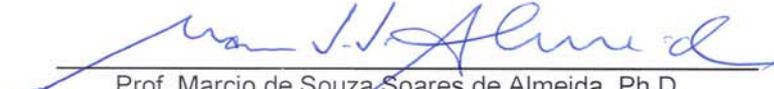


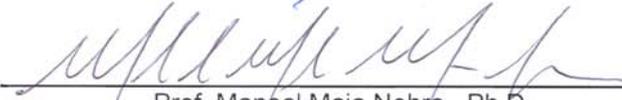
USO DAS TÉCNICAS DE OXIDAÇÃO QUÍMICA E BIODEGRADAÇÃO NA REMOÇÃO  
DE ALGUNS COMPOSTOS RECALCITRANTES

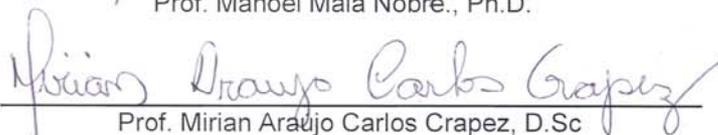
Ana Carla Mesquita

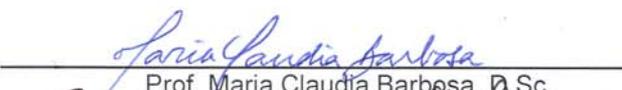
TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DOS PROGRAMAS  
DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE  
JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO  
GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA CIVIL.

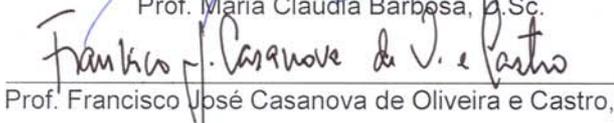
Aprovada por:

  
Prof. Marcio de Souza Soares de Almeida, Ph.D.

  
Prof. Manoel Maia Nobre., Ph.D.

  
Prof. Mirian Araújo Carlos Crapez, D.Sc

  
Prof. Maria Cláudia Barbosa, D.Sc.

  
Prof. Francisco José Casanova de Oliveira e Castro, D.Sc

  
Adriana Ururahy Soriano, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2004

MESQUITA, ANA CARLA

Uso das Técnicas de Oxidação Química e  
Biodegradação na Remoção de Alguns  
Compostos Orgânicos Recalcitrantes  
[Rio de Janeiro] 2004

XIII, 158 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, D.Sc.,  
Engenharia Civil, 2004)

Tese - Universidade Federal do Rio de  
Janeiro, COPPE

1. Degradação de Contaminantes

I. COPPE/UFRJ II. Título ( série )

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

## USO DAS TÉCNICAS DE OXIDAÇÃO QUÍMICA E BIODEGRADAÇÃO NA REMOÇÃO DE ALGUNS COMPOSTOS RECALCITRANTES

Ana Carla Mesquita

Março/2004

Orientador: Marcio de Souza Soares de Almeida

Programa: Engenharia Civil

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar diferentes técnicas de degradação de poluentes orgânicos encontrados no ambiente. A primeira parte da tese enfoca a degradação de HPAs e PCBs por bactérias isoladas da região da Baía de Guanabara e o uso do Reagente de Fenton na degradação de PCBs. A segunda parte avalia e compara a eficiência da remoção de PCE por solução de  $\text{KMnO}_4$  e biosurfactante em ensaios de coluna. Os resultados da primeira parte mostram que as bactérias isoladas são capazes de degradar HPAs com mais de três anéis aromáticos. O uso do Reagente de Fenton na degradação de PCB mostrou eficiência de 46% na remoção de átomos de cloro. Os resultados dos ensaios de coluna, executados na segunda parte da tese, mostram que a injeção de 74 volumes de vazios de solução 25 mM de  $\text{KMnO}_4$  foi capaz de remover 65% do PCE retido na coluna e que o  $\text{MnO}_2$  gerado durante a reação entre o PCE e o  $\text{KMnO}_4$  é responsável pela diminuição da permeabilidade do meio. Verificou-se também que o aumento da constante de degradação do PCE está relacionado ao aumento da concentração de  $\text{KMnO}_4$  na solução de injeção. A bactéria *Acinetobacter* sp. foi utilizada para produção de biosurfactante. Nos ensaios de coluna foi possível remover 44% do PCE com injeção de 30 volumes de vazios da solução de biosurfactante. Além disso, ensaios de biodegradação de PCE utilizando as bactérias isoladas, com e sem adição de biosurfactante, indicaram que o biosurfactante não provocou inibição dos microrganismos, porém, houve maior consumo de PCE nas amostras onde não havia biosurfactante.

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

THE USE OF CHEMICAL OXIDATION AND BIODEGRADATION TECHNIQUES TO REMOVE SOME RESISTANT ORGANIC COMPOUNDS

Ana Carla Mesquita

March/2004

Advisor: Marcio de Souza Soares de Almeida

Department: Civil Engineering

The objective of this work is to evaluate the different techniques of degradation of organic pollutants found in the environment. The first part of the thesis focuses on the degradation of HPAs and PCBs by bacteria isolated in the region of Guanabara Bay and on the use of Fenton Reagent in the degradation of PCBs. The second part evaluates and compares the efficiency of removal of PCE by  $\text{KMnO}_4$  solution and biosurfactant through column tests. The results of the first part show that the bacteria isolated are capable of degrading HPA's that consist of more than three aromatic rings. The use of Fenton Reagent in the degradation of PCB is 46% efficient in the removal of atoms of chlorine. The results of the column tests, executed for the second part of the thesis, show that the injection of 74 pore volumes of 25mM  $\text{KMnO}_4$  solution removed 65% of the PCE contained in the column and that the  $\text{MnO}_2$  generated during the reaction between the PCE and the  $\text{KMnO}_4$  is responsible for the diminishing permeability observed. Furthermore, the column tests showed that the constant of degradation of the PCE increases associated with increasing concentration of the injected  $\text{KMnO}_4$  solution. The bacteria *Acinetobacter* sp. was utilised for producing the biosurfactant. In the column tests it was possible to remove 44% of the PCE by injecting 30 pore volumes of biosurfactant solution. Moreover, biodegradation tests of the PCE utilising the isolated bacteria, with and without the biosurfactant, indicated that the biosurfactant does not affect the microorganisms, however, there was greater consumption of the PCE in the tests without biosurfactant.

To my sweet heart  
Paul Dimmock

## AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos amigos de tantos anos Tadeu e Bira.

João Paulo, Glória e Steve pela amizade e paciência, companheiros durante as infinitas análises de laboratório.

Aos meus amigos Adriana, Dude, Elisa, Beth, Edu, Marcelo, May, Indu, obrigada pelo apoio e carinho.

Ao Dr. Kenichi Soga por me mostrar novos caminhos.

As minhas anjinhas Patica e Estherzinha.

# ÍNDICE

<b>1. Introdução</b>	1
1.1 Relevância da Pesquisa	1
1.2 Objetivo	4
1.3 Capítulos da Tese	5
<b>PARTE I</b>	6
<b>2. Hidrocarbonetos Poliaromáticos &amp; Bifenilas Policloradas</b>	7
2.1 Introdução	7
2.2 Hidrocarbonetos Poliaromáticos (HPAs)	9
2.2.1 Rota dos HPAs no Ambiente	10
2.2.2 Efeitos Toxicológicos	13
2.2.3 Valores de Referência para Contaminação por HPAs	15
2.2.4 Biodegradação de HPAs	16
2.3 Bifenilas Policloradas (PCBs)	19
2.3.1 Propriedades Físico-Químicas dos PCBs	22
2.3.2 Rota dos PCBs no Ambiente	24
2.3.3 Efeitos Toxicológicos	25
2.3.4 Valores de Referência para Contaminação por PCBs	26
2.3.5 Tratamento de Áreas Contaminadas por PCBs	27
2.4 Resumo do Capítulo	31
<b>3. Técnicas de Remediação que Utilizam Biorremediação e Reagente de Fenton</b>	32
3.1 Líquidos não miscíveis em água (NAPLs)	32

3.1.1	Comportamento dos NAPLs no Solo .....	32
3.1.2	Técnicas de Remediação .....	34
3.2	Biorremediação .....	36
3.2.1	Fatores Físico-Químicos que Influenciam o Processo de Biodegradação .....	38
3.2.2	Etapas do Processo de Biorremediação .....	43
3.2.3	Casos Práticos .....	44
3.3	Processos Oxidativos Avançados .....	47
3.3.1	Reagente de Fenton .....	47
3.4	Comentários Finais .....	52
<b>4.</b>	<b> Materiais e Métodos I</b> .....	<b>53</b>
4.1	Determinação dos Pontos de Coleta .....	53
4.2	Isolamento de Microrganismos .....	54
4.2.1	identificação dos Microrganismos .....	56
4.3	Ensaio de Biodegradação .....	56
4.3.1	Biodegradação de HPAs .....	56
4.3.2	Biodegradação de PCBs .....	57
4.4	Degradação de PCBs Utilizando Reagente de Fenton .....	58
4.5	Determinações Quantitativas .....	58
4.5.1	Extração e Quantificação de PCBs nas Amostras de Solo .....	58
4.5.2	Extração e Quantificação de PCBs nos Ensaio de Biodegradação .....	60
4.5.3	Contagem de Células .....	60
4.5.4	Extração e Quantificação de HPAs nos Ensaio de Biodegradação .....	60
4.5.5	Teor de Cloreto .....	61

<b>5. Resultados e Discussões de Remediação de HPAs e PCBs</b>	63
5.1 Solo da “área do lixão”	63
5.2 Identificação dos Microrganismos	67
5.3 Ensaio de Biodegradação	69
5.3.1 Biodegradação de HPAs	69
5.3.2 Biodegradação de PCBs	72
5.4 Degradação de PCBs Utilizando Reagente de Fenton	76
5.5 Conclusões Parciais	79
<b>PARTE II</b>	80
<b>6. Tetracloroetileno</b>	81
6.1 Introdução	81
6.2 Propriedades Físico-Químicas	81
6.3 Aplicações do PCE	82
6.4 Rota do PCE no Ambiente	83
6.5 Valores de Referência para Contaminação por PCE	86
6.6 Efeitos Toxicológicos	86
6.7 Degradação de PCE no Ambiente	86
6.8 Resumo do Capítulo	89
<b>7. Técnicas de Remediação Utilizando Permanganato de Potássio e Biosurfactante</b>	90
7.1 Permanganato de Potássio	90
7.1.1 Fatores Físico-Químicos que Influenciam o Processo de Oxidação	91
7.1.2 Etapas do Processo de Oxidação <i>in situ</i>	91

7.1.3 Casos Práticos .....	95
7.2 Tensoativos .....	97
7.2.1 Interface Sólido / Líquido .....	100
7.2.2 Comportamento no Solo .....	101
7.2.3 Aplicação .....	103
7.2.4 Biosurfactante .....	104
7.3 Comentários Finais .....	110
<b>8. Material e Métodos II .....</b>	<b>111</b>
8.1 Caracterização da Areia .....	111
8.1.1 Análise Granulométrica .....	111
8.1.2 Permeabilidade .....	111
8.2 Ensaio de Coluna – Oxidação Química por Permanganato .....	111
8.2.1 Saturação da Coluna .....	111
8.2.2 Ensaio de Oxidação Química .....	113
8.2.3 Extração de PCE .....	114
8.3 Ensaio com Traçador de Brometo .....	114
8.4 Determinações Quantitativas .....	114
8.4.1 Quantificação de PCE .....	114
8.4.2 Quantificação de Brometo .....	115
8.4.3 Quantificação de $\text{KMnO}_4$ .....	115
8.5 Produção de Biosurfactante .....	115
8.5.1 <i>Acinetobacter</i> .....	115
8.5.2 <i>Rhodococcus</i> .....	116
8.6 Purificação do Biosurfactante (Ac) .....	117
8.7 Purificação do Biosurfactante (R) .....	117
8.8 Dosagem de Surfactante – Método Fenol / Sulfúrico .....	117

8.9 Determinação da Tensão Superficial e Interfacial .....	118
8.10 Ensaio de Batelada – Surfactante / PCE .....	118
8.11 Ensaio de Coluna – Surfactante – PCE .....	119
8.11.1 Saturação da Coluna .....	119
8.11.2 Ensaio de Solubilização e/ou Mobilização por Biosurfactante .....	119
8.11.3 Extração de PCE .....	119
<b>9. Resultados e Discussões de Remediação do PCE .....</b>	<b>120</b>
9.1 Caracterização da Areia .....	120
9.2 Oxidação Química por $\text{KMnO}_4$ .....	120
9.2.1 Análise do Efluente .....	121
9.2.2 Ensaio de Traçador .....	123
9.2.3 PCE Removido .....	124
9.3 Solubilização / Mobilização usando Biosurfactante .....	129
9.3.1 Determinação da Tensão Superficial e Interfacial .....	129
9.3.2 Ensaio de Batelada – Surfactante / PCE .....	130
9.3.3 Ensaio de Coluna – Comparação entre Ac e R .....	131
9.3.4 Ensaio de Coluna – Comparação entre Ac e $\text{KMnO}_4$ .....	132
9.4 Biodegradação de PCE .....	134
9.5 Conclusões Parciais .....	135
<b>10. Conclusões e Sugestões .....</b>	<b>136</b>
10.1 Conclusões .....	136
10.2 Sugestões para Pesquisas Futuras .....	139
<b>11. Bibliografia .....</b>	<b>140</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>151</b>

## LISTA DE SIGLAS

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente do Brasil

CMC – Concentração crítica micelar (*Critical Micell Concentration*)

GPR – Radar de penetração no solo (*Ground Penetration Radar*)

HLB – Balanço hidrofílico-hidrofóbico

HPA – Hidrocarbonetos poliaromáticos

NAPL – Líquidos não miscíveis em água (*Non Aqueous Phase Liquid*)

PCB – Bifenila policlorada

PCE – Tetracloroetileno

PL4 – Ponto de coleta da “área do lixão” onde foi encontrado PCB na fase livre (Duque de Caxias – RJ)

R – Ponto de coleta referente a Praia da Ribeira (Ilha do Governador – RJ)

USEPA – *United States Environmental Protection Agency*

## LISTA DE SÍMBOLOS

A – seção da amostra de solo

**Ac** – biosurfactante produzido por *Acinetobacter*

h – altura da carga hidráulica

**k** – coeficiente de permeabilidade

$K_1$  – constante de degradação do PCE

$K_{oc}$  – coeficiente de adsorção no solo

$K_{ow}$  – coeficiente de partição octanol/água

L – comprimento da amostra de solo

n – porosidade

Q – vazão

**R** – biosurfactante produzido por *Rhodococcus*

t – tempo

V<sub>v</sub> – volume de vazios

Ψ<sub>0</sub> – potencial elétrico

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 RELEVÂNCIA DA PESQUISA

Nos últimos 200 anos verificou-se o rápido crescimento da população por todo o planeta, resultando na necessidade de quantidades cada vez maiores de combustíveis, desenvolvimento da indústria química e farmacêutica, de fertilizantes e pesticidas para sustentar e melhorar a “qualidade de vida”. Embora muitas dessas substâncias químicas sejam utilizadas ou destruídas, um grande percentual é lançado na atmosfera, água e solo, representando um risco potencial para o meio ambiente e conseqüentemente um risco para a vida humana.

A poluição se tornou inaceitável para a sociedade, aumentando a preocupação com os seus efeitos sobre o meio ambiente. Preocupações com a qualidade do ar e das águas são antigas, mas as preocupações com solos contaminados só se tornaram evidente no final da década de 70. Infelizmente é impossível reverter todos os danos causados ao ambiente utilizando técnicas de remediação. As estratégias modernas de gerenciamento têm dado ênfase à minimização de resíduos, reciclagem e remediação em preferência à disposição dos resíduos no meio ambiente.

O relatório de áreas contaminadas no estado de São Paulo, publicado pela CETESB em maio de 2002, nos dá um retrato da situação do subsolo de umas das regiões mais industrializadas do país. Dos 255 casos registrados, 60% estão relacionados a contaminação por combustíveis (gasolina e diesel), 15% a solventes clorados, 5% a solventes orgânicos não clorados e 3% a hidrocarbonetos poliaromáticos. Os outros casos envolvem pesticidas e metais pesados.

Das 153 áreas contaminadas por combustíveis, 24% não definiram nenhum processo de remediação (135 são provenientes de postos de gasolina), nas outras 76% estão sendo empregadas técnicas de remediação (bombeamento e tratamento 44%, remoção da fase livre 16%). No caso da contaminação por solventes clorados, a situação é ainda mais crítica, somente em 29% dos casos foi proposta alguma técnica de remediação. Também para solventes clorados a técnica mais utilizada foi bombeamento e tratamento. Um ponto muito importante que deve ser considerado na escolha da técnica, não é somente o percentual de eficiência do método e sim a quantidade de contaminante que permanece no ambiente sem causar nenhum risco ao ambiente e a saúde humana. Muitos são os casos em que o método remove ou

destrói a maior parte dos contaminantes presentes no meio. Contudo, deve ser observado se o contaminante que não foi removido ou o produto de reação formado durante o processo de remediação continua oferecendo risco a saúde humana.

É de domínio público que a Legislação Brasileira (Resolução CONAMA 20/86) contempla somente padrões de qualidade para água. No que diz respeito às substâncias que devem ser monitoradas somente a quantidade de fenóis e de surfactantes são regulamentadas. Todas as outras substâncias orgânicas, comprovadamente nocivas ao ambiente e aos seres vivos não foram ainda regulamentadas. Cabe ao órgão fiscalizador utilizar o bom senso e as normas internacionais como as da Agência Americana de Proteção Ambiental e a do Ministério de Planejamento Territorial e Meio Ambiente da Holanda para definir os níveis de descontaminação que devem ser alcançados. Também é responsabilidade da sociedade, principalmente a comunidade científica, sugerir e monitorar as ações tomadas pelos órgãos fiscalizadores e empresas.

A persistência de xenobióticos<sup>1</sup> orgânicos no ambiente é um problema de importância pública, científica e legislativa, devido ao seu potencial tóxico, mutagênico, carcinogênico e habilidade de se acumular na cadeia trófica. No passado a poluição química no solo foi tratada utilizando processos físicos e químicos, que provaram ser muito dispendiosos e muitas vezes ineficientes. Os microrganismos, mais do que qualquer outra classe de organismos, tem a habilidade única de interagir química e fisicamente com uma grande variedade de compostos naturais e sintéticos, levando à mudança estrutural ou até à completa degradação da molécula.

O desenvolvimento relativamente recente da biorremediação contribuiu para aumentar as alternativas de remediação *in situ* e *ex situ* de áreas contaminadas. Tratamentos *ex situ* envolvem a remoção física da matriz contaminante para reatores, pilhas de compostagem ou lagoas. Muitas técnicas (e.g., aterro de disposição, incineração) apenas diluem ou seqüestram o contaminante, ou o transferem para outro ambiente. Por outro lado, a biorremediação pode ser considerada como a técnica mais efetiva e menos nociva ao ambiente, desde que resulte na transformação parcial ou completa do xenobiônte orgânico em biomassa microbiana e subprodutos inócuos (SEMPLE *et al.*, 2001).

---

<sup>1</sup> Moléculas estranhas ao ambiente. Substância química sintética encontrada num sistema biológico, mas de origem não biogênica.

Os processos oxidativos avançados (POA) englobam uma série de tecnologias emergentes, algumas delas recentes, outras resgatadas de conhecimentos de domínio público, que têm como uso em comum o uso do radical hidroxila (HO•) na oxidação de contaminantes presentes em matrizes de interesse ambiental. Os POAs aparecem como tecnologia alternativa, extremamente competitiva no cenário ambiental, e têm sido aplicados com sucesso na descontaminação *in situ* de solos, desinfecção de água, na remoção de cor e de contaminantes orgânicos em efluentes industriais, além de uma vasta gama de aplicações na destruição de passivos ambientais.

A remediação de compostos recalcitrantes ou de contaminantes adsorvidos na matriz do solo pode necessitar da adição de agentes químicos, tal como os tensoativos, que promovem a solubilização e/ou mobilização dos contaminantes. Os tensoativos são agentes tensoativos capazes de baixar a tensão superficial e interfacial de líquidos. Os biosurfactantes são produzidos por um grande número de microrganismos, como por exemplo as bactérias, que representam uma grande diversidade de moléculas e estruturas químicas. A grande vantagem dos biosurfactantes em relação aos tensoativos químicos é a de serem potencialmente menos tóxicos e mais biodegradáveis (SHAFI e KANA, 1995; BARKAY *et al.*, 1999, TOREN *et al.*, 2001).

Contudo, o resultado de cada uma dessas técnicas está diretamente relacionado com as propriedades físico-químicas do contaminante. Por exemplo, a eficácia da biorremediação está associada à biodisponibilidade do contaminante, de preferência se o contaminante estiver solúvel em água. Muitas vezes o composto é extremamente tóxico, o que vai inibir o crescimento de um grande número de microrganismos. Nesses casos é necessária a utilização de técnicas combinadas a fim de melhorar a eficiência da remediação.

## 1.2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi o de selecionar e avaliar técnicas de remediação que envolvem a transformação de compostos recalcitrantes (HPAs, PCBs e PCE) em substâncias inócuas ou que aumentem a solubilidade e a mobilidade desses compostos na matriz do solo.

Dentro desse quadro a primeira parte do estudo envolveu a técnica de biorremediação na degradação de hidrocarbonetos poliaromáticos e bifenilas policloradas. A área da Baía de Guanabara possui áreas bastante favoráveis à proliferação de microrganismos capazes de degradar compostos persistentes (MESQUITA, 1994; CRAPEZ *et al.*, 2000). Esse fato é o resultado de anos de descaso nos lançamentos e vazamentos de hidrocarbonetos de petróleo na região da Ilha do Governador, onde se encontra um dos mais antigos locais de estocagem de um distribuidora de combustíveis na Paria da Ribeira. Outro local é a região de Duque de Caxias, onde foi instalada a Refinaria de Duque de Caxias e outras empresas petroquímicas. A idéia foi isolar um grupo de microrganismos adaptados às condições físicas e químicas de regiões tropicais e adaptados às altas concentrações de hidrocarbonetos aromáticos e organo-clorados. Devido à alta toxicidade e baixa solubilidade das bifenilas policloradas foi necessário estudar uma outra técnica, que combinada à biorremediação seria possível promover a eficiência na degradação.

A segunda parte do trabalho envolveu a comparação do comportamento de um contaminante orgânico mais denso que a água no solo, entre a técnica de lavagem de solo utilizando o biosurfactante produzido na primeira fase e a técnica de oxidação química que utiliza solução de permanganato como agente oxidante.

### 1.3 CAPÍTULOS DA TESE

Esse trabalho se constitui em capítulos que compreendem o comportamento de poluentes orgânicos mais densos que a água no ambiente assim como técnicas que poderão ser utilizadas na remediação de áreas contaminadas por estes.

O **Capítulo 2** traz a avaliação do problema ambiental relativo à contaminação por hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) e bifenilas policloradas (PCBs), rotas e degradação.

O **Capítulo 3** apresenta as técnicas de biodegradação e oxidação química por Reagente de Fenton na degradação de HPAs e PCBs.

No **Capítulo 4** as metodologias analíticas empregadas nos ensaios de biodegradação e oxidação química são descritas detalhadamente, com o objetivo de facilitar o desenvolvimento de outros trabalhos.

O **Capítulo 5** apresenta e discute os resultados obtidos nos ensaios de biodegradação de HPAs e PCBs assim como os de oxidação química de PCBs. Assim como algumas conclusões parciais.

O **Capítulo 6** faz um histórico da produção e utilização de tetracloroetileno (TCE), rotas no ambiente e vias de degradação.

No **Capítulo 7** são apresentadas as técnicas para remoção de PCE, na fase livre, em meio poroso: oxidação química por permanganato de potássio e biosurfactante.

No **Capítulo 8** as metodologias analíticas empregadas nos ensaios de coluna utilizando permanganato e biosurfactante.

O resultados dos ensaios de coluna utilizando permanganato de potássio e biosurfactante são apresentados no **Capítulo 9**.

As conclusões e considerações finais são relatadas no **Capítulo 10**.

# PARTE I

## **2. HIDROCARBONETOS POLIAROMÁTICOS E BIFENILAS POLICLORADAS**

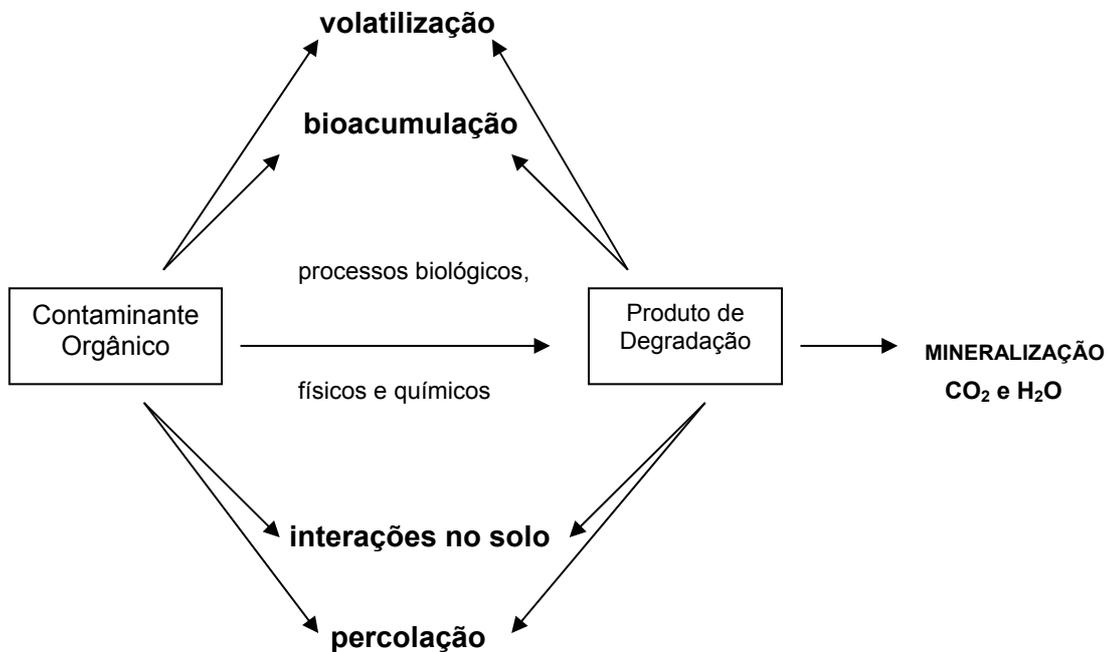
### **2.1 INTRODUÇÃO**

O século XX foi marcado pela introdução de uma grande quantidade de novas substâncias orgânicas no ambiente. Normalmente, átomos de carbono e outros componentes elementares dessas moléculas foram sendo reciclados através da transformação microbiana. Contudo, muitas dessas substâncias químicas são muito persistentes quando lançadas no ambiente. Os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) são substâncias persistentes que se bioacumulam e representam risco a saúde humana e ambiental. É amplamente aceito que o uso de substâncias tóxicas, persistentes e que bioacumulam, não pode ser considerado uma prática sustentável. Contudo, por diferentes razões sociais e econômicas essas substâncias ainda estão em uso ou são lançadas no meio ambiente, ou ambos. Existem evidências da capacidade dessas substâncias serem transportadas para regiões onde nunca foram usadas ou produzidas, colocando em risco todo o planeta. A comunidade internacional tem se mobilizado para que sejam tomadas ações globais urgentes a fim de reduzir e eliminar o lançamento dessas substâncias.

A Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (UNCED), realizada em junho de 1992, sancionou a Agenda 21, com um plano de ação para o desenvolvimento sustentável do planeta. O Capítulo 19 da Agenda 21 é direcionado ao gerenciamento de substâncias tóxicas, fortalecendo a coordenação internacional de atividades relacionadas ao gerenciamento de produtos químicos – promovendo a troca de informações sobre cuidados, usos e emissões dessas substâncias. O Conselho Governamental do Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), na sua 19ª sessão realizada em fevereiro de 1997 determinou que 12 substâncias (POPs) deverão ser banidas a fim de reduzir riscos à saúde humana e ambiental, sendo elas: PCBs, dioxinas e furanos, aldrin, endrin, dieldrin, DDT, clordano, hexaclorobenzeno, mirex, toxafeno e heptacloro.

O possível destino dos contaminantes orgânicos e seus metabólitos no meio ambiente incluem a volatilização, biodegradação, transferência para organismos, ligações entre as partículas do solo e percolação para o lençol freático (Figura 2.1). As interações solo - contaminante ocorrem através de vários tipos de forças interativas, como dipolo-

dipolo, dipolo / dipolo-induzido e pontes de hidrogênio. A matéria orgânica presente no solo é considerada o fator dominante da interação entre o solo e o contaminante orgânico (PIGNATELLO *et al.* 1998).



**Figura 2.1: Esquema do destino de contaminantes orgânicos no ambiente (adaptado de SAMPLE *et al.*, 2001).**

Uma dos principais problemas causado pelos POPs está relacionado à propriedade lipofílica dos compostos, fazendo com que eles se acumulem nos tecidos adiposos de animais e seres humanos. A concentração deles também vai aumentando à medida que se aproximam do topo da cadeia alimentar. Por serem semivoláteis podem ser transportados por milhares de quilômetros, depositando-se em áreas onde essas substâncias nunca foram utilizadas. Podem também se acumular no sedimento e lentamente mover-se para corpos d'água, conseqüentemente afetando os animais que retiram seus alimentos dessas áreas (CONNELL, 1988). Por exemplo, existe uma tendência às populações do Ártico de serem muito mais afetadas que as de qualquer outra parte do planeta. Devido à baixa temperatura dos pólos, as substâncias presentes na atmosfera ao atingirem essas áreas tendem a precipitar. Outrossim, é a baixa variedade da dieta alimentar, que se baseia na pesca e caça de animais do local. Os efeitos causados à saúde dessas populações são impressionantes: câncer,

distúrbios do sistema reprodutivo, problemas de desenvolvimento e do sistema imunológico.

## **2.2 HIDROCARBONETOS POLIAROMÁTICOS (HPAS)**

A década de 1970 vai ser lembrada como o período em que a sociedade civil e o meio científico se conscientizaram do impacto que a tecnologia e fatores associados tiveram sobre a saúde humana. No Brasil, somente na década de 80, iniciou-se um processo de conscientização. Em particular, algumas substâncias químicas passaram por uma severa investigação a fim de determinar seus efeitos biológicos em termos de potencial carcinogênico, mutagênico, teratogênico<sup>2</sup> ou outros efeitos tóxicos que possam afetar o comportamento, reprodução, longevidade ou a saúde em geral.

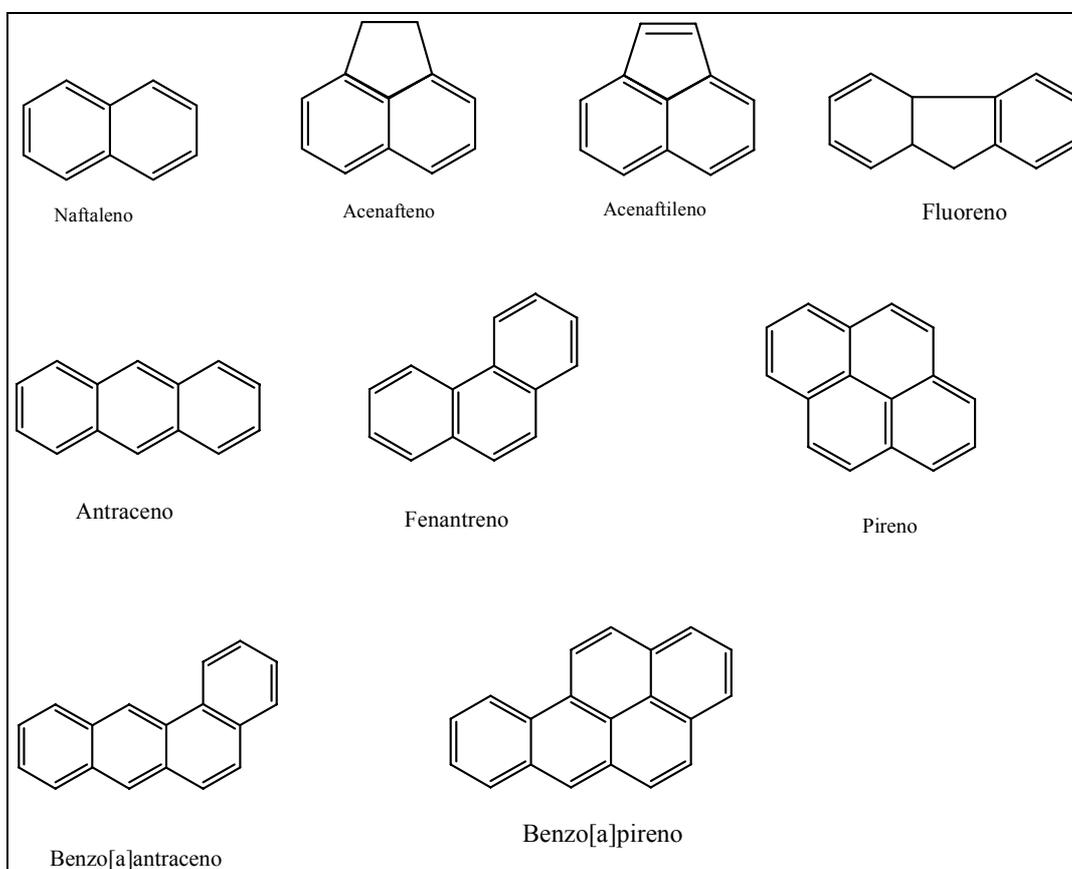
Um grupo dessas substâncias químicas que recebe redobrada atenção é o dos hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs), provavelmente o contaminante ambiental mais comum no nosso planeta. Durante os últimos 3 séculos, a relação entre a alta incidência de câncer nas áreas urbanas e industriais é muito maior que na zona rural, e a exposição de seres humanos a HPAs estimularam uma série de pesquisas sobre fontes geradoras, bioacumulação, metabolismo e disposição em ecossistemas aquáticos e terrestres.

O termo HPA geralmente se refere a hidrocarbonetos (substâncias formadas por carbono e hidrogênio) que contêm dois ou mais anéis benzênicos fundidos na forma linear, angular ou agrupados (Figura 2.2). Muitos HPAs podem conter grupos alquil ou nitro como substituinte ou podem ser consideradas como moléculas heterocíclicas quando um dos carbonos é substituído por nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Os HPAs são compostos hidrofóbicos e a sua persistência no ambiente é principalmente devida a sua baixa solubilidade em água. O aumento do número de anéis aromáticos geralmente faz com que haja a diminuição da solubilidade e o aumento da hidrofobicidade do HPA, além de diminuir a volatilidade do composto (Tabela 2.1).

---

<sup>2</sup> Agente físico ou químico causador de monstruosidade.

Os HPAs são formados naturalmente durante o processo geológico termal e durante a queima de vegetação. Contudo, as principais fontes de HPAs no meio ambiente são de origem antropogênica, particularmente a queima de combustíveis fósseis, processos de pirólise, derramamento de produtos de petróleo e incineração de lixo (BLUMER, 1976). O destino dos HPAs na natureza é influenciado por uma série de fatores que determinam a taxa de degradação e a extensão do metabolismo, como: propriedades físico-químicas dos HPAs (peso molecular, solubilidade em água, volatilidade, presença de grupos funcionais, concentração); pH do meio; temperatura; concentração de oxigênio; salinidade; tipo de sedimento; e nutrientes.



**Figura 2.2: Estruturas de HPAs**

### 2.2.1 ROTA DOS HPAS NO AMBIENTE

A rota principal de transporte dos HPAs é feita através da atmosfera. Resultados de monitoramento ambiental mostraram que concentrações de HPAs são da ordem de poucos nanogramas por metro cúbico de ar. Os veículos motorizados - automóveis,

caminhões e ônibus - também contribuem para o aumento para a poluição atmosférica com HPAs através da exaustão de gases, partículas de pneu e óleo lubrificante. Durante o processo de combustão, os veículos que utilizam o óleo diesel são a maior fonte de HPAs de baixo peso molecular para a atmosfera, enquanto os veículos movidos a gasolina são fonte de HPAs de alto peso molecular (HOLLIGER, 1997).

**Tabela 2.1: Propriedades físico-químicas de alguns HPAs (The Merck Index, 1996).**

HPA	Nº de anéis aromáticos	Ponto de Fusão (° C)	Ponto de Ebulição (° C)	Solubilidade (mg/l)	Log K <sub>ow</sub> <sup>(*)</sup>	Pressão de Vapor (Pa a 20° C)
Fenantreno	3	101	340	1,29	4,46	0,0853
Antraceno	3	216	340	0,07	4,45	0,0267
Fluoranteno	4	11	250	0,26	5,33	8,0 x 10 <sup>-4</sup>
Benzo[a]antraceno	4	158	400	0,014	5,61	6,6 x 10 <sup>-7</sup>
Pireno	4	149	360	0,14	5,32	9,1 x 10 <sup>-5</sup>
Criseno	4	255	488	0,002	5,61	8,4 x 10 <sup>-5</sup>
Benzo[a]pireno	5	179	496	0,0038	6,04	6,7 x 10 <sup>-5</sup>
Dibenzo[a,h]antraceno	5	262	524	0,0005	5,97	1,3 x 10 <sup>-8</sup>
Benzo[g,h,i]perileno	6	222	-	0,0003	7,23	1,3 x 10 <sup>-8</sup>
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	6	163	536	0,062	7,66	1,3 x 10 <sup>-8</sup>

(\*)K<sub>ow</sub>: coeficiente de partição octanol/água

Os HPAs são caracterizados pela baixa solubilidade em água e alto coeficiente de partição octanol-água. Devido a essa hidrofobicidade natural, os HPAs se acumulam nas partículas finas e na matéria orgânica do sedimento marinho, tornando-o assim, um reservatório de HPAs. Esse acúmulo nos sedimentos marinhos pode ser proveniente de várias fontes, incluindo deposição atmosférica, produção *off-shore*, transporte de petróleo e lançamento de esgoto.

A concentração de HPAs no sedimento marinho varia de algumas ng/Kg até g/Kg, dependendo da proximidade de áreas industriais, correntes marítimas e águas servidas. A concentração de HPAs em solos contaminados de áreas industriais varia

em função da atividade, do tipo de solo, constituintes do solo e grau de saturação do local (Tabela 2.2).

**Tabela 2.2: Concentração de HPAs em solos contaminados. (RIVM, 1989))**

HPA	Concentração de HPA no solo (mg / kg) das Indústrias:					
	Produção de Creosoto	Preservação de Madeira	Fábrica de Gás	Petroquímica	Produção de Gás (EUA)	Produção de Gás (França)
Naftaleno	1131	3925	-	186	97	-
Acenaftileno	33	49	-	-	28	28
Acenafteno	-	1368	2	43	49	2
Fluoreno	650	1792	225	87	14	4
Fenantreno	1595	4434	379	156	26	51
Antraceno	334	3307	156	53	11	58
Fluoranteno	682	1629	2174	137	73	195
Pireno	642	1303	491	99	47	173
Criseno	614	481	345	-	15	52
Benzo[a]antraceno	-	171	317	33	16	88
Benzo[a]pireno	-	82	92	15	14	106
Dibenzo[a,h]antraceno	-	-	2451	12	33	-

A concentração de HPAs no solo de países industrializados revelou um aumento desde meados de 1800, com um pico entre 1950 e 1960. Um estudo feito por JONES *et al.* (1992) em amostras de solo da Inglaterra, mostrou um aumento de concentração de HPAs próximo aos centros urbanos. Mas a combustão antropogênica de combustíveis fósseis e o longo alcance do transporte atmosférico, contribuíram para a dispersão de HPAs no ambiente. Observa-se que quando HPAs alquil substituídos predominam nos sedimentos, eles são provenientes de derivados de petróleo, mas

quando predominam HPAs sem grupos substituintes, a origem é de processo de combustão.

Além do ar, sedimento marinho e solo, os HPAs podem se acumular em organismos marinhos. A entrada de HPAs em organismos marinhos está ligada à biodisponibilidade (ex.: partição entre sedimento, água e alimento), e à fisiologia do organismo, sendo influenciada pelo tamanho do organismo, taxa de ingestão, taxa de crescimento, permeabilidade da membrana, taxa de ventilação, tempo de residência no intestino e regulação osmótica. Na Tabela 2.3 pode-se ver alguns exemplos de acúmulo de HPAs em diversos organismos marinhos de várias regiões do planeta. Os HPAs podem ser eliminados dos organismos por difusão passiva ou por excreção de substâncias polares, produzidos em algum processo metabólico envolvendo HPAs.

A presença de HPAs em plantas pode expor indiretamente o homem através da cadeia alimentar. Deposições atmosféricas de HPAs sobre plantas, em alguns casos, podem ser assimiladas pelo homem. Se o HPA penetrar na célula, ele pode se transformar em  $\beta$ -O-glicosídeo e  $\beta$ -O-glucoronídeo conjugados; contudo, o destino dessas moléculas e seus derivados nas folhas ainda não foram elucidados. Vários fatores podem influenciar o acúmulo de HPAs nas plantas: propriedade física do HPA, espécie e estrutura da planta e condições ambientais – concentração atmosférica de HPAs e temperatura (CONNELL, 1988).

## **2.2.2 EFEITOS TOXICOLÓGICOS**

Estudos de laboratório mostram que ratos que foram alimentados com alta concentração de HPA tiveram dificuldades de se reproduzir, assim como a sua prole. Essa prole apresentou uma alta taxa de filhotes com defeitos de formação e baixo peso corporal. Não se sabe se esses problemas ocorrem com os humanos. Estudos utilizando animais também mostraram que HPAs podem causar efeitos nocivos à pele, fluido corporal, e na habilidade de combater doenças após longo e curto tempo de exposição. Nenhum desses efeitos foi ainda observado em humanos. O metabolismo dos HPAs nos mamíferos pode ser observado em muitos tecidos como fígado, pulmão, rins, placenta, trato intestinal, e pele via citocromo P450.

**Tabela 2.3: Concentração de HPAs detectadas em organismos marinhos de várias partes do planeta. (adaptado de NEFF, 1985).**

<b>Organismo</b>	<b>Local de Coleta</b>	<b>HPA (ng / g)</b>
<b>Peixe</b>		
<i>Pseudopleuronectes americans</i>	Golfo de Nova Iorque	14 - 315
<i>Scophthalmus aquosus</i>	Golfo de Nova Iorque	18 – 536
<i>Arophysate chuss</i>	Golfo de Nova Iorque	143 – 412
<b>Moluscos</b>		
<i>Mytilus edulis</i>	Noruega	500 – 12845
<i>Mytilus edulis</i>	Escócia	54 – 2803
<i>Mytilidae</i>	Noruega	5000 – 225000
<i>Litorina littorea</i>	Noruega	595 – 1135
<i>Patella vulgata</i>	Noruega	674 – 15462
<i>Cardium edule</i>	Itália	198 – 205
<b>Crustáceos</b>		
<i>Cancer irroratus</i>	Golfo de Nova Iorque	52 – 1600
<i>Homarus americans</i>	Golfo de Nova Iorque	129 – 367
<i>Homarus americans</i>	Nova Escócia	97 – 88100
<b>Esponja do Mar</b>		
<i>Halichondria panicea</i>	Noruega	769
<b>Diatomácea</b>		
<i>Navicula phyllepta</i>	Holanda	454
<b>Alga</b>		
<i>Fucus vesiculosus</i>	Noruega	284 – 4665
<i>Fucus serratus</i>	Noruega	456 – 2964

Algumas pessoas que respiraram ou manusearam misturas de HPAs por longos períodos de tempo desenvolveram câncer. Animais de laboratório desenvolveram diversos tipos de câncer quando em contato com HPAs: por via respiratória – câncer de pulmão, por ingestão – câncer de estômago, ou quando aplicados sobre a pele – câncer de pele. O departamento americano de Administração de Segurança e Saúde Ocupacional (OSHA) estipulou um limite máximo de 0,2 mg de HPAs por metro cúbico de ar em ambiente de trabalho. O limite de exposição permissível para óleo mineral contendo HPAs é de 5 mg/m<sup>3</sup> em um período médio de exposição de 8 horas (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1996).

### 2.2.3 VALORES REFERÊNCIA PARA CONTAMINAÇÃO POR HPAs

O Brasil ainda não possui uma política ou legislação a nível federal para proteção ou remediação de solos e águas subterrâneas. Os parâmetros utilizados são os mesmos de potabilidade da Portaria do Ministério da Saúde 1.469, de 29/12/2000. Algumas iniciativas, em termos de legislação, estão sendo tomadas em níveis locais, como é o caso da São Paulo (GUIMARÃES, 2003). Dos HPAs, somente o naftaleno é citado na lista da CETESB, como valores entre 15 e 90 ppm para solo e de 100 ppb para água subterrânea. Contudo, a norma holandesa especifica limites para HPAs, e não somente o naftaleno, conforme a Tabela 2.4.

**Tabela 2.4a: Valores referência para solos segundo a Norma Holandesa.**

Tipo de Solo	Concentração em peso seco (mg/kg)		
	Referência	Alerta	Intervenção
Concentração de HPAs em solo com 0% de teor de argila e 0% de matéria orgânica	0,2	4,1	8,0
Concentração de HPAs em solo com 25% de teor de argila e 10% de matéria orgânica	1,0	20,5	40,0

**Tabela 2.4b: Valores referência para águas subterrâneas segundo a Norma Holandesa.**

Água Subterrânea	Concentração em peso seco ( $\mu\text{g/L}$ )		
	Referência	Alerta	Intervenção
Naftaleno	0,1	35	70
Fenantreno	0,02	2,5	5,0
Antraceno	0,02	2,5	5,0
Fluoranteno	0,005	0,5	1,0
Benzo(a)antraceno	0,002	0,25	0,5
Criseno	0,002	0,026	0,05
Benzo(a)pireno	0,001	0,026	0,05

## 2.2.4 BIODEGRADAÇÃO DE HPAs

Desde a década de 1970, pesquisadores vêm demonstrando que bactérias, fungos e algas possuem atividades catabólicas<sup>3</sup> que podem ser utilizadas na remediação de áreas contaminadas por HPAs (Tabela 2.5).

**Tabela 2.5: HPAs oxidados por diferentes espécies de bactérias (adaptado de CERNIGLIA, 1992).**

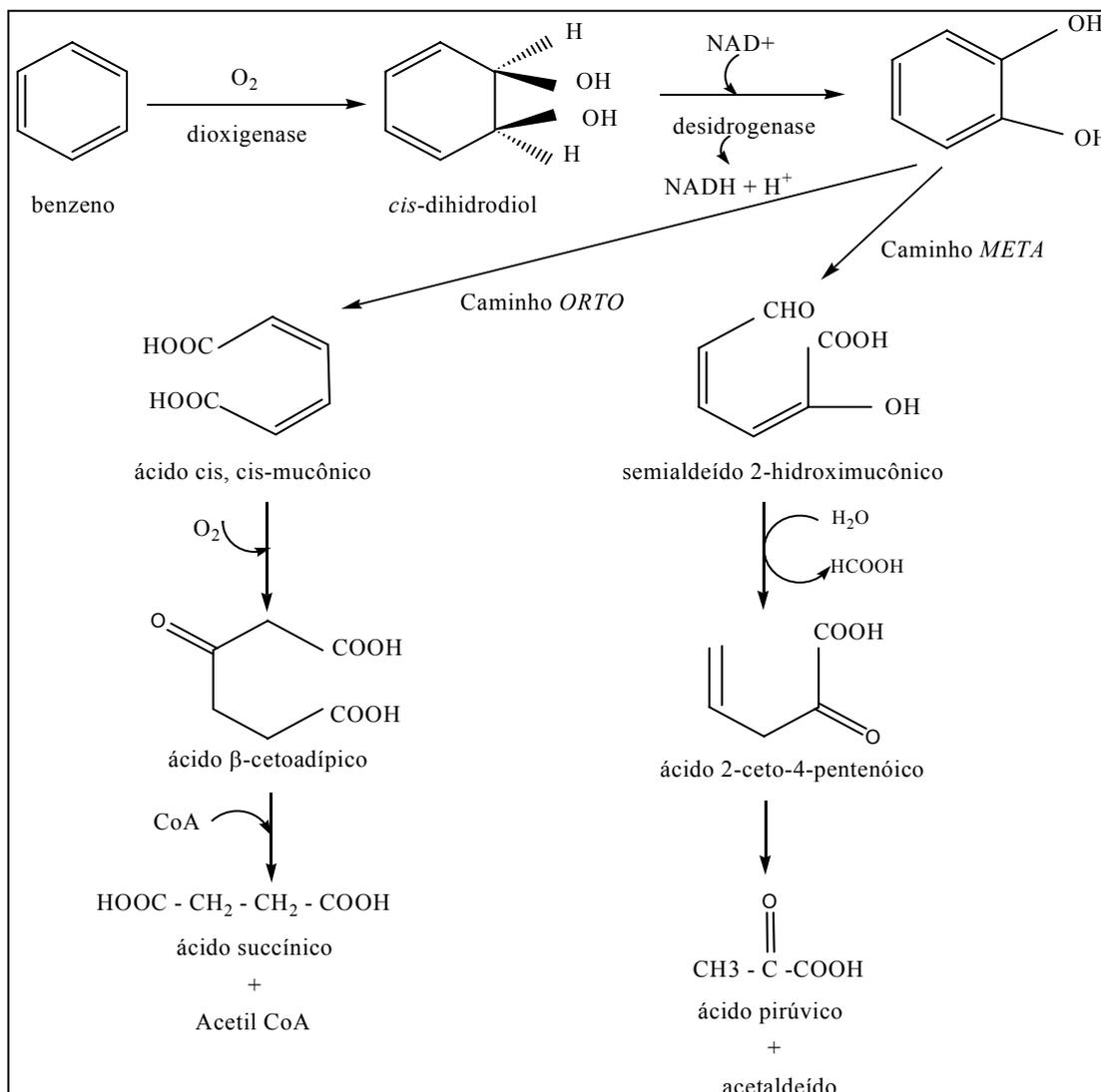
Substância	Microrganismo
Naftaleno	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. paucimobilis</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Comomonas testosteroni</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Corynebacterium renale</i> , <i>Moraxella sp.</i> , <i>Streptomyces sp.</i>
Acenafteno	<i>Beijernickia sp.</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Bu. Cepacia</i> , <i>Cycloclasticus sp.</i> , <i>Neptunomonas naphthovorans</i> , <i>Alcaligenes eutrophus</i> , <i>Alcaligenes paradoxus</i>
Fenantreno	<i>Aeromonas sp.</i> , <i>A. faecalis</i> , <i>A.denitrificans</i> , <i>Arthrobacter polychromogenes</i> , <i>Beijernickia sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. paucimobilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Vibrio sp.</i> , <i>Nocardia sp.</i> , <i>Flavobacterium sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Comamonas testosteroni</i> , <i>Acidovorax delafieldii</i>
Antraceno	<i>Beijernickia sp.</i> , <i>P. putida</i> , <i>Bu. Cepacia</i> , <i>Arthrobacter sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Comamonas testosteroni</i> , <i>Sphingomonas sp.</i> , <i>Gordona sp.</i>
Fluoranteno	<i>Aeromonas denitrificans</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. paucimobilis</i> , <i>Bu. Cepacia</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Acidovorans delafieldii</i> , <i>Gordona sp.</i> , <i>Pasteurella sp.</i>
Pireno	<i>Aeromonas denitrificans</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>P. paucimobilis</i> , <i>P. cepacia</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Criseno	<i>Rhodococcus sp.</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. paucimobilis</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Agrobacterium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Burkholderia sp.</i>
Benzo[a]antraceno	<i>Aeromonas denitrificans</i> , <i>Beijernickia sp.</i> , <i>P.putida</i> , <i>P paucimobilis</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Agrobacterium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>
Dibenzo[a,h]antraceno	<i>P. paucimobilis</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .

<sup>3</sup> Atividade de degradação ou quebra de moléculas para produção de energia.

Atualmente, a biorremediação tem demonstrado ser efetiva na remediação de solos contaminados com HPAs de baixo peso molecular. Embora a falta de atividade microbiológica para HPAs de alto peso molecular seja atribuída a fatores específicos de campo, como biodisponibilidade do contaminante, nutriente, potencial redox, etc., o fator limitante pode ser a falta de microrganismos capazes de degradar os compostos com mais de quatro anéis aromáticos. Embora exista uma grande diversidade de organismos capazes de degradar HPAs de baixo peso molecular, como naftaleno, acenafteno e fenantreno, apenas poucos gêneros são capazes de degradar HPAs de alto peso molecular como o b[a]pireno (BOOPATHY, 2000).

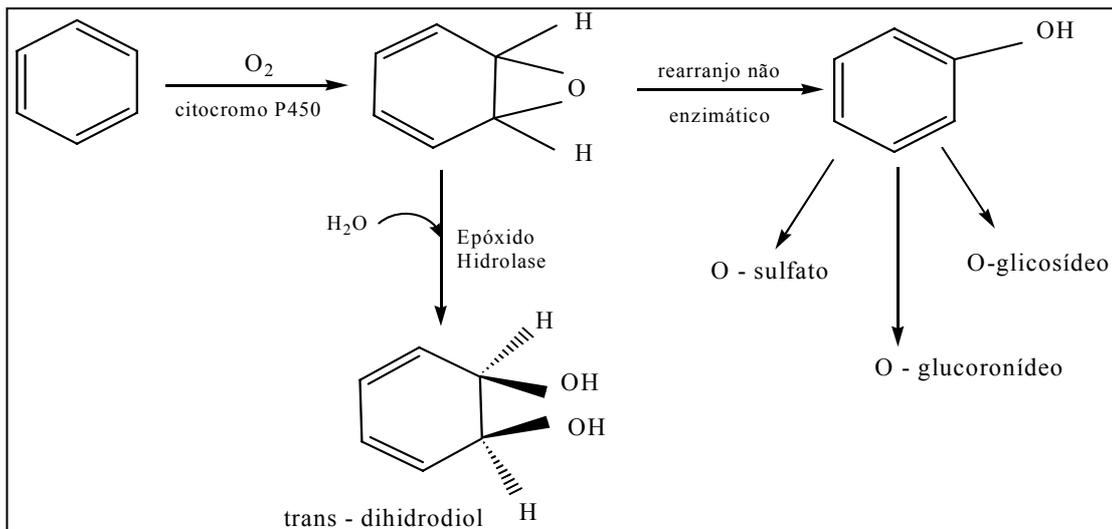
Acredita-se que as bactérias oxidem preferencialmente hidrocarbonetos aromáticos que vão do benzeno ao benzo[a]pireno. No processo oxidativo são gerados *cis*-dihidrodióis pelo processo de incorporação de átomos de oxigênio ao anel aromático tendo as dioxigenases como catalisador. Os *cis*-dihidrodióis são rearomatizados pela ação da enzima *cis*-dihidrodiol desidrogenase. Em seguida, o *cis*-dihidrodiol é oxidado a catecol, que é substrato para outras dioxigenases que levam à quebra do anel aromático. O caminho oxidativo *orto* envolve a quebra entre os átomos de carbono dos dois grupos hidroxílicos, formando o ácido *cis,cis*-mucônico. No caminho oxidativo *meta* quebra a ligação entre o carbono hidroxilado e o carbono adjacente, formando o 2-hidroximucônico semialdeído, conforme a Figura 2.3.

O produto final desse processo de degradação resulta na produção de succinato, acetil CoA, ácidos pirúvico e acético, e aldeídos, todos eles utilizados por microrganismos na síntese de constituintes celulares e energia (Ciclo do Ácido Tricarboxílico). Os subprodutos dessas reações são CO<sub>2</sub> e água. Uma vez que o primeiro anel aromático hidroxilado do HPA é degradado (ácido pirúvico e CO<sub>2</sub>), o segundo anel é enzimaticamente processado da mesma maneira. Contudo, muitas moléculas de alto peso molecular (benzo[a]pireno) são degradadas com dificuldade, devido a baixa solubilidade, grande energia de ressonância e toxicidade.



**Figura 2.3: Metabolismo microbiano da quebra de anel aromático pelo caminho *ORTO* e *META* (adaptado de CERNIGLIA, 1986).**

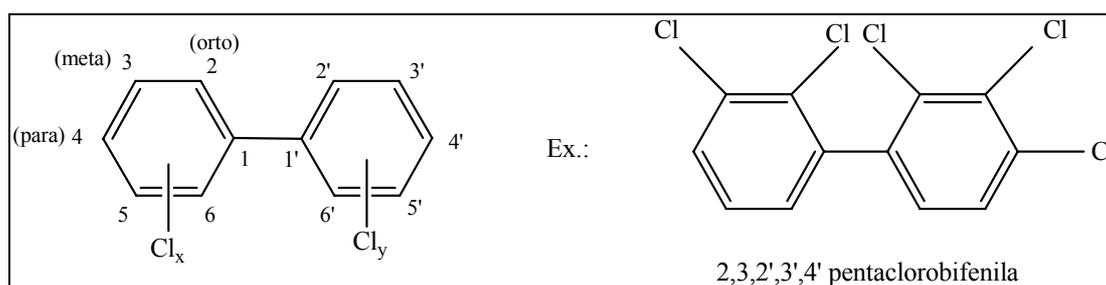
Os fungos, por outro lado, oxidam os HPAs em *trans*-diidrodióis, similar à oxidação feita pelo sistema enzimático dos mamíferos (Figura 2.4). Estudos feitos com organismos procarióticos e eucarióticos indicaram que microrganismos fotossintéticos também são capazes de hidroxilar compostos aromáticos (CERNIGLIA, 1986).



**Figura 2.4: Caminho metabólico utilizado pelos fungos na degradação de compostos aromáticos (adaptado de CERNIGLIA, 1986).**

## 2.3 BIFENILAS POLICLORADAS

Os compostos organoclorados são uma classe de substâncias, em sua ampla maioria sintéticas, que incluem diversos tipos de pesticidas, solventes e outras substâncias de uso industrial. As bifenilas policloradas (PCBs) são fluidos dielétricos – não condutores – que foram amplamente utilizadas na indústria por mais de 50 anos, pois acreditava-se que eram compostos não inflamáveis e inertes (Figura 2.5).



**Figura 2.5: Estrutura básica da bifenila com a numeração das posições de substituição dos hidrogênios por moléculas de cloro.**

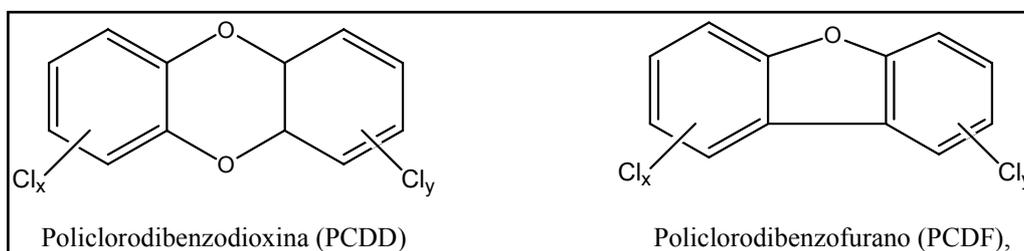
Entretanto, acidentes em várias partes do mundo provaram que a combustão de PCBs pode formar subprodutos como dioxinas e furanos – que são compostos extremamente tóxicos. Embora os PCBs estivessem sendo usados desde 1929, somente em 1966, os PCBs foram identificados como contaminantes ambientais durante a análise de extratos de solo para quantificar DDT e seus metabólitos. Contudo, somente na década de 1970 é que se estabeleceu a ampla distribuição dos PCBs no ambiente (MIHRI e MARSAC, 1997).

Na França, o uso de PCBs como aditivo foi proibido em 1975. Em 1987, foi proibida a venda e aquisição de PCBs ou aparelhos contendo mais de 100 ppm. No ano de 1992 o limite de tolerância baixou para 50 ppm. Nos Estados Unidos a produção de PCBs foi encerrada em 1977 devido a evidências de acúmulo no meio ambiente e por causar efeitos nocivos a saúde. A maioria dos países ocidentais banuiu a produção e restringiu a comercialização e uso. Contudo, grandes quantidades de PCBs continuam em uso e seu manuseio, destruição, e reposição ainda ocorrem nas indústrias supracitadas. Fica claro que os PCBs são poluentes comuns nos ecossistemas globais, e podem ser identificados no ar, água, solo, animais e em sangue, leite e tecidos adiposos de seres humanos.

A primeira síntese de PCB foi feita em 1881, mas a produção industrial começou nos EUA apenas em 1929. Essas moléculas são formadas a partir do benzeno e do cloro gasoso, em duas etapas:

1. Síntese do núcleo de bifenila por desidrogenação de duas moléculas de benzeno a 800°C;
2. Cloração progressiva do núcleo de bifenila, pelo ataque do cloro gasoso anidro a 100° C, catalisada por cloreto férrico ou limalha de ferro.

Durante a reação é possível verificar o aumento de massa da mistura reacional. A reação é interrompida quando o produto da reação atinge a massa correspondente ao teor de cloro desejado na mistura. Embora existam diferentes processos de purificação, o produto final pode apresentar contaminação por produtos mais tóxicos como policloro dibenzofuranos (PCDF) e policloro dibenzodioxinas (PCDD) exemplificados na Figura 2.6. A toxicidade dessas substâncias chega a ser 500 vezes maior que PCBs puros.



**Figura 2.6: Estrutura molecular das moléculas produzidas na pirólise dos PCBs.**

Os PCBs eram comercializados por muitos países sob diferentes marcas: Aroclor (Monsanto, EUA), Phénoclor e Pyralène (Prodelec, França), Clophen (Bayer, Alemanha), Apirolio (Caffaro, Itália) e Kanechlor (Kanegafuchi Chemical, Japão), sendo a Monsanto o maior produtor mundial. As misturas de PCBs mais comuns eram o Aroclor 1242, 1248, 1254 e 1260, contendo 42, 48, 54 e 60% de cloro em peso, respectivamente. O Aroclor continha além da mistura de PCBs, cloro benzenos e sequestrantes de oxigênio.

### 2.3.1 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS PCBs

Os PCBs formam uma classe de 209 compostos químicos diferenciados, chamados de congêneres, no qual pode existir de um a dez átomos de cloro ligados a bifenila. A fórmula empírica dos PCBs é  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ , onde varia entre 1 e 10. A fórmula estrutural da molécula de bifenila e o sistema numérico dos átomos de carbono de cada anel podem ser observados na Figura 2.6. A Tabela 2.6 mostra como os PCBs podem ser subdivididos pelo grau de cloração, por exemplo, os 24 diferentes compostos de PCB com 3 átomos de cloro são chamados de isômeros do grupo triclorobifenil e que também podem ser denominados por PCB 16 a PCB 39, dependendo da posição dos átomos de cloro na molécula de bifenila.

É necessário o conhecimento das propriedades físico-químicas dos PCBs para o desenvolvimento de modelos de transporte e para avaliar o movimento e destino dos PCBs em sítios contaminados. A Tabela 2.7 apresenta os parâmetros chave na modelagem do transporte de PCBs no solo e na água, que incluem o peso específico, a viscosidade e a pressão de vapor para movimento na atmosfera, sendo que esses três parâmetros são funções da temperatura.

**Tabela 2.6: Fórmula, número de congêneres, massa molecular dos diferentes isômeros de PCBs.**

<b>Fórmula Estrutural</b>	<b>Grau de Cloração</b>	<b>Nº de Congêneres</b>	<b>Nº IUPAC dos Congêneres</b>	<b>Massa Molecular (uma)</b>	<b>% Cloro</b>
$C_{12}H_9Cl$	1	3	1 - 3	188,65	18,79
$C_{12}H_8Cl_2$	2	12	4 - 15	233,1	31,77
$C_{12}H_7Cl_3$	3	24	16 - 39	257,54	41,30
$C_{12}H_6Cl_4$	4	42	40 - 81	291,99	48,56
$C_{12}H_5Cl_5$	5	46	82 - 127	326,43	54,30
$C_{12}H_4Cl_6$	6	42	128 - 169	360,88	58,93
$C_{12}H_3Cl_7$	7	24	170 - 193	395,32	62,77
$C_{12}H_2Cl_8$	8	12	194 - 205	429,77	65,98
$C_{12}H_1Cl_9$	9	3	206 - 208	464,21	68,73
$C_{12}Cl_{10}$	10	1	209	498,66	71,10

A solubilidade dos PCBs em água é extremamente baixa, também são igualmente insolúveis em glicerol e glicóis, mas podem ser solubilizados em óleos vegetais, gordura animal e por alguns solventes orgânicos - hidrocarbonetos, álcoois, ésteres e éteres. Eles se decompõem a temperaturas superiores a 300° C. A temperaturas superiores à 500° C, começam a ser produzidas pequenas quantidades de PCDD e PCDF. A Tabela 2.8 apresenta o comportamento dos PCBs em meio aquoso (METCALF, *et al*, 1988; BAIRD, 2004).

**Tabela 2.7: Propriedades de estado dos grupos de isômeros de PCBs (METCALF *et al.*, 1988).**

Grupo de Isômeros	Estado Físico	Ponto de Fusão (°C)	Ponto de Ebulição (°C)	Pressão de Vapor (Pa a 25° C)	Densidade	Viscosidade (mPas a 25°C)
Bifenila	sólido	71	256	4,9	1,0	17
Monoclorobifenila	sólido / líquido	25 – 77,9	285	1,1	1,1	20
Diclorobifenila	sólido / líquido	24,4 – 149	312	0,24	1,3	28
Triclorobifenila	sólido / líquido	28 – 87	337	0,054	1,4	56
Tetraclorobifenila	sólido / líquido	47 – 180	360	0,012	1,5	200
Pentaclorobifenila	sólido / líquido	76,5 – 124	381	$2,6 \times 10^{-3}$	1,5	$1,5 \times 10^3$
Hexaclorobifenila	sólido / líquido	77 – 150	400	$5,8 \times 10^{-4}$	1,6	$2,9 \times 10^4$
Heptaclorobifenila	sólido / líquido	122 – 149	417	$1,3 \times 10^{-4}$	1,7	$> 10^6$
Octaclorobifenila	sólido / líquido	159 – 162	432	$2,8 \times 10^{-5}$	1,7	$> 10^6$
Nonaclorobifenila	sólido / líquido	182 – 206	445	$6,3 \times 10^{-6}$	1,8	$> 10^6$
Decaclorobifenila	sólido	305,9	456	$1,4 \times 10^{-6}$	1,8	$> 10^6$

**Tabela 2.8: Propriedades ambientalmente relevantes dos grupos de isômeros de PCBs (NORSTROM, 1988).**

Grupo de Isômeros	Solubilidade em H <sub>2</sub> O a 25° C (mg / L)	Log K <sub>ow</sub>	Fator de Bioconcentração em Peixes	Taxa de Evaporação a 25° C (g/ (m <sup>2</sup> h))
Bifenila	9,3	4,3	1000	0,92
Monoclorobifenila	4,0	4,7	2500	0,25
Diclorobifenila	1,6	5,1	6300	0,065
Triclorobifenila	0,65	5,5	1,6 x 10 <sup>4</sup>	0,017
Tetraclorobifenila	0,26	5,9	4,0 x 10 <sup>4</sup>	4,2 x 10 <sup>-3</sup>
Pentaclorobifenila	0,099	6,3	1,0 x 10 <sup>5</sup>	1,0 x 10 <sup>-3</sup>
Hexaclorobifenila	0,038	6,7	2,5 x 10 <sup>5</sup>	2,5 x 10 <sup>-4</sup>
Heptaclorobifenila	0,014	7,1	6,3 x 10 <sup>5</sup>	6,2 x 10 <sup>-5</sup>
Octaclorobifenila	5,5 x 10 <sup>-3</sup>	7,5	1,6 x 10 <sup>6</sup>	1,5 x 10 <sup>-5</sup>
Nonaclorobifenila	2,0 x 10 <sup>-3</sup>	7,9	4,0 x 10 <sup>6</sup>	3,5 x 10 <sup>-6</sup>
Decaclorobifenila	7,6 x 10 <sup>-4</sup>	8,3	1,0 x 10 <sup>7</sup>	8,5 x 10 <sup>-7</sup>

### 2.3.2 ROTA DOS PCBs NO AMBIENTE

No passado, o uso de PCBs como aditivo em vários produtos, combinado com a disposição não controlada de equipamentos elétricos, resultou na contaminação maciça do meio ambiente. Segundo a Agência Americana de Proteção Ambiental (US EPA) a produção mundial de PCBs até 1980 foi da ordem de 10<sup>9</sup> Kg sendo que o destino final de 10<sup>8</sup> Kg foi o meio ambiente. Calcula-se que 10<sup>6</sup> Kg de PCBs circulam pela atmosfera anualmente.

Em termos gerais, os PCBs são compostos altamente resistentes à degradação e uma vez liberados no meio ambiente, tendem a se acumular nos organismos e também a se biomagnificar ao longo da cadeia alimentar. Por serem moléculas lipofílicas, acumulam-se nas células gordurosas dos animais. Os PCBs são ingeridos por pequenos organismos e peixes. Esses por sua vez são apanhados por outros animais que se alimentam desses organismos marinhos. Os PCBs se acumulam nos peixes e nos mamíferos marinhos, alcançando níveis que podem chegar a milhares de vezes

maiores que os da água. Como por exemplo o estudo realizado nos Grandes Lagos em 1991, mostrando que a concentração de PCBs nas gaivotas é 50000 vezes maior que no fitoplâncton da água. De maneira similar, os níveis de PCBs durante os anos 80, nos ovos do pássaro andorinha-de-Forster, em Green Bay, Wisconsin, eram cerca de 180000 vezes maior que os valores de PCBs encontrados em água (BAIRD, 2004).

Uma vez na atmosfera os PCBs podem percorrer longas distâncias e se depositarem em áreas muito longe daquela de onde foram liberados. Na água, uma pequena quantidade de PCB se dissolve mas a maior parte fica ligada à matéria orgânica e ao sedimento de fundo (BROWN e WAGNER, 1990).

### 2.3.3 EFEITOS TOXICOLÓGICOS

Os PCBs presentes no ambiente tornou-se matéria de preocupação devido ao seu impacto potencial a saúde humana, particularmente no que se refere ao crescimento e desenvolvimento. Qualquer avaliação sobre efeitos adversos dos PCBs à saúde humana deve considerar os seguintes fatores: rota de exposição, duração da exposição e composição da mistura de PCBs. Dependendo dessas variáveis os efeitos e os grupos sujeitos à exposição podem ser muito diferentes (SAFE, 1986).

Os PCBs mais tóxicos são aqueles que não têm átomos de cloro, ou apenas um, na posição *orto* aos carbonos que unem os anéis (3,3',4,4'-tetra-, 3,3',4,4',5-penta- e 3,3',4,4',5,5'-hexaclorobifenila), por assumirem a forma coplanar e por se aproximarem do estereoisômero de alta toxicidade: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo p-dioxina (TCDD). Os compostos mais ativos são substituídos nas posições *para* e *meta* em ambos anéis.

Estudos em trabalhadores que foram expostos a essa substância mostram alterações no sangue e na urina que podem indicar problemas de funcionamento do fígado. Animais que consumiram alimentos contaminados com alta concentração de PCB por um curto período de tempo, ou apresentaram problemas de fígado ou morreram. A dose letal para a maioria das espécies animais é acima de 1000 mg/kg. Os animais que consumiram alimentos com pequenas quantidades de PCB por um período de semanas ou meses, desenvolveram vários tipos de doenças, incluindo anemia, perda

de peso corporal, atrofia do baço e do timo<sup>4</sup>, enfraquecimento do sistema imunológico, problemas reprodutivos e de má formação congênita, toxicidade dérmica – cloracne<sup>5</sup>, carcinogênese, efeitos hepatotóxicos, indução de diversos sistemas enzimáticos (ex.: citocromo P 450 monooxigenase dependente), além de alterações de comportamento.

Alguns levantamentos de trabalhadores expostos a PCB foram associados a câncer de fígado e trato biliar. Ratos que ingeriram alimentos contendo altos níveis de PCB por dois anos desenvolveram câncer de fígado. A EPA e a Agência Internacional de Pesquisa de Câncer (IARC) determinaram que PCBs são prováveis agentes carcinogênicos para os seres humanos.

### 2.3.4 VALORES DE REFERÊNCIA PARA CONTAMINAÇÃO POR PCBs

A EPA determinou que a concentração máxima de PCBs em água potável é de 0,5 µg/L. O departamento americano de Administração de Alimentos e Drogas (FDA) determinou que a concentração de PCBs em alimentos como ovos, peixe, carnes e laticínios não devem ultrapassar 0,2 a 0,3 mg/kg. Segundo a Norma Holandesa o valor máximo para PCBs em águas subterrâneas é de 0,01 µg/L. Os valores para solo estão indicados na Tabela 2.9.

**Tabela 2.9: Valores referência para PCBs em solos, segundo a Norma Holandesa.**

Tipo de Solo	Concentração em peso seco (mg/kg)		
	Referência	Alerta	Intervenção
Concentração de PCBs em solo com 0% de teor de argila e 0% de matéria orgânica	0,004	0,1	0,2
Concentração de PCBs em solo com 25% de teor de argila e 10% de matéria orgânica	0,02	0,5	1,0

<sup>4</sup> Timo - glândula endócrina dos mamíferos localizadas atrás do esterno que faz parte também do sistema de maturação de células brancas do sangue, como os linfócitos T. O timo é mais importante nos fetos e crianças do que nos adultos.

<sup>5</sup> Cloracne é o efeito dos PCBs na pele, como uma grande acne que aparece por todo o corpo. É uma doença típica de pessoas que trabalham com organoclorados e que se manifestou, por exemplo, após o acidente de Cubatão em 1998.

### 2.3.5 TRATAMENTO DE ÁREAS CONTAMINADAS POR PCBs

Apesar de todas as precauções o risco de vazamento ou incêndio em um capacitor ou transformador pode ocorrer a qualquer momento, resultando em uma possível contaminação ambiental por PCBs e derivados – dibenzofurano policlorado (PCDF) e dibenzo-p-dioxina policlorada (PCDD). Conseqüentemente, aqueles que possuem equipamentos ou materiais que contenham PCBs têm a necessidade de dispor esse material. A disposição em aterros não elimina o risco de contaminação e também não é permitida para concentrações de PCBs acima de 500 mg/Kg. O reconhecimento do aumento de áreas contaminadas por PCBs, chamou a atenção de indústrias e governos na canalização de esforços nos processos de descontaminação. Segundo WADE (1988), duas perguntas básicas devem ser feitas após a constatação da contaminação:

- Qual o grau de exposição individual, e quais os riscos que ela representa como resultado da exposição?
- Qual o nível de descontaminação necessário para permitir o retorno às atividades de uso?

Os grupos envolvidos nesse processo geralmente incluem:

- Órgãos oficiais do governo;
- Partes responsáveis;
- Empresas contratadas para descontaminar; e
- Consultores.

Acredita-se que não haja migração de PCBs para áreas distantes da fonte de contaminação, devido à alta viscosidade destes compostos, os quais são altamente absorvidos por componentes calcários e matéria orgânica presentes no solo. Ainda assim, no entanto, os PCBs devem ser removidos a fim de prevenir a entrada dessas substâncias na cadeia alimentar.

Na remediação de áreas contaminadas por PCBs, usualmente são aplicadas técnicas de escavação e remoção, seguida de incineração. Outras opções como lavagem de solo ou destruição *in situ*, necessitam de aprovação do órgão regulamentador.

O tratamento *in situ* é uma alternativa à escavação, remoção e incineração. A Battelle Pacific Northwest desenvolveu o processo de vitrificação de solo para aprisionar e

destruir PCBs. Esse processo utiliza dois grandes eletrodos a 1700° C, fundindo, pirolizando e vaporizando compostos orgânicos. Os gases produzidos são coletados e o resíduo sólido fica inerte no local. Segundo GUERTIN (1988) a eficiência do processo é de 99,95%. Os processos de estabilização e confinamento são utilizados não para remediar, e sim para conter e limitar a difusão do contaminante para outros extratos não poluídos.

Dentre os processos de tratamento *ex situ*, o procedimento de incineração é atualmente o método de descontaminação e destruição de PCBs mais usado industrialmente. A combustão dos PCBs pelo oxigênio atmosférico gera basicamente ácido clorídrico gasoso. O monóxido de carbono (CO) e o óxido nitroso (NO<sub>2</sub>) também podem ser formados devido ao déficit de oxigênio (combustão incompleta) ou excesso de oxigênio (oxidando o nitrogênio atmosférico), respectivamente. Nenhum composto do tipo PCDF ou PCDD foi detectado a temperaturas acima de 1000° C.

Métodos biológicos aplicados à recuperação de áreas contamiandas por compostos organoclorados têm sido objetos de estudo desde a década de 1970, quando foram descobertas bactérias capazes de utilizar a bifenila como fonte de carbono e energia, e de degradar PCBs. A Tabela 2.9 mostra os microrganismos identificados por MIHIRI e MARSAC (1997) e DERCOVÁ *et al.* (1999) como capazes de degradar PCBs.

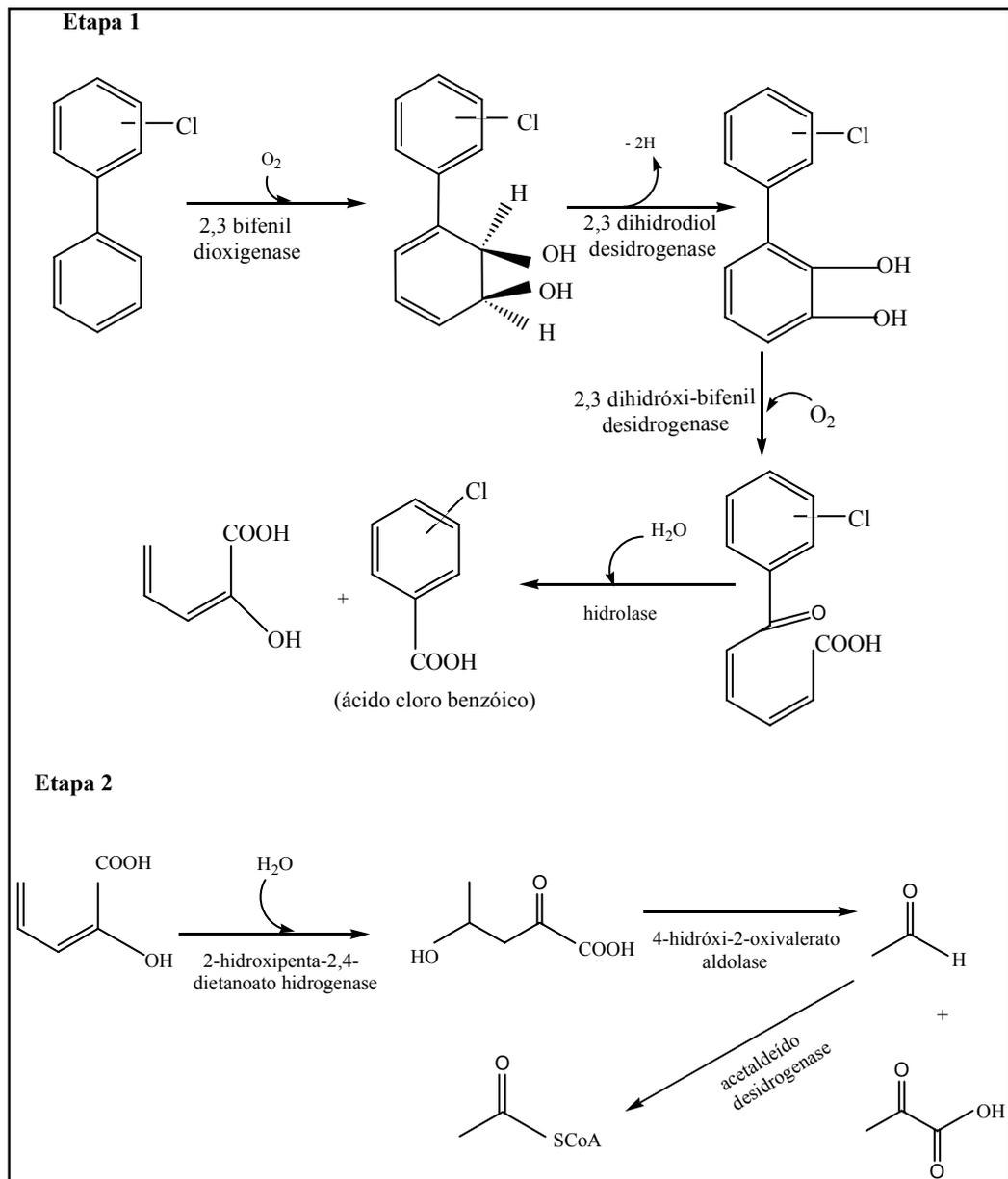
**Tabela 2.9: Lista de alguns microrganismos capazes de degradar PCBs (adaptdo de MIHIRI e MARSAC, 1997, DERCOVÁ *et al.*, 1999).**

<b>Microrganismos</b>	
<b>Bactéria</b>	<i>Achromobacter sp., Acinetobacter sp., Alcaligenes eutrophus, Alcaligenes faecalis, Arthrobacter sp., Corynebacterium sp., Pseudomonas cepacia, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas paucimobilis, Pseudomonas putida, Pseudomonas testosteroni, Rhodococcus erythropolis, Rhodococcus globerulus</i>
<b>Fungo</b>	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>

O ataque microbiano à molécula de PCB pode ser feito por via aeróbia ou anaeróbia. As diferentes enzimas das vias metabólicas necessárias à degradação são específicas

ao nível de cromossoma ou de plasmídeo<sup>6</sup>. As enzimas responsáveis pela degradação aeróbia dos PCBs são muito parecidas com as utilizadas no metabolismo de outros xenobiontes – aromáticos e clorofenóis.

A Figura 2.7 mostra que a principal via de degradação aeróbia dos PCBs por microrganismos ocorre em várias etapas.



**Figura 2.7: Degradação aeróbia de PCBs por bactérias (adaptado de SYLVESTRE, 1995).**

<sup>6</sup> Plasmídeo: elemento genético extra cromossomal presentes no núcleo de uma célula. Não essenciais à sobrevivência, mas que podem conferir vantagem seletiva às células que os apresentam (PELCZAR *et al.* 1980).

Na Etapa 1 o núcleo da bifenila vai sofrer duas oxigenações sucessivas, seguido de clivagem na posição meta. O ácido clorobenzóico formado é menos susceptível à degradação que a molécula de PCB (SYLVESTRE, 1995).

O ácido clorobenzóico que é gerado na Etapa 1, Figura 2.7, tende a se acumular dentro dos microrganismos, mas ele pode ser atacado por uma dioxigenase depois por uma desidrogenase, formando clorocatecol. A quebra do clorocatecol pode ser feita em *orto* ou *meta* produzindo, respectivamente, a mineralização do composto clorado ou a formação de um produto tóxico, como pode ser observado na Figura 2.8.

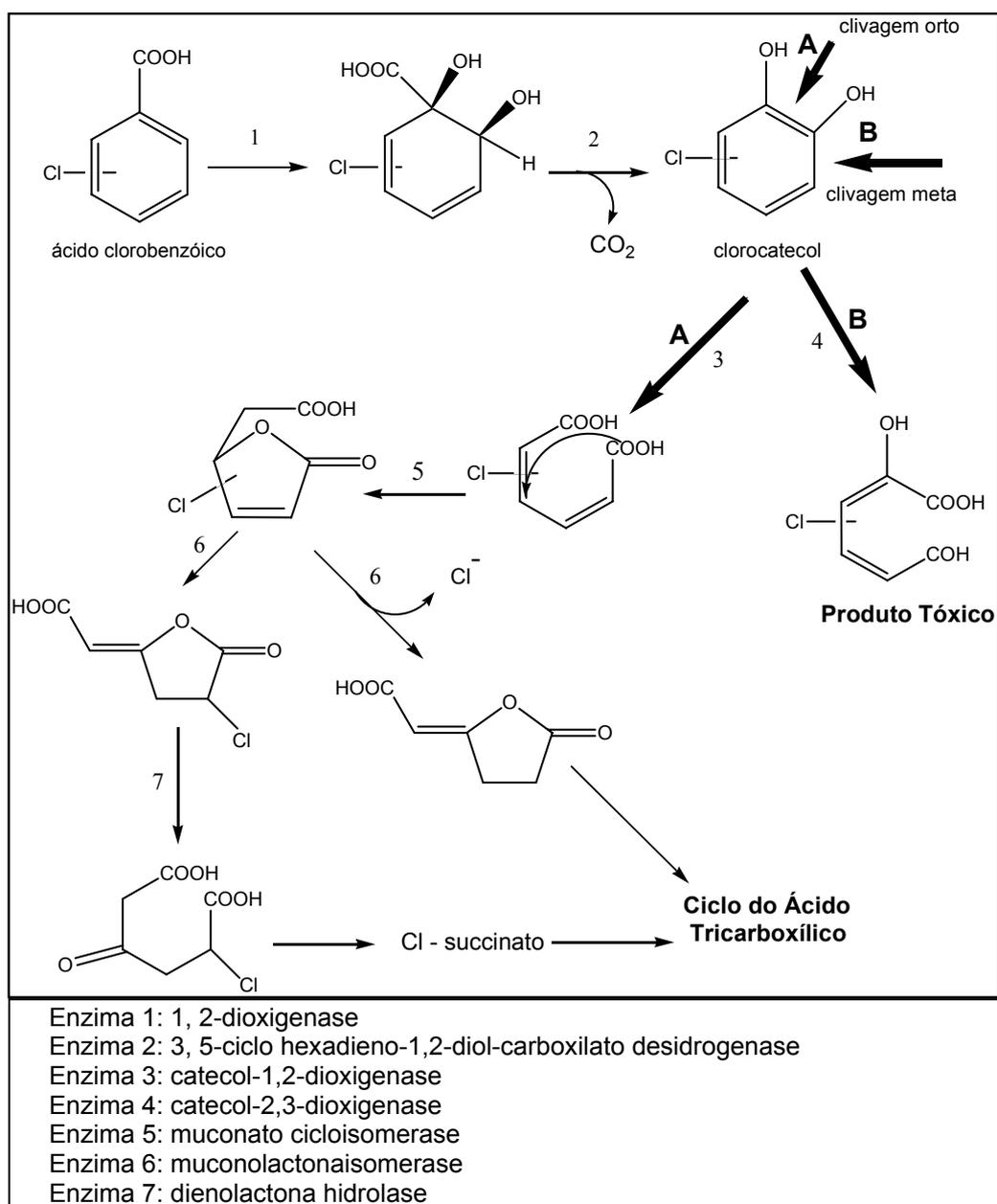


Figura 2.8: Principais vias metabólicas de degradação do ácido clorobenzóico.

O mecanismo de desalogenação redutiva por bactérias anaeróbias não é muito bem conhecido. Acredita-se que as bactérias utilizem os PCBs como aceptores de elétrons. Os elétrons são introduzidos entre as ligações C – Cl, levando à liberação do íon cloro e a adição do íon hidrogênio ao átomo de carbono. A reação pode ser escrita da seguinte forma:



Os átomos de cloro das posições *meta* e *para* são removidos preferencialmente pelas bactérias anaeróbias. Os íons  $H^+$  utilizados no processo de desalogenação são provenientes da água e não de um substrato orgânico (CHEN *et al.*, 1988; COMMANDEUR e PARSONS, 1990; MHIRI e MARSAC, 1997).

## 2.4 RESUMO DO CAPÍTULO

Neste capítulo foram apresentados contaminantes do tipo HPAs e PCBs, que se tornaram uns dos principais contaminantes ambientais devido a práticas negligentes de uso e disposição final. Ao longo de várias décadas, muitos desses compostos têm dado origem a problemas ambientais devido à sua toxicidade, persistência, hidrofobicidade e capacidade de bioacumular. Também foi abordado o comportamento e rotas desses contaminantes no ambiente, os efeitos a saúde humana e alguns processos de degradação.

### 3. TÉCNICAS DE REMEDIAÇÃO QUE UTILIZAM BIORREMEDIÇÃO E REAGENTE DE FENTON

#### 3.1 LÍQUIDOS NÃO MISCÍVEIS EM ÁGUA (NAPLs)

##### 3.1.1 COMPORTAMENTO DE NAPLs NO SOLO

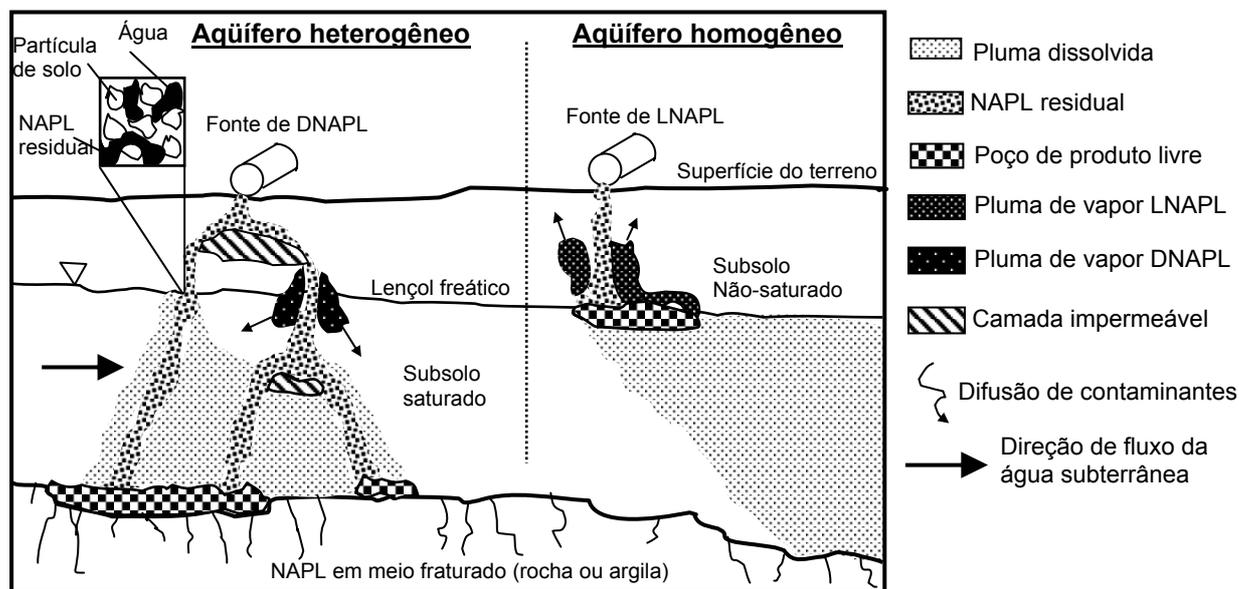
O processo de migração de contaminantes orgânicos no solo é controlado pelas propriedades físico-químicas da(s) substância(s) e pelas características do local. O solo é um sistema complexo constituído por três fases: (1) gases, (2) líquidos e (3) sólidos. Com relação aos componentes orgânicos e inorgânicos do solo, é importante ressaltar que os sólidos inorgânicos, como os argilominerais, contêm superfícies carregadas negativamente e exibem grande capacidade de troca catiônica. A matéria orgânica do solo também funciona como superfície reativa que ajuda na retenção de contaminantes orgânicos.

O tamanho e espessura dos poros, a proporção entre água e ar nos poros, são exemplos de fatores específicos que afetam a mobilidade do contaminante no solo. Dependendo das características da área e das propriedades físico-químicas do solo, os contaminantes do terreno podem estar móveis ou imóveis. Na zona não saturada, que vai da superfície até a zona saturada, a contaminação por compostos orgânicos não miscíveis em água (NAPLs) pode estar na fase vapor, dissolvidos ou na fase livre não aquosa. Já os aquíferos podem ser contaminados pelos compostos solúveis em água, que migram da zona saturada (ALLARD *et al.* 1997).

Os NAPLs podem ser divididos em duas categorias: os menos densos que a água – LNAPLs, e os mais densos que a água - DNAPLs (Figura 3.1).

Os LNAPLs migram verticalmente através do solo a partir de uma fonte superficial, por gravidade, através da zona não saturada do solo. A fase livre ou *fase móvel* do LNAPL ao atingir o lençol d'água permanece sobre a franja capilar ou flutuando sobre o nível d'água, gerando uma pluma de LNAPL. Parte dessa pluma se dissolve pelo contato permanente com a água, gerando uma pluma dissolvida na água subterrânea. Quando a quantidade de NAPL é muito pequena, todo o contaminante pode ficar retido nos poros como fase residual. Os LNAPLs não ultrapassam o nível d'água devido à sua densidade menor que a da água. Ao rebaixar-se o nível d'água, por qualquer motivo, o LNAPL sobrenadante desce junto com a superfície do lençol. Ao retornar o nível à

posição anterior, parte do LNAPL, fica retida sob a forma de gânglios, agora na zona saturada. Esses gânglios permanecem no interior do solo como *fase residual*, de difícil remoção e localização, mantendo-se como uma fonte contínua de contaminação ao se dissolverem na água subterrânea.



**Figura 3.1: Diferentes caminhos dos contaminantes orgânicos no ambiente**

Os DNAPLs ultrapassam a superfície da zona saturada e continuam migrando até encontrarem uma camada de permeabilidade muito baixa, onde permanecem sob a forma de poças (*pools*), que são regiões de alta saturação residual. Podem ainda romper a estrutura da camada de baixa permeabilidade e penetrar através de fissuras. Por esse motivo os DNAPLs atingem grandes profundidades e são de mais difícil remediação que os LNAPLs. Devido à heterogeneidade do solo, a distribuição dos DNAPLs no subsolo é irregular, o que torna sua remediação mais difícil, quando comparado aos LNAPLs (MARIZ, 2000).

Outro fator relevante para descrever o destino do composto orgânico no meio ambiente é o coeficiente de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ), que também está relacionado ao coeficiente de adsorção no solo ( $K_{oc}$ ) e ao fator de bioconcentração nas espécies aquáticas. O  $K_{ow}$  é definido como a concentração de um contaminante químico na fase octanol em relação à concentração na fase aquosa num sistema bifásico octanol/água. O composto cujo  $K_{ow}$  é menor que dez, pode ser considerado relativamente hidrofílico; isto é, ele tende a ter alta solubilidade em água, baixo coeficiente de adsorção no

sedimento, e pequeno fator de bioconcentração. O composto cujo  $K_{ow} > 4$  é considerado hidrofóbico e tende a se acumular nas superfícies orgânicas, como solo e espécies aquáticas.

### 3.1.2 TÉCNICAS DE REMEDIAÇÃO

Dependendo do tipo do contaminante, da área contaminada, e dos recursos e tecnologias disponíveis, pode-se optar pelo uso de técnicas de remediação *in situ* ou *ex situ*. A diferença básica entre esses dois processos é o local onde o contaminante vai ser tratado. A Tabela 3.1 resume e compara uma série de técnicas de remediação para compostos orgânicos na forma de piscinas ou plumas, fornecendo uma estimativa de custos. Fica evidenciado que as técnicas que envolvem processos biológicos são, em geral, as de menor custo.

São várias as técnicas de remediação existentes (SCHACKELFORD, 1999) e foge ao escopo deste trabalho a revisão destas técnicas. Serão abordadas aqui algumas das técnicas mais usadas para o caso de DNAPLs. Por exemplo, no processo de bombeamento e tratamento<sup>7</sup>, o bombeamento ocorre no local da contaminação (*in situ*), mas a remediação do material bombeado ocorre em outro local (*ex situ*).

A técnica de bombeamento e tratamento tem sido usada na limpeza da fonte ou da pluma de contaminação, a fim de evitar a migração para o lençol freático por dissolução ou dispersão. Uma contenção hidráulica para a pluma é possível através do uso do sistema de bombeamento e tratamento, mas a limpeza total da área contaminada requer longos períodos de tempo e conseqüentemente alto custo. Este tipo de técnica só é viável para solos cuja permeabilidade é maior que  $10^{-4}$  cm/s. A eficiência do processo de bombeamento e tratamento pode ser melhorada com o uso de técnicas combinadas: injeção de tensoativos, co-solvência, oxidação química e biorremediação (LANGWALDT *et al.* 2000).

---

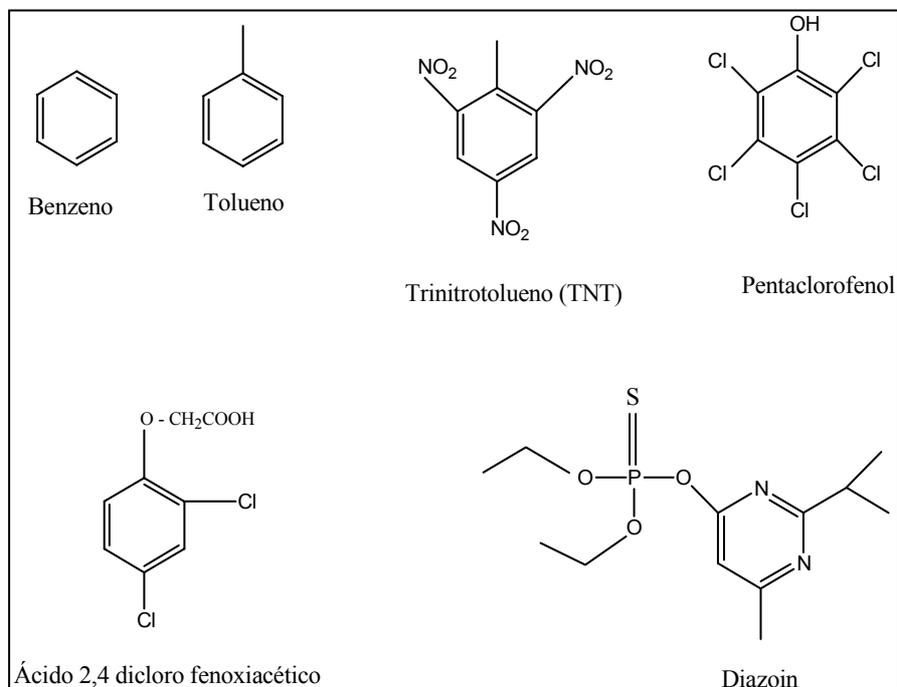
<sup>7</sup> ou *pump-and treat* - Processo de bombeamento da água de subsuperfície para a um sistema de coleta na superfície, através de sistema de poços instalados na zona saturada. O material coletado é posteriormente tratado por uma ou mais técnicas de remediação (SCHACKELFORD, 1999)

**Tabela 3.1: Tecnologias de tratamento de compostos orgânicos (adaptada de SCHACKELFORD (1999) e SEABRA (1997)).**

TECNOLOGIAS	TIPO	CATEGORIA	PROCESSO	FASES	CUSTO (US\$)
Biorremediação de solo	<i>In Situ</i>	Tratamento	Biológico	Todas	30 a 100 /m <sup>3</sup>
Biorremediação Superficial	<i>In Situ</i>	Tratamento	Biológico	Adsorvida Condensada	30 a 70/m <sup>3</sup>
Bioventilação	<i>In Situ</i>	Tratamento	Biológico	Adsorvida Livre	10 a 70/ m <sup>3</sup>
Extração de Vapor	<i>In Situ</i>	Tratamento	Físico	Adsorvida Livre	65 a 130/ m <sup>3</sup>
Atenuação Natural	<i>In Situ</i>	Tratamento	Biológico, Fís., Quím.	Todas	“zero”
<i>Landfarming</i>	<i>Ex Situ</i>	Tratamento	Biológico	Adsorvida, Vapor., Cond.	135 a 270/m <sup>3</sup>
Biopilha	<i>Ex Situ</i>	Tratamento	Biológico	Adsorvida, Vapor., Cond.	40 a 200/ton
Bio-reator	<i>Ex Situ</i>	Tratamento	Biológico	Adsorvida Vapor., Cond.	130 a 200/m <sup>3</sup>
Incineração Proc. Térmicos	<i>Ex Situ</i>	Tratamento	Térmico	Adsorvida Vapor., Cond.	200 a 1000/ton
Aterro de Cobertura	<i>Ex Situ</i>	Contenção	Disposição	Adsorvida Vapor., Cond.	25 a 30/ m <sup>2</sup>
Injeção em poços profundos	<i>Ex Situ</i>	Contenção	Disposição	Adsorvida Vapor., Cond.	
Solidificação Estabilização	<i>Ex Situ</i> <i>In Situ</i>	Tratamento	Químico Físico	Todas	170 a 340/m <sup>3</sup>
Biorremediação de aquíferos	<i>In Situ</i>	Tratamento	Biológico	Livre Dissolvida	10 a 20/m <sup>3</sup>
<i>Air Sparging</i>	<i>In Situ</i>	Tratamento	Físico	Todas	100 a 160/m <sup>3</sup>
<i>Bioslurping</i>	<i>In Situ</i>	Tratamento	Físico Biológico	Todas, exceto dissolvida	225.000/m <sup>3</sup>
Fitorremdição de comp. Orgânicos	<i>In Situ</i>	Tratamento	Biológico	Todas	30 a 50/m <sup>3</sup>
Paredes de Lama (Barreiras)	<i>In Situ</i>	Contenção	Físico	Livre Dissolvida	450 a 750/m <sup>2</sup>
Extração de 2 fases (Bomb.)	<i>In Situ</i> <i>Ex Situ</i>	Contenção Tratamento	Químico Biológico	Livre Dissolvida	85.000 a 500.000/m <sup>3</sup>
Lavagem do solo	<i>In Situ</i> <i>Ex Situ</i>	Tratamento	Físico	Adsorvida, Vapor., Cond.	100 a 160/m <sup>3</sup>

O uso das técnicas de biorremediação e de oxidação química por Reagente de Fenton no tratamento de áreas contaminadas por compostos orgânicos é bem recente (GUERIN, 2000). Conseqüentemente, existe pouca informação sobre resultados e eficiência no tratamento de poluentes/mistura de poluentes. Então os compostos orgânicos mais estudados por essas técnicas são: os hidrocarbonetos de petróleo monoaromáticos (benzeno, tolueno, xileno e etil-benzeno), explosivos (TNT), clorofenóis (PCP - pentaclorofenol), pesticidas (ácido 2,4 dicloro fenoxiacético e

diazinon) , hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs – antraceno, criseno, benzo[a]pireno) e solventes clorados (tetracloroetileno e tricloroetileno). As estruturas químicas de alguns desses compostos podem ser observadas na Figura 3.2.



**Figura 3.2: Estrutura química dos contaminantes de solo e água mais estudados.**

### 3.2 BIORREMEDIAÇÃO

A técnica de biorremediação consiste no emprego de microrganismos, com ajuda de fatores ambientais, visando a degradação de compostos tóxicos em produtos neutros que não irão agredir o meio ambiente.

A técnica de biorremediação de solo vem sendo usada há vários séculos em processos de compostagem de resíduos orgânicos, para produzir condicionadores de solo ou adubo. Desde a década de 1940 o processo de biorremediação, como técnica de degradação de contaminantes orgânicos, vem sendo usado na industria de petróleo para tratar resíduos do processo de refino.

O processo de biorremediação pode ser executado *ex situ* (i.e. land-farming, bio-pilha, bio-reactores) ou *in situ*. No processo *ex situ* o material removido (solos escavados,

efluentes, sólidos) é tratado em sistema aberto ou fechado, utilizando microrganismos na degradação do contaminante. Uma das alternativas é a disposição do solo contaminado em células ou em áreas abertas para a dispersão de nutrientes e microrganismos, além da aeração do sistema. Os principais gastos com o sistema são: escavação e remoção do material contaminado, área para disposição do solo contaminado, análises químicas periódicas para avaliação do método, eficiência do método de oxigenação do sistema.

O processo *in situ* tem como objetivo criar um ambiente favorável ao crescimento e desenvolvimento de microrganismos capazes de degradar o contaminante no local. O processo envolve projeto e instalação de sistemas de suprimento de nutrientes, microrganismos (no caso da bioaugmentação) e oxigênio (para estimular processos aeróbios) ou nitrogênio (para processos anaeróbios) em subsuperfície (MURPHY *et al.*, 1999).

A água doce e do mar, solo e efluentes domésticos possuem grande quantidade e diversidade de comunidades microbianas que demonstram capacidade de degradar moléculas xenobióticas. Embora a capacidade de degradação de um organismo ou consórcio seja necessária, a sua mera existência não é o suficiente. Além disso, as condições devem auxiliar a degradação de modo a aumentar a eficiência do processo.

Quando o tempo e as condições são favoráveis, mesmo que originalmente não exista nenhuma via metabólica, é possível degradar um composto orgânico sintético ou xenobiótico. Por outro lado, células bacterianas tendem a limitar a quantidade de códigos genéticos às necessidades presentes, mas a capacidade genética de certas bactérias é ampla e essa característica confere uma vantagem seletiva quando ocorrem mudanças nas condições ambientais, ou por conferir melhor velocidade de crescimento pela bactéria portadora, ou por transferir esse código genético as outras bactérias - através de plasmídeos (BARATHI e VASUDEVAN, 2001).

Segundo HÖHENER *et al.* (1998) existem, no mínimo, quatro vias diferentes que resultam em uma bactéria capaz de degradar um certo composto ou grupo de compostos em um determinado sítio:

1. A flora microbiana natural ser exposta à molécula xenobiótica por tempo suficiente de forma a expressar mudanças nos genes capazes de codificarem enzimas para degradação de um composto. Esse tipo de

evolução ocorre a todo o momento, mas é relativamente lenta. Como consequência, a comunidade microbiana passa a ter as vias degradativas, mas a degradação pode ser insuficiente devido ao número reduzido de células ou à baixa atividade;

2. A flora microbiana natural que está adaptada às condições locais, é exposta a moléculas xenobióticas. Com o tempo as bactérias trocam genes com capacidade degradativa com outras células bacterianas próximas. Assim, a transferência genética pode ser feita por conjugação, transdução ou transformação. Do ponto de vista da biorremediação, esse tipo de evolução é relativamente lento, mas pode ser melhorado;
3. Como o item 2, a flora microbiana natural pode ser “equipada” com a capacidade degradativa. Uma vez que o contaminante é conhecido, o grupo de genes pode ser introduzido. Se não houver nenhum gen natural, ele pode ser construído. As cepas de laboratório podem ser usadas como doadoras, tanto para transferir a capacidade para as cepas isoladas do sítio contaminado, ou por introdução de doadores no local e deixar a transferência ocorrer;
4. Uma bactéria capaz de degradar o contaminante é isolada do sítio contaminado. Contudo, a cepa precisa ser capaz de competir com a flora natural do sítio a ser remediado.

### **3.2.1 FATORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUENCIAM O PROCESSO DE BIODEGRADAÇÃO**

Mesmo que o microrganismo possua habilidade para degradar o contaminante existem muitas razões para que esse composto seja degradado lentamente ou não. Entre as razões citam-se: acceptor de elétrons, nutrientes, água, pH, temperatura e tipo de solo, os quais serão discutidos nos itens abaixo.

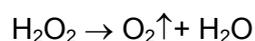
#### **3.2.1.1 ACEPTORES DE ELÉTRONS**

Na maioria dos casos, a biodegradação do contaminante depende de atividade aeróbia dos microrganismos, embora existam alguns processos que utilizem a

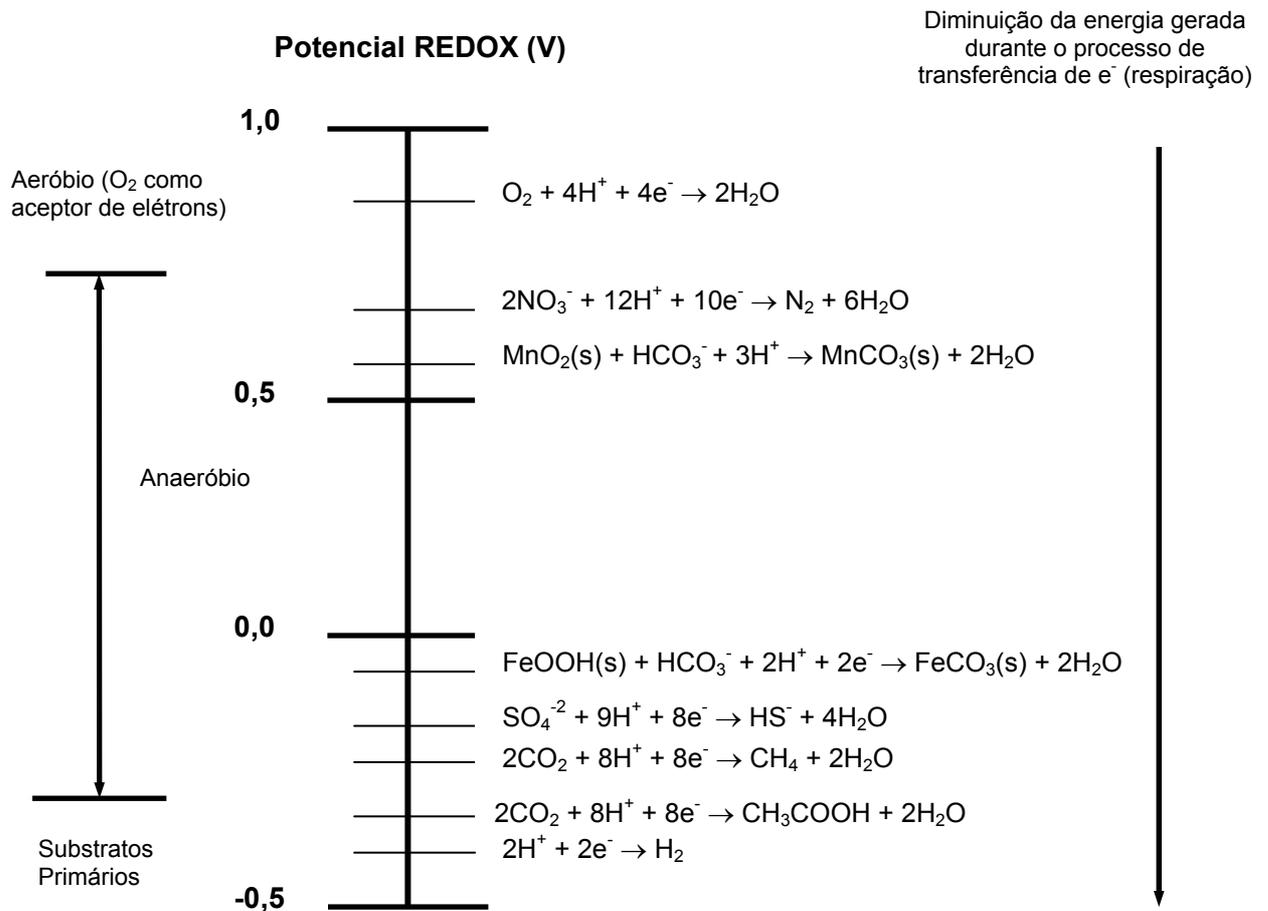
biorremediação anaeróbia. Muitas vezes, os contaminantes podem servir como doadores ou aceptores de elétrons nas reações bioquímicas redox, podendo ser parcialmente transformados ou mineralizados.

Devido a maior quantidade de energia produzida durante o processo de respiração aeróbia, o oxigênio é o aceptor de elétrons preferido, quando presente. Quando o oxigênio livre se torna limitante, os microrganismos passam a usar o oxigênio proveniente do nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e depois continuam a usar outras formas de oxigênio que estejam presentes na região ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). As formas oxidadas de ferro e manganês ( $\text{Fe}^{+3}$  e  $\text{Mn}^{+4}$ ) também podem ser utilizadas como aceptores de elétrons. As formas reduzidas de manganês e ferro ( $\text{Mn}^{+2}$  e  $\text{Fe}^{+2}$ ) são capazes de capturar o oxigênio, tornando possível o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios estritos, como os sulfato redutores e os metanogênicos (PELCKZAR, 1980). A Figura 3.3 apresenta a seqüência dos processos microbianos em função do potencial redox do meio.

Na matriz do solo, o oxigênio está presente nos vazios dos poros. O solo pode vir a ficar deficiente de oxigênio, ou anóxico, devido às dificuldades de difusão do  $\text{O}_2$ , quando os poros são preenchidos por água. Em geral, é necessário um mínimo de 10% de ar na matriz do solo, para manter a atividade aeróbia. O aumento do nível de oxigênio no solo pode ser obtido, evitando a saturação com água. Para garantir a quantidade de oxigênio necessário para manter o crescimento aeróbio, podem ser usadas técnicas de injeção de ar ou peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). O uso de peróxido é limitado, porque em concentrações acima de 100 ppm ele se torna tóxico aos microrganismos. Outro problema é que o peróxido tende a se decompor rapidamente na presença de alguns componentes do solo:



Condições anaeróbias podem ser usadas para degradar compostos clorados - tóxicos aos microrganismos aeróbios - embora a taxa de degradação seja muito baixa. Após a etapa anaeróbia, pode ser implementado o tratamento aeróbio para completar a degradação do composto parcial ou totalmente clorado, assim como outros contaminantes presentes (POLLARD *et al.*, 1994).



**Figura 3.3: Seqüência dos processos microbianos, em função do Potencial REDOX (SMITH e McVEY, 1999).**

### 3.2.1.2 NUTRIENTES

Os nutrientes necessários, em ordem decrescente, para o crescimento celular são: nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, magnésio, cálcio, manganês, ferro, zinco, cobre e elementos traço. Se os nutrientes não estão disponíveis em quantidade suficiente, a atividade microbiana ficará limitada.

O nitrogênio pode estar presente no solo sob as formas inorgânicas e orgânicas. A forma inorgânica do nitrogênio no solo inclui amônia, nitrato, nitrito e óxido nitroso. As formas orgânicas ocorrem como aminoácidos ou proteínas. Em geral, a forma preferida pelos microrganismos é a amônia. Quando outras formas de nitrogênio estão

presentes, elas são convertidas em amônia, para depois serem assimiladas. O fósforo é freqüentemente limitado devido a sua baixa solubilidade. Em solos orgânicos, o fósforo é encontrado no húmus, enquanto a fração inorgânica ocorre em várias combinações com ferro, alumínio, cálcio e flúor. Os compostos inorgânicos são normalmente pouco solúveis em água. Os fosfatos reagem com as argilas formando complexos insolúveis de complexos argilo-fosfatados. As formas mais comuns de fosfato no solo são  $(\text{H}_2\text{PO}_4)^-$  e  $(\text{HPO}_4)^{-2}$ . Em solos ácidos, o fosfato precipita na forma de fosfato de alumínio e ferro, enquanto em solos neutros ou alcalinos ele é precipitado na forma de fosfato de cálcio. De maneira geral, o fosfato é solúvel em solos cujo pH vai de 5,5 a 7,0 (ATLAS, 1981; LEAHY *et al.*, 1990).

### 3.2.1.3 ÁGUA

A água funciona como veículo de transporte no qual matéria orgânica e nutrientes atravessam a parede celular dos microrganismos e leva os sub produtos do metabolismo para fora da célula. O excesso de água pode ser limitante por inibir a passagem de oxigênio pelo solo, a não ser que se esteja querendo trabalhar com condições anaeróbias. A água está presente no solo sob três formas: livre, capilar e higroscópica. A água livre é aquela que pode se mover livremente através do solo. Ela pode deslocar o oxigênio da matriz do solo, desenvolvendo condições anóxicas. Em sítios contaminados, o movimento dessa água é o principal responsável pelo transporte de materiais para camadas inferiores de solo, podendo até chegar ao aquífero. A água capilar é aquela presente nos poros da matriz do solo quando o solo não está saturado. Essa água é a que está disponível para os microrganismos. A água higroscópica representa a água que está interagindo com a superfície da matriz do solo. Essa água é extremamente difícil de ser removida do solo e geralmente não está biologicamente disponível (KING *et al.*, 1992).

### 3.2.1.4 pH

A solubilidade dos nutrientes e a atividade microbiana estão diretamente ligadas ao pH do solo. A biodegradação de um contaminante por bactérias heterótrofas é tipicamente acelerada no pH neutro ou próximo dele. Podemos encontrar valores de pH do solo que vão desde 2.5 (áreas de mineração) a 11 (desertos alcalinos). Os valores de pH do solo, em geral, são ácidos, assim em muitos projetos de biorremediação, existe a necessidade de neutralizar a acidez do solo de modo a elevar o pH próximo à

neutralidade. A técnica mais usada para elevar o pH do solo é a adição de cal. A quantidade da cal necessária não é determinada somente pelo pH do solo. É preciso levar em consideração outros fatores como: textura, quantidade de matéria orgânica e capacidade de troca catiônica. Os dois fatores mais influenciam na diversidade microbiana, em geral, são o pH e a capacidade de tamponamento do solo.

#### **3.2.1.5 TEMPERATURA**

A atividade microbiana está diretamente relacionada com a temperatura. As taxas de reações metabólicas aumentam com aumento de temperatura, sendo que a faixa ótima se situa entre 20 e 30°C. A temperatura também está relacionada com a diminuição do contaminante pelo processo de evaporação. A solubilidade dos contaminantes aumenta com o aumento de temperatura, e a solubilidade do oxigênio diminui com o aumento de temperatura (ATLAS, 1981; SONG *et al.*, 1990).

#### **3.2.1.6 SOLO**

A textura do solo afeta a permeabilidade, a umidade, e a densidade. A textura do solo deve ser levada em consideração. Para garantir que a adição de oxigênio, a distribuição de nutrientes e que a umidade sejam mantidas de maneira efetiva. Por exemplo, solos argilosos são difíceis de aerar e resultam numa baixa concentração de oxigênio, dificultando a distribuição e homogeneização dos nutrientes. Esse tipo de solo também é capaz de reter água por longos períodos de tempo após a precipitação. Durante um longo período de chuvas a umidade do solo ficará maior que a necessária ao tratamento. Por outro lado, durante o período de seca a umidade ficará abaixo da faixa ótima para o crescimento microbiano. Em geral, a biodegradação de contaminantes no solo é otimizada quando a umidade do solo está entre 50 e 75% da capacidade de campo<sup>8</sup>. É importante enfatizar que os níveis de umidade devem estar relacionados à capacidade de campo e não ao percentual de água no solo. Se esse fato não for observado, estarão sendo utilizados níveis excessivos de água no solo, reduzindo assim, o nível de oxigênio disponível (KING *et al.*, 1992, STURMAN *et al.*, 1994).

---

<sup>8</sup> Quantidade de água remanescente no solo após a água livre ter sido drenada.

### 3.2.2 ETAPAS DO PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO

A biorremediação exerce um papel essencial na explicação da diminuição da concentração de compostos orgânicos no solo. A mineralização ou a conversão do composto orgânico em substâncias inorgânicas pode ser quase que totalmente atribuída à ação dos microrganismos. Mas também fica claro que os seguintes questionamentos devem ser respondidos antes de se optar pela biorremediação:

- Quais os compostos presentes e quais devem ser removidos?
- Que limite de concentração deve ser alcançado?
- Os microrganismos a serem usados devem ser endógenos ou exógenos?

ALLARD e NEILSON (1997) sugerem exemplos que servem como base para preparar a estratégia de execução que compreende as seguintes etapas: (1) estudos básicos de laboratório, (2) microcosmo usando material do local, e (3) avaliação do sistema em larga escala. É importante ressaltar a necessidade da interação da engenharia, da química, da microbiologia e da geologia desde o começo de todo o processo.

#### (1) Ensaio de Laboratório

Os ensaios de laboratório podem utilizar microrganismos endógenos ou exógenos. Avalia-se o potencial dos microrganismos na degradação do contaminante em estudo levando-se em consideração:

- taxa de degradação do composto e determinação dos metabólitos;
- parametrização das necessidades nutricionais (N, P, K) para o melhor desempenho dos microrganismos;
- ensaio de ecotoxicidade com os subprodutos da degradação – se houver.

Para os microrganismos exógenos é necessário estabelecer se há alguma relação de competição ou predadora por parte dos microrganismos endógenos. Essa relação pode ser estabelecida por testes de antagonismo.

## (2) Experimentos em Microcosmo

Esses experimentos devem ser preparados utilizando material coletado do sítio contaminado para simular condições aeróbias, microaerófilas e anaeróbias. Os resultados vão fornecer informação suficiente da cinética de reação, necessária à operação em larga escala. As informações mais relevantes são:

- taxa de decaimento do contaminante;
- estabilidade dos metabólitos e sua toxicidade a biota;
- determinação de algum composto persistente;
- estabilidade do sistema após operação prolongada.

## (3) Operação de Campo

Nessa etapa é essencial à avaliação de risco ambiental. Os sítios contaminados não possuem as mesmas características e nem o mesmo tipo de exposição. O tratamento individualizado dos sítios possibilita melhor alocação de recursos na remediação e maior proteção ao meio ambiente. Além disso deve-se visar à redução de riscos, pelo menos, a níveis gerenciáveis.

A participação de engenheiros e geólogos é fundamental na etapa de execução, principalmente quando se torna necessário otimizar soluções dos ensaios anteriores no campo. É aconselhável avaliar outras técnicas alternativas para aplicar no campo. Todos os problemas intrínsecos do aumento de escala deverão ser resolvidos, o que inclui: mobilidade dos microrganismos, substrato e nutrientes; transporte de oxigênio ou outro aceptor de elétron; e a estabilidade do sistema.

### 3.2.3 CASOS PRÁTICOS

Um bom exemplo da aplicação do processo de biorremediação é apresentado por DOTT (1995) - uma área contaminada por resíduo de óleo de uma antiga refinaria. Cerca 60000 t de solo estava altamente contaminado por óleo, sendo que 1000 litros de óleo estavam na fase livre sobre o lençol freático. A biorremediação do subsolo e da água subterrânea foi feita por técnicas *in situ* e *ex situ*, monitorada microbiológica e quimicamente. Foram construídas cinco pequenas áreas de teste (5 x 10 m, por 10 m

de profundidade), nas quais eram cercados por paredes impermeabilizantes de 11 m de profundidade. Cada uma dessas áreas estava equipada com poços de monitoramento e bombeamento. Na área 1 foi introduzido o  $\text{KNO}_3$  como acceptor de elétrons, na área 2 o  $\text{O}_2$  e na área 3 o  $\text{H}_2\text{O}_2$ . As outras duas áreas foram usadas como controle. Além disso, em todas as cinco áreas era injetada solução tampão contendo sais de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ . Após um ano de remediação foi possível verificar que a concentração de óleo nas áreas tratadas com  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi reduzida em 70%, enquanto a área que recebeu tratamento com  $\text{KNO}_3$  a concentração final de óleo foi à mesma que a das áreas controle. Um outro ponto observado foi à diferença no tempo de degradação do óleo em laboratório e em campo. Os resultados obtidos em laboratório em 21 dias, só foram alcançados em campo num período de 300 dias.

O processo de biorremediação vem sendo amplamente utilizado com sucesso em áreas contaminadas por HPAs. Contudo, misturas complexas de HPAs podem favorecer a degradação de compostos com menos de quatro anéis, enquanto os compostos com mais de quatro anéis permanecem no ambiente. Por esse motivo é muito importante fazer o monitoramento da concentração de todos os compostos presentes durante todo o processo de biorremediação.

FREIDIEKER *et al.* (1994) fizeram o estudo da área de uma antiga fábrica de pesticidas. Durante 30 anos de produção de pesticida (principalmente lindano<sup>9</sup> e ácido 2,4,5, triclorofenoxiacético) os subprodutos de reação eram lançados na área de aterro da fábrica, que com o tempo atingiram o aquífero. Amostras da zona não saturada apresentaram concentrações de compostos orgânicos halogenados na faixa de 1-20 g/kg de solo, enquanto na zona saturada o valor caiu para 3,1-5,5 g/kg de solo. As amostras do aquífero (9-30m) estavam contaminadas com 0,03-0,3 g/kg de solo.

Foram instalados uma planta piloto de sistema de tratamento de água e um conjunto de poços (injeção e bombeamento) sobre a área contaminada. Um poço de bombeamento foi instalado no centro da área. A água bombeada passava pelo sistema de tratamento e era reintroduzida no solo através de cinco poços de injeção instalados a uma distância de 3 m do poço de bombeamento. Vários poços de monitoramento também foram instalados. O sistema de tratamento d'água possuía dois filtros para remoção de substâncias responsáveis pela turvação assim como

---

<sup>9</sup> hexacloro ciclo hexano – HCH

precipitados de compostos de ferro na forma oxidada, um filtro biológico e um filtro de carvão ativado.

O filtro biológico funcionava como um bioreator. O filtro de carvão era responsável pela remoção de compostos que não eram degradados biologicamente. A duração da operação foi de 300 dias, sendo que fosfato foi adicionado no bioreator e em subsuperfície após 113 dias de operação, e oxigênio após 195 dias.

Ensaio prévios de laboratório mostraram que as bactérias autóctones possuíam habilidade em degradar uma série de compostos halogenados aromáticos e alifáticos.

Compostos que estavam presentes no campo em concentrações elevadas foram facilmente degradados nos ensaios de laboratório. Contudo, os resultados da biorremediação *in situ* mostraram que não houve degradação significativa dos compostos clorados, ao contrário dos resultados obtidos com o sistema de tratamento do material bombeado. Parte do contaminante removido estava adsorvida no carvão ativado, uma porção menor estava adsorvida às partículas coloidais do filtro para remoção de ferro. A maior porção do contaminante foi mineralizada no bioreator colonizado pelas bactérias autóctones. Alguns compostos foram eliminados preferencialmente, como foi o caso do 1,2,4 triclorobenzeno. Como o aquífero estava contaminado basicamente por 1,2,4 triclorobenzeno, pode-se considerar que o sistema de tratamento utilizando bateria de filtros seria efetivo.

Segundo MHIRI e MARSAC (1997) o processo biorremediação ideal para PCBs seria associar a degradação aeróbia na superfície e a degradação anaeróbia no subsolo. Conceitualmente, duas técnicas poderiam ser aplicadas:

- Estabelecer um fluxo de solvente ascendente contínuo a fim de levar os PCBs para as camadas superiores do solo para tratamento *ex situ*;
- Criar um ambiente de degradação anaeróbia no solo, injetando, por exemplo, nitrogênio gasoso para adaptar as bactérias, depois tornar a mesma área oxidante (injetando ar) e então inocular microrganismos aeróbios.

A forte resistência dos PCBs mais clorados a biodegradação constitui, atualmente, um obstáculo à implementação de um sistema de reabilitação eficaz. Existem também estratégias visando à oxidação química ou física dos PCBs mais clorados, a fim de torná-los mais biodegradáveis. Estudos recentes mostraram que o uso do Reagente

de Fenton ( $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{FeSO}_4$ ) seguido de inoculação bacteriana, aumentou em seis vezes a mineralização do composto 2,4,2',4'-tetraclorobifenil.

### 3.3 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Estratégias para controlar o avanço da contaminação em aquíferos contendo DNAPLs geralmente focam a remoção das piscinas e zonas residuais ou limitam o avanço da pluma. A completa restauração do aquífero contaminado requer a remoção da pluma e da fonte de contaminação. A aplicabilidade da tecnologia de remediação deve ser avaliada em termos de redução do risco que pode ser alcançada pela sua implementação. Se parte do DNAPL permanecer na matriz do solo após o uso da técnica o aquífero poderá continuar contaminado por tempo indeterminado, apresentando valores acima dos limites estabelecidos pela legislação. Em outras palavras, para que a redução do risco atinja níveis significativos, é necessário que seja feita a remoção quase que total da fonte de contaminação.

Dentro de um número limitado de técnicas de remediação disponíveis para solos contaminados, as técnicas de remediação *in situ* como lavagem de solo, extração por vapor, e esgotamento, são meras técnicas de separação; sendo necessário o tratamento posterior do material removido.

Técnicas de biorremediação *in situ* são normalmente utilizadas na destruição de certos compostos orgânicos, contudo, muitos contaminantes chegam a ser tóxico aos microrganismos. Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) *in situ* são técnicas que promovem o aumento da transferência de massa da fonte de contaminação pela destruição dos compostos orgânicos. Vários agentes oxidantes têm sido utilizados, dentre eles o ozônio ( $\text{O}_3$ ), peróxido ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), reagente de Fenton ( $\text{Fe}^{+2} / \text{H}_2\text{O}_2$ ) e permanganato ( $\text{MnO}_4^-$ ) (CHAMARRO *et al.*, 2001). As técnicas de oxidação utilizando reagente de Fenton, permanganato e ozônio são as que mais se destacam dentre os Processos Oxidativos Avançados.

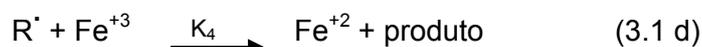
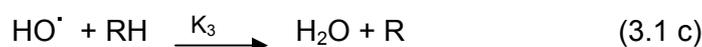
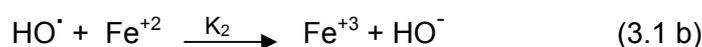
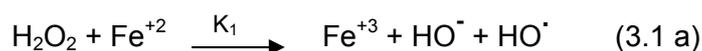
#### 3.3.1 REAGENTE DE FENTON

##### 3.3.1.1 FUNDAMENTOS

O peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) tem sido usado como agente oxidante para alguns compostos orgânicos por ser adequado a uma série de aplicações na prevenção de

contaminação. Contudo, o peróxido de hidrogênio sozinho não é um bom oxidante para a maioria das substâncias orgânicas. Em geral, a combinação do peróxido de hidrogênio com a luz UV, sais de ferro ou ozônio geram radicais hidroxila (HO•). De fato, a mistura de sais ferrosos com peróxido de hidrogênio é conhecida como Reagente de Fenton, produzindo radicais hidroxila com grande poder oxidante na degradação de contaminantes tóxicos. Além disso, o oxigênio liberado na decomposição do peróxido aumenta a capacidade de degradação dos microrganismos (LU, 2000).

Em 1894 H.J.H. Fenton relatou que íons ferrosos, na presença de peróxido de hidrogênio, promoviam a oxidação do ácido málico. Quarenta anos após a descoberta de Fenton, Merz e Waters propuseram relações estequiométricas que poderiam ser aplicadas na determinação da susceptibilidade de vários substratos ao ataque do radical hidroxila e os produtos de transformação dos seus intermediários – equações 3.1 segundo WALLING, 1975.



O radical hidroxila é gerado por uma cadeia de mecanismos, e reage de maneira rápida e não seletiva com a maioria dos compostos orgânicos pela abstração de hidrogênio ou adição a ligação insaturada C = C. No ataque a ligações C – H por radicais hidroxila, a ordem de seletividade é carbono terciário > carbono secundário > carbono primário, porém a reatividade pode aumentar com grupos doadores de elétrons (-OH, -OR, amidas), e pode diminuir com a presença de grupos eletronegativos (ácido acético, acetona, halo álcoois). O carbânion gerado pelo ataque do radical hidroxila reage com o O<sub>2</sub> para formar organo-peróxidos (ROO•) que pode se decompor, formando HO<sub>2</sub>•, ou um produto oxigenado.

Estudos sobre a oxidação de compostos aromáticos pelo método de Fenton indicam a existência de três principais grupos de intermediários chamados de: espécies aromáticas oxigenadas, produtos de acoplamento e produtos de abertura de anel. É muito importante que se faça um estudo da toxicidade dos produtos de reação, de forma a avaliar a aplicabilidade do método como tecnologia de remediação. Solos contaminados por gasolina e tratados com reagente de Fenton sugerem que os compostos aromáticos podem ser mais rapidamente oxidados que os compostos alifáticos, indicando que o método pode ser utilizado como tecnologia de degradação da fração mais tóxica da gasolina (BTEX) (LUNAR *et al.*, 2000).

Existem, porém, espécies que mostram resistência à oxidação pelo Reagente de Fenton. Essas espécies são pequenos alcanos clorados (tetracloroetano, tricloroetano), n-parafinas e ácidos carboxílicos de cadeia curta (ácido acético, oxálico, maleico e malônico). O que chama atenção nesses ácidos é que eles são produtos de oxidação típicos da fragmentação de moléculas maiores, e além disso, são metabólitos primários dos ciclos energéticos da maioria dos organismos vivos (CHAMARRO *et al.*, 2000).

Quando o processo utiliza os Reagentes de Fenton combinados com radiação UV-Visível, é chamado de reação Foto-Fenton. Esse processo é capaz de aumentar a eficiência na degradação dos compostos orgânicos devido à contínua regeneração do ferro (II) via foto-redução do ferro (III) – equação 3.2. Os comprimentos de onda mais importantes nas reações Foto-Fenton ficam entre 300 e 400 nm, sendo que as emissões solares começam em 300 nm (KRUTZLER *et al.*, 1999; NOGUEIRA e GUIMARÃES, 2000; CHEN *et al.*, 2001).



Inúmeros íons metálicos nas suas formas reduzidas ( $\text{Cu}^{+1}$ ,  $\text{Ti}^{+3}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ) também possuem características oxidantes nas reações de Fenton e por isso, a mistura desses metais com peróxido de hidrogênio é denominada de reagentes Tipo-Fenton.

A maior vantagem do processo de Fenton sobre os outros sistemas de produção de radicais hidroxila é a sua simplicidade, os reagentes são de fácil aquisição, baixo custo, e os produtos de reação não agridem o meio ambiente. Um ponto comum nos estudos de degradação de compostos tóxicos utilizando o método de Fenton é a

mineralização incompleta do composto orgânico envolvido. Como resultado, o uso da oxidação química pelo método de Fenton deve ser combinado com outro tipo de tratamento, como a biorremediação.

### 3.3.1.2 FATORES DE INFLUÊNCIA NAS REAÇÕES DE FENTON

Para o sucesso das reações de Fenton devem ser estudados os seguintes parâmetros: concentração de peróxido de hidrogênio, íons ferrosos e férricos, e o pH do sistema. A concentração de peróxido e de íons ferro vai variar em função do tipo e concentração do contaminante. Nas reações com moléculas organocloradas, o radical hidroxila ataca o anel aromático do p-cloro fenol, por exemplo, quebrando a aromaticidade e formando ácido clorídrico - como pode ser observado na Figura 3.4. Em geral, o grande problema na utilização de qualquer técnica de oxidação *in situ*, inclusive o Reagente de Fenton, reside na dificuldade de contato entre o DNAPL e o oxidante. Dessa forma, como grande quantidade de massa na forma de piscinas ou mesmo residual (gânglios), a remediação é comprometida caso não seja utilizado outra técnica para disponibilizar o DNAPL.

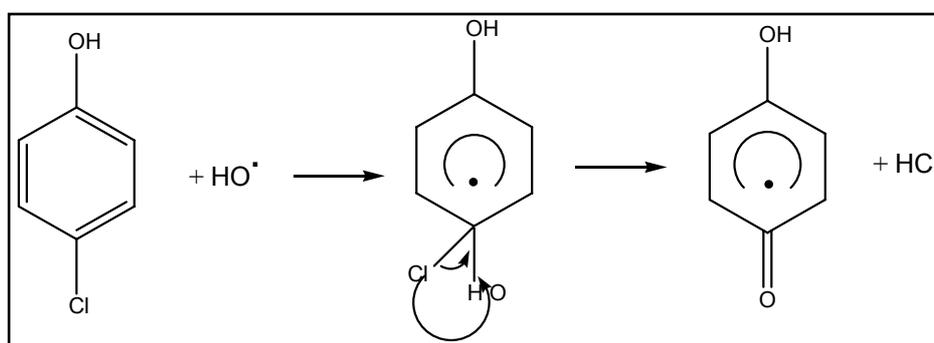


Figura 3.4: Degradação do p-clorofenol pelo radical hidroxila.

Os valores de pH influenciam na geração de radicais hidroxila e também na eficiência da oxidação. Para valores de pH acima de quatro a degradação diminui, porque o ferro precipita na forma de hidróxido. Excesso de peróxido pode provocar auto decomposição, formando água e oxigênio e a recombinação dos radicais hidroxila, por isso o peróxido deve ser adicionado a mistura numa concentração ótima a fim de alcançar as maiores taxas de degradação.

LU *et al.* (2000) observaram que o ótimo das reações ferro-catalizadas ocorre em pH 3. WATTS *et al.* (2000) demonstrou que para ambientes reduzidos contaminados com

óleo diesel, a faixa de pH entre 2 e 3 foi mais eficiente, mantendo solúveis os íons ferro. Segundo UTSET *et al.* (2000) a formação de radicais hidroxila no pH > 3 tem sido questionada, apontando a existência de complexos Fe(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como responsáveis pelo ataque de moléculas orgânicas. Em soluções ácidas, a adição a uma ligação dupla ou a extração de um hidrogênio é assumida como o primeiro passo do ataque do radical hidroxila às espécies orgânicas. GHALY *et al.* (2001) avaliaram o efeito do pH na degradação do p-clorofenol. No pH 3 houve 100% de degradação utilizando Fe(III) e 98% utilizando Fe(II), no pH 5 a taxa de degradação caiu para 74% com Fe(II) e 68% com Fe(III).

As condições de pH baixo limitam o uso dos Reagentes de Fenton na remediação de solos. Pelos resultados obtidos por WATTS *et al.* (2000), é possível tratar a fração aromática da gasolina (BTX) em pH próximo a neutralidade, viabilizando o projeto do tratamento *in situ*.

LEE *et al.* (1998) propuseram o uso do método de Fenton na remediação de solo altamente contaminado por antraceno (500 mg/kg de solo), onde o etanol é utilizado como solvente. Após o pré-tratamento do solo com reagente de Fenton, foi avaliada a habilidade dos microrganismos isolados da área contaminada, em degradarem os produtos de oxidação (principalmente a antraquinona). Os resultados do efeito do etanol como solvente no processo de oxidação podem ser observados na Tabela 3.3.

A biodegradação do antraceno segue o seguinte caminho metabólico:



Nos ensaios de laboratório utilizando as cepas isoladas da área contaminada, foi possível verificar que 90% da antraquinona foi degradada em 30 dias, sendo que apenas 30% do antraceno foi degradado no mesmo período de tempo. Essa facilidade dos microrganismos degradarem a antraquinona mostra claramente o valor da utilização do Reagente de Fenton como pré-tratamento de solos contaminados.

**Tabela 3.3: Degradação do antraceno em etanol e em água<sup>a</sup>, no processo de oxidação pelo R agente de Fenton (LEE *et al.*, 1998).**

<b>Solvente</b>	<b>Conc. Antraceno antes oxidação por Fenton (mg/l)</b>	<b>Conc. Antraceno depois oxidação por Fenton (mg/l)</b>	<b>Antraceno Degradado (%)</b>
Etanol	666,7 ± 4,5 <sup>b</sup>	> 0,1 ± 0,005	99,9
Água destilada	659,1 ± 9,2 <sup>c</sup>	587,9 ± 4,5	10,8

<sup>a</sup> 0,5M Fe<sup>+2</sup> (0,6ml) e 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,9ml)

<sup>b</sup> Antraceno totalmente dissolvido

<sup>c</sup> A maior parte do antraceno não estava dissolvida

### 3.4 COMENTÁRIOS FINAIS

Como foi citada anteriormente, a técnica de biorremediação vem sendo bastante utilizada em áreas contaminadas por hidrocarbonetos e compostos clorados. Mesmo assim, é importante observar que para cada caso é necessário que seja feito um estudo minucioso da área (i.e. tipo de solo, nutrientes, nível do lençol freático, população bacteriana) para que o resultado da aplicação seja o mais eficiente possível. Mas também deve-se ter em mente que toda técnica tem limitações e que, as vezes, é necessário lançar mão de outras tecnologias (i.e. co-solvente, oxidação química) para se alcançar os níveis de descontaminação desejados.

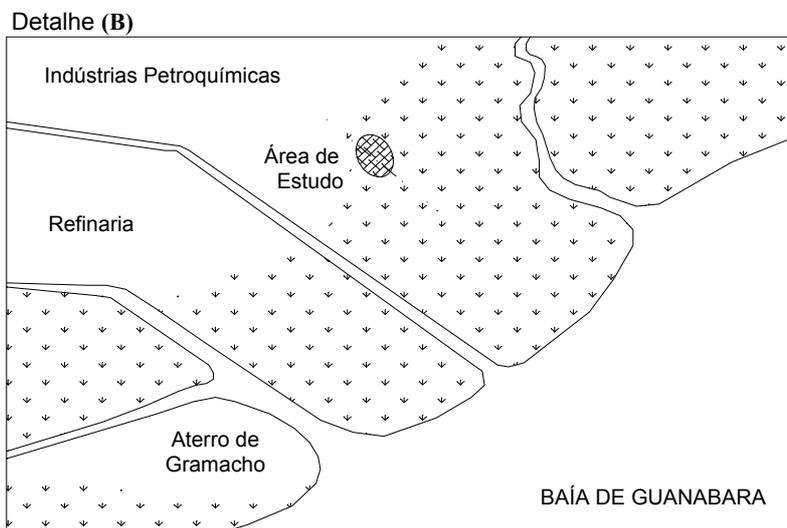
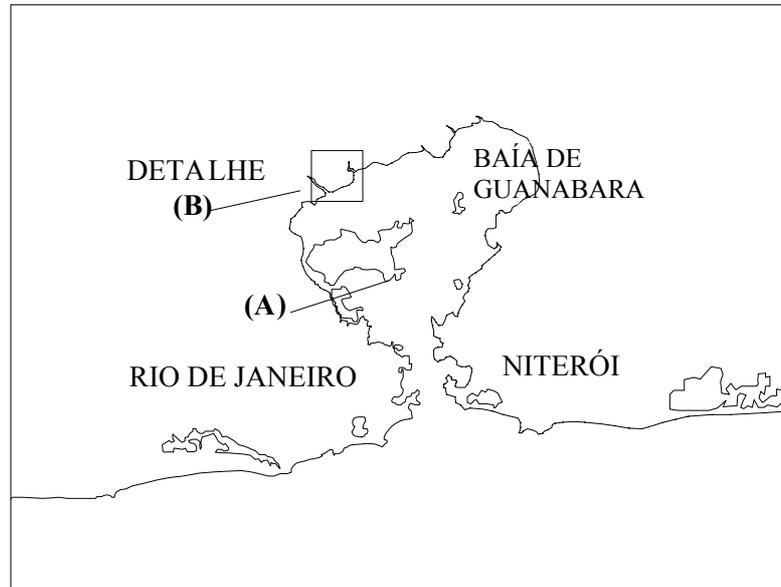
## 4. MATERIAIS E MÉTODOS I

### 4.1 DETERMINAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA

As áreas de estudo estão localizadas na Baía de Guanabara. Uma das áreas está localizada ao fundo da Baía, numa região de mangue, às margens do rio Estrela em Duque de Caxias. O local era utilizado como aterro de resíduos das indústrias que operavam ao seu redor. Segundo relato de antigos funcionários da fábrica, foram enterrados na área, denominada de “lixão”, cinco tambores metálicos contendo PCBs, de 200 L de capacidade cada. A área também recebeu grandes quantidades de subprodutos da fabricação de polímeros – entre eles hidrocarbonetos aromáticos. Foram definidos cinco pontos de amostragem denominados: PL4, PL3, PL2, 32S e 43S (Anexo 1). A retirada de amostras deformadas foi feita utilizando o equipamento GEOPROBE. Foram retiradas amostras de solo a cada metro até a profundidade de 4 m para análise de contaminação por PCB

Uma amostra composta do solo foi enviada para o laboratório da EMBRAPA Solos – RJ para determinação de teor de matéria orgânica, enxofre total, cátions trocáveis, teor de fósforo e nitrogênio pela. Análise de metais pesados na água intersticial, curva granulometria e densidade dos grãos foram executadas no Laboratório de Geotecnia, COPPE / UFRJ.

A outra área escolhida foi a Praia da Ribeira, Ilha do Governador – RJ, que recebe um aporte diário de hidrocarbonetos de petróleo (oriundos de indústrias petroquímicas e da estação das barcas) além de esgoto doméstico *in natura*. Estudos feitos por MESQUITA (1994) mostraram que três espécies de bactérias isoladas desta área, foram capazes de degradar petróleo cru em ensaios de simulação de derramamento, utilizando sedimento arenoso não saturado. A partir desses resultados optou-se por coletar amostras de sedimento da mesma região, a fim de isolar microrganismos capazes de degradar compostos orgânicos persistentes, e que pudessem ser utilizados posteriormente nos ensaios de biorremediação. Os locais de amostragem estão indicados na Figura 4.1.



**Figura 4.1:** As setas indicam os locais de coleta de amostra. (A) área do “lixão” – Duque de Caxias; (B) Praia da Ribeira, Ilha do Governador.

## 4.2 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS

As amostras de sedimento da Praia da Ribeira e área do “lixão” foram coletadas em frasco estéril e preservadas em geladeira a 4°C.

Para o isolamento dos microrganismos, foram colocados 10 g de amostra de sedimento em frasco erlenmeyer de 500 mL, contendo 100 mL de meio mineral de composição (g/L):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1,4;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,1;

CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,02; MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0,03. O pH do meio foi ajustado para 7,5. Petróleo cru foi usado como fonte de carbono, adicionado gota a gota até formação de um filme na superfície do meio. O cultivo foi incubado a 30°C, sob agitação (72 batidas por minuto), por 48h. Após crescimento dos microrganismos procedeu-se o enriquecimento, através de seis cultivos sucessivos no mesmo meio para garantir a adaptação dos microrganismos à fonte de carbono (Figura 4.2). Ao final do sexto cultivo foi retirada uma alíquota da solução, que sofreu diluições sucessivas em solução salina para posterior plaqueamento.



**Figura 4.2:** (A) representa o controle, sem adição de bactérias. (B) e (C) mostram os estágios de degradação do óleo após duas e uma semana de incubação, respectivamente.

O plaqueamento foi feito em meio específico para bactérias degradadoras de compostos aromáticos, composto por meio mineral descrito anteriormente acrescido de 2% de agar-agar. Como fonte de carbono foram utilizados cristais de naftaleno adicionados na parte interna da tampa da placa de petri. O material semeado foi incubado a 30°C por sete dias. O resultado do crescimento em placa pode ser observado na Figura 4.3.

As cepas que cresceram no meio de naftaleno foram isoladas por meio da técnica de esgotamento. A manutenção das cepas isoladas foi feita em tubo rosqueado contendo meio de cultura sólido inclinado, de mesma composição do meio usado para

isolamento, acrescido de glicose. Após o crescimento a 30°C por sete dias, foi adicionado glicerol estéril e preservados a 4°C para posterior identificação.



**Figura 4.3: Plaqueamento da amostra coletada na Ilha do Governador – RJ.**

#### **4.2.1 IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS**

As amostras isoladas foram codificadas (B<sub>1</sub> - sedimento de mangue; B<sub>2</sub> - sedimento de mangue; C - Ilha do Governador; D - Ilha do Governador; G - Ilha do Governador; H - Ilha do Governador; I - Ilha do Governador) e enviadas ao Laboratório de Entereobactérias da Fundação Oswaldo Cruz e a Fundação de Culturas Tropicais André Tosello.

#### **4.3 ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO**

##### **4.3.1 BIODEGRADAÇÃO DE HPAs**

Para a determinação do potencial de degradação de hidrocarbonetos de petróleo em função do tempo, utilizando os microrganismos isolados, foram montados sistemas aeróbios, em duplicata, em frascos erlenmeyer de 50 mL de capacidade, contendo 20 mL de meio mineral (MM) adicionado de células e aproximadamente 0,1 g de petróleo cru.

Foram feitos dois ensaios de biodegradação, um utilizando as cepas isoladas da Ilha do Governador (1º ensaio) e outro as cepas da região de mangue (2º ensaio). O tempo de duração de cada ensaio foi de 282 e 327 horas respectivamente. A incubação foi feita à temperatura ambiente sob agitação. A fim de quantificar as possíveis perdas por evaporação, foram preparados sistemas contendo apenas meio mineral e petróleo cru.

No preparo do inóculo, as células provenientes de 5 mL do cultivo, em fase exponencial de crescimento, foram separadas por centrifugação, lavadas 3 vezes com solução salina e resuspensas em 5 mL de meio mineral. Em todos os sistemas utilizou-se em torno de  $10^8$  células.

A cada 24h eram coletados dois frascos de cada ensaio para extração e quantificação dos HPAs (item 4.5.4).

#### **4.3.2 BIODEGRADAÇÃO DE PCBs**

Para a avaliação da degradação de PCBs foram montados sistemas anaeróbios para comparar a eficiência das bactérias isoladas da Praia da Ribeira e as bactérias isoladas da área do “lixão”.

Os ensaios foram feitos em duplicata, utilizando frascos de penicilina de 50 mL de capacidade, contendo 30 mL de meio redutor de composição (g/L):  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1,5;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5g;  $\text{NaNO}_3$  1,5; acetato de sódio 1,0;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,9;  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 10\text{H}_2\text{O}$  0,38;  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,1;  $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$  0,03;  $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,02; resazurina como indicador de anaerobiose 0,001; e Aroclor 1242 como fonte de carbono (0,15 g/L). Uma vez lacrado o frasco, a purga de oxigênio era feita com nitrogênio. O preparo do inóculo de células foi feito utilizando a mistura de bactérias isoladas da Praia da Ribeira (R) e a mistura de células isoladas da região de mangue (PL4). A determinação da concentração de PCB foi feita após 280 dias de incubação. A escolha do meio redutor está relacionada às condições de subsuperfície onde foi encontrada a contaminação por PCB na “área do lixão”.

Também foram feitos ensaios utilizando etanol como co-solvente na biodegradação de PCB, a fim de aumentar a solubilidade do PCB em água. Os ensaios foram montados em triplicata, de forma idêntica ao anterior, variando apenas a fonte de carbono. Nesses ensaios utilizou-se a proporção etanol/água de 0,015 e 0,075, mas manteve-

se a concentração de PCB constante (0,5 g/L). A determinação da concentração de PCB no meio foi feita com 15 e 30 dias.

#### **4.4 DEGRADAÇÃO DE PCBs UTILIZANDO REAGENTE DE FENTON**

O objetivo desses ensaios de degradação de PCBs utilizando Reagente de Fenton foi determinar a melhor proporção de  $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$  em diferentes valores de pH para degradar PCB. Foram preparadas as soluções de ferro em diferentes valores de pH (2,5; 5,5; e 6,8). Todos os ensaios foram feitos em duplicada.

Em frasco Erlenmeyer eram colocados 30 mL de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  acrescido de  $\text{FeSO}_4$  previamente pesado. Após homogeneização da solução adicionava-se PCB utilizando micro-seringa e a quantidade adicionada era conferida através da pesagem do frasco, antes e após a adição do contaminante. Em seguida adicionava-se a solução de peróxido cuidadosamente pela parede do frasco. Após 90 minutos eram feitas as análises de teor de cloreto nas amostras.

#### **4.5 DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS**

##### **4.5.1 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PCBs NAS AMOSTRAS DE SOLO**

Pesou-se 4 g, em duplicata, de cada amostra de solo úmido em um béquer pequeno e seguido de adição de sílica gel 60 (cerca de 2 gramas de sílica gel por grama de amostra). Após misturar bem com uma espátula, a mistura amostra/sílica gel foi colocada num tubo com filtro de vidro no extrator de Soxhlet. Para a extração foram utilizados 15mL de uma mistura de n-hexano/benzeno 3:1 e mais 2 mL de isooctano (P.A., Merck). Para garantir uma temperatura suficientemente alta para o refluxo, usou-se folha de alumínio como isolante. A extração durou cerca de 2 horas.

A mistura de n-hexano/benzeno foi evaporada preferencialmente usando um aparelho de destilação de Kuderna-Danish. Os últimos resíduos de benzeno foram evaporados ventilando a solução com nitrogênio puro até o volume se reduzir até cerca de 0,5 ml.

Foram colocados 7 g do agente dessulfurizante (45 g de sulfito de sódio; 5 g de hidróxido de sódio; 395 g de óxido de alumínio alcalino) numa coluna cromatográfica, que foi eluída com 15 ml. O extrato concentrado foi transferido para o topo da coluna

contendo o agente dessulfurizante, assegurando a transferência completa com cerca de 1 ml de n-hexano. O concentrado foi deixado em repouso durante cerca 15 minutos. Utilizou-se 20mL n-hexano na eluição da amostra. O eluato foi coletado em balão volumétrico de 50mL, adicionando-se 2 mL de isoctano. O volume foi completado com n-hexano.

Pipetou-se 25 mL da solução dessulfurada contida no balão de 50 mL para um frasco coletor grande. O volume foi reduzido até 0,5 mL utilizando corrente de nitrogênio. Adicionou-se 0,5 mL da solução do padrão interno octacloronaftaleno-OCN (200 µg/L) para posterior análise utilizando cromatografia gasosa (JAPENGA *et al.*, 1987).

O aparelho utilizado nas análises cromatográficas foi o cromatógrafo a gás com detector de captura de elétrons (CG-DCE) da marca Shimadzu, modelo GC-14B, fonte radioativa de <sup>63</sup>Ni, acoplado a um injetor automático Shimadzu AOC-17.

As condições de análise foram:

- Coluna capilar de sílica fundida Shimadzu CBP1 (SE-30: polidimetilsiloxana), com 25 m de comprimento; 0,25 µm de espessura de filme; ID: 0,22 mm; OD: 0,33 mm;
  - Gás de arraste: hidrogênio ultra puro (99,999%), com fluxo de 1,5 mL.min<sup>-1</sup> (purga do septo) e 15 mL.min<sup>-1</sup> no injetor;
  - Gás do detector: nitrogênio ultra puro (99,999%), com fluxo de 30 mL.min<sup>-1</sup>;
  - Injetor: 300° C, sem divisão de fluxo (*splitless* por 30 s);
  - Detector: 310° C.
- 
- Programação de temperatura do forno: iniciou a 110° C, onde permaneceu por 1 minuto. A temperatura foi aumentada até 170° C a 20° C.min<sup>-1</sup>, depois foi aumentada até 290° C a 7,5° C.min<sup>-1</sup>, sendo o tempo final da corrida de 20 minutos.

Utilizou-se o *software* Borwin 1.2 para a integração dos cromatogramas e cálculo de concentração dos PCBs. Para quantificação dos PCBs comparou-se o tempo de retenção e a área de cada composto nos cromatogramas com os de um cromatograma da solução padrão contendo os PCBs 28, 52, 101, 118, 153, 138 e 180. A concentração desses compostos foi calculada por meio de um fator de resposta (F), oriundo da solução padrão de PCBs, onde são conhecidas as concentrações de seus componentes:

$$F = ([C] \times P_{pi}) / (P_c \times [PI])$$

Onde [C]: concentração do composto na solução padrão ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ); Ppi: área do pico do padrão interno OCN; Pc: área do pico do composto e [PI]: concentração do padrão interno OCN ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ).

Posteriormente, calculou-se a concentração do composto na amostra em estudo (Ca):

$$[\text{Ca}] (\mu\text{g.L}^{-1}) = (F \times [\text{PIa}] \times V_{\text{fa}} \times \text{PCa}) / \text{Ppia}$$

onde F: fator de resposta; [PIa]: concentração do padrão interno OCN na amostra ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ); Vfa: volume final da amostra (mL); PCa: área do pico do composto na amostra; Ppia: área do pico do padrão interno OCN na amostra.

#### **4.5.2 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PCBs NOS ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO**

Ao final dos ensaios de biodegradação de PCBs as amostras foram extraídas três vezes com 10 mL de n-hexano, em funil de separação. Após extração, as amostras eram analisadas por cromatografia gasosa.

As condições para as análises cromatográficas são apresentadas no Item 4.5.1.

#### **4.5.3 CONTAGEM DE CÉLULAS**

As contagens de células foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia, do Departamento de Biologia Marinha – UFF, utilizando a técnica de epifluorescência (Parrington et al., 1993).

#### **4.5.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE HPAs NOS ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO**

Ao final dos ensaios de biodegradação de HPAs as amostras foram extraídas três vezes com 10 mL de n-hexano, em funil de separação. Após extração, as amostras eram analisadas por cromatografia líquida.

O aparelho utilizados nas análises foi o cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) com detector de UV-VIS da marca SHIMADZU modelo SPD-10A com duas bombas LC-10AT e LC-10AS.

As condições de análise foram:

- Coluna Shimadzu SHIM-PACK CLC-ODS (M), 25 cm x 4,6 mm Di, 5µm de partícula e poro de 120 Å;
- Fase móvel: solventes acetonitrila e água (80:20), com fluxo de 1,8 mL.min<sup>-1</sup> e pressão de 144 kgf;
- Comprimento de onda do detector: 250/300 nm (duas corridas por amostra).
- Amostra: injeção 'loop' de 20 µL.

Utilizou-se o *software* Borwin 1.2 para a integração dos cromatogramas e cálculo de concentração dos compostos. Para quantificação dos compostos comparou-se o tempo de retenção e a área de cada composto nos cromatogramas com os de um cromatograma de uma solução padrão de HPAs. A concentração dos compostos foi calculada por meio de um fator de resposta (F), oriundo da solução padrão de HPAs, onde são conhecidas as concentrações de seus componentes:

$$F = ([C] \times P_{pi}) / (P_c \times [PI])$$

Onde [C]: concentração do composto na solução padrão (µg.L<sup>-1</sup>); P<sub>pi</sub>: área do pico do padrão interno benzo (b) crizeno; P<sub>c</sub>: área do pico do composto e [PI]: concentração do padrão interno BBC (µg.L<sup>-1</sup>).

Posteriormente, calculou-se a concentração do composto na amostra em estudo (C<sub>a</sub>):

$$[C_a] (\mu\text{g.L}^{-1}) = (F \times [PI_a] \times V_{fa} \times P_{Ca}) / P_{pia}$$

onde F: fator de resposta; [PI<sub>a</sub>]: concentração do padrão interno BBC na amostra (µg.L<sup>-1</sup>); V<sub>fa</sub>: volume final da amostra (mL); P<sub>Ca</sub>: área do pico do composto na amostra; P<sub>pia</sub>: área do pico do padrão interno BBC na amostra.

#### 4.5.5 TEOR DE CLORETO

A determinação do teor de cloreto dos ensaios de degradação de PCB pelo Reagente de Fenton foi feita segundo o método de Skongsted et al.(1979).

Foram preparadas as seguintes soluções:

- Solução padrão de cloreto 1000 ppm: foram dissolvidos 1,618g de NaCl, seco em estufa a 180°C por 1 hora, em 1 L de água deionizada;

- Solução padrão de 10 ppm: foram dissolvidos 5 mL da solução padrão 1000 ppm de cloreto em 500 mL de água deionizada;
- Solução de sulfato férrico amoniacal: foram dissolvidos 8,28 g de  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  em 114 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado. Posteriormente a solução foi diluída para 200 mL com água deionizada;
- Solução de tiocianato de mercúrio: foram dissolvidas 0,75 g de  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ , grau reagente, em 250 mL de etanol 95%. A solução ficou sob agitação por 1 hora, seguido de filtração utilizando membrana de acetato de celulose  $0,45\mu\text{m}$ .

Foram pipetados 1 mL de cada amostra, referente aos ensaios de degradação utilizando reagente de Fenton, em balão volumétrico de 25 mL. A cada amostra foi adicionado 2 mL da solução de  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ , 2 mL da solução de  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$  e posteriormente avolumados. As leituras em espectrofotômetro foram feitas após 10 min no comprimento de onda de 460 nm. A curva de calibração de cloreto foi feita utilizando a solução padrão de cloreto em cinco diferentes diluições, além de um branco. O aparelho utilizado foi o espectrofotômetro Bausch & Lomb Spectronic 20D.

A determinação da concentração de cloreto (mg/L) foi feita utilizando a curva de calibração de absorvância x concentração de cloreto.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES DE REMEDIAÇÃO DE HPAS E PCBS

### 5.1 SOLO DA ÁREA DO LIXÃO

Das amostras de solo coletadas na área do lixão, foram feitas análises de nutrientes, micro nutrientes, metais e caracterização do solo na profundidade de 4 metros. Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 5.1. A curva de caracterização granulométrica pode ser observada na Figura 5.1.

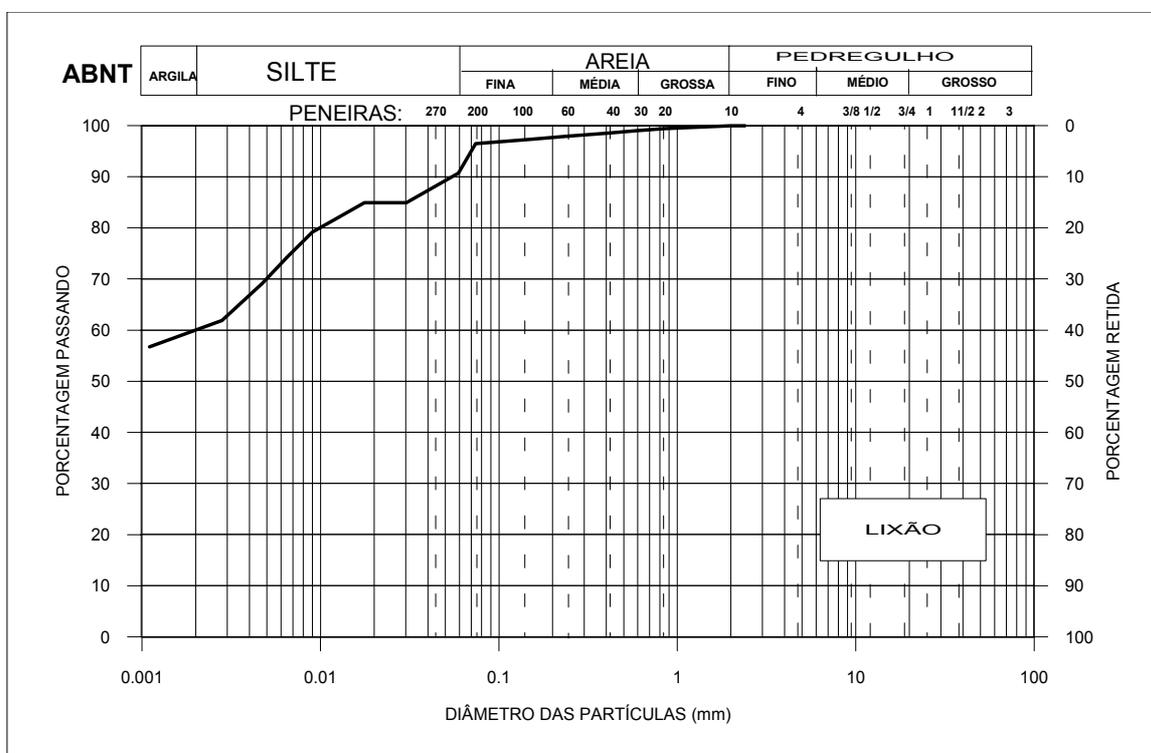


Figura 5.1: Curva granulométrica do solo amostrado na área do “lixão” a 4 metros de profundidade.

A escolha da profundidade de 4m para as análises de solo está relacionada à profundidade onde foi encontrado PCB na fase livre, como pode ser observado na Figura 5.2.

**Tabela 5.1a: Resultado das análises químicas da amostra de solo do “lixão” a 3 metros de profundidade.**

<b>Elemento</b>	<b>Concentração (mg/kg)</b>
Nitrogênio (N)	1900
Fósforo (P)	125
Potássio (K)	1287
Alumínio (Al)	0
Sódio (Na)	8855
Manganês (Mn)	8,88
Ferro (Fe)	119
Cálcio (Ca)	186
Cádmio (Cd)	1,24
Magnésio (Mg)	363

**Tabela 5.1b: Resultado das análises de caracterização da amostra de solo do “lixão” a 3 metros de profundidade.**

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>
Umidade média do solo	122,56%
pH	7,7
Matéria orgânica (ataque químico)	22%
Densidade real dos grãos	2,474

Segundo MIRANDA NETO (2002), que fez a caracterização geotécnica do solo da área do lixão, os dois primeiros metros são constituídos por uma camada de aterro argilo-arenoso, seguido de uma espessa camada de argila orgânica que vai de 2 a 8 metros de profundidade, como pode ser observado no perfil geotécnico da Figura 5.3. O valor da densidade real dos grãos abaixo do típico (2,65 a 2,70) deve-se, aparentemente, à presença de grande quantidade de matéria orgânica no solo.

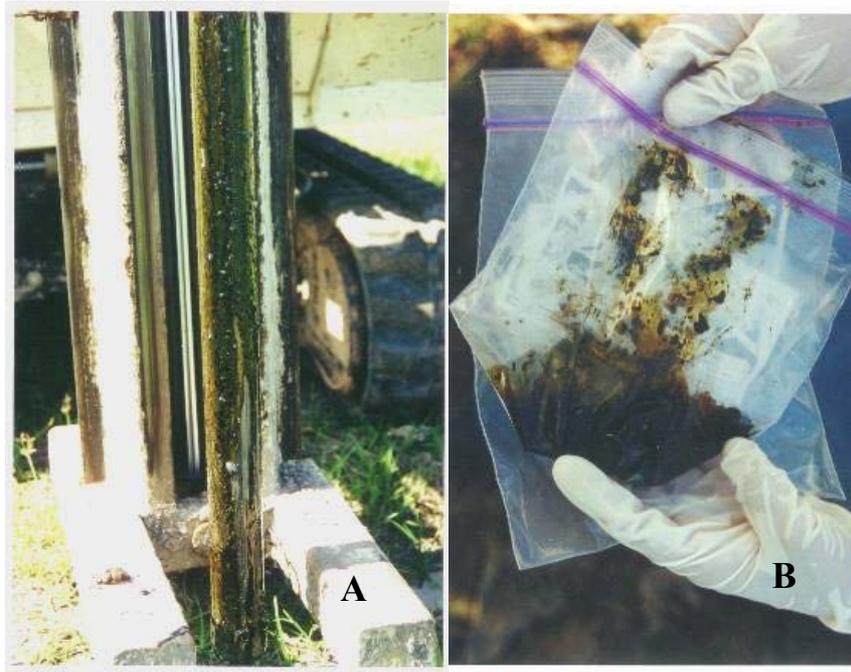


Figura 5.2: (A) ponto PL4 no momento de retirada de amostra entre 3 e 4 metros de profundidade. A haste está coberta por um líquido viscoso e brilhante. (B) líquido viscoso recolhido da haste, para análise cromatográfica.

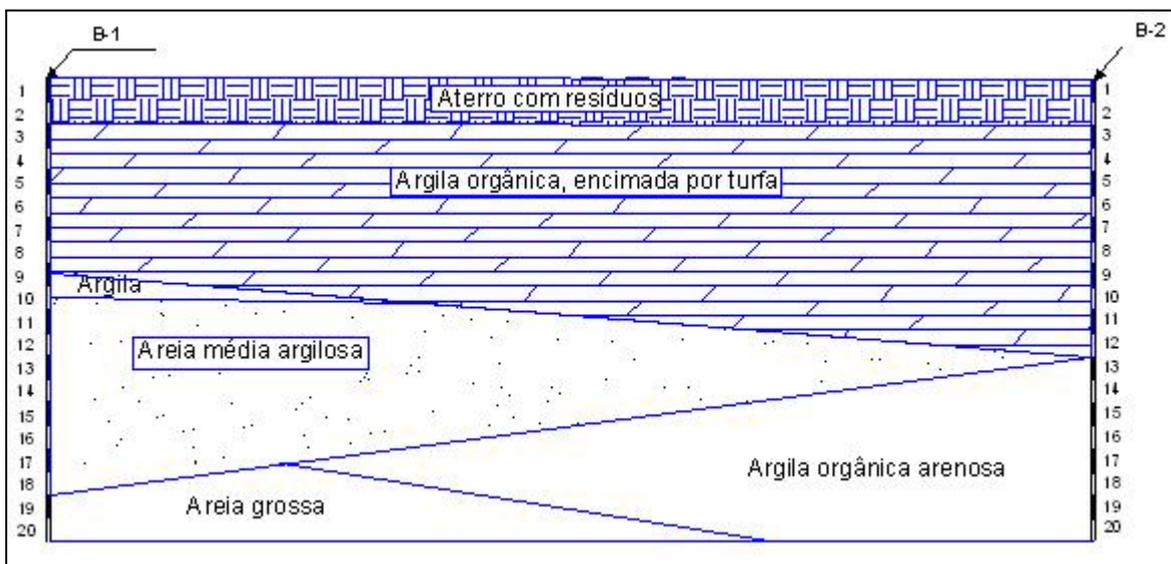
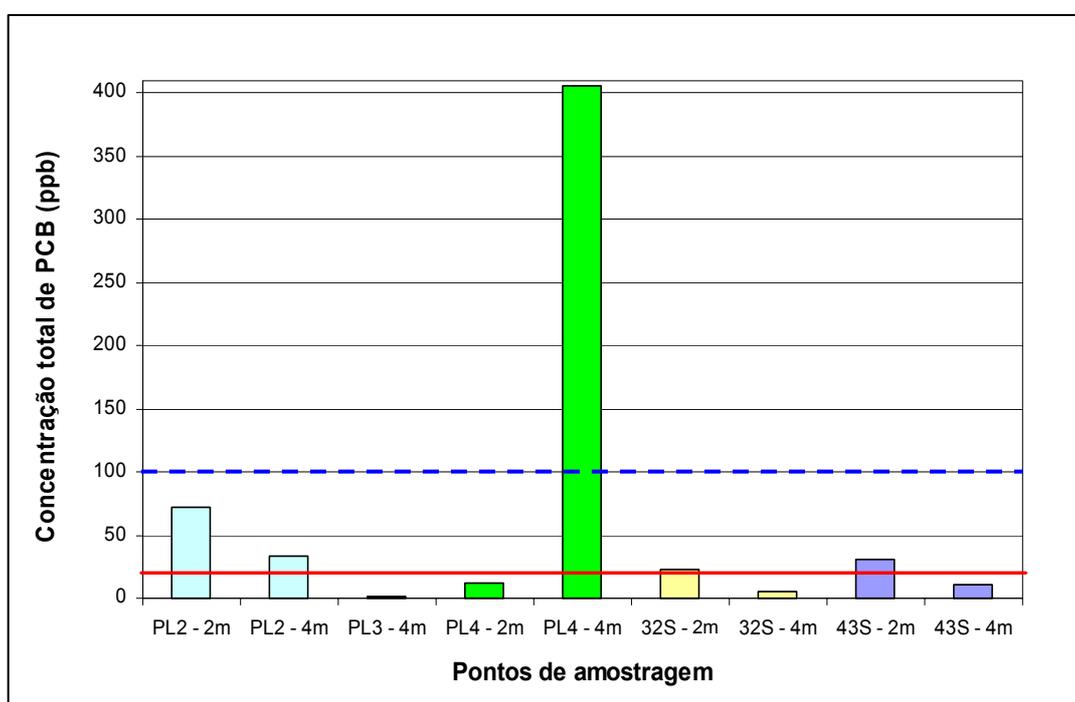


Figura 5.3: Perfil geotécnico da “área do lixão” (adaptado de Miranda Neto, 2002).

Dos cinco pontos de coleta da área do “lixão” foram feitas análises para determinar e quantificar a presença de PCBs. Os resultados das análises das concentrações dos

PCBs 28, 52, 101, 118, 153, 138 e 180 nas amostras de solo dos pontos PL2, PL3, PL4, 32S e 43S podem ser observadas no Anexol.

Pela Figura 5.4 observa-se que a maior concentração de PCBs (406 ppb) está localizada no ponto PL4. Nos pontos PL2 (2 e 4 m) e 43S (2 m) os valores de PCBs estão acima do limite de 20 ppb definidos como “limpos” pela Norma Holandesa (Tabela 2.9). Nos postos PL2, 32S e 43S os valores de PCBs são maiores nas amostras coletadas a 2 metros do que nas amostras coletadas a 4 metros de profundidade.



**Figura 5.4: Concentração total de PCBs nos pontos de coleta da área do lixão. A linha cheia representa a concentração máxima de PCBs em solo “limpo”, e a linha pontilhada representa o nível de qualidade do solo acima do qual representa riscos a saúde humana (Norma Holandesa, para solos com 25% de argila e 10% de matéria orgânica).**

Os altos teores de matéria orgânica (22%) e de argila (65%) no solo, associados à baixa solubilidade em água e a alta viscosidade dos PCBs (ver Tabela 2.8), contribuíram para o retardamento da pluma de contaminação. Os PCBs são compostos lipofílicos que se ligam a matéria orgânica do solo, por ligação covalente ou por ponte de hidrogênio, formando um sistema estável. Quanto maior o tempo de exposição do contaminante, mais estável é a ligação com o solo. Logo, o processo

predominante no aumento da zona de contaminação, é o processo de difusão (STRUMAN *et al.*, 1995). Como a argila orgânica tem baixa permeabilidade, os PCBs migram lentamente através do solo. Por esse motivo, acredita-se que a migração descendente no pacote de argila orgânica seja pouco crítica. Acredita-se que devido à composição do solo na faixa de 0 a 2 metros, argila arenosa, foi possível que a pluma de PCBs migrasse vertical e horizontalmente.

Os níveis de PCBs encontrados no ponto PL2 indicam situação de alerta (acima de 0,5 mg / kg). O ponto PL2 é o que fica mais próximo ao canal que passa pela “área do lixão” (Anexo 1), onde existe uma população de caranguejos. Atualmente esta área está sendo estudada pelo grupo do Museu Nacional / UFRJ em conjunto com o Laboratório de Radio Isótopos / UFRJ para determinar a biodiversidade das espécies de fauna, e quais espécies estão sendo afetadas pela presença de PCBs no ambiente (i.e. taxa de reprodução, tamanho dos espécimes).

Embora a maioria dos pontos amostrados esteja abaixo do limite de intervenção (1,0 mg/kg), já foi possível detectar a presença de PCBs em animais que vivem no local. Que esse fato funcione como uma alerta. É preciso que sejam tomadas medidas para remoção da fonte de PCBs e posteriormente, eliminação da pluma contaminação. Caso contrário essa fonte de contaminação permanecerá por décadas, ou até centenas de anos, se espalhando lentamente aumentando a área de contaminação. Nesse caso, a concentração e o número de espécies contaminadas aumentarão a cada nível da cadeia alimentar, até chegar ao homem.

Procurando apresentar alternativas viáveis para eliminação da contaminação de casos como esses, foram realizados ensaios de biodegradação e oxidação química de compostos como PCBs e HPAs.

## **5.2 IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS**

A primeira etapa na seleção de métodos capazes de remediar áreas contaminadas por compostos recalcitrantes consiste no isolamento de microrganismos biodegradadores de hidrocarbonetos poliaromáticos. A Praia da Ribeira é um local que recebe aporte de hidrocarbonetos de petróleo desde 1913, quando foi instalado o primeiro depósito de óleo. Com o passar dos anos, o quadro foi agravando com a instalação de outras indústrias petroquímicas, o terminal das barcas e esgoto doméstico. Todos esses fatores contribuíram para o desenvolvimento de diferentes

espécies de microrganismos capazes de degradar HPAs. Por outro lado, a presença recente de PCBs na área do “lixão” associada à alta concentração do contaminante no ponto de coleta, contribuiu para a baixa diversidade de microrganismos aptos a degradar compostos persistentes.

A Tabela 5.2 mostra o resultado dos testes de identificação dos microrganismos isolados da área do “lixão” e da Praia da Ribeira.

**Tabela 5.2: Lista de microrganismos isolados da área do “lixão” no ponto PL4 (B1 e B2) e da Praia da Ribeira (C, D, G, H, I) capazes de degradar HPAs.**

<b>Amostra</b>	<b>Gram</b>	<b>Microrganismo</b>
B1	Positivo	<i>Aneurinibacillus migulanus</i>
B2	Positivo	<i>Microbacterium</i> sp.
C	Negativo	<i>Pseudomonas vesicularis</i>
D	Negativo	<i>Achromobarter</i> sp.
G	Positivo	<i>Bacillus</i> sp.
H	Negativo	<i>Acinetobacter</i> sp.
I	Positivo	<i>Bacillus pumilus</i>

A Praia da Ribeira apresentou maior diversidade de microrganismos degradadores de HPAs que a área do “lixão”. Alguns autores (SHIARIS, 1989; SONG *et al.*, 1989; AELION *et al.*, 1991; FREDRICKSON *et al.*, 1991; LINDSTROM *et al.*, 1991; STURMAN *et al.*, 1995) relacionam a biodiversidade ao tempo de exposição do ambiente ao contaminante. Isso significa que quando um local recebe uma alta concentração de um ou mais contaminantes, há uma redução drástica no número de microrganismos. A população remanescente passou pelo processo seletivo, podendo ter capacidade de degradar o composto ou ser resistente ao mesmo. Com o tempo, esses microrganismos podem vir a incorporar genes que aumentem a sua capacidade de degradação ou de síntese de substâncias que facilitem a entrada de compostos insolúveis para dentro da célula (i.e. biosurfactantes). Também pode haver troca de informações genéticas entre diferentes espécies de microrganismos (PELCZAR *et al.*, 1980). Esse processo de adaptação é lento e contínuo.

### 5.3 ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO

No processo de degradação de compostos recalcitrantes, na maioria das vezes, um único microrganismo não é capaz de mineralizar o contaminante. Para aumentar a taxa de degradação e reduzir o tempo do contaminante no meio, devem ser usadas diferentes espécies de microrganismos, além da suplementação do meio com nutrientes e ajuste de pH (MESQUITA, 1994; KASTANEK *et al.*, 1999).

#### 5.3.1 BIODEGRADAÇÃO DE HPAs

A concentração inicial dos HPAs utilizados no 1º e no 2º ensaios estão listados na Tabela 5.3.

**Tabela 5.3: Concentração inicial dos HPAs analisados no 1º e no 2º ensaio.**

Composto						
	ANT <sup>a</sup>	FEN <sup>b</sup>	CRI <sup>c</sup>	B[b]F <sup>d</sup>	B[k]F <sup>e</sup>	B[a]P <sup>f</sup>
<b>Concentração Inicial</b>						
(µg/L)	853	3336	3435	6240	6805	3206

<sup>a</sup> antraceno, <sup>b</sup> fenantreno, <sup>c</sup> criseno, <sup>d</sup> benzo[b]fluoranteno, <sup>e</sup> benzo[k]fluoranteno, <sup>f</sup> benzo[a]pireno.

Os resultados de biodegradação de HPAs utilizando cepas da Praia da Ribeira são apresentados na Figura 5.5. Observa-se que os compostos com 3 anéis aromáticos (antraceno e fenantreno) são os primeiros a serem degradados no período de 42 horas, permanecendo estável até o final do ensaio. A partir de 50 horas verifica-se o consumo gradual dos compostos de 4 e 5 anéis, sendo a degradação do criseno (4 anéis) a mais significativa.

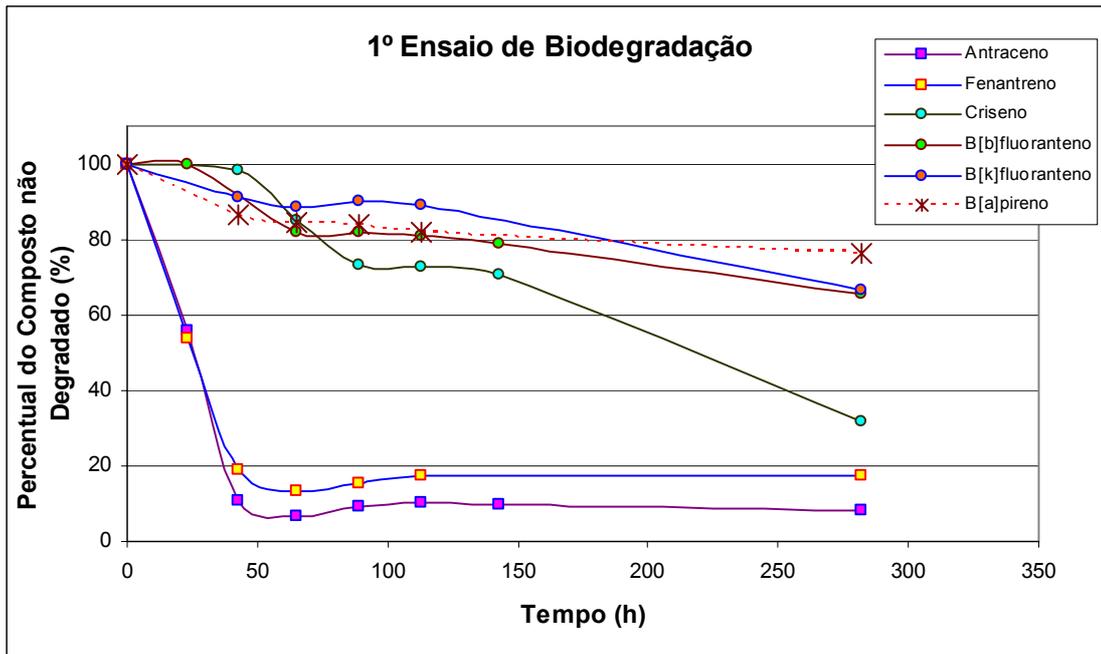
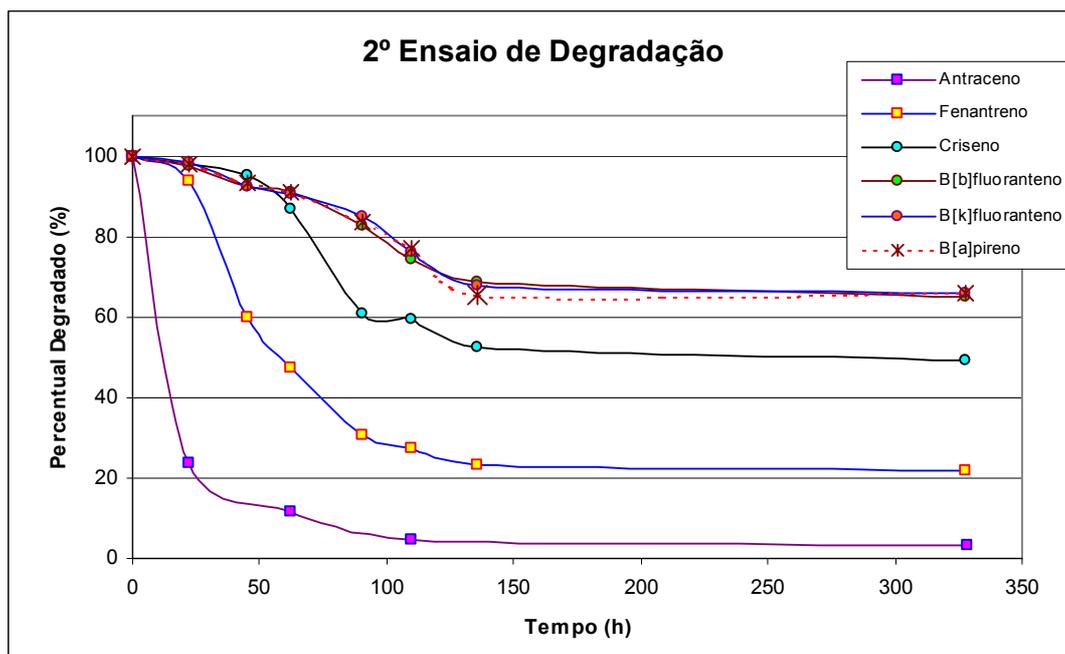


Figura 5.5: Ensaio de degradação de HPA's utilizando as cepas isoladas da Praia da Ribeira. Os símbolos □, O e \* representa os compostos com 3, 4 e 5 anéis aromáticos, respectivamente.

No 2º ensaio (Figura 5.6) percebe-se que os microrganismos consomem inicialmente o antraceno. A medida em que a abundância do antraceno reduz para 25% da concentração inicial, o fenantreno e os outros compostos de 4 e 5 anéis começam a ser consumidos.

A diferença principal no resultado dos dois ensaios é que os microrganismos da área do lixão são mais eficientes na degradação de compostos com 5 anéis, no caso, o B[a]pireno.



**Figura 5.6: Ensaio de degradação de HPAs utilizando as cepas isoladas da área do “lixão”. Os símbolos □, O e \* representa os compostos com 3, 4 e 5 anéis aromáticos, respectivamente.**

A Tabela 5.4 apresenta os resultados obtidos no 1º e no 2º ensaio, assim com os estudos de biodegradação realizados por HEITKAMP e CERNIGLIA (1989), DOTT *et al.* (1995), ALLARD e NEILSON (1997) e JUHASZ (1997) utilizando cepas de bactérias isoladas de áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo. Observa-se que a quantidade de HPAs degradados no 1º e no 2º ensaio são os mais significativos.

Segundo SHIRARIS (1989), para degradar 3,3 mg de benzo[a]pireno foram necessários 82 dias de incubação. No entanto, no 1º ensaio foram degradados 0,7 mg de benzo[a]pireno em 12 dias e 1,08 mg em 14 dias. Mostrando que a taxa de utilização do benzo[a]pireno foi maior e que os microrganismos estão adaptados aos HPAs. Acredita-se que serão alcançados melhores resultados na degradação de compostos com mais de 3 anéis aromáticos se o tempo de incubação das cepas da Praia da Ribeira e da área do “lixão” for maior. Outrossim, seria o uso de substâncias que aumentassem a biodisponibilidades desses compostos (tensoativos ou co-solventes).

**Tabela 5.4: Resultado dos ensaios de degradação de HPAs por bactérias.**

	Duração do Ensaio	% Biodegradado				HPA total
		ANT	FEN	CRI	B[a]P	
1º Ensaio	282 horas	91,8	82,5	68,4	24	-
2º Ensaio	327 horas	96,8	79	50,8	33,9	-
HEITKAMP e CERNIGLIA (1989)	336 horas	-	35	-	2	-
DOTT <i>et al.</i> (1995)	300 dias					50 a 70
ALLARD e NEILSON (1997)	1 ano	36 (i) 69 (e)	8 (i) 74 (e)	76 (i) 50 (e)	-	-
JUHASZ (1997)	63 dias	-	-	-	20 a 30	

(i) *in situ*; (e) *ex situ*

Embora a concentração final dessas substâncias no meio ainda esteja muito acima dos valores estabelecidos pela Norma Holandesa, é importante salientar que o ensaio utilizou petróleo na fase livre, situação semelhante a um derramamento. Nos casos onde os HPAs estejam em fase residuais ou dissolvidos, acredita-se que o uso desses microrganismos como técnica de remediação seja bastante eficiente.

### 5.3.2 BIODEGRADAÇÃO DE PCBs

No primeiro ensaio de biodegradação de PCBs foram utilizadas somente as bactérias isoladas da “área do lixão”, incubadas por um período de 280 dias. Os resultados estão representados na Tabela 5.5.

Segundo a taxa de degradação de cada PCB, pode-se concluir que o tempo médio para atingir os limites da Norma Holandesa seria, no mínimo, de 500 dias de incubação. Como a biodisponibilidade é o fator regulador da degradação dos contaminantes orgânicos persistentes (ALEXANDER e ALEXANDER, 2000), optou-se por adicionar um co-solvente (etanol) a fim de aumentar a solubilidade do PCB no meio. O etanol funciona como uma ponte entre a água e o PCB, dessa forma uma quantidade maior de PCB estará disponível em solução.

**Tabela 5.5: Biodegradação de PCBs utilizando cepas isoladas da “área do lixão” após 280 dias de incubação. Concentração inicial de 150 mg/L de Aroclor 1242.**

<b>PCB</b>	<b>Taxa de degradação (ng.mL<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>)</b>	<b>Total biodegradado (%)</b>
28	0,3005	40,32
52	0,1315	35,38
101	0,0359	29,42
118	0,0245	28,64
153	0,0190	27,80
138	0,0111	26,71
180	0,0006	21,62

Utilizando duas proporções diferentes de etanol em água (0,013 e 0,066) realizou-se ensaios de biodegradação com as cepas da Praia da Ribeira e da “área do lixão”, durante 30 dias. Procurou-se assim, avaliar a influência da concentração do co-solvente no processo de degradação. A Tabela 5.6 mostra como o etanol exerce influência favorável à degradação dos PCBs.

*- Ensaios com as cepas da “área do lixão”*

Comparando as taxas de degradação entre o ensaio sem adição de etanol com os ensaios utilizando etanol nas proporções de 0,013 e 0,066, observa-se que houve aumento significativo em quase todas as taxas exceto para o PCB 28. Acredita-se que como os PCBs com maior número de átomos de cloro se tornam mais solúveis, não há ataque preferencial ao PCB que é mais solúvel (no caso o PCB 28 com 2 átomos de cloro) e mais fácil degradação.

*- Ensaios com as cepas da Praia da Ribeira*

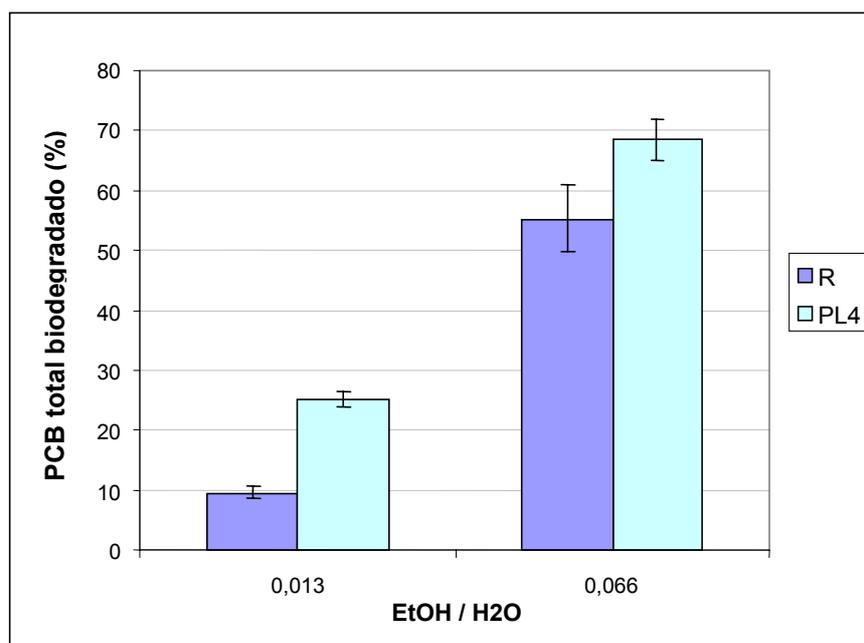
Como não foi feito ensaio prévio de degradação de PCBs sem adição de etanol, comparou-se somente a diferença entre as taxas de degradação. Observou-se que o aumento da concentração de etanol no meio elevou a taxa de degradação dos PCBs em até 8,7 vezes.

**Tabela 5.6: Comparação entre as taxas de degradação dos PCBs utilizando as cepas da “área do lixão” (PL4) e da Praia da Ribeira (R) utilizando proporções de etanol em água de 0,013 e 0,066. Os ensaios foram realizados em 30 dias.**

PCB	Taxa de degradação EtOH / H <sub>2</sub> O 0,013 (ng.mL <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )		Taxa de degradação EtOH / H <sub>2</sub> O 0,066 (ng.mL <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	
	PL4	R	PL4	R
<b>28</b>	0,2712	0,1668	2,1827	1,6876
<b>52</b>	0,1708	0,1424	1,2207	0,8987
<b>101</b>	0,1893	0,0715	0,8683	0,6234
<b>118</b>	0,1313	0,0374	0,6714	0,4938
<b>153</b>	0,1266	0,0369	0,5563	0,3948
<b>138</b>	0,0953	0,0268	0,3397	0,2352
<b>180</b>	0,0072	0,0081	0,0284	0,0246

As cepas da “área do lixão” mostraram ser mais eficiente na degradação de PCBs do que as cepas da Praia da Ribeira, provavelmente por terem sido isoladas de uma região contaminada por esse tipo de composto. Fato esse que pode ser explicado pela exposição desses microrganismos à molécula de PCB por tempo suficiente de forma a expressar mudanças nos genes capazes de codificarem enzimas para degradação. Entretanto, o aumento na concentração de etanol no meio exerce efeito maior na taxa de degradação das cepas isoladas da Praia da Ribeira que as das cepas de “área do lixão”. O resultado das análises de degradação de PCB totais está representado na Figura 5.7.

SYLVESTRE (1995) realizou ensaios de biodegradação de Aroclor 1242, utilizando um inóculo contendo a bactéria *Comomonas testosteroni* B-356 mais o biosurfactante produzido pela bactéria *Acinetobacter faecalis*. O resultados dos ensaios mostraram que o uso de um biosurfactante, que promove a solubilização do PCB no meio, e de uma bactéria especializada na degradação de PCBs, foram suficientes para, em 22 dias de incubação, degradar 28% do PCB total em solução. Valor semelhante foi alcançado utilizando as cepas PL4 no ensaio utilizando etanol como co-solvente, na proporção de 0,013.



**Figura 5.7: Comparação dos processos de biodegradação de PCB (Aroclor 1242) pelas bactérias isoladas da Praia da Ribeira e área do “lixão”, utilizando diferentes proporções de etanol/água. R e PL4 representam os ensaios utilizando as cepas da Praia da Ribeira e “área do lixão”, respectivamente. Os ensaios foram realizados em 30 dias.**

KASTANEK *et al.* (1999) realizou ensaio de biodegradação de um solo contaminado por PCBs na concentração de 590 mg/kg de solo seco. Para o ensaio foi utilizado um bioreator de 15 m<sup>3</sup> de capacidade, onde foram mantidas condições de metanogênese<sup>10</sup>. O meio de cultura continha sulfato de amônia, cuja finalidade era a de reduzir a tensão interfacial entre o PCB e água para 5 mN/m, e um co-substrato para ativar o processo de decloração. Após 30 dias foi quantificado o percentual de PCB degradado. Na Tabela 5.7 são confrontados os resultados obtidos por Kastanek *et al.* e os ensaios utilizando etanol como co-solvente a 0,066. Verifica-se que o uso do sulfato de amônia, mais o indutor metabólico produzem um resultado semelhante aos resultados obtidos nos ensaios utilizando etanol como co-solvente. Fica evidenciado que para a degradação de PCBs é fundamental o uso de uma substância que aumente a solubilidade do composto em água.

<sup>10</sup> Condição anaeróbia onde há formação de CH<sub>4</sub> a partir de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>.

**Tabela 5.7: Comparação dos resultados obtidos por KASTANEK et al. (1999) e os ensaio de degradação utilizando etanol como co-solvente na proporção de 0,066. Todos os ensaios tiveram duração de 30 dias.**

PCB	% Degradado	% Degradado	% Degradado
	KASTANEK et al. (1999)	R	PL4
28	60,4	49,1	63,4
52	54,0	47,9	65,0
101	49,0	50,4	70,1
118	54,4	53,6	72,9
153	46,0	51,5	72,6
138	50,0	49,7	71,7
180	30,0	58,1	67,0

Todos esses resultados mostram como é importante a disponibilização do PCB para os microrganismos. Assim como o biosurfactante produzido pela bactéria *A. faecalis*, o sulfato de amônia e o etanol também realizaram esse papel nos ensaios citados anteriormente. Contudo, os resultados dos ensaios onde o etanol foi usado como co-solvente, são bastante promissores. Porém, não se pode esquecer da importância da seleção dos microrganismos que servirão como inóculo no processo de degradação. As cepas oriundas de áreas contaminadas por PCB mostraram uma maior taxa de degradação. Pode-se então concluir que o uso das cepas PL4 mais a adição de etanol no meio, na proporção de 0,066/1, mostrou-se mais eficiente no processo de degradação de PCBs.

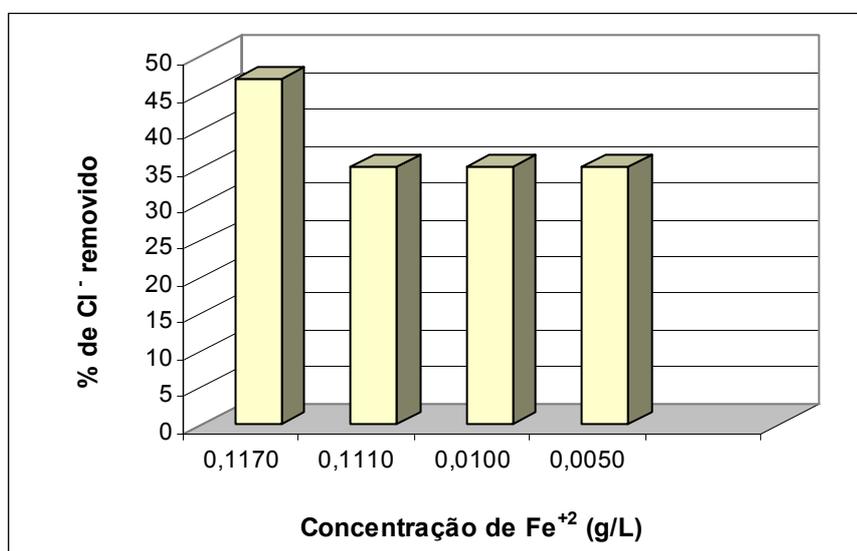
#### **5.4 DEGRADAÇÃO DE PCBs UTILIZANDO REAGENTE DE FENTON**

O Reagente de Fenton poderia ser utilizado como um meio de acelerar a decomposição dos PCBs antes de lançar mão da degradação microbiana. Foram feitos ensaios a fim de avaliar qual proporção entre os íons ferro, peróxido de hidrogênio e pH, seria a mais eficiente na remoção dos átomos de cloro presentes nas moléculas de PCBs.

No primeiro ensaio de degradação de PCB por Reagente de Fenton (FEN1), as concentrações de PCB e de peróxido foram mantidas constantes em todos os ensaios, 60 mg/L e 0,40 g/l, respectivamente. O pH inicial do meio foi ajustado para 2,5, variando-se somente a concentração de ferro no meio. Observando a Figura 5.8

percebe-se que abaixo da concentração de 0,117 g/L de íons ferro, não houve alteração na eficiência de remoção de cloro, mantendo-se constante em 35%.

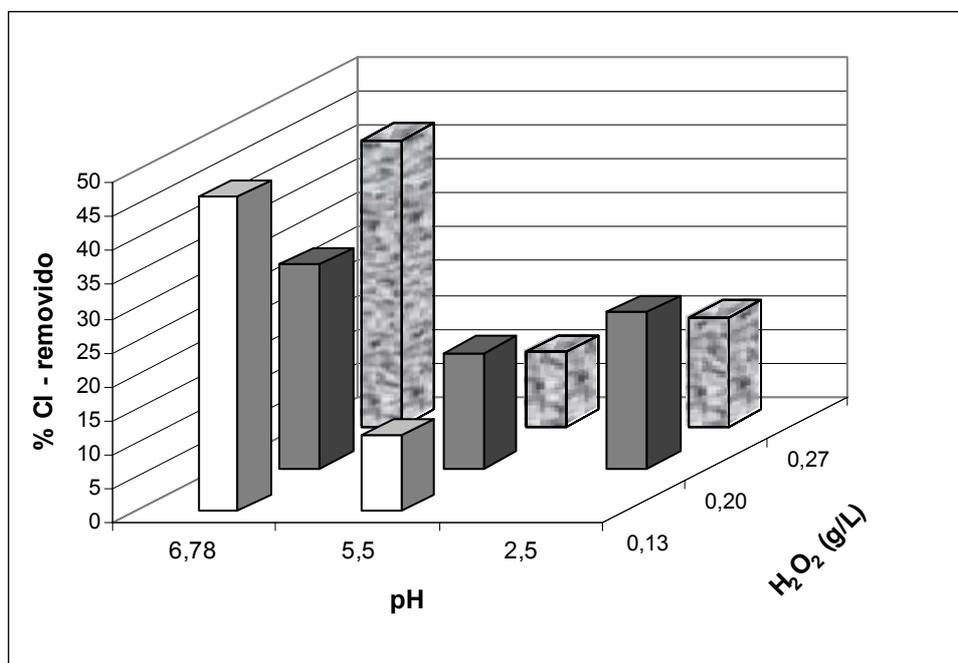
Ainda que o melhor resultado tenha sido obtido utilizando íon ferro na concentração de 0,117g/L, optou-se por trabalhar a uma concentração mais baixa, já que a legislação determina que a concentração de ferro em águas subterrâneas seja 300 µg/L (CETESB, 2001). Nessa nova série de ensaios, manteve-se a concentração de ferro constante (5 mg/L) e variou-se o pH e a concentração de peróxido de hidrogênio. Como a idéia inicial era usar o Reagente de Fenton *in situ*, torna-se importante verificar se a reação ocorreria em pH acima de 2,5, além de trabalhar na menor concentração de ferro e peróxido de hidrogênio para que o custo do processo seja o menor possível.



**Figura 5.8: Ensaio de degradação de PCB (Aroclor 1242) utilizando Reagente de Fenton (FEN1). O pH inicial da solução 2,5 e concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 0,40 g/L.**

A Figura 5.9 apresenta o resultado dos ensaios de degradação de PCB utilizando Reagente de Fenton. As maiores quantidades de cloro removidas ocorreram na faixa de pH de 6,78 (pH da água deionizada). Na concentração de 0,13 g/L de peróxido a pH 6,78 foi removida a maior quantidade de cloro da estrutura dos PCBs (46%). Com base nesses resultados, pode-se afirmar que a melhor proporção de íon ferro / peróxido de hidrogênio é de 0,09 mM de ferro para 3,8 mM de peróxido, em pH 6,78. É importante ressaltar que ao final da reação, para todas as proporções de íons ferro e

peróxido, o pH do meio baixou para 1. Além disso, a reação é bastante violenta e exotérmica.



**Figura 5.9: Ensaio de degradação de PCB (Aroclor 1242) utilizando Reagente de Fenton, utilizando diferentes concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e variando o pH. Concentração inicial de íon ferro de 0,005 g/L.**

Muitos dos trabalhos visam a total degradação da molécula, outros visam apenas à remoção do átomo de cloro da molécula. KRUTZLER *et al.* (1999) sugere a proporção de 0,75 mM Fe / 45 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na degradação da molécula de cloro fenol. No trabalho realizado por UTSET *et al.* (2000), foram utilizadas as proporções de 0,36 mM Fe / 1,4 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na degradação de anilina. ENGWALL *et al.* (1998) conduziu ensaios de laboratório para degradar pentaclorofenol, utilizando a proporção de 10 mM Fe / 50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Outros autores (NOGUEIRA e GUIMARÃES, 1999; LUNAR *et al.*, 2000; SABBI e KIWI, 2000; MOHAMADIN, 2001; NAM *et al.*, 2001) mencionam diferentes proporções para outros tipos de contaminantes. Fica claro, que para cada tipo de contaminante existe uma proporção ideal de Fe / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Os resultados obtidos nos presentes ensaios, sugerem que o Reagente de Fenton pode vir a ser usado como um pré-tratamento de áreas contaminadas por PCBs. Melhores resultados poderão ser obtidos caso a técnica de biorremediação seja

aplicada em seguida, pois a redução do número de cloros das moléculas de PCB irá contribuir para o aumento da taxa de degradação e, conseqüentemente, diminuir o tempo de tratamento. Entretanto, após a reação de Fenton torna-se necessária a correção do pH do meio para um valor próximo a neutralidade, uma vez que o pH 1,0 não é favorável ao crescimento de bactérias heterotróficas.

## 5.5 CONCLUSÕES PARCIAIS

Os resultados acima apresentados indicam que os microrganismos especializados auxiliam no processo de degradação de HPAs. Contudo, a taxa de degradação de compostos aromáticos com mais de cinco anéis é bastante lenta ( $0,08 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ ) se comparado à dos compostos de três anéis aromáticos ( $0,19 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ ). Em casos onde a presença de compostos de mais de cinco anéis for predominante deve-se calcular o tempo de aplicação da técnica de biorremediação em função desses compostos ou utilizar uma substância capaz de aumentar a solubilidade dos mesmos.

Situação semelhante foi observada na biodegradação de PCBs, onde o aumento do número de cloros na molécula de bifenila diminui a taxa de degradação do composto. O uso de etanol como co-solvente, aumentou a taxa de degradação assim como diminuiu a diferença entre elas, mostrando a importância da biodisponibilidade do contaminante no processo de biorremediação.

O Reagente de Fenton pode vir a ser usado como pré-tratamento de áreas contaminadas por PCBs, porém são necessários alguns cuidados para que o resultado do tratamento não seja desfavorável. A remoção de átomos de cloro da molécula de PCB favorece a degradação (Tabela 5.7). Porém é necessário ajustar o pH do meio para valores próximos da neutralidade, de forma a favorecer o crescimento microbiano heterótrofo.

Devido à concentração de ferro do solo da “área do lixão” estar em torno de 119 mg/kg, poderiam ser feitos outros ensaios utilizando o próprio solo da “área do lixão” como fonte de ferro para os ensaios de degradação de PCB por Reagente de Fenton.

# PARTE II

## 6. TETRACLOROETILENO

### 6.1 INTRODUÇÃO

Em 1870 o benzeno passou a ser usado nas lavanderias de lava à seco na Europa e Estados Unidos como solvente nas máquinas de limpeza. Mais tarde descobriram que a gasolina pura possuía melhor ação no processo de remoção de sujeira, além de ser mais barata e de fácil aquisição. Contudo a gasolina, assim como o benzeno, deixava um forte odor nas roupas além de provocarem freqüentemente combustão e explosões. Em 1940 o tetracloreto de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) e o tricloroetileno ( $\text{C}_2\text{HCl}_3$ ) substituíram o benzeno e a gasolina, as máquinas de limpeza funcionavam perfeitamente com os solventes clorados não inflamáveis. Após a Segunda Grande Guerra o tetracloroetileno passou a ser o solvente mais utilizado na lavagem a seco (LOHMAN, 2002).

A primeira síntese do tetracloroetileno (PCE) foi feita em 1821 mas somente em 1925 foi produzido comercialmente nos Estados Unidos. A produção anual cresceu rapidamente, passando de 500 toneladas em 1941 para 340000 toneladas em 1980. Entre 1980 e 1993 a produção de percloroetileno caiu mais de 60%. Entre 1996 e 1999 a produção voltou a crescer, passando de 125000 para 142000 toneladas. A demanda projetada para 2003 é de 152000 toneladas (10º Relatório de Substâncias Carcinogênicas – EPA 2003). No ano de 2000 foram produzidas 950000 toneladas de PCE, das quais 290000 toneladas foram consumidas pela Comunidade Européia. Existem três grandes companhias que produzem PCE nos Estados Unidos (Dow Chemical, PPG Industries e Vulcan Chemicals), na Europa os principais produtores são a Basf e Bayer AG (Alemanha), Enichem SPA (Itália) e ICI (Reino Unido).

### 6.2 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

O tetracloroetileno é um líquido incolor, não inflamável que pertence à classe de substâncias denominada de compostos orgânicos voláteis (VOCs)<sup>11</sup>, pois o PCE evapora facilmente para o ar. Outras características do PCE estão citadas na Tabela 6.1.

---

<sup>11</sup> A presença de VOCs assim como os óxidos nitrosos na atmosfera condicionam a formação da camada de ozônio (BAIRD, 2004)

**Tabela 6.1: Principais características do PCE.**

<i>Sinônimos Comuns</i>	PCE, percloroetileno, tetracloreto de etileno, perc, perclene, tetraleno
<i>Fórmula Molecular</i>	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>
<i>Ponto de Fusão</i>	- 19° C
<i>Ponto de Ebulição</i>	121° C
<i>Solubilidade em água</i>	150 mg/L a 25° C
<i>Densidade</i>	1,623
<i>K<sub>oc</sub></i>	665
<i>K<sub>ow</sub></i>	3,40
<i>Pressão de Vapor</i>	18,47 mm Hg a 25° C
<i>Constante de Henry</i>	1,8 x 10 <sup>-2</sup> atm m <sup>3</sup> /mol

### 6.3 APLICAÇÕES DO PCE

O maior uso do PCE nos Estados Unidos e Europa é nas lavanderias de lava a seco e operações têxteis, que corresponde a aproximadamente 60% de todo PCE. Este produto também é usado na produção de clorofluorcarbonos; nas operações de remoção de gordura de componentes eletrônicos, na formulação de aerossóis, como solvente de sabões, tintas de impressão, adesivos, selantes, polidores e lubrificantes. A Tabela 6.2 mostra a estimativa do destino de PCE nos Estados Unidos em 1991. A tendência é a diminuição na produção de PCE devido aos acordos internacionais limitando o uso e produção de algumas substâncias (Protocolo de Montreal e a Diretiva de Emissão de Solventes), a reciclagem de solventes e a diminuição da produção do CFC-113 (gás freon 113).

**Tabela 6.2: Estimativa do destino de PCE nos EUA em 1991.**

<b>Usos do PCE</b>	<b>% PCE</b>
Lava a seco e moinho têxtil	60
Produção de CFC	20
Desengurdurante de componentes eletrônicos	15
Outros	5

Fonte: Mannsville 1992.

No Brasil o PCE é mais utilizado nas indústrias química, farmacêutica e eletrônica. A Tabela 6.3 nos mostra um perfil das indústrias paulistas que contaminaram o subsolo utilizando PCE ou um dos seus derivados e as ações tomadas em termos de remediação.

#### **6.4 ROTA DO PCE NO AMBIENTE**

A indústria de lava a seco é um dos principais responsáveis pela contaminação de águas subterrâneas nos Estados Unidos e Europa. Tipicamente, uma loja de lava a seco gera por dia de 4 a 7 litros de água contaminada com PCE. A maioria das lojas de lava à seco despeja essa água contaminada no sistema de esgoto. Rachaduras e vazamentos nos tanques de armazenagem e na tubulação de esgoto podem resultar na migração do PCE, contaminando grandes extensões, podendo até afetar a qualidade da água quando atinge o lençol freático. PCE e TCE foram detectados em mais de 50% das áreas de Superfundos nos Estados Unidos no ano de 1996, além de serem os dois solventes clorados mais frequentemente detectados em águas de abastecimento. De acordo com o inventário de Substâncias Químicas Tóxicas lançadas no ambiente, elaborado pela EPA, entre 1987 e 1993 os vazamentos de PCE para o solo e água totalizam 450 toneladas. Em muitas dessas áreas os solventes clorados estão presentes na forma de DNAPLs, o que os torna uma fonte de contaminação por um longo prazo e difícil de remover. (Greenpeace Report, 2000; MACKINNON *et al.*, 2002).

Devido a sua volatilidade e uso final do PCE, 80-85% do que é usado anualmente é lançado na atmosfera e apenas 1% na água. Os lançamentos ocorrem primeiramente por evaporação durante o processo de manipulação ou dos efluentes e unidades de processamento dos fabricantes. Em 1992, mais de 5579 toneladas de PCE foram lançados na atmosfera, 4,5 toneladas em corpos hídricos, 5,9 toneladas no subsolo, e 4 toneladas na superfície do solo. Emissões atmosféricas de áreas contaminadas, medidas a 1,5 metro do solo, detectaram concentrações de PCE de até 1,7 ppb. Amostras de águas superficiais do lago St. Clair, no Canadá, continham mais de 0,473 ppb proveniente de resíduos industriais, e água de poços próximos a lojas de lava a seco. No Japão alcançaram níveis de até 27 ppm. Métodos de reciclagem de PCE produzem resíduos que se lançados em aterros, podem contaminar o solo no processo de lixiviação.

**Tabela 6.3: lista de empresas que cadastraram contaminação por solventes clorados no estado de São Paulo (CETESB, maio 2002).**

<b>Empresa</b>	<b>Solução Adotada</b>
Adecom Química LTDA	SPRD
Ashland Resinas LTDA	SPRD
Aterro DAEE	SPRD
Aterro Industrial Mantovani, S/C LTDA	SPRD
Basf S/A	Remoção do solo contaminado e barreira hidráulica
Bras-Lub Ind Brasileira de Lubrificantes LTDA	SPRD
Carbocloro S/A indústrias Químicas	Bombeamento e tratamento de águas subterrâneas e remoção de solo
CIESP – Diretoria Geral de Cubatão	SPRD
Cilag Farmacêutica LTDA	Bombeamento e tratamento de águas subterrâneas, barreira hidráulica e oxidação química
Ciquine Companhia Petroquímica	Remoção da fase livre
CISP – Centro Industrial Shell Paulínea	Barreira Hidráulica, remoção de solos contaminados
Clariant S/A	SPRD
Daimlerchrysler do Brasil LTDA (São Bernardo)	SPRD
Daimlerchrysler do Brasil LTDA (Campinas)	Extração e tratamento de vapores, bombeamento e tratamento de águas subterrâneas, confinamento geotécnico
Dibal Armazéns Gerais S/A – DIBAL III	SPRD
Dow Química S/A	SPRD
Ecadil indústria Química S/A	SPRD
Federal Mogul Electrical do Brasil LTDA	Bombeamento e tratamento de águas subterrâneas
IQB Indústria Química Brasileira LTDA	SPRD
Johnson & Johnson Indústria e Comércio LTDA	Bombeamento e tratamento de águas subterrâneas
Magneti Marelli Escapamentos LTDA	SPRD
Panex S/A Indústria e Comércio	SPRD
Petrobras – DTCS (Ex Tedep)	SPRD
Química Industrial Supply LTDA	SPRD
Rede Ferroviária Federal S/A	SPRD
Rhodia do Brasil LTDA (Cubatão)	Bombeamento e tratamento de águas subterrâneas
Rhodia do Brasil LTDA (São Vicente)	Confinamento geotécnico, bombeamento e tratamento de águas subterrâneas
Shell do Brasil Indústria e Comércio LTDA	Remoção dos resíduos (solo contaminado e tanques enterrados)
Singer do Brasil Indústria e Comércio LTDA	SPRD
Solvay Indupa do Brasil S/A	Confinamento Geotécnico, barreira hidráulica, remoção da fase livre
Solventex Indústria Química LTDA	Remoção de resíduos e barreira reativa piloto
Sulfabras S/A indústria Química	SPRD
Transtechonology Brasil LTDA	SPRD
Truck Washing Lavadora de Caminhões LTDA	SPRD
USA Chemical Indústria e Comércio LTDA	SPRD
Valeo Sistemas Automotivos LTDA	Bombeamento e tratamento de águas subterrâneas

\* **SPRD – sem processo de remediação definido**

O PCE se volatiliza rapidamente para a atmosfera quando é lançado no solo ou na superfície da água, o que está de acordo com sua constante de Henry ( $1,8 \times 10^{-2}$  atm  $m^3/mol$ ). A meia vida da volatilização do PCE em águas superficiais é estimada em 7 dias para poços, 1,4 dia para rios e 5,6 dias para lagos. Sorção e desorção de PCE no solo vão depender do teor de matéria orgânica, temperatura, saturação e salinidade. Uma vez lançado PCE no solo, a camada superficial não saturada do solo, é responsável por 97% da sorção, contudo em solos saturados 26% migra para o lençol freático (Relatório das Forças Armadas Americanas - 1989).

No ar o PCE é degradado na atmosfera por reações fotoquímicas (produzindo radicais hidroxila) ou podendo também retornar a superfície por ação da chuva. A meia vida estimada é de 96 dias; fogênio e cloreto de cloroacetil são os produtos de degradação mais comuns, sendo o fogênio mais tóxico que o próprio PCE.

No solo estima-se que a maior parte do PCE fique adsorvida devido ao alto coeficiente de absorção ( $K_{oc} = 665$ ), indicando a persistência do PCE por meses ou anos. Também pode ocorrer degradação microbológica, mas a contribuição dos microrganismos no decaimento da concentração de PCE no solo vai variar em função dos parâmetros físico-químicos e da microbiota do local.

Na água a volatilização do PCE é a rota principal. A hidrólise ocorre muito lentamente ou apenas em temperaturas elevadas. A degradação fotolítica e a desalogenação ocorrem em pequenas proporções.

Quando o ser humano é exposto ao PCE, a rota principal é pela via respiratória, sendo a absorção via gastrintestinal menos comum. O PCE é rapidamente absorvido pelo sangue quando aspirado e a quantidade absorvida está relacionada à concentração no ar, massa corpórea, nível de atividade durante a exposição e tempo de exposição. O PCE não é bem absorvido pela pele, não caracterizando como rota de exposição. Após inalação o PCE é seqüestrado pela gordura corporal – por sua característica lipofílica. É metabolizado no fígado pelo citocromo P-450, transformando-se em ácido tricloroacético (TCA) e o tricloroetanol.

## **6.5 VALORES DE REFERÊNCIA PARA CONTAMINAÇÃO POR PCE**

De acordo com o padrão para água potável da Agência Americana de Proteção Ambiental (US EPA) a concentração máxima para cada um desses compostos não deve exceder 5 µg/L. Quando comparado a solubilidade do PCE e TCE em água, 150 mg/L e 1100 mg/L respectivamente, verifica-se que a diferença entre a solubilidade dos compostos e o padrão estabelecido fica entre cinco e seis ordens de grandeza.

## **6.6 EFEITOS TOXICOLÓGICOS**

A alta concentração de PCE, especialmente em ambientes fechados e com pouca ventilação, pode causar tonturas, dor de cabeça, sonolência, confusão mental, náusea, dificuldade de fala e de locomoção e até morte. Estes sintomas ocorrem na maioria dos casos em ambiente de trabalho ou no uso do PCE como entorpecentes. Nas indústrias onde os trabalhadores são expostos a baixas concentrações de PCE, observou-se alterações no sistema nervoso. O resultado dos estudos com trabalhadoras mostrou uma maior incidência em problemas menstruais e abortos espontâneos que as mulheres não expostas. Estudos feitos com animais, conduzidos com concentrações muito acima do que a maioria das pessoas é exposta, mostram que o PCE pode causar danos ao fígado e aos rins. A exposição a altos níveis de PCE pode causar morte de fetos de rata. Também foram observadas mudanças de comportamento de bebês de ratos que inspiraram PCE durante a gravidez. O Departamento de Saúde e Serviços Humanos (DHHS) dos Estados Unidos determinou que PCE pode ser considerado como carcinogênico. O PCE também pode causar tumores de fígado e rins em ratos.

## **6.7 DEGRADAÇÃO DE PCE NO AMBIENTE**

Para avaliar se um composto químico pode causar dano ambiental, a persistência no ambiente é freqüentemente usada como indicador de tempo de exposição. Muitos procedimentos de avaliação de risco focam na identificação de compostos persistentes. Contudo, a maioria dos procedimentos ignora o fato da exposição estar relacionada aos produtos de degradação desses compostos. Dependendo do produto de degradação a área atingida e os riscos relacionados à saúde humana podem aumentar. Os produtos de transformação são formados pela degradação biótica ou abiótica do composto “mãe”. Na Figura 6.1 pode-se observar o esquema de transformação do PCE no ambiente. As linhas cheias representam as reações de

transformação no solo e na água; as linhas pontilhadas representam a transformação no ar. As linhas horizontais pontilhadas separam o composto de origem das gerações de degradação. A Tabela 6.4 mostra a importância de cada rota individual (números sobre as setas) que é expressa em termos de percentual de formação em um meio específico.

A transformação do PCE que é lançado no ambiente leva à formação de dois produtos de reação. Primeiro são formados etilenos menos clorados (TCE, dicloroetileno - DCE, cloreto de vinila -VC) através de reações de desalogenação redutiva em ambientes anaeróbios, como por exemplo, um solo saturado.

A segunda via é a formação de ácidos cloroacéticos (tricloroacético, dicloroacético e monocloroacético) a partir da hidrólise do cloridrato de ácido tricloroacético, formado na troposfera e que retorna a superfície da terra misturado na água da chuva (FENNER *et al*, 2003).

**Tabela 6.4: Percentual de formação de produtos de reação de PCE no solo na água e no ar.**

Número da Reação	Reação	Formação no solo (%)	Formação na água (%)	Formação no ar (%)
1	PCE → COCl <sub>2</sub>	0	0	90
2	PCE → TCAC	0	0	10
3	TCAC → COCl <sub>2</sub>	0	0	20
4	TCE → COCl <sub>2</sub>	0	0	28
5	TCE → DCA	4	4	50
6	TCAC → TCA	100	100	80
7	PCE → TCE	0	10	0
8	TCE → DCE	0	10	0
9	DCE → VC	0	10	0
10	PCE → TCA	15	15	0
11	TCA → DCA	30	30	0
12	DCA → MCA	30	30	0

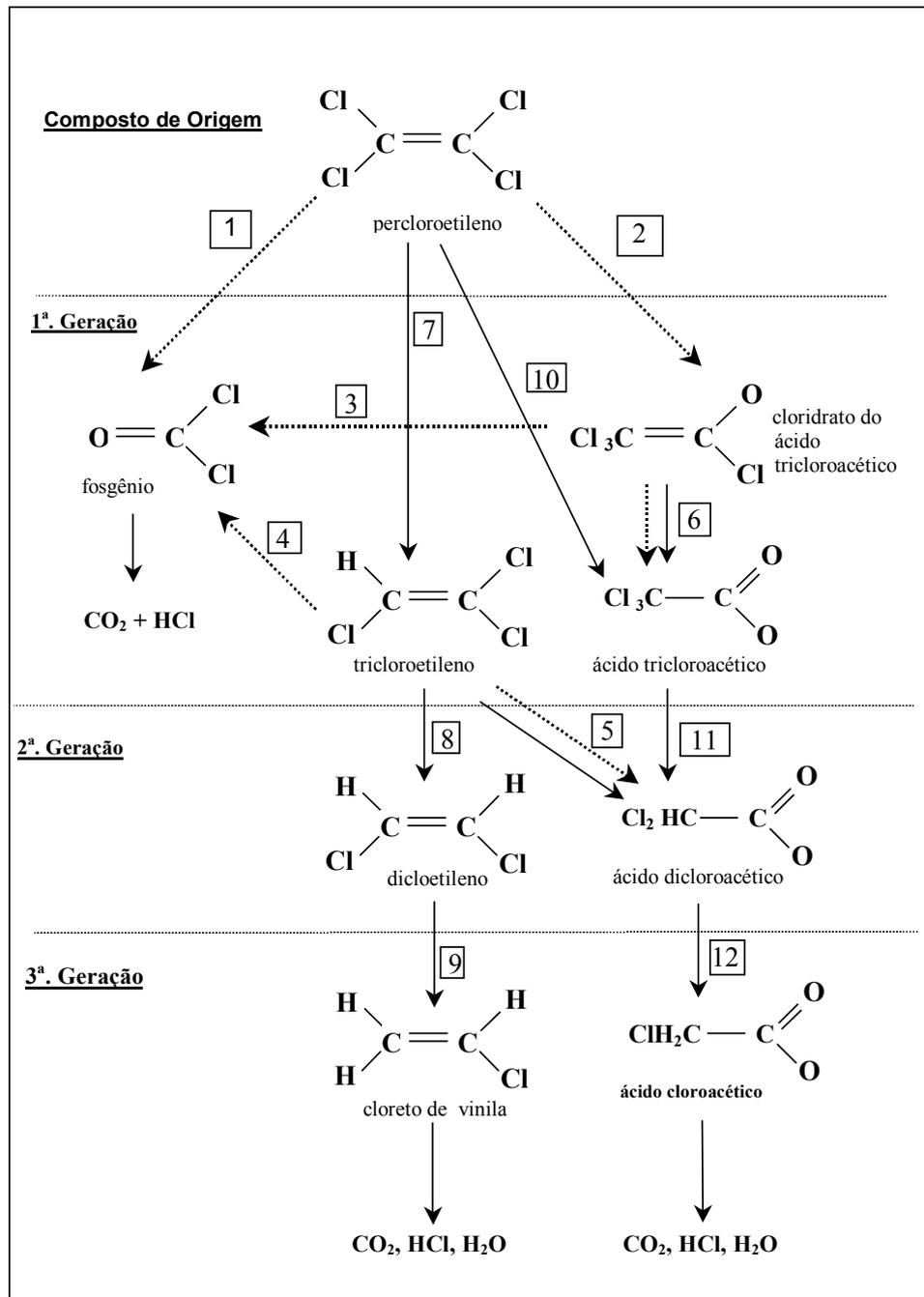


Figura 6.1: Esquema de transformação do PCE na água e no solo (seta com linha cheia) e no ar (seta pontilhada). Figura adaptada de FENNER *et al.*, 2003.

A biodegradação de PCE, TCE, DCE e VC pode ocorrer tanto em meio aeróbio com em meio anaeróbio, gerando sub-produtos através de vários caminhos metabólicos. A biodegradação vai depender das condições do meio e dos microrganismos (Item 3.2). Os produtos de biodegradação são geralmente negligenciáveis em termos de risco para a saúde humana. A transformação aeróbia ocorre, geralmente, na parte superior do solo, onde existe uma concentração de oxigênio disponível suficiente, e a

transformação anaeróbia ocorre nas partes mais profundas do solo, águas subterrâneas e sedimentos devido à baixa concentração de oxigênio. A possível relação entre a rota de biodegradação, a meia-vida do composto formado e o coeficiente de partição está representada na Tabela 6.5.

**Tabela 6.5: Meia-vida e coeficiente de partição de PCE, TCE, DCE e VC a 20° C (YEH e KASTENBERG, 1991).**

**I. Meia-vida em dias**

Composto	Ar	Superfície do solo	Solo - profundo	Água superficial	Água subterrânea	Sedimento
PCE	47	54	108	30	108	54
TCE	3,7	43	86	90	86	43
DCE	1,8	53	106	6	106	53
VC	1,2	80	160	5	160	80

**II. Coeficiente de Partição**

	PCE	TCE	DCE	VC
Ar / água	0,0096	0,039	0,87	0,98
Solo superficial/água	8,74	3,02	1,46	1,37
Solo profundo / água	0,36	0,13	0,061	0,057
Rocha / água subterrânea	0,105	0,036	0,017	0,016
Sedimento / água	9,83	5,79	1,64	1,54
Biota / solo superficial	0,57	1,65	3,42	3,66
Peixe / água	31	10,6	3,6	1,17

**6.8 RESUMO DO CAPÍTULO**

O PCE é um organoclorado de baixa solubilidade e mais denso que a água (DNAPL). No Brasil há vários casos de contaminação por PCE cujo processo de remediação não foi definido. O processo de degradação do PCE no ambiente ocorre naturalmente no ar, na água e no solo, podendo também ser biodegradado em condições aeróbia e anaeróbia.

## 7. TÉCNICAS DE REMEDIAÇÃO DE PCE UTILIZANDO PERMANGANATO DE POTÁSSIO E BIOSURFACTANTE

Os resultados obtidos na Parte I mostram que o uso do Reagente de Fenton não é recomendável na remediação de águas subterrâneas e de solo contaminados em subsuperfície. Como a maioria dos casos de contaminação por DNAPLs está relacionada à contaminação de subsolo e lençol freático, foi necessário avaliar uma outra técnica capaz de transformar o PCE em uma substância inócua, sem que fosse necessário alterar o pH do meio. Outro ponto relevante na remediação de áreas contaminadas por DNAPLs é a dificuldade de remover o contaminante pelo processo de bombeamento e tratamento. Mesmo nos processos de biorremediação é fundamental que a solubilidade do DNAPLs aumente, de modo a diminuir o tempo de tratamento.

Dentro dessa matriz de limitações foi possível chegar a duas alternativas. Uma delas é a utilização de permanganato de potássio como agente oxidante, um produto comum e barato capaz de degradar o PCE em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , além de diminuir a permeabilidade do meio pela precipitação do óxido de manganês limitando a transferência de massa do contaminante. A alternativa foi a de utilizar o biosurfactante produzido pelo *Acinetobacter* sp. PD22 para aumentar a solubilidade do PCE em meio aquoso e aumentar a mobilidade do contaminante no solo.

### 7.1 PERMANGANATO DE POTÁSSIO

O permanganato é um agente oxidante de compostos orgânicos que contêm ligação dupla entre átomos de carbono, grupo aldeído e hidroxila. O íon permanganato forma uma ponte com a dupla ligação carbono-carbono, encontrada nos alcenos clorados, formando um composto instável conhecido como hidropermanganato diester. Esse intermediário pode reagir por diferentes mecanismos incluindo hidroxilação, hidrólise ou quebra da ligação dupla. Nas condições normais de pH e temperatura, a ligação dupla carbono-carbono é quebrada espontaneamente e os intermediários são convertidos em dióxido de carbono (YAN e SCHWARTZ, 1999; HUANG *et al.*, 2001). Existem duas formas de permanganato, o permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) e o permanganato de sódio ( $\text{NaMnO}_4$ ). As equações de oxi-redução com  $\text{KMnO}_4$  com varias espécies de etenos clorados podem ser escritas da seguinte forma:

Percloroetileno (PCE)



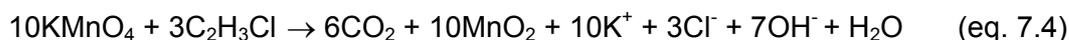
Tricloroetileno (TCE)



Dicloroetileno (DCE)



Cloreto de Vinila (VC)



Dióxido de manganês ( $\text{MnO}_2$ ) é um mineral naturalmente encontrado nos solos. Se a precipitação de  $\text{MnO}_2$  no solo durante a reação for excessiva, por reduzir a permeabilidade do solo, limitando o fluxo subterrâneo. Embora o  $\text{MnO}_2$  seja insolúvel em água, o manganato ( $\text{Mn}^{+4}$ ) pode ser reduzido a  $\text{Mn}^{+2}$  em pH ácido (< 2) ou condições redox. O íon cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) liberado durante a reação pode ser convertido em  $\text{Cl}_2$  sob condição extremamente redox, o qual reage instantaneamente com a água intersticial e lençol d'água formando ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ).

O permanganato também pode ser usado no tratamento de compostos orgânicos que possuem hidroxila, como álcoois primários e secundários, assim como ácidos orgânicos. Essas reações ocorrem mais facilmente em pH alcalino, onde a abstração do hidrogênio gera uma carga negativa no átomo de oxigênio. O permanganato é atacado pela carga negativa, resultando numa reação de oxidação que transforma o composto em aldeído, cetona ou ácido carboxílico.

A oxidação química de contaminantes é uma tecnologia que tem tido sucesso quando aplicada no tratamento *ex situ* de aquíferos contaminados por tricloroetileno (TCE) e tetracloroetileno (PCE). Os agentes oxidantes aplicados nesses casos incluem o ozônio ( $\text{O}_3$ ),  $\text{H}_2\text{O}_2$ , Reagente de Fenton e  $\text{KMnO}_4$  (MACKINON e THOMSON, 2002). No Brasil, Nobre e Nobre (1999) avaliaram a eficiência do  $\text{KMnO}_4$  na na remediação *in situ* e *ex situ* de diferentes DNAPLs. Os resultados indicaram grande potencial para oxidação de alcenos clorados. Porém, para alcanos halogenados a taxa de destruição observada foi de menor intensidade.

### 7.1.1 FATORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUENCIAM NO PROCESSO DE OXIDAÇÃO

O íon permanganato é capaz de oxidar compostos orgânicos através de diferentes caminhos de reação. O caminho escolhido pela reação vai depender da estrutura do substrato e da acidez da solução. A oxidação do PCE parece acontecer de maneira semelhante à reação alcenos-permanganato (HOOD *et al.*, 2000; HUANG *et al.*, 2002).

A Figura 7.1 apresenta um desenho esquemático da reação de oxidação do PCE pelo permanganato em diferentes condições de pH. A etapa inicial da reação ocorre quando o íon permanganato reage com a ligação dupla (C=C) para formar o éster hipo-permanganato cíclico como composto intermediário. As reações subsequentes envolvem a competição entre o permanganato e os íons hidroxila pelo composto intermediário. Os diferentes caminhos de reação podem resultar na formação de glicóis, aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos. Em meio alcalino são formados *cis*-dióis, em meio neutro ou levemente alcalino os produtos predominantemente formados são as  $\alpha$ -hidroxi cetonas. Em meio ácido, as reações ocorrem para formar compostos carbonilados. Dependendo da concentração do agente oxidante (permanganato) na solução, os produtos finais da reação são CO<sub>2</sub>, MnO<sub>2</sub> e HCl (NORUELDIN *et al.*, 1997; HUANG *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2002).

Estudos sobre a cinética da reação realizados por YAN e SCHWARTZ (1999) e HOOD *et al.* (2000) mostram que a reação de etenos clorados por permanganato pode ser considerada de primeira ordem, e independente do pH e força iônica. Contudo, a taxa de degradação dos etenos clorados pelo permanganato é inversamente proporcional ao número de cloros ligados ao eteno. O fato é que o cloro como substituinte do hidrogênio retarda a reação, o que é consistente com a idéia da adição de grupo eletrofílico. A alta deficiência de elétrons na ligação C=C induzida pela presença de quatro átomos de cloro na molécula de PCE, reduzem a taxa de ataque eletrofílico pelo MnO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Por esse motivo, a degradação do PCE é lenta e a constante da reação é a menor comparada com TCE, DCE.

O uso de solução tampão (pH > 8) favorece a neutralização do ácido formado durante a reação (HCl), além de reagir com o CO<sub>2</sub>, formando bicarbonato – sal solúvel. A oxidação de alcenos, em geral, ocorre na fase aquosa devido ao fato de que KMnO<sub>4</sub> não ser solúvel na maioria dos hidrocarbonetos.



as condições de campo são propícias a utilização da técnica. Entre as mais importantes, deve-se destacar: a geoquímica e os estudos de bancada.

Os dados geoquímicos do local são necessários para estimar a dosagem de oxidante que deverá ser empregada, além de estabelecer as condições iniciais de concentração do contaminante a fim de avaliar a eficiência do tratamento do solo e/ou água subterrânea. A seguir é apresentada uma lista de parâmetros que devem ser medidos.

- *Compostos Orgânicos Voláteis*: ajudam a estabelecer uma condição referência no monitoramento da migração de gases;
- *Massa de contaminante*: a estimativa da massa de contaminante, o que também inclui a presença de fase livre. Essa estimativa é essencial na instalação de poços de injeção da solução oxidante;
- *Matéria Orgânica Natural*: a matéria orgânica presente no solo/água subterrânea irá consumir parte da solução oxidante, por isso deve ser levado em consideração para os cálculos de dosagem de concentração da solução de permanganato;
- *Demanda Química de Oxigênio*: fornece uma idéia de quanto o meio irá consumir da solução oxidante na oxidação de compostos reduzidos (metais) e matéria orgânica;
- *pH do solo e/ou água subterrânea*: os valores de pH são necessários no preparo da solução tampão que será injetada junto com o permanganato, além de ajudar no monitoramento da reação;
- *Condutividade hidráulica*: ajuda a estimar a zona de influência e a velocidade da água subterrânea. Essa informação mais a taxa de degradação ajudam a estimar o espaçamento entre os poços;
- *Caracterização do solo*: é necessária para avaliar a aplicabilidade da técnica. Por exemplo, para solos argilosos a maioria das técnicas de oxidação são desfavorecidas, uma vez que o contato do agente oxidante com o contaminante fica limitado pela difusão;
- *Gradiente hidráulico*: é utilizado para estimar o fluxo subterrâneo, zona de influência e posicionamento dos poços. O gradiente natural pode ser modificado a fim de aumentar a zona de influência;

- *Concentração de manganês solúvel na água subterrânea:* os dados de concentração de  $Mn^{+2}$  antes do uso do permanganato funciona como valor de referência. Em áreas onde há captação de água para abastecimento, deve ser avaliada a influência da precipitação de  $MnO_2$  e da possível formação de  $Mn^{+2}$  durante a reação (caso não haja um controle de pH durante a reação);
- *Impurezas do permanganato:* o permanganato disponível comercialmente possui traços de metais pesados, incluindo cromo. Se a área onde se pretende aplicar a técnica for adjacente a captação de água para abastecimento, deve ser avaliado o potencial de contaminação da água subterrânea por metal pesado. (ITRC, 2001)

A remediação *in situ* é dificilmente projetada e implementada baseada somente na caracterização da área durante a fase de investigação. A aplicabilidade da técnica deve ser primeiramente conduzida em escala laboratorial. O resultado dos ensaios de bancada é que vão ajudar na escolha da técnica e na determinação das condições de execução (concentração da solução, taxa de injeção, concentração da solução tampão). Além disso, é possível gerar dados que ajudem a projetar a distância entre os poços.

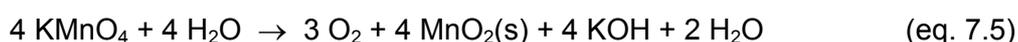
### 7.1.3 CASOS PRÁTICOS

O uso do permanganato na oxidação de TCE e PCE *in situ* foi feito pela primeira vez por Vella e Veronda em 1992. Ensaios de coluna realizados por SCHNARR *et al.* (1998) mostraram alta eficiência na remoção de TCE e PCE (>90%) após injetar 93 volumes de vazios com solução de permanganato a uma concentração de 63 mM. O resultado de dois ensaios piloto, feitos numa segunda etapa em um aquífero isolado por uma barreira hidráulica, provaram que o processo de dissolução é o fator determinante na taxa de remoção do DNAPL. Também ficou provado que a taxa de dissolução durante o processo de injeção da solução oxidante é maior que durante o fluxo com água. Associados ao processo de dissolução estão a distribuição do DNAPL em subsuperfície e a heterogeneidade do solo.

SCHROTH *et al.* (2001) realizaram 3 ensaios de coluna para verificar o efeito da precipitação do  $MnO_2$ , produção de gás ( $CO_2$ ) e dissolução do TCE em meio poroso, resultante reação da oxidação utilizando solução de permanganato a 5 mM com e sem adição de fosfato básico de sódio ( $Na_2HPO_4$ ) a 300 mM. Os resultados dos ensaios

mostram que foi gerada uma grande quantidade de CO<sub>2</sub> e precipitação de MnO<sub>2</sub> durante fluxo da solução de permanganato, reduzindo conseqüentemente, a porosidade do meio em 96% e conseqüentemente, provocando a ruptura do meio, seguido de entupimento da coluna. Porém durante a injeção de solução de permanganato acrescida de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> observou-se uma menor produção de gás e precipitação de MnO<sub>2</sub> de forma homogênea em toda a coluna. Neste ensaio a permeabilidade do meio reduziu 53%, mostrando que a utilização de uma solução tampão (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), que mantenha a faixa de pH entre a neutralidade e levemente alcalino, pode ajudar a aumentar a eficiência da oxidação *in situ*.

NELSON *et al.* (2001) estudaram o processo geoquímico que acompanha a reação de oxidação entre o permanganato e o PCE. Foram feitos ensaios injetando solução de permanganato a 63 e 103 mM em um aquífero de areia não confinado contaminado com PCE. O efeito da injeção foi monitorado utilizando poços multi-níveis. Verificou-se que na área onde havia PCE em fase residual, o HCl liberado durante a reação reagiu com a calcita e a dolomita dissolvidas, tamponando o pH na faixa entre 5,8 e 6,5 e liberando cálcio, magnésio e CO<sub>2</sub>. Na área onde a concentração do PCE era menor, o permanganato permaneceu no aquífero por mais de 14 meses. O pH da água intersticial aumentou gradualmente para 9 e 10, como resultado da oxidação da água pelo KMnO<sub>4</sub> obteve-se:



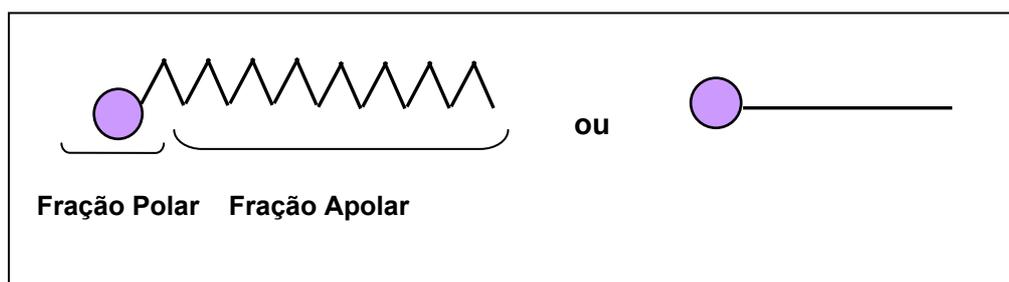
Um ponto importante é o efeito tampão do solo rico em carbonatos durante as reações de oxidação de DNAPLs *in situ*. Onde originalmente o DNAPL estava presente as amostras de solo mostraram que MnO<sub>2</sub> gerado durante a reação cobriu os grãos dos minerais do aquífero, formando camadas negras de óxido de manganês na areia.

MACKINNON e THOMSON (2002) realizaram um ensaio de laboratório utilizando tanque 2D para avaliar a eficiência do uso de permanganato como agente oxidante de piscinas de PCE. O tanque foi preenchido com sílica (d<sub>60</sub> = 0,149 mm e d<sub>10</sub> = 0,0085 mm) sobre uma camada de pó de sílica ao fundo, simulando uma zona bidimensional de areia saturada sobre uma barreira impermeável. O PCE foi injetado no sistema de forma a formar uma piscina de DNAPL sobre a camada impermeável. O experimento utilizou uma solução de permanganato na concentração de 63 mM que foi injetada a

uma velocidade real de poro de 0,21 m/dia, durante 146 dias. Antes e após o fluxo da solução oxidante foram feitos ensaios com traçador para verificar possíveis alterações de fluxo e porosidade do meio. Ao final do experimento foram coletadas amostras de solo para quantificar o PCE remanescente e  $MnO_2$  precipitado. Os resultados das análises mostraram que 55% do PCE na fase livre permaneceu no tanque, e que a maior parte do material oxidado estava localizado próximo ao ponto de injeção do permanganato. Os depósitos de  $MnO_2$  reduziram o fluxo da solução oxidante sobre a piscina de PCE, reduzindo também a transferência de massa do PCE na fase livre para a solução aquosa.

## 7.2 TENSOATIVOS

Os tensoativos são moléculas que possuem uma parte polar e outra apolar (Figura 7.2), também conhecida como substâncias anfífilas. A palavra anfífila tem origem latina; *amphi* significa dualidade e *philos* significa atração. As substâncias tensoativas são classificadas em aniônicas, não iônicas e catiônicas, de acordo com a carga exibida pela porção polar da molécula. Os íons têm uma forte afinidade pela água devido às atrações eletrostáticas entre a carga do íon e os dipolos da água. Além disso, são capazes de carrear longas cadeias carbônicas (parte apolar) para dentro da solução.



**Figura 7.2: Representação esquemática da molécula de tensoativo.**

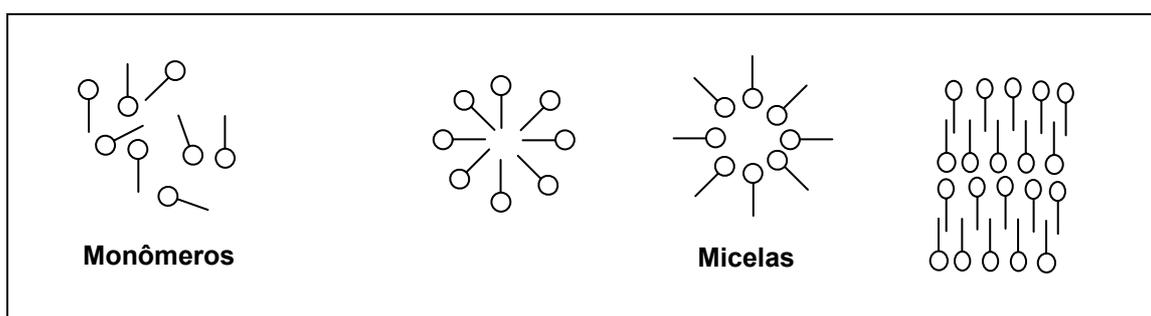
As moléculas tensoativas possuem duas propriedades fundamentais:

- As moléculas saem da solução para se posicionar nas interfaces (ex.: ar/líquido, líquido/líquido) com orientação específica – também conhecida como adsorção;

- Formam agregados orientados, também conhecidos como micelas. A formação de micelas em solução é que conferirá as propriedades de detergência e solubilização.

Numa solução em que a concentração de tensoativo é baixa, as moléculas existem na forma de monômeros. A fração polar é incapaz de fazer ponte com o hidrogênio da água, afetando o equilíbrio do sistema. A resultante é o aumento da entropia no entorno da fração apolar da molécula de tensoativo, aumentando a energia livre ( $\Delta G$ ) do sistema. Esse aumento da energia livre pode ser minimizado quando a fração apolar sai total ou parcialmente da solução aquosa – fenômeno da adsorção (SHAWN, 1976).

Na interface sólido/líquido, a polaridade do sólido em relação ao líquido é que vai decidir que parte do tensoativo vai adsorver sobre a superfície sólida. Quando a concentração do tensoativo vai aumentando, os monômeros vão saturando a interface, e depois acumulam na solução. Cada vez que uma nova molécula é adicionada à solução, a interação desfavorável entre a fração apolar e as moléculas de água vão aumentando até o ponto aonde os monômeros vão agregando, reduzindo a energia livre do sistema, formando micelas. Onde a fração apolar está orientada para o centro da estrutura e a fração polar para o solvente – no caso de solução aquosa (Figura 7.3). O tamanho da micela vai depender da natureza da parte apolar do tensoativo. (SALAGER, 1994).



**Figura 7.3: Estruturas de organização das moléculas de tensoativo.**

A concentração de tensoativo na qual a termodinâmica do sistema tensoativo-solvente favorece a formação de micelas é chamado de concentração crítica micelar (CMC)<sup>12</sup>.

<sup>12</sup> Iniciais do termo em inglês: Critical Micelle Concentration

Em concentrações acima do CMC o tensoativo consegue aumentar a solubilidade de compostos orgânicos cuja solubilidade em água é baixa (ie., o composto orgânico é incorporando no interior da micela), contudo, a tensão superficial da solução permanece constante (Figura 7.4). Segundo KULASOORIA *et al.* (2002), por exemplo, a solubilidade do PCE em água aumentou 134 vezes em uma solução a 4% de tensoativo não-iônico (Tween 80), quando comparando relativamente ao limite de solubilidade do PCE em água que é de 150 mg/L.

A concentração crítica micelar varia, na solução aquosa, em função da estrutura do tensoativo, da temperatura da solução, da presença de eletrólitos e compostos orgânicos. O tamanho da fração apolar da molécula de tensoativo é um fator importante e geralmente o CMC decresce com o aumento da hidrofobicidade da molécula. Os tensoativos aniônicos em solução aquosa possuem CMC muito maior que os tensoativos não-iônicos e catiônicos com o mesmo grupo apolar. Uma CMC típica de tensoativo aniônico como o alquilbenzeno sulfonato, cuja cadeia carbônica possui de  $C_{11}$  a  $C_{13}$  é de aproximadamente 1,2 mM (410 mg/L). Para um tensoativo não-iônico típico, como um álcool linear etoxilado, onde a cadeia carbônica é  $C_{12}$ , o CMC é de 0,06 mM, que corresponde a 19 mg/L aproximadamente.

A presença de eletrólitos na solução pode diminuir o CMC pela formação de uma barreira em volta da fração polar do tensoativo. Isso faz com que a solução aquosa se torne um ambiente termodinamicamente menos favorável para os monômeros, forçando-os a formarem micelas numa concentração mais baixa que em água pura. O efeito de eletrólitos em solução é mais evidente com tensoativos aniônicos e catiônicos (HAIGH, 1996).

Quanto maior a cadeia carbônica da fração apolar do tensoativo, maior a tendência das moléculas de adsorverem entre a superfície ar-água, diminuindo assim a tensão superficial da solução. Para uma série homóloga de tensoativos, onde se deseja reduzir igualmente a tensão superficial de uma solução diluída, é necessário aumentar três vezes a concentração do tensoativo para cada grupo adicional de  $CH_2$ .

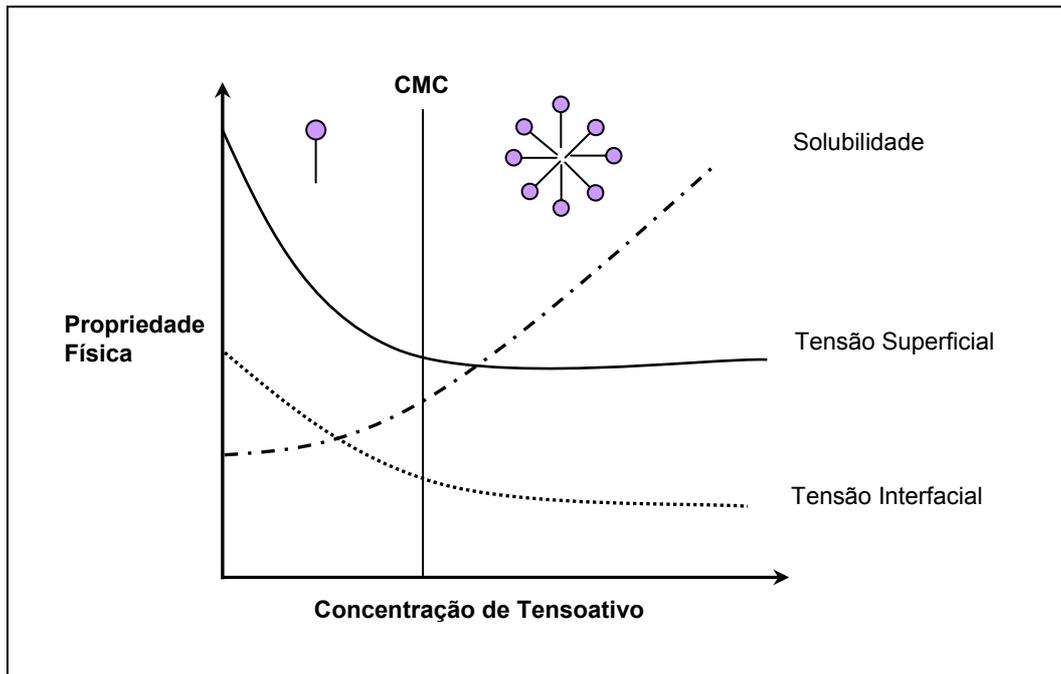


Figura 7.4: Diagrama esquemático da variação de tensão superficial, interfacial e solubilidade do composto orgânico com a concentração de tensoativo.

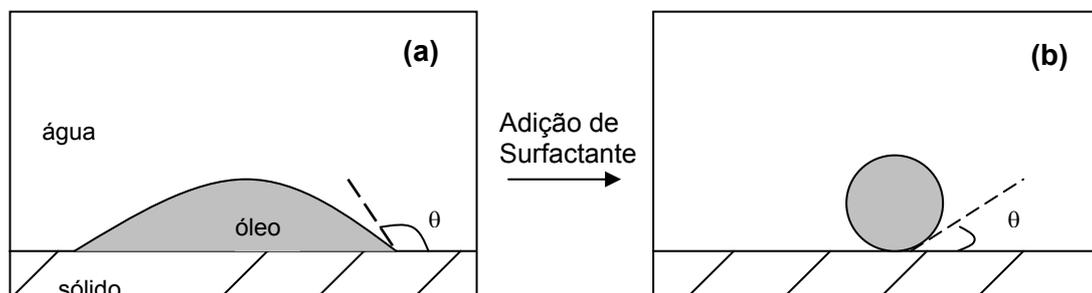
### 7.2.1 INTERFACE SÓLIDO/LÍQUIDO

Quando a gota de um líquido é colocada sobre uma superfície sólida ela pode se espalhar totalmente sobre a superfície ou permanecer como gota com um ângulo de contato definido com a superfície sólida. O ângulo de contato zero resulta das forças de atração entre o líquido/sólido que são iguais ou maiores que aquelas entre líquido/líquido.

O espalhamento da água sobre uma superfície sólida hidrofóbica pode ser melhorado pela ação de agentes tensoativos. Para séries homólogas de tensoativos como os alquil-sulfatos, alquil-aril sulfonatos, o melhor resultado de molhabilidade é obtido quando são utilizados tensoativos com cadeias carbônicas contendo oito átomos de carbono ( $C_8$ ), embora as espécies com cadeias carbônicas mais longas tenham uma maior atividade superficial.

O maior parte dos contaminantes orgânicos é hidrofóbico, logo a sua remoção da matriz do solo deve ser considerada um fenômeno de ângulo de contato  $\theta$ , mostrado na Figura 7.5 a. A adição de tensoativos reduz o ângulo de contato na interface tripla

solo/composto orgânico/água. Como resultado, o composto orgânico se enrola (“roll-up effect”) podendo ser facilmente separado (Figura 7.5 b).



**Figura 7.5: Esquema de comportamento do composto orgânico antes e após adição de tensoativo.**

Os tensoativos que se adsorvem nas interfaces sólido/água e óleo/água serão os melhores detergentes. A adsorção na interface ar/água provocando a redução de tensão superficial e formação de espuma, o que não é *necessariamente* um indicador de eficiência.

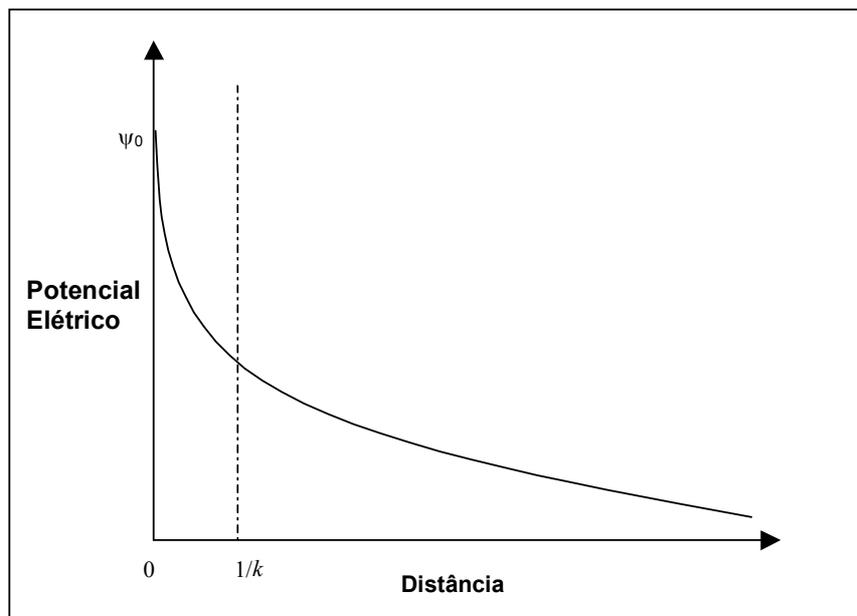
## 7.2.2 COMPORTAMENTO NO SOLO

A sorção possui um papel importante no comportamento dos tensoativos no solo. Tensoativos catiônicos tendem a adsorver fortemente em argilas e material coloidal assim como na matéria orgânica. Os tensoativos aniônicos, por outro lado, tendem a se ligar fracamente ao solo, sendo que grande parte permanece na fase aquosa. Em pH ácido, quando a superfície do solo está menos carregada negativamente, a adsorção do tensoativo aniônico aumenta.

A afinidade entre a parte polar dos tensoativos e o solo está relacionada a teoria da dupla camada difusa (MITCHEL, 1993). A teoria relaciona a distribuição dos contra-íons na localidade de uma superfície carregada, que em contato com um meio polar, atinge um máximo no valor do potencial elétrico na área da superfície. O excesso de contra-íons próximos à superfície carregada, provoca uma diminuição na concentração desses contra-íons no restante da solução, resultando na queda abrupta do potencial com o aumento da distância da superfície (Figura 7.6). O aumento da concentração de eletrólitos e o aumento da valência do contra-íon produzem efeito ainda maior na espessura efetiva da dupla camada difusa.

Como as interações da dupla camada estão diretamente relacionadas ao potencial elétrico ( $\psi_0$ ), os íons em solução são determinantes no processo de floculação. Em pH ácido a solução está carregada positivamente pela absorção de  $H^+$  ou cátions, em pH alcalino a solução está carregada negativamente pela absorção de íons  $OH^-$  ou ânions. Em pH neutro a solução não possui carga, floculando.

Também existe uma forte correlação entre aumento da adsorção de tensoativo aniônico e alta concentração de matéria orgânica no solo. A adsorção de tensoativos não-iônicos é influenciada pelo teor de carbono orgânico no solo. Assim como a adsorção de tensoativos aniônicos, a característica dos não-iônicos é de permanecer na água intersticial com potencial para interagir como os compostos orgânicos hidrofóbicos (NAPLs).



**Figura 7.6: Representação esquemática da dupla camada elétrica difusa.**

A solubilização de NAPLs é um fenômeno que está diretamente ligado à formação de micelas. Como foi mencionado anteriormente, é de se esperar que a CMC do tensoativo na água intersticial seja menor que na água pura, pois a presença de sais dissolvidos na água aumenta a força iônica da solução. Contudo, esse fenômeno provocará o aumento da adsorção do tensoativo na superfície do solo, fazendo com que uma quantidade maior de tensoativo seja adicionado ao solo para atingir a CMC.

### 7.2.3 APLICAÇÃO

Os tensoativos têm sido usados industrialmente como adesivos, floculantes, espumantes, de-emulsificantes e penetrantes. Na indústria petroquímica eles são tradicionalmente usados na extração de óleo. Nesse caso, os tensoativos aumentam a solubilidade dos componentes do petróleo ou diminuem a tensão interfacial, promovendo a mobilização do petróleo. Também são usados na flotação de minério. As propriedades mais importantes num tensoativo em processos industriais incluem o aumento da solubilidade de compostos pouco solúveis em água, redução da tensão superficial, molhabilidade<sup>13</sup> e produção de espuma.

Áreas contaminadas representam uma ameaça ambiental, principalmente nas grandes áreas industriais. Por essa razão, muitas técnicas de descontaminação foram desenvolvidas ao longo dos anos. Mas recentemente, os tensoativos têm sido usados nos processos de lavagem de solo na remoção de NAPLs. Uma das grandes vantagens da utilização dessa técnica é o aumento da solubilidade dos NAPLs, acelerando o processo de biodegradação (MULLIGAN *et al.*, 2001).

Muitos fatores podem influenciar na eficiência da lavagem de solo com tensoativos. Entre elas estão: a dureza da água subterrânea, adsorção em argilas e biodegradabilidade muito alta (pode anular o efeito do tensoativo, embora o fator biodegradabilidade seja importante para evitar acúmulo no solo).

Os fatores principais que devem ser considerados na escolha do tensoativo na lavagem de solo são:

- eficiência na remoção do contaminante;
- custo;
- biodegradabilidade do composto e dos produtos de degradação;
- baixa dispersão no solo;
- efeitos tóxicos em seres humanos, animais e plantas; e
- reciclagem.

---

<sup>13</sup> Propriedade de aumentar o ângulo de contato entre líquido e sólido.

Todos esses fatores devem ser estabelecidos previamente em laboratório antes de serem executados ensaios de campo.

Para reduzir o risco de contaminação, são usados tensoativos com grau alimentar (T-MAZ, DOWFAX, Aerosol, Tween), aprovados pelo departamento americano de alimentos e drogas (FDA). A aprovação pela FDA, contudo, não garante que o tensoativo ou os produtos de degradação seja seguro e dentro dos padrões da legislação (BOVING e BRUSSEAU, 2000).

#### **7.2.4 BIOSURFACTANTES**

Alguns tensoativos são conhecidos como biosurfactantes. Essas moléculas podem ser produzidas por bactérias, leveduras e fungos filamentosos utilizando vários substratos incluindo açúcares, óleos, alcanos, e resíduos. Eles são sintetizados como subprodutos metabólicos.

As moléculas anfifílicas são a espinha dorsal das membranas celulares, garantindo o transporte e troca de material na célula. Nas células superiores as lecitinas e o ácido glicólico são os compostos mais conhecidos. Nos microrganismos são os fosfolípidios, glicolipídeos, lipopeptídeos e lipopolisacarídeos. Como estrutura molecular eles possuem:

- a) fração apolar: ácidos graxos hidroxilados e álcoois graxos que podem ser saturados ou insaturados;
- b) fração polar: mono, oligo ou polissacarídeos, peptídeos ou proteínas.

Muitas vezes os microrganismos produzem substâncias anfifílicas que são lançadas para fora da célula, a fim de facilitar a entrada de compostos pela membrana celular ou para aumentar a biodisponibilidade de um substrato no meio. Também existem situações onde a produção de biosurfactantes está associada a interação das células com superfícies sólidas (SHAFI e KHANA, 1995).

Uma característica importante dos biosurfactantes está relacionada à abundância relativa das frações polares e apolares. Os biosurfactantes podem ser classificados de acordo com o balanço hidrofílico-hidrofóbico (HLB)<sup>14</sup>, pois essa relação afeta as propriedades físico-químicas das moléculas. Em geral, as moléculas com baixo HLB são lipofílicas, enquanto as de HLB alto são mais solúveis em água. A Tabela 7.1 mostra os usos de surfactantes não-iônicos para diferentes valores de HLB.

**Tabela 7.1: Usos de tensoativos não-iônicos para diferentes valores de HLB (SHAWN, 1976).**

HLB	Usos
< 3	Filmes de superfície
3 – 6	Emulsificantes água em óleo
7 – 9	Espalhamento de líquidos em superfícies sólidas
8 – 15	Emulsificantes óleo em água
13 – 15	Detergentes
15 – 18	Solubilizantes

A classificação dos surfactantes sintéticos tem como base os grupamentos polares, os biosurfactantes são classificados com base na natureza bioquímica do composto. Os biosurfactantes podem ser classificados em cinco categorias:

- Glicolipídeos: são geralmente carboidratos combinados com ácidos alifáticos de cadeia longa ou ácidos alifáticos hidroxilados (ex.: trealose, soforo e ramícolipídeo). Eles estão envolvidos na entrada de hidrocarbonetos de baixa polaridade em células microbianas;
- Liposacarídeos: um exemplo desse tipo de bioemulsificante extracelular é o EMULSAN, com alto peso molecular e solúvel em água produzido pela bactéria hidrocarbonoclástica *Acinetobacter calcoaceticus*;

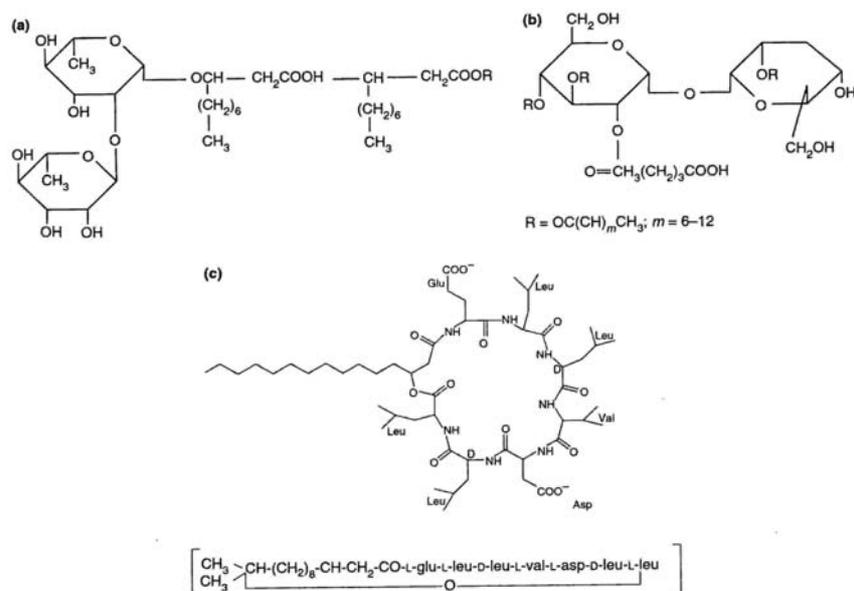
<sup>14</sup> O valor de HLB é uma indicação da solubilidade do óleo ou da água na solução. Quanto menor o valor de HLB, maior é a solubilidade do óleo na solução.

- Lipopeptídeos: o SURFACTIN, produzido pelo *Bacillus subtilis*, é o biosurfactante mais potente que já foi relatado. São bastante eficazes na redução de tensão superficial e interfacial;
- Fosfolipídeos: embora estejam presentes em todos os microrganismos, existem poucos exemplos de produção extracelular. Os mais conhecidos são produzidos por *Corynebacterium lepus*;
- Ácidos graxos e lipídeos neutros: são proteínas hidrofóbicas, como o ácido ustilágico e os ácidos corinomicólicos.

Os microrganismos produtores de surfactante mais conhecidos estão listados na Tabela 7.2, assim como alguns exemplos dessas estruturas podem ser observados na Figura 7.7.

**Tabela 7.2: Microrganismos produtores de biosurfactante (LANG, 2002).**

<b>Bactéria</b>	<b>Tipo de Surfactante</b>
<i>Acinetobacter</i> sp.	EMULSAN; ácidos graxos; mono e di-glicerídeos
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	ALASAN
<i>Alcanivorax borkumensis</i>	Glicolipídeo
<i>Arthrobacter</i> sp.	Glicolipídeo; glicopeptídeo; heteropolisacarídeo
<i>Bacillus</i> sp.	Surfactin; raminolipídeo; polimixim; antibióticos
<i>Clostridium</i> sp.	Lipídeos neutros
<i>Corynebacterium</i> sp.	Acil-glicosos; complexo de proteínas-polisacarídeos; fosfolipídeo; ácidos corinemicólicos; ácidos graxos
<i>Nocardia</i> e <i>Rhodococcus</i>	Lipídeos neutros e ácidos graxos; traloses dimicolatas; polisacarídeos
<i>Pseudomonas</i> sp.	VISCOSIN; ORNITIN; glicolipídeos



**Figura 7.7: Exemplos de estruturas de biosurfactantes. (a) Estrutura de um diraminolípido de *Pseudomonas*. R = H e R = CH<sub>3</sub> para ácido e metil-raminolípido respectivamente. (b) Estrutura de trealose-lípido produzido por *Arthrobacter* sp. (c) Estrutura do SURFACTIN produzido por *Bacillus subtilis* (Adaptado de CHRISTOFI e IVSHINA, 2002).**

#### 7.2.4.1 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

A tensão superficial é definida como a força que age na superfície de um líquido promovendo a minimização da área superficial. Tanto os surfactantes sintéticos como os biosurfactantes são capazes de reduzir a tensão superficial da água (72 mN/m) para valores na faixa entre 47 e 27 mN/m (Tabela 7.3). As medidas de tensão superficial são comumente usadas para monitorar o crescimento microbiano e existe uma grande quantidade de informações na literatura sobre tensão superficial e propriedades de emulsificação para alguns microrganismos. Contudo, é difícil comparar os dados publicados com um microrganismo específico, pois o crescimento e a produção de surfactante estão associados ao meio de cultura, pH, fonte de carbono e aeração. Um dos fatores que controlam a produção de biosurfactante é a qualidade e a quantidade da fonte de carbono (solúvel em água, hidrocarbonetos ou óleos) e nitrogênio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, uréia ou aminoácidos) no meio de cultura ou ambiente natural.

**Tabela 7.3: Comparação da tensão superficial e CMC entre biosurfactantes e surfactantes sintéticos.**

Natureza do Surfactante	Surfactante	Tensão Superficial (mN/m)	CMC (mg/L)
biológico	<i>Rhodococcus rubber</i> – glicolípídeo	26,8	54
biológico	<i>Rhodococcus erythropolis</i> – trealose dicorinomicolato	36	4
biológico	<i>Rhodococcus erythropolis</i> – trealose tetraester	26	15
biológico	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – raminolípídeo	29	50-200
biológico	<i>Torulopsis bambicola</i> – soforolípídeo	33	82
biológico	<i>Bacillus subtilis</i> – surfactin	27	23
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>			
sintético	Dodecil Sulfonato de Sódio (SDS)	37	2120
sintético	Brometo de Cetiltrimetilamônio	30	1300
sintético	Tween 20	30	600
sintético	n-Alquil Benzeno Sulfonato	47	590

Um das vantagens do uso de biosurfactantes nos processos de remediação são a de serem ecologicamente mais aceito que os surfactantes sintéticos; a biodegradabilidade; e a baixa toxicidade (Tabela 7.4).

**Tabela 7.4: Toxicidade de biosurfactantes comparada aos surfactantes sintéticos.**

Natureza do Surfactante	Surfactante	*CE <sub>50</sub> (mg/L)
biológico	<i>Rhodococcus rubber</i> AC 235 – glicolípídeo	650
biológico	<i>Rhodococcus erythropolis</i> – trealose dicorinomicolato	49
biológico	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – raminolípídeo	50
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>		
sintético	Acetato de nonilfenol-(óxido de etileno) <sub>9</sub> (EQ9)	78
sintético	Estearato de sacarose (DK50)	67
sintético	Finasol OSR-5	7
sintético	Inipol EAP 22	0,004

\*CE – concentração efetiva onde 50% dos microrganismos morrem.

#### **7.2.4.2 PRODUÇÃO E RECUPERAÇÃO DE BIOSURFACTANTE**

As bactérias hidrocarbonoclásticas podem ser facilmente isoladas de áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo e, provavelmente, algumas delas serão capazes de produzir surfactante. No isolamento usam-se hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos como única fonte de carbono em meio mineral. Estudos revelaram um grande número de microrganismos isolados por essa técnica, como as espécies de *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, e outros gêneros, são capazes de produzir biosurfactante (ROY *et al.*, 1997; BARKAY *et al.*, 1999; CHRISTOFI e IVISHINA, 2000).

A recuperação e concentração do biosurfactante do meio de cultura é que vão determinar a viabilidade da produção em grande escala. Geralmente, a baixa concentração e a estrutura do biosurfactante limitam a extração. Diferentes métodos são usados nos processos de isolamento como a ultracentrifugação, ultrafiltração, precipitação por ácido ou sal, extração por solvente e adsorção em cromatografia. Uma grande variedade de solventes (ex.: metanol, etanol, éter etílico, acetona, clorofórmio, diclorometano) tem sido usada na forma pura ou combinada nos processos de extração. As misturas mais efetivas são aquelas que utilizam clorofórmio e metanol, que facilitam no ajuste de polaridade da molécula que se pretende extrair. Contudo, o uso dessas substâncias em grande escala demandam grandes volumes de solvente o que torna o processo caro e por outro lado está sendo gerado resíduo de solvente clorado (KIM *et al.*, 1996; KUYUKINA *et al.*, 2001).

#### **7.2.4.3 APLICAÇÕES**

Devido as suas propriedades físico-químicas, os biosurfactantes são mais adequados que a maioria dos surfactantes sintéticos para o uso na indústria petroquímica, o que explica porque a maior parte da produção de biosurfactantes (estimada entre 400 a 500 toneladas/ano) é usada em processos relacionados à indústria petroquímica.

Lamas e frações de óleo pesado que se acumulam no fundo dos tanques de armazenagem de óleo são altamente viscosos ou depósitos sólidos, que não podem ser retirados pelo método convencional de bombeamento. Normalmente esse tipo de limpeza requer lavagem com solvente ou limpeza manual, sendo ambos perigosos e caros. Uma alternativa para esse processo de limpeza é a formação de uma emulsão óleo-em-água pelo uso de surfactantes, promovendo a remoção da lama pelo processo de bombeamento e recuperando o resíduo após a quebra da emulsão. A

aplicação de biosurfactantes nesse processo foi identificada no início da década de 70. Nos anos 80 foram relatados os primeiros estudos em pequena escala do uso do EMULSAN (produzido pelo *Acinetobacter calcoaceticus*) na limpeza de vasos contaminados por óleo (BOGNOLO, 1999).

A formação de emulsões óleo-em-água estáveis pela ação microbiana pode promover a degradação do óleo, pois a diluição do composto em água aumenta a disponibilidade do nutriente. No solo é possível promover o fenômeno da solubilização através do estímulo da população microbiana autóctone para a produção de surfactante. A inoculação de microrganismos produtores de surfactante também é uma alternativa. Contudo existem processos de competição entre os microrganismos autóctones e os inoculados, assim como o tempo de adaptação as condições ambientais. Em processos de remediação *in situ* não é necessário o uso do biosurfactante purificado, uma vez que os nutrientes do meio de cultura, além das bactérias produtoras de surfactante ajudam a promover a biodegradação. Por razões óbvias, se a fonte de carbono da produção de biosurfactante for um hidrocarboneto (ex.: n-hexadecano, n-parafinas) é recomendável que seja feita a remoção dos hidrocarbonetos do meio de cultura para que a solução possa ser utilizada na recuperação de solo e/ou lençol freático contaminados (ROY *et al.*, 1997).

### **7.3 COMENTÁRIOS FINAIS**

Vários tensoativos têm sido testados em diferentes tipos de solo e poluentes. Embora os tensoativos estimulem a degradação de poluentes hidrofóbicos, ainda não há uma tendência geral para a utilização desses resultados. Por esse motivo é necessário que seja feito um número maior de ensaios de laboratório. Os resultados obtidos poderão auxiliar em situações de campo mais complicadas.

A aplicação de tensoativos é uma das poucas tecnologias que aumenta a biodisponibilidade do poluente e poderá ser usado juntamente com a biorremediação de solo.

## 8. MATERIAL E MÉTODOS II

### 8.1 CARACTERIZAÇÃO DA AREIA

#### 8.1.1 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A granulometria do material foi determinado através do ensaio de peneiramento segundo o procedimento descrito pela norma NBR 7181/84 (Análise Granulométrica). A amostra foi inicialmente seca em estufa a 105°C por 24h para a correta determinação da fração fina da areia.

#### 8.1.2 PERMEABILIDADE

A permeabilidade da areia foi medida em laboratório através do método de carga constante, onde uma amostra de solo é colocada entre dois reservatórios de água, cujos níveis de água são mantidos constantes e com uma diferença de altura **h**. O coeficiente de permeabilidade (*k*) foi determinado medindo-se a quantidade de água que atravessou em um determinado tempo a amostra de solo, de seção e altura conhecidas, através da seguinte equação:

$$k = \frac{Q L}{A h}$$

Onde:

Q = vazão (cm<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>)

L = comprimento da amostra de solo (cm)

A = seção da amostra de solo (cm<sup>2</sup>)

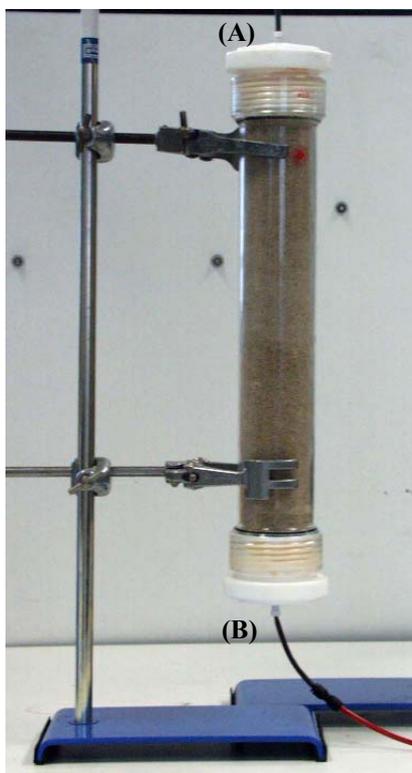
h = altura da carga hidráulica (cm)

### 8.2 ENSAIO DE COLUNA – OXIDAÇÃO QUÍMICA POR KMnO<sub>4</sub>

#### 8.2.1 SATURAÇÃO DA COLUNA

Os ensaios foram conduzidos em coluna de vidro com 30 cm de comprimento e 5cm de diâmetro interno. Para cada ensaio, a coluna foi preenchida com areia lavada e seca. A areia era pluviada pelo topo da coluna utilizando um copo com um orifício na base de 2 mm de diâmetro. Durante o processo de preenchimento da coluna era feita à compactação da areia pelo processo de vibração. Para reter a areia dentro da

coluna, foram utilizadas tampas de Teflon<sup>®</sup> nas duas extremidades, seladas por um anel de borracha, Figura 8.1.



**Figura 8.1: Coluna de vidro preenchida com areia. (A) entrada superior e (B) entrada inferior.**

Após o fechamento da coluna, determinou-se o peso seco da coluna mais areia. Uma vez determinado o peso seco, iniciou-se a injeção de água destilada pela entrada inferior, utilizando bomba peristáltica, a uma vazão de 0,7 mL/min. Após saturação verificou-se o peso da coluna. O processo de injeção de água só terminou quando se obteve peso constante na coluna, admitindo-se como condição de saturação. A determinação do volume de vazios ( $V_v$ ) da coluna é dado pela expressão:

$$V_v = \frac{\text{Peso}_{\text{coluna saturada}} - \text{Peso}_{\text{coluna seca}}}{\text{Peso}_{\text{específico da água}}}$$

Uma vez saturada a coluna, foi injetado PCE (grau analítico, pureza > 99%, Aldrich Chemical), também no sentido base -topo, a 0,7 mL/min. Para fins de visualização foi adicionado 0,01 g/L de corante Oil-Red (Fisher Scientific) ao PCE. Para determinar a

quantidade de PCE injetado era necessário colocá-lo em uma proveta graduada de 250 mL. Quando o PCE atingiu o topo da coluna, registrou-se o volume de PCE injetado na coluna. Em seguida, injetou-se água pela entrada superior, purgando PCE na fase livre pelo fundo da coluna. O PCE purgado era recolhido em proveta de 250 mL graduada. A injeção de água foi interrompida quando não havia PCE saindo na fase livre no efluente da coluna. Registrou-se o volume de PCE purgado. A determinação do volume de PCE residual na coluna é obtida pela expressão:

$$\text{PCE}_{\text{residual}} = \text{PCE}_{\text{injetado}} - \text{PCE}_{\text{purgado}}$$

## 8.2.2 ENSAIO DE OXIDAÇÃO QUÍMICA

Foram realizados experimentos de oxidação química através da utilização de solução  $\text{KMnO}_4$  em diferentes concentrações (1, 5, 25 mM). As soluções foram preparadas a partir da dissolução do sal de  $\text{KMnO}_4$  (grau analítico, Riedel-de-Haën) em solução 250 mM de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (grau analítico, Sigma-Aldrich) a pH 9. A solução de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  foi utilizada a fim de manter o pH do meio na faixa alcalina para neutralizar o ácido gerado durante a reação e também evitar a formação de  $\text{CO}_2$ . As amostras de efluente coletadas para análise cromatográfica eram feitas em frascos de vidro contendo solução 1N de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (grau analítico, Baker). A solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  era utilizada com a finalidade de interromper a reação entre PCE e o  $\text{KMnO}_4$ . Os frascos eram fechados e identificados para posterior análise cromatográfica. Todas as soluções aquosas utilizadas nos experimentos foram preparadas com água deionizada.

A injeção da solução de permanganato foi feita imediatamente após o ensaio com o traçador conservativo (item 8.3), no sentido topo-base na vazão de 2,0 mL/min. Para cada ensaio de oxidação, foi injetado o correspondente a 74 volumes de vazios de solução de permanganato, com duração aproximada de 120 horas. Os ensaios foram feitos ininterruptamente. Amostras do efluente foram coletadas em intervalos de tempo de 30 minutos para determinação de pH, concentração de PCE e  $\text{KMnO}_4$ . Ao final da injeção de solução de permanganato, foi feita lavagem da coluna com quatro volumes de vazios de água deionizada, seguida de outro ensaio com traçador conservativo.

### 8.2.3 EXTRAÇÃO DO PCE

Ao final do ensaio o PCE que não reagiu foi extraído com n-hexano para posterior quantificação por cromatografia gasosa (item 8.4.1).

## 8.3 ENSAIO COM TRAÇADOR DE BROMETO

Esse ensaio avalia o impacto da precipitação de  $MnO_2$  na permeabilidade do meio e da remoção de PCE da coluna, baseado na mudança do tempo de retenção de  $Br^-$  na coluna, antes e depois da injeção de solução oxidante.

Foi utilizada solução 300 ppm de KBr (grau analítico, Sigma-Aldrich), injetada no sentido topo-base da coluna durante 30 minutos, a uma vazão de 2,5 mL/min. Amostras do efluente foram coletadas em frascos de vidro com tampa rosqueada, em intervalos de 5 minutos, durante 120 minutos, para posterior análise de quantificação de brometo ( $Br^-$ ). A partir do gráfico de concentração de  $Br^-$  x tempo, determina-se a diferença de tempo entre os máximos das duas curvas.

## 8.4 DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS

### 8.4.1 QUANTIFICAÇÃO DE PCE

A concentração de PCE nas amostras de efluente baseou-se na quantificação feita utilizando-se cromatografia gasosa. O aparelho utilizado na análise foi um cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama, da marca Agilent, modelo 6850.

As condições de análise foram:

- Coluna capilar de sílica fundida HP1 Agilent Technologies: 30 m de comprimento; 0,32  $\mu m$  de espessura de filme.
- Gás de arraste: hélio (99,99%), com fluxo de 20 mL.min<sup>-1</sup> e pressão de 18,42 psi no injetor.
- Gás do detector: ar e hidrogênio (99,99%), com fluxo de 40 mL.min<sup>-1</sup> e 400 mL/min respectivamente
- Injetor: 150° C, sem divisão de fluxo (*splitless*)

- Detector: 250° C
- Programação de temperatura no forno: iniciou a 60° C, onde permaneceu por 3 minutos. A temperatura foi aumentada até 95° C a 35°C.min<sup>-1</sup>, sendo o tempo final de corrida de 5 minutos.
- Volume de amostra injetado: 50 µL de *head space*.

A concentração de PCE nas amostras baseou-se na quantificação feita utilizando-se curva de calibração.

#### **8.4.2 QUANTIFICAÇÃO DE Br<sup>-</sup>**

As medidas de concentração de Br<sup>-</sup> das amostras de efluente do ensaio de traçador (Item 8.3) foram feitas utilizando eletrodo de brometo modelo Cole Palmer – Combination Electrode, acoplado a medidor portátil modelo Oakton Ion 5 / Acorn series meters.

#### **8.4.3 QUANTIFICAÇÃO DE KMnO<sub>4</sub>**

As concentrações de KMnO<sub>4</sub> foram determinadas utilizando espectrofotômetro modelo Unicam 8620 UV/Visible, no comprimento de onda de 526nm, a partir de curva de calibração de KMnO<sub>4</sub> em água.

### **8.5 PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE**

#### **8.5.1. ACINETOBACTER**

Para a produção de biosurfactante (Ac) utilizou-se a cepa de *Acinetobacter* sp. isolada da praia da Ribeira. As cepas foram retiradas dos tubos de Agar inclinado (item 3.2) e inoculadas em meio específico para *Acinetobacter* (Baumann, 1968). As amostras ficaram sob agitação por 3 dias a temperatura ambiente. Em seguida, as bactérias foram inoculadas em meio específico para produção de biosurfactante, de composição (g/L): acetato de sódio tri hidratado 3,0; KNO<sub>3</sub> 3,0; MgSO<sub>4</sub> 0,2; em solução tampão 0,04 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a pH 5,5. A cultura foi mantida em agitação por 7 dias a temperatura ambiente, adquirindo o aspecto mostrado na Figura 8.2. Ao final dos sete dias, era retirada uma alíquota do meio de cultura para nova inoculação no meio

específico para produção de biosurfactante. O material restante era separado para posterior purificação.



**Figura 8.2: Aparência do meio de cultura para produção de biosurfactante Ac após crescimento bacteriano.**

### **8.5.2 RHODOCOCCLUS**

Para a produção de biosurfactante (R) utilizou-se a cepa de *Rhodococcus* I24 isolada de um campo petrolífero nos Estados Unidos pelo grupo de pesquisa do Dr. John Archer (Laboratório de Genética da Universidade de Cambridge). As cepas foram inoculadas em meio líquido de composição (g/L):  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3,0;  $\text{NaCl}$  1,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  4,0;  $\text{MgSO}_4$  0,2;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,02g;  $\text{FeCl}_3$  0,002;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0,002 a pH 7. Como fonte de carbono foi utilizada glicose na concentração de 100 mM. Também foi adicionado ao meio 20 mL por litro da solução de oligoelementos de composição (g/L):  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5;  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,2;  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  0,2;  $(\text{NH}_4)_7\text{Mo}_6\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0,1. A cultura foi mantida sob agitação por 5 dias a temperatura de 28°C. Ao final do quinto dia, era retirada uma alíquota do meio de cultura para nova inoculação no meio líquido e o material restante era separado para posterior purificação.

## 8.6 PURIFICAÇÃO DO BIOSURFACTANTE (Ac)

O material separado no item anterior era transferido para erlenmeyer e levado à fervura por 30 minutos. Após resfriamento a solução era filtrada em funil de buchner, utilizando papel de filtro Whatman® 42. O material filtrado era colocado em garrafa estéril e preservado em geladeira à temperatura de 5°C.

## 8.7 PURIFICAÇÃO DO BIOSURFACTANTE (R)

O material separado no item A.4 era transferido para tubos de centrifuga para posterior centrifugação a 4000 rpm por 15 minutos. Após centrifugação, separava-se o sobrenadante e descartava-se o precipitado. Posteriormente, filtrava-se o sobrenadante em membrana 0,45 µm, de acetato de celulose. O filtrado era estocado em geladeira a temperatura de 5°C.

## 8.8 DOSAGEM DE SURFACTANTE – MÉTODO FENOL SULFÚRICO

As bactérias do gênero *Acinetobacter* e *Rhodococcus* sintetizam biosurfactantes contendo açúcares (Shafi & Khana, 1995, Kim *et al.*, 1996, Toren *et al.*, 2001). A técnica de dosagem de carboidrato total foi usada para determinar a concentração de surfactante na solução.

Inicialmente preparou-se a solução padrão de glicose utilizando 0,01 mg de glicose (P.A., Fischer) em 100 mL de água destilada. Utilizando a solução padrão de glicose, foram preparadas 6 diluições: 10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg/L. Em tubo de ensaio, adicionou-se 2mL de cada solução de glicose, 1,0 mL de solução 5% de fenol e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (Merck). Para o branco usou-se 2 mL de água destilada, 1,0 mL de solução 5% de fenol e 5 mL de de ácido sulfúrico. Todas as soluções foram preparadas em triplicata. Após 10 minutos de reação, os tubos foram colocados em banho de água por mais 15 minutos. A leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 492 nm. O aparelho utilizado foi o Espectrofotômetro Bausch & Lomb Spectronic 20D.

A determinação da concentração da amostra foi feita da seguinte maneira: em tubo de ensaio, adicionou-se 2mL de solução de surfactante, 1,0 mL de solução de fenol e 5,0 mL de ácido sulfúrico. Após 10 minutos de reação, os tubos foram colocados em

banho de água por mais 15 minutos. A leitura de absorvância foi feita em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 492 nm. As amostras eram preparadas em triplicata.

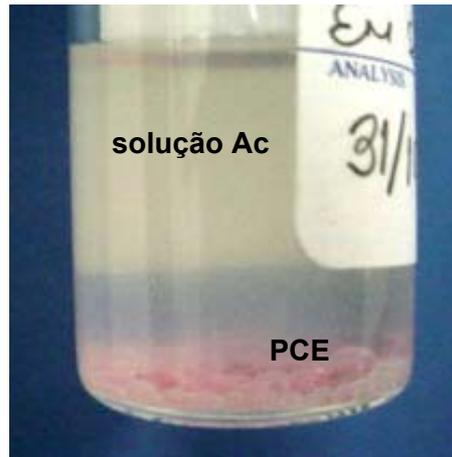
A determinação da concentração de glicose na solução de surfactante (mg/L) foi feita utilizando a curva de calibração de absorvância x concentração de glicose.

## **8.9 DETERMINAÇÃO DE TENSÃO SUPERFICIAL E INTERFACIAL**

A determinação das tensões interfacial e superficial do surfactante foi feita pelo método da gota pendente. Os ensaios foram realizados pelo Departamento de Polímeros e Colóides da Universidade de Cambridge, utilizado o aparelho FTÁ200 flexible video system. Esse aparelho é capaz de capturar o comportamento estático e dinâmico das interações entre líquidos. As tensões superficiais e interfaciais dos biosurfactantes foram calculadas entre a solução de biosurfactante e ar, e a solução de biosurfactante e PCE, respectivamente (Wege *et al.*, 2002).

## **8.10 ENSAIOS DE BATELADA – SURFACTANTE / PCE**

A determinação da solubilidade de PCE nos surfactantes Ac e R foi feita por ensaio de batelada (Figura 8.3). Em frascos rosqueados, selados com septos de silicone e *liner* de Teflon<sup>®</sup>, foram colocados 20 mL de biosurfactante e PCE em quantidades que variavam de 0,01 a 1g. O material foi deixado sob agitação por 48 horas a temperatura de 20°C. Foram coletados 5 mL de solução de cada frasco, seguido de três extrações com 5 mL de n-hexano. A fase orgânica foi reservada para posterior quantificação por cromatografia gasosa (item 8.4.1).



**Figura 8.3: Ensaio de determinação do aumento da solubilidade de PCE em solução de biosurfactante Ac.**

## **8.11 ENSAIO DE COLUNA – SURFACTANTE / PCE**

### **8.11.1 SATURAÇÃO DA COLUNA**

A saturação da coluna foi feita de acordo com o Item 8.2.1.

### **8.11.2 ENSAIO DE SOLUBILIZAÇÃO/MOBILIZAÇÃO POR BIOSURFACTANTE**

Foram realizados experimentos através da utilização de biosurfactante (Ac e R). As soluções de biosurfactantes foram preparadas de acordo com o Item 8.5, e purificadas de acordo com os Itens 8.6 e 8.7. A injeção da solução de biosurfactante foi feita imediatamente após o ensaio com o traçador conservativo (item 8.3), no sentido topo-base na vazão de 0,7 mL/min. Para cada ensaio foi injetado o correspondente a 10 volumes de vazios de solução de biosurfactante. Amostras do efluente foram coletadas em intervalos de tempo de 30 minutos para determinação da concentração de PCE. Ao final da injeção da solução de biosurfactante, foi feita lavagem da coluna com 4 volumes de vazios de água deionizada, seguida de outro ensaio com traçador conservativo.

### **8.11.3 EXTRAÇÃO DO PCE**

Ao final do ensaio o PCE que não foi solubilizado/mobilizado foi extraído com n-hexano para posterior quantificação por cromatografia gasosa (Item 8.4.1).

## 9. RESULTADOS E DISCUSSÕES DE REMEDIAÇÃO DO PCE

### 9.1 CARACTERIZAÇÃO DA AREIA

A areia utilizada nos experimentos pode ser caracterizada a partir da curva granulométrica que pode ser observada na Figura 9.1. A areia foi classificada como areia média ( $D_{10}= 0,4$  mm;  $D_{50}= 0,51$  mm;  $D_{60}/D_{10}= 1,3$ ) e cujo coeficiente de permeabilidade é de  $3,9 \times 10^{-5} \text{ m.s}^{-1}$ .

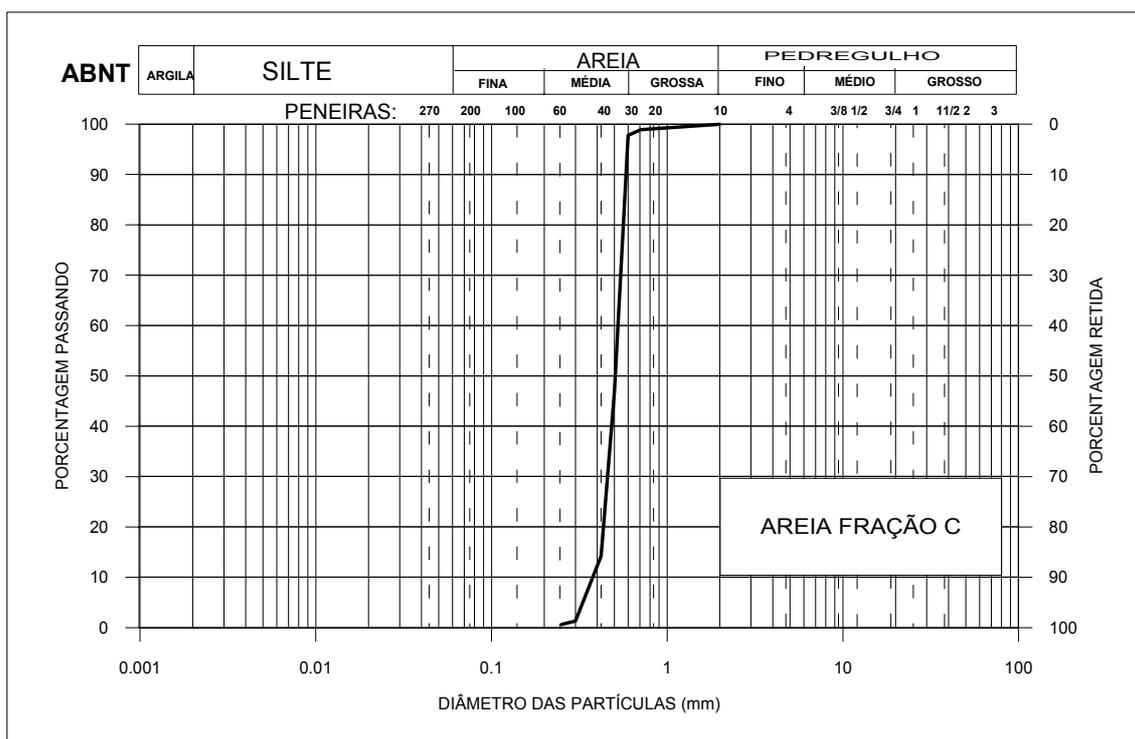


Figura 9.1: Curva granulométrica da areia fração C.

### 9.2 OXIDAÇÃO QUÍMICA POR $\text{KMnO}_4$

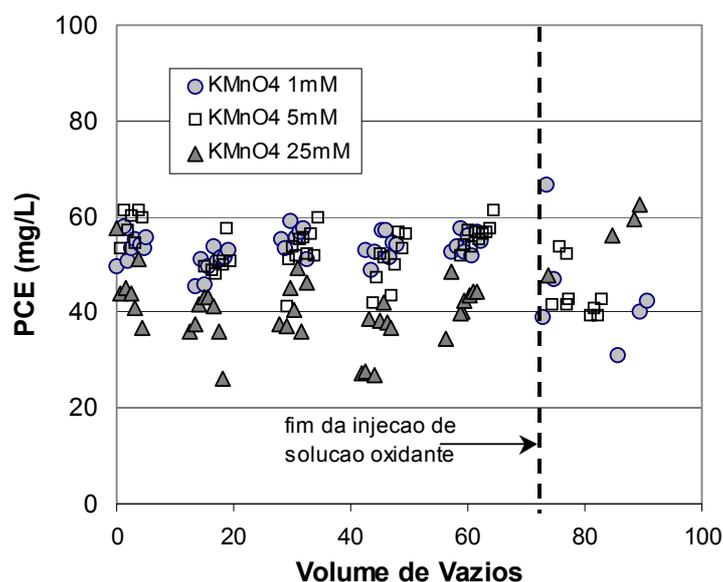
Foram realizados 6 ensaios de oxidação de PCE por solução de permanganato de potássio nas concentrações de 1, 5, 25 mM. As condições iniciais de cada experimento são mostradas na Tabela 9.1, com valor médio para peso específico seco da areia de  $21,4 \text{ kN/m}^3$ .

**Tabela 9.1: Condição experimental dos ensaios de coluna utilizando permanganato de potássio.**

Parâmetro	Ensaio Ox 1	Ensaio Ox 2	Ensaio Ox 3	Ensaio Ox 4	Ensaio Ox 5	Ensaio Ox 6
Solução de $\text{KMnO}_4$ (mM)	25	5	1	25	5	1
Volume de vazios (mL)	198,3	193,3	197,9	199,5	195,5	201,8
Porosidade	0,34	0,33	0,34	0,34	0,33	0,34
Saturação PCE (%)	16,6	20,7	16,2	17,04	17,5	15,18

### 9.2.1 ANÁLISE DO EFLUENTE

A Figura 9.2 mostra o resultado das análises de PCE no efluente durante os ensaios de oxidação com  $\text{KMnO}_4$ . Nos ensaios onde foram utilizadas as soluções 1 e 5 mM de  $\text{KMnO}_4$  praticamente não houve variação na concentração média de PCE. A concentração de PCE no efluente variou entre  $53,6 \pm 4,8$  mg/L e  $54,3 \pm 5,7$  mg/L para as soluções de injeção de  $\text{KMnO}_4$  a 5mM e a 1 mM, respectivamente. No ensaio onde foi utilizada solução de  $\text{KMnO}_4$  a 25 mM o valor médio da concentração de PCE no efluente caiu para  $39,6 \pm 6,1$  mg/L.



**Figura 9.2: Concentração de PCE no efluente, em função do volume de vazios de solução injetada, durante os ensaios de oxidação por  $\text{KMnO}_4$ . Os intervalos entre as leituras referem-se aos horários noturnos.**

A Figura 9.3 mostra a taxa de utilização de  $\text{KMnO}_4$  em função do volume de vazios de solução injetada, onde  $C_o$  é a concentração inicial de  $\text{KMnO}_4$  e  $C$  a concentração de  $\text{KMnO}_4$  no efluente. Pode-se verificar que cerca de 80% do permanganato injetado nos sistemas não foi consumida e que o aumento de 5 vezes na concentração de  $\text{KMnO}_4$  não representa o correspondente aumento da taxa de consumo de  $\text{KMnO}_4$  durante a reação.

A Figura 9.4 apresenta os resultados de pH medidos no efluente durante as os ensaios de oxidação do PCE por solução de  $\text{KMnO}_4$ . O pH do efluente nos ensaios onde foram utilizadas soluções 5 e 25 mM de  $\text{KMnO}_4$  foi de 7,8, aproximadamente. É importante ressaltar que as soluções de  $\text{KMnO}_4$  eram preparadas a pH 9,0. No ensaio onde foi utilizada solução de  $\text{KMnO}_4$  a 1 mM, o valor médio do pH no efluente é de 8,6. Embora haja diferença nos valores de pH do efluente, verifica-se que o comportamento do pH é estável ao longo da injeção de solução oxidante.

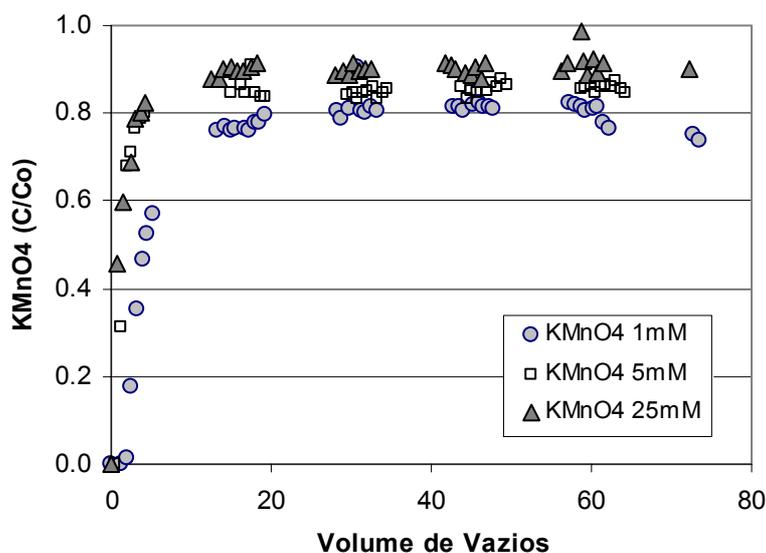
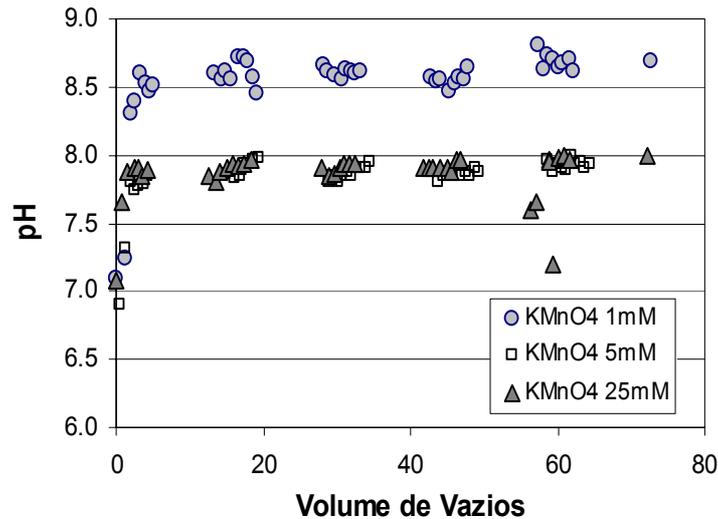


Figura 9.3: Taxa de  $\text{KMnO}_4$  não consumido em função do volume de vazios de solução injetada, durante os ensaios de oxidação por  $\text{KMnO}_4$ . Os intervalos entre as leituras referem-se aos horários noturnos.



**Figura 9.4:** Variação de pH no efluente durante a injeção da solução de  $\text{KMnO}_4$ . Os intervalos entre as leituras referem-se aos horários noturnos.

### 9.2.2 ENSAIO DE TRAÇADOR

A variação da permeabilidade dos meios porosos foi estimada a partir da diferença entre o tempo que o traçador atravessa a coluna, antes e após a injeção de solução oxidante. Nos experimentos onde foram utilizadas soluções de  $\text{KMnO}_4$  a 5 e 1 mM, a redução de permeabilidade ficou em 18% e 10% , respectivamente. As Figuras 9.5 e 9.6 mostram a concentração relativa ( $C/C_0$ ) do traçador em função do tempo, antes e após a injeção de 74 volumes de vazios de solução de  $\text{KMnO}_4$  a 5 e 1 mM.

Nos experimentos onde se utilizou solução de  $\text{KMnO}_4$  25mM, não foi possível medir a passagem do traçador através da coluna. Acredita-se que o entupimento da coluna durante a injeção da solução de KBr, pode ter sido provocado pelo excesso de partículas de  $\text{MnO}_2$  no meio.

Durante o ensaio de oxidação a vazão de entrada, que é mantida constante durante todo o ensaio através da bomba peristáltica, é de 2,0 mL/min. Como no ensaio com traçador a vazão de entrada é de 2,5 mL/min, a velocidade de Darcy é aumentada de 25%, o que vai promover o deslocamento das partículas de  $\text{MnO}_2$  eventualmente provocando o entupimento da coluna durante o ensaio.

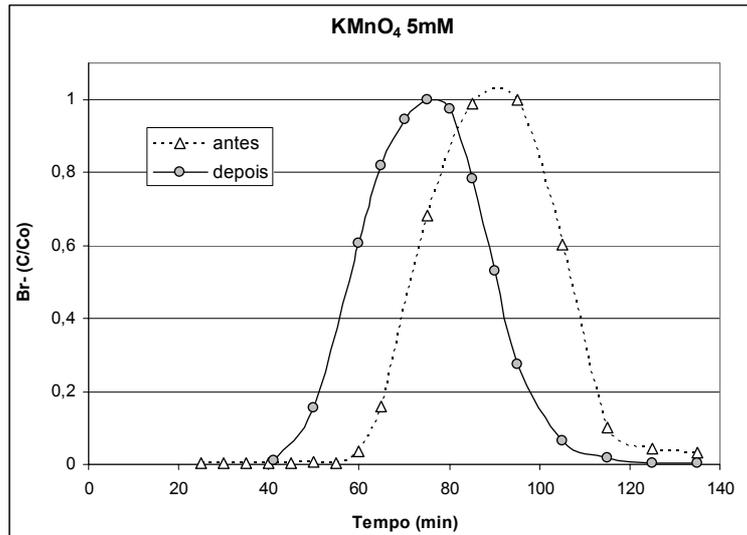


Figura 9.5: Variação da concentração de brometo no efluente pelo tempo no ensaio utilizando solução 5 mM de KMnO<sub>4</sub>.

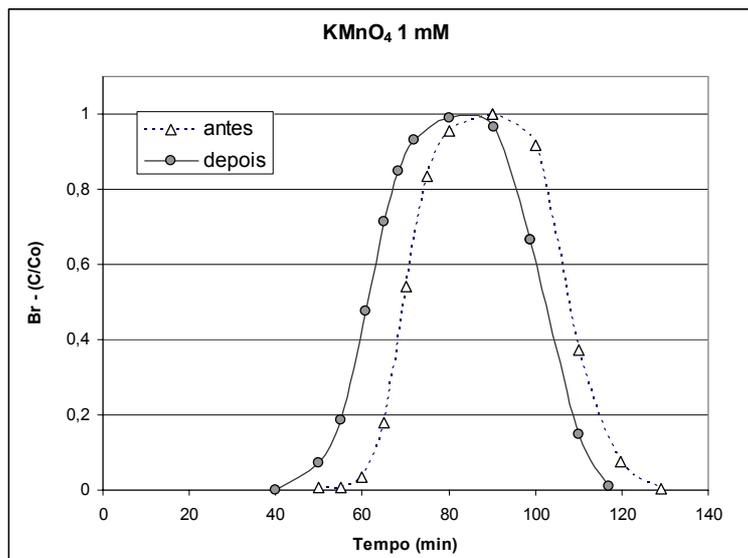


Figura 9.6: Variação da concentração de brometo no efluente pelo tempo no ensaio utilizando solução 1 mM de KMnO<sub>4</sub>.

### 9.2.3 PCE REMOVIDO

Ao final dos ensaios de oxidação o PCE que não foi oxidado era quantificado (PCE<sub>final</sub>). A determinação do PCE<sub>removido</sub> era feita pela diferença entre o PCE<sub>inicial</sub>

(quantidade injetada na coluna) e o PCE<sub>final</sub> (quantidade extraída da coluna após ensaio de oxidação). A Tabela 9.2 apresenta os valores de PCE<sub>removido</sub> e a concentração de PCE no efluente obtidos nos ensaios de oxidação por KMnO<sub>4</sub>.

**Tabela 9.2: Resultados de redução de PCE na coluna após injeção de solução oxidante.**

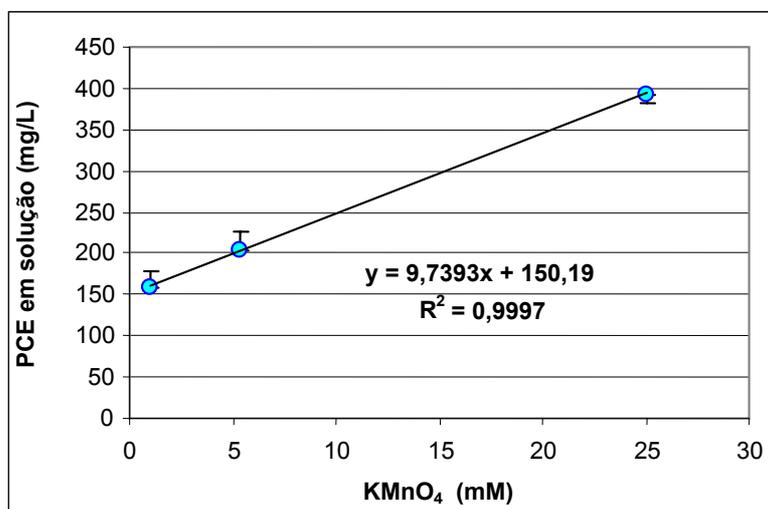
Ensaio	KMnO <sub>4</sub> (mM)	PCE no efluente (mg/L) <sup>(a)</sup>	PCE <sub>removido</sub> (%)
Ox 1	25	59,3	65,8
Ox 2	5	44,0	29,8
Ox 3	1	41,3	26,3
Ox 4	25	63,2	64,3
Ox 5	5	45,7	32,3
Ox 6	1	39,5	23,1

<sup>(a)</sup> valor médio de PCE no efluente após injeção de solução oxidante.

Os melhores resultados de oxidação de PCE foram obtidos utilizando a solução 25mM de KMnO<sub>4</sub>. com a de PCE na coluna em 65,8%. Nos ensaios onde foram utilizadas soluções de KMnO<sub>4</sub> nas concentrações de 1 e 5 mM, observa-se que para baixas concentrações de KMnO<sub>4</sub> seria necessário o aumento do volume de solução injetada, o que significa aumentar também o tempo de injeção, para alcançar valores semelhantes ao dos ensaios utilizando KMnO<sub>4</sub> a 25 mM. Ao mesmo tempo, verifica-se que a eficiência do processo não é satisfatória na eliminação da fonte de contaminação, se comparados com os padrões internacionais (i.e. *British Environmental Agency*). Os valores permitidos para PCE em corpos hídricos não ultrapassam 10 µg/L, e nesse caso, o PCE residual, após uso de solução oxidante, continuaria como fonte de contaminação a longo termo, gerando um efluente no mínimo 400 vezes acima do limite permissível.

A partir dos dados obtidos durante os ensaios (concentração de PCE e KMnO<sub>4</sub>) foi possível determinar a contribuição da reação de oxidação no aumento da solubilidade do PCE. A solubilidade do PCE em solução é calculada através da soma da concentração média de PCE no efluente com a quantidade de PCE que reage com o permanganato. Quer dizer, a diferença entre a concentração de KMnO<sub>4</sub> na entrada da coluna menos a concentração de saída, representa a quantidade de KMnO<sub>4</sub> que reagiu com PCE. Utilizando a equação 7.2 (Capítulo 7) é possível determinar a

quantidade de PCE consumida durante a reação. A Figura 9.7 mostra o comportamento do PCE em solução em função da concentração da solução de  $\text{KMnO}_4$ .

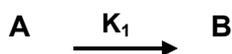


**Figura 9.7: Aumento da solubilidade do PCE em função da concentração de  $\text{KMnO}_4$  na solução.**

Analisando a Figura 9.7 verifica-se que entre 1 e 25 mM de  $\text{KMnO}_4$  a reação apresenta um perfil linear, segundo a equação:

$$\text{PCE em solução (mg/L)} = 9,74 \times \text{KMnO}_4 \text{ (mM)} + 150 \quad (\text{eq. 9.1})$$

Estudo realizado por HOOD *et al.* (2000) e HUANG *et al.* (2001) mostram que a reação quando a concentração de  $\text{KMnO}_4$  está em excesso em relação ao PCE e se mantém constante durante a reação, a reação se comporta como pseudo primeira ordem. Ou seja, a substância A se transforma em B, onde  $K_1$  é o constante de degradação de A (LADD, 1998).



Sendo que a velocidade de degradação de A pode ser expressa pela equação 9.2.

$$d[\text{A}]_t / dt = - K_1 [\text{A}]_t \quad (\text{eq. 9.2})$$

Nesse caso, assume-se que no tempo  $t = 0$  as concentrações das espécies são  $[A]_0$  e 0, respectivamente, logo, a eq. 9.1 pode ser integrada para:

$$[A]_t = [A]_0 e^{-K_1 t} \quad (\text{eq. 9.3})$$

Onde:

$[A]_0$  – a concentração de PCE no tempo 0, obtida pela eq. 9.1

$[A]_t$  – a concentração de PCE na saída da coluna

$t$  – o tempo em que a solução de permanganato leva para atravessar a coluna

$K_1$  – constante de degradação do PCE

Com os valores de PCE obtidos pela equação 9.1, o valor médio da concentração de PCE medida no efluente e o tempo que a solução de  $\text{KMnO}_4$  atravessava a coluna foi possível determinar o  $K_1$  do PCE nas concentrações de  $\text{KMnO}_4$  de 1, 5 e 25 mM.

A Tabela 9.3 apresenta os valores  $K_1$  em função da concentração de  $\text{KMnO}_4$ . Como pode ser observado, os valores de  $K_1$  aumentam em função do aumento da concentração da solução de  $\text{KMnO}_4$ .

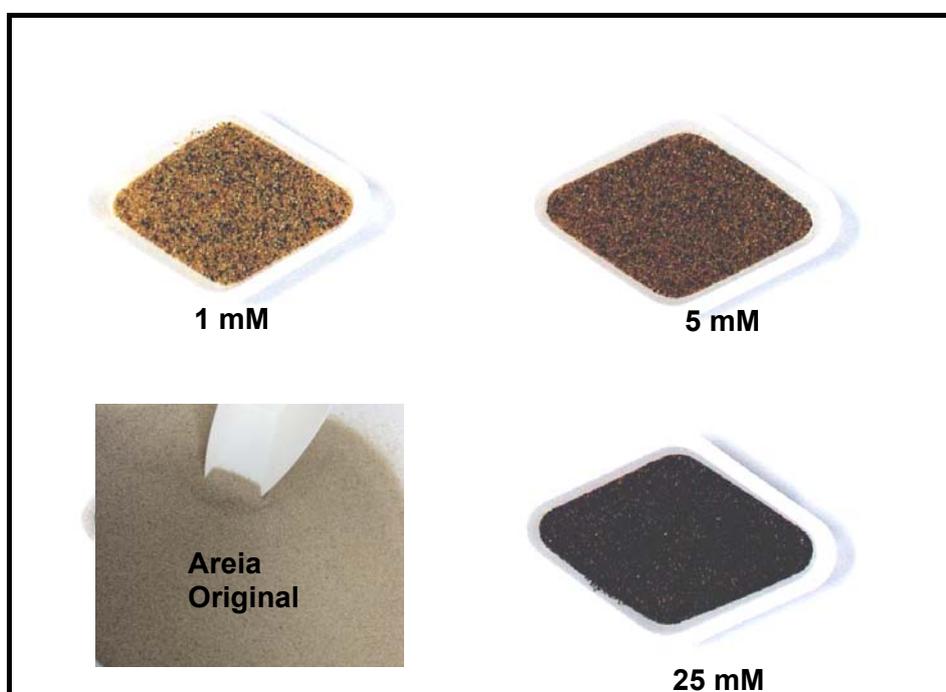
**Tabela 9.3: Valores do coeficiente de velocidade de degradação ( $C_v$ ) de PCE em função da concentração de permanganato na solução.**

$\text{KMnO}_4$ (mM)	$K_1$ ( $10^{-4}\text{s}^{-1}$ )
1	1,7
5	2,3
25	3,9

Embora os resultados obtidos estejam muito acima dos padrões de qualidade ambiental, são bastante promissores. De maneira geral, os ensaios mostram que para a obtenção de melhores resultados de degradação de PCE em fase residual, é necessária a utilização de soluções concentradas de  $\text{KMnO}_4$ . Contudo, grande parte do permanganato não é consumida durante o processo de injeção. Em termos práticos, poder-se-ia pensar na reinjeção da solução de permanganato no sistema, a fim de minimizar os gastos com matéria prima. A adição de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  a 250 mM

mostrou ser eficiente na manutenção do pH do sistema na faixa alcalina e evitando a formação  $\text{CO}_2$  dentro da coluna. O aumento de pressão dentro da coluna poderia provocar a ruptura e alteração das propriedades hidráulicas do meio poroso, como foi verificado previamente por SCHNARR *et al.* (1998).

Outro dado importante é a diminuição na permeabilidade do meio. Se a taxa de conversão de  $\text{MnO}_4^-$  em  $\text{MnO}_2$  dentro da coluna for aumentada, a superfície de contato do PCE na fase livre com o meio aquoso diminuirá, reduzindo a transferência de massa de PCE para o meio aquoso. A Figura 9.8 mostra a diferença na coloração da areia antes e após a reação com  $\text{KMnO}_4$ . A coloração marrom da areia, após o ensaio de oxidação, está relacionada à quantidade de  $\text{MnO}_2$  precipitado.



**Figura 9.8: Alteração da coloração da areia ao final dos ensaios. A coloração marrom representa a cobertura dos grãos de areia com  $\text{MnO}_2$ .**

Existe uma área potencial de estudo relativa ao reaproveitamento da solução de permanganato coletada no efluente. Uma vez garantida a eliminação do PCE na solução efluente, a remoção do material precipitado, a correção da concentração de  $\text{KMnO}_4$  e viabilidade econômica dessa operação, não haveria nenhum impedimento na reinjeção da solução. Os valores de  $K_1$  obtidos nos ensaios de degradação poderão ser utilizados em programas de modelagem numérica para prever o deslocamento da

pluma, melhor distribuição de poços de injeção e bombeamento e estimar o tempo de duração do processo, entre outros.

### 9.3 SOLUBILIZAÇÃO E MOBILIZAÇÃO USANDO BIOSURFACTANTE

#### 9.3.1 DETERMINAÇÃO DE TENSÃO SUPERFICIAL E INTERFACIAL

A análise de açúcares totais foi usada para determinar a concentração do biosurfactante na solução de injeção. A concentração de açúcares nas soluções de **Ac** e **R**, determinada pelo método fenol sulfúrico, foram de 29,4 e 42,7 mg/L respectivamente. O resultado dos ensaios de tensão superficial pode ser observado na Figura 9.9.

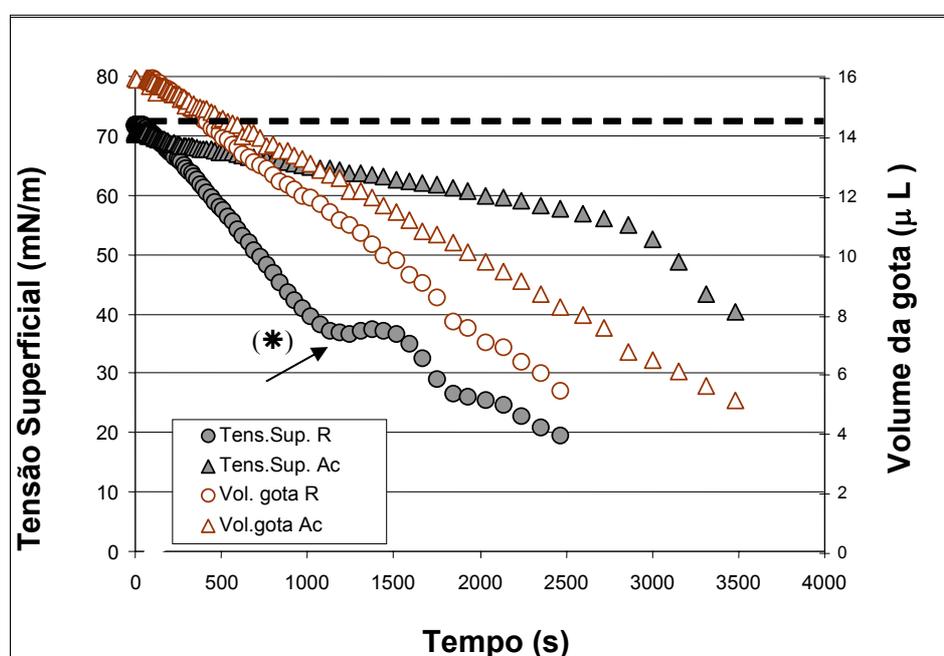


Figura 9.9: Determinação da tensão superficial e volume da gota dos biosurfactantes **Ac** e **R** pelo método da gota pendente. A linha pontilhada representa o valor da tensão superficial da água. (\*) representa o ponto de mudança de viscosidade do biosurfactante **R**.

O biosurfactante **R** reduz a tensão superficial da água de 72 para 20 mN/m e **Ac** de 72 para 40mN/m. Contudo, ao final do experimento com **R**, foi observado que após os 15 primeiros minutos do ensaio de gota pendente, houve mudança na viscosidade da amostra (líquido para gel). O mesmo fato que não foi observado com **Ac**.

Os ensaios de tensão interfacial mostraram que **Ac** e **R** reduzem a tensão interfacial de PCE e água de 44 para 20 e 25 mN/m, respectivamente (Figura 9.10).

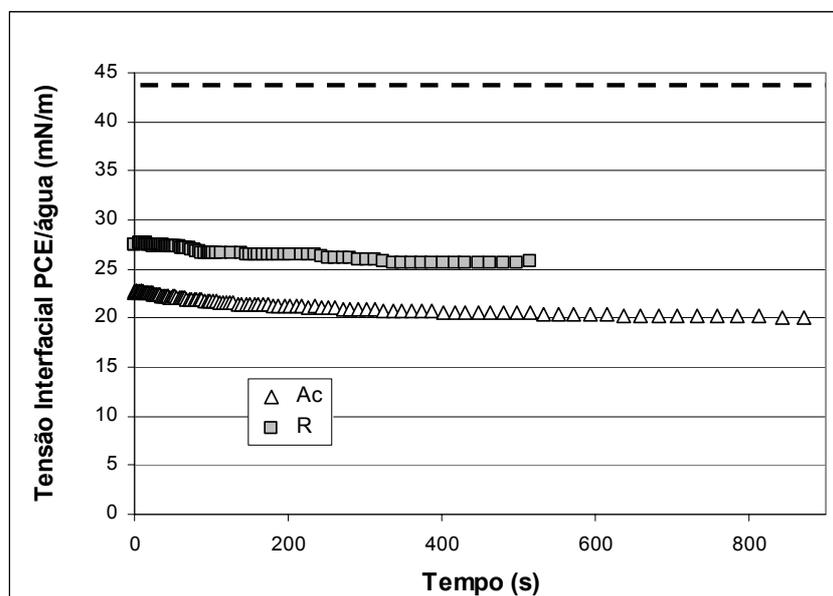


Figura 9.10: Determinação da tensão interfacial entre PCE e os biosurfactantes **Ac** e **R**, pelo método da gota pendente. A linha pontilhada representa o valor da tensão interfacial água/PCE.

### 9.3.2 ENSAIOS DE BATELADA – SURFACTANTE / PCE

O resultado dos ensaios de batelada utilizando biosurfactante e PCE são apresentados na Tabela 9.4. O biosurfactante **R** é capaz de aumentar a solubilidade do PCE em 8,5 vezes maior que a solubilidade do PCE em água deionizada, enquanto que o biosurfactante **Ac** é capaz de aumentar a solubilidade do PCE em apenas 7 vezes.

Tabela 9.4: Resultados dos ensaios de batelada entre biosurfactante e PCE.

Biosurfactante	Solubilidade PCE em água (mg/L)	Solubilidade PCE no biosurfactante (mg/L)
R	150	1275
Ac	150	1050

### 9.3.3 ENSAIO DE COLUNA – COMPARAÇÃO ENTRE *Ac* E *R*

Nos ensaios de coluna observou-se que a forma de remoção do PCE feita pelo biosurfactante *Ac* foi diferente da feita por *R*. A Tabela 9.5 mostra as condições

experimentais dos ensaios de coluna utilizando os biosurfactantes *Ac* e *R*. A quantidade de PCE removida por solubilização foi maior no experimento utilizando *R* que *Ac* (Figura 9.11). Entretanto, *Ac* foi capaz de promover a mobilização do PCE na matriz de solo. Donde se conclui que a redução da tensão interfacial entre água/PCE promovida por *Ac* é suficiente para reduzir o ângulo de contato na interface tripla solo/PCE/água. Como resultado, o PCE se enrola podendo ser facilmente separado. O resultado da extração do PCE que não foi removido da coluna pela injeção do biosurfactante o ensaio que utilizou o biosurfactante *R* removeu apenas 3,5% do PCE, pelo mecanismo de solubilização. *Ac* removeu 23% do PCE, sendo que 2/3 do PCE foi removido por mobilização.

**Tabela 9.5** Condição experimental dos ensaios.

Parâmetro	Ensaio Bio 1	Ensaio Bio 2
Solução de biosurfactante	<i>R</i>	<i>Ac</i>
Volume de vazios (mL)	198,3	191,6
Porosidade	0,34	0,33
Condição residual de PCE na coluna (%)	17,9	17,1
PCE na coluna após injeção de surfactante (%)	17,3	13,2

Como o biosurfactante *Ac* mostrou melhor eficiência na remoção de PCE, optou-se por produzir uma quantidade maior desse produto. Os novos ensaios tiveram como objetivo avaliar a eficiência na remoção de PCE com um volume maior do biosurfactante *Ac* e comparar os resultados com os ensaios de oxidação química utilizando permanganato.

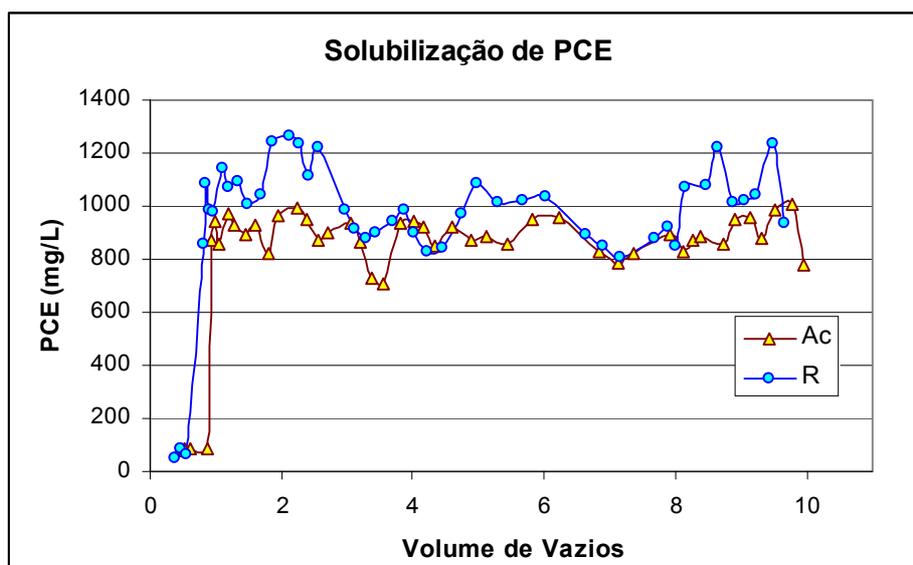


Figura 9.11: Concentração de PCE no efluente nos ensaios de coluna utilizando biosurfactante **Ac** e **R**.

Os ensaios com traçador mostram que houve aumento na permeabilidade dos dois sistemas. No ensaio utilizando **Ac** a permeabilidade do meio aumentou em 14% e no ensaio utilizando **R** não houve alteração significativa de permeabilidade.

### 9.3.4 ENSAIO DE COLUNA – COMPARAÇÃO ENTRE **Ac** E $\text{KMnO}_4$

Nessa etapa foram realizados três ensaios de coluna utilizando **Ac** na remoção de PCE. As condições iniciais e finais de cada ensaio podem ser observadas na Tabela 9.6. A Figura 9.12 mostra o esquema de injeção de **Ac** em coluna saturada com PCE. Pode-se observar a alteração de cor da solução de **Ac** antes e depois de passar pela coluna. A aparência límpida do efluente indica que uma parte do material coloidal está ficando retida na coluna.

Tabela 9.6: Condições iniciais e finais do ensaio de coluna utilizando **Ac**. O volume de **Ac** injetado em cada ensaio corresponde a 30 volumes de vazios.

Ensaio	Volume de vazios (mL)	Porosidade (n)	Saturação de PCE (%)	PCE removido (%)
<b>Ac 1</b>	209,2	0,35	36	41
<b>Ac 2</b>	204,2	0,35	22	47
<b>Ac 3</b>	201,6	0,34	26	45

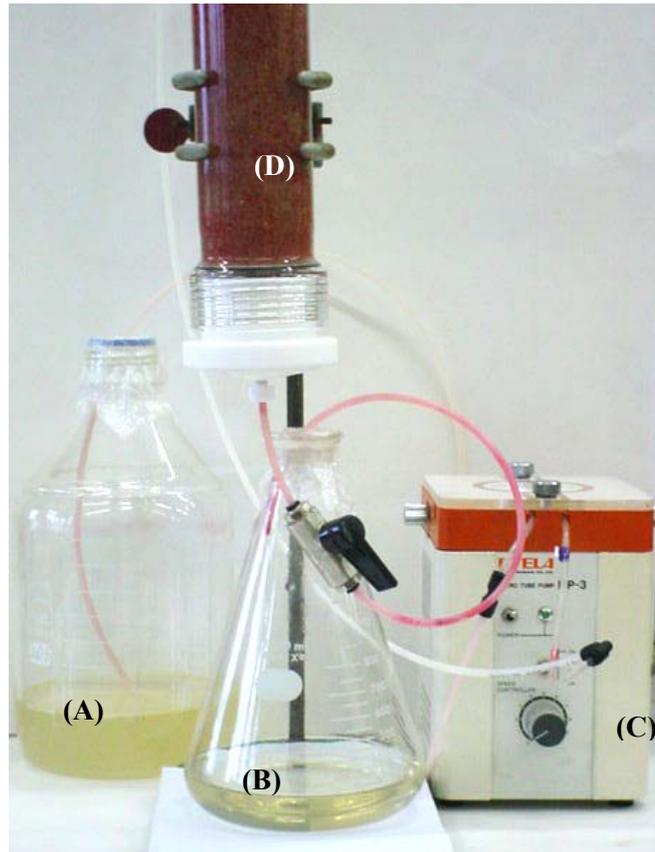


Figura 9.12: Esquema de injeção da solução de biosurfactante **Ac** em coluna contaminada por PCE. (A) Solução de injeção, (B) efluente, (C) bomba peristáltica e (D) coluna saturada com PCE.

Os resultados obtidos nos Ensaio **Ac** indicam que com a injeção de 30 volumes de vazios, aproximadamente 6 litros de **Ac**, foi possível remover, em média, 44% do PCE. Comparando com o resultado obtido no Ensaio **Bio 2** (Item 9.3.3) pode-se dizer que a quantidade de PCE removido da coluna não é proporcional à quantidade de surfactante injetado. Exemplificando:

Ensaio <b>Bio 2</b>	Injeção de 10 Vv -----	23% de remoção de PCE
Ensaio <b>Ac</b>	Injeção de 30 Vv -----	44% de remoção de PCE

Por esse motivo é difícil estimar qual seria o volume necessário de **Ac** para remover PCE aos níveis estabelecidos pela legislação.

Comparando as técnicas de remediação por permanganato de potássio e surfactante pode-se dizer que:

- a oxidação química por permanganato destrói o contaminante durante o processo de injeção;
- o surfactante solubiliza / mobiliza o contaminante durante o processo de injeção, mas a solução efluente precisa ser tratada posteriormente para eliminar o contaminante;
- a oxidação química promove a precipitação de  $MnO_2$  nos pontos onde havia a presença de PCE, levando a redução da permeabilidade do meio. O que diminuirá a transferência de massa entre a fonte e o fluxo subterrâneo; e
- a redução de PCE nos poros da coluna favorece o aumento da porosidade do meio, o que poderá aumentar a transferência de massa do contaminante por aumentar a superfície de contato.

#### 9.4 BIODEGRADAÇÃO DE PCE

O objetivo dos ensaios de biodegradação era verificar a influência de **Ac** na degradação de PCE. Foi utilizado o mesmo grupo de bactérias dos ensaios de biodegradação de HPAs e PCBs (PL4). A Tabela 9.7 apresenta os resultados obtidos nos ensaios de biodegradação de PCE.

**Tabela 9.7: Ensaio de biodegradação de PCE em sistemas (a) bactérias PL4 e (b) bactérias em solução de Ac.**

Sistema	15 dias		30 dias	
	PCE inicial (mg)	PCE degradado (%)	PCE inicial (mg)	PCE degradado (%)
Bactéria 1	9,9	20,4	10,9	46,6
Bactéria 2	10,5	18,6	10,1	47,6
Bactéria 3	10,3	21,2	9,6	43,5
Bact. + <b>Ac</b> 1	10,0	24,2	10,1	34,3
Bact. + <b>Ac</b> 2	10,0	22,6	10,2	32,7
Bact. + <b>Ac</b> 3	10,4	20,3	9,7	33,8

Observa-se que no meio onde só havia bactérias o consumo de PCE em 15 dias foi semelhante ao sistema que continha bactérias e **Ac**. Com 30 dias de ensaio essa relação muda, o meio onde havia somente bactérias passa a degradar mais PCE que o meio contendo bactérias e **Ac**.

Fica claro que **Ac** não possui nenhum efeito inibidor as bactérias utilizadas nos ensaios. Contudo, esperava-se que o consumo de PCE no sistema contendo **Ac** fosse maior que no sistema contendo apenas bactérias, pois o aumento de solubilidade do PCE no meio aumentaria a biodisponibilidade, aumentando também o consumo. Esse resultado indica que a presença de uma fonte de carbono contendo açúcares, promove competição entre os substratos.

## 9.5 CONCLUSÕES PARCIAIS

Utilizando a eq. 9.1 é possível determinar a solubilidade do PCE durante a reação com  $\text{KMnO}_4$  na faixa de 1 a 25 mM, e que essa solubilidade aumenta com o aumento da concentração de  $\text{KMnO}_4$ .

A constante de degradação do PCE ( $K_1$ ) aumenta em função do aumento da concentração de  $\text{KMnO}_4$  na solução, mostrando que quanto maior a concentração de PCE em solução, maior será a velocidade de degradação.

Os ensaios de traçador mostraram que nos experimentos onde foram utilizadas soluções de  $\text{KMnO}_4$  a 5 e a 1 mM, a redução de permeabilidade ficou em 18% e 10% , respectivamente. E para os ensaios onde foi utilizado  $\text{KMnO}_4$  a 25 mM houve entupimento da coluna. A redução da permeabilidade do meio pode ser usada como um fator positivo, pois o  $\text{MnO}_2$  vai precipitar na área onde há maior concentração de PCE, agindo como uma barreira hidráulica.

O biosurfactante produzido pela bactéria *Acinetobacter* (**Ac**) é capaz aumentar a solubilidade de PCE em solução em até 7,5 vezes. Os ensaios de coluna mostram que a injeção de 30 volumes de vazios de solução de **Ac** é capaz de remover 44% do PCE injetado na coluna. Além disso, **Ac** é um produto que não inibe o crescimento bacteriano, ou seja, biodegradável.

## 10. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

A correta avaliação do impacto causado por contaminantes persistentes está associada a uma boa amostragem e a correta análise do solo, além da avaliação da fauna e da flora do local. A escolha dos melhores pontos de amostragem só é possível com ajuda da geofísica (equipamentos do tipo GPR, eletroresistivímetro e cone ambiental). A análise correta só poderá ser feita com um bom conhecimento do contaminante, isto é, propriedades físico-químicas, interação solo-contaminante e rotas no ambiente, assim como o uso das técnicas de extração apropriadas. Outro fator importante é observar os dados das análises, não se baseando somente nos valores de referência. Esses valores nos auxiliam a ter bom senso, mas a questão ambiental vai além de números, pois muitas vezes o próprio ambiente nos dá sinais de algo errado está acontecendo. É necessária a formação de equipes interdisciplinares onde biólogos, químicos, geofísicos e engenheiros possam trabalhar em conjunto, trocando informações, pois nenhum desses profissionais isoladamente poderá apresentar um diagnóstico ou uma solução para problemas relacionados ao meio ambiente. O julgamento incorreto de uma área contaminada poderá condenar a médio ou curto prazo toda a biota do local e conseqüentemente a população que vive ao redor da área;

### 10.1 CONCLUSÕES

Diversos compostos foram estudados utilizando diferentes técnicas e cujos resultados serão resumidos abaixo:

(1) Os resultados dos ensaios de biodegradação de HPAs indicam que as bactérias isoladas da Praia da Ribeira e da “área do lixão” poderão vir a ser usadas em processos de biorremediação de hidrocarbonetos de petróleo, tanto in situ como ex situ. Contudo, é necessário manter as condições ótimas para o desenvolvimento dos microrganismos.

(2) Uma solução para o problema de contaminação por PCBs na “área do lixão” seria, primeiramente, a remoção da fonte de contaminação (PCB na fase livre) no ponto PL4. Num segundo momento entraria a montagem de sistemas de injeção e bombeamento com solução de 0,066 de etanol em água, para promover a biodisponibilização dos PCBs retidos na fração orgânica do solo. A injeção da solução de etanol deve ser

associada a bioaugmentação das bactérias locais, que irão promover a degradação dos PCBs na fase aquosa, aproveitando a potencialidade da microflora local no processo de biorremediação *in situ*. Ao redor da área de tratamento deverá ser instalada uma barreira hidráulica, a fim de evitar o aumento da área contaminada.

(3) As taxas de degradação obtidas nos ensaios de biodegradação de HPAs e PCBs poderão ser utilizadas como dados de entrada em programas de modelagem numérica (i.e. *Bioscreen*) para estimar o tempo de tratamento, deslocamento da pluma de contaminação e disposição dos poços de bombeamento e injeção.

(4) Os resultados dos ensaios utilizando o Reagente de Fenton na desalogenação de PCBs mostraram a dificuldade de controle da reação. O volume de O<sub>2</sub> liberado, o aumento brusco de temperatura e a produção de ácido clorídrico não são aconselháveis no tratamento de áreas contaminadas em subsuperfície. Outro fato que deve ser avaliado é a toxicidade dos produtos de degradação gerados durante a reação de oxidação, não analisando nesse trabalho, que poderão ser lançados na atmosfera ou dissolvidos na água intersticial, causando problemas de contaminação em outras áreas. O melhor uso do Reagente de Fenton seria o tratamento *ex situ* (i.e. reatores) onde poderão ser controlados parâmetros como temperatura, produção de gases e pH. O uso do Reagente de Fenton *in situ* só seria recomendável em casos onde a contaminação estivesse na camada superficial do solo.

(5) Para que a técnica de Reagente de Fenton seja usada com pré-tratamento de biorremediação, é necessário que seja feita a correção do pH para valores na faixa da neutralidade, para que não haja inibição do crescimento microbiano.

(6) Os ensaios de coluna são um excelente recurso para auxiliar na escolha da tecnologia de remediação (e.i. oxidação química, biodegradação) a ser utilizada e para servir de base para os ensaios de campo. Os ensaios de laboratório podem utilizar o solo da área que irá ser tratada, podendo também, simular as condições de contaminação encontradas em campo. Ajudando a projetar o trabalho de campo.

(7) O uso de permanganato na degradação de PCE apresenta uma série de vantagens se comparado ao uso de biosurfactante. Dentre elas a diminuição da permeabilidade do meio e a destruição do PCE durante a passagem da solução através do solo contaminado.

(8) Os dados de taxa de oxidação de PCE gerados nos ensaios de coluna poderão auxiliar na concepção de projetos de remediação, isto é:

- espaçamento entre as bombas de injeção e sucção;
- tempo de tratamento; e
- velocidade de injeção.

(9) Quanto melhor for à concepção do projeto, maior a garantia de eliminação do PCE na solução efluente existirá. Assim, com a remoção do material particulado ( $MnO_2$ ) e a correção da concentração de  $KMnO_4$ , não haveria nenhum impedimento na reinjeção da solução, o que diminuiria o consumo de permanganato no processo.

(10) A utilização de biosurfactantes na remoção de contaminantes da matriz do solo mostra-se bastante promissora. Contudo, são necessários estudos mais aprofundados quanto à estrutura da molécula e suas propriedades físico-químicas. Só assim será possível determinar as melhores condições do uso e aplicações dos biosurfactantes.

(11) Os resultados apontam que é viável a produção de biosurfactante utilizando um meio de cultura simples, cuja fonte de carbono pode ser um açúcar ou acetato, sem que sejam necessários gastos com solventes e equipamentos sofisticados no processo de purificação do produto.

(12) Tanto os ensaios de oxidação química quanto os de biorremediação mostraram que nenhuma técnica é eficiente se usada isoladamente. Muitas vezes é necessário o uso combinado de técnicas para que os níveis de contaminação fiquem dentro dos valores estabelecidos na legislação ou durante a fase de implantação do projeto.

(13) Ficou claro também, que o aumento da solubilidade do DNAPL é fundamental para aumentar a eficiência dos métodos de remediação que foram estudados (biorremediação e oxidação química).

## 10.2 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

Os dados de taxa de biodegradação de HPAs e PCBs gerados nesse trabalho poderão ser usados em ferramentas numéricas para estudo de casos reais. Uma outra etapa seria utilizar uma área piloto onde possa ser simulada um caso real de contaminação para verificar a eficiência da biorremediação *in situ*. O mesmo pode ser aplicado para o Reagente de Fenton, o que será de grande valia na determinação das condições de solo após aplicação da técnica (i.e. alteração de permeabilidade, produção de gases).

O conhecimento da cinética de produção do biosurfactante **Ac** (crescimento microbiano, concentração de surfactante, variação do pH do meio e mudança da tensão superficial com o tempo) ajudaria na otimização do processo de produção, além da identificação completa da molécula, determinação do CMC e comportamento em relação a outros contaminantes orgânicos.

Os resultados de oxidação por permanganato também poderão ser usados em programas de modelagem numérica. Assim como ensaios em sistemas 2 e 3D deverão se executados para melhor compreensão do comportamento da pluma e alteração da permeabilidade do meio.

## BIBLIOGRAFIA

AELION, C.M., BRADLEY, P.M., 1991, "Aerobic biodegradation potential of subsurface microorganisms from a jet fuel-contaminated aquifer", *Applied Environmental Microbiology*, v. 57, n. 1, pp. 57-63.

ALEXANDER, R.R., ALEXANDER, M., 2000, "Bioavailability of genotoxic compounds in soils", *Environmental Science and Technology*, v. 34, pp. 1589-1593.

ALLARD, A.-S., NEILSON A.H., 1997, "Bioremediation of organic waste sites: a critical review of microbiological aspects", *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 39, n. 4, pp. 253-285.

ATLAS, R.M., 1981, "Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective", *Microbiology Review*, n. 45, pp. 180-209.

BAIRD, C., *Química Ambiental*. 2ª ed. Porto Alegre, Bookman, 2004.

BARATHI, S., VASUDEVAN, N., 2001, "Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* isolated from a petroleum-contaminated soil", *Environmental International*, v. 26, pp. 413-416.

BARKAY, T., NAVON-VENZIA, S., RON, E.Z., *et al.*, 1999, "Enhancement of solubilization and biodegradation of polyaromatic hydrocarbons by the bioemulsifier alasin", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, pp. 2697-2702.

BAUMANN, P., 1968, "Isolation of *Acinetobacter* from soil and water", *Journal of Bacteriology*, v. 96, pp. 39-42.

BLUMER, M., 1976, "Polycyclic aromatic compounds in nature", *Scientific America*, v. 234, n.1, pp 34-45.

BOGNOLO, G., 1999, "Biosurfactant as emulsifying agents for hydrocarbons", *Colloids and Surfaces A*, v. 152, pp. 41-52.

BOOPATHY, R., 2000, "Factors limiting bioremediation technologies", *Bioresource Technology*, v. 74, pp. 63-67.

BOVING, T.B., BRUSSEAU, M.L., 2000, "Solubilization and removal of residual trichloroethene from porous media: comparison of several solubilization agents", *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 42, pp.51-67.

BROWN, J.F., WAGNER, R.E., 1990, "PCB movement, dechlorination, and detoxication in the acushnet estuary", *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 9, pp. 1215-1233.

CERNIGLIA, C.E., 1984, "Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons", *Advances in Applied Microbiology*, v. 20, pp. 31-71.

CHAMARRO, E., MARCO, A., ESPLUGAS, S., 2001, "Use of Fenton Reagent to improve organic chemical biodegradability", *Water Research*, v. 35, n. 4, pp. 1047-1051.

CHEN, F., XIE, Y., HE, J., *et al.*, 2001, "Photo-Fenton degradation of dye in methanolic solution under both UV and visible irradiation", *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 138, pp. 139-146.

CHEN, M., HONG, C.S., BUSH, B., *et al.*, 1988, "Anaerobic biodegradation of polychlorinated biphenyls by bacteria from Hudson river sediments", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 16, pp. 95-105.

CHRISTOFI, N., IVSHINA, I.B., 2002, "Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation", *Journal of Applied Microbiology*, v. 93, pp. 915-929.

COMMANDEUR, L.C.M., PARSONS, J.R., 1990, "Degradation of halogenated aromatic compounds", *Biodegradation*, v.1, pp. 78-83.

CONNELL, D.W., 1987, "Ecotoxicology – A framework for investigations of hazardous chemicals in the environment", *Ambio*, 1 (16).

CRAPEZ, M.A.C., TOSTA, Z.T., BISPO, M.G.S., *et al.*, 2000, "Acute and chronic impacts caused by aromatic hydrocarbons on bacterial communities at Boa Viagem and

Forte do Rio Branco beaches, Guanabara Bay, Brazil”, *Environmental Pollution*, v. 108, pp. 291-295.

DERCOVÁ, K., VRANA, B., BALAZ, S., 1999, “A kinetic distribution model of evaporation, biosorption and biodegradation of polychlorinated biphenyls (PCBs)”, *Chemosphere*, v. 38, n. 6, pp. 1391-1400.

DOTT, W., FEIDIEKER, D., STEIOF, M., *et al.*, 1995, “Comparison of *ex situ* and *in situ* techniques for bioremediation of hydrocarbon-polluted soils”, *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 40, n. 2, pp. 301-316.

ENGWAL, M.A., PIGNATELLO, J.J., GRASSO, D., 1999, “Degradation and detoxication of wood preservatives creosote and pentachlorophenol in water by photo-Fenton reaction”, *Water Research*, v. 33, n. 5, pp. 1151-1158.

FENNER, K., SCERINGER, M., HUNGERBUHLER, K., 2003, “Joint persistence of transformation products in chemicals assessment: case studies and uncertainty analysis”, *Risk Analysis*, v. 23, n. 1, pp. 35-53.

FOGHT, J.M., GUTNICK, D.L., WESTLAKE, D.W.S., 1989, “Effect of emulsan on biodegradation of crude oil by pure and mixed bacterial cultures”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 55, pp. 36-42.

FREDRICKSON, J.K., BROCKMAN, J.F., WORKMAN, D.J., *et al.*, 1991, “Isolation and characterization of a subsurface bacterium capable of grow on toluene, naphthalene, and other aromatic compounds”, *Applied Environmental Microbiology*, v. 57, n. 3, pp. 796-803.

GHALY, M., HÄRTEL, G., MAYER, R., *et al.*, 2001, “Photochemical oxidation of p-chlorophenol by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and photo-Fenton process. A comparative study”, *Waste Management*, v. 21, pp. 41-47.

GUERIN, T.F., 2000, “Commercial activities in remediation of soil and sediments and trends in the Asia Pacific region”, *Journal of Soils & Sediments*, v. 1, pp. 1-8.

GUERTIN, J., 1988, “PCB destruction”, In: *Proceedings OF THE IEEE Montech'86 Conference on PCBs and Replacement Fluids*, pp. 1-25, Montreal, Canada.

GUIMARÃES, C.H., 2003, *Avaliação de risco ambiental de sítios contaminados por hidrocarbonetos de petróleo*. Tese de M.Sc., COPPE / UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

HAIGH, S.D., 1996, "A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil", *The Science of the Total Environment*, v. 185, pp. 161-170.

HEITKAMP, M.A., CERNIGLIA, C.E., 1989, "Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a *Mycobacterium* sp. In microcosms containing sediment and water from a pristine ecosystem", *Applied environmental Microbiology*, v. 55, n. 8, pp. 1968-1973.

HÖHENER, P., HUNKELER, D., HESS, A., *et al.*, 1998, "Methodology for evaluation of engineered in situ biodegradation: lessons from a case study", *Journal of Microbiological Methods*, v. 32, pp. 179-192.

HOLLIGER, C., GASPARD, S., GLOD, S., *et al.*, 1997, "Contaminated environments in subsurface and biodegradation: organic contaminants", *FEEMS Microbiology Reviews*, v. 20, pp. 517-523.

HOOD, E.D., THOMSON, N.R., GROSSI, D., *et al.*, 2000, "Experimental determination of kinetic rate law for the oxidation of perchloroethylene by potassium permanganate", *Chemosphere*, v. 40, pp. 1383-1388.

HUANG, K., HOAG, G.E., CHHEDA, *et al.*, 2001, "Oxidation of chlorinated ethenes by potassium permanganate: kinetics study", *Journal of Hazardous Materials*, v. B87, pp. 155-169.

HUANG, K., HOAG, G.E., CHHEDA, P., *et al.*, 2002, "Kinetics and mechanism of oxidation of tetrachloroethylene with permanganate", *Chemosphere*, v. 46, pp. 815-825.

HUANG, K., HOAG, G.E., CHHEDA, P., *et al.*, 2002, "Chemical oxidation of trichloroethylene with potassium permanganate in porous medium", *Advances in Environmental Research*, v. 7, pp. 217-229.

INTERSTATE TECHNOLOGY REGULATORY COOPERATION (ITRC), 2001. *Technical and regulatory guidance for in situ oxidation of contaminated soil and groundwater*. (www.itcr.org).

JAPENGA, J., WAGENAAR, W. J., SMEDES, *et al.*, 1987, "A new, rapid clean-up procedure for the simultaneous determination of different groups of organic micropollutants in sediments: Application in two estuarine sediment samples", *Environmental Technology Letters* 8: 9-20.

JONES, K.C., SANDERS, G., WILD, S.R., *et al.*, 1992, "Evidence for declining PCBs and PAHs in rural vegetation and air in United Kingdom", *Nature*, v. 356, pp. 137-140.

JUHASZ, A.L., NAIDU, R., 2000, "Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of microbial degradation of benzo[a]pyrene", *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 45, pp. 57-88.

KASTÁNEK, F., DEMNEROVÁ, K., PAZLARROVÁ, J., *et al.*, 1999, "Biodegradation of polychlorinated biphenyls and volatile chlorinated hydrocarbons in contaminated soils and ground water in field condition", *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 44, pp. 39-47.

KIM, H., PAGILLA, K.R., 2000, "Competitive growth of *Nocardia* and *Acinetobacter* under anaerobic /aerobic batch operation", *Water Research*, v. 34, n. 10, pp. 2667-2674.

KING, R.B., LONG, G.M., SHELAV, J.K., *Practical Environmental Biodegradation the Field Guide*. Portland, Book News, 1992.

KRUTZLER, T., FALLMANN, H., MALETZKY, P., *et al.*, 1999, "Solar driven degradation of 4-chlorophenol", *Catalysis Today*, v. 54, pp. 321-327.

KULASOORIA, I., SOGA, K., DAI, D., *et al.*, 2002, "Effect of flow direction on surfactant enhanced remediation of DNAPL", In: *Proceedings of the Fourth International Congress on Environmental Geotechnics (4<sup>th</sup> ICEG)*, Rio de Janeiro, Brazil.

KUYUKINA, M.S., IVSHINA, I.B., PHILP, J.C., *et al.*, 2001, "Recovery of Rhodococcus biosurfactants using methyl tertiary-butyl ether extraction", *Journal of Microbiological Methods*, v. 46, pp. 149-156.

LADD, M., *Physical Chemistry*. Cambridge, Cambridge University Press, 1998.

LANG, S., 2002, "Biological amphiphiles (microbial surfactants)", *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 7, pp. 12-20.

LANGWALDT, J.H., PUHAKKA, J.A., 2000, "On-site biological remediation of contaminated groundwater: a review", *Environmental Pollution*, 2000, v. 107, pp. 187-197.

LEAHY, J.G., COLWELL, R.R., 1990, "Microbial degradation of hydrocarbons in the environment", *Microbial Review*, v. 54, pp. 305-315.

LEE, B.-D., HOSOMI, M., MURAKAMI, A., 1998, "Fenton oxidation with ethanol to degrade anthracene into biodegradable 9, 10-anthraquinone: a pretreatment method for anthracene-contaminated soil", *Water Science and Technology*, v. 38, n. 7, pp. 91-97.

LINDSTROM, J.E., PRINCE, R.C., CLARK, J.C., *et al.*, 1991, "Microbial populations and hydrocarbon biodegradation potentials in fertilized shoreline sediments affected by the T/V Exxon Valdez oil spill", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 57, n. 9, pp. 2514-2522.

LOHMAN, J.H., 2002, "A history of dry cleaners and sources of solvent releases from dry cleaning equipment", *Environmental Forensics*, v. 3, pp. 35-58.

LU, M.-C., 2000, "Oxidation of chlorophenols with hydrogen peroxide in the presence of goethite", *Chemosphere*, v. 40, pp. 125-130.

LUNAR, L., SICILIA, D., RUBIO, S., *et al.*, 2000, "Identification of methol degradation products under Fenton's reagent treatment using liquid chromatography-mass spectrometry", *Water Research*, v. 34, n. 13, pp. 3400-3412.

MACKINNON, L.K., THOMSOM, N.R., 2002, "Laboratory-scale in situ chemical oxidation of perchloroethylene pool using permanganate", *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 56, pp. 49-74.

MARIZ, D.F., 2000, *Um estudo sobre mobilização de gasolina residual por vibração em areia saturada*. Tese de D. Sc., COPPE / UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

McCRAV, J.E., BAI, G., MAIER, R.M., *et al.*, 2001, "Biosurfactant-enhanced solubilization of NAPL mixtures", *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 48, pp. 45-68.

MESQUITA, A.C., 1994, *Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por bactérias Gram negativas não fermentadoras em sedimento arenoso*. Tese de M.Sc., Escola de Química/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

METCALF, D.E., ZUKOV, G., MACKAY, D., *et al.*, 1988, "PCBs physical and chemical property data", In: *Proceedings of the IEEE Montech'86 Conference on PCBs and Replacement Fluids*, pp. 25-48, Montreal, Canada.

MHIRI, C., MARSAC, T., 1997, "Réhabilitation par les microorganismes de sites contenant du pyralène: problematique et perspectives d'étude", *Bulletin Institut Pasteur*, v. 95, pp. 3-28.

MITCHEL, J.K., *Fundamentals of soil behavior*. 2<sup>nd</sup> Edition, New Jersey, John Wiley and Sons, Inc, 1993.

MIRANDA NETO, M.I., 2002, *Investigação geoambiental em área de mangue na Baía de Guanabara contaminada por resíduos industriais*. Tese de M.Sc., COPPE / UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

MOHAMDIN, A.M., 2001, "Possible role of hydroxyl radicals in the oxidation of dichloroacetonitrile by Fenton-like reaction", *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 84, pp. 97-105.

MORKIN, M., DEVLIN, J.F., BARKER, J.F., *et al.*, 2000, "In situ sequential treatment of a mixed contaminant plume", *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 45, pp. 283-302.

MULLIGAN, C.N., YONG, R.N., GIBBS, B.F., 2001, "Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review", *Engineering Geology*, v. 60, pp. 371-380.

MURPHY, T.P., LAWSOM, A., KUMAGAU, M., *et al.*, 1999, "Review of emerging issues in sediment treatment", *Aquatic Ecosystem Health e Management*, v. 2, pp. 419-434.

NAM, K., RODRIGUEZ, W., KUKOR, J.J., 2001, "Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by biodegradation combined with a modified Fenton reaction", *Chemosphere*, v. 45, pp. 11-20.

NATIONAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH AND ENVIRONMENTAL PROTECTION (RIVM), 1989. "Integrated criteria document PAHs". Sloff, W., Janus, J.A., Matthijsen, A.J.C.M., Montizan, G.K. and ROS, J.P.M. (Eds). 200 p.

NEFF, J.M., 1985, "Polycyclic aromatic hydrocarbons". In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Rand MG & Petrogel LI (Eds). Hemisphere Public Corporation, Washinton D.C.

NELSON, M.D., PARKER, B.L., AL, T.A., *et al.*, 2001, "Geochemical reactions resulting from *in situ* oxidation of PCE-DNAPL by  $\text{KMnO}_4$  in sandy aquifer", *Environmental Science and Technology*, v. 35, pp.1266-1275.

NOBRE, R.C.M., NOBRE, M.M.M., 1999, "Uso de oxidantes químicos na remediação de aquíferos contaminados por DNAPLs". In: *Anais do 4º Congresso Brasileiro de Geotecnia Ambiental REGEO'99*, pp 527-535, São José dos Campos, SP, Brasil.

NOGUEIRA, R.F.P., GUIMARÃES, J.R., 2000, "Photodegradation of dichloroacetic acid and 2,4-dichlorophenol by ferrioxalate/ $\text{H}_2\text{O}_2$  system", *Water Research*, v. 34, n. 3, pp. 895-901.

NORSTROM, R.J., 1988, "Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls in Canadian wild life", In: *Proceedings OF THE ieee Montech'86 Conference on PCBs and Replacement Fluids*, pp. 88-110, Montreal, Canada.

NOURELDIN, N.A., ZHAO, D., LEE, D.G., 1997, "Heterogeneous permanganate oxidations. 7. The oxidation of aliphatic side chains", *Journal of Organic Chemistry*, v. 62, 8767-8772.

PLECZAR, M., REID, R., CHAN, E.C.S., *Microbiologia Volume 1*. São Paulo, McGraw-Hill, 1980.

POLLARD, S.J.T., HRUDEY, S.E., FEDORAK, P.M., 1994, "Bioremediation of petroleum and creosote contaminated soils: a review of constraints", *Waste Management & research*, v. 12, pp. 173-194.

ROY, D., KOMMALAPATI, R.R., MANDAVA, S.S., *et al.*, 1997, "Soil washing potential of a natural surfactant", *Environmental Science and Technology*, v. 31, pp. 670-675.

SABI, S., KIWI, J., 2000, "Degradation of 2,4-dichlorophenol by immobilized iron catalysts", *Water Research*, v. 35, n. 8, pp. 1994-2002.

SAFE, S., 1988, "Polychlorinated biphenyls – human health effects", In: *Proceedings of the IEEE Montech'86 Conference on PCBs and Replacement Fluids*, pp. 110-142, Montreal, Canada.

SCHNARR, M., TRUAX, C., FARQUHAR, G., *et al.*, 1998, "Laboratory and controlled field experiments using potassium permanganate to remediate trichloroethylene and perchloroethylene DNAPL in porous media", *Journal of Contaminat Hydrology*, v.29, pp. 205-224.

SCHROTH, M.H., OOSTROM, M., WIETSMA, *et al.*, 2001, "In-situ oxidation of trichloroethene by permanganate: effects on porous medium hydraulic properties". *Journal of Contaminat Hydrology*, v. 50, pp. 79-98.

SEABRA, P.N.C., 1997, *Uso de tensoativos na mobilização de óleo diesel em solos impactados*. Tese de M.Sc., COPPE / UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

SEMPLE, K.T., REID, B.J., FERMOR, T.R., 2001, "Impact of composting strategies on treatment of soils contaminated with organic pollutants", *Environmental Pollution*, v. 112, pp. 269-283.

SHACKELFORD, C.D., 1999, "Remediation of Contaminated land: An Overview". In: *Proceedings of the 11<sup>th</sup> Panamerican Conference of Soil Mechanics and Geotechnics Engineering*, pp. 1-60, Iguassu Falls, Brazil.

SHAFI, R., KHANNA, S., 1995, "Biosurfactants", *Indian Journal of Microbiology*, v. 35, pp. 165-184.

SHAWN, D.J. *Introduction to colloid and surface chemistry*. Butter Worths & Co. Publishers Limited, 1976.

SMITH, R.M., MCVEY, T., 1999, *Soil Remediation*. In: Report N° 187B, supplement B, SRI Consulting, Menlo Park, California.

SONG, H-G., BARTHA, R., 1990, "Effects of jet fuel spills on microbial community of soil", *Applied Environmental Microbiology*, v. 56, n. 3, pp. 646-651.

SONG, H-G., WANG, X., BARTHA, R., 1990, "Bioremediation potential of terrestrial fuel spills", *Applied Environmental Microbiology*, v. 56, n. 3, pp. 652-656.

STURMAN, P.J., STEWART, P.S., CUNNINGHAM, A.B., *et al.*, 1995, "Engineering scale-up of in situ bioremediation processes: a review", *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 19, pp. 171-203.

SYLVESTER, M., 1995, "Biphenyl/chlorobiphenyls catabolic pathway of *Comamonas testosteroni* B-356: prospect for use in bioremediation", *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 34, n. 8, 189-211.

TAYLOR, T.P., PENNELL, K.D., ABRIOLA, L.M., *et al.*, 2001, "Surfactant enhanced recovery of tetrachloroethylene from a porous medium containing low permeability lenses 1. Experimental studies", *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 48, pp. 325-350.

TORRES, J.P.M., 1998, *Ocorrência de micropoluentes orgânicos (organoclorados e hidrocarbonetos) em sedimentos fluviais tropicais*. Tese de D.Sc., UFRJ / CCS / Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

UTSET, B., GARCIA, J., CASADO, J., *et al.*, 2000, "Replacement of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by O<sub>2</sub> in Fenton and photo-Fenton reactions", *Chemosphere*, v. 41, pp. 1187-1192.

VOLKERING, F., BREURE, A.M., RULKENS, W.H., 1998, "Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation", *Biodegradation*, v. 8, pp. 401-417.

WADE, R.L., 1988, "Development of decontamination guidelines for PCB/PCDF and PCDD decontamination in areas of high exposure potential", In: *Proceedings of the IEEE Montech'86 Conference on PCBs and Replacement Fluids*, pp. 215-233, Montreal, Canada.

WALLING, C., 1975, "Fenton's reagent revisited", *Accounts of Chemical Research*, v. 8, pp. 125-131.

WATTS, R.J., HALLER, D.R., JONES, A.P., *et al.*, 2000, "A foundation for the risk-based treatment of gasoline-contaminated soils using modified Fenton's reactions", *Journal of Hazardous Materials*, v. 76, pp. 73-89.

WEGE, H.A., HOLGADO-TERRIZA, J.A., CABRERIZO-VILCHEZ, M.A., 2002, "Development of a constant surface pressure penetration Langmuir balance based on axisymmetric drop shape analysis", *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 249, pp. 263-273.

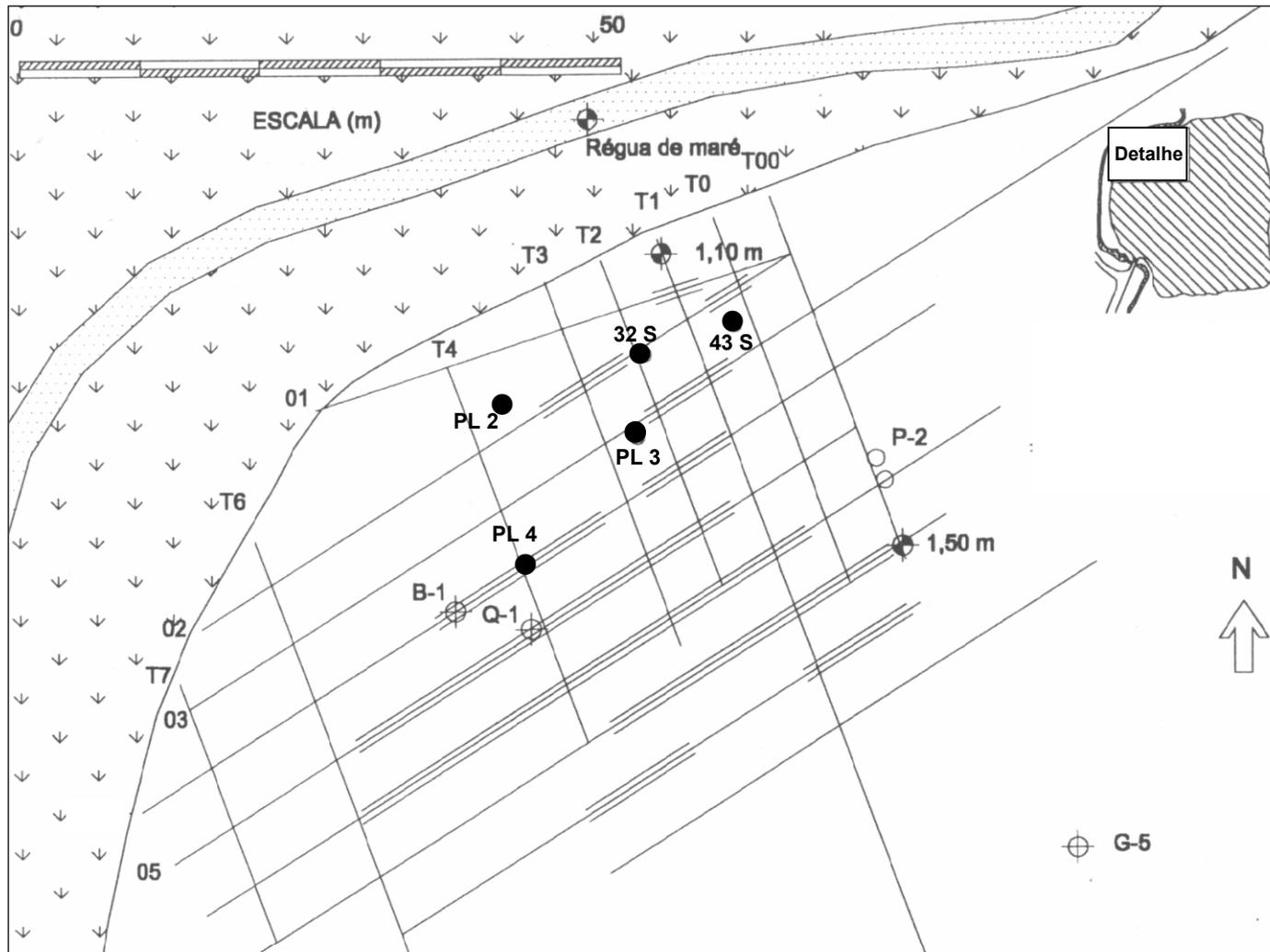
YAN, Y.E., SCHWARTZ, F.W., 1999, "Oxidative degradation and kinetics of chlorinated ethylenes by potassium permanganate", *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 37, pp. 343-365.

YAN, Y.E., SCHWARTZ, F.W., 2000, "Kinetics and mechanisms for TCE oxidation by permanganate", *Environmental Science and Technology*, v. 34, pp. 2535-2541.

YANG, Y., RATTÉ, D., PIGNATELLO, J.J., *et al.*, 2001, "Mobilization of soil organic matter by complexing agents and implications for polycyclic aromatic hydrocarbon desorption", *Chemosphere*, v. 43, pp. 1013-1021.

YEH, H.C., KASTENBERG, W.E., 1991, "Health risk assessment of biodegradable volatile organic chemicals: a case of study of PCE, TCE, DCE and VC", *Journal of Hazardous Materials*, v. 27, pp. 11-126.

# ANEXO



(●) Localização dos pontos de coleta da “área do lixo” (Figura adaptada de Miranda Neto, 2002).

GRANULOMETRIA - PENEIRAMENTO FINO E GROSSO

PESO AMOSTRA SECA		UMIDADE HIGROSCÓPICA			
amostra total umida	727,00	cápsula n <sup>o</sup>	386	50	61
retido na # 10	0,00	solo umido + capsula	62,55	62,35	78,96
umido passando na # 10	727,00	solo seco + capsula	37,76	37,52	51,60
seco passando na # 10	326,66	capsula	16,95	17,32	29,82
amostra total seca	326,66	solo seco	20,81	20,20	21,78
		umidade (h%)	119,125	122,921	125,620

PENEIRAMENTO GROSSO				umidade média (hm %)	
peneiras	mat.retido	material	%total	fator de correção	
				0,4493	

USBS	acum.	passado	acum.pas.	PENEIRAMENTO FINO				
1 1/2"	0,00	326,66	100,0	peneiras	retido	material	%parcial	%total
1"	0,00	326,66	100,0	USBS	acumul.	passado	acum.pas.	acum.pas.
3/4"	0,00	326,66	100,0	10	0	58,18	100,0	100,0
3/8"	0,00	326,66	100,0	20	0,32	57,86	99,4	99,4
4	0,00	326,66	100,0	30	0,61	57,57	99,0	99,0
8	0,00	326,66	100,0	40	0,86	57,32	98,5	98,5
10	0,00	326,66	100,0	60	1,19	56,99	98,0	98,0
				100	1,56	56,62	97,3	97,3
				200	2,01	56,17	96,5	96,5

SEDIMENTAÇÃO	
peso umido (g)	129,48
peso seco (g)	58,18

DENSIDADE REAL DOS GRÃOS:	2,474
---------------------------	-------

obs.

COPPE/UFRJ	PROGRAMA DE ENGENHARIA CIVIL	
	LAB. DE GEOTECNIA - CARACTERIZAÇÃO	
DOUTORANDO: ANA CARLA	AMOSTRA:	PETROFLEX
OPERADOR: L CARLOS	PROF:	4,00
RECEBIDO EM __/__/__	DATA:	26/jul REG.LAB.

GRANULOMETRIA - PENEIRAMENTO FINO E GROSSO

PESO AMOSTRA SECA				UMIDADE HIGROSCÓPICA		
amostra total umida	1002,00	cápsula n <sup>o</sup>		L110	L36	X
retido na # 10	0,00	solo umido + capsula		41,35	28,80	34,88
umido passando na # 10	1002,00	solo seco + capsula		41,34	28,79	34,87
seco passando na # 10	1001,61	capsula		10,27	7,56	8,10
amostra total seca	1001,61	solo seco		31,07	21,23	26,77
				umidade (h%)	0,032	0,047

PENEIRAMENTO GROSSO				umidade média (hm %)	0,04	
peneiras	mat.retido	material	%total	fator de correção	0,9996	

USBS	acum.	passado	acum.pas.	PENEIRAMENTO FINO				
1 1/2"	0,00	1001,61	100,0	peneiras	retido	material	%parcial	%total
1"	0,00	1001,61	100,0	USBS	acumul.	passado	acum.pas.	acum.pas.
3/4"	0,00	1001,61	100,0	10	0	1000,61	100,0	100,0
3/8"	0,00	1001,61	100,0	25	11,16	989,45	98,9	98,9
4	0,00	1001,61	100,0	30	21,81	978,80	97,8	97,8
8	0,00	1001,61	100,0	35	531,47	469,14	46,9	46,9
10	0,00	1001,61	100,0	40	858,67	141,94	14,2	14,2
				50	987,72	12,89	1,3	1,3
				60	994,32	6,29	0,6	0,6

SEDIMENTAÇÃO	
peso umido (g)	1001
peso seco (g)	1000,61

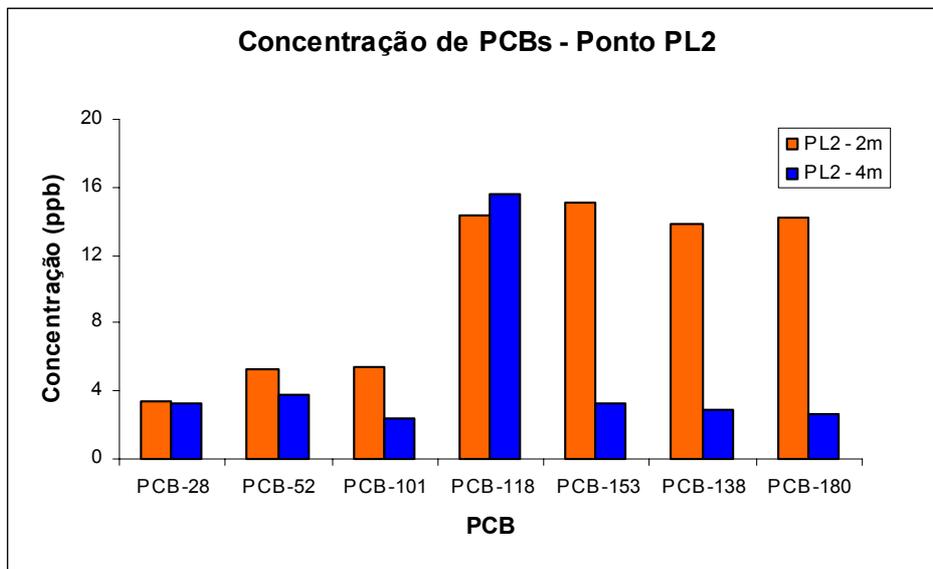
DENSIDADE REAL DOS GRÃOS:

obs.

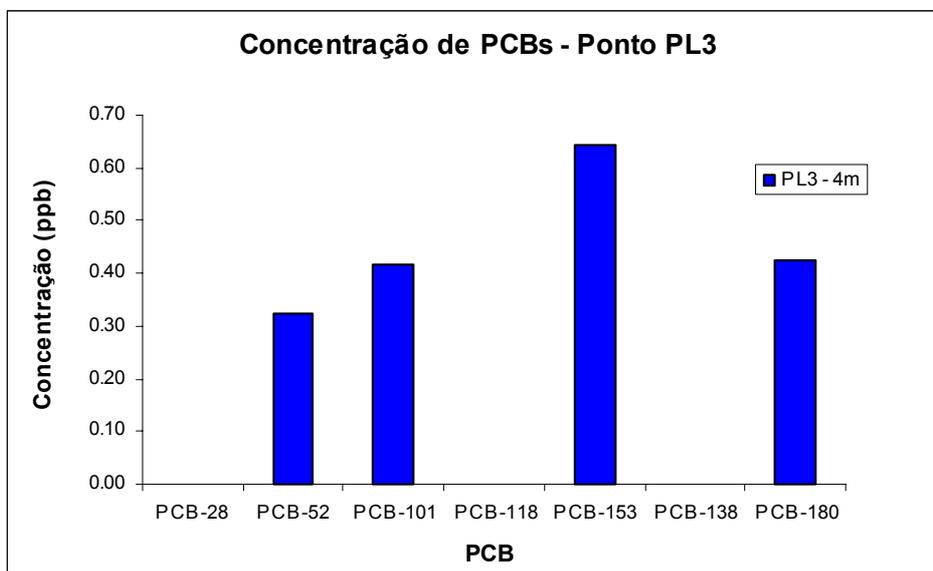
COPPE/UFRJ	PROGRAMA DE ENGENHARIA CIVIL
ALUNA: ANA CARLA	LAB. DE GEOTECNIA - CARACTERIZAÇÃO
	AMOSTRA: AREIA FRAÇÃO C
OPERADOR: L CARLOS	
RECEBIDO EM __/__/__	DATA: 19/nov REG.LAB.

Propriedades físico-químicas de alguns HPAs, PCB 1242 e PCE (fonte <http://www.chemfinder.com>)

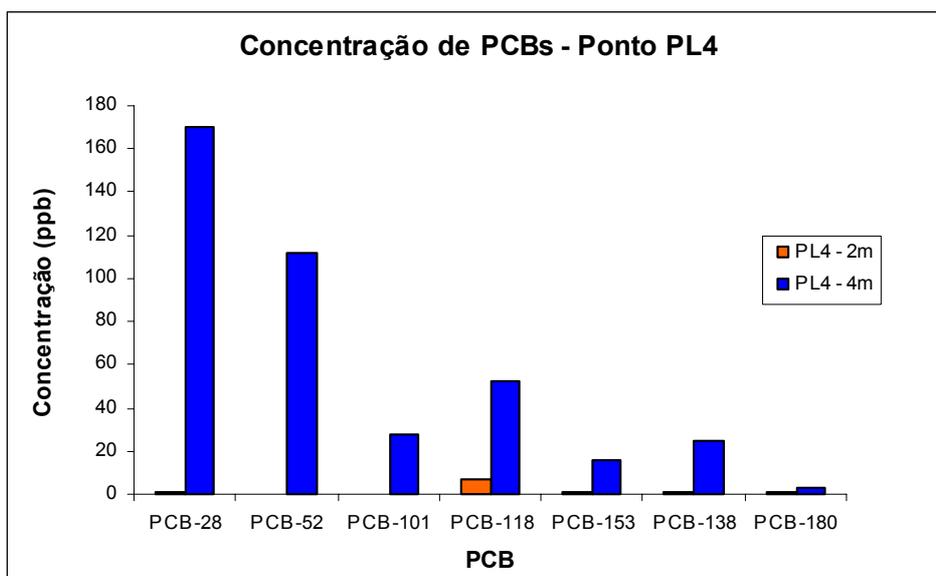
Substância	Peso Molecular	Fórmula Química	Constante de Henry (atm.m <sup>3</sup> /mol) a 25°C	Solubilidade (mg/L) a 25°C	Log K <sub>oc</sub>
Antraceno	178,24	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	6,51 x 10 <sup>-5</sup>	0,075	4,41
Benzo[g,h,i]perileno	276,34	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	1,4 x 10 <sup>-7</sup>	0,00026	6,89
Benzo[a]pireno	252,32	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	< 2,4 x 10 <sup>-6</sup>	0,0038	5,6 – 6,29
Dibenzo[a,h]antraceno	278,36	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>	7,33 x 10 <sup>-9</sup>	0,00249	6,22
Fenantreno	178,24	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	2,56 x 10 <sup>-5</sup>	1,18	3,72
Fluoranteno	202,26	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	0,0169	0,265	4,62
Indeno[1,2,3 cd]pireno	276,34	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	2,96 x 10 <sup>-20</sup>	0,062	7,49
PCB 1242	154 a 358	C <sub>12</sub> H <sub>x</sub> Cl <sub>y</sub>	5,6 x 10 <sup>-4</sup>	0,24	3,71
PCE	165,83	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	0,0153	150	2,42



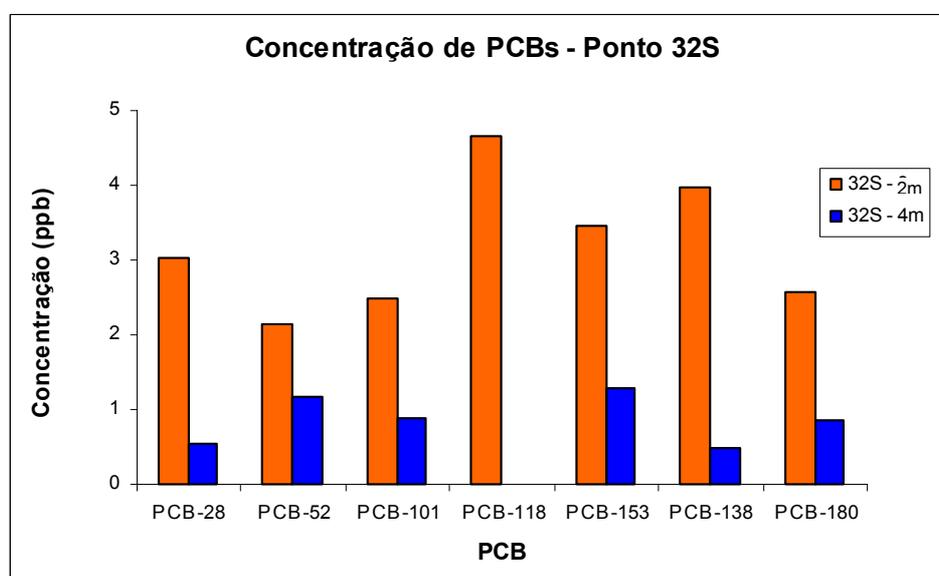
Concentração dos congêneres de PCB no ponto PL2 a 2 e 4 metros de profundidade.



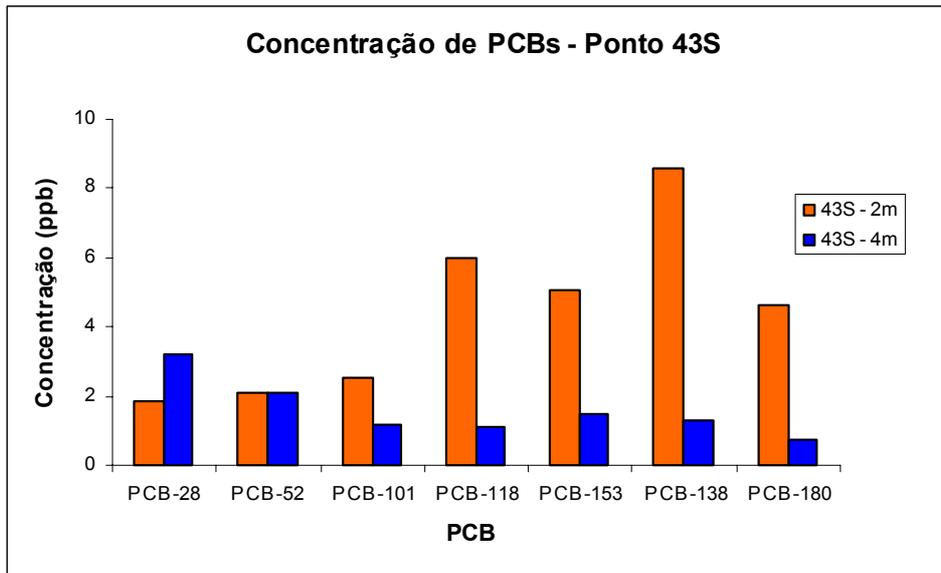
Concentração dos congêneres de PCB no ponto PL3 a 4 metros de profundidade.



Concentração dos congêneres de PCB no ponto PL4 a 2 e 4 metros de profundidade.



Concentração dos congêneres de PCB no ponto 32S a 2 e 4 metros de profundidade.



Concentração dos congêneres de PCB no ponto 42S a 2 e 4 metros de profundidade.