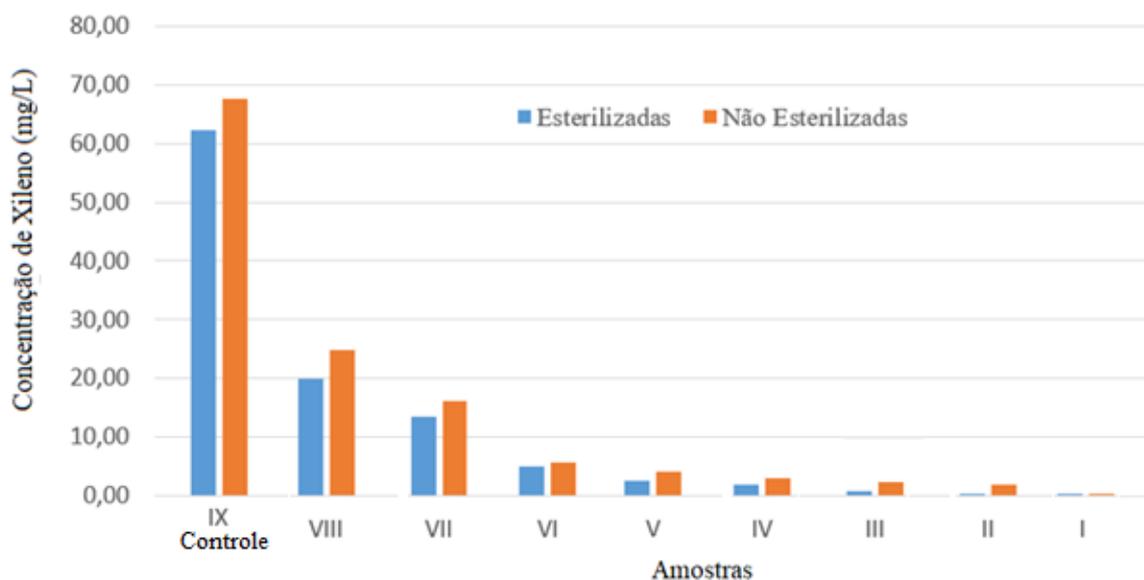
Por meio da Figura 22, é possível verificar que eficiência de remoção de xileno foi maior nos microambientes que receberam maiores quantidades de solução de microrganismos.

Além disso, a microbiota autóctone foi pouco efetiva, pois houve pouca diferença entre os valores das concentrações de xileno entre as amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas.

A redução da concentração de xileno ocorreu de forma mais acentuada a partir da adição de 3,12 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino (Amostra VI), tanto para as amostras esterilizadas quanto para as não esterilizadas. Contudo, a concentração de xileno decresceu de forma menos intensa entre as amostras VI e I, pois o valor de contaminação química do solo arenoso fino por xileno em pequenas quantidades de concentração de xileno acarretou em resistência a métodos de degradação biológica (NASCIMENTO et al., 2014).

Nas amostras de todos os microambientes esterilizados houve uma redução de concentração de xileno superior em relação aos microambientes não esterilizados. Com isso é possível concluir que a interação solução de microrganismos e os microrganismos autóctones não foi benéfica para o processo de biorremediação de xileno para estas amostras. Portanto, no processo de biorremediação por bioaugmentação houve menor eficiência devido à competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos (MEGHARAJ et al., 2011).

Figura 22 – Concentração de xileno em 30 dias de experimento para amostras esterilizadas e não esterilizadas



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 1

I: Amostra com 100 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%

- II: Amostra com 50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%
- II: Amostra com 25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%
- IV: Amostra com 12,5 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%
- V: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%
- VI: Amostra com 3,12 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%
- VII: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%
- VIII: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%
- IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 62,16%

Conforme os resultados da remediação de benzeno (Figura 20), tolueno (Figura 21) e xileno (Figura 22), não foi possível alcançar os padrões da legislação brasileira, pois não houve uma remoção de benzeno, tolueno e xileno no período 30 dias, de forma que se adequasse ao valor máximo permitido estabelecido pelo Ministério da Saúde (2011) para benzeno, tolueno e xileno que são de 0,005, 0,200 e 0,300 mg/L, respectivamente. Contudo, o período de estudo foi relativamente curto e a biorremediação é uma técnica de longa duração (pode levar até vários anos) para obter-se a remoção adequada de contaminantes (ZABBEY et al., 2017).

5.3.2 Ensaio 2

A Tabela 7 demonstra as quantidades dos elementos pertencentes ao Ensaio 2 a partir das quantidades em volume, massa e teor de umidade pertencentes aos microambientes, para a verificação o pH em 8, 16, 25 e 45 dias de experimento, bem como a taxa de remoção de BTX em 30 dias de experimento para as amostras esterilizadas e não esterilizadas.

Tabela 7 – Amostras para verificar o pH em 8, 16, 25 e 45 dias e concentração de benzeno, tolueno e xileno num período de 30 dias

Amostras do Ensaio 2	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	XI Controle
Volume solução sintética de diesel (mL)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Volume de solução de microrganismos (mL)	25,00	12,50	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,20	0,00
Volume de adição de água deionizada (mL)	0,00	12,50	18,75	21,88	23,44	24,22	24,61	24,80	24,90
Massa de líquidos total (g)	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50
Teor de umidade inicial (%)	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83
Volume de vazios (cm ³)	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53
Volume de sólidos (cm ³)	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47
Volume de total de líquidos (cm ³)	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 2

I: Amostra com 25,00 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

II: Amostra com 12,50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

III: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

IV: Amostra com 3,13 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

V: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VI: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VII: Amostra com 0,39 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

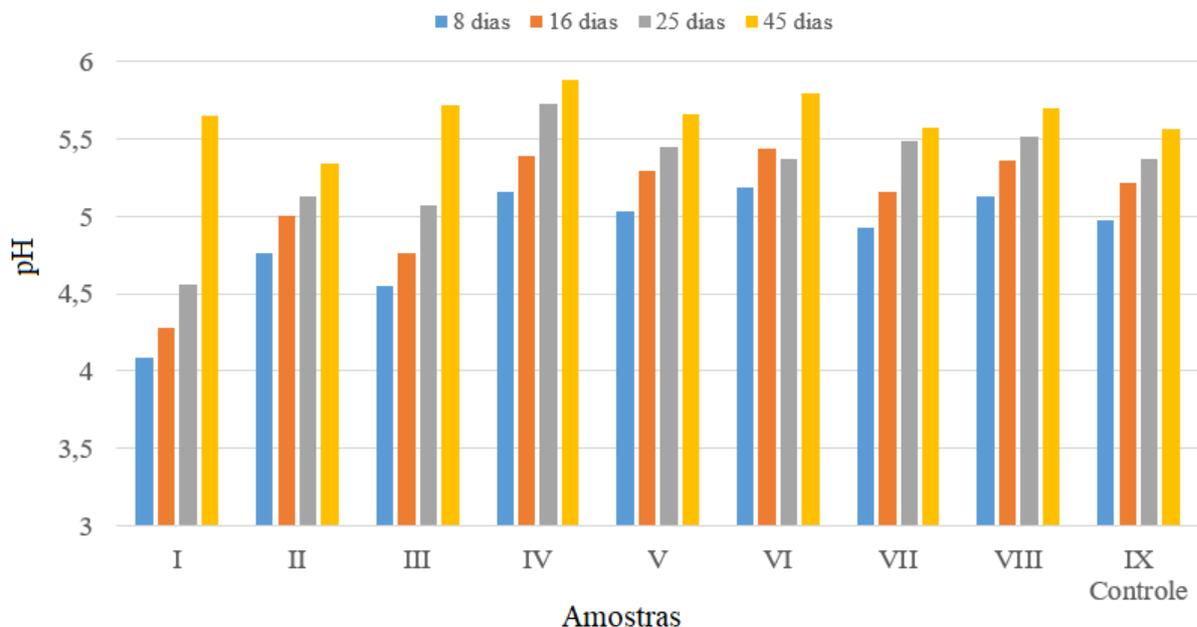
VIII: Amostra com 0,20 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

5.3.2.1 pH em 8, 16, 25 e 45 dias de experimento

A tendência de comportamento do pH a num período de 8, 16, 25 e 45 dias foi verificada para o Ensaio 2 e apresentada pela Figura 23.

Figura 23 – Variação do pH para um período de 8, 16, 25 e 45 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 2

I: Amostra com 25,00 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

II: Amostra com 12,50 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

II: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

IV: Amostra com 3,13 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

V: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VI: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VII: Amostra com 0,39 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VIII: Amostra com 0,20 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

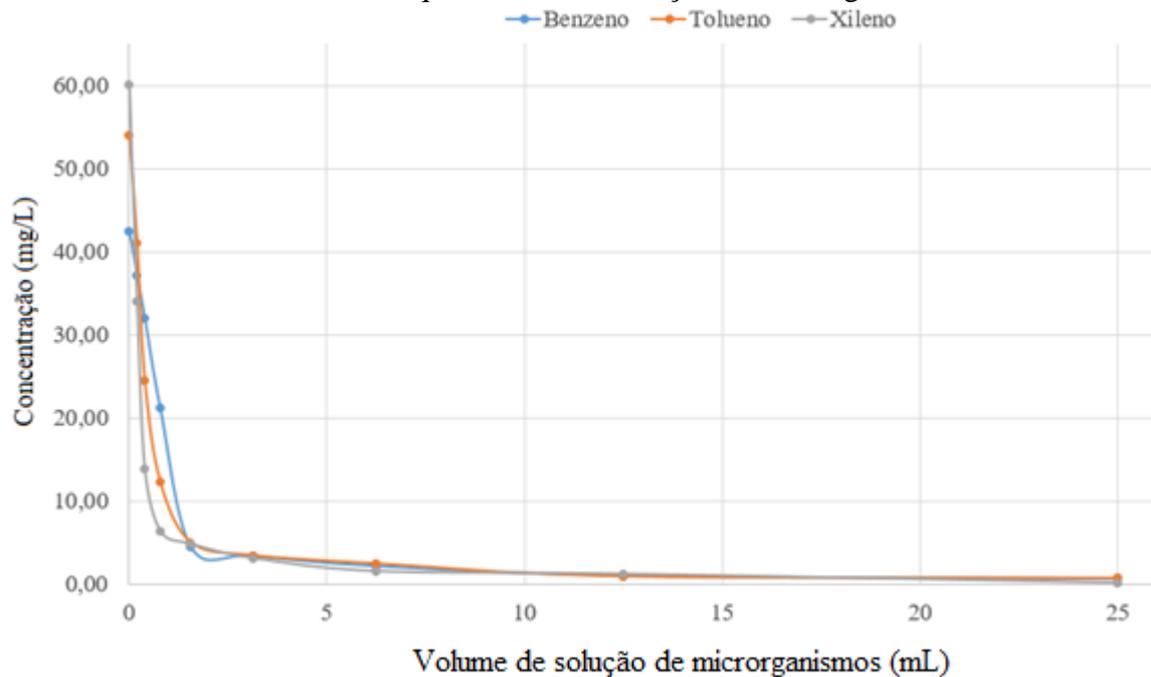
IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

Da Figura 23, foi possível notar que o pH aumentou com o passar do tempo, assim como no Ensaio 1, em cada microambiente o pH provavelmente se elevou devido ao aumento da atividade de respiração dos microrganismos decorrente de maior atividade celular para eliminar CO₂ (RON; ROSENBERG, 2014). As amostras que receberam maiores quantidades de solução de microrganismos apresentaram um pH mais ácido, assim como nos Ensaios 1, pois o pH da solução de microrganismos possuía um pH ácido de 3,83. O solo arenoso fino, com pH de 4,15, também interferiu com que o pH dos microambientes fosse ácido, inclusive os microambientes das amostras controle.

5.3.2.2 Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 30 dias de experimento

A Figura 24 expõe o comportamento da redução de concentração de BTX num período de 30 dias de acordo com a variação da quantidade aplicada de solução de microrganismos com a finalidade de se buscar uma quantidade otimizada de solução de microrganismos por massa de solo arenoso fino.

Figura 24 – Concentração de benzeno, tolueno e xileno num período de 30 dias de acordo com diferentes quantidades de solução de microrganismos



Fonte: Elaboração do próprio autor.

De acordo com a Figura 24 é possível visualizar que as curvas de remoção de benzeno, tolueno e xileno formadas com dados referentes a 30 dias de experimento sofreu redução brusca e acentuada nas amostras com valores entre 0 e 1,56 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, porém entre os valores de 1,56 e 6,25 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, a remoção de BTX se comportou de maneira eficaz e econômica, assim como no Ensaio 1. No entanto, a redução das concentrações de benzeno, tolueno e xileno ocorreu de forma eficaz, porém de forma menos econômica com o volume de aplicação de solução de microrganismos de 6,25 mL a 25,00 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, isto porque que a concentração de benzeno decresceu de forma menos intensa, pois o valor de contaminação química do solo arenoso fino por BTX em pequenas quantidades em pequenas quantidades de BTX acarretou em resistência a métodos de degradação biológica (NASCIMENTO et al., 2014).

Para o volume de solução de microrganismos de 0 a 1,56 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, a bioaumentação se apresentou mais eficiente na competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos (MEGHARAJ et al., 2011). Além disso, de acordo Smith et al. (1998) o suprimento de nutrientes, em proporção de fornecimento constante, altera a biomassa total do degradador de hidrocarbonetos, assim como as taxas de degradação de hidrocarbonetos. Portanto, de acordo com as quantidades de micronutrientes e macronutrientes depositadas nos microambientes, houve um desempenho mais eficaz da bioestimulação quando aplicado o volume de solução

de microrganismos de 0 a 1,56 mL em 300 cm³, entretanto entre o volume de solução de microrganismos de 1,56 a 25,00 mL em 300 cm³, a competição pelo consumo dos micronutrientes e macronutrientes por parte dos microrganismos pertencentes ocasionou a diminuição da eficiência do processo de biorremediação, ou seja, houve diminuição ecofisiológica que interferiu na biorremediação devido redução da taxa de recursos (MEGHARAJ et al., 2011).

A redução das concentrações de BTX ocorreu de forma mais acentuada nas amostras que receberam maior quantidade de solução de microrganismos, de forma similar ao Ensaio 1. Os microrganismos resistentes foram os primeiros a eliminar os contaminantes (HUERTAS et al., 1998). De acordo com a resposta fisiológica dos microrganismos, ocorreu a determinação de sua sobrevivência e atividades subsequentes a partir das condições nutricionais e tolerância à toxicidade do BTX nos microambientes (MEGHARAJ et al., 2011). A temperatura e o pH afetaram a atividade microbiológica (TATE, 1995), pois com a temperatura de 28°C ± 2°C, apesar de ser adequada para a atividade de bactérias mesofílicas, o pH ideal para melhor atividade bacteriana deveria possuir valores de 6,5 a 8,5, contudo os microambientes tiveram o pH abaixo de 6 (ANDRADE et al., 2010). Portanto, no processo de biorremediação de BTX, os fungos possuíram vantagens em relação às bactérias quanto a adaptabilidade, (SANTAELLA et al., 2009) por possuírem maior capacidade de crescimento em ambiente tóxico e recalcitrante por conter BTX, ainda que sob condições de estresse devido ao pH ser baixo (GRIFFIN, 1994; EGGEN; MAJCHERCZYK, 1998; OLIVEIRA et al., 2006). Os fungos também podem ter se adaptado de acordo com a concentração de oxigênio do meio em que se encontraram, pois além da respiração aeróbia convencional, eles podem utilizar rotas metabólicas alternativas tais como a desnitrificação e amonificação (TAKAYA et al., 2002).

O estudo da biorremediação por meio de microambientes forneceram uma resposta rápida para tomada de decisão, pois a biorremediação em campo, uma vez que esta pode ser lenta, por isso a tarefa de iniciar o processo deve, na maioria das vezes, ser urgente e efetiva (MAZZEO et al., 2010; CHENG et al., 2017, ZABBEY et al., 2017).

Não houve concentrações de benzeno, tolueno e xileno no período 30 dias que se adequassem ao valor máximo permitido estabelecido pelo Ministério da Saúde (2011) que para benzeno, tolueno e xileno é de 0,005, 0,200 e 0,300 mg/L, respectivamente. Portanto, não foi possível alcançar os padrões da legislação brasileira. Contudo, em termos de tempo, a biorremediação é uma técnica de longa duração para obtenção da remoção adequada de contaminantes, podendo levar vários anos (ZABBEY et al., 2017). Contudo, os microrganismos são preferíveis aos métodos físicos e químicos, na remediação de BTX, por

estes serem de custo elevado (MARIANO et al., 2007; MEGHARAJ et al., 2011; MNIF et al., 2017; VARJANI; UPASANI, 2017). Pelo processo de biorremediação, o BTX foi pode ser degradado de forma quase que permanentemente, com sucesso, com poucos ou nenhum dano ao ambiente (ZABBEY et al., 2017).

5.3.3 Ensaio 3

A Tabela 8 demonstra as quantidades em volume, massa e teor de umidade dos elementos pertencentes ao Ensaio 3 para a verificação do teor de umidade e teor de carbono em 25 e 65 dias e a concentração de BTX em 7 e 58 dias.

Tabela 8 – Amostras para verificar o teor de umidade e o teor de carbono em 25 e 65 dias, e a concentração de benzeno, tolueno e xileno em 7 e 58 dias

Amostras do Ensaio 3	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	XI Controle
Volume solução sintética de diesel (mL)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Volume de solução de microrganismos (mL)	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,20	0,10	0,05	0,00
Volume de adição de água deionizada (mL)	18,75	21,88	23,44	24,22	24,61	24,80	24,90	24,95	25,00
Massa de líquidos total (g)	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50
Teor de umidade inicial (%)	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83
Volume de vazios (cm ³)	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53	174,53
Volume de sólidos (cm ³)	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47	125,47
Volume de total de líquidos (cm ³)	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50	143,50

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 3

I: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

II: Amostra com 3,13 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

II: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

IV: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

V: Amostra com 0,39 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VI: Amostra com 0,20 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VII: Amostra com 0,10 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VIII: Amostra com 0,05 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

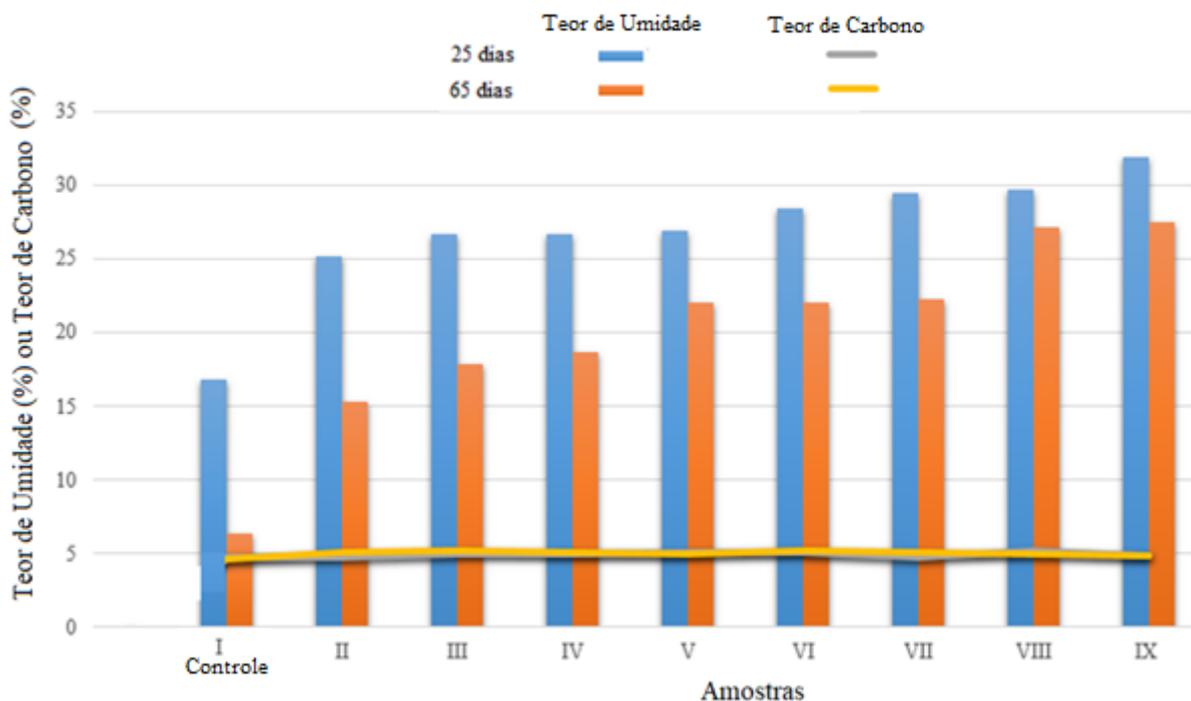
IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

5.3.3.1 Comportamento do teor de umidade e do teor de carbono em 25 e 65 dias

Por meio da Figura 25 é possível observar que houve redução do teor de umidade com o passar do tempo ao se comparar os valores para 25 dias e 65 dias, além do mais, foi possível verificar que o teor de carbono pertencente as amostra praticamente não apresentou variação, pois os valores pertencentes aos microambientes nos períodos de 25 dias e 65 dias de estudo possuíram valores muito semelhantes.

Pelo método de Robertson (2011), assim como no Ensaio 1, foi possível verificar que não há relação entre a variação do teor de umidade com o teor de carbono. No processo de biodegradação de BTX os microrganismos obtêm energia ou assimilam os BTX na biomassa celular (VARJANI et al., 2017). Além disso, os BTX que são carbonos orgânicos voláteis, portanto passam por processo de volatilização do meio aquoso para o ar, sendo assim houve desconhecimento da quantidade de BTX que foi volatilizada e da que foi transformada em compostos inócuos de carbono (CHEN et al., 2010). Portanto, não foi possível conhecer quantitativamente o valor de teor de carbono de forma precisa, nem sobre o desencadeamento do ganho de energia por parte dos microrganismos devido a biorremediação de BTX nos microambientes com a formação de CO₂, CH₄ e biomassa, ou seja, em outras formas de carbono após o processo de biorremediação (ABBASIAN et al., 2015).

Figura 25 - Comportamento do teor de umidade e do teor de carbono para 25 e 65 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 3

I: Amostra com 6,25 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

II: Amostra com 3,13 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

III: Amostra com 1,56 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

IV: Amostra com 0,78 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

V: Amostra com 0,39 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VI: Amostra com 0,20 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VII: Amostra com 0,10 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

VIII: Amostra com 0,05 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

IX Controle: Amostra controle com 0 mL de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 40,83%.

A partir da Figura 25 foi possível visualizar que diferenças de aplicação da solução de microrganismos geraram diferenças nos teores de umidade no período de 25 dias e de 65 dias. Ou seja, nos locais em que houve maior aplicação de microrganismos o teor de umidade também foi maior. Com isso, foi possível observar que o teor de carbono se manteve com valores muito próximos de 5% uma vez que as linhas correspondentes ao teor de carbono no período de 25 dias e 65 dias ficaram sobrepostas. Desta maneira, é possível inferir que o teor de carbono não foi influenciado ou não foi possível de ser detectado pelo método de Robertson (2011), assim como no Ensaio 1. Também é possível inferir que o teor de carbono não foi influenciado pelo teor de umidade nem pela quantidade inicial do lançamento das soluções de microrganismos.

5.3.3.2 Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 7 e 58 dias

A concentração de BTX foi verificada para o período de 7 dias e 58 dias, conforme pode ser visto na Figura 26 (benzeno), Figura 27 (tolueno) e Figura 28 (xileno). Os resultados obtidos no Ensaio 2 embasaram o Ensaio 3 e otimizaram o processo de biorremediação para possibilitar menores quantidades de solução de microrganismos por massa de sólidos do solo arenoso fino.

Nos microambientes contaminados por BTX, os microrganismos mais resistentes foram os primeiros a eliminar os contaminantes (HUERTAS et al., 1998). Sendo assim, houve predomínio da atividade fúngica em relação a atividade microbiana devido o pH dos

microambientes ser ácido, além de que os fungos possuem maior capacidade de adaptação a baixas quantidades de oxigênio e nutrientes, bem como possuem resistência a compostos tóxicos e recalcitrante, como é o caso do BTX (GRIFFIN, 1994; TATE, 1995; EGGEN; MAJCHERCZYK, 1998; TAKAYA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2006; SANTAELLA et al., 2009; ANDRADE et al., 2010; MEGHARAJ et al., 2011).

A partir da Figura 26 é possível notar que a redução da concentração de benzeno foi mais afetada pelo volume de solução de microrganismos aplicados inicialmente nos microambientes do que pela atividade dos microrganismos no decorrer do tempo, pois foi possível constatar que os valores numéricos das concentrações de benzeno reduziram mais de acordo com a quantidade de solução de microrganismos aplicada do que no período de estudo de 7 e 58 dias. Com o volume de solução de microrganismos aplicado de 0 a 2,5 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, a bioaugmentação foi mais eficiente na competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos pois houve decréscimo da concentração de benzeno de forma mais acentuada, enquanto que de 2,5 a 6,25 mL de volume de solução de microrganismos em 300 cm³ de solo arenoso fino, o decréscimo foi menos eficiente, pois a competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos foi contraproducente na biorremediação de benzeno (MEGHARAJ et al., 2011).

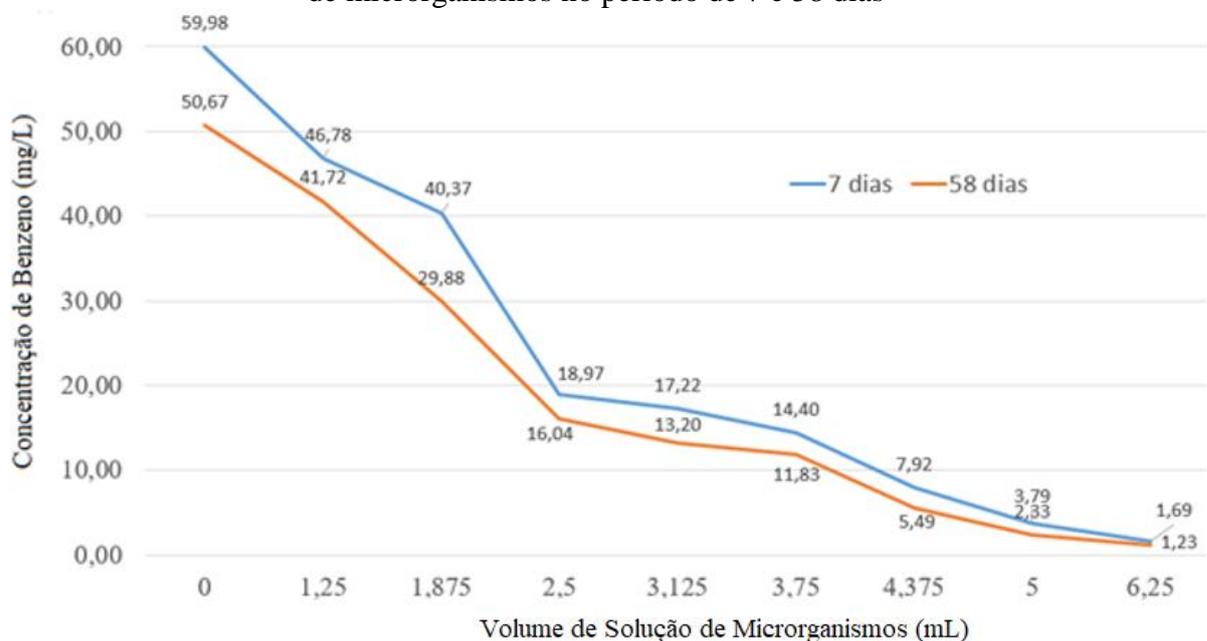
O suprimento de nutrientes com fornecimento constante alterou a biomassa total do degradador e com isso as taxas de degradação benzeno (SMITH et al., 1998). As quantidades de micronutrientes e macronutrientes aplicadas nos microambientes geraram um desempenho mais eficaz da bioestimulação quando aplicado o volume de solução de microrganismos de 0 a 2,5 mL em 300 cm³, entretanto entre o volume de solução de microrganismos de 2,5 a 6,25 mL em 300 cm³, houve mais competição pelo consumo dos micronutrientes e macronutrientes por parte dos microrganismos, decorrente disso houve diminuição da eficiência do processo de biorremediação pela diminuição ecofisiológica, desta forma a biorremediação de benzeno sofreu redução da eficiência por haver diminuição dos recursos disponíveis aos microrganismos (MEGHARAJ et al., 2011).

A redução da concentração de benzeno ocorreu de forma mais eficaz entre os volumes de solução de microrganismos aplicados entre 5 e 6,25 mL. Porém, quando o volume de solução de microrganismos aplicado na amostra foi de 1,25 mL, a concentração de benzeno foi de 46,78 mg/L em 7 dias e de 41,72 mg/L em 58 dias. Ao dobrar a quantidade para 2,50 mL de solução de microrganismos por amostra, a concentração de benzeno em 7 dias foi de 18,97 mg/L, enquanto que em 58 dias foi de 16,04 mg/L. Ao quadruplicar para 5,00 mL de

solução de microrganismos, a concentração de benzeno em 7 dias foi de apenas 3,79 mg/L, enquanto que em 58 dias foi de 2,33 mg/L.

A concentração de benzeno, em 7 e 58 dias, decresceu de forma menos intensa entre o volume de solução de microrganismos aplicado foi de 2,5 a 6,25 mL, pois foi possível observar inflexões em ambas as curvas para o volume de 2,5 mL. O valor de contaminação química do solo arenoso fino por benzeno em pequenas quantidades de concentração de benzeno acarretou em resistência a métodos de degradação biológica (NASCIMENTO et al., 2014).

Figura 26 – Concentração de benzeno a partir da aplicação de diferentes volumes de solução de microrganismos no período de 7 e 58 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

A partir da Figura 27 é possível notar que a redução da concentração de tolueno foi mais afetada pelo volume de solução de microrganismos aplicada inicialmente nos microambientes do que pela atividade dos microrganismos com o decorrer do tempo, pois os valores numéricos das concentrações de tolueno reduziram mais de acordo com a quantidade de solução de microrganismos aplicada que com o período de estudo de 7 e 58 dias. A redução da concentração de tolueno ocorreu de forma mais eficaz entre os volumes de solução de microrganismos aplicados entre 5 e 6,25 mL. Quando o volume de solução de microrganismos aplicado na amostra foi de 1,25 mL, a concentração de tolueno foi de 70,19 mg/L em 7 dias e de 52,89 mg/L em 58 dias. Ao dobrar a quantidade para 2,50 mL de solução de microrganismos por amostra, a concentração de tolueno em 7 dias foi de 43,94 mg/L, enquanto que em 58 dias foi de 41,71 mg/L. Ao quadruplicar para 5,00 mL de solução de

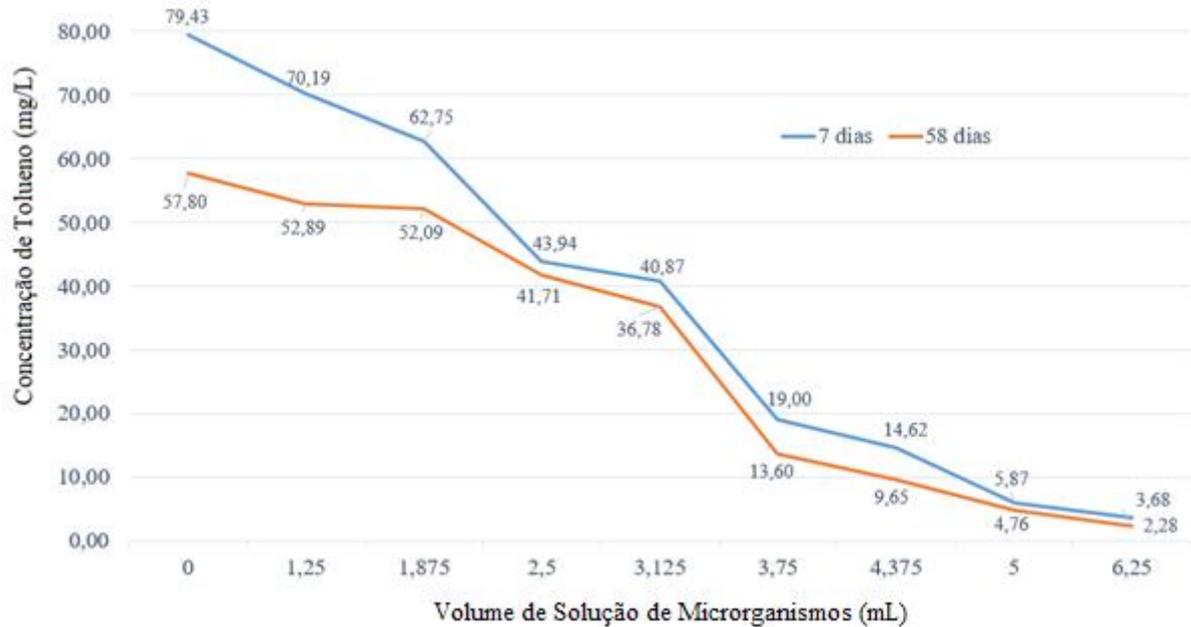
microrganismos, a concentração de tolueno em 7 dias foi de apenas 5,87 mg/L, enquanto que aos 58 dias foi de 4,76 mg/L.

A partir do volume de solução de microrganismos de 0 a 3,75 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, a bioaugmentação foi eficiente, pois houve um decréscimo das concentrações de tolueno de forma mais acentuada decorrente da competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos, que quando foi aplicado de 3,75 a 6,25 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino (MEGHARAJ et al., 2011). Além do mais, de acordo Smith et al. (1998), o suprimento constante de nutrientes alterou a biomassa total do degradador de tolueno, com isso ocorreu interferência nas taxas de degradação de tolueno. Sendo assim, de acordo com as quantidades de micronutrientes e macronutrientes, adicionadas aos microambientes o desempenho foi mais eficaz da bioestimulação para o volume de solução de microrganismos de 0 a 1,56 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, porém entre o volume de solução de microrganismos de 1,56 a 6,25 mL em 300 cm³ em solo arenoso fino a competição pelo consumo dos micronutrientes e macronutrientes pelos microrganismos ocasionou em diminuição da eficiência do processo de biorremediação decorrente da diminuição ecofisiológica, e conseqüentemente houve diminuição do potencial de biorremediação devido a redução da taxa de recursos nos microambientes (MEGHARAJ et al., 2011).

Para o volume de 3,75 mL, foi possível notar inflexões em ambas as curvas da concentração de tolueno, em 7 e 58 dias. A concentração de tolueno decresceu de forma menos intensa entre o volume de aplicação de solução de microrganismos de 3,75 a 6,25 mL. O valor de contaminação química do solo arenoso fino por tolueno em pequenas quantidades de concentração de tolueno acarretou em resistência a métodos de degradação biológica (NASCIMENTO et al., 2014).

A amostra controle, dada pelo volume de solução de microrganismos igual a 0 mL, teve a redução mais brusca indicando que o tolueno pode ter sido removido de forma intensa pelos microrganismos autóctones, sendo que estes degradantes de tolueno desempenharam um papel importante no processo de biorremediação (ATLAS, 1981).

Figura 27 – Concentração de tolueno a partir da aplicação de diferentes volumes de solução de microrganismos no período de 7 e 58 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

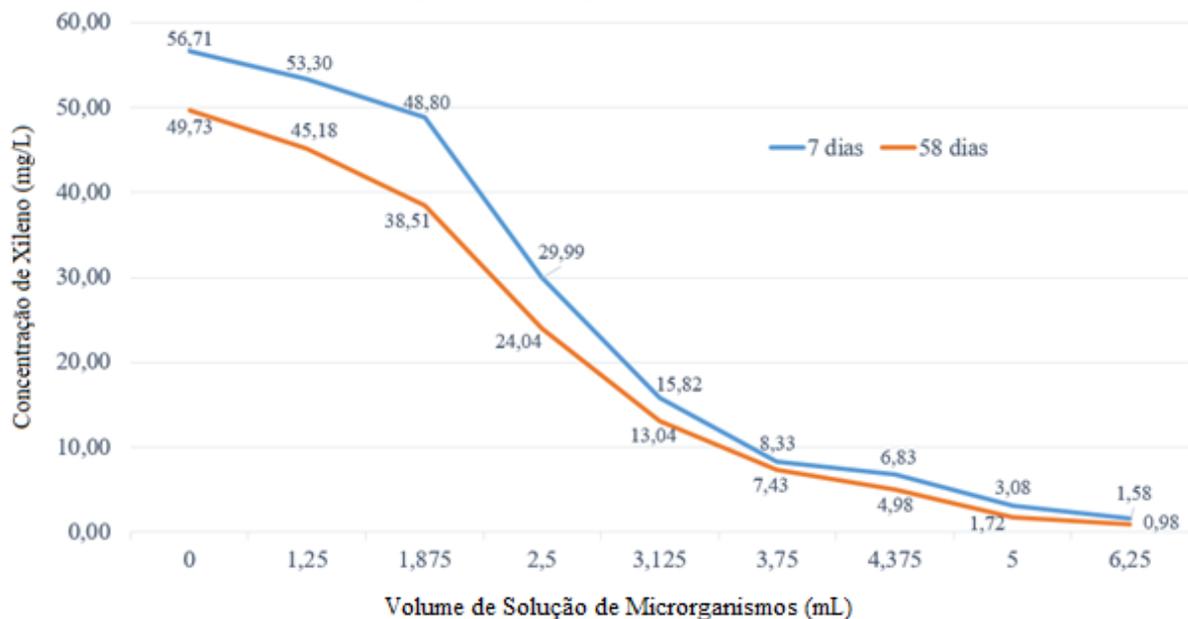
A partir da Figura 28 é possível notar que a remoção de xileno foi mais afetada pelo volume de solução de microrganismos aplicada inicialmente nos microambientes do que pela atividade dos microrganismos com o decorrer do tempo, pois os valores numéricos das concentrações de xileno reduziram mais de acordo com a quantidade de solução de microrganismos aplicada do que com o período estudado de 7 e 58 dias. Quando o volume de solução de microrganismos aplicado na amostra foi de 1,25 mL, a concentração de xileno foi de 53,30 mg/L em 7 dias e foi de 45,18 mg/L em 58 dias. Ao dobrar a quantidade para 2,50 mL de solução de microrganismos por amostra, a concentração de xileno em 7 dias foi de 29,99 mg/L, enquanto que em 58 dias foi de 24,04 mg/L. Ao quadruplicar para 5,00 mL de solução de microrganismos, a concentração de xileno em 7 dias foi de apenas 3,08 mg/L, enquanto que aos 58 dias foi de 1,72 mg/L. Todavia, a remoção ocorreu de forma mais eficaz entre os volumes de solução de microrganismos aplicados entre 5 e 6,25 mL.

A bioaugmentação aconteceu de maneira mais eficiente na competitividade e adaptabilidade entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos com a aplicação do volume de solução de microrganismos de 0 a 3,75 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino (MEGHARAJ et al., 2011). Além disso, de acordo Smith et al. (1998) o suprimento de nutrientes com fornecimento constante alterou a biomassa total do degradador de xileno, e com isso as taxas de degradação de xileno foram alteradas. Desta maneira, de acordo com as quantidades de micronutrientes e macronutrientes depositadas nos

microambientes, o desempenho da bioestimulação ocorreu de forma mais eficaz quando aplicado o volume de solução de microrganismos de de 0 a 3,75 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, contudo entre o volume de solução de microrganismos de 3,75 a 6,25 mL em 300 cm³ de solo arenoso fino, decorrente da competição pelo consumo dos micronutrientes e macronutrientes por parte dos microrganismos, houve a diminuição da eficiência do processo de biorremediação de xileno, ou seja, ecofisiológica diminuiu e interferiu na biorremediação de xileno devido à redução da taxa de recursos (MEGHARAJ et al., 2011).

A concentração de tolueno decresceu de forma menos intensa entre o volume de aplicação de solução de microrganismos de 3,75 a 6,25 mL, sendo que foi possível observar inflexões em ambas as curvas para o volume de 3,75 mL. Em pequenas quantidades de concentração de tolueno houve resistência a métodos de degradação biológica do tolueno presente no solo arenoso fino (NASCIMENTO et al., 2014).

Figura 28 – Remoção de xileno a partir da aplicação de diferentes volumes de solução de microrganismos no período de 7 e 58 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

A biorremediação é uma técnica de longa duração, portanto a remoção adequada de contaminantes pode levar vários anos (ZABBEY et al., 2017). As concentrações de benzeno, tolueno e xileno nos períodos de 7 e 58 não se enquadraram no valor máximo permitido estabelecido pelo Ministério da Saúde (2011) sendo que os respectivos valores para benzeno, tolueno e xileno é de 0,005, 0,200 e 0,300 mg/L, portanto não foi possível alcançar os padrões da legislação brasileira no tempo estudado.

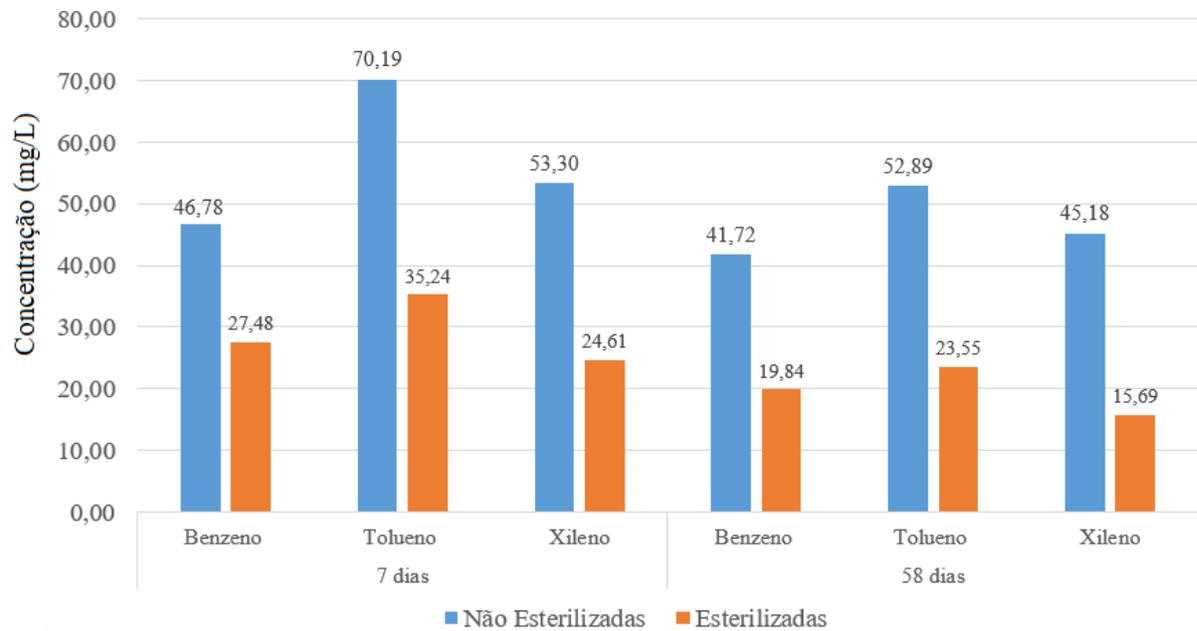
5.3.4 Ensaio 4

O Ensaio 4 teve a finalidade de verificar a remoção de BTX ao comparar microambiente esterilizado com um não esterilizado, tendo por base os valores obtidos no Ensaio 2, exposto na Figura 24, cuja inflexão das curvas referentes a concentração de BTX em função da aplicação do volume de solução de microrganismos ocorreu em um valor próximo a 1,5 mL do volume de solução de microrganismos inicial.

A massa total de líquidos do Ensaio 4 possuiu um teor de umidade de 40,83% e foi formada por uma massa total de líquidos de 143,50 g. O volume de vazios do Ensaio 4 foi de 174,53 cm³, o volumes de sólidos foi de 125,47 g, o volume total de líquidos foi de 143,50 cm³, enquanto que o volume foi de vazios de 174,53 cm³ e o volume total de sólidos teve o valor de 125,47 cm³.

A Figura 29 demonstra a variação da concentração de BTX no microambiente esterilizado e do não esterilizado no período de 30 dias. A redução da concentração de BTX, em 7 e 58 dias de experimento, foi mais eficiente no microambiente esterilizado do que no microambiente não esterilizado, indicando que a competição entre os microrganismos autóctones e os presentes na solução de microrganismos adicionada não foi benéfica para o processo de biorremediação (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010). É possível inferir que a presença da solução de microrganismos proporcionaria resultados mais satisfatórios na ausência ou na baixa quantidade de microrganismos autóctones, pois houve uma grande diferença de valores, sendo a concentração de benzeno, tolueno e xileno menores em todos os casos inferiores no microambiente esterilizado.

Figura 29 – Comparação entre o microambiente esterilizado e o não esterilizado para as concentrações de benzeno, tolueno e xileno em 7 e 58 dias para 1,5 mL de volume de solução de microrganismos



Fonte: Elaboração do próprio autor.

5.3.5 Ensaio 5

A Tabela 9 demonstra as quantidades dos elementos pertencentes aos microambientes do Ensaio 5 em quantidades em volume, massa e teor de umidade para verificação do pH, teor de umidade e teor de carbono em 7, 38 e 59 dias e da concentração de benzeno, tolueno e xileno em 14, 32 e 42 dias.

Tabela 9 – Amostras para verificação do pH, teor de umidade e teor de carbono em 7, 38 e 59 dias e da concentração de benzeno, tolueno e xileno em 14, 32 e 42 dias

Amostras do Ensaio 5	I	II	III	IV	V	VI Controle
Volume solução sintética de diesel (mL)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Volume de solução de microrganismos (mL)	20,00	15,00	10,00	5,00	2,00	0,00
Volume de adição de água deionizada (mL)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Massa de líquidos total (g)	79,25	74,25	69,25	64,25	61,25	59,25
Teor de umidade inicial (%)	45,09	42,25	39,40	36,56	34,85	33,71
Volume de vazios (cm ³)	87,26	87,26	87,26	87,26	87,26	87,26
Volume de sólidos (cm ³)	62,74	62,74	62,74	62,74	62,74	62,74
Volume de total de líquidos (cm ³)	79,25	74,25	69,25	64,25	61,25	59,25

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 5

I: Amostra com 20,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 45,09%.

II: Amostra com 15,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 42,25%

III: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.

IV: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.

V: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.

VI Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.

5.3.5.1 pH em 7, 38 e 59 dias

A variação de pH de microambientes esterilizados e não esterilizados por meio de amostras coletadas em 7, 38 e 59 dias conforme pode ser visualizado na Tabela 10.

Tabela 10 – pH em 7, 38 e 59 dias para amostras esterilizadas e não esterilizadas

Amostra	Esterilizadas			Não Esterilizadas		
	7 dias	38 dias	59 dias	7 dias	38 dias	59 dias
I	4,88	5,18	5,31	4,96	5,11	5,14
II	4,92	5,22	5,17	4,91	5,21	5,21
III	4,9	5,27	5,21	4,81	5,06	5,07
IV	4,97	5,1	5,21	4,81	5,27	5,28
V	5,01	5,12	5,13	5,05	5,27	5,37
VI Controle	5,09	5,22	5,33	5,04	5,26	5,42

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 5

I: Amostra com 20,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 45,09%.

II: Amostra com 15,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 42,25%.

III: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.

IV: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.

V: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.

VI Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.

Por meio da Tabela 9 foi possível notar que o pH se elevou de maneira geral com o passar do tempo em cada microambiente. As amostras que receberam maiores quantidades de solução de microrganismos apresentaram um pH mais ácido, assim como nos Ensaio 1 e 2

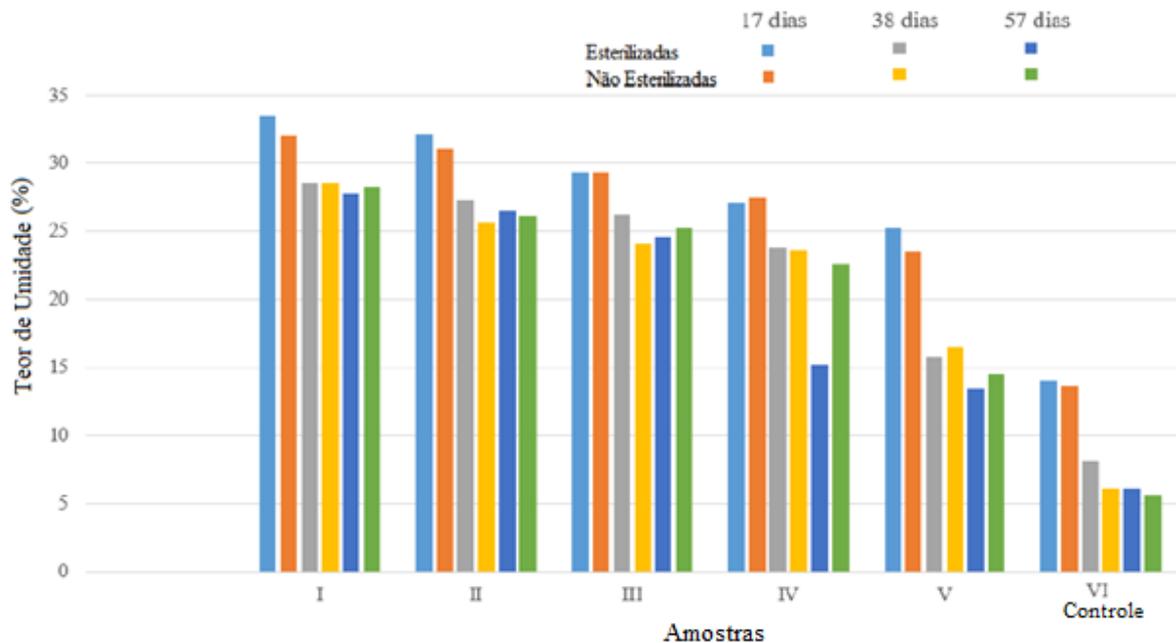
devido o pH da solução de microrganismos possuía um pH ácido de 3,83. Sendo que o solo arenoso fino com pH de 4,15 favoreceu a acidez nos microambientes.

O aumento de pH em um processo de biorremediação pode ocorrer devido ao aumento da atividade de respiração dos microrganismos decorrente de maior atividade celular para eliminar CO₂ e com isso o pH fica mais elevado (RON; ROSENBERG, 2014).

5.3.5.2 Teor de umidade em 17, 38 e 57 dias

A variação de teor de umidade nos microambientes esterilizados e não esterilizados por meio de amostras coletadas referente aos período de 7, 38 e 57 dias pode ser visualizado na Figura 30.

Figura 30 - A variação do teor de umidade das amostras esterilizadas e não esterilizadas no período de 7, 38 e 57 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 5

I: Amostra com 20,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 45,09%.

II: Amostra com 15,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 42,25%.

III: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.

IV: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.

V: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.

VI Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.

Por meio da Figura 30 é possível perceber que o teor de umidade diminuiu com o passar do tempo devido à evaporação da massa líquida. As amostras que receberam menores quantidades de solução de microrganismos obtiveram teores de umidade menor com o passar do tempo.

O teor de umidade entre as amostras esterilizadas e não esterilizadas foi praticamente equivalente, portanto não houve diferenças significativas em seus valores. Portanto houve condições semelhantes de comportamento entre as amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas de adsorção, volatilização, diluição e convecção na atenuação do BTX, além da biodegradação (ZHOU et al., 2017).

5.3.5.3 Teor de carbono em 17, 38 e 57 dias

A variação de teor de carbono nos microambientes esterilizados e não esterilizados por meio de amostras coletadas em 17, 38 e 57 dias pode ser visualizado na Tabela 11.

Tabela 11 - A variação do teor de carbono em 17, 38 e 57 dias

Amostra	17 dias		38 dias		57 dias	
	Esterilizadas	Não Esterilizadas	Esterilizadas	Não Esterilizadas	Esterilizadas	Não Esterilizadas
I	5,04	4,98	4,78	4,77	4,71	4,93
II	5,12	4,96	4,89	4,97	4,63	4,87
III	4,68	4,93	4,76	4,98	4,80	4,84
IV	4,93	4,96	4,89	4,78	4,86	4,72
V	4,82	5,21	4,57	4,77	4,83	4,67
VI Controle	4,78	4,80	5,16	4,69	4,55	4,94

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 5

I: Amostra com 20,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 45,09%.

II: Amostra com 15,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 42,25%.

III: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.

IV: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.

V: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.

VI Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.

Da Figura 25 foi possível observar que o teor de carbono se manteve com valores próximos de 5% assim, como no Ensaio 3, ainda que os teores de umidade e o volume de solução de microrganismos possuíssem valores diferentes. Não foi perceptível verificar

alteração no teor de carbono de acordo com a variação do teor de umidade. O método de análise de teor de carbono utilizado não foi eficiente na obtenção dos resultados. Com isso, é possível inferir que o teor de carbono não foi suficientemente influenciado ou não foi possível ser detectado pelo método de Robertson (2011), assim como nos Ensaio 1 e 3.

Pelo método de Robertson (2011), assim como no Ensaio 1, não foi possível verificar relação entre a variação do teor de umidade com o teor de carbono. Isto porque, a volatilização de BTX do meio aquoso para o ar e transformada em compostos inócuos de carbono possuíram valores desconhecidos (CHEN et al., 2010). Sendo assim, não foi possível conhecer quantitativamente o valor de teor de carbono, bem como a sua variação de forma precisa em que o BTX foi transformado em CO₂, CH₄ e biomassa, ou seja, em outras formas de carbono após o processo de biorremediação (ABBASIAN et al., 2015).

5.3.5.4 Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 14, 32 e 42 dias

De acordo com os resultados apresentados, quanto a redução da concentração de BTX em 14, 32 e 42 dias, em comparação com os membros autóctones, os empenhos da bioaugmentação foram favoráveis quanto ao processo de biorremediação, sendo que de acordo com Megharaj et al. (2011) a bioaugmentação pode muitas vezes falhar decorrente da menor eficiência, competitividade e adaptabilidade. Neste caso, a redução da concentração de BTX ocorreu de forma eficientes e econômica (LOURENÇO, 2006; VARJANI et al., 2017).

Os microrganismos degradadores de hidrocarbonetos estão presentes em muitos ambientes, ainda que o ambiente não possua nenhuma contaminação Varjani et al. (2015). Através da técnica de bioaugmentação, os microrganismos pertencentes a solução de microrganismos, transferidos para o microambiente contaminado com BTX aceleraram o processo de biorremediação de BTX, pois os resultados das amostras que não eram controle (amostras I, II, III, IV e V) foram superiores aos das amostra controle (amostra VI) (MEGHARAJ et al., 2011).

Os microrganismos mais resistentes foram os primeiros a eliminar o BTX, a partir da sua resposta fisiológica, de acordo com as condições nutricionais e tolerância à toxicidade do BTX (HUERTAS et al., 1998; MEGHARAJ et al., 2011). A atividade microbiana na biorremediação também foi afetada pelo baixo pH, a uma temperatura de 28°C ± 2°C, os fungos possuíram vantagens em relação às bactérias quanto a adaptabilidade nos microambientes sujeitos a toxicidade e recalcitrância do BTX, além de ter se adaptado a concentração de oxigênio com a possibilidade do uso rotas metabólicas alternativas como a denitrificação e a amonificação (GRIFFIN, 1994; TATE, 1995; EGGEN; MAJCHERCZYK,

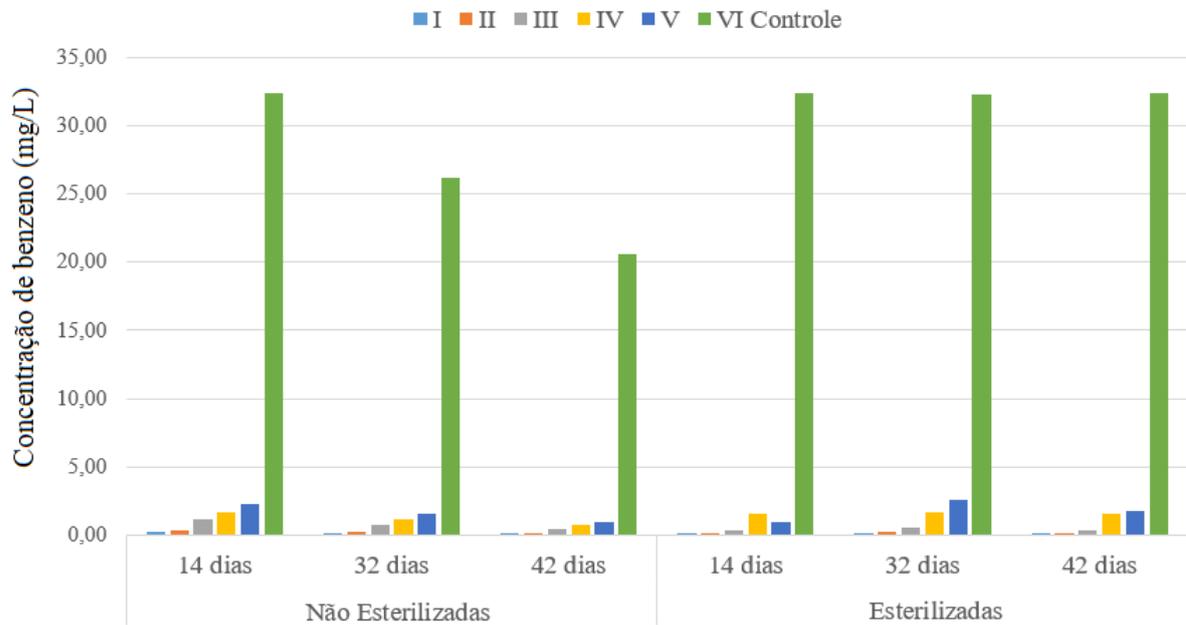
1998; TAKAYA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2006; SANTAELLA et al., 2009; ANDRADE et al., 2010).

A concentração de benzeno em 14, 32 e 42 dias nas amostras, referentes aos microambientes esterilizados e não esterilizados, pode ser visualizada na Figura 31. Foi possível verificar que houve diminuição da concentração de benzeno em todos os períodos estudados, porém para as amostras controle (VI controle) não esterilizadas a redução da concentração de benzeno apresentou baixa eficiência. Atualmente a porcentagem de biodiesel no diesel brasileiro é em torno de 9% (BRASIL, 2016), a baixa redução da concentração de benzeno pelos microrganismos autóctones provavelmente ocorreu devido à influência do biodiesel, pois de acordo com Schambeck et al. (2015) pode ter ocorrido biodegradação preferencial do biodiesel.

A redução da concentração de benzeno foi menos eficiente em amostras esterilizadas em comparação com as amostras não esterilizadas, com exceção das amostras controle. Com isso, a união entre os microrganismos autóctones e entre os microrganismos pertencentes a solução de microrganismos foi benéfica para o processo de biorremediação, com exceção das amostras IV e V em que foi aplicado o volume de 5 mL e 2 mL de solução de microrganismos, respectivamente. Portanto, foi possível observar que para menores quantidades de solução de microrganismos aplicadas, houve uma tendência de desempenho melhor para amostras não esterilizadas. Desta forma, a competição de microrganismos autóctones com os da solução de microrganismos foi prejudicial ao processo de biorremediação (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010).

Assim como nos Ensaio 1, 2 e 3, foi possível observar que as amostras que receberam maiores de volumes de solução de microrganismos obtiveram maior eficiência na redução de concentrações de benzeno. Pela Figura 31, também foi possível observar que houve uma disparidade entre os valores numéricos das concentrações de benzeno das amostras controle para com as demais amostras em cada microambiente nos períodos de coleta das amostras realizados, sendo assim, o uso da bioaumentação acelerou a biodegradação de benzeno (FERNÁNDEZ et al., 2016; ZABBEY et al., 2017).

Figura 31 – Concentração de benzeno em 14, 32 e 42 dias para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 5

I: Amostra com 20,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 45,09%

II: Amostra com 15,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 42,25%

III: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%

IV: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%

V: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%

VI Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%

Portanto, não houve concentrações de benzeno no período de 14, 32 e 42 dias, tanto para as amostras esterilizadas quanto para as não esterilizadas, que se adequassem ao valor máximo permitido estabelecido pelo Ministério da Saúde (2011) em que para benzeno o valor é de 0,005 mg/L, sendo assim, não foi possível alcançar o padrão exigido pela legislação brasileira. Contudo, a redução da concentração de benzeno através do processo de biorremediação proporcionou melhorias da funcionalidade do solo arenoso fino deixando-o mais próximo ao que existia antes da contaminação (ZABBEY et al., 2017).

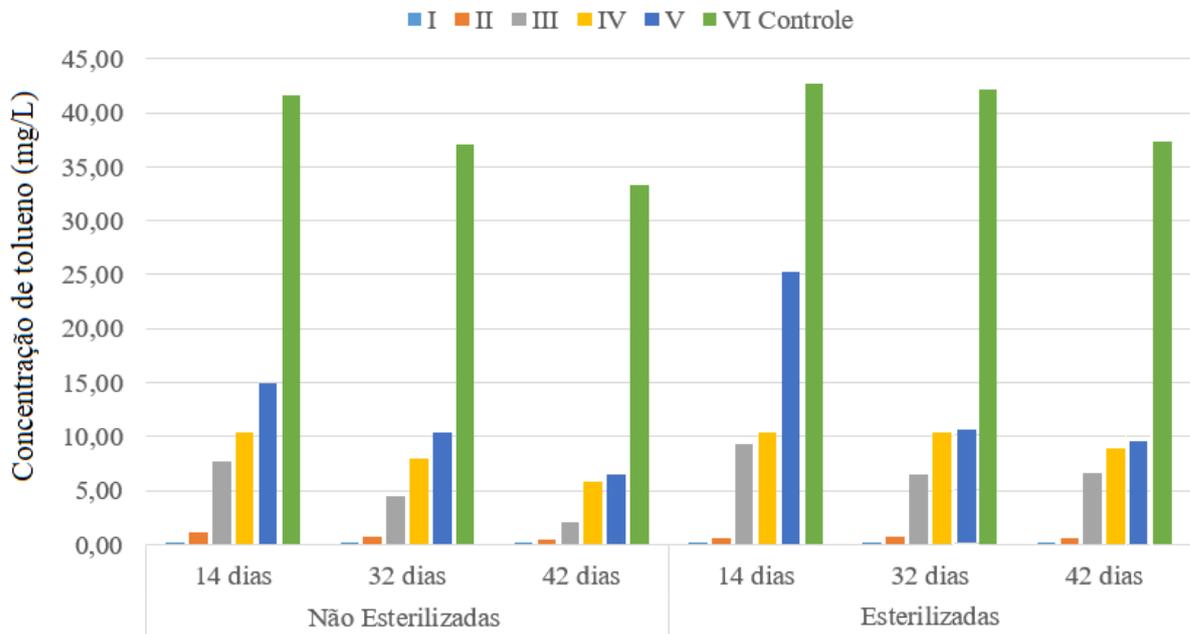
A concentração de tolueno em 14, 32 e 42 dias nas amostras pertencentes aos microambientes esterilizados e não esterilizados pode ser visualizada na Figura 32. É possível

verificar que houve diminuição da concentração de tolueno em todos os períodos estudados, porém para as amostras controle (VI controle) não esterilizadas ocorreu de forma mais lenta. Isto pode ter acontecido decorrente da influência do biodiesel, pois de acordo com Schambeck et al. (2015) pode ter ocorrido biodegradação preferencial do biodiesel por parte dos microrganismos autóctones ao invés do tolueno, uma vez que atualmente a porcentagem de biodiesel no diesel brasileiro é em torno de 9% (BRASIL, 2016).

A redução da concentração de tolueno foi menos eficiente para amostras esterilizadas no período de 14, 32 e 42 dias que para as amostras não esterilizadas indicando que a união entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos foi benéfica para o processo de biorremediação, com exceção das amostras III, IV e V em que foi aplicado o volume de 10 mL, 5 mL e 2 mL de solução de microrganismos em 150 cm³, respectivamente. Com isso, foi possível notar que, para quantidades menores de solução de microrganismos aplicadas, houve uma tendência de desempenho melhor para as amostras não esterilizadas pois a competição de microrganismos autóctones com os da solução de microrganismos foi benéfica ao processo de biorremediação (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010).

Para as amostras controle (VI Controle) a redução da concentração de xileno foi menos eficiente para amostras esterilizadas do que para as amostras não esterilizadas nos períodos de 14, 32 e 42 dias. Assim como nos Ensaios 1, 2 e 3, foi possível observar que as amostras que receberam maiores quantidades de volume de solução de microrganismos obtiveram maior eficiência na redução de concentração de tolueno. Além disso, houve uma disparidade bastante grande entre os valores numéricos das concentrações de tolueno das amostras controle para com as demais amostras em cada microambiente nos períodos de coleta das amostras, sendo assim, o uso da bioaugmentação acelerou a biodegradação de tolueno (FERNÁNDEZ et al., 2016; ZABBEY et al., 2017).

Figura 32 – Concentração de tolueno em 14, 32 e 42 dias para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 5

I: Amostra com 20,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 45,09%

II: Amostra com 15,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 42,25%

III: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%

IV: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%

V: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%

VI Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%

Praticamente não houve concentrações de tolueno, no período de 14, 32 e 42 dias, tanto para as amostras esterilizadas quanto para as não esterilizadas, que se adequassem ao valor máximo permitido estabelecido pelo Ministério da Saúde (2011) cujo valor é de 0,200 mg/L, portanto não foi possível alcançar os padrões da legislação brasileira com exceção dos resultados referentes a Amostra I, porém foi aplicada uma quantidade excessiva de solução de microrganismos sendo o valor de 25 mL em 150 cm³ de solo arenoso fino. Contudo, o processo de biorremediação de tolueno favoreceu ao retorno da funcionalidade do solo arenoso fino deixando-o mais próximo ao que existia antes da contaminação (ZABBEY et al., 2017).

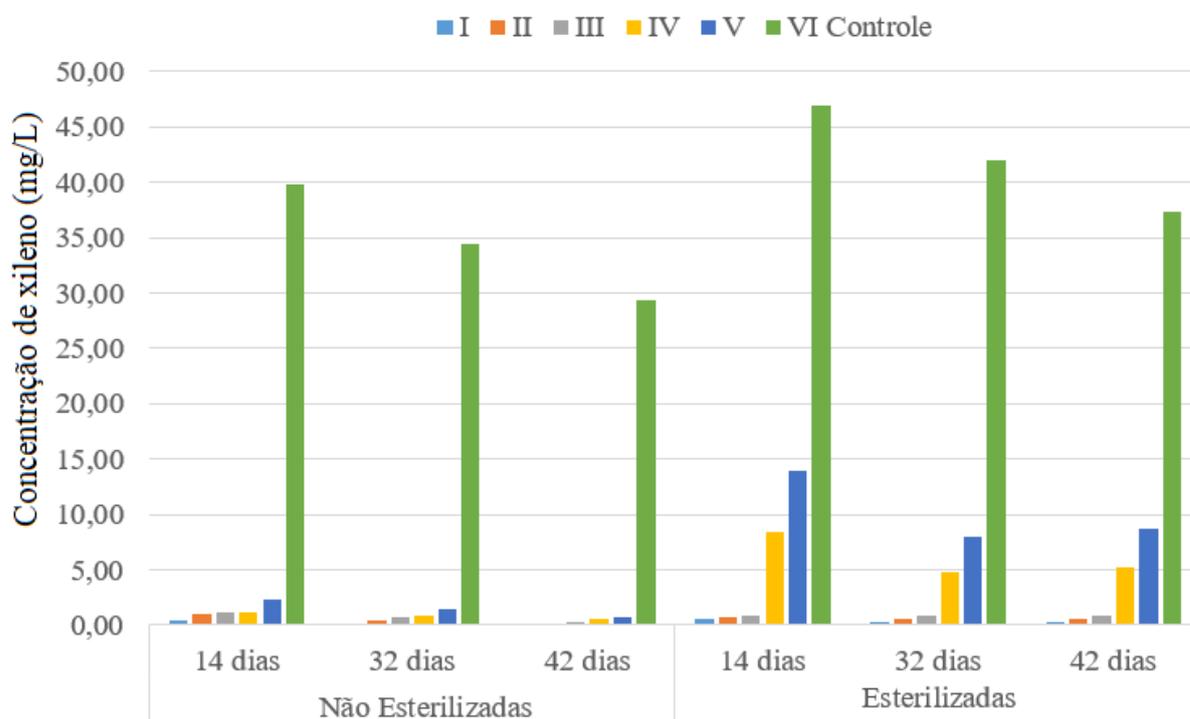
Conforme pode ser visto na Figura 33, praticamente não houve concentrações de xileno no período de 14, 32 e 42 dias, tanto para as amostras esterilizadas quanto para as não esterilizadas, que se adequassem ao valor máximo permitido estabelecido pelo Ministério da Saúde (2011) em que para o xileno é de 0,300 mg/L, portanto não foi possível alcançar os padrões da legislação brasileira, com exceção da Amostra I (tanto em amostras esterilizadas como em amostras não esterilizadas) em 32 dias e da Amostra II (esterilizada) em 42 dias. Contudo, o volume de solução de microrganismos aplicado na Amostra I foi de 20,00 mL e na Amostra II foi de 15,00 mL em 150 cm³ de solo arenoso fino, valores que podem ser considerados excessivos para aplicação prática. Porém, a redução da concentração de xileno, através do processo de biorremediação, provocou melhorias da funcionalidade do solo arenoso fino deixando-o mais próximo ao que existia antes da contaminação (ZABBEY et al., 2017).

A concentração de xileno nas amostras controle (VI controle) não esterilizadas diminuiu com baixa eficiência. Provavelmente isto foi ocasionado pela presença da porcentagem de biodiesel no diesel brasileiro que é em torno de 9% (BRASIL, 2016), com isso, a biorremediação pelos microrganismos autóctones foi prejudicada por ter ocorrido pode ter ocorrido biodegradação preferencial do biodiesel (SCHAMBECK et al., 2015).

Em todos os casos, praticamente houve maior redução das concentrações de xileno nas amostras não esterilizadas do que nas amostras esterilizadas indicando que a união entre os microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos foi benéfica para o processo de biorremediação, com exceção das amostras IV e V em que foi aplicado 5 mL e 2 mL de solução de microrganismos, respectivamente. Portanto, é possível observar que para menores quantidades de solução de microrganismos aplicadas, houve tendências de desempenho melhor para amostras não esterilizadas devido a competição de microrganismos autóctones com os da solução de microrganismos ser benéfica para o processo de biorremediação (MROZIK; PIOTROWSKA- SEGET, 2010).

De forma similar aos Ensaio 1, 2 e 3, foi possível observar que as amostras que receberam maiores quantidades de volume de solução de microrganismos obtiveram maior eficiência de remoção de xileno. Além disso, houve uma disparidade bastante grande entre os valores numéricos da concentração de xileno das amostras controle para com as demais amostras em cada microambiente nos períodos de coleta das amostras, desta forma o uso da bioaugmentação acelerou a biodegradação de tolueno (FERNÁNDEZ et al., 2016; ZABBEY et al., 2017).

Figura 33 – Concentração de xileno em 14, 32 e 42 dias para amostras esterilizadas e amostras não esterilizadas



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 5

I: Amostra com 20,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 45,09%.

II: Amostra com 15,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 42,25%.

II: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.

IV: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.

V: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.

VI Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.

O lançamento de massas líquidas maiores oriundas de aplicações de maiores volumes de solução de microrganismos gerou teores de umidade maiores. Isto pode ter impactado de forma significativa o processo de biorremediação de BTX porque o teor de umidade aumenta a bioacessibilidade por favorecer o transporte de poluentes para serem degradados pelos microrganismos (GUERIN, 2000; MICHELS et al., 2000).

5.3.6 Ensaio 6

A Tabela 12 demonstra as quantidades em volume, massa e teor de umidade dos elementos para verificar a diferença entre da concentração de benzeno, tolueno e xileno para amostras contendo ácido esteárico e amostras não contendo ácido esteárico pertencentes ao Ensaio 6.

Tabela 12 – Amostras para verificar a diferença entre da concentração de benzeno, tolueno e xileno para amostras contendo ácido esteárico e amostras não contendo ácido esteárico

Amostras do Ensaio 6	1 Controle	2	3	4	5
Volume solução sintética de BTX puro (mL)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Volume de solução de microrganismos (mL)	0,00	2,00	5,00	10,00	25,00
Volume de adição de água deionizada (mL)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Massa de líquidos total (g)	59,25	61,25	64,25	69,25	84,25
Teor de umidade inicial do microcosmo (%)	33,71	34,85	36,56	39,40	47,94
Volume de vazios (cm³)	87,26	87,26	87,26	87,26	87,26
Volume de sólidos (cm³)	62,74	62,74	62,74	62,74	62,74
Volume de total de líquidos (cm³)	59,25	61,25	64,25	69,25	84,25

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 6

1 Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.

2: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.

3: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.

4: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.

5: Amostra com 25,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 47,94%.

5.3.6.1 Solubilidade de benzeno, tolueno e xileno

Os elementos pertencentes ao BTX possuem caráter oleoso e são menos densos do que a água, com isso é necessário o uso de surfactante para promover solubilização, diminuir a viscosidade e hidrofobicidade (LAHA et al., 2009). O Ensaio 6 verificou a eficácia do uso de ácido esteárico como surfactante, e foi possível obter valores de concentrações ligeiramente superiores de BTX ao utilizar ácido esteárico como surfactante sendo que as concentrações de benzeno, tolueno e xileno foram de 45,40, 57,91 e 54,13 mg/L, respectivamente, com o uso de ácido esteárico e foram de 30,94, 45,11 e 44,70 mg/L sem o uso do ácido esteárico. Com isso, os microambientes contendo ácido esteárico (AE) receberam neste estudo maiores teores de BTX iniciais que as amostras sem ácido esteárico (SAE).

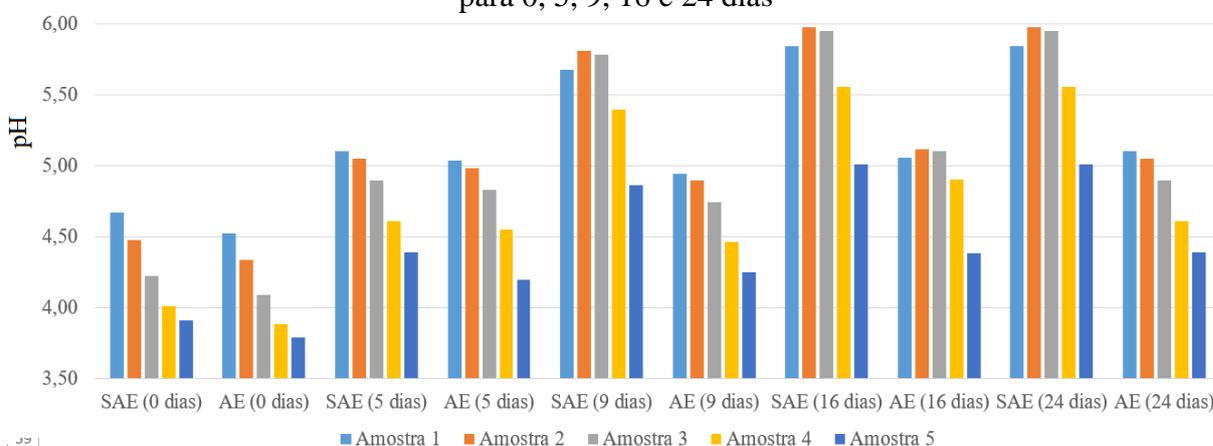
Ao se comparar as concentrações de BTX (0 mL de volume de solução de microrganismos) nas Figuras 26, 27 e 28, que representam o Ensaio 3 em que se utilizou solução sintética de diesel, é possível observar a solubilidade da solução sintética de diesel apresentou valores superiores mesmo após 7 dias de experimento.

De acordo com Tiburtius et al. (2004), a concentração do B:T:X pode chegar a 1760, 532 e 163-185 mg/L, portanto estes valores de limite máximo de dissolução do BTX são bastante superiores aos encontrados nestes experimentos. Com isso, o uso do ácido esteárico não se apresentou eficaz como surfactante.

5.3.6.2 pH em 0, 5, 9, 16 e 24 dias

Ao observar a Figura 34 é possível notar que o pH tendeu a crescer com o decorrer do tempo de forma semelhante aos Ensaio 1, 2 e 5. O solo arenoso fino com o pH de 4,15 colaborou para que o pH dos microambientes fosse ácido, inclusive os microambientes das amostras controle. Nas amostras que continham ácido esteárico (AE) e nas amostras que não continham ácido esteárico (SAE), de forma geral, o pH foi maior nos microambientes que receberam menores quantidades de solução de microrganismos devido sua acidez inicial (pH de 3,83). De maneira geral, os microambientes das amostras que continham ácido esteárico (AE) possuíram valores de pH mais baixos que os dos microambientes que não continham ácido esteárico (SAE). É possível visualizar que houve uma tendência de que os valores de pH dos microambientes não esterilizados fossem superiores na maioria das amostras. Provavelmente a atividade de respiração dos microrganismos ao eliminar CO₂ favoreceu a elevação do pH (RON; ROSENBERG, 2014).

Figura 34 – pH das amostras dos microambientes com ácido esteárico e sem ácido esteárico para 0, 5, 9, 16 e 24 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 6

AE: Amostras com ácido esteárico

SAE: Amostras sem ácido esteárico

- 1 Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.
- 2: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.
- 3: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.
- 4: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.
- 5: Amostra com 25,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 47,94%.

5.3.6.3 Concentração de benzeno, tolueno e xileno em 5, 9, 16 e 24 dias

Nos microambientes contaminados por BTX, com ácido esteárico ou sem ácido esteárico como surfactante, os microrganismos mais resistentes foram os primeiros a eliminar os contaminantes, sendo assim os fungos possuíram maior capacidade de adaptação as quantidade de oxigênio e nutrientes, além de possuir resistência a compostos tóxicos e recalitrante, como é o caso do BTX em meio a pH baixo dos microambientes (GRIFFIN, 1994; TATE, 1995; EGGEN; MAJCHERCZYK, 1998; HUERTAS et al., 1998; TAKAYA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2006; SANTAELLA et al., 2009; ANDRADE et al., 2010; MEGHARAJ et al., 2011).

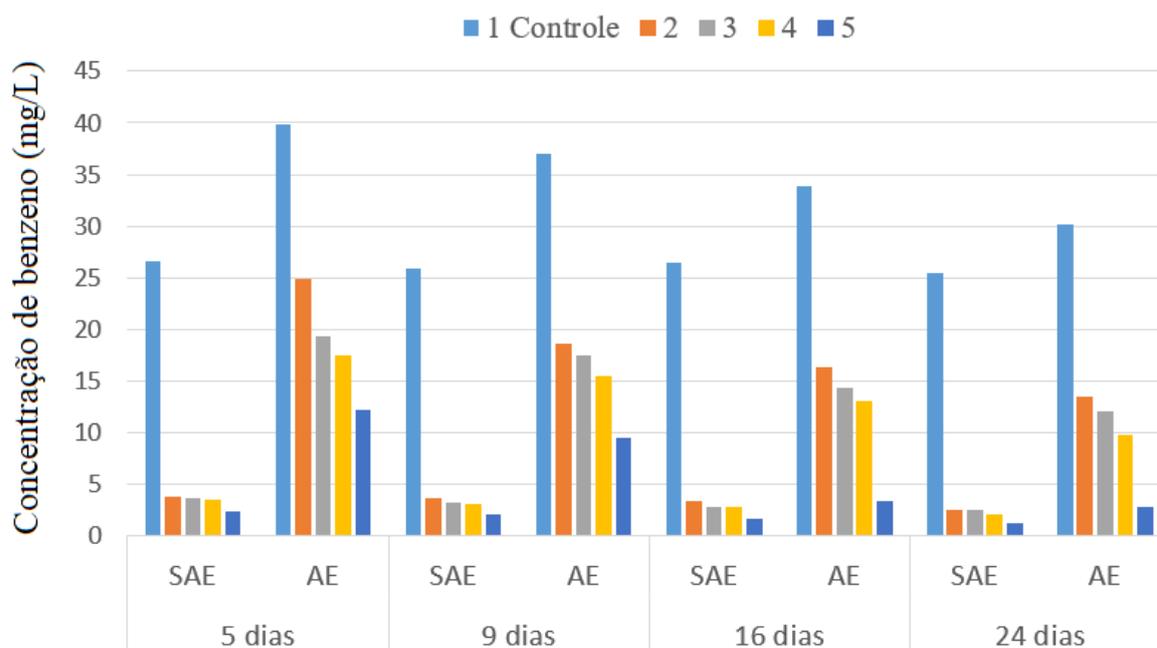
Pela Figura 35 é possível observar que a presença de surfactante presente nas amostras que continham ácido esteárico (AE) foi prejudicial ao processo de biorremediação do benzeno em comparação às amostras sem ácido esteárico (SAE), exceto nas amostras controle. A toxicidade foi causada pela interação do ácido esteárico com as moléculas de proteína essenciais para a função celular da biota pertencente aos microambientes (VOLKERING et al., 1998). Portanto, a toxicidade do ácido esteárico como surfactante na biota do solo arenoso fino contaminado por BTX reduziu a capacidade de biodegradação de benzeno por perturbar o equilíbrio das funções ecológicas nos microambientes (ROSAL et al., 2010).

Ainda que o surfactante tenha solubilizado mais benzeno ao reduzir tensões interfaciais entre o óleo e a água, diminuindo a viscosidade e proporcionando maior bioacessibilidade aos microrganismos presentes nos microambientes devido incremento da mobilidade do benzeno, a toxidade do ácido esteárico foi prejudicial ao processo de biorremediação de benzeno (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011).

De acordo com a Figura 35, a redução da concentração de benzeno cresceu com o decorrer do tempo para todas as amostras que não continham ácido esteárico (SAE) e para todas as que continham ácido esteárico (AE). Além disso, a persistência das concentrações de benzeno nas amostras que continham ácido esteárico (AE) foram maiores que as amostras que

não continham ácido esteárico (SAE). Apesar do período estudado ter sido relativamente curto, houve uma grande redução de benzeno, inclusive nas amostras controle, porém de maneira menos intensa. Portanto, o processo de biorremediação de benzeno ocorreu por intermédio dos microrganismos pela produção de biossurfactantes com desenvolvimento da interface entre fase sólida e o contaminante, desta forma a degradação de benzeno pode ter ocorrido presumivelmente por meio da dessorção (TANG et al.,1998; KAVITHA et al., 2014). A ausência do ácido esteárico nos microambientes indicou que os biossurfactantes produzidos pelos microrganismos possuíam baixa toxicidade e biodegradabilidade favorável ao microambiente, sendo que apenas a presença dos microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos favoreceram a biodegradação de benzeno sem o uso de ácido esteárico como surfactante (MNIF et al., 2017).

Figura 35 – Concentração de benzeno para amostras sem ácido esteárico e com ácido esteárico para o período de 5, 9, 16 e 24 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 6

AE: Amostras com ácido esteárico

SAE: Amostras sem ácido esteárico

1 Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%

2: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%

3: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%

4: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%

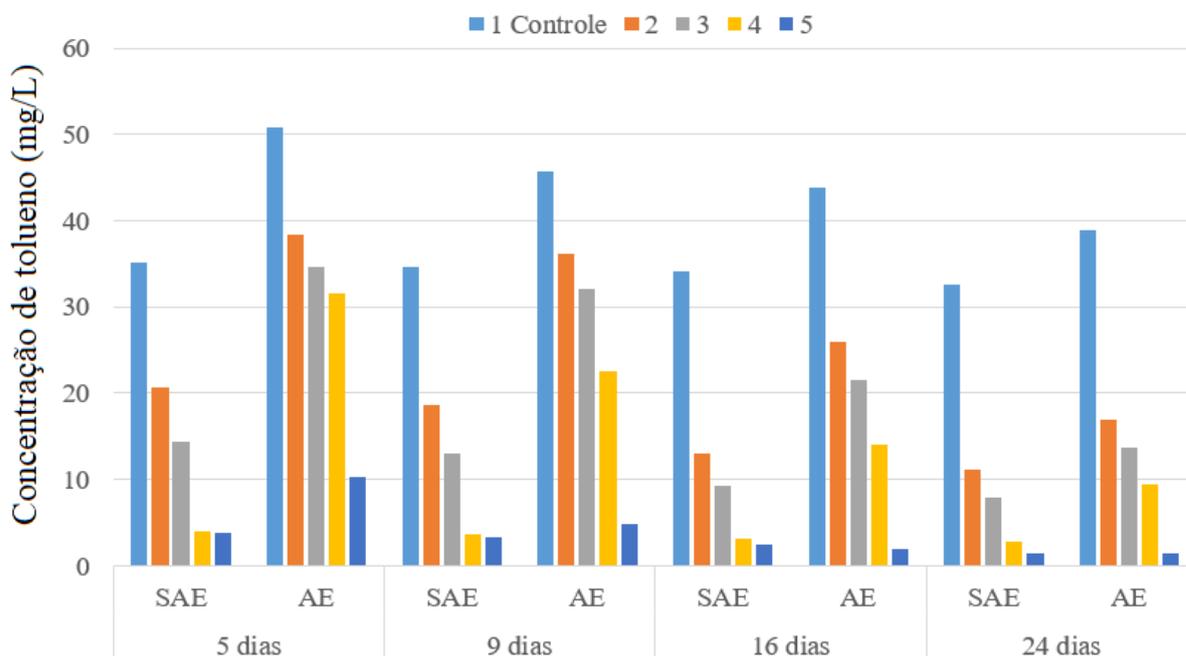
5: Amostra com 25,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 47,94%

A partir da Figura 36 é possível notar que a presença de surfactante nas amostras que continham ácido esteárico (AE) foi prejudicial ao processo de biorremediação do tolueno, com relação às amostras sem ácido esteárico (SAE), exceto nas amostras controle, ainda que o surfactante tenha solubilizado mais tolueno ao reduzir tensões interfaciais entre o óleo e a água e com isso reduzir a viscosidade proporcionando maior bioacessibilidade do tolueno aos microrganismos presentes nos microambientes devido ao incremento de mobilidade do tolueno (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011). A toxicidade do ácido foi causada pela interação entre o ácido esteárico e as moléculas de proteína essenciais para a função celular dos microrganismos (VOLKERING et al., 1998). Sendo assim, a capacidade de biodegradação de tolueno foi reduzida devido à toxicidade do ácido esteárico sobre a biota do solo arenoso fino contaminado por tolueno, pois houve perturbação do equilíbrio das funções ecológicas nos microambientes (ROSAL et al., 2010).

Ao observar a Figura 36 é possível constatar que a redução da concentração de tolueno cresceu com o decorrer do tempo, para todas as amostras que não continham ácido esteárico (SAE) quanto para todas as amostras que continham ácido esteárico (AE). Houve persistência das concentrações de tolueno nas amostras que continham ácido esteárico (AE), pois estas foram maiores que as amostras que não continham ácido esteárico (SAE). Apesar do período estudado ter sido relativamente curto, ocorreu grande redução da concentração de tolueno, porém nas amostras controle a redução das concentrações de tolueno ocorreu de forma menos intensa.

A biorremediação de tolueno provavelmente ocorreu com a produção de biosurfactantes pelos microrganismos com desenvolvimento da interface entre fase sólida e o contaminante. Desta maneira, a degradação de tolueno pode ter ocorrido presumivelmente por meio da dessorção (TANG et al., 1998; KAVITHA et al., 2014). Em comparação com os microambientes que continham ácido esteárico com os que não continham ácido esteárico, a ausência do ácido esteárico no processo de biorremediação de tolueno indicou que os biosurfactantes produzidos pelos microrganismos dos microambientes possuíam baixa toxicidade e biodegradabilidade favorável, pois somente a presença dos microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos sem o uso de surfactantes favoreceu a biodegradação de tolueno (MNIF et al., 2017).

Figura 36 – Concentração de tolueno para amostras sem ácido esteárico e com ácido esteárico para o período de 5, 9, 16 e 24 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Amostras do Ensaio 6

AE: Amostras com ácido esteárico

SAE: Amostras sem ácido esteárico

1 Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%.

2: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%.

3: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%.

4: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%.

5: Amostra com 25,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 47,94%.

De acordo com a Figura 37, a redução da concentração de xileno cresceu com o decorrer do tempo para todas as amostras que continham ácido esteárico (SAE) e para todas as amostras que não continham ácido esteárico (AE). A persistência das concentrações de xileno nas amostras que continham ácido esteárico (AE) foram maiores que as amostras que não continham ácido esteárico (SAE). Apesar do período estudado ter sido relativamente curto, ocorreu uma grande redução da concentração de xileno, contudo nas amostras controle a redução da concentração de xileno ocorreu de forma menos intensa.

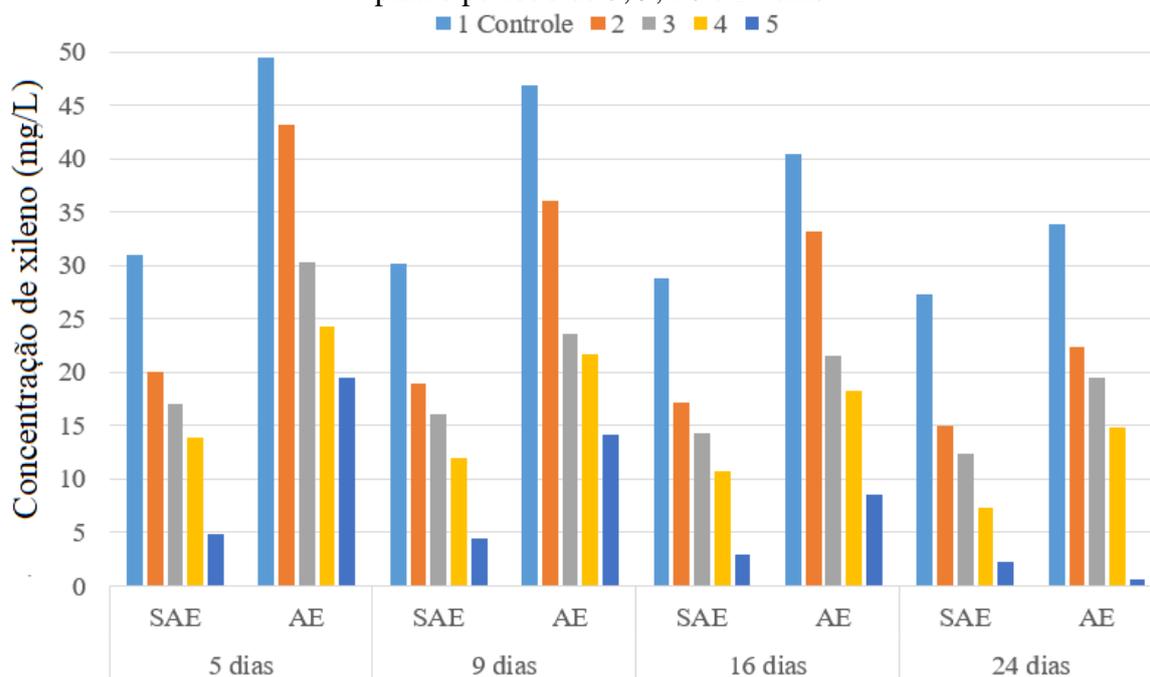
Pela Figura 37, é possível notar que a presença de surfactante nas amostras que continham ácido esteárico (AE) foi prejudicial ao processo de biorremediação de xileno em comparação às amostras que não continham ácido esteárico (SAE), exceto nas amostras

controle. Ainda que surfactante tenha solubilizado mais xileno ao reduzir tensões interfaciais entre o óleo e a água, proporcionando maior bioacessibilidade aos microrganismos presentes nos microambientes, devido ao incremento da mobilidade do xileno, a toxicidade do surfactante foi prejudicial ao processo de biorremediação (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011).

A toxicidade aos microambientes que continham esteárico foi causada pela interação do surfactante com as moléculas de proteína essenciais para a função celular dos microambientes (VOLKERING et al., 1998). Desta maneira, a toxicidade do ácido esteárico como surfactante na biota do solo arenoso fino contaminado por xileno perturbou o equilíbrio das funções ecológicas nos microambientes e com isso, houve redução da capacidade de biodegradação de xileno pela biota pertencente aos microambientes (ROSAL et al., 2010).

Portanto, o processo de biorremediação de xileno ocorreu por intermédio dos microrganismos pela produção de biosurfactantes com o desenvolvimento entre interface da fase sólida e o contaminante. Sendo assim, a degradação do xileno sorvido pode ter ocorrido presumivelmente por meio da dessorção (TANG et al., 1998; KAVITHA et al., 2014). A ausência do ácido esteárico nos microambientes indicou que os biosurfactantes produzidos pelos microrganismos possuíam baixa toxicidade e biodegradabilidade favorável ao microambiente, sendo que apenas a presença dos microrganismos autóctones e os da solução de microrganismos favoreceu a biodegradação de xileno, sendo não recomendável o uso de ácido esteárico (MNIF et al., 2017).

Figura 37 – Concentração de xileno para amostras sem ácido esteárico e com ácido esteárico para o período de 5, 9, 16 e 24 dias



Fonte: Elaboração do próprio autor

Amostras do Ensaio 6

AE: Amostras com ácido esteárico

SAE: Amostras sem ácido esteárico

1 Controle: Amostra controle com 0,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 33,71%

2: Amostra com 2,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 34,85%

3: Amostra com 5,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 36,56%

4: Amostra com 10,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 39,40%

5: Amostra com 25,00 mL de solução de microrganismos em 150 cm³ de solo arenoso fino com um teor de umidade de 47,94%

Os teores de umidade maiores nos microambientes podem ter influenciado de forma significativa eficiência processo de biorremediação de BTX de acordo lançamento de massas líquidas oriundas da solução de microrganismos. O teor de umidade aumenta a degradação de poluentes, pois também ocorre aumento da bioacessibilidade e com isso há um favorecimento do transporte de poluentes para que estes sejam degradados pelos microrganismos (GUERIN, 2000; MICHELS et al., 2000). Além disso, os teores de umidade maiores favoreceram a adsorção, volatilização, diluição e convecção, desta forma contribuíram para a atenuação do BTX, além da biodegradação (ZHOU et al., 2017).

Não houve concentrações de benzeno (Figura 35), tolueno (Figura 36) e xileno (Figura 37) no período 5, 9, 16 e 24 dias, tanto para as amostras que continham ácido esteárico (AE) como para as que não continham ácido esteárico (SAE), que se adequassem ao valor máximo permitido estabelecido pelo Ministério da Saúde (2011) para benzeno, tolueno e xileno, que possuem os respectivos valores de 0,005, 0,200 e 0,300 mg/L, portanto não foi possível alcançar os padrões da legislação brasileira. Provavelmente, a não degradabilidade dos organismos vivos foi ocasionada pela alta toxicidade para microrganismos degradadores de hidrocarbonetos (MOHANTY et al., 2013).

6 CONCLUSÕES

A redução das concentrações de BTX a uma temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, bem como o comportamento do teor de umidade (decreceu com o passar do tempo) e do pH (aumentou no decorrer do tempo) representaram uma tendência de proporcionalidade de acordo com a quantidade (em volume) da aplicação da solução de microrganismos. A partir dos resultados deste trabalho, um valor econômico e eficiente para a aplicação da solução de microrganismos em campo é o de 0,02 mL de solução de microrganismos por cm^3 de solo arenoso fino, pois houve resultados satisfatórios ao se utilizar 6,25 mL de solução de microrganismos para 300 cm^3 de solo arenoso fino no período de 7, 30 e 58 dias de experimento.

O uso de ácido esteárico apesar de ter solubilizado mais BTX, ao reduzir tensões interfaciais entre o óleo e a água, forneceu a maior bioacessibilidade aos microrganismos, contudo a toxicidade do ácido esteárico prejudicou o processo de biorremediação pois nos microambientes que continham ácido esteárico a remoção de BTX foi menor em comparação aos microambientes que não o possuíam.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Utilizar de método cromatográfico gasoso para possibilitar detecção de isômeros de xileno no processo de biorremediação do solo arenoso fino contaminado por BTX.
- Estudar como o fornecimento intenso de oxigênio de um processo de bioventilação pode interferir no processo de biorremediação de um solo arenoso fino contaminado por BTX.
- Analisar o comportamento da técnica de compostagem de materiais carbonáceos em conjunto com os compostos recalcitrantes BTX.
- Utilização de outros métodos de biorremediação em conjunto com bioaugmentação e/ou bioestimulação (compostagem, eletrobiorremediação, fitorremediação, wetlands construídos, entre outros).
- Estudar o desempenho da biorremediação adicionando-se etanol ou biodiesel em soluções sintéticas de BTX.
- Verificar a possibilidade do uso de outros surfactantes ou biosurfactantes no processo de biorremediação de solução sintética de BTX.
- Verificar o desempenho do ácido esteárico como surfactante no processo de biorremediação de solução de óleo diesel ou gasolina.
- Verificar o comportamento da biorremediação microambientes com maiores dimensões para entender o processo sob condições aeróbias (fornecendo-se oxigênio por meio de bioventilação), e também, sob condições anóxicas (manter o sistema fechado e previamente succionado).
- Utilizar o método respirométrico para conhecimento mais preciso da variação do teor de carbono nos microambientes.
- Otimizar a quantidade de micronutrientes e macronutrientes a serem aplicados nos microambientes.
- Estudar o comportamento de uma pluma de contaminantes, de acordo com o tempo de contato, aliando-se a biorremediação (a montante) com uma BRP (a jusante).

REFERÊNCIAS

- ABBASIAN, F. et al. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 176, n. 3, p. 670–699, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5>>. Acesso em: 10 nov. 2017.
- ABRAHAM, W. R. et al. Polychlorinated biphenyl-degrading microbial communities in soils and sediments, **Current Opinion in Microbiology**, London, v. 5, n. 3, p. 246-253, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00323-5](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00323-5)>. Acesso em: 11 nov. 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO- ANP. **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**. Rio de Janeiro: [s.n], 2013. Disponível em: <<https://www.anp.gov.br/wwwanp/?dw=68644>>. Acesso em: 3 out. 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO- ANP. **Boletim de abastecimento de fevereiro de 2015**. Rio de Janeiro: [s.n.], 2015. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/documents/1138769/1732805/Boletim+DCR+n%C2%BA+85+-+fevereiro+de+2015.pdf/9b4fdef4-3a2c-48c7-a111-34884d896406>>. Acesso em: 4 out. 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS- ABNT. **NBR 6459**: solo: determinação do limite de liquidez. Rio de Janeiro, 1984a.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 6508**: grãos de solo que passam na peneira de 4,8 Mm: determinação da massa específica. Rio de Janeiro, 1984b.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 7180**: solo: determinação do limite de plasticidade. Rio de Janeiro, 1984c.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 7181**: solo: análise granulométrica. Rio de Janeiro, 1984d.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 7182**: solo: ensaio de compactação. Rio de Janeiro, 1986. 10p.
- ALRUMMAN, A. S. B. D.; PATON, S. G. I. Effects of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity, **Journal of King Saud University - Science**, Riyadh, v. 27, n. 1, p. 31-41, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2014.10.001>>. Acesso em: 11 nov. 2017.
- AL ZALLOUHA, M. et al. Useful usefulness of toxicological validation of VOCs catalytic degradation by air-liquid interface exposure system. **Environmental Research**, New York, v. 152, n. 39, p. 328-335, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.10.027>>. Acesso em: 8 nov. 2017.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **D5333**: standard test method for measurement of collapse potential of soils. Philadelphia, 2003.
- AMBIEN LTDA BRASIL. **Ficha técnica saneamento ambiental**: tratamento de águas e efluentes, redução de custos, eliminação de odores e melhoria na eficiência e performance de

tratamento. Lauro de Freitas: [s.n.], 2017. Disponível em: <<http://www.em-la.com>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

ANDRADE, J. A. et al. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010, Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702010000300002>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

ANTIZAR-LADISLAO, B. et al. In-vessel composting—bioremediation of aged coal tar soil: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. **Environment International**, Crete, v. 31, n. 2, p. 173-178, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.09.012>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbiology and molecular biology reviews**, Bethesda, v. 45, n. 1, p. 180-209, 1981. Disponível em: <[https://doi/0146-0749/81/010180-30\\$02.00/0](https://doi/0146-0749/81/010180-30$02.00/0)>. Acesso em: 11 nov. 2017.

ATLAS, R. M. Microbial hydrocarbon degradation—bioremediation of oil spills. **Journal Chemistry Technology Biotechnology**, New York, v. 52, n. 2, p. 149–156, 1991. Disponível em: <<https://doi/10.1002/jctb.280520202>>. Acesso em: 17 nov. 2017.

AVANZI, I. R. **Áreas afetadas por BTEX na região de Cubatão**: isolamento de micro-organismos com potencial para biorremediação e impactos socioambientais causados por estes compostos. 2012. 140 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Ambiental)—Ciência Ambiental, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

BAEDECKER, M. J. et al. Loss of volatile hydrocarbons from an LNAPL oil source. **Journal of Contaminant Hydrology**, Bemidji, v. 126, n. 3–4, p. 140-152, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2011.06.006>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

BARROS, M. M., SZKLO, A. Petroleum refining flexibility and cost to address the risk of ethanol supply disruptions: the case of Brazil, **Renewable Energy**, Oxford, v. 77, n. 4, 2015, p. 20-31, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.11.081>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

BECEGATO, V. A. et al. Tomografia elétrica 2D e gravimetria para detecção de sítio contaminado por derivados de petróleo em área de passivo ambiental, **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 643-654, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s1413-4152201699442>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

BENTO, F. M. et al. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, n. 22, p. 65-68, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822003000500022>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

BOYAJIAN, G. E.; CARREIRA, L. H. Phytoremediation: a clean transition from laboratory to marketplace? **Nature Biotechnology**, New York, v. 15, n. 2, p. 127 -128, 1997. Disponível em: <<https://doi:10.1038/nbt0297-127>>. Acesso em: 23 dez. 2017.

BORSATO, D. et al. Análise físico-química de diesel interior em mistura com biodiesel. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 187-192, 2010. Disponível em: <<https://doi:10.4025/actascitechnol.v32i2.5531>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

BRAGATO, M. **Tratamento in-situ de solo contaminado por derivado de petróleo e metais**. 2006. 194 f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais)- Escola Politécnica, Universidade de São Paulo-USP, São Paulo, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria n.º 2.914, de 12 de Dezembro de 2011. Dispõe sobre normas de potabilidade de água para o consumo humano. Brasília: SVS, 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html. Acesso em: 10 dez. 2017.

BRASIL. Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nos 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF: Imprensa Oficial. 2005. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/111097.htm. Acesso em: 10 dez. 2017.

BRASIL. Lei nº 13.263, de 23 de março de 2016. Altera a lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF: Imprensa Oficial. 2016. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2016/Lei/L13263.htm#art1. Acesso em: 22 dez. 2017.

CEDEÑO, D. G. **Esmectita como agente transportador de nitrogênio para o manto sublitosférico**. 2015. 93 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Geologia)- Instituto de Geociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

CERQUEIRA, V. S.; COSTA, J. A. V. Biodegradação de tolueno e óleo de pescado em solos impactados utilizando surfactanes químico e biológico, **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 394-400, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000200024>. Acesso em: 11 dez. 2017.

CHAMKHA, M. et al. Isolation and characterization of Klebsiella oxytoca strain degrading crude oil from a Tunisian off-shore oil field, **Journal Basic Microbiology**, Weinheim, v. 51, n. 6, p. 580-589, 2011. Disponível em: <https://doi:10.1002/jobm.201100073>. Acesso em: 17 dez. 2017.

CHANDRA, S. et al. Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 63, n. 2, p. 417-431, 2013. Disponível em: <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s13213-012-0543-3>. Acesso em: 12 dez. 2017.

CHAUHAN, S. K. et al. Recent trends of volatile organic compounds in ambient air e its health impacts: a review. **International Journal For Technological Research In Engineering**, Tehran, v. 1, n. 8, p. 667-678, 2014, Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Vijay_Yadav6/publication/282503134_Recent_trends_of_volatile_organic_compounds_in_ambient_air_and_its_health_impacts_A_review/links/5610c49608ae4833751a183b.pdf. Acesso em: 19 set. 2017.

CHEN, W. et al. Influencing factors of BTEX volatilization bioinformatics and biomedical engineering. In: INTERNATIONAL CONFERENCE BIOINFORMATICS AND BIOMEDICAL ENGINEERING, 4., 2010, Chengdu. **Conference...** Chengdu: Granada,

2010. p. 1-5. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/ICBBE.2010.5516007>>. Acesso em: 14 dez. 2017.

CHENG, Y. et al. Integrated electrochemical treatment systems for facilitating the bioremediation of oil spill contaminated soil, **Chemosphere**, Oxford, v. 175, n. 33, p. 294-299, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.079>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

CHIA-HSIEN, Y. et al. Application of persulfate to remediate petroleum hydrocarbon-contaminated soil: Feasibility and comparison with common oxidants, **Journal of Hazardous Materials**, Madri, v. 186, n. 2-3, p. 2097-2102, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.12.129>>. Acesso em: 19 dez. 2017.

CLEMENT, T. P. et al. Modeling of DNAPL-dissolution, rate-limited sorption and biodegradation reactions in groundwater systems. **Bioremediation Journal**, Boca Raton, v. 8, n. 1-2, p. 47-64, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10889860490453177>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I. B. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. **Journal of Applied Microbiology**, New York, v. 93, n. 6, p. 915-929, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01774.x>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

CORSEUIL, H. X.; MARINS, M. D. M. Contaminação de águas subterrâneas por derramamentos de gasolina: O problema é grave? **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 2, p. 50-54, 1997. Disponível em: <http://www.amda.org.br/imgs/up/Artigo_08.pdf>. Acesso em: 14 out. 2017.

COSTA, A. H. R. et al. Biorremediação de águas subterrâneas impactadas por gasolina e etanol com o uso de nitrato, **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p. 265-274, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522009000200014>>. Acesso em: 11 dez. 2017.

COSTA, A. S. et al. Environmental strategies to remove volatile aromatic fractions (BTEX) from petroleum industry wastewater using biomass. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 105, n. 5, p. 31-39, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.096>>. Acesso em: 11 dez. 2017.

EGGEN, T.; MAJCHERCZYK, A. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **International Biodeterioration e Biodegradation**, Essex, v. 41, n. 2, p. 111-117, 1998. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(98\)00002-X](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00002-X)>. Acesso em: 13 dez. 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE AGRICULTURA E PECUÁRIA– EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230 p. Disponível em: <<http://www.cnps.embrapa.br/publicações/>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

FELTRE, R. **Química orgânica**. 17 ed. São Paulo: Ática, 1995. 448 p.

FENT, K. Ecotoxicological effects at contaminated sites. **Toxicology**, Limerick, v. 205, n. 3, p. 223-240, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.06.060>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

FERNÁNDEZ, E. L. et al. Kinetic modelling of a diesel-polluted clayey soil bioremediation process, **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 557-558, n. 29, p. 276-284,

2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.074>>. Acesso em: 11 dez. 2017.

FINOTTI, A. R. et al. Avaliação da influência do etanol sobre o grau de volatilização BTEX em solos impactados por derrames de gasolina/etanol. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 4 p. 443-448, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-41522009000400003>>. Acesso em: 11 set. 2017.

FREIRE, P. A. C. **Bombeamento e tratamento de plumas de hidrocarbonetos em diferentes aquíferos contaminados por postos de combustíveis**. 2011. 140 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- UNESP, Bauru, 2017.

GALANTE, G. C. S. **Plumas de Contaminação por hidrocarbonetos em diferentes cenários hidrogeológicos paulistas**. 2008. 154 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Minerais e Hidrogeologia)- Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo- USP, São Paulo, 2008.

GARCÍA-PEÑA, E. et al. Toluene biofiltration by fungus *Scedosporium apiospermum* TB1. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 76, n. 1, p. 61-69, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/bit.1026>>. Acesso em: 11 set. 2017.

GRIEBLER, C. et al. Current developments in groundwater ecology—from biodiversity to ecosystem function and services, **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 27, n. 9, p. 159-167, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.01.018>>. Acesso em: 17 set. 2017.

GRIFFIN, D.H. **Fungal physiology**. 2. ed. New York: Wiley-Liss. 1994. 458 p.

GUERIN, T. F. The differential removal of aged polycyclic aromatic hydrocarbons from soil during bioremediation, **Environmental Science and Pollution Research International**, Landsberg, v. 7, n. 1, p. 19-26, 2000. Disponível em: <[https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1065/espr199910.004](https://doi.org/10.1007/s11356-000-0004-0)>. Acesso em: 10 set. 2017.

GUHA, S.; JAFFÉ, P. R. Bioavailability of hydrophobic compounds partitioned into the micellar phase of nonionic surfactants. **Environmental Science e Technology**, Easton, v. 30, n. 4, p. 1382–1391, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/es950694p>>. Acesso em: 21 set. 2017

HAN, J. et al. A comparative assessment of resource efficiency in petroleum refining. **Fuel**, London, v. 157, n. 36, p. 292-298, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.03.038>>. Acesso em: 19 set. 2017.

HAMBY, D.M. Site remediation techniques supporting environmental restoration activities—a review. **Science of The Total Environment**, Amsterdam v. 191, n. 3, p. 203-224, 1996. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(96\)05264-3](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(96)05264-3)>. Acesso em: 16 set. 2017.

HERS, I. et al. Measurement of in situ gasphase diffusion coefficients, **Journal Environmental Technology**, Oxford, v. 20, n. 6, p. 631-640, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09593330.2000.9618948>>. Acesso em: 16 set. 2017.

HARMS, H.; ZEHNDER, A. J. B. Bioavailability of sorbed 3-chlorodibenzofuran. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 1, p. 27-33, 1995. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/61/1/27>>. Acesso em: 21 dez. 2017.

- HIGA, T. What is EM technology? **EM World Journal**, Tokyo, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2000. Disponível em: <<https://doi.10.1007/s13593-013-0187-0>> Acesso em: 14 set. 2017.
- HUERTAS, M. J. et al. Survival in soil of different toluenedegrading *Pseudomonas* strains after solvent shock. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 1, p. 38-42, 1998. Disponível em: <[https://doi.0099-2240/98/\\$04.0010](https://doi.0099-2240/98/$04.0010)> Acesso em: 16 set. 2017.
- HWANG, E. et al. Recycling of remediated soil for effective composting of diesel-contaminated soil, **Compost Science e Utilization**, Emmaus, v. 9, n. 2, p.143, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/1065657X.2001.10702028>>. Acesso em: 16 dez. 2017.
- ILORI, M. O. et al. Factors affecting biosurfactant production by oil degrading *Aeromonas* spp. isolated from a tropical environment, **Chemosphere**, Oxford, v. 61, n. 7, p. 985-992, 2005, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.066>>. Acesso em: 12 set. 2017.
- JEONG, J.; CHARBENEAU, R. J. An analytical model for predicting LNAPL distribution and recovery from multi-layered soils. **Journal of Contaminant Hydrology**, Bemidji, v. 156, n. 5, p. 52-61, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2013.09.008>>. Acesso em: 17 set. 2017.
- JIANG, Y. et al. Insights into the biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soils by bioaugmentation and nutrient stimulation, **Chemosphere**, Oxford, v. 161, n. 36, p. 300-307, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.032>>. Acesso em: 16 set. 2017.
- JOUSSE, F. et al. Removal of NAPL from columns by oxidation, sparging, surfactant and thermal treatment, **Chemosphere**, Oxford, v. 188, n. 20, p. 182-189, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.163>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- KAVITHA, V. et al. Microbial biosurfactant mediated removal and/or solubilization of crude oil contamination from soil and aqueous phase: An approach with *Bacillus licheniformis* MTCC 5514, **International Biodeterioration e Biodegradation**, Essex, v. 94, n. 4, p. 24-30, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.04.028>>. Acesso em: 22 dez. 2017.
- KHAN, F. I. et al. An overview and analysis of site remediation technologies, **Journal of Environmental Management**, London, v. 71, n. 2, p. 95-122, 2004, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2004.02.003>>. Acesso em: 20 dez. 2017.
- LAHA, S. et al. Surfactant–soil interactions during surfactant-amended remediation of contaminated soils by hydrophobic organic compounds: A review, **Journal of Environmental Management**, London, v. 90, n. 1, p. 95-100, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.08.006>>. Acesso em: 17 dez. 2017.
- LI, T. et al. Effect of electric intensity on the microbial degradation of petroleum pollutants in soil, **Journal of Environmental Sciences**, Beijing, v. 22, n. 9, p.1381-1386, 2010. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60265-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60265-5)>. Acesso em: 23 dez. 2017.
- LI, Z. et al. Notice of retraction volatilization mechanism of BTEX on different underlying materials. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ENVIRONMENTAL SCIENCE AND INFORMATION APPLICATION TECHNOLOGY- ESIAT, 2., Wuhan. **The 2nd conference on environmental science and information application technology**. Wuhan:

[s.n.], 2010 v.2, p. 697-700. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/ESIAT.2010.5568980>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

LIM, M. W. et al. A comprehensive guide of remediation technologies for oil contaminated soil — Present works and future directions. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 109, n. 1, p. 14-45, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.04.023>>. Acesso em: 12 out. 2017.

LOURENÇO, E. S. O. **Avaliação físico-química da remediação de solos contaminados por BTEX**. 2006. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Meio Ambiente) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2006.

MA, J. et al. Succession of microbial functional communities in response to a pilot-scale ethanol-blended fuel release throughout the plume life cycle. **Environmental Pollution**, Essex, v. 198, n. 20, p. 154-160, 2015, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.005>>. Acesso em: 17 set. 2017.

MAKADIA, T. H. et al. Re-use of remediated soils for the bioremediation of waste oil sludge, **Journal of Environmental Management**, London, v. 92, n. 3, p. 866-871, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.059>>. Acesso em: 18 set. 2017.

MARIANO, A. P. et al. Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação de biodegradação em área contaminada com óleo diesel. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 296-304, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522007000300009>>. Acesso em: 21 set. 2017.

MARQUEZ-ROCHA, F. J. et al. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 128, n. 3, p. 313-320, 2001. Disponível em: <<https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1023/A:1010392821353>>. Acesso em: 10 set. 2017.

MARTINS, M. L. et al. **Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) fundamentos e aplicações**. São Paulo: [s.n.], 2012. p. 253.

MAZZEO, D. E. C. et al. BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 408, n. 20, p. 4334-4340, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.07.004>>. Acesso em: 15 set. 2017.

MEGHARAJ, M. et al. Bioremediation approaches for organic pollutants: a critical perspective. **Environment International**, Crete, v. 37, n. 8, p. 1362-1375, 2011, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.06.003>>. Acesso em: 11 set. 2017.

MICHELS, J. et al. **Biologische verfahren zur bodensanierung**. Bonn: Grun-weise Reihe des BMBF, 2000. 1413 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria n° 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 10 out. 2017.

MNIF, I. et al. Antifungal efficiency of a lipopeptide biosurfactant derived from *Bacillus subtilis* SPB1 versus the phytopathogenic fungus, *Fusarium solani*. **Environmental Science**

and Pollution Research International, Landsberg, v. 22, n. 22, p.18137-18147, 2015. Disponível em: <<https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s11356-015-5005-6>>. Acesso em: 12 out. 2017.

MNIF, I. et al. Application of bacterial biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of diesel oil in soil using a newly isolated consortium, **Process Safety and Environmental Protection**, Basingstoke, v. 109, n. 8, p. 72-81, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.02.002>>. Acesso em: 12 dez. 2017.

MOTTA, A. R. P. et al. Tratamento de água produzida de petróleo para remoção de óleo por processos de separação por membranas: revisão. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 18 n. 1, p. 15-26, 2013. Disponível em: <<https://doaj.org/article/04036d80c0fb45ea83ff812b11cd3049>>. Acesso em: 19 out. 2017.

MOURA, C. P. **Estudo de remoção do benzeno, tolueno, p-xileno e o-xileno dissolvido em água por adsorção em organossílica periódica mesoporosa (PMO)**. 2012. 123 f. Tese (Doutorado em Química)– Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará– UFC, Fortaleza, 2012.

MOOLLA, R. et al. Occupational exposure of diesel station workers to BTEX compounds at a bus depot. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 12, n. 4, p. 4101-4115, 2015. Disponível em: <<https://doi/10.3390/ijerph120404101>>. Acesso em: 10 out. 2017.

MROZIK, A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. **Microbiological Research**, Jena, v. 165, n.5, p. 363-375, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.001>>. Acesso em: 13 out. 2017.

MULLIGAN, C. N. et al. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. **Engineering Geology**, Amsterdam, v. 60, n. 1, p. 371-380, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0013-7952\(00\)00117-4](https://doi.org/10.1016/S0013-7952(00)00117-4)>. Acesso em: 13 out. 2017.

NAKHLA, G. Biokinetic modeling of in situ bioremediation of BTX compounds—impact of process variables and scaleup implications. **Water Research**, Alabama, v. 37, n. 6, p. 1296-1307, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00491-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00491-8)>. Acesso em: 12 out. 2017.

NASCIMENTO, R. F. et al. **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. 256 p.

OLIVEIRA, E. C. et al. Degradação de fenóis por leveduras presentes em águas residuárias de refinarias de petróleo. In: OLIVEIRA. **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo: 1ª coletânea de trabalhos técnicos**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2006. p. 133-148.

PACWA-PLOCINICZAK, M. et al. Environmental applications of biosurfactants: recent advances, **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 12, n. 1, p. 633-654, 2011. Disponível em: <<https://doi:10.3390/ijms12010633>>. Acesso em: 17 out. 2017.

PAUL, D. et al. Accessing microbial diversity for bioremediation and environmental restoration, **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 23, n. 3, p. 135-142, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.01.001>>. Acesso em: 14 out. 2017.

- PAZOS, F. et al. The organization of the microbial biodegradation network from a systems-biology perspective. **EMBO Reports**, Oxford, v. 4, n. 10, p. 994-999, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/sj.embor.embor933>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- PEIXOTO, R. S. et al. Petroleum-degrading enzymes: bioremediation and new prospects. **Enzyme Research**, Cairo, p.1-7, 2011. Article ID 475193, Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4061/2011/475193>>. Acesso em: 13 out. 2017.
- PIEPER, D. H.; REINEKE, W. Engineering bacteria for bioremediation. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.11, n. 3, p. 262-270, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00094-X](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00094-X)>. Acesso em: 19 out. 2017.
- PINEDO, J. et al. Assessment of soil pollution based on total petroleum hydrocarbons and individual oil substances. **Journal of Environmental Management**, London, v. 130, n. 9, p. 72-79, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.08.048>>. Acesso em: 10 dez. 2017.
- PINTO, C. S. **Curso básico de mecânica dos solos: com exercícios resolvidos**. 3. ed. São Paulo: Oficina de Texto, 2006. 356 p.
- PRINCE, R. C. et al. Bioremediation of stranded oil on an arctic shoreline. **Spill Science e Technology Bulletin**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 303-312, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1353-2561\(03\)00036-7](https://doi.org/10.1016/S1353-2561(03)00036-7)>. Acesso em: 18 dez. 2017.
- PUGAS, M. S. **Efeitos secundários resultantes da aplicação de métodos oxidativos para degradação de contaminantes orgânicos em solos**. 2015. 125 f. Tese (Doutorado em Recursos Minerais e Hidrogeologia)- Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo- USP, São Paulo, 2015.
- RAHMANI, M. et al. Application of in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction and narrow-bore tube dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of trace amounts of BTEX in water samples. **Journal of Chromatographic Science**, Oxford, v. 53, n. 7, p. 1210-1216, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/chromsci/hmu163>>. Acesso em: 18 dez. 2017.
- RAMOS, D. T. et al. Biostimulation of anaerobic BTEX biodegradation under fermentative methanogenic conditions at source-zone groundwater contaminated with a biodiesel blend (B20). **Biodegradation**, Dodrecht, v. 24, n. 3, p. 333-341, 2013. Disponível em: <<https://doi.org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10532-012-9589-y>>. Acesso em: 18 dez. 2017.
- REDDY, B. R.; SETHUNATHAN, N. Mineralization of parathion in the rice rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 45, n. 3, p. 826-829, 1983. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/aem.45.3.826-829.1983>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- ROBERTSON, S. **Direct estimation of organic matter by loss on ignition: methods**. Burnaby: [s.n.], 2011. 11 p. Disponível em: <https://www.sfu.ca/soils/lab_documents/Estimation_Of_Organic_Matter_By_LOI.pdf> Acesso em: 15 dez. 2017.
- RODRIGUES, K. A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética**. 2006. 145 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo- USP, São Carlos, 2006.

- RODRIGUES, G. M. A. **Atividade de armazenamento e distribuição de combustível nos centros urbanos: os postos de combustíveis e a saúde pública**. 2015. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo- USP, São Paulo, 2015.
- RODRIGUES, K. et al. Remoção de BTEX por fungos em reator aeróbio de escoamento contínuo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4, p. 809-820, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s1413-41522017129981>>. Acesso em: 21 dez. 2017.
- RON, E. Z.; ROSENBERG, E. Enhanced bioremediation of oil spills in the sea. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 27, n. 24, p. 191-194, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.02.004>>. Acesso em: 17 dez. 2017.
- ROSAL, R. et al. Ecotoxicological assessment of surfactants in the aquatic environment: Combined toxicity of docusate sodium with chlorinated pollutants, **Chemosphere**, Oxford, v. 81, n. 2, p. 288-293, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.05.050>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- SAICHEK, R. E.; REDDY, K. R. Electrokinetically enhanced remediation of hydrophobic organic compounds in soils: a review. **Journal Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Boca Raton, v. 35, n. 2, p. 115-192, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10643380590900237>>. Acesso em: 20 dez. 2017.
- SANTAELLA, S. T. et al. Remoção de fenol em reatores biológicos com fungos (RBF) utilizando meio suporte e água residuária sintética. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL- CBESA, 23., 2005, Campo Grande. **Saneamento ambiental brasileiro: utopia ou realidade?** Campo Grande: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – ABES, 2005. 1CD-ROM.
- SANTAELLA, S. T. et al. Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com *Aspergillus niger*, **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p.139-148, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-41522009000100015>>. Acesso em: 20 dez. 2017.
- SANTISI, S. et al. Biodegradation of crude oil by individual bacterial strains and a mixed bacterial consortium, **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 2, p. 377-387, 2015, Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246120131276>>. Acesso em: 20 dez. 2017.
- SCHAMBECK, C. M. et al. Influência do biodiesel de soja na biodegradação anaeróbia do benzeno e tolueno, **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 2, p. 315-321, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-41522015020000069683>>. Acesso em: 15 dez. 2017.
- SEBATE, J. et al. Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon-contaminated soils, **International Biodeterioration e Biodegradation**, Essex, v. 54, n. 1, p. 19-25, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2003.12.002>>. Acesso em: 15 dez. 2017.

SHAKERI, H. et al. Removal of BTEX by using a surfactant – bio originated composite. **Journal of Colloid and Interface Science**, Orlando, v. 466, n. 19, p. 186-197, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.12.019>>. Acesso em: 27 set. 2017.

SINGH, N. et al. Bioavailability of sorbed pesticides to bacteria: an overview. **Developments in Soil Science**, Oxford, v. 32, n.5, p.73 -82, 2008. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(07\)32005-9](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(07)32005-9)>. Acesso em: 15 dez. 2017.

SINGH, N. et al. Bioavailability of an organophosphorus pesticide, fenamiphos, sorbed on an organo clay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 9, p. 2653-2658, 2003. Disponível em: <<https://doi.10.1021/jf025978p>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

SMITH, V. H. et al. Application of resource-ratio theory to hydrocarbon biodegradation. **Environmental Science e Technology**, Easton, v. 32, n. 21, p. 3386 -3395, 1998. Disponível em: <<https://doi/10.1021/es9805019>>. Acesso em: 14 dez. 2017.

SUPAPHOL, S. et al. The selection of mixed microbial inocula in environmental biotechnology: Example using petroleum contaminated tropical soils. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 65, n. 3, p. 432-441, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.09.001>>. Acesso em: 11 dez. 2017.

SWANNELL, R. P. J. et al. Field evaluations of marine oil spill bioremediation. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Bethesda, v. 60, n. 2 p. 342-365, 1996. Disponível em: <[https://doi/1092-2172 0146-0749/96/\\$04.0010](https://doi/1092-2172 0146-0749/96/$04.0010)>. Acesso em: 18 dez. 2017.

TAKAYA, N. Dissimilatory nitrate reduction metabolisms and their control in fungi. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 94, n. 6, p. 506-510, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80187-6](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80187-6)>. Acesso em: 17 dez. 2017.

TANG, W. C. et al. Utilization of sorbed compounds by microorganisms specially isolated for that purpose. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 49, n. 1, p. 117-121, 1998. Disponível em: <<https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s002530051147>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

TERAMOTO, E. H.; CHANG, H. K. Field data and numerical simulation of btx concentration trends under water table fluctuations: example of a jet fuel-contaminated site in Brazil. **Journal of Contaminant Hydrology**, Bemidji, v. 198, n. 4, p. 37-47, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2017.01.002>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

THOMÉ, A. et al. Bioventing in a residual clayey soil contaminated with a blend of biodiesel and diesel oil. **Journal Environmental Engineering**, New York, v. 140, n. 11, p. 1–6, 2014. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000863](http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000863)>. Acesso em: 14 dez. 2017.

TIBURTIUS, E. R. L. S. et al. Contaminação de águas por BTXS e processos utilizados na remediação de sítios. **Química Nova**, São Paulo, n. 3, v. 27, p. 441-446. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000300014>>. Acesso em: 15 set. 2017.

TOLEDO, M. P. **Desenvolvimento de um dispositivo para avaliação do transporte de combustíveis no meio subterrâneo**. 2013. 120 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Sanitária)- Escola Politécnica, Universidade de São Paulo- USP, São Paulo, 2013.

TORMOEHLLEN, L. M. et al. Hydrocarbon toxicity: a review. **Clinical Toxicology**, Philadelphia, v. 52, n. 5, p. 479-490, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3109/15563650.2014.923904>>. Acesso em: 12 set. 2017.

TRINDADE, G. B. **Estudo da remediação de um aquífero contaminado com sulfato e metais por meio de barreira reativa permeável orgânica**. 2015. 157 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Geotécnica)- Escola Politécnica, Universidade de São Paulo- USP, São Paulo, 2015.

UECHI, D. A. et al. Análise de metais pesados no sistema aquífero bauru em Mato Grosso do Sul. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1, p. 155-167, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/s1413-41522016142430>>. Acesso em: 12 dez. 2017.

UENO, A. et al. Isolation and characterization of bacteria from soil contaminated with diesel oil and the possible use of these in autochthonous bioaugmentation. **World Journal Microbiology Biotechnology**, Berlin, v. 23, n. 12, p. 1739-1745, 2007. Disponível em: <<https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s11274-007-9423-6>>. Acesso em: 12 set. 2017.

UMBUZEIRO, G. A. et al. Toxicologia, padrões de qualidade de água e a legislação. **Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 1-11, , jan., abr. 2010. Resenha. Disponível em: <http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/InterfacEHS/wp-content/uploads/2013/08/1_SE_INTER_vol5n1.pdf>. Acesso em: 7 set. 2017.

VARJANI, S. J. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 223, n. 32, p. 277-286, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>>. Acesso em: 23 dez. 2017.

VARJANI, S. J. et al. Isolation and Screening for Hydrocarbon Utilizing Bacteria (HUB) from petroleum samples. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Kancheepuram, v. 2 n. 4, p. 48-60, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40064-016-3617-z>>. Acesso em: 14 nov. 2017.

VARJANI, S. J. et al. Synergistic ex-situ biodegradation of crude oil by halotolerant bacterial consortium of indigenous strains isolated from on shore sites of Gujarat, India. **International Biodeterioration e Biodegradation**, Essex, v. 103, n. 15, p. 116-124, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.03.030>>. Acesso em: 10 set. 2017.

VARJANI, S. J.; UPASANI, V. N. A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. **International Biodeterioration e Biodegradation**, Essex, v. 120, n. 10, p. 71-83, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006>>. Acesso em: 22 dez. 2017.

VASUDEVAN, M. et al. Effect of compositional heterogeneity on dissolution of non-ideal LNAPL mixtures. **Journal of Contaminant Hydrology**, Bemidji, v. 194, n. 2, p. 10-16, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2016.09.006>>. Acesso em: 19 out. 2017.

VAZ JUNIOR, S. **Estudos da sorção dos antibióticos oxitetraciclina a solos e ácidos húmicos e avaliação dos mecanismos de interação envolvidos**. 2010. 166 f. Tese

(Doutorado em Química Analítica)- Instituto de Química, Universidade de São Paulo- USP, São Carlos, 2010.

VERHNJAK, M. S. S. **Avaliação do processo de contaminação e remediação de água subterrânea por hidrocarbonetos**. 2015. 153 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- UNESP, Bauru, 2015.

VOLKERING, F. et al. Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. **Biodegradation**, Dordrecht, v. 8, n. 6, p. 401-417, 1997. Disponível em: <<https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1023/A:1008291130109>>. Acesso em: 10 set. 2017.

WANG, G. et al. Volatile organic compounds volatilization from multicomponent organic liquids and diffusion in unsaturated porous media. **Vadose Zone Journal**, McLean, v. 2, n. 4, p. 692-701, 2003. Disponível em: <<https://doi:10.2136/vzj2003.6920>>. Acesso em: 22 set. 2017.

WOLICKA, D. et al. Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 100, n. 13, p. 3221-3227, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.020>>. Acesso em: 12 set. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. **Guidelines for drinking water Quality: health criteria and other supporting information**. 2. ed. Geneva: Geneva, 1996. v. 2, p. 461-486.

YACOUB, J. D. **Melhoramento do comportamento colapsível de um solo arenoso fino com uso de cinza de casca de arroz**. 2017. 145 f. Dissertação (Mestrado Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- UNESP, Ilha Solteira, 2017.

YANG, C. et al. Characterization of chemical fingerprints of unconventional Bakken crude oil. **Environmental Pollution**, Essex, v. 230, n. 65, p. 609-620, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.011>>. Acesso em: 23 set. 2017.

YOON, S. H. **Pore-scale analysis of solubilization and mobilization of trapped NAPL blobs in porous media**. 2007. 160 f. Tese (Doutorado em Filosofia)- Liberal Arts, Texas A&M University, Austin, 2007.

ZABBEY, N. et al. Remediation of contaminated lands in the Niger Delta, Nigeria: prospects and challenges. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 586, n. 90, p. 952-965, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.075>>. Acesso em: 21 dez. 2017.

ZHOU, J. et al. Stochasticity, succession, and environmental perturbations in a fluidic ecosystem. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 111 n. 9, p. E836-E845, 2014. Disponível em: <<https://doi:10.1073/pnas.1324044111>>. Acesso em: 23 set. 2017.

ZHOU, R. et al. Mechanisms of natural toluene attenuation in BTEX-contaminated groundwater. **Chemistry and Technology of Fuels and Oils**, New York, v. 53, n. 3, p. 382-

391, 2017. Disponível em: <<https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10553-017-0815-5>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

APÊNDICE A - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) ou HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) realiza análises qualitativas e quantitativas de uma grande quantidade de compostos em vários tipos de amostras, com alta resolução, eficiência e sensibilidade com resultados em poucos minutos (VAZ JÚNIOR, 2010).

O método cromatográfico é validado ao empregar curvas analíticas e espectros de seus perfis cromatográficos. O tempo de retenção dos analitos inicialmente foi determinado por meio de uma injeção de solução padrão contendo benzeno, tolueno e xileno, para obter um cromatograma. Os critérios de Dias (2015) foram utilizados para a validação do método cromatográfico:

Seletividade: Para avaliar de forma inequívoca as substâncias examinadas (BTX) na presença de componentes que podem exercer interferência nos resultados foi injetada uma amostra padrão com concentração conhecida (300 µg/L) no cromatógrafo Shimadzu e foi comparada com a amostra isenta de analitos (branco) com a finalidade de observar possíveis interferentes nos tempos de retenção dos compostos BTX provenientes do óleo diesel, bem como a separação dos picos.

Linearidade: Para o benzeno, o tolueno e o xileno, de formas individuais, foi gerado um gráfico de concentração versus área do pico para cada componente do BTX, a fim de verificar quão linear é o comportamento da curva. A partir de regressões lineares de curvas com concentrações variando 0 a 53,8 mg.mL⁻¹ para o benzeno, de 0 a 54,4 mg.mL⁻¹ para o tolueno e de 0 a 54,1 mg.mL⁻¹ para o xileno.

Exatidão: A concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como referência é dado pelo valor de recuperação descrito pela Equação 14 a seguir:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Valor encontrado}}{\text{Valor de referência}} \times 100 \quad \text{Equação 14}$$

A exatidão pode ser observada de acordo com a proximidade dos pontos obtidos em relação a equação da reta dada pela curva analítica.

Precisão: A concordância entre vários resultados obtidos, de uma mesma amostra para expressar as mesmas condições de operação, é estimada por meio do coeficiente de variação (CV) expresso pela razão entre a média aritmética (X) e o desvio padrão (S) conforme a Equação 15 a seguir:

$$\text{CV (\%)} = \frac{S}{X} \cdot 100 \quad \text{Equação 15}$$

Limite de detecção (LD): O limite de detecção representa a menor concentração da substância que pode ser detectada, mas não necessariamente calculada, com isso pode ser utilizada a

Equação 16 que é dada em função do coeficiente linear (s) da equação da curva analítica e o desvio padrão S.

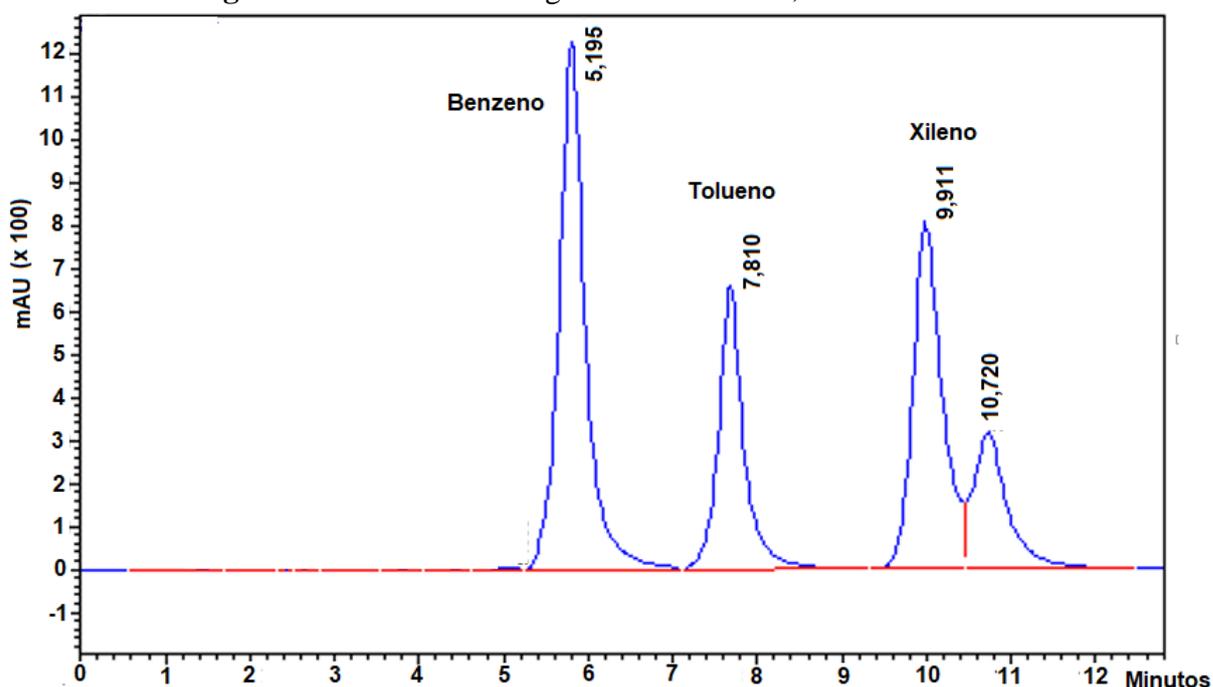
$$LD = 3,3 \cdot \frac{s}{S} \quad \text{Equação 16}$$

Limite de quantificação (LQ): A menor concentração da substância que pode ser medida utilizando-se um determinado procedimento experimental o qual pode ser expresso pela Equação 17 dada em função do coeficiente linear (s) da equação da curva analítica e o desvio padrão S.

$$LQ = 10 \cdot \frac{s}{S} \quad \text{Equação 17}$$

A partir do tempo de retenção dos analitos obtidos pela injeção da solução padrão contendo benzeno, tolueno e xileno foi possível obter o cromatograma para validar o método quanto à seletividade (DIAS, 2015). O perfil cromatográfico do BTX pode ser visto na Figura 38 cujos tempos de retenção foi de 5,195 minutos para o benzeno, 7,810 minutos para o tolueno e 9,911 minutos para o xileno.

Figura 38 – Perfil cromatográfico do benzeno, tolueno e xileno

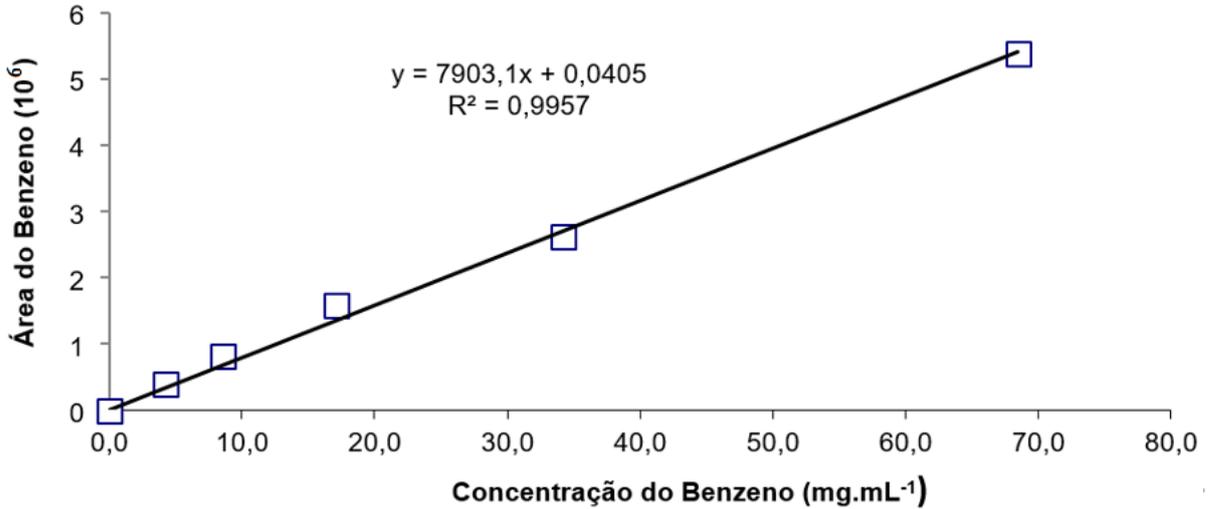


Fonte: Elaboração do próprio autor.

Para determinação das concentrações do BTX nas amostras foi necessária a plotação de curvas analíticas para calibração do método HPLC. Para as curvas analíticas do benzeno, do tolueno e do xileno obtidas individualmente foram representadas pelas Figuras 39, 40 e 41, respectivamente. Com isso, foi gerado um gráfico para cada componente do BTX, de concentração versus área do pico para verificar quão linear é o comportamento da curva. A

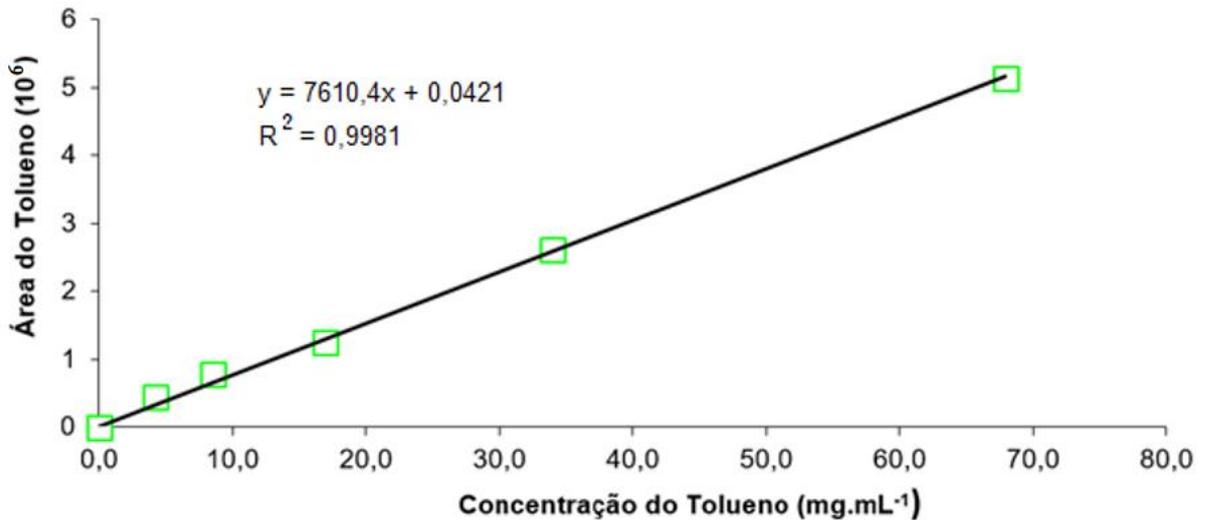
partir de regressões lineares de curvas com concentrações variando de 0 a 53,8 mg.mL⁻¹ para o benzeno, de 0 a 54,4 mg.mL⁻¹ para o tolueno e de 0 a 54,1 mg.mL⁻¹ para o xileno. As curvas revelaram linearidade por apresentarem coeficientes de determinação próximos de 1 sendo os valores de 0,9957, 0,9981 e 0,9945 para o benzeno, tolueno e xileno, respectivamente.

Figura 39 – Curva analítica do benzeno

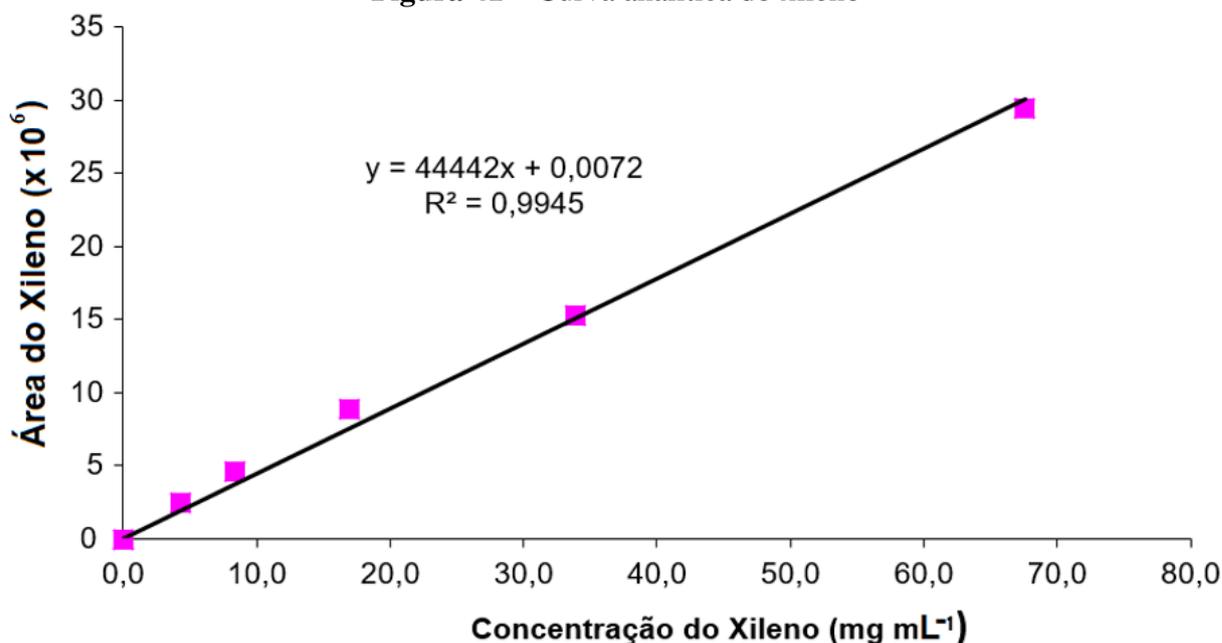


Fonte: Elaboração do próprio autor.

Figura 40 – Curva analítica do tolueno



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Figura 41 – Curva analítica do xileno

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Por meio das curvas analíticas do benzeno, tolueno e do xileno expostas nas Figuras 39, 40 e 41 respectivamente, foi possível visualizar que houve concordância entre o valor encontrado e o aceito como referência pertencentes dado pela curva analítica. Portanto os valores obtidos nas curvas analíticas apresentaram altos valores de recuperação (Equação 12) pois os valores encontrados (pontos) ficaram muito próximos dos valores de referência (reta das Figuras 29, 30 e 31).

Conforme a Tabela 13, a concordância entre vários resultados obtidos para uma mesma amostra e com isso, expressar as mesmas condições de operação é estimada por meio do coeficiente de variação dado pelo desvio padrão relativo foi alto 96,979% para o benzeno, 96,985 % para o tolueno e 96,988 para o xileno, indicando uma capacidade de reconhecimento devido grande dispersão dos resultados.

Tabela 13 – Dados da cromatografia líquida de alta eficiência

	Benzeno	Tolueno	Xileno
Limite de Detecção LD (mg/mL)	0,041	0,042	0,007
Limite de Quantificação LQ (mg/mL)	0,122	0,126	0,022
Desvio Padrão S (mg/mL)	25,738	25,552	25,400
Média X (mg/mL)	26,540	26,338	26,187
Desvio Padrão Relativo CV (%)	96,978	97,016	96,998

Fonte: Elaboração do próprio autor.

A menor concentração de substância que pode ser detectada, mas não necessariamente calculada, foi conhecida por meio do limite de detecção LD (Equação 14) em que os valores em mg.mL⁻¹ foram de 0,041 para o benzeno, 0,042 para o tolueno e de 0,007 para o xileno

indicando capacidade de detecção excelente para as concentrações utilizadas nos ensaios deste trabalho tiveram valores de ordem bastante superior.

A menor concentração de substância que pode ser medida utilizando um determinado procedimento experimental pode ser expresso pelo limite de quantificação LQ (Equação 15) foi de 0,122, 0,126 e 0,022 mg.mL⁻¹ para o benzeno, tolueno e xileno, respectivamente. Com estes valores, a capacidade de detecção foi excelente para as concentrações utilizadas nos ensaios deste trabalho pois somente houve valores de ordem bastante superior.