



UNILASALLE
CENTRO UNIVERSITÁRIO LA SALLE



ORION DE VARGAS FLORES

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS
POR ÓLEO DIESEL SUBMETIDAS AO TRATAMENTO FÍSICO E QUÍMICO**

CANOAS, 2015

ORION DE VARGAS FLORES

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS
POR ÓLEO DIESEL SUBMETIDAS AO TRATAMENTO FÍSICO E QUÍMICO**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Impactos Ambientais do Centro Universitário La Salle – UNILASALLE, como requisito para obtenção do título de Mestre em Avaliação de Impactos Ambientais.

Orientação: Prof^o Dr. Delmar Bizani

CANOAS, 2015



UNILASALLE
CENTRO UNIVERSITÁRIO LA SALLE



Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Impactos Ambientais

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Delmar Bizani
UNILASALLE, Orientador e Presidente da Banca

Prof. Dr. Silvio Roberto Taffarel
UNILASALLE

Prof. Dr. Rubens Müller Kautzmann
UNILASSALE

Prof. Dra. Tatiana Calvete
UFRGS

Área de Concentração: Avaliação de Impactos Ambientais

Curso: Mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais

Canoas, 16 de dezembro de 2015.

À minha mãe, que foi um exemplo de professora, mãe e mulher.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar o caminho nas horas e momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades e me suprir em todas as minhas necessidades.

Aos professores do mestrado, por acreditarem em mim, me mostrarem o caminho da ciência, e por serem bons exemplos de profissionais.

À Márcia Longaray Garcia e minha família, as quais amo muito, pelo carinho, paciência e incentivo.

Ao meu orientador Professor Dr. Delmar Bizani por sua ajuda nos momentos mais críticos, por acreditar no futuro deste projeto e contribuir para o meu crescimento profissional e por ser também um exemplo a ser seguido. Sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho.

Aos amigos que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.

Aos meus colegas de trabalho da Ícaro Logística Ambiental, principalmente à Carla Santana e Gabriela Braga que participaram diretamente deste trabalho e me ajudaram em todos os momentos.

“Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da Criação seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seu semelhante”

(Albert Schwweitzer)

RESUMO

O derramamento acidental de produtos químicos e/ou perigosos, como, por exemplo, combustíveis derivados de petróleo, geram impactos ambientais devido à alteração da qualidade ambiental do local, contaminação de solo, ar e água, além de causar risco à saúde humana e ao meio ambiente. As causas desses derramamentos são diversas podendo tanto ocorrer no armazenamento desses produtos, como também durante o transporte e suas etapas – carregamento e descarregamento. Dentre os impactos gerados por esses derramamentos encontra-se a comunidade biológica do solo, que sofre devido às modificações nos fatores químicos e físicos do solo. O presente trabalho estuda o comportamento da microbiota do solo em áreas contaminadas com óleo diesel após aplicação de processo de remediação físico e químico. Foram estudadas três áreas distintas, que encontram-se em etapas diferentes do processo de remediação. Uma primeira área encontra-se em processo final de remediação, a segunda encontra-se em processo inicial de remediação ainda tendo fase líquida do contaminante presente na área, e a terceira área encontra-se em etapa de finalização de remediação com aplicação de oxidante. Para avaliação da microbiota foram coletadas três amostras de solo de cada uma das áreas, sendo uma das amostras em local não impactado – o ponto branco. Estas amostras foram submetidas à análise pelos métodos de contagem indireta de microrganismos, através das metodologias de contagem padrão em placa e do Número Mais Provável (NMP). Foi possível observar que o processo de remediação utilizando o tratamento físico e químico nas áreas estudadas foi eficaz, e que a microbiota tende a se recuperar após o término da remediação. Em áreas que possuem contaminantes ainda presentes no solo ainda, a microbiota tende a ter um aumento, devido à presença de microrganismos hidrocarbonoclasticos. E em áreas cuja aplicação do oxidante está em processo de remediação tendem a apresentar um desequilíbrio da microbiota, devido à ação bloqueadora do oxidante, diminuindo a população microbiana.

Palavras-chave: microbiota, produtos perigosos, contaminação de solo, remediação.

ABSTRACT

The accidental outpouring of chemical products and/or dangerous products, like, for example, fuel, petrol, generate environmental impacts due to the quality modification of the place local, soil contamination, air, water causing risk to human health and the environment. The causes of this outpouring are many and can be in the storing of these products, as also during the transport and its stages - loading and downloading. Among the impacts generated in these outpourings is the biological community of the ground, that is modified due to the changes in the chemical and physical factors of the soil. The present work shows a study of the soil in contaminated areas with oil diesel after applying a physical and chemical remediation process. Three different areas were studied that are in distinct remediation process. One first area is in the end of remediation process, and the second is in the beginning of remediation process. Having the liquid stage of the contaminant present in the area yet and the third is found in the ending remediation process with the application of oxidant. For the microbiota evaluation were collected three soil samples of each area being one of the samples the white dot. These samples were analyzed by indirect counting methods of microorganisms, through standard counting methods in pourplate and the most probable number (NMP). It was possible to observe that the remediation process using physical and chemical treatment in studied areas was successful and that the microbiota tends to recover itself after the end of the remediation process. In areas that have contaminants on the soil the microbiota tends to increase due to the presence of hydrocarbonoclastic microorganisms. In areas that the application of the oxidant is in process, they tend to present one imbalance of the microbiota due to the blocking of the oxidant, reducing the microbial population.

key words: microbiota, dangerous products, soil contamination, remediation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema simplificado do Sistema MPE.....	26
Figura 2 – Estrutura molecular do persulfato.....	27
Figura 3 – Preparação do solo para coleta de amostras para análise da microbiota	36
Figura 4 – Coleta de solo para análise da microbiota.....	36
Figura 5 – Amostras de solo coletadas e identificadas para análise da microbiota...	37
Figura 6 – Homogeneização da amostra em equipamento Vórtex.....	37
Figura 7 – Aplicação amostra na placa previamente preparada com meio Ágar PCA e Sabouraud para contagem da microbiota.....	38
Figura 8 – Espalhamento da amostra em placa preparada com meio Ágar PCA e Sabouraud para contagem da microbiota.....	39
Figura 9 – Amostras incubadas na temperatura de 45°C - 50°C para determinação do número de unidades formadoras de colônias determinado pela técnica de contagem de placas	39
Figura 10 – Leitura do número de colônias formadas pela técnica de contagem em placas.....	40
Figura 11 – Série de tubos com meio de cultura utilizado para mensuração do número mais provável de células determinados pela técnica dos tubos múltiplos....	40
Figura 12 – Tubos incubados na temperatura de 45°C – 50°C para mensuração do número mais provável de células determinados pela técnica dos tubos múltiplos....	41
Figura 13 – Tubos após incubação na temperatura de 25°C para mensuração do número mais provável de células determinados pela técnica dos tubos múltiplos....	41
Figura 14 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 1 (área em fase de reabilitação)	46
Figura 15 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 1 (área em fase de reabilitação)	48
Figura 16 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 01 da Área 1 (área em fase de reabilitação), exceto HRP, MCNR e TPH total.....	50
Figura 17 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 02 da Área 1 (área em fase de reabilitação), exceto HRP, MCNR e TPH total.....	50
Figura 18 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 01 –	

Área 1 (área em fase de reabilitação)	51
Figura 19 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 02 – Área 1 (área em fase de reabilitação)	51
Figura 20 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente).....	53
Figura 21 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)	54
Figura 22 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 01 da Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente), exceto HRP, MCNR e TPH total	56
Figura 23 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 02 da Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente), exceto HRP, MCNR e TPH total	57
Figura 24 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 01 – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)	57
Figura 25 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 02 – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)	58
Figura 26 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 3 (área em fase final de remediação)	59
Figura 27 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 3 (área em fase final de remediação)	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição de microrganismos em diversos horizontes do perfil de solo	20
Tabela 2 – Valores orientadores pela Resolução CONAMA 420/2009 e Lista Holandesa de Valores (Normativa CETESB 6530)	34
Tabela 3 – Caracterização dos pontos de amostragem	44
Tabela 4 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 1 (área em fase de reabilitação)	46
Tabela 5 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 1 (área em fase de reabilitação)	47
Tabela 6 – Resultados analíticos para águas subterrâneas – Área 1 (área em fase de reabilitação).....	48
Tabela 7 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente).....	52
Tabela 8 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)	54
Tabela 9 – Resultados analíticos para águas subterrâneas – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)	55
Tabela 10 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 3 (área em fase final de remediação)	59
Tabela 11 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 3 (área em fase final de remediação)	60
Tabela 12 – Resultados analíticos para águas subterrâneas – Área 3 (área em fase final de remediação)	61

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

°C	Graus Celsius
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
cm	Centímetros
CO ₂	Dióxido de Carbono
FEPAM	Fundação Estadual de Proteção Ambiental
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HRP	Hidrocarbonetos Resolvidos de Petróleo
ISCO	<i>In-situ Chemical Oxidation</i>
kg/m ³	Quilograma por metro cúbico
m	Metro
m ²	Metro Quadrado
m ³	Metro Cúbico
MCNR	Mistura Complexa Não Resolvida
MPE	Multi Phase Extraction
N ₂	Gás Nitrogênio
Na ₂ S ₂ O ₈	Peroxidisulfato de Sódio
NMP	Número Mais Provável
NO _x	Óxidos de Nitrogênio
O ₂	Gás Oxigênio
PM	Poço de Monitoramento
PR	Poço de Remediação
TPH	<i>Total Petroleum Hydrocarbon</i>
TSA	<i>Trypticase Soy Agar</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
V	Volt
µg/L	Micrograma por Litro
µl	Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 Conceito e características da biota no solo	19
3.2 Contaminação de solo	21
3.3 Descontaminação de áreas contaminadas	23
3.4 Avaliação ambiental	29
<i>3.4.1 Coleta das amostras de solo</i>	<i>29</i>
<i>3.4.2 Quantificação da microbiota do solo</i>	<i>31</i>
3.4.2.1 Determinação do número mais provável	31
3.4.2.2 Contagem de microrganismos em Placa – Pour Plate	32
<i>3.4.3 Análise de amostras de água quanto a presença de hidrocarbonetos</i>	<i>33</i>
4 METODOLOGIA	35
4.1 Coleta das amostras de solo	35
4.2 Preparação das amostras de solo	37
4.3 Quantificação da microbiota do solo	38
4.3.1 <i>Contagem em placas</i>	38
4.3.2 <i>Tubos múltiplos</i>	40
4.4 Análises de água subterrânea	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 Áreas estudadas	43
5.1.1 <i>Amostras coletadas</i>	44
5.2 Processo de remediação das áreas estudadas	45
5.3 Resultado obtidos para a Área 1 (área em fase de reabilitação)	45

5.4 Resultado obtidos para a Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente).....	52
5.5 Resultado obtidos para a Área 3 (área em fase final de remediação)	58
6 CONCLUSÃO	63
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	65
8 REFERÊNCIAS	66
ANEXO A – ESQUEMA DE DILUIÇÃO, INOCULAÇÃO E CONTAGEM DOS MICRORGANISMOS DO SOLO.....	71
ANEXO B – TABELA DE McCrady.....	72
ANEXO C – CROQUI DA ÁREA 1 (ÁREA EM FASE DE REABILITAÇÃO).....	73
ANEXO D – CROQUI DA ÁREA 2 (ÁREA EM PROCESSO DE REMEDIAÇÃO E COM FASE LIVRE PRESENTE).....	74
ANEXO E – CROQUI DA ÁREA 3 (ÁREA EM FASE FINAL DE REMEDIAÇÃO) ...	75
ANEXO F – PERFIL DE FURO DE SONDAGEM DA ÁREA 1 (ÁREA EM FASE DE REABILITAÇÃO)	76
ANEXO G – PERFIL DE FURO DE SONDAGEM DA ÁREA 2 (ÁREA EM PROCESSO DE REMEDIAÇÃO E COM FASE LIVRE PRESENTE).....	77
ANEXO H – PERFIL DE FURO DE SONDAGEM DA ÁREA 3 (ÁREA EM FASE FINAL DE REMEDIAÇÃO)	78
ANEXO I – DECLARAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO	79

1 INTRODUÇÃO

A contaminação de solo por derramamento de produtos químicos ou perigosos tais como combustíveis derivados de petróleo, é uma das maiores preocupações atualmente, devido à quantidade de combustíveis transportados e estocados (principalmente em postos de combustíveis) e cresce cada vez mais (OLIVEIRA E LOUREIRO, 1998).

Estes lançamentos acidentais de quantidades significativas de combustíveis no solo podem ocorrer tanto a partir de vazamentos nos sistemas de armazenamento em decorrência de corrosão dos tanques ou das tubulações, defeitos de fabricação dos tanques ou instalação defeituosa dos tanques, das tubulações ou dos equipamentos de abastecimento, bem como nas etapas de transbordamentos ou derramamentos que acontecem durante as operações de descarga de combustível, e o transporte em si (OLIVEIRA E LOUREIRO, 1998).

O aumento do tráfego de veículos nas rodovias brasileira vem trazendo consigo uma preocupação maior, principalmente quando se considera o transporte de produtos perigoso, que apresentam alto risco e potencial poluidor à população e ao meio ambiente. Com o aumento do fluxo de veículos crescem as possibilidades de acidentes, além de agravar ainda mais as condições precárias de algumas rodovias e de provocar a saturação do sistema viário (MANTOVANI E GONÇALVES, 2006).

Muitas vezes os acidentes ocorridos com transporte de produtos perigosos geram vazamento destes nas estradas e áreas próximas impactando a área. Estes impactos ocorrem devido à alteração da qualidade ambiental do local, contaminando solo, ar e água, causando problemas à saúde humana e ao meio ambiente (LEAL JUNIOR, 2006).

Para atenuar tais impactos ambientais utiliza-se métodos de remediação. A remediação é definida como a aplicação de técnica ou conjunto de técnicas em uma área contaminada, visando à remoção ou contenção dos contaminantes presentes, de modo a assegurar a utilização futura da área, com limites aceitáveis de riscos aos bens a proteger (AREND et al, 2011).

Vários métodos podem ser empregados para remover contaminantes do solo e da água subterrânea, entre eles destacam-se, a extração de vapor do solo,

bombeamento e biorremediação. Estudos relacionados à remediação de áreas contaminadas são realizados com a finalidade de restaurar a qualidade dos solos e das águas subterrâneas atingidos. Esses estudos preocupam-se, principalmente, em avaliar a eliminação do contaminante após a remediação, obtendo-se, ao final da aplicação da técnica, parâmetros dentro dos padrões estabelecidos na legislação vigente.

Porém há um aspecto muito importante quando falamos de contaminação de solo, e que boa parte dos estudos não levam em consideração na remediação, que diz a respeito a microbiota do solo. A qualidade da microbiota tem importância ao meio ambiente desde questões referentes as propriedades da água e solo até o sequestro de substâncias tóxicas, refletindo o ambiente, culturas e negócios. Ela é responsável pelas transformações fundamentais nos ciclos biogeoquímicos, reciclando a matéria orgânica, degradando xenobiontes, fixando nitrogênio atmosférico e produzindo gases relacionados ao efeito estufa, entre outras transformações conhecidas e muitas ainda por serem descobertas (SILVEIRA e FREITAS, 2007).

Nas literatura atuais encontram-se muitos procedimentos e técnicas de remediação para áreas contaminadas por derivados de petróleo, sendo a química a mais rápida e por isso a mais utilizada por empresas que prestam esse tipo de serviço. No entanto, normalmente não há a preocupação em verificar o comportamento da microbiota frente à utilização destes agentes químicos.

Tendo o exposto acima e observando-se que há uma carência de estudos do comportamento da microbiota frente a contaminação de produtos perigosos, com aplicação de técnica de remediação de solo, o presente trabalho tem como objetivo geral avaliar o comportamento da microbiota de áreas impactadas por contaminação decorrente de vazamentos com produtos perigosos, mais especificamente óleo diesel, e tratado por meio de remediação físico e químico. O estudo ajudará a entender o processo de recuperação da microbiota, de áreas remediadas por processo físico e de oxidação e auxiliará na eficiência e escolha da técnica dentro dos padrões aceitáveis de descontaminação do solo. Sendo os resultados esperados de crescimento da microbiota após a finalização do processo de remediação e total eliminação do produto contaminante e agente oxidante, utilizada

no tratamento, bem como espera-se um decréscimo da população microbiana na presença do agente oxidante.

A publicação de um trabalho que avalie o comportamento da microbiota frente a um processo de remediação físico-química pode ser de grande importância uma vez que este é um dos indicadores de qualidade do solo e fundamental para a manutenção de ecossistemas. Optou-se pela avaliação de áreas contaminadas com óleo diesel, por este ser um combustível e estar entre os produtos mais transportados, e também pelo fato de os combustíveis serem os produtos com maiores índice de acidentes no estado do Rio Grande do Sul, estando envolvidos em cerca de 44,73% dos acidentes registrados (FEPAM, 2015).

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho estão divididos em geral e específicos.

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o comportamento da microbiota de áreas impactadas por contaminação decorrente de vazamentos com produtos perigosos, mais especificamente óleo diesel, e tratado por meio de remediação físico e químico.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos são:

- a) analisar o processo de remediação físico e químico aplicado em áreas distintas;
- b) avaliar o comportamento da microbiota em áreas distintas em diferentes etapas do processo de remediação;
- c) confrontar o processo de recuperação por meio de análise de parâmetros químicos (BTEX) e biológicos (concentração de microrganismos).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Para melhor entendimento dos aspectos a serem trabalhados neste trabalho foram abordados primeiramente o conceito e as características da microbiota, seguido de uma discussão sobre contaminação de solo e os principais métodos de descontaminação de áreas contaminadas. Por fim foram apresentados as etapas e procedimentos de avaliação de contaminação do solo.

3.1 Conceito e características da biota no solo

O estudo das propriedades do solo tem grande importância no desenvolvimento das atividades humanas. Tratando-se do ponto de vista ecológico este representa o substrato que fornece os nutrientes e água, essenciais para o desenvolvimento das plantas e animais que habitam o solo ou dependem diretamente dele. Podemos afirmar que maior parte da vida encontrada nos ecossistemas terrestres desenvolve-se no interior do solo e sobre ele (CASTRO, 2010).

O solo apresenta como principais componentes os minerais inorgânicos e partículas de areia, silte e argila, formas estáveis da matéria orgânica derivadas da decomposição pela biota do solo, a própria biota, composta de minhocas, insetos, bactérias, fungos, algas e nematóides e gases, tais como O₂, CO₂, N₂, NO_x (DORAN et al, 1996).

A microbiota, objeto de estudo desta dissertação, regulamenta e expressa à vida do solo e os seus processos vitais. A regulamentação da microbiota frente à decomposição de resíduos orgânicos, degradação de poluentes químicos, influencia a estrutura do solo e a ciclagem de nutrientes, faz com que esses microrganismos e esses processos sejam utilizados como indicadores da saúde ou qualidade do solo (KENNEDY, 1998).

De modo geral a camada de 0 – 20 cm de profundidade é aonde está situada a maior concentração microbiológica do solo. Isso ocorre devido ao acúmulo de matéria orgânica do solo por deposição do material vegetal da parte superficial. A Tabela 1 apresenta a distribuição de microrganismos em diversos horizontes do perfil de solo, definidos por Alexandre (apud MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Tabela 1 – Distribuição de microrganismos em diversos horizontes do perfil de solo

Profundidade (cm)	Organismos/g de solo x 10 ³				
	Bactérias aeróbicas	Bactérias Anaeróbias	Actinomicetos	Fungos	Algas
3 – 8	7800	1950	2080	119	25
20 – 25	1800	379	245	50	5
35 – 40	472	98	49	14	0,5
65 – 75	10	1	5	6	0,1
135 – 145	1	0,4	0	3	0

Fonte: Alexandre, 1977 apud Moreira e Siqueira, 2002.

Segundo Castro (2010), atividades como adição ou remoção de elementos, como adubagem, calagem e exportação por colheita, provocarão modificações significativas nos fatores químicos e físicos do solo, gerando impacto na comunidade biológica. A contaminação por compostos ou elementos tóxicos adicionados ao solo através de diversas atividades antrópicas (agricultura, indústria, mineração), incluindo contaminações causadas por vazamento de produtos químicos e/ou perigosos, com combustíveis, em solo oriundo de acidentes durante o transporte desses produtos, bem como no próprio armazenamento em tanques aéreos ou subterrâneos. As causas mais frequentes são as mudanças rápidas de pH e temperatura dos solos, de aeração, de agregação, de umidade e circulação hídrica, de disponibilidade de nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, de porosidade e outras.

Segundo Pelilizari e Luis (apud MENEGHETTI, 2007), a distribuição, concentração, estrutura e disponibilidade da matéria orgânica no qual se encontra a população microbiana determina em parte a sua biodiversidade. Os microrganismos tendem a desenvolver vias metabólicas complexas com enzimas especializadas e outras características celulares com o intuito de degradar os compostos contaminantes no solo.

Meneghetti (2007) afirma que tanto o solo quanto as águas subterrâneas contêm um número elevado de microrganismos que se adaptam, gradualmente, às fontes de energia e carbono disponíveis no meio, quer sejam açúcares facilmente metabolizáveis, quer sejam compostos orgânicos complexos como os benzeno,

tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX), desenvolvendo naturalmente a atenuação natural, ou podendo ser estimulados para uma biodegradação controlada do contaminante.

De acordo com o estudo realizado por Richard e Vogel (apud MENEGETTI, 2007), um consórcio de bactérias, composto por diversos tipos de *Pseudomonas sp.* e por *Achromobacter sp.*, são capazes de degradar óleo diesel. Neste estudo realizado por Richard e Vogel, concluiu-se que 90% do diesel inicial foi degradado após 50 dias de incubação, não sendo encontrado nenhum composto aromático ao final do experimento. Os microrganismos capazes de degradarem compostos de hidrocarbonetos, como o óleo diesel, são chamados de hidrocarbonoclasticos.

3.2 Contaminação de solo

Segundo Meneghetti (2007), o crescimento do número de contaminações de solos e água subterrânea por hidrocarbonetos derivados de petróleo, como o óleo diesel, tem sido destaque nas últimas décadas, principalmente pelo fato cada vez mais surgirem ocorrências e pela gravidade com que o meio ambiente é afetado. A principal fonte de contaminação por óleo diesel são devido a pequenos vazamentos de combustíveis ocorridos em reservatórios, falhas mecânicas ou humanas ocorridas nas operações de descarga e até mesmo por acidentes ocorridos no transporte deste produto químico e perigoso.

No Rio Grande do Sul, de acordo com a Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM), nos últimos cinco anos ocorreu 152 acidentes rodoviários com cargas perigosas, sendo que 68 destes foram combustíveis (FEPAM, 2015).

O petróleo é um combustível fóssil resultante da transformação e decomposição de matéria orgânica de plantas aquáticas e animais pré-históricos, acumulado ao longo de milhões de anos (de 15 a 500 milhões de anos) no fundo dos mares, lagos e pântanos. Quimicamente, o petróleo é constituído por uma complexa mistura de diferentes substâncias, no mínimo de 200 a 300 compostos, sendo os principais o nitrogênio (0% a 0,5%), enxofre (0% a 6%), oxigênio (0% a 3,5%), e os hidrocarbonetos (50% a 98%), também encontram-se alguns metais em concentrações traço (principalmente níquel e vanádio). Além disso, as suas composições químicas e as suas propriedades físicas variam de um campo

petrolífero para outro, dependendo da sua origem. Em solos contaminados por petróleo e seus derivados, alguns contaminantes se destacam frente aos demais. Sendo que os compostos de interesse que exigem maior preocupação ambiental são benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) (ANDRADE, 2010).

Dentre os combustíveis, encontra-se o óleo diesel, que é formado basicamente por hidrocarbonetos (átomos de hidrogênio e carbono), tendo em menores quantidades o oxigênio, nitrogênio e o enxofre. Apresenta-se em forma de líquido amarelado viscoso, límpido, pouco volátil, cheiro forte e marcante e com nível de toxicidade mediano, com possível efeito carcinógeno humano. Quanto à toxicidade aguda pode ser fatal se aspirado, ingerido ou inalado. É formulado através da mistura de várias correntes provenientes das diversas etapas de processamento do petróleo (FISPQ, 2014). Além disso, ele possui ponto de fulgor de 36°C, densidade a 20°C de 836,9 kg/m³ e ponto de ebulição entre 180°C e 360 °C (MENEZES, 2011).

Segundo Mariano (2006) quando o óleo diesel atinge o solo ocorre a separação de seus componentes em três fases: dissolvida, líquida e gasosa. Uma fração pequena dos componentes da mistura dissolve-se na água do lençol freático, enquanto a líquida fica retida nos espaços porosos do solo como saturação residual. A fase gasosa evapora, dando origem à contaminação atmosférica.

Os hidrocarbonetos são formados essencialmente por átomos de carbono e hidrogênio e sua constituição varia desde moléculas mais simples e mais facilmente biodegradáveis, como o metano, até compostos mais complexos, como os que incluem anéis de benzeno (MOURA e SAMARA, 2005 apud MENEGHETTI, 2007). Segundo Olson (apud MENEGHETTI, 2007), estudos de biodegradação demonstram que algumas populações microbianas podem degradar frações alifáticas e aromáticas de hidrocarbonetos simultaneamente, apesar de que, a adição de alguns compostos, bem como a composição de algumas misturas podem interferir na degradação dos componentes.

Tendo em vista a ampla composição do óleo diesel, que varia de acordo com o local de extração do petróleo, seus contaminantes tornam-se complexos e apresentam propriedades distintas, todavia, caracterizam-se pela baixa solubilidade e pouca persistência no solo. Dentre os constituintes do óleo diesel, destacam-se os hidrocarbonetos monoaromáticos BTEX, que apresentam maior solubilidade em

água, tornando-se os contaminantes com maior potencial poluidor (MARIANO, 2006). Devido à estas características, os compostos BTEX são utilizados como parâmetros para avaliação de contaminação de solos e águas.

Além do BTEX, outros dois parâmetros são geralmente utilizados para a avaliação de possíveis contaminações em solo e água contaminado por hidrocarbonetos, que são os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) e o TPH (do termo em inglês *Total Petroleum Hydrocarbon*). Os HPAs constituem uma família de compostos caracterizada por possuírem dois ou mais anéis aromáticos condensados. E TPH é o termo utilizado para qualquer mistura de hidrocarbonetos encontrados no petróleo puro. O TPH pode ser analisado pelos seus intervalos típicos de carbono, dos quais o intervalo C₁₀-C₂₈ refere-se ao intervalo orgânico do óleo diesel.

3.3 Descontaminação de áreas contaminadas

Cada caso de contaminação deve ser analisado individualmente, analisando suas particularidades através de uma avaliação de impacto ambiental. Dentre elas deve-se salientar que cada técnica de tratamento é dependente de vários fatores, tais como: condições físicas, químicas e biológicas do local contaminado; concentração do contaminante e; tempo requerido para a degradação ou a remoção do composto alvo (ANDRADE, 2010).

Alguns fatores devem ser avaliados no momento da escolha do método a ser utilizado para a remediação de um determinado local, buscando a eficiência de sua aplicação. De forma ampla são avaliados basicamente o tipo da contaminação, espaço e seção geológica existente no local. Porém, outros fatores podem ser determinantes para a escolha do método a ser utilizado. Dentre eles podemos citar a aplicabilidade e eficácia quanto ao nível de remediação demandado, categoria de desenvolvimento, disponibilidade, limitações e custos, impacto potencial ambiental e necessidade operacional de informações e monitoramento (PAGLIARI, 2009).

Os métodos de tratamento mais utilizados na indústria de petróleo são normalmente divididos em métodos físicos, químicos e biológicos (SANTOS, 2007). Os tratamentos físicos envolvem a separação das fases do solo e contaminante. Já os tratamentos químicos se baseiam nas diferenças das propriedades químicas dos

diversos componentes dos contaminantes e envolvem, geralmente, uma ou mais das seguintes reações químicas: neutralização, fotólise e/ou oxidação. O tratamento biológico, ao contrário dos processos físicos e químicos, é considerado um método seguro, eficiente e de menor custo a ser aplicado na remediação de solos contaminados por compostos orgânicos. Este tratamento, baseado na capacidade microbiana de degradar esses compostos, é denominado biodegradação, que quando aplicado como uma tecnologia de remediação ambiental é chamada de biorremediação (TRINDADE apud SANTOS, 2007).

Outra forma de classificação dos métodos de descontaminação considera o local de aplicação do tratamento. Assim, tem-se a descontaminação *in-situ* (realizada no local) e a descontaminação *ex-situ* (realizada fora do local).

A descontaminação *in-situ* consiste no tratamento aplicado no próprio terreno a ser remediado e é considerada mais segura, pois não há necessidade de deslocamento do material contaminado durante o processo. Os métodos utilizados nesse tratamento podem ser químico, físico, biológico e térmico. O tratamento químico normalmente é feito através de oxidação, o físico através de aspersão de ar abaixo do nível do freático (extração de vapor do solo, eletrocinese) e o biológico através de atenuação natural monitorada, aspersão de ar acima do nível do lençol freático, bombeamento de água, óleo e gases, como o método *Multi-Phase Extraction* (MPE), e por fim, o térmico, através de injeção de vapor, do aquecimento por radiofrequência, e vitrificação (BOSCOV, 2008).

Já a descontaminação *ex-situ* é um tratamento que corre através da remoção do solo contaminado e é aplicado a solos de baixa permeabilidade, o que inviabiliza a utilização de outras técnicas. Para este tipo de solo o sistema mais comumente utilizado é a escavação e a incineração do solo, quando aquíferos, e quando se encontram abaixo de vias e casas, é necessário realizar o bombeamento e tratamento (PAGLIARI, 2009).

Atualmente, em todo o mundo, a tendência é a de se utilizar as técnicas de remediação *in-situ*, por apresentarem custo menor e não provocarem contaminações secundárias, fato observado na remediação *ex-situ*, já que ocorre o transporte do material contaminado até o local de tratamento (TAVARES, 2009).

A busca por alternativas que utilizam soluções mais naturais e com menores impactos no subsolo vem ganhando forças nos últimos anos, porém, estas soluções

requerem um maior tempo para a remediação, e nem sempre são suficientes para atingir os objetivos do projeto. Desta forma, na maioria dos casos estão sendo utilizados técnicas complementares às tecnologias convencionais já existentes (NOBRE e NOBRE, 2005 apud COUTINHO e GOMES, 2007).

Dentre as combinações utilizadas na remediação de solo podemos citar o Sistema MPE complementado com tratamento químico (oxidação). O Sistema MPE consiste na combinação das técnicas de bioventilação e remoção de massa a vácuo, o que possibilita a extração da fase livre de hidrocarbonetos, fase vapor de compostos orgânicos em solo e fase dissolvida na matriz do solo, estimulando o processo de biodegradação natural na zona não saturada (NOBRE et al., 2003; FURTADO, 2005, apud COUTINHO e GOMES, 2007).

A extração multifásica ocorre através da instalação de um sistema de ventilação à vácuo, cujos poços de extração são distribuídos na área a ser remediada. O sistema MPE, segundo a CETESB (2008), é composto por uma bomba de palheta de alta performance utilizada para geração da pressão negativa, tanque de vácuo, caixa separadora óleo-água, bomba de transferência, reservatório para fase livre, filtro de carvão ativado para as fases líquida e gasosa, além de uma painel lógico programável para gerenciamento do sistema. O sistema ainda possui um sistema de desligamento automático geral que é acionado quando o reservatório de produto enche. Esse sistema de desligamento tem por objetivo evitar transbordamento do produto recuperado, garantindo a segurança do sistema.

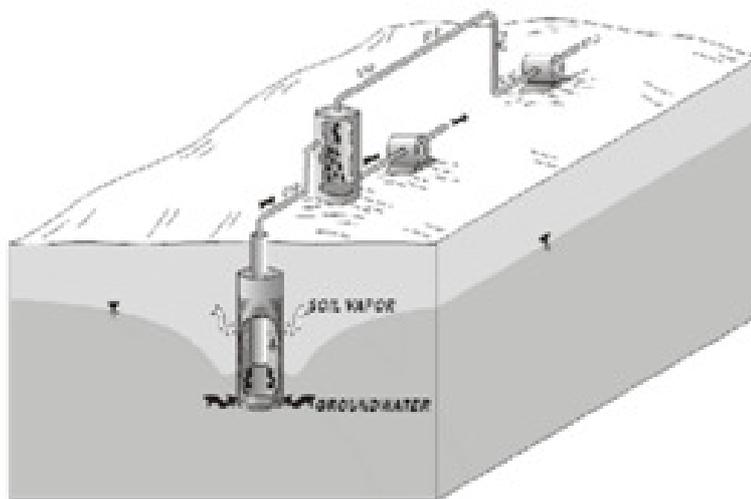
A bomba de palheta do sistema gera uma pressão negativa no tanque de vácuo, que por sua vez transmite a pressão para os ramais de interligação até os pontos de extração instalados. Essa pressão negativa aplicada aos tubos de sucção, não inclusos no sistema, faz com que sejam encaminhados ao tanque de vácuo do sistema MPE a fase líquida, composta pela fase livre e dissolvida em água subterrânea, e os vapores de compostos orgânicos presentes no solo (CETESB, 2008).

No tanque de vácuo ocorre a separação da fase líquida e da fase de vapores, onde a fase líquida é encaminhada para a caixa separadora óleo-água, que fica acondicionada no reservatório de produto recuperado. Esse reservatório é composto por um sistema intrinsecamente seguro de detecção de nível, que desliga automaticamente quando o reservatório de produto está cheio. A água contaminada,

provinda da caixa separadora, é transferida para o filtro de carvão ativado de líquidos para que ocorra a separação da fase dissolvida. Um sistema integrado de *air sparging* conjugado ao sistema de filtragem deixa o sistema mais eficaz, garantindo o descarte do efluente líquido do sistema dentro dos padrões legais, que devem ser monitorados pelo operador do sistema. Os vapores de compostos orgânicos contidos no tanque de vácuo, por sua vez, são transferidos para o filtro de carvão ativado de gases, com o objetivo de abatimento dos compostos orgânicos voláteis antes do lançamento para a atmosfera. Vale ressaltar que o carvão ativado granulado, presente tanto nos filtros de fase líquida quanto nos de fase de vapores, devido ao tempo de operação e em função da concentração dos compostos orgânicos presentes no efluente líquido e gasoso do sistema, ficará saturado, havendo necessidade de troca, que deve ser monitorada pelo operador do sistema (CETESB, 2008).

A Figura 1 apresenta um esquema simplificado do Sistema MPE.

Figura 1 – Esquema simplificado do Sistema MPE



Fonte: Cetesb, 2008.

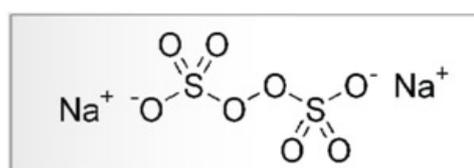
Em complementação ao Sistema MPE é utilizado o tratamento químico *in-situ*, por meio de oxidação, conhecida com *In-Situ Chemical Oxidation* (ISCO), que dará o polimento final na remediação, remediando a área por completo. Dentre as técnicas de oxidação, o oxidante mais comum e com dados na literatura é o peróxido de hidrogênio, sendo capaz de oxidar uma vasta gama de contaminantes. Porém, o

peróxido apresenta baixa eficiência em solo devido à limitação desse oxidante quanto a sua estabilidade em algumas matrizes, acarretando na sua rápida decomposição, restringindo seu transporte e sua eficácia (FERNANDES e FILHO, 2014).

Outro oxidante muito utilizado atualmente é o persulfato, cujo potencial de óxi-redução é 2,01V, enquanto que o do peróxido é 1,776V, tornando assim, o persulfato um oxidante potente. Entretanto, este apresenta taxas de reações cineticamente lentas para a maioria dos contaminantes resistentes, o que não o torna menos eficaz, pois essas taxas podem ser substancialmente melhoradas por diversos processo de ativação com conseqüente geração dos radicais sulfatos. Esse fato faz com que o persulfato apresente vantagens frente às outros agentes oxidantes, tais como, a rapidez cinética e estabilidade, especialmente quando comparado ao radical hidroxila (FERNANDES e FILHO, 2014). Ainda segundo Fernandes e Filho (2014), o sulfato apresenta maior capacidade de ser transportado a distâncias maiores na sub-superfície e menor atração por orgânicos naturais do solo, quando comparado à técnicas que utilizam permanganato, se tornando mais eficaz em solos com alta demanda orgânica natural.

Geralmente é utilizado o persulfato de sódio, que tecnicamente é composto de sal do peroxidissulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$) e é um pó branco sólido em condições normais de temperatura e pressão. Na Figura 2 é apresentada a estrutura molecular do persulfato, que é usualmente aplicado em conjunto com agregado, agentes tradicionais de ativação (WILSON et al, 2013).

Figura 2 – Estrutura molecular do persulfato



Fonte: WILSON et al, 2013.

A oxidação de compostos orgânicos por persulfato é complexa e incluem reações de oxidação direta e oxidação radical. A oxidação direta se dá pelo fato do persulfato reagir diretamente com muitos materiais orgânicos trocando de elétrons. Já na oxidação radical os radicais são gerados quando o ânion persulfato reage com

outro composto para formar átomos com elétrons sem par. Os radicais mais comuns gerados pelo persulfato sob condições utilizadas na ISCO são o radical de sulfato e o radical de hidroxila (WILSON et al, 2013).

Os oxidantes são compostos, em suas fórmulas comerciais, por substâncias ativadoras, que podem ser metais, peróxidos, dentre outros, que auxiliam na reação com a matéria orgânica tornando-a mais rápida. Os ativadores utilizados por cada fabricante geralmente não são informados, garantindo o sigilo e competitividade entre as marcas. Desta forma a dosagem do oxidante a ser aplicado na remediação é fornecida pelo fabricante do produto, que solicita os seguintes dados para que possa calcular a quantidade de oxidante a ser aplicada:

- a) área a ser tratada (m^2);
- b) espessura da área a ser tratada (m);
- c) volume de solo a ser tratado (m^3);
- d) porosidade total;
- e) volume de água subterrânea (m^3);
- f) densidade do solo;
- g) massa de solo (kg);
- h) demanda de Oxidante do solo.

Além dos processos de tratamento químico, físicos e/ou biológicos que podem ser aplicados para remediação de áreas contaminadas com produtos químicos e/ou perigosos, existe o processo natural de atenuação (biorremediação intrínseca). Segundo Baptista e Rizzo (apud MENEGHETTI, 2007), a atenuação natural ocorre sem o acréscimo de nutriente ou adequação de qualquer condição ambiental, ocorrendo continuamente devido ao processo de adaptação natural da microbiota nativa do solo impactado. Além desta atenuação natural, o solo contaminado é sujeito ao processo de intemperização natural, através de processos físicos e químicos ocorridos, como lixiviação e volatilização, sendo estes responsáveis pela redução da concentração do poluente no solo. Este processo de atenuação natural costuma a ser longo, podendo durar meses e até anos, sendo necessário, então, a aplicação de processos químicos, físicos ou biológicos, com o intuito de diminuir o período de recuperação da área.

3.4 Avaliação ambiental

Uma avaliação ambiental consiste em avaliar se uma área de interesse está segura para uso existente ou pretendido, principalmente no que diz respeito de contaminação de solo e/ou água subterrânea, através de diferentes metodologias, que incluem pesquisas, entrevistas, vistorias, coleta de amostras, análises químicas e interpretação dos dados obtidos para a construção de um modelo conceitual e avaliação de possíveis riscos existentes.

3.4.1 Coleta das amostras de solo

A Normativa 6300/1999 (Amostragem de Solo, elaborado e revisado pela CETESB – GTZ), estabelece os procedimentos de coleta das amostras de solo. Esta normativa apresenta todas as ações a serem realizadas no processo de amostragem de solo, desde a identificação da área, levantamento e avaliação do local, plano de amostragem no qual constará a distribuição, quantificação e profundidade dos pontos de amostragem, até a coleta, preparação e transporte das amostras até laboratório credenciado. Conforme definido pela normativa da CETESB a distribuição dos pontos tem como principal objetivo, ao estabelecer um esquema de distribuição dos pontos de amostragem, promover um levantamento de dados que representem a área avaliada, levando-se em conta um custo de investigação já fixado ou que deva ser minimizado.

A distribuição dos pontos tem por objetivo ainda adotar um esquema de amostragem simples, com o intuito de facilitar a análise dos dados e a sua implantação em campo. Quanto ao esquema de distribuição dos pontos de amostragem, a mais comum é a distribuição aleatória. Dentre os tipos de distribuição aleatória, encontramos o esquema estratificado, no qual se procede uma divisão regular da área distribuindo-se os pontos de forma aleatória em cada uma delas. Este esquema de amostragem assegura que todas as subáreas que compõe o local investigado sejam amostradas. Este esquema será o utilizado para a amostragem dos pontos a serem investigado nas áreas de estudo deste trabalho.

A definição do número de pontos de maneira geral dependerá de alguns fatores, conforme definido pela normativa da CETESB. Esses fatores são: tamanho

da área investigada, qualidade das informações prévias disponíveis, hipótese de distribuição espacial da contaminação e grau de confiança requerido. Quanto a profundidade de amostragem, a normativa da CETESB, define que esta varia de acordo com alguns fatores que influenciam a distribuição dos contaminantes no solo, tais como: natureza da contaminação (substância), tipo de solo e condições do local (uso atual e passado).

Quanto as técnicas e equipamentos de amostragem a normativa Byrnes (apud CETESB, 1999) indica que dependerá basicamente da profundidade a ser amostrada, substâncias a serem analisadas e tipo de amostra a ser coletada. Para amostras coletadas em uma profundidade inferior à 1,50 metros, há indicação de amostra de solos superficiais. Para esses solos os equipamentos de amostragem mais comuns utilizados para as coletas são:

- a) pás e picaretas;
- b) trados de caneco, manuais ou mecânicos;
- c) trado de rosca;
- d) trado holandês;
- e) amostradores tubulares (barrilete – tubo aberto, meia-cana, tubo fechado e tubo de parede fina).

O uso de pás é a forma mais simples e direta de coleta de amostras de solo, e consiste basicamente em remover a camada superior do solo utilizando-se uma enxada ou instrumento similar, até a profundidade desejada, quando então coleta-se o solo com uma pequena pá de aço inoxidável. Este é um método de amostragem, segundo a CETESB (1999), recomendado na coleta de solos contaminados com compostos semivoláteis, metais, pesticidas PCBs, TPH e Radionuclídeos.

Os procedimentos de amostragem (USEPA, 1989 e 1991, e BYRNES, 1994 apud CETESB,1999) consistem em limpar a área a ser amostrada de qualquer fragmento presente na superfície, podendo ser apropriado a remoção dos primeiros 8 a 15 cm da superfície do solo de uma área de aproximadamente 30 cm de diâmetro ao redor do local.

As ações para amostragem do solo devem seguir os itens a seguir descritos:

- a) remover cuidadosamente a camada superficial de solo até a profundidade que deseja-se amostrar, utilizando-se uma pá limpa previamente;
- b) utilizando-se uma espátula ou colher de pedreiro de aço inoxidável, previamente limpa previamente, remover e descartar uma fina camada de solo que teve contato com a pá durante a escavação;
- c) colocar sobre o ponto de amostragem uma folha de plástico com um furo de aproximadamente 30 cm, centrado com o ponto a ser amostrado, evitando assim qualquer alteração da amostra e o seu espalhamento na área;
- d) coletar e manusear as amostras de acordo com o tipo de substância a ser investigada e tipo de amostra pretendida;
- e) ao coletar-se amostras simples, transferir o solo diretamente para o frasco de coleta. Para amostras compostas, transferir o solo para balde de aço inoxidável, onde será feita a homogeneização, após deve-se transferir a amostra quarteada para um frasco apropriado;
- f) proceder a descontaminação dos equipamentos antes da próxima amostragem.

3.4.2 Quantificação da microbiota do solo

A avaliação da população microbiana do solo (microbiota) pode ser realizada pelos métodos indiretos através da estimativa da população de fungos e bactérias heterotróficos, obtida por meio da metodologia da contagem padrão em placa (*Pour Plate*) e do Número Mais Provável (NMP), segundo Carter (1993).

3.4.2.1 Determinação do número mais provável

A técnica dos Tubos Múltiplos também é conhecida como Técnica do Número Mais Provável (NMP), e permite estimar o número de células viáveis numa suspensão celular através do uso de indução matemática, onde os resultados são relatos como positivo ou negativo em uma ou mais diluições decimais da amostra (PEELER, 1992 apud SILVA, 2002). O princípio deste método consiste na inoculação de várias réplicas de diluições em série de uma mesma amostra, em tubos de ensaio com meio de cultura líquido e na detecção e contagem do número de réplicas

nas quais for detectado crescimento. Assume-se que cada tubo de ensaio onde se detecta crescimento terá recebido pelo menos uma célula microbiana viável e cultivável. Interpreta-se que os tubos nos quais não ocorre crescimento microbiano não devem ter recebido nenhuma célula viável. Os tubos com crescimento distinguem-se facilmente daqueles onde não ocorreu crescimento, pela presença de turbidez e/ou mudanças de coloração apresentada pelo meio de cultura específica para cada espécie ou grupo a ser detectado.

A determinação do número mais provável de células é feita através da aplicação de tabelas publicadas, preparadas através de cálculos estatísticos, levando-se em consideração uma combinação do número de réplicas, onde se detecta crescimento e as respectivas diluições. Ou seja, a partir dos resultados obtidos em cada uma das diluições, pode se estimar o número mais provável de microrganismos com o auxílio de uma tabela de probabilidade de ocorrência, a Tabela de McCrady (HUNGRIA e ARAUJO, 1994).

3.4.2.2 Contagem de microrganismos em Placa – *Pour Plate*

A contagem em placas permite a visualização de colônias de microrganismos, que são consideradas, cada uma como tendo sido originária de uma única célula. De modo geral, a técnica de contagem em placas pode ser utilizadas para enumeração de grandes grupos microbianos, como aeróbios, mesófilos, aeróbios psicrotróficos, termófilos, bolores e leveduras, com variação do tipo de meio, temperatura e tempo de incubação (HAJDENWUECEL, 1998; SILVA et al, 1997 apud SILVA, 2002). Como é possível que algumas colônias se originem de células não separadas, considera-se então não o número de células, mas sim o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ mL ou g).

A contagem em placa é feita por derramamento em profundidade ou *pour plate*. Neste, a suspensão da amostra contendo microrganismos em água sofrerá diluições seriadas e uma alíquota de 100 μ L dessas diluições é aplicada, em triplicata, no fundo de placas de Petri, previamente esterilizados. Sobre essa alíquota é aplicada uma quantidade de meio *Trypticase soy Agar* (TSA) fundido, a temperatura de aproximadamente 45°C - 50°C e o conjunto cuidadosamente homogeneizado, através de movimentos circulares. Após a solidificação do meio, as

placas tampadas são invertidas e incubadas a temperatura ambiente (25°C) por 24 a 48 horas, para proceder à contagem do número de colônias bacterianas.

Para a contagem de fungos são semeadas as mesmas alíquotas, após as diluições, em Agar Sabouraud e incubado a 28° C. Na técnica de contagem em placa, as placas adequadas para contagem devem ter entre 15 a 150 colônias. Assim, após a contagem, o resultado médio do número de colônias das placas referentes a cada diluição será registrado, multiplicado e corrigido pelo fator da diluição.

3.4.3 Análise de amostras de água quanto a presença de hidrocarbonetos

Para a verificação da presença do óleo diesel nas áreas avaliadas devem ser realizadas análises residuais de BTEX, TPH e HPA, uma vez que estes parâmetros servem de referência para verificação de contaminação ou não, causada por combustíveis derivados do petróleo.

Para avaliação dos parâmetros BTEX e HPA devem ser considerados os padrões estabelecidos pela Resolução Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 420/2009 e suas atualizações, a qual dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade de água quanto à presença de substâncias químicas e estabelecem diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.

E para o parâmetro de TPH deve ser considerado o limite de intervenção determinado pela Lista Holandesa de Valores (Normativa CETESB 6530) para o meio água subterrânea.

Dentre as substâncias constituintes do grupo dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, as usualmente analisadas são naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo-a-antraceno, criseno, benzo-b-fluoranteno, benzo-k-fluoranteno, benzo-a-pireno, indeno-(1,2,3-c,d)-pireno, dibenzo-a/h-antraceno e benzo-g,h,i-perileno.

A Tabela 2 apresenta os valores orientadores pela Resolução CONAMA 420/2009 e Lista Holandesa de Valores (Normativa CETESB 6530) para os parâmetros de BTEZ, HPA e TPH para o meio de água subterrânea.

Tabela 2 – Valores orientadores pela Resolução CONAMA 420/2009 e Lista Holandesa de Valores (Normativa CETESB 6530)

Parâmetro	Unidade	Conama	Lista Holandesa
Benzeno (B)	µg/L	5	-
Tolueno (T)	µg/L	700	-
Etilbenzeno (E)	µg/L	300	-
Xilenos (X)	µg/L	500	-
Naftaleno	µg/L	140	-
Fenantreno	µg/L	140	-
Benzo-a-antraceno	µg/L	1,75	-
Benzo-a-pireno	µg/L	0,7	-
Indeno-(1,2,3-c,d)-pireno	µg/L	0,17	-
Dibenzo-a/h-antraceno	µg/L	0,18	-
TPH	µg/L	-	600

Fonte: Resolução CONAMA nº 420/2009 e Lista Holandesa de Valores (Normativa CETESB 6530).

4 METODOLOGIA

Para a execução deste trabalho foram coletadas e analisadas amostras de três áreas distintas contaminadas. Uma das áreas encontra-se remediada em fase de reabilitação, e as outras duas ainda estão em fase de remediação, estando uma em fase final e a outra ainda apresenta fase livre de contaminante.

O processo de remediação e as análises químicas para verificação de contaminação das áreas avaliadas não foram realizadas durante este estudo. Ambos foram realizadas por empresa especializada, sendo os dados fornecidos para desenvolvimento do trabalho. As informações de dimensão da pluma de contaminação não foram disponibilizadas pela empresa para nenhuma das áreas, não podendo, por tanto, ser levada em consideração nos resultados obtidos deste trabalho.

4.1 Coleta das amostras de solo

Para a quantificação da microbiota realizou-se, inicialmente, três coletas de solo em cada uma das áreas estudadas, sendo uma das amostras o ponto branco da área e as outras duas situadas em locais com registro de contaminação. O ponto branco consiste em parte do solo que não foi contaminado com o produto derramado, e conseqüentemente não foi remediado, o qual servirá de referência para avaliação da amostra do solo remediado. Vale salientar que o ponto branco pode ter sofrido variação pelo agente oxidante devido aos fluxos do solo, e tendo em vista que o ponto localiza-se nos dentro dos limites das áreas estudadas.

As coletas foram realizadas conforme normativa CETESB – GTZ 6300/1999. Tendo em vista que a microbiota está presente na camada mais superficial do solo, as amostras foram coletadas com uma profundidade em torno de 30 cm em relação à superfície do solo.

As Figuras 3 e 4 demonstram como foram as amostragens das amostras, sendo a preparação e abertura do solo para coleta realizada com pá e as coletas das amostras realizadas com colher de inox. Os pontos escolhidos levaram em conta o fluxo de contaminação e remediação informados pela empresa responsável pela remediação das áreas, tendo como dificuldade para definição o fato das áreas

serem em sua totalidade pavimentadas e dificultando a escavação dos pontos.

Figura 3 – Preparação do solo para coleta de amostras para análise da microbiota



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota1: Fotografia tirada em: 27/10/2015

Profundidade: 30 cm

Largura: 50 cm

Figura 4 – Coleta de solo para análise da microbiota



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota1: Fotografia tirada em: 27/10/2015

Profundidade: 30 cm

Largura: 30 cm

As amostras foram identificadas com A, B e C em cada uma das áreas, sendo as amostras A e B referentes à área contaminada, no qual foi aplicada a remediação, e a amostra C o ponto branco. As amostras foram acondicionadas em vidros tampados e identificados, previamente esterilizados, e mantidas sob refrigeração até que fossem analisadas. A Figura 5 apresenta todas as amostras coletadas.

Figura 5 – Amostras de solo coletadas e identificadas para análise da microbiota



Fonte: Autoria própria, 2015.

4.2 Preparação das amostras de solo

Antes de iniciar a quantificação da microbiota de cada uma das amostras foi necessário prepará-las, para evitar quaisquer interferências. Tanto a preparação das amostras quanto as contagens e mensurações da microbiota foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS

A preparação inicial consistiu na homogeneização do solo coletado, seguido de pesagem e diluição em água destilada. As diluições foram na ordem de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , com valores expressos em g.mL^{-1} .

Para que a dissolução dos microrganismos ocorra de forma homogênea e para se ter uma contagem linear na quantificação da microbiota as soluções foram submetidas à vibração através do equipamento Vórtex Mixer (marca Labnet – modelo VX-200) (Figura 6). Essas vibrações fazem com que as aglomerações de microrganismos se desfaçam e dissolvam de forma homogênea.

Figura 6 – Homogeneização da amostra em equipamento Vórtex.



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

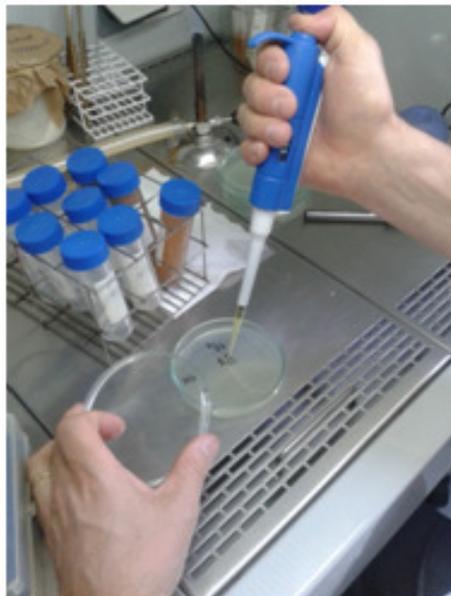
4.3 Quantificação da microbiota do solo

Para a quantificação da microbiota foram utilizados dois métodos, contagem em placas (PCA – *Plate Count Ágar*) e tubos múltiplos (NMP - Número Mais Provável). O Anexo A apresenta um fluxograma com esquema de diluição, inoculação e contagem dos microrganismos do solo.

4.3.1 Contagem em placas

Para a contagem em placas foram inoculados 50 µl de amostra em placa previamente preparada com meio Ágar PCA e Sabouraud (Figura 7) e para melhor espalhamento da amostra no meio foi utilizado uma alça de Drigalski (Figura 8).

Figura 7 – Aplicação amostra na placa previamente preparada com meio Ágar PCA e Sabouraud para contagem da microbiota



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

Figura 8 – Espalhamento da amostra em placa preparada com meio Ágar PCA e Sabouraud para contagem da microbiota



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

Após a aplicação das amostras nas placas, estas foram submetidas a temperatura de aproximadamente 45°C - 50°C (Figura 9) e após a solidificação foram incubadas, em Estufa Microbiológica (marca Mova Ética – modelo nos. 410/D), à temperatura de 25°C por 48 horas. Foram realizadas contagem do número de colônias bacterianas ao completar 48 horas (Figura 10).

Figura 9 – Amostras incubadas na temperatura de 45°C - 50°C para determinação do número de unidades formadoras de colônias determinado pela técnica de contagem de placas



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

Figura 10 – Leitura do número de colônias formadas pela técnica de contagem em placas



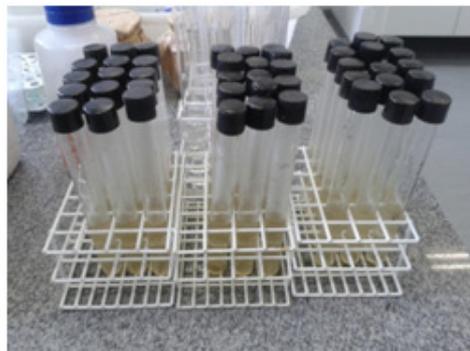
Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

4.3.2 Tubos múltiplos

A técnica dos tubos múltiplos consistiu em realizar a inoculação de cada uma das diluições em quintuplicata em tubos com meio de cultura líquido (Figura 11). Foram adicionados 100 μ l de amostra em cada um dos tubos e os mesmos foram submetidos à temperatura de 45°C – 50°C por 48 horas (Figura 12).

Figura 11 – Série de tubos com meio de cultura utilizado para mensuração do número mais provável de células determinados pela técnica dos tubos múltiplos



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

Figura 12 – Tubos incubados na temperatura de 45°C – 50°C para mensuração do número mais provável de células determinados pela técnica dos tubos múltiplos

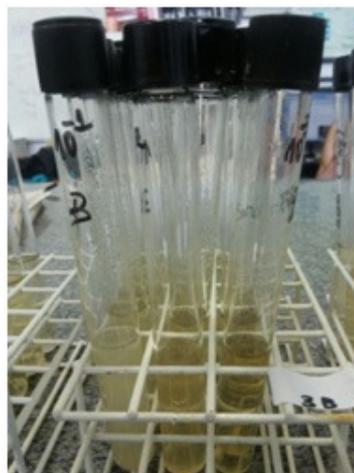


Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

Após o período de aquecimento foram verificadas em quais tubos houve crescimento de colônias, identificados pelo turvamento e/ou alteração de coloração do meio e formação de gases (Figura 13).

Figura 13 – Tubos após incubação na temperatura de 25°C para mensuração do número mais provável de células determinados pela técnica dos tubos múltiplos



Fonte: Autoria própria, 2015.

Nota 1: Experimento realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos do Centro Universitário La Salle – Campus Nova Santa Rita/RS.

Para a determinação do NMP utilizou-se a Tabela de McCrady (ANEXO B), na qual aplicou-se as combinações do número de réplicas, nas quais a partir dos resultados obtidos em cada uma das diluições, pode se estimar o número mais provável de microrganismos.

4.4 Análises de água subterrânea

Os resultados das análises de água subterrânea foram realizados e fornecidos pela empresa responsável pela remediação de cada área. São realizadas análises na água para verificar se há contaminação no lençol freático da região, pelo contaminante derramado. Se houver indício de contaminação da água, possivelmente esta contaminação está presente no solo também, caso contrário indica que o solo esta livre de contaminação. Sendo assim, a empresa realiza apenas a avaliação da água.

Os resultados nas análises fornecidos foram expostos em tabelas comparando-se os valores determinados com os valores orientadores pela CONAMA 420/2009 e Lista Holandesa de Valores (Normativa CETESB 6530). Essas análises dizem a respeito às condições iniciais de remediação das áreas e as condições finais ou atuais de remediação. Nos gráficos é apresentado um comparativo entre as condições de cada área, para melhor visualização do comportamento de cada parâmetro.

Para o parâmetro de TPH, optou-se em elaborar um gráfico à parte devido às grandezas dos resultados.

Os pontos avaliados em cada área diferem dos pontos nos quais foram coletadas amostras de solo, uma vez que as coletas realizadas foram de responsabilidade da empresa responsável pela remediação das áreas, encaminhando as amostras de água subterrânea para laboratório especializado. A escolha pelos pontos de coleta de água subterrânea foi realizada pela empresa responsável pela remediação da área, a partir do fluxo da pluma de contaminação.

A localização dos pontos de água subterrânea utilizados para a execução deste trabalho estão em destaque nos croquis apresentados nos anexos C (Área 1 (área em fase de reabilitação)), D (Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)) e E (Área 3 (área em fase final de remediação)).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Áreas estudadas

Para melhor entendimento dos resultados, as áreas estudadas foram identificadas como Área 1 (área em fase de reabilitação), Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente) e Área 3 (área em fase final de remediação). Todos os dados levantados das áreas foram fornecidos pela empresa responsável pela aplicação da remediação. Os dados referentes às características do solo de cada área foram informados através de Perfil de Furo de Sondagem, constantes nos anexos F, G e H, que dizem respeito às áreas 1, 2 e 3, respectivamente.

A Área 1 (área em fase de reabilitação) apresenta como perfil geológico até a profundidade de 1,5 metros um solo argiloso, marrom escuro, com um pouco de areia e bastante material orgânico e mica. Após esta camada, o solo apresenta até 3,2 metros (profundidade máxima de sondagem) características de solo silte, de coloração cinza homogêneo. De acordo com as informações fornecidas encontra-se atualmente na fase de reabilitação, onde não há mais indícios de contaminação, e a área é dita como descontaminada.

A Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente) (área em fase de reabilitação) está em processo de remediação e ainda possui fase livre do contaminante presente no solo. Essa área apresenta, até a profundidade de 1,0 metro, solo argiloso maciço, marrom avermelhado com fragmento de rocha, quartzo e feldspato. De 1,0 à 2,0 metros, as características da área são de um solo argiloso, cinza escuro. E abaixo desta profundidade, até 3,5 metros, o solo é arenoso fino, cinza escuro.

Por fim, a Área 3 (área em fase final de remediação) apresenta solo com características de aterro areno argiloso com matéria orgânica, sem odor de combustíveis, até a profundidade de 1,0 metro. De 1,0 à 3,0 metros a área apresenta características de solo argiloso arenoso, cinza claro. Essa área encontra-se, também, em fase final de remediação, na etapa de polimento com aplicação de oxidante, não apresentando mais fase livre do contaminante.

5.1.1 Amostras coletadas

A Tabela 3 apresenta as características dos pontos coletados em cada uma das áreas estudadas. Os pontos A e B representam as amostras de solo localizadas na direção preferencial do fluxo da pluma de contaminação, sendo estes os pontos sujeitos à aplicação da remediação diretamente. O ponto C é o ponto branco de cada uma das áreas, localizados dentro das limitações das áreas estudadas e que não tiveram aplicação direta do processo de remediação.

Os anexos C, D e E apresentam os croquis das áreas 1, 2 e 3, respectivamente, apresentando a localização dos pontos de monitoramento (PM) e remediação (PR) estabelecidos pela empresa responsável pela aplicação dos tratamentos físico e químico da remediação, bem como o fluxo preferencial da pluma de contaminação.

Tabela 3 – Caracterização dos pontos de amostragem

Área	Ponto	Características
Área 1 (área em fase de reabilitação)	1A	Solo com cobertura vegetal, contendo árvores e plantas ao redor
	1B	Solo com cobertura pavimentada, sem nenhuma espécie de vegetação ao redor
	1C	Solo com cobertura vegetal, não apresentando árvores e/ou plantas ao redor
Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)	2A	Solo com cobertura vegetal, localizado no pico de contaminação da área, não contendo a presença de árvores e/ou plantas ao redor
	2B	Solo com cobertura vegetal, localizado próximo à rua pavimentada com movimentação constante de veículos
	2C	Solo com cobertura vegetal, não apresentando árvores e/ou plantas ao redor
Área 3 (área em fase final de remediação)	3A	Solo com cobertura vegetal, com árvores e plantas ao redor
	3B	Solo com cobertura vegetal, com árvores e plantas ao redor
	3C	Solo com cobertura vegetal, com árvores e plantas ao redor, localizado próximo à rua pavimentada com movimentação

Fonte: Autoria própria, 2015.

5.2 Processo de remediação das áreas estudadas

O processo de remediação aplicado em todas as áreas avaliadas foi realizado por empresa especializada, a qual forneceu os dados para execução deste estudo. O processo de remediação não foi acompanhado neste trabalho.

De acordo com os dados fornecidos, a técnica de remediação utilizada em todas as áreas foi, inicialmente, a MPE para remoção da fase livre do contaminante, seguido de uma técnica de oxidação química *in-situ*, para polimento final da área. Esse polimento final teve por objetivo a aplicação de um oxidante através de poços já instalados e utilizados na extração MPE, visando a finalização da remediação, evitando que quaisquer resquícios de contaminante influenciassem no monitoramento de reabilitação da área.

O agente oxidante utilizado para remediação das áreas de estudo foi o persulfato de sódio, e as quantidades utilizadas variaram de acordo com o especificado pelo fabricante do produto e com o perfil do solo remediado. A aplicação do persulfato de sódio ocorreu por gravidade. O produto foi aplicado em solução na área através dos poços instalados na mesma.

Dentre as áreas avaliadas, apenas a Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente) não passou ainda pelo processo de polimento com a aplicação do agente oxidante, tendo em vista que esta área ainda apresenta fase livre do contaminante.

5.3 Resultado obtidos para a Área 1 (área em fase de reabilitação)

Na Tabela 4 são apresentados os valores obtidos após a contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas e a média das contagens para a Área 1 (área em fase de reabilitação) (área em fase de reabilitação). A unidade dos valores apresentados na tabela é UFCg⁻¹, que indica o número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo analisado.

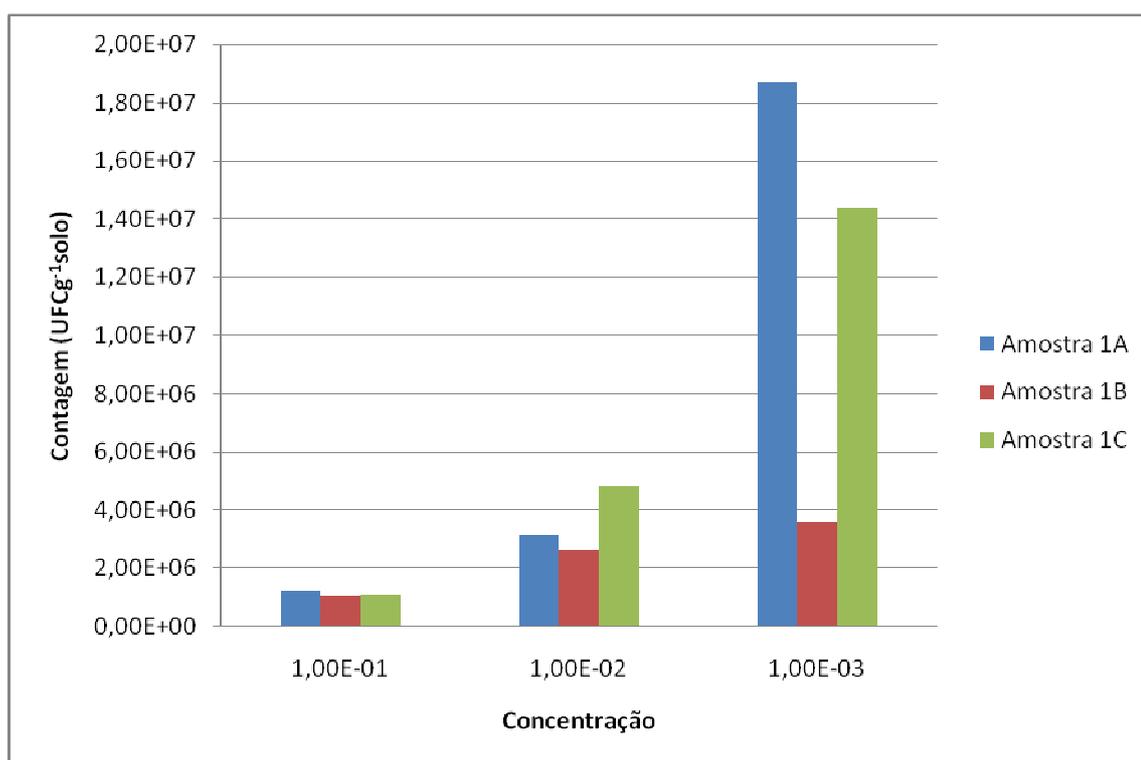
Tabela 4 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 1 (área em fase de reabilitação)

Amostra	Diluição			Média	
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		
Área 1	A	1,23x10 ⁶	3,16 x10 ⁶	1,87 x10 ⁷	7,70 x10 ⁶
	B	1,04 x10 ⁶	2,64 x10 ⁶	3,60 x10 ⁶	2,43 x10 ⁶
	C	1,09 x10 ⁶	4,82 x10 ⁶	1,44 x10 ⁷	6,77 x10 ⁶

Fonte: Autoria própria, 2015.

Para uma melhor visualização dos resultados, os valores obtidos foram dispostos em gráfico, conforme mostra a Figura 14.

Figura 14 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 1 (área em fase de reabilitação)



Fonte: Autoria própria, 2015.

Como pode ser observado na Figura 14 os pontos 1A e 1C apresentam comportamentos semelhantes, enquanto o ponto 1B apresenta um comportamento mais linear de crescimento de colônias. Enquanto os pontos 1A e 1C apresentam um decréscimo significativo do número de unidades formadoras de colônia com o

aumento da concentração, o ponto 1B apresenta uma pequena variação. Isso pode ser explicado pelo fato de o ponto 1B estar localizado em uma área pavimentada, enquanto os demais localizam-se em áreas com vegetação. Segundo Meneghetti (2007), as áreas sem cobertura vegetal tendem a ter menos matéria orgânica, pois esta não é repostada pelo material vegetal que são utilizados como substrato pelos microrganismos. Desta forma, há na área uma menor concentração microbiológica.

Comparando-se o ponto 1A e 1C, pode-se dizer que esses se encontram em níveis de grandeza semelhantes, o que indica uma homogeneidade da área, considerando a contagem de bactérias pela técnica de contagem padrão em placa. A homogeneidade indica que a área está se recuperando após o término da remediação, a aproximadamente um ano, e devido a própria atenuação natural que ocorre no solo com o passar do tempo. Justifica-se uma maior concentração de microrganismos no ponto 1A devido a este ser um ponto com bastante vegetação ao redor, propiciando um crescimento maior da população microbiana.

A Tabela 5 apresenta a mensuração de bactérias totais obtida pela técnica dos tubos múltiplos para Área 1 (área em fase de reabilitação) (área em fase de reabilitação), obtendo-se o Número mais Provável por grama de solo (NMPg⁻¹).

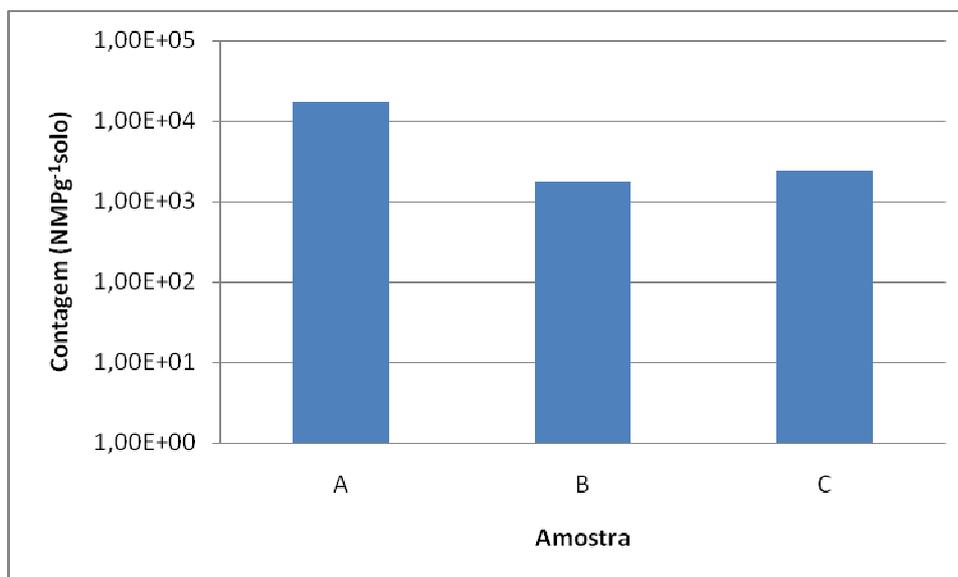
Tabela 5 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 1 (área em fase de reabilitação)

Amostra	Contagem (NMP.g⁻¹)
Área 1	A
	1,7x10 ⁴
	B
	1,7x10 ³
	C
	2,4x10 ³

Fonte: Autoria própria, 2015.

A Figura 15 apresenta de maneira mais clara a linearidade dos resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos para a Área 1 (área em fase de reabilitação) (área em fase de reabilitação).

Figura 15 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 1 (área em fase de reabilitação)



Fonte: Autoria própria, 2015.

Com relação à mensuração de bactérias totais pela técnica dos tubos múltiplos, na Figura 15 pode-se observar que o comportamento dos pontos foi semelhante ao obtido pela técnica de enumeração de plaqueamento. Sendo o ponto 1A o ponto com maior contagem de bactérias, seguido do ponto 1C e 1B. Estes resultados são justificados pelos mesmos fatores citados para a técnica de contagem padrão em placa.

A Tabela 6 apresenta os resultados analíticos para os pontos avaliados na Área 1 (área em fase de reabilitação).

Tabela 6 – Resultados analíticos para águas subterrâneas – Área 1 (área em fase de reabilitação)

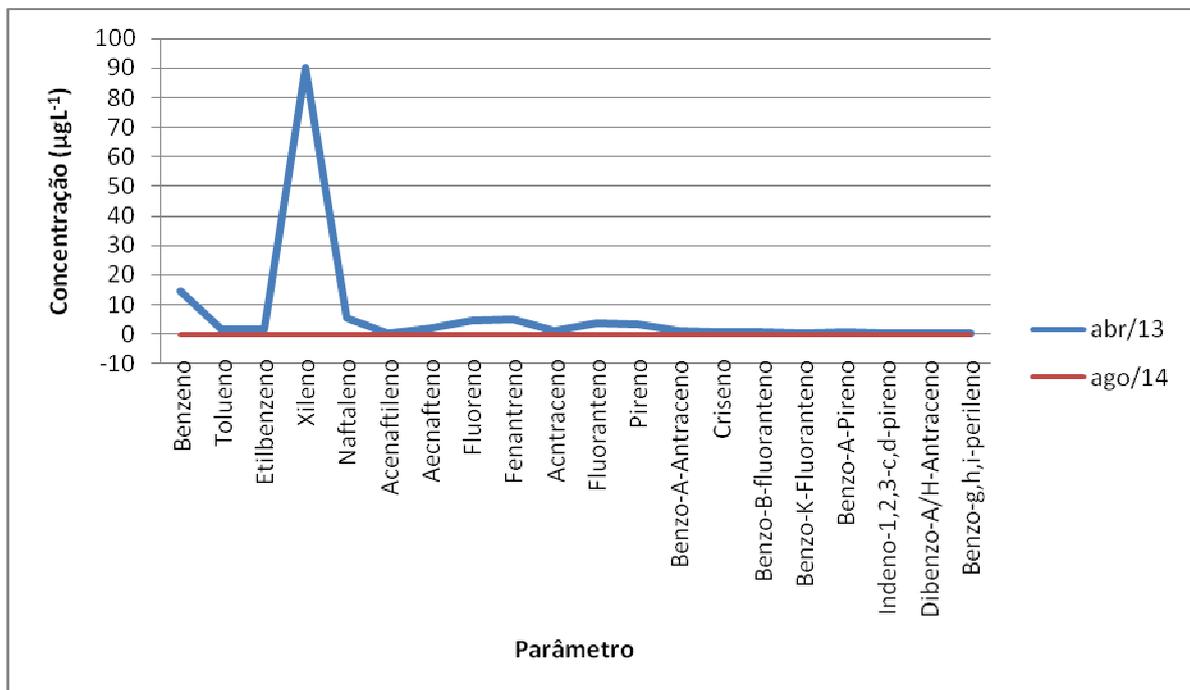
Parâmetro	Unid.	Ponto PR 01		Ponto PR 02		Valores Orientadores (Lista Holandesa e CONAMA)
		abr/13	ago/14	abr/13	ago/14	
Benzeno	µgL ⁻¹	14,5	<1,0	<1,0	<1,0	5

Tolueno	μgL^{-1}	1,2	<1,0	<1,0	<1,0	700
Etilbenzeno	μgL^{-1}	1,5	<1,0	<1,0	<1,0	500
Xileno	μgL^{-1}	90	<1,0	<1,0	<1,0	300
Naftaleno	μgL^{-1}	5,458	<0,010	<0,010	<0,010	140
Acenaftileno	μgL^{-1}	0,162	<0,010	0,015	<0,010	-
Aecnafteno	μgL^{-1}	1,845	<0,010	0,13	<0,010	-
Fluoreno	μgL^{-1}	4,265	<0,010	0,049	<0,010	-
Fenantreno	μgL^{-1}	4,921	<0,010	<0,010	<0,010	140
Acntraceno	μgL^{-1}	1,021	<0,010	<0,010	<0,010	-
Fluoranteno	μgL^{-1}	3,384	<0,010	0,017	<0,010	-
Pireno	μgL^{-1}	3,171	<0,010	0,028	<0,010	-
Benzo-A-Antraceno	μgL^{-1}	0,753	<0,010	<0,010	<0,010	1,75
Criseno	μgL^{-1}	0,697	<0,010	<0,010	<0,010	-
Benzo-B-fluoranteno	μgL^{-1}	0,527	<0,010	<0,010	<0,010	-
Benzo-K-Fluoranteno	μgL^{-1}	0,213	<0,010	<0,010	<0,010	-
Benzo-A-Pireno	μgL^{-1}	0,365	<0,010	<0,010	<0,010	0,7
Indeno-1,2,3-c,d-pireno	μgL^{-1}	0,186	<0,010	<0,010	<0,010	0,17
Dibenzo-A/H-Antraceno	μgL^{-1}	0,058	<0,010	<0,010	<0,010	0,18
Benzo-g,h,i-perileno	μgL^{-1}	0,18	<0,010	<0,010	<0,010	-
HRP	μgL^{-1}	0	<300	0	<300	-
MCNR	μgL^{-1}	0	<300	0	<300	-
TPH total	μgL^{-1}	1884	<300	556	<300	600

Fonte: Geoambiental Consultoria e Licenciamentos Ltda, 2015.

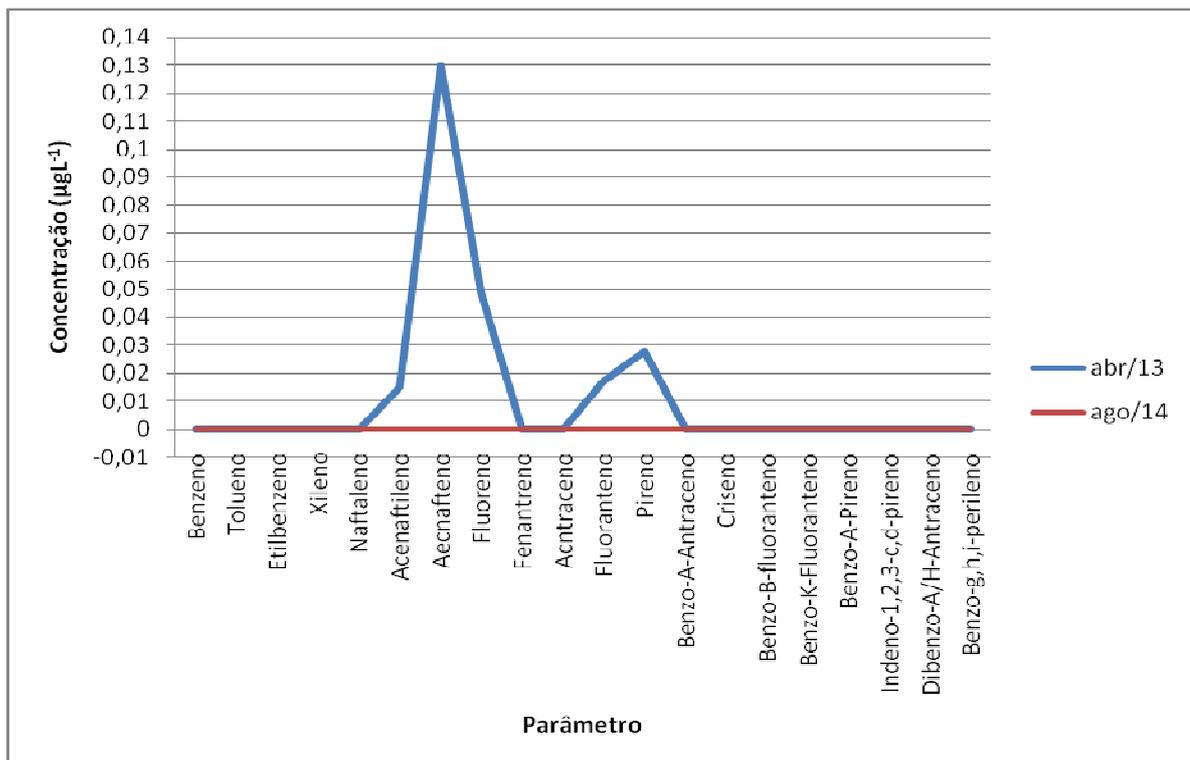
As Figuras 16 e 17 apresentam o comparativo entre as condições iniciais da Área 1 (área em fase de reabilitação), antes da remediação, e as finais, após a conclusão da remediação, para os pontos PR 01 e PR 02, respectivamente. Nestes gráficos foram considerados todos os parâmetros avaliados exceto HRP, MCNR e TPH total, cujo comparativo é apresentado nas Figuras 18 (Ponto PR 01) e 19 (Ponto PR 02).

Figura 16 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 01 da Área 1 (área em fase de reabilitação), exceto HRP, MCNR e TPH total



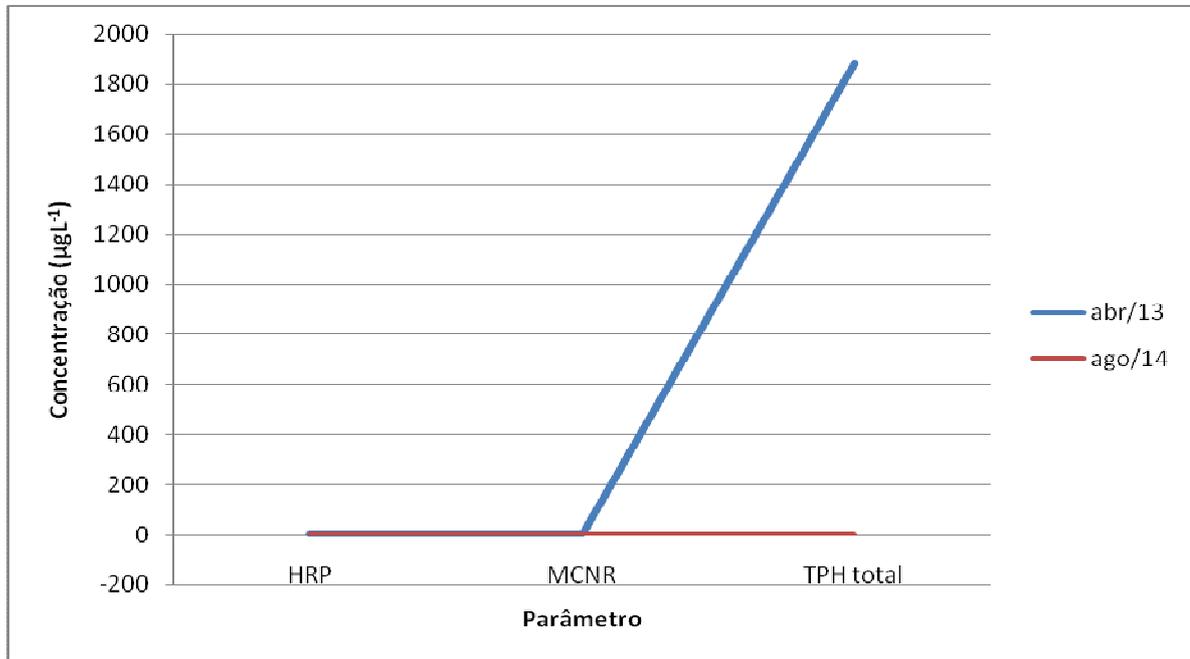
Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 17 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 02 da Área 1 (área em fase de reabilitação), exceto HRP, MCNR e TPH total



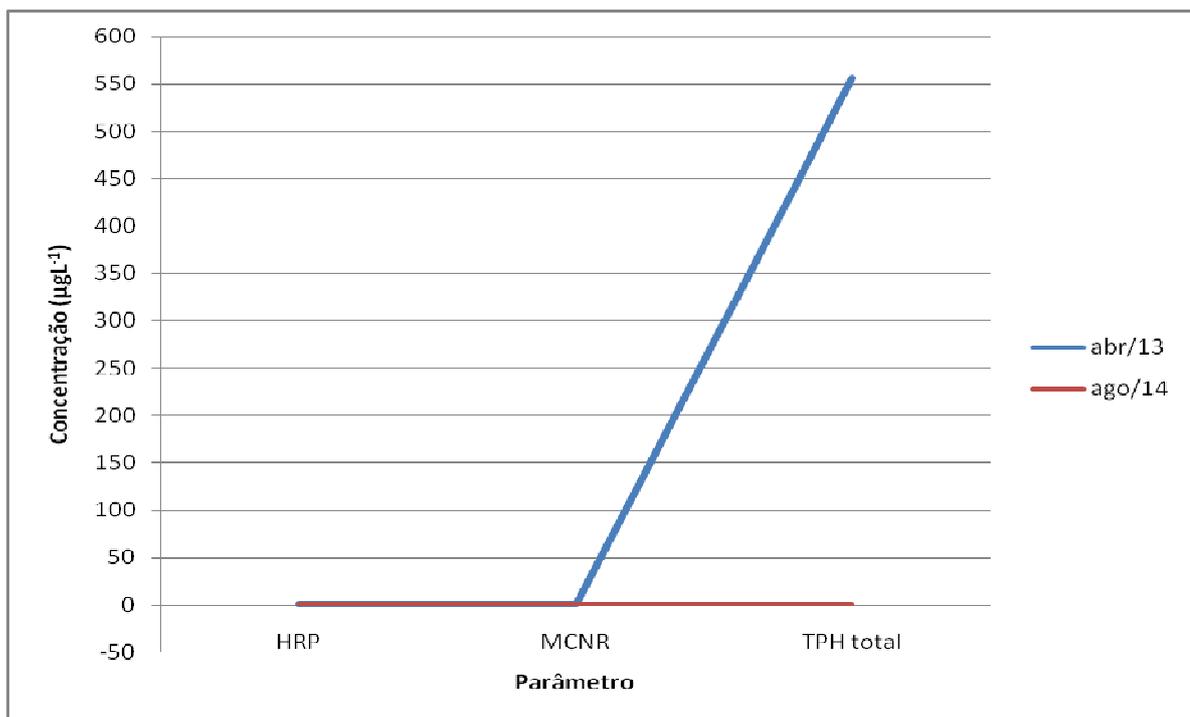
Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 18 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 01 – Área 1 (área em fase de reabilitação)



Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 19 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 02 – Área 1 (área em fase de reabilitação)



Fonte: Autoria própria, 2015.

Tratando-se da recuperação química da área, tanto a Tabela 6, quanto as Figuras 16, 17, 18 e 19, mostram que a área está livre de contaminantes oriundos do óleo diesel. Conforme pode ser observado na Tabela 6, os dados referentes a agosto de 2014 (amostragem realizada no final do processo de remediação) indica que todos os parâmetros avaliados encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 420/2009.

Tanto nas Figuras 16 e 17 referentes ao ponto PR 01, quanto nas Figuras 18 e 19 referentes ao ponto PR 02, pode-se observar que os parâmetros que no início indicavam indício de contaminação após todo o processo de remediação foram reduzidos, indicando uma eficácia da técnica aplicada e recuperação da área.

5.4 Resultado obtidos para a Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)

Na Tabela 7 são apresentados os valores obtidos após a contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas e a média das contagens para a Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente). A unidade dos valores apresentados na tabela é UFCg⁻¹, que indica o número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo analisado.

Tabela 7 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)

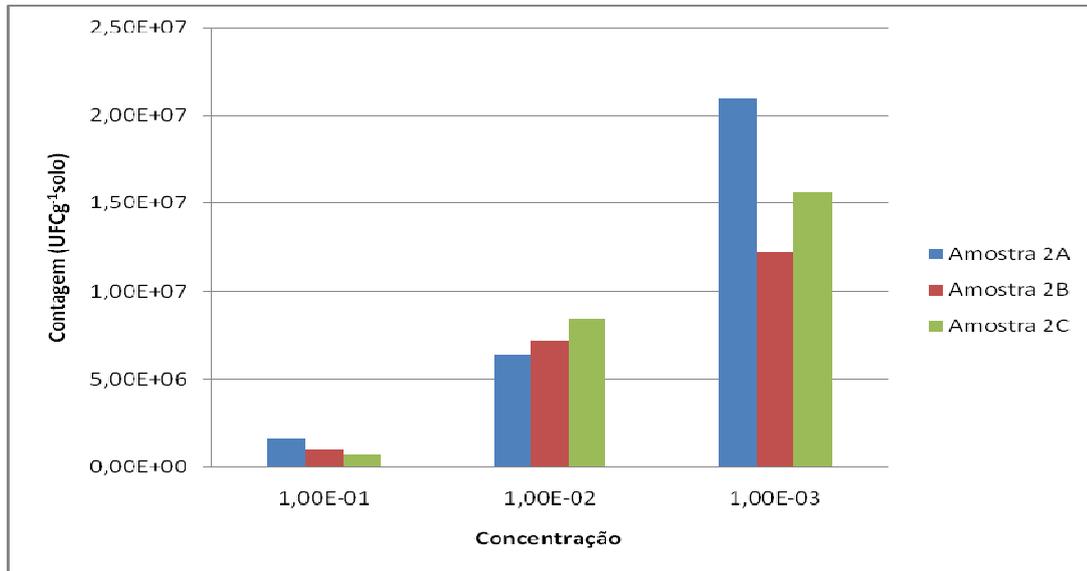
Amostra	Diluição			Média
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
A	1,63 x10 ⁶	6,35 x10 ⁶	2,10 x10 ⁷	9,66 x10⁶
Área 2) B	9,98 x10 ⁵	7,16 x10 ⁶	1,22 x10 ⁷	6,79 x10⁶
C	7,15 x10 ⁵	8,42 x10 ⁶	1,56 x10 ⁷	8,25 x10⁶

Fonte: Autoria própria, 2015.

A Figura 20 apresenta os resultados obtidos para a Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente) em gráfico para melhor visualização dos

resultados para a técnica de contagem padrão por placas na área de estudo.

Figura 20 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)



Fonte: Autoria própria, 2015.

A Figura 20 mostra que os pontos 2A, 2B e 2C apresentam comportamentos semelhantes, aumentando o número de unidades formadoras de colônia com a diminuição da concentração da amostra. O ponto 2A apresentou uma concentração maior de microrganismos, quando comparado com os demais pontos, esta concentração pode ser justificada devido ao processo de atenuação natural de um poluente orgânico do solo, sem acréscimo de nutrientes, uma vez que a área ainda apresenta fase livre de óleo diesel e está em processo de extração física da mesma. Segundo Meneghetti (2007), esta atenuação pode ocorrer de maneira contínua, pois a microbiota nativa do solo tende a ter um processo de adaptação natural passando a utilizar o composto orgânico poluente como fonte de carbono.

O ponto 2B está localizado numa área com menor concentração de vegetais, próximo à rua pavimentada com bastante movimentação de veículos. Estes fatores podem justificar uma queda do número de colônias formadas na técnica da enumeração por plaqueamento. Porém, o resultado obtido, encontra-se no mesmo ciclo (10^3) que o encontrado para o ponto 2C (ponto branco), indicando que a área encontra-se em processo de recuperação.

A Tabela 8 apresenta a mensuração de bactérias totais obtida pela técnica dos tubos múltiplos para Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente), obtendo-se o Número mais Provável por grama de solo (NMPg⁻¹).

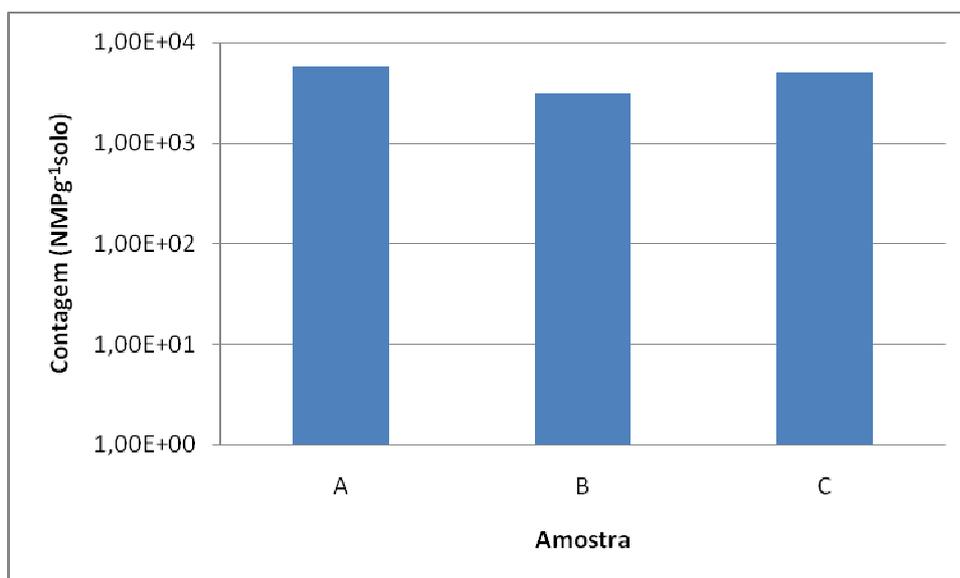
Tabela 8 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)

	Amostra	Contagem (NMP.g⁻¹)
Área 2	A	5,8x10 ³
	B	3,1x10 ³
	C	4,9x10 ³

Fonte: Aatoria própria, 2015.

A Figura 21 apresenta de maneira mais clara a linearidade dos resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos para a Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente).

Figura 21 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)



Fonte: Aatoria própria, 2015.

A Figura 21 mostra que a concentração de microrganismos pela técnica de tubos múltiplos está linear na Área 2 (área em processo de remediação e com fase

livre presente). Se comparada com a técnica da enumeração por plaqueamento, a técnica nos tubos múltiplos apresentou uma maior linearidade, porém seguindo os mesmos padrões, sendo o ponto 2A o de maior concentração de bactérias, seguido dos pontos 2C e 2B. A linearidade da técnica dos tubos múltiplos pode ser justificada pelo fato de os microrganismos que utilizam os hidrocarbonetos (microrganismos hidrocarbonoclasticos) não serem bons fermentadores, ou seja, não sendo bons fermentadores não demonstram crescimento.

Os resultados dos parâmetros avaliados na Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente) são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Resultados analíticos para águas subterrâneas – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)

Parâmetro	Unid.	Ponto PR 01		Ponto PR 02		Valores Orientadores (Lista Holandesa e CONAMA)
		nov/14	out/15	nov/14	out/15	
Benzeno	μgL^{-1}	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	5
Tolueno	μgL^{-1}	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	700
Etilbenzeno	μgL^{-1}	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	500
Xileno (x10)	μgL^{-1}	40,01	<1,0	<1,0	<1,0	300
Naftaleno	μgL^{-1}	46,795	0,28	7,806	0,399	140
Acenaftileno	μgL^{-1}	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	0
Acenafteno	μgL^{-1}	1,588	0,112	0,554	0,096	0
Fluoreno	μgL^{-1}	4,874	0,222	1,162	0,173	0
Fenantreno	μgL^{-1}	5,288	0,153	1,182	0,102	140
Acntraceno	μgL^{-1}	<0,010	<0,010	0,194	0,032	0
Fluoranteno	μgL^{-1}	0,249	<0,010	0,035	<0,010	0
Pireno	μgL^{-1}	2,214	0,347	0,42	0,074	0
Benzo-A-Antraceno	μgL^{-1}	<0,200	0,025	0,029	<0,010	1,75
Criseno	μgL^{-1}	0,373	0,028	0,098	0,016	0
Benzo-B-fluoranteno	μgL^{-1}	<0,2	0,017	0,016	<0,010	0
Benzo-K-Fluoranteno	μgL^{-1}	<0,2	<0,010	<0,010	<0,010	0

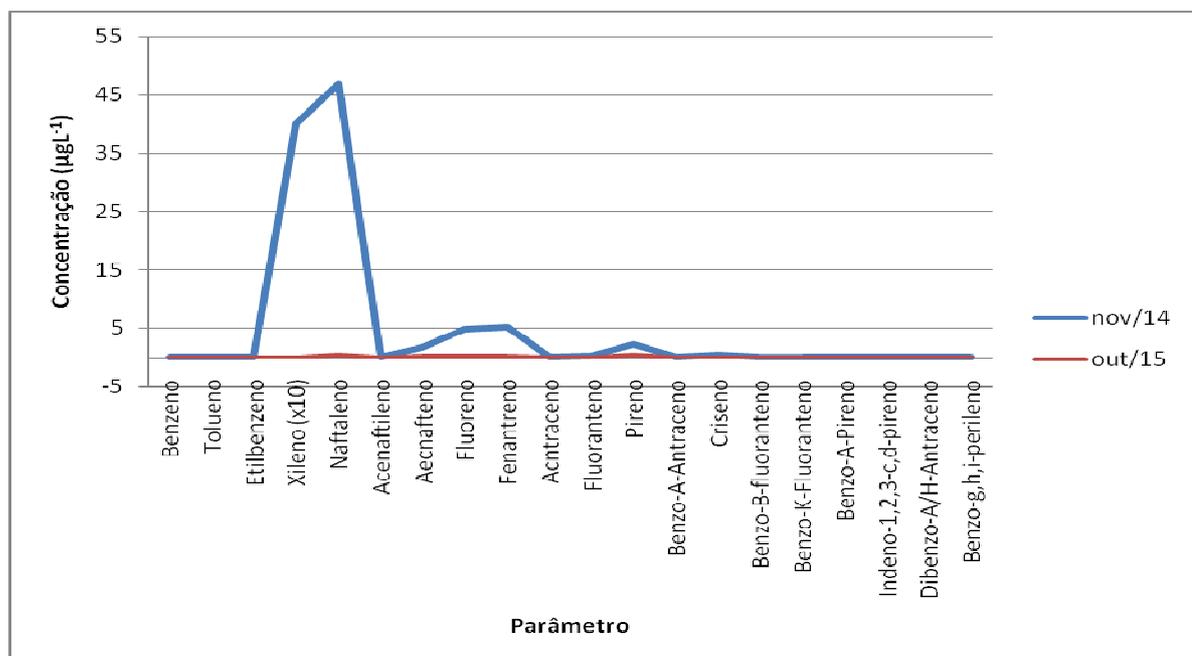
Benzo-A-Pireno	μgL^{-1}	<0,2	0,023	0,019	<0,010	0,7
Indeno-1,2,3-c,d-pireno	μgL^{-1}	<0,2	<0,010	<0,010	<0,010	0,17
Dibenzo-A/H-Antraceno	μgL^{-1}	<0,2	<0,010	<0,010	<0,010	0,18
Benzo-g,h,i-perileno	μgL^{-1}	<0,2	0,016	0,011	<0,010	0
HRP	μgL^{-1}	2399	176	1117	<100	0
MCNR	μgL^{-1}	8559	1835	5429	626	0
TPH total	μgL^{-1}	10958	2011	6545	704	600

Fonte: Geoambiental Consultoria e Licenciamentos Ltda, 2015.

As Figuras 22 e 23 apresentam o comparativo entre as condições iniciais e atuais da Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente), para os pontos PR 01 e PR 02, respectivamente. Nos gráficos apresentados nas Figuras 22 e 23 foram considerados todos os parâmetros avaliados exceto HRP, MCNR e TPH total, cujo comparativo é apresentado nas Figuras 24 e 25, respectivamente, referentes aos pontos PR 01 e PR 02.

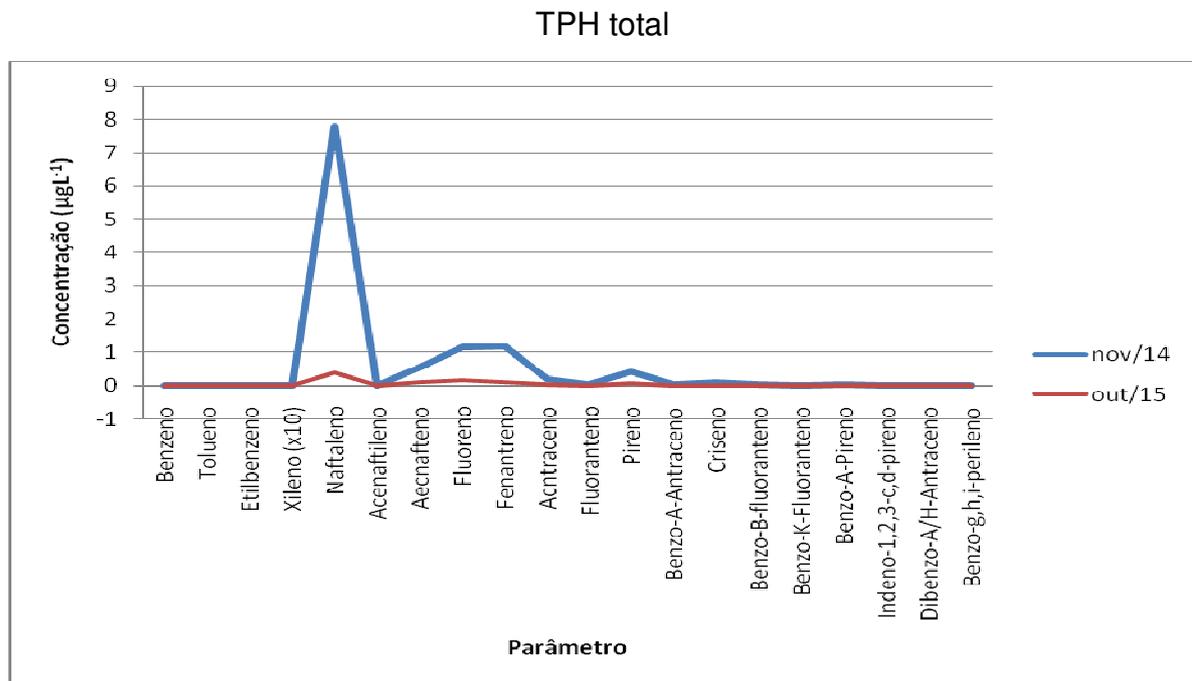
Figura 22 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 01 da Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente), exceto HRP, MCNR e

TPH total



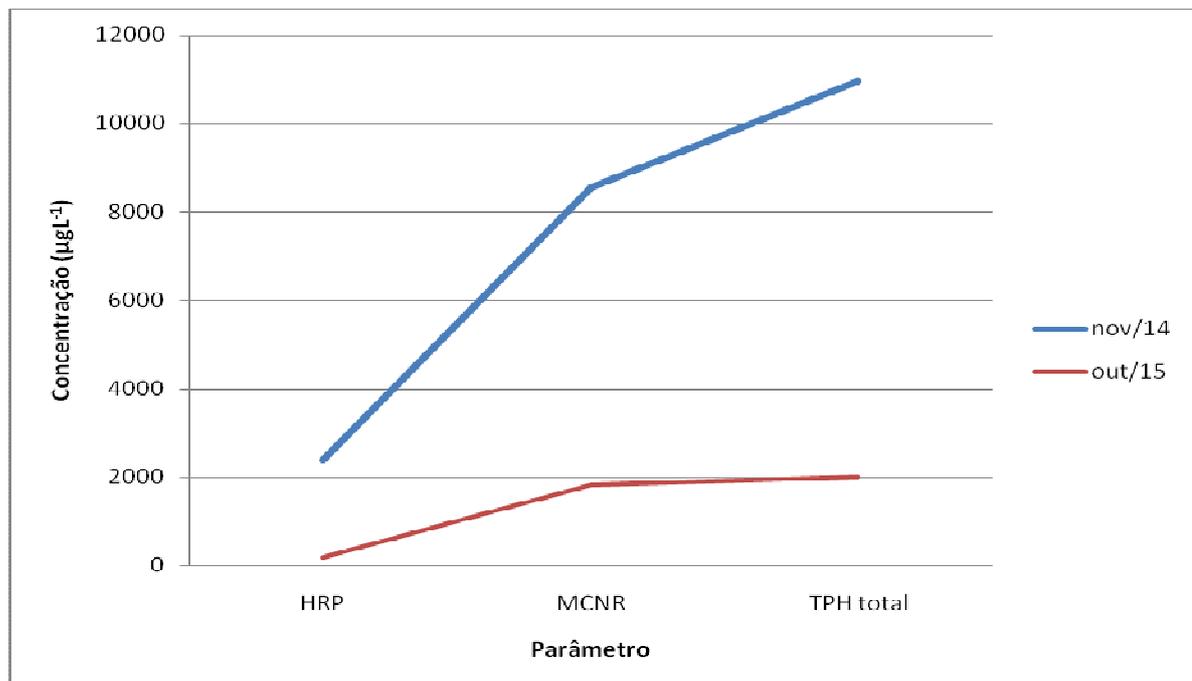
Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 23 – Comparativo entre os parâmetros analisados no Ponto PR 02 da Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente), exceto HRP, MCNR e TPH total



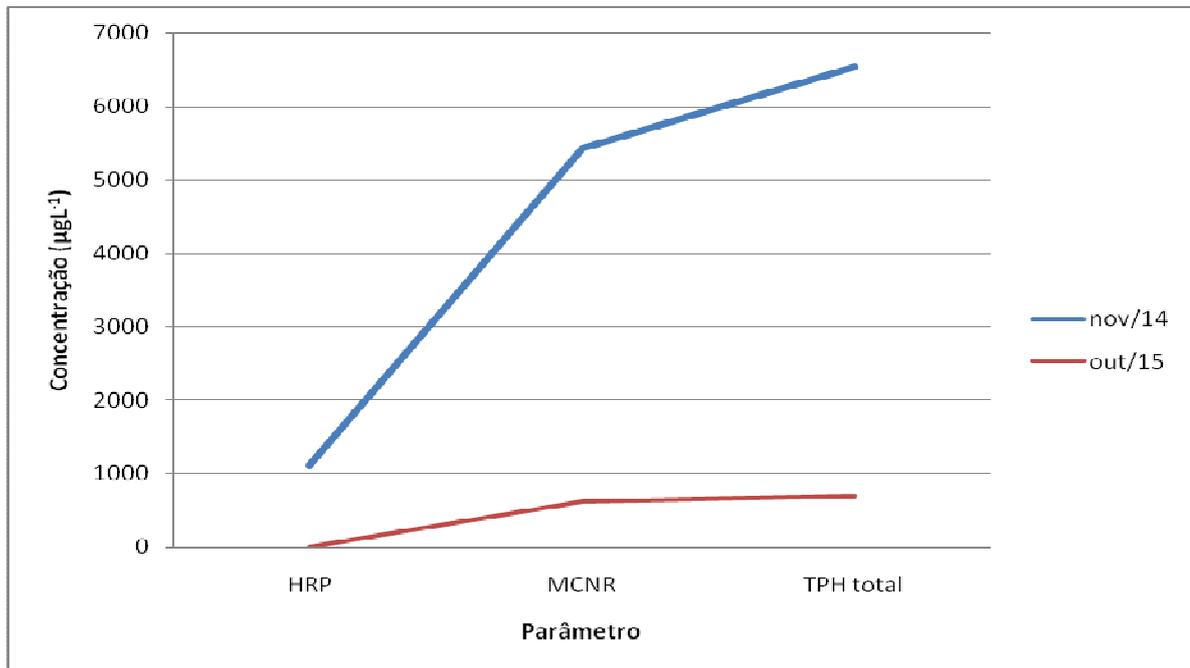
Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 24 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 01 – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)



Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 25 – Comparativo parâmetros HRP, MCNR e TPH total para o Ponto PR 02 – Área 2 (área em processo de remediação e com fase livre presente)



Fonte: Autoria própria, 2015.

Em relação à recuperação química, a Tabela 9 mostra que ainda há substâncias características de contaminação por óleo diesel presente na área. Dentre os parâmetros, o que indica maior contaminação e presença de fase livre do contaminante é o TPH, que encontra-se em valores superiores ao estabelecido pela Resolução CONAMA 420/2009.

Todavia, observando-se as Figuras 22, 23, 24 e 25 é notável a diminuição da concentração destas substâncias, justificadas tanto pela extração da fase líquida pelo processo de MPE, quanto pela própria atenuação natural que ocorre com o passar do tempo. Essa diminuição indica que o processo de remediação aplicado está sendo eficaz para a área.

5.5 Resultado obtidos para a Área 3 (área em fase final de remediação)

Na Tabela 10 são apresentados os valores obtidos após a contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas e a média das contagens para a Área 3 (área em fase final de remediação). A unidade dos valores apresentados na tabela é UFCg⁻¹, que indica o número de Unidades Formadoras de

Colônia por grama de solo analisado.

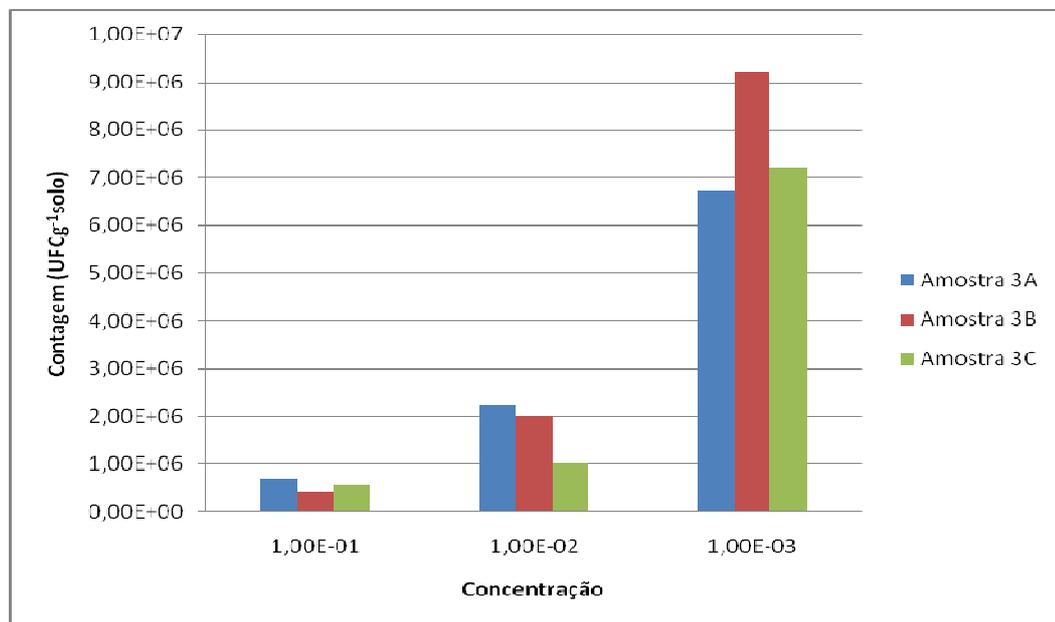
Tabela 10 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 3 (área em fase final de remediação)

Amostra	Diluição			Média	
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
Área 3	A	$6,88 \times 10^5$	$2,23 \times 10^6$	$6,70 \times 10^6$	$3,21 \times 10^6$
	B	$4,48 \times 10^5$	$2,02 \times 10^6$	$9,20 \times 10^6$	$3,89 \times 10^6$
	C	$5,60 \times 10^5$	$1,02 \times 10^6$	$7,20 \times 10^6$	$2,93 \times 10^6$

Fonte: Autoria própria, 2015.

Para uma melhor visualização dos resultados, os valores obtidos foram dispostos em gráfico, conforme mostra a Figura 26.

Figura 26 – Resultados contagem de bactérias heterotróficas pela técnica de contagem padrão em placas – Área 3 (área em fase final de remediação)



Fonte: Autoria própria, 2015.

A Figura 26 mostra que, para a técnica de enumeração de bactérias por plaqueamento, o ponto 3B apresenta um número maior de unidades formadoras de colônias, seguido dos pontos 3A e 3C. Esses resultados podem ser justificados por resquícios de contaminante (óleo diesel) que ainda estão presentes na área, e que

auxiliam no crescimento microbiano, uma vez que servem de substrato. Além disso, o ponto 3C pode estar sofrendo influência do oxidante aplicado nas demais áreas, uma vez que o persulfato é bastante volátil e permeia na matriz do solo, podendo interferir no crescimento microbiano de áreas ao redor do ponto em que é aplicado.

A Tabela 11 apresenta a mensuração de bactérias totais obtida pela técnica dos tubos múltiplos, obtendo-se o número mais provável por grama de solo.

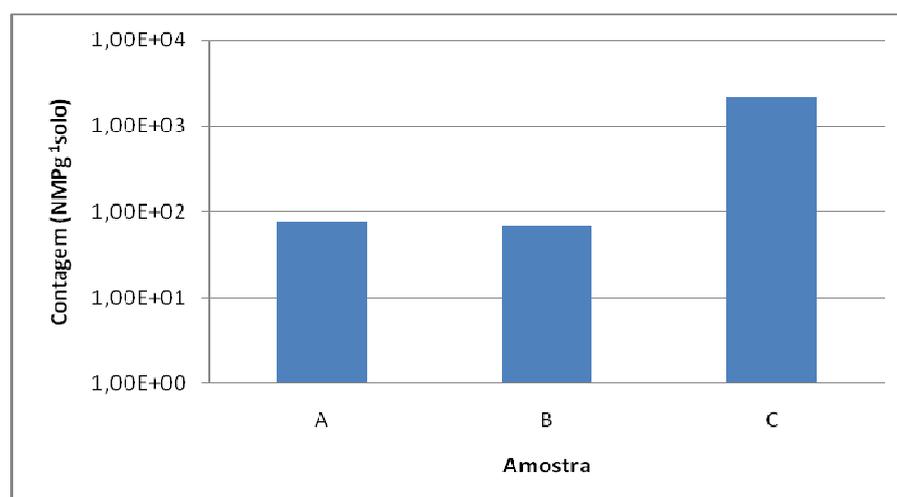
Tabela 11 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 3 (área em fase final de remediação)

	Amostra	Contagem (NMP.g⁻¹)
Área 3	A	$7,8 \times 10^1$
	B	$6,8 \times 10^1$
	C	22×10^2

Fonte: Autoria própria, 2015.

A Figura 27 apresentam de maneira mais clara a linearidade dos resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos para a Área 3 (área em fase final de remediação).

Figura 27 – Resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos – Área 3 (área em fase final de remediação)



Fonte: Autoria própria, 2015.

Na Figura 27 pode ser observado que os pontos 3A e 3B apresentam concentração de microrganismos menor que a concentração encontrada para o ponto 3C, para a técnica de tubos múltiplos. Isso pode ser justificado, pois nestes pontos está sendo aplicado oxidante (persulfato de sódio) para polimento dos poços de remediação. O persulfato de sódio possui comportamento semelhante ao persulfato de potássio, o qual, de acordo Creus e Jané (2005), atua como oxidante em diferentes estruturas bacterianas com a finalidade de causar a morte celular. Essa característica propicia a diminuição da concentração dos microrganismos dos pontos em contato com o persulfato.

Na Área 3 (área em fase final de remediação), as técnicas utilizadas para a determinação do número de bactérias apresentaram sequencias distintas da concentração de microrganismos nos pontos. A técnica de tubos múltiplos demonstrou que a concentração do ponto 3C maior do que a dos pontos 3A e 3B. Enquanto a técnica de enumeração por plaqueamento apresentou o ponto 3B com maior concentração, seguindo dos pontos 3A e 3C. Essa variação pode ser explicada por uma possível interferência residual tanto do contaminante ainda presente, quanto pelo processo químico (aplicação do persulfato), gerando uma competitividade dos microrganismos.

Os resultados dos parâmetros avaliados na Área 3 (área em fase final de remediação) são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Resultados analíticos para águas subterrâneas – Área 3 (área em fase final de remediação)

Parâmetro	Unid.	Ponto PM 01	Ponto PM 03	Valores Orientadores (Lista Holandesa e CONAMA)
Benzeno	μgL^{-1}	79,5	nd	5
Tolueno	μgL^{-1}	3,2	nd	700
Etilbenzeno	μgL^{-1}	<1,0	nd	500
Xileno	μgL^{-1}	4,3	nd	300
Naftaleno	μgL^{-1}	nd	0,323	140
Acenaftileno	μgL^{-1}	nd	0,114	-
Aecnafteno	μgL^{-1}	0,038	0,256	-
Fluoreno	μgL^{-1}	0,039	nd	-

Fenantreno	μgL^{-1}	0,031	0,190	140
Acntraceno	μgL^{-1}	nd	nd	-
Fluoranteno	μgL^{-1}	nd	nd	-
Pireno	μgL^{-1}	nd	0,496	-
Benzo-A-Antraceno	μgL^{-1}	nd	nd	1,75
Criseno	μgL^{-1}	nd	0,146	-
Benzo-B-fluoranteno	μgL^{-1}	nd	nd	-
Benzo-K-Fluoranteno	μgL^{-1}	nd	nd	-
Benzo-A-Pireno	μgL^{-1}	nd	nd	0,7
Indeno-1,2,3-c,d-pireno	μgL^{-1}	nd	nd	0,17
Dibenzo-A/H-Antraceno	μgL^{-1}	nd	nd	0,18
Benzo-g,h,i-perileno	μgL^{-1}	nd	nd	-
TPH_{DRO}	μgL^{-1}	102	11.904	600
TPH_{GRO}	μgL^{-1}	179	709	600

Fonte: Geoambiental Consultoria e Licenciamentos Ltda, 2015.

A Área 3 (área em fase final de remediação) possui apenas uma amostragem realizada pela empresa responsável pela remediação com laudos emitidos em julho de 2015, sendo assim, não há comparativo dos parâmetros. Uma nova amostragem foi realizada em novembro desse mesmo ano, porém os laudos não foram emitidos até a conclusão deste estudo.

Tratando-se dos laudos de análise química, como pode ser observado na Tabela 12, em julho de 2015 a área apresentava indícios de contaminação, tendo em vista que alguns parâmetros, como benzeno e TPH, apresentam valores acima do permitido pela legislação (CONAMA e Lista Holandesa). Esses parâmetros foram utilizados, conforme informação da empresa responsável pela aplicação do processo de remediação, para quantificar a massa de contaminação e para efetuar o cálculo de oxidante necessário para polimento da remediação. A aplicação do persulfato inicia-se após a extração, por sistema MPE, da massa de contaminação estimada. Porém, mesmo com a aplicação do oxidante já em andamento, não é possível determinar se esta área ainda possui indícios de contaminação, pela avaliação química, sendo necessária a avaliação dos laudos da última amostragem realizada.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho comprovou que a microbiota do solo é alterada por contaminações oriunda de vazamentos de óleo diesel, bem como pelo processo de remediação aplicado nas áreas, atingindo satisfatoriamente o objetivo do trabalho. As hipóteses levantadas foram confirmadas, tendo em vista que a microbiota cresce após a finalização do processo de remediação e total eliminação do produto contaminante e agente oxidante, e apresenta decréscimo na população quando ainda submetida a ação do agente oxidante.

Vale ressaltar que atualmente não há legislação que determine os padrões da microbiota em solos contaminados submetidos a remediação, interessando aos órgãos competentes apenas a variação química. Sendo assim, o padrão da concentração da microbiota de áreas estudadas é determinado por um ponto branco, o qual não deve ter sofrido ação, nem do contaminante nem do processo de remediação.

A partir do estudo pode-se afirmar que em áreas que possuem cobertura vegetal, com ocorrência de árvores e/ou plantas ao redor apresentam um número maior de microrganismos, do que em área com cobertura pavimentada. A microbiota tende a normalizar após a conclusão do processo de remediação, uma vez que o ponto 1A apresentou uma concentração de microrganismos próxima a concentração encontrada para o ponto branco desta área (Ponto 1C).

Para áreas que apresentam contaminante em fase livre ainda e com o processo de remediação em andamento, o estudo mostrou que a microbiota tende a aumentar, devido a atenuação natural do solo, em que os microrganismos hidrocarbonoclasticos utilizam os hidrocarbonetos presentes no solo como substrato, aumentando a concentração microbiana.

Por fim, através do estudo realizado pode-se concluir que em áreas com aplicação de oxidante, para tratamento químico do processo de remediação, a concentração da microbiota tende a diminuir, sendo explicado pelo efeito bloqueador biológico característico de produtos oxidantes, como o persulfato de sódio.

Tratando-se da avaliação do processo de remediação utilizado nas áreas estudadas, pode-se concluir, para as Áreas 1 e 2, que o mesmo é eficaz, tendo em vista a diminuição dos valores para os parâmetros químicos avaliados, e que

indicam a existência de contaminação ou não, de acordo com os padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA 420/2009 e Lista Holandesa de Valores (Normativa CETESB 6530).

Os resultados obtidos mostraram que o comportamento da microbiota pode ser utilizado como comprovação de recuperação de áreas contaminadas, juntamente com avaliações dos parâmetros químicos, já utilizadas atualmente. E sugere-se para trabalhos futuros que o comportamento da microbiota frente a técnica de remediação utilizada, seja estudado desde o momento da contaminação até a total eliminação do agente oxidante, incluindo no estudo avaliação de outros parâmetros, com por exemplo, variações de pH e outras técnicas de remediação.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para a realização de trabalhos futuros sugere-se o acompanhamento do processo de remediação desde seu início até a sua conclusão, sendo avaliado ao longo de sua execução o comportamento da microbiota, para que se possa determinar detalhadamente as ações ocorridas em cada etapa para uma mesma área.

Ao longo da avaliação da microbiota no decorrer do processo de remediação, outra questão de grande importância para o comportamento da microbiota, é a variação de pH. Sendo assim, outra sugestão de estudo, seria o comportamento da microbiota frente as variações de pH durante as etapas dos processos de remediação.

Sugere-se também a realização desta avaliação utilizando-se outros processos de remediação, bem como com outros tipos de contaminantes.

8 REFERÊNCIAS

ANDRADE, Juliano de Almeida; AUGUSTO, Fabio; JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes. **Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados**. Revista Eclética Química, Campinas, SP, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/eq/v35n3/v35n3a02.pdf>>. Acesso em: 12 set. 2013.

ARAÚJO, Giovanni Moraes de. **Regulamentação do transporte terrestre de produtos perigosos**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Giovanni Araújo, 2001.

ARENT, C.O; OLIVEIRA, J.M; ÁVILA, L. **Dossiê Técnico – Passivos Ambientais**. CNTL – SENAI/RS. Porto Alegre. Agosto/2011.

BOSCOV, M. E. G. **Geotecnia Ambiental**. Ed. Oficina de Letras. 2008

BRASIL. **Resolução Conama nº001**, de 23 de janeiro de 1986. Dispõe sobre critérios básicos e diretrizes gerais para a avaliação de impacto ambiental. Disponível em: <www.mma.conama.gov.br/conama>. Acesso em: 23 Out. 2013.

CARTER, M. R. **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: Corporate Blvd, 1993.

CASTRO, Selma Simões. **Biota do Solo**. Labogef, UFG, Goiás, 2010. Disponível em: <[http://www.labogef.iesa.ufg.br/labogef/arquivos/downloads/Biota do solo 31936.pdf](http://www.labogef.iesa.ufg.br/labogef/arquivos/downloads/Biota_do_solo_31936.pdf)>. Acesso em: 26 Ago. 2015.

CETESB. **Normativa 6300 Amostragem de Solo**. Projeto GTZ, São Paulo, novembro de 1999. Disponível em: <<http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2013/11/6300.pdf>>. Acesso em: 25 Ago. 2015.

CETESB. **Normativa 6530 Lista Holandesa de valores de Qualidade do Solo e da Água Subterrânea – Valores STI**. Projeto GTZ, São Paulo, novembro de 1999.

Disponível em: < <http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2013/11/6530.pdf>>. Acesso em: 10 Nov. 2015.

CETESB. **Técnicas de remediação implantadas**. São Paulo, Novembro de 2008.

[CONAMA] CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 420**, de 28 de dezembro de 2009, dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.. Brasília, DF, 2009.

COUTINHO, R. C. P e GOMES, C. C. **Técnicas para remediação de aquíferos contaminados por vazamento de derivados de petróleo em postos de combustíveis**. XVII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, São Paulo, 2007.

CREUS, M.S., JANÉ, C.C, et al. **Higiene y Antisepsia Del Paciente – Limpieza, Desinfección y Esterilización**. Barcelona, 2005. Disponível em < <http://www.scfarmclin.org/higiene.php?idioma=cat>>. Acessado em 25 de novembro de 2015.

DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. **Soil health and sustainability**. In: SPARKS, D.L. (Org.) *Advances in Agronomy*. San Diego: Academic Press, 1996. p. 1-54.

FEPAM, Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler. Rio Grande do Sul. **Lista de acidentes rodoviários com produtos perigosos**. Disponível em: <<http://www.fepam.rs.gov.br/>>. Acesso em: 20 nov. 2015.

FERNANDES, H. G. e FILHO, O. C. **Avaliação técnica da remediação de solo utilizando persulfato / peróxido de hidrogênio**. Revista Eletrônica de Petróleo e Gás – Universidade Potiguar, Ano 2, n. 2, Rio Grande do Norte, 2014.

FICHA DE INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO – FISPQ.

Petrobras, versão 2, 2014. Disponível em:

<<http://www.br.com.br/wps/wcm/connect/f69c2f0043a796c4b3f4bfecc2d0136c/fispq-oleodiesel-s500.pdf?MOD=AJPERES>> . Acesso em: 12 out. 2015.

HUNGRIA, M. & ARAUJO, R. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. EMBRAPA, Brasília, 1994.

KENNEDY, A C. **Microbial Diversity in Agroecosystem Quality**. In: COLLINS, W.W.; QUALSET, C. O. Biodiversity in agroecosystems. New York: CRC, 1998. Cap. 1, p. 1-17.

LEAL JUNIOR, I. C.. **O transporte rodoviário de produtos perigosos e os seus impactos no meio ambiente**.In: XIII SIMPEP, 13, 2006, Bauru / SP.

MANTOVANI, E. A.; GONÇALVES, E. S. **A tutela ambiental e o transporte rodoviário de produtos perigosos**.Iniciação Científica: CESUMAR, Maringá, v. 8, p.35-41, jun. 2006. Edição Especial.

MARIANO, Adriano Pinto; ANGELIS, Dejanira de Franceschi de; BONOTTO, Daniel Marcos. **Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação de biodegradação em área contaminada com óleo diesel**. Revista Engenharia Sanitária Ambiental, Rio Claro, SP, v. 12, n. 3, p. 296-304, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/esa/v12n3/a07v12n3.pdf>> . Acesso em: 13 out. 2015.

MARIANO, Adriano Pinto. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminadas com óleo diesel**. 2006. Tese (Doutorado em Geociências e Meio Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Geociências e Meio Ambiente, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/CapitalHumano/Arquivos/PRH05/Adriano-Pinto-Mariano_PRH05_UNESP_D.pdf>. Acesso em: 12 out. 2015.

MARTINS, Marco Antonio. **Microbiologia do Solo**. Laboratório de Solos – UENF.

Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/LSOL_345_1113400965.pdf>. Acesso em: 24 Ago. 2015.

MENEGHETTI, L. R. R. **Bioremediação na Descontaminação de um Solo Residual de Basalto Contaminado com Óleo Diesel e Biodiesel**. UPF, Passo Fundo, 2007.

MENEZES, Eliana Weber de et al. **Propriedades físico-químicas das formulações de éter/diesel e éter/etanol/diesel**. 2011. http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0347_05.pdf. Acesso em 12 out. 2015.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Ed. UFLA, 2002.

OLIVEIRA, L. I. de, LOUREIRO, C. de O.. **Contaminação de Aquíferos por Combustíveis Orgânicos em Belo Horizonte: Avaliação Preliminar**. X Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas, 1998.

PAGLIARI, T. da S.. **Remediação de Solo Contaminado por Óleo Através de Extração Multifásica à Vácuo**. Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, 2009.

RODRIGUEZ, C. P. M. **A influência das características dos solos na remediação de solos contaminados através de processos oxidativos avançados com persulfato e reagente de Fenton**. PROCAM – Universidade de São Paulo, São Paulo, junho de 2006.

SÁNCHEZ, Luis Enrique. **Avaliação de impacto ambiental: conceitos e métodos**. 3. ed. São Paulo, SP: Oficina de textos, 2008.

SANTOS, Renata da Matta dos et al. **Remediação de solo contaminado por petróleo em biopilhas – ecala piloto**. Brazilian Journal of Petroleum and Gas, Campinas, SP, v. 8, n. 4, p. 1-10, 2007. Disponível em: <

http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_6_2_0321-1.pdf>.

Acesso em: 02 set. 2015.

SILVA, M. C. **Avaliação da Qualidade Microbiológica de Alimentos com a Utilização de Metodologias Convencionais e do Sistema Simplate**. USP, São Paulo, 2002.

SILVEIRA, Adriana P. Dias da; FREITAS, Sueli dos Santos. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/publicacoes_online/pdf/microbiota.pdf>. Acesso em: 24 Ago. 2015.

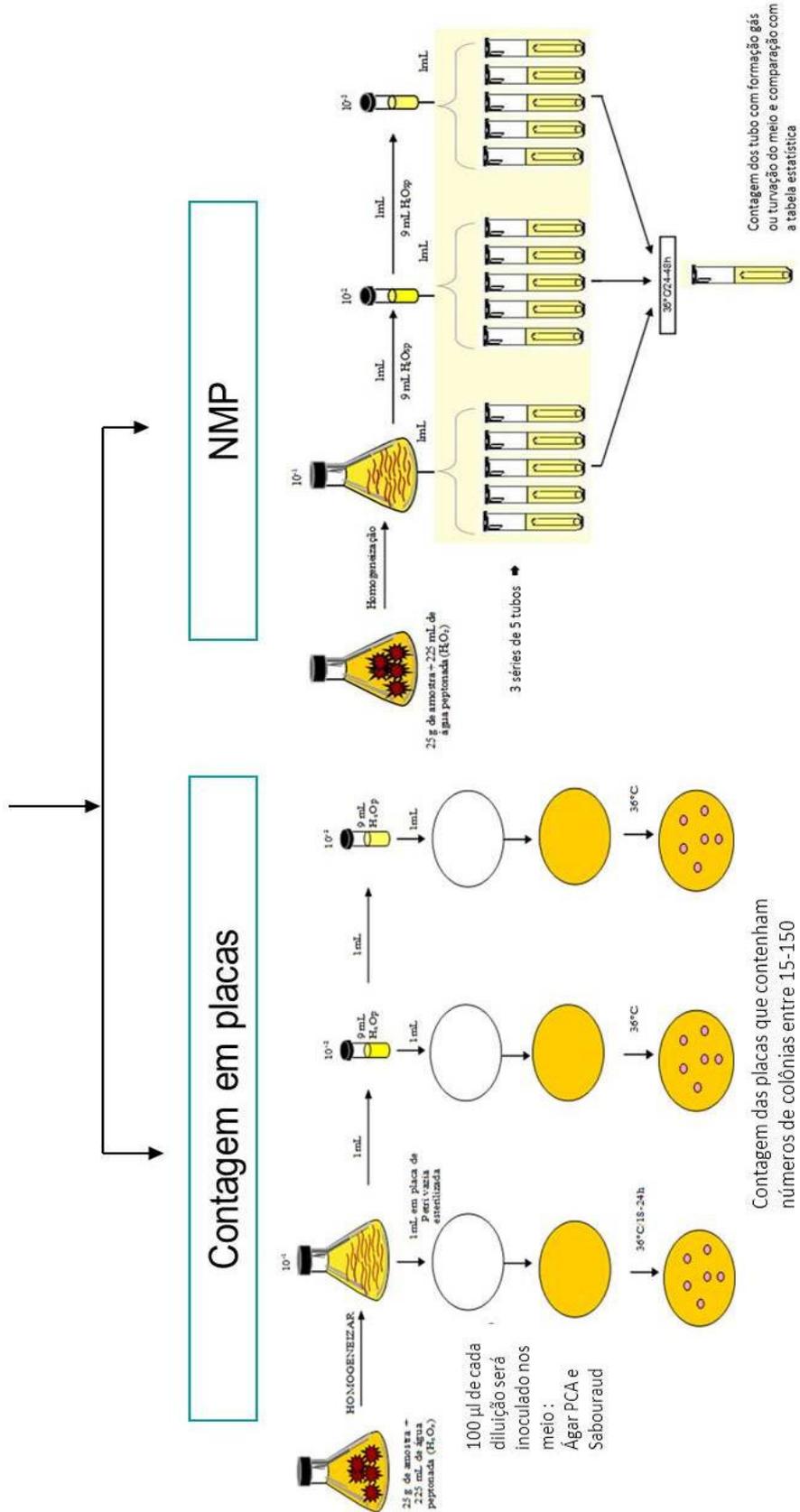
TAVARES, Sílvio Roberto de Lucena. **Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: <<http://www.getres.ufrj.br/pdf/Tese%20Silvio%20Completa.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2015.

VERGINASSI, Altair et al. **Acidentes ambientais no transporte rodoviário de cargas perigosas no estado de Mato Grosso**. Engenharia Ambiental, Espírito Santo do Pinhal, MT, v. 4, n. 1, p. 103-119, 2007. Disponível em: < >. Acesso em: 18 nov. 2015.

WILSON, S. T; LEONARD, G.; BIRNSTINGL, J.; LEOMBRUNI, A.; e WILLIAM, F. **Persulfato catalisado para águas subterrâneas e remediação do solo**. Revista Pollution Engineering, EUA, 2013.

ANEXO A – ESQUEMA DE DILUIÇÃO, INOCULAÇÃO E CONTAGEM DOS MICRORGANISMOS DO SOLO

Contagem indireta



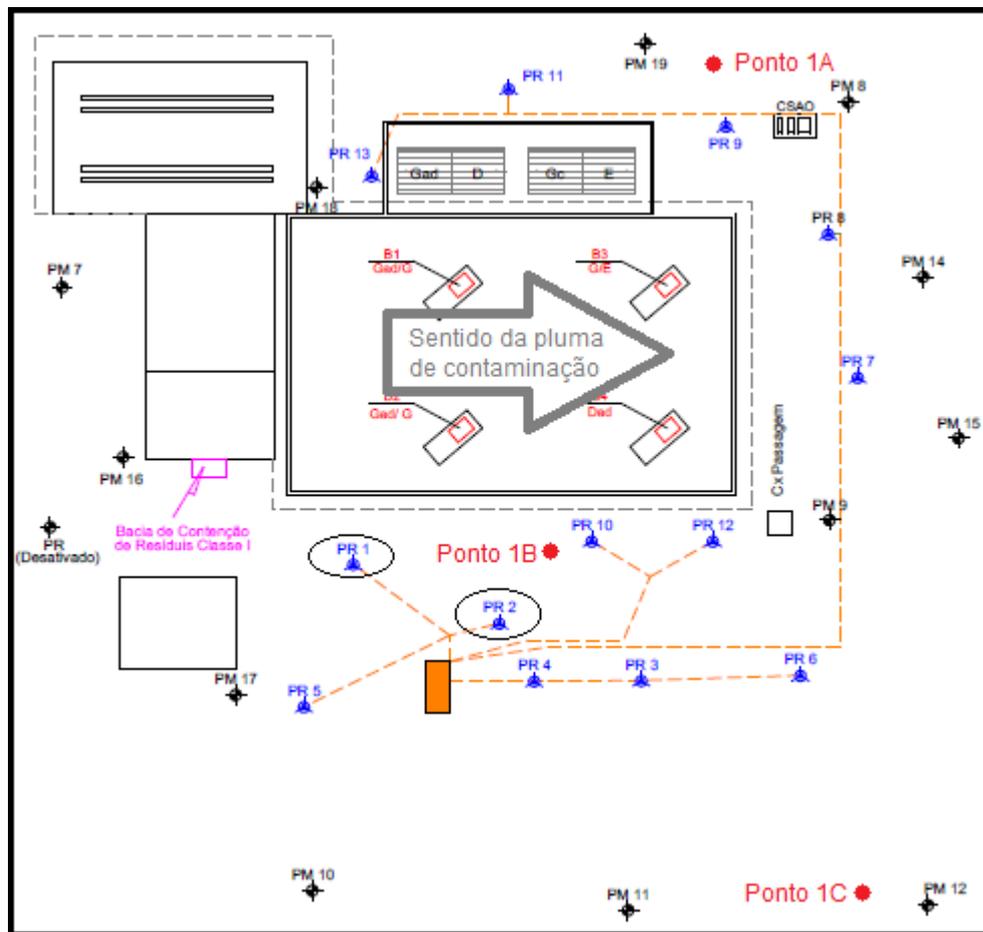
ANEXO B – TABELA DE McCrady

TABLA 9221: IV. MPN INDEX AND 95% CONFIDENCE LIMITS FOR VARIOUS COMBINATION OF POSITIVE RESULT WHEN FIVE TUBES ARE USED PER DILUTION

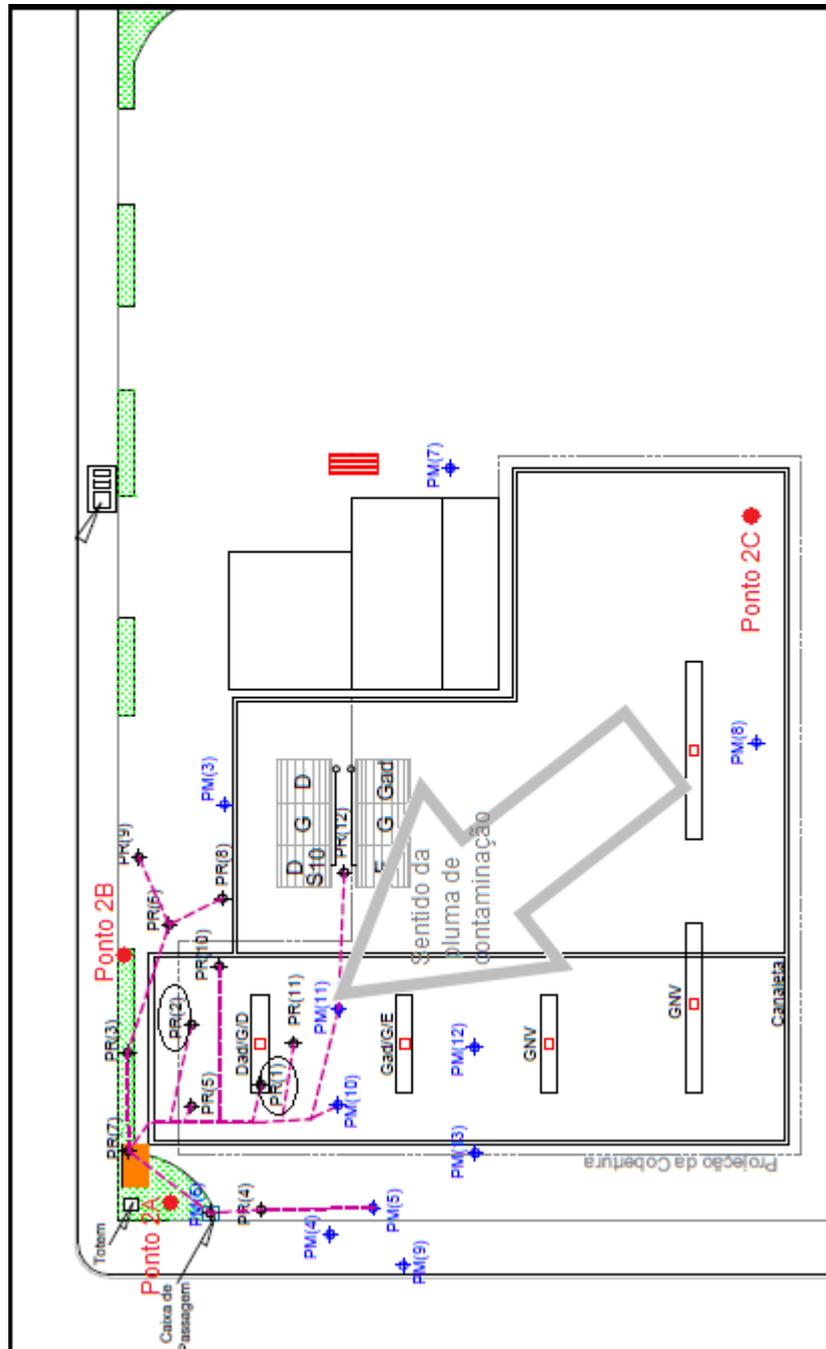
Combinación de tubos positivos			NMP/100mL	Límites de 95% de confianza		Combinación de tubos positivos			NMP/100mL	Límites de 95% de confianza	
				Inferior	Superior					Inferior	Superior
0	0	0	< 1.8	-	6.8	4	0	3	25	9.8	70
0	0	1	1.8	0.090	6.8	4	1	0	17	6.0	40
0	1	0	1.8	0.090	6.9	4	1	1	21	6.8	42
0	1	1	3.6	0.70	10	4	1	2	26	9.8	70
0	2	0	3.7	0.70	10	4	1	3	31	10	70
0	2	1	5.5	1.8	15	4	2	0	22	6.8	50
0	3	0	5.6	1.8	15	4	2	1	26	9.8	70
1	0	0	2.0	0.10	10	4	2	2	32	10	70
1	0	1	4.0	0.70	10	4	2	3	38	14	100
1	0	2	6.0	1.8	15	4	3	0	27	9.9	70
1	1	0	4.0	0.71	12	4	3	1	33	10	70
1	1	1	6.1	1.8	15	4	3	2	39	14	100
1	1	2	8.1	3.4	22	4	4	0	34	14	100
1	2	0	6.1	1.8	15	4	4	1	40	14	100
1	2	1	8.2	3.4	22	4	4	2	47	15	120
1	3	0	8.3	3.4	22	4	5	0	41	14	100
1	3	1	10	3.5	22	4	5	1	48	15	120
1	4	0	10	3.5	22	5	0	0	23	6.8	70
2	0	0	4.5	0.79	15	5	0	1	31	10	70
2	0	1	6.8	1.8	15	5	0	2	43	14	100
2	0	2	9.1	3.4	22	5	0	3	58	22	150
2	1	0	6.8	1.8	17	5	1	0	33	10	100
2	1	1	9.2	3.4	22	5	1	1	46	14	120
2	1	2	12	4.1	26	5	1	2	63	22	150
2	2	0	9.3	3.4	22	5	1	3	84	34	220
2	2	1	12	4.1	26	5	2	0	49	15	150
2	2	2	14	5.9	36	5	2	1	70	22	170
2	3	0	12	4.1	26	5	2	2	94	34	230
2	3	1	14	5.9	36	5	2	3	120	36	250
2	4	0	15	5.9	36	5	2	4	150	58	400
3	0	0	7.8	2.1	22	5	3	0	79	22	220
3	0	1	11	3.5	23	5	3	1	110	34	250
3	0	2	13	5.6	35	5	3	2	140	52	400
3	1	0	11	3.5	26	5	3	3	170	70	400
3	1	1	14	5.6	36	5	3	4	210	70	400
3	1	2	17	6.0	36	5	4	0	130	36	400
3	2	0	14	5.7	36	5	4	1	170	58	400
3	2	1	17	6.8	40	5	4	2	220	70	440
3	2	2	20	6.8	40	5	4	3	280	100	710
3	3	0	17	6.8	40	5	4	4	350	100	710
3	3	1	21	6.8	40	5	4	5	430	150	1100
3	3	2	24	9.8	70	5	5	0	240	70	710
3	4	0	21	6.8	40	5	5	1	350	100	1100
3	4	1	24	9.8	70	5	5	2	540	150	1700
3	5	0	25	9.8	70	5	5	3	920	220	2600
4	0	0	13	4.1	35	5	5	4	1600	400	4600
4	0	1	17	5.9	36	5	5	5	> 1600	700	-
4	0	2	21	6.8	40						

Fuente: STANDARD METHODS 9221 B. STANDARD TOTAL COLIFORM FERMENTATION TECHNIQUE, JUNE 2003

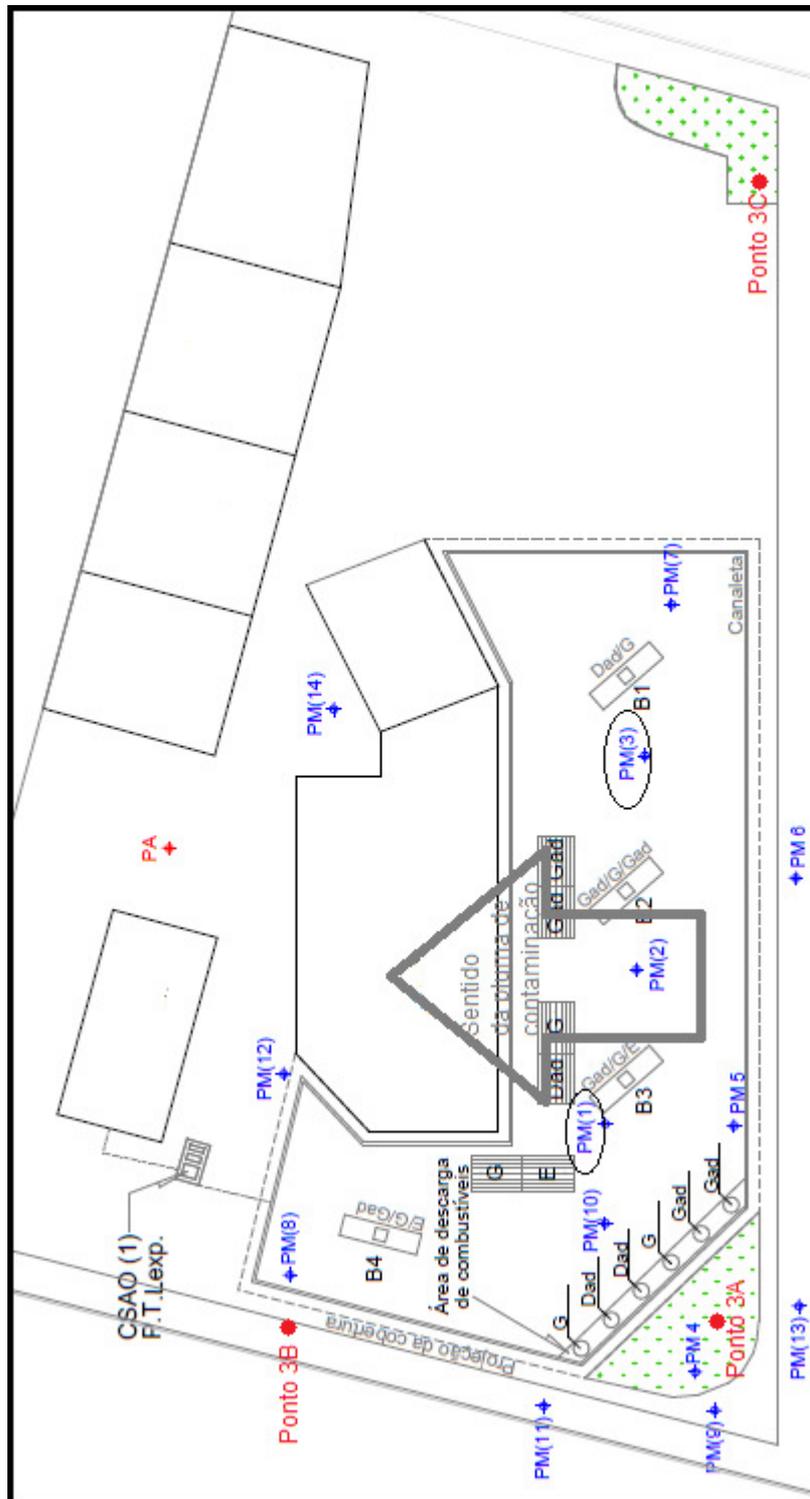
ANEXO C – CROQUI DA ÁREA 1 (ÁREA EM FASE DE REABILITAÇÃO)



ANEXO D – CROQUI DA ÁREA 2 (ÁREA EM PROCESSO DE REMEDIAÇÃO E COM FASE LIVRE PRESENTE)



ANEXO E – CROQUI DA ÁREA 3 (ÁREA EM FASE FINAL DE REMEDIAÇÃO)



ANEXO F – PERFIL DE FURO DE SONDAAGEM DA ÁREA 1 (ÁREA EM FASE DE REABILITAÇÃO)

PROJETO: Perfis de Sondagem para Laudo Geológico INTERESSADO: ENDEREÇO: _____ DATA: _____							
PERFIL DE FURO DE SONDAAGEM							
Desenho: Geoambiental							
Nível d'água	Observações	VOC's (ppm)	Profundidade em metros	Perfil Geológico	Variação das camadas em metros	PR 09	
						Descrição macroscópica do material	
1,35m		ND	0,00	Solo argiloso, marrom escuro, pouco de areia, bastante material orgânico e mica.	1,50	Solo argiloso, marrom escuro, pouco de areia, bastante material orgânico e mica.	
		ND	0,50				
		ND	1,00				
			ND	1,50	Silt de coloração cinza homogêneo	3,20	Silt de coloração cinza homogêneo
		ND	2,00				
		ND	2,50				
			ND	3,00	Profundidade Limite de Sondagem		
			3,50				
			4,00				
			4,50				
			5,00				
			5,50				
			6,00				
			6,50				
			7,00				
			7,50				
			8,00				
			8,50				
			9,00				
			9,50				
			10,00				
PROFUNDIDADE DO NÍVEL D'ÁGUA (m)					RESPONSÁVEL TÉCNICO	REGISTRO	
Final: 1,35m		DATA:					

ANEXO G – PERFIL DE FURO DE SONDAGEM DA ÁREA 2 (ÁREA EM PROCESSO DE REMEDIAÇÃO E COM FASE LIVRE PRESENTE)

<p>PROJETO: Perfis de Sondagem para Laudo Geológico INTERESSADO: ENDEREÇO:</p>												
<p>PERFIL DE FURO DE SONDAGEM</p>												
<p>Desenho: Geoambiental</p>												
Nível d'água	Observações	VOC's (ppm)	Profundidade em metros	Perfil Geológico	Variação das camadas em metros	<p>ST18/PM15</p>	Interpretação geológica					
						<p>Descrição macroscópia do material</p>						
1,24m		n.d.	0,00		1,00	<p>Solo argiloso maciço, marrom avermelhado com fragmento de rocha, quartzo e feldspato</p>	<p>Solo residual</p>					
		n.d.	0,50									
		n.d.	1,00									
		n.d.	1,50									
		n.d.	2,00									
		n.d.	2,50									
		n.d.	3,00									
		n.d.	3,50									
			4,00									
			4,50									
	5,00											
	5,50											
	6,00											
	6,50											
	7,00											
	7,50											
	8,00											
	8,50											
	9,00											
	9,50											
	10,00											
<p>PROFUNDIDADE DO NÍVEL D'ÁGUA (m)</p>					<p>RESPONSÁVEL TÉCNICO</p>	<p>REGISTRO</p>						
<p>Final: 1,24 m</p>		<p>DATA:</p>										

ANEXO H – PERFIL DE FURO DE SONDAGEM DA ÁREA 3 (ÁREA EM FASE FINAL DE REMEDIAÇÃO)

PROJETO: Perfis de Sondagem para Laudo Geológico INTERESSADO: ENDEREÇO: DATA:								
PERFIL DE FURO DE SONDAGEM								
Desenho: Geoambiental								
Nível d'água	Observações	VOC's (ppm)	Profundidade em metros	Perfil Geológico	Variação das camadas em metros	ST/PM 07		Interpretação geológica
						Descrição macroscópica do material		
1,19m		32,6	0,00		1,00	Aterro areno argiloso com matéria orgânica, sem odor de combustível.		Aterro
		49,1	0,50					
		42,3	1,00		3,00	Argila arenosa, cinza claro.		
		23,9	1,50					
		18,6	2,00					
		12,6	2,50					
			3,00			Profundidade Limite de Sondagem		
				3,50				
				4,00				
				4,50				
			5,00					
			5,50					
			6,00					
			6,50					
			7,00					
			7,50					
			8,00					
			8,50					
			9,00					
			9,50					
			10,00					
PROFUNDIDADE DO NÍVEL D'ÁGUA (m)					RESPONSÁVEL TÉCNICO		REGISTRO	
Final: 1,19m			DATA:					

ANEXO I – DECLARAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO

GEOAMBIENTAL CONSULTORIA E LICENCIAMENTOS LTDA

DECLARAÇÃO

DECLARO, que tenho ciência e autorizo o Sr. ORION DE VARGAS FLORES, CPF 872.002.210-91, a utilizar os dados de laudo geológico e monitoramento ambiental de áreas remediadas pela empresa Geoambiental Consultoria e Licenciamentos Ltda, não podendo ter referências de empresa, local e área, divulgadas ao longo da dissertação e publicação da mesma. Os dados deste trabalho de pesquisa serão utilizados para desenvolver a dissertação do Curso de Mestrado em Avaliação em Impactos Ambientais, sob a supervisão e orientação do Prof. Dr. Delmar Bizzani.

Lajeado, 24 de novembro de 2015.



Nome: EDUARDO HEIDRICH HEINECK

Cargo: SÓCIO - ENGENHEIRO QUÍMICO

CPF 716.29530-00