

3

Materiais e Métodos

O presente capítulo descreve os equipamentos e as metodologias das análises químicas e microbiológicas utilizados no programa experimental. Apresenta ainda a descrição do solo estudado e da sua região de origem, além de abordar a técnica de amostragem do solo indeformado e a forma com que se deu sua contaminação.

3.1.

Projeto Experimental

O projeto experimental deste trabalho pode ser dividido em duas partes: ensaios com esferas de vidro e ensaios com solo residual.

Em um primeiro momento, foram realizados os ensaios com esferas de vidro, representando um solo arenoso inerte. Nesta etapa, foi utilizada uma coluna de acrílico segmentada. Uma vez colocado na coluna, o solo foi adensado durante 10 minutos, saturado, drenado e em seguida contaminado. O objetivo deste ensaio foi analisar a mobilidade de um óleo mineral em solos perfeitamente arenosos por um período de 24 horas em uma coluna equivalente a uma condição 1D. Ao final de cada ensaio foram realizadas análises químicas por extração e determinação gravimétrica de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) e de ressonância magnética nuclear (RMN) a fim de determinar os tipos de hidrocarbonetos presentes em cada segmento da coluna.

Em um segundo momento, posterior à análise do comportamento do óleo em solos inertes, foi montado mais um ensaio, desta vez utilizando um solo residual natural indeformado. Nesta segunda etapa trabalhou-se com um solo microbiologicamente ativo, possibilitando a avaliação da influência tanto dos microrganismos do solo quanto do tipo de solo na atenuação natural do óleo. Para isto, foram montadas colunas de 10, 15 e 20 cm de solo indeformado sob duas

condições: temperatura ambiente e temperatura mais elevada. Para atingir um aumento de temperatura, em metade das colunas, foram utilizados refletores de 500W e de 300W. A idéia era verificar sua influência na descida do óleo no solo, uma vez que, em se tratando de um solo indeformado e de um óleo muito viscoso, imaginava-se que este não teria facilidade para se deslocar e se distribuir na coluna. Trabalhou-se então com a hipótese de que, aumentando a temperatura a que as colunas estariam expostas, o contaminante se tornaria menos viscoso e teria maior facilidade de migrar pelo meio poroso. A contaminação inicial de cada coluna se deu de cima para baixo e em um mesmo dia. As colunas foram abertas em intervalos de tempo pré-determinados com amostragem sacrificial. Para cada dia de abertura foram realizadas análises químicas, através de uma metodologia por extração e determinação gravimétrica de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH), e microbiológicas, pela determinação da atividade degradadora total microbiana (medida de hidrólise de diacetato de fluoresceína – FDA). Os intervalos de tempo monitorados foram: 7; 19; 28; 47; 57; 69; 78; 113; 127 e 157 dias. Para cada intervalo de tempo foram realizadas amostragens de duas colunas de solo indeformado representando o solo contaminado com e sem refletores.

Análises de ressonância magnética nuclear (RMN) das amostras foram realizadas em um segundo momento no Laboratório de Combustíveis do Departamento de Química da PUC-Rio para determinar os tipos de hidrocarbonetos presentes em extratos de óleo.

O projeto experimental das duas partes deste trabalho foi apresentado acima em sua configuração final, no entanto, não se pode deixar de mencionar que, para que se chegasse à mesma, foram realizados inúmeros testes, contribuindo para o desenvolvimento da metodologia de todos os ensaios que constam nesta dissertação. Ao longo das próximas seções estarão expostas todas as metodologias de ensaio e os motivos pelos quais uma metodologia foi escolhida em detrimento da outra.

3.2.

Caracterização dos Solos

Conforme explicado anteriormente, no presente trabalho foram estudados dois tipos de solos bem distintos.

Em uma fase inicial utilizaram-se esferas de vidro industrializadas (Potters, A-072) simulando um solo perfeitamente arenoso e inerte.

Em um segundo momento, foram utilizadas amostras de solo residual jovem indeformado retiradas de um talude de corte situado na Rodovia Washington Luiz (BR-040) Km 111, sentido Petrópolis, no Município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro. Foram coletadas quatro amostras de solo representativas de duas feições silto-arenosas (A1 e A2) e de duas feições areno-siltosas (S1 e S2). No entanto, optou-se por trabalhar com a feição areno-siltosa (S1), uma vez que não há muitos dados na literatura a respeito da mobilidade de contaminantes e da biodegradação em solos residuais jovens.

O objetivo geral do estudo de solos inertes e não inertes foi avaliar a influência do tipo de solo e da microbiota do solo na atenuação natural de contaminantes.

3.2.1.

Caracterização Física

Normalmente, o primeiro passo para a caracterização dos solos se dá no próprio campo durante a coleta das amostras através de uma classificação visual e táctil. Os fatores levados em consideração para essa caracterização preliminar são: cor, cheiro, composição mineralógica provável, história geológica, entre outras (Tapajós, 2004). No presente trabalho, esta etapa não foi realizada, uma vez que a região já havia sido objeto de estudos anteriores em que o Professor Franklin dos Santos Antunes acompanhou a retirada do solo e fez as classificações das quatro diferentes frações encontradas no local de estudo.

A caracterização física dos solos foi realizada no Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio por meio de ensaios padrão no meio geotécnico que permitem a determinação de propriedades índice.

3.2.1.1.

Esferas de Vidro

No caso dos ensaios realizados com esferas de vidro, a caracterização física consistiu em ensaios de granulometria de acordo com a recomendação NBR

7181/1984 para Análise Granulométrica da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

A tabela 3.1 e a figura 3.1, por sua vez, são representativas do resumo de granulometria e da curva granulométrica das esferas de vidro.

Resumo Granulometria (%)	
Pedregulho Grosso	0
Pedregulho Médio	0
Pedregulho Fino	0
Areia Grossa	37,4
Areia Média	34,2
Areia Fina	28,4
Silte	0
Argila	0

Tabela 3.1 – Resumo da granulometria das esferas de vidro (A-072).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0521517/CA

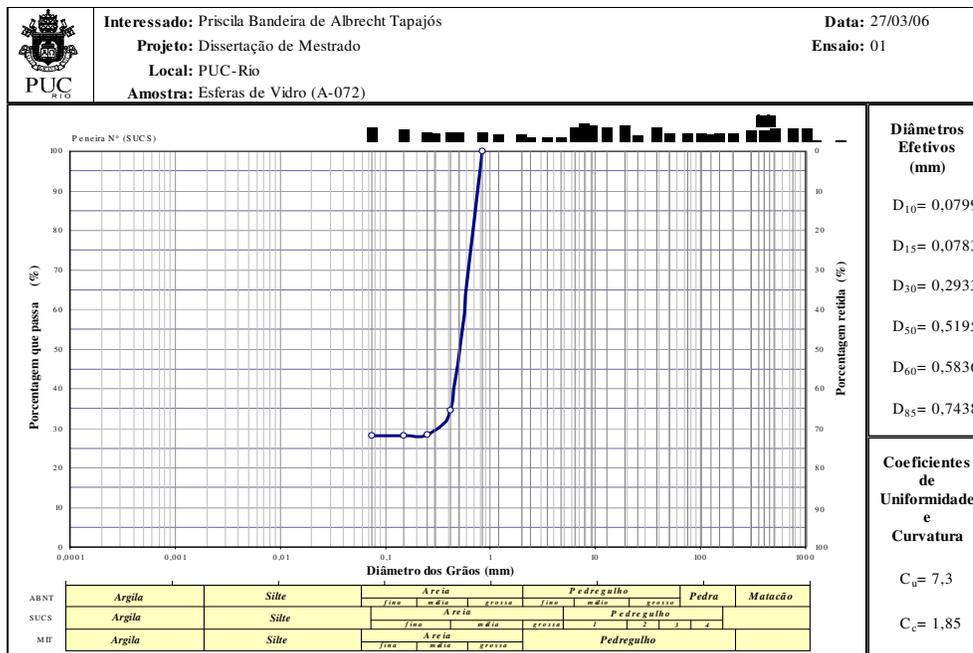


Figura 3.1 – Curva granulométrica das esferas de vidro (A-072).

As análises de determinação dos limites de liquidez e plasticidade não foram realizadas, uma vez que se trata de um solo arenoso inerte.

A massa específica dos grãos foi calculada de acordo com a recomendação NBR 6508/1984 para Massa Específica Real dos Grãos da ABNT. O valor médio encontrado após a realização do ensaio foi igual a 2,487g/cm³.

O peso específico das esferas de vidro somente foi determinado após a etapa de adensamento na coluna de acrílico.

3.2.1.2.

Solo Residual

Solos residuais jovens constituem materiais complexos e heterogêneos cujas propriedades de engenharia são influenciadas pelo grau de intemperismo, que determina a importância da heterogeneidade na distribuição de oxigênio e de nutrientes para a população microbiana. O intemperismo pode provocar alterações químicas na rocha mãe, modificando sua microestrutura e promovendo a reorganização dos minerais. Portanto, os solos residuais jovens vão desde aqueles que guardam características reliquias da rocha matriz até os que já não guardam mais sua estrutura.

As figuras 3.2 e 3.3 mostram o talude de corte do qual foram retiradas as colunas de solo indeformado representando a feição areno-siltosa S1.



Figura 3.2 – Perfil de solo de onde foi retirada a feição areno-siltosa S1 do solo residual do talude de corte de Duque de Caxias.



Figura 3.3 – Zoom na feição areno-siltosa S1.

Com a finalidade de executar a caracterização física do solo residual foram executados ensaios de granulometria por peneiramento e por sedimentação, limites de Atterberg e densidade relativa dos grãos, a partir de amostras de solo deformado e de acordo com as seguintes recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT):

- ✓ NBR 7181/1984 → Análise Granulométrica
- ✓ NBR 6459/1984 → Determinação do Limite de Liquidez
- ✓ NBR 7180/1984 → Determinação do Limite de Plasticidade
- ✓ NBR 6508/1984 → Massa Específica Real dos Grãos

A determinação dos limites de liquidez e de plasticidade foi realizada pelos técnicos do Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente.

A tabela 3.2 e a figura 3.4 apresentam, respectivamente, a curva granulométrica e o resumo da granulometria do solo residual estudado ao longo do trabalho.

S1 - Resumo Granulometria (%)	
Pedregulho Grosso	0
Pedregulho Médio	0,19
Pedregulho Fino	0,83
Areia Grossa	3,85
Areia Média	4,76
Areia Fina	5,60
Silte	1,19
Argila	83,58

Tabela 3.2 – Resumo da granulometria da feição areno-siltosa S1 do solo residual.

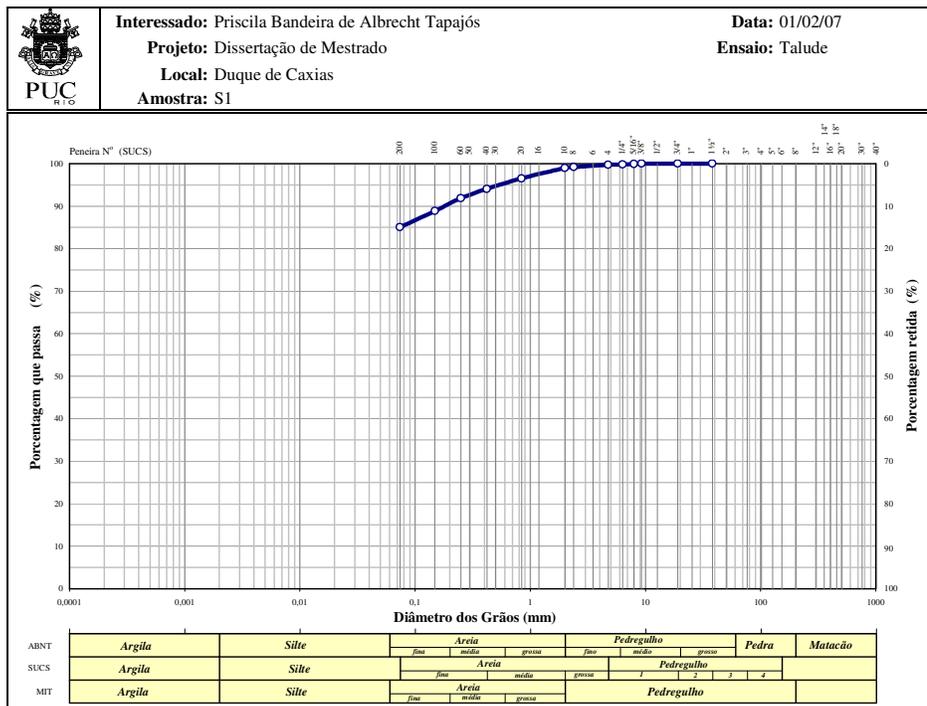


Figura 3.4 – Curva granulométrica da feição areno-siltosa S1 do solo residual.

A massa específica real dos grãos da feição areno-siltosa S1 do solo residual, obtida a partir da recomendação da ABNT, foi igual a 2,730g/cm³.

A determinação do peso específico natural do solo residual foi feita a partir de amostras indeformadas do solo. Lembrando que como foram feitas amostragens de diferentes colunas em uma mesma área, pode haver variações nos valores do peso específico natural do solo devido à grande heterogeneidade do perfil geológico encontrado na região. A tabela 3.3 apresenta os resultados obtidos para as diferentes colunas de solo indeformado monitoradas. Houve erros nos cálculos de peso específico das colunas 3R e 3S, muito provavelmente no

momento da leitura em balança digital da massa de solo indeformado nas colunas, portanto, estes resultados não serão apresentados. Conseqüentemente, o índice de vazios e o grau de saturação das colunas 3R e 3S também não constarão neste trabalho.

Peso Específico do Solo Indeformado (g/cm ³)		
Com Refletor	1R	1,6090
	2R	1,4793
	3R	x
	4R	1,4705
	5R	1,5989
	6R	1,6313
	7R	1,5107
	8R	1,5138
	9R	1,6007
	10R	1,6251
Sem Refletor	1S	1,6872
	2S	1,5483
	3S	x
	4S	1,7041
	5S	1,6707
	6S	1,6724
	7S	1,5756
	8S	1,5820
	9S	1,6187
	10S	1,5933

Tabela 3.3 – Peso específico das colunas de solo indeformado (feição areno-siltosa) em g/cm³.

Para a determinação da umidade higroscópica natural dos solos foram utilizadas amostras deformadas, no entanto, no decorrer dos ensaios a variação de umidade não pôde ser monitorada devido à contaminação dos mesmos. A tabela 3.4 mostra os resultados obtidos para as umidades das diferentes feições de solo no dia de amostragem.

Fração de Solo Residual	Umidade (%)
A1	8,15
A2	10,70
S1	24,99
S2	18,25

Tabela 3.4 – Umidade higroscópica das feições A1, A2, S1 e S2 do solo residual.

Estes índices foram adquiridos de acordo com as seguintes recomendações da ABNT:

- ✓ NBR 6457/1986 → Teor de Umidade Natural
- ✓ NBR 2887/1988 → Massa Específica Natural

O índice de vazios (e), a porosidade (η) e o grau de saturação (S) foram obtidos a partir de relações entre os índices existentes na literatura corrente de Mecânica dos Solos. As tabelas 3.5 a 3.7 mostram os resultados relativos aos parâmetros supracitados.

Índice de Vazios		
Com Refletor	1R	0,6967
	2R	0,8454
	3R	x
	4R	0,8565
	5R	0,7074
	6R	0,6735
	7R	0,8071
	8R	0,8035
	9R	0,7055
	10R	0,6799
Sem Refletor	1S	0,6181
	2S	0,7632
	3S	x
	4S	0,6020
	5S	0,6340
	6S	0,6323
	7S	0,7327
	8S	0,7256
	9S	0,6865
	10S	0,7134

Tabela 3.5 – Índice de vazios das colunas de solo residual indeformado (feição areno-siltosa).

Porosidade (%)		
Com Refletor	1R	41,06
	2R	45,81
	3R	x
	4R	46,14
	5R	41,43
	6R	40,24
	7R	44,66
	8R	44,55
	9R	41,37
	10R	40,47
Sem Refletor	1S	38,20
	2S	43,28
	3S	x
	4S	37,58
	5S	38,80
	6S	38,74
	7S	42,29
	8S	42,05
	9S	40,71
	10S	41,64

Tabela 3.6 – Porosidade das colunas de solo residual indeformado (feição areno-siltosa).

Saturação (%)		
Com Refletor	1R	97,9215
	2R	80,6942
	3R	x
	4R	79,6523
	5R	96,4383
	6R	101,3015
	7R	84,5327
	8R	84,9103
	9R	96,6988
	10R	100,3484
Sem Refletor	1S	110,3808
	2S	89,3910
	3S	x
	4S	79,6523
	5S	107,6053
	6S	107,8883
	7S	93,1153
	8S	94,0195
	9S	99,3718
	10S	95,6268

Tabela 3.7 – Saturação das colunas de solo residual indeformado (feição areno-siltosa).

3.2.2.

Caracterização Microbiológica

A atividade degradadora da microbiota foi determinada a partir da análise de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), conforme descrito por Adam & Duncan (2001). As amostras de solo para esta análise foram retiradas no dia da moldagem das colunas de solo indeformado (feição S1). Foi utilizado material estéril para a manipulação das amostras de solo (figura 3.5). A manutenção das condições de campo se deu através do armazenamento das amostras em gelo.



Figura 3.5 – Amostragem da feição areno-siltosa S1 para análise de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA).

Os resultados obtidos encontram-se na tabela 3.8 em de μg de fluoresceína/g de solo/min. Os valores mais elevados representam solos em que os microrganismos possuem maior atividade enzimática.

Atividade Microbiana	
Feição de Solo Residual	$\mu\text{g/g/min}$
A1	0,1234
A2	0,1513
S1	0,2067
S2	0,2716

Tabela 3.8 – Atividade microbiana das diferentes feições de solo residual no dia de coleta de material no campo experimental.

Conforme se pôde observar, a atividade microbiana é mais elevada nas feições areno-siltosas (S1 e S2) do que nas feições silto-arenosas (A1 e A2) de solo residual. A atividade na feição de solo utilizada no presente trabalho apresentou valor igual a 0,2067 $\mu\text{g/g/min}$.

3.3.

Caracterização do Óleo

A caracterização do óleo utilizado na contaminação (figura 3.6), tanto das esferas de vidro quanto do solo residual indeformado, pode ser encontrada na tabela 3.9, onde são dadas, em função da temperatura, a viscosidade cinemática, a densidade, a viscosidade dinâmica e a densidade em °API.

NORMA ASTM D-445		$V_c (\text{cSt}) = V_d (\text{cP}) / D_e$		
Temp. (°C)	Visc. Cinemática (cSt)	Dens. Calculada	Visc. Dinâmica (cP)	°API
30,6	219,2	0,8030	176,0	56,88
32,8	152,1	0,8021	122,0	52,36
34,4	101,7	0,8015	81,5	48,98
36,6	67,9	0,8007	54,4	46,71
38,4	32,0	0,8000	25,6	44,30
41,8	19,3	0,7987	15,4	43,45
44,4	14,4	0,7978	11,5	43,12
47,9	10,7	0,7964	8,5	42,87
50,5	8,8	0,7955	7,0	42,75

Tabela 3.9 – Caracterização do óleo em função da temperatura.

°API é uma maneira de medir a densidade muito útil no caso de contaminações por hidrocarbonetos de petróleo, uma vez que, em se tratando de compostos cuja densidade varia muito pouco com a temperatura, permite avaliar com mais segurança se o contaminante em questão é pesado ou leve.

Considerando uma temperatura média de 30,6°C, a densidade em °API do óleo em questão é equivalente a 56,88 representando um contaminante muito pesado.



Figura 3.6 – Óleo utilizado nos ensaios de contaminação das esferas de vidro e do solo residual.

3.4.

Ensaio Realizados e Metodologias Empregadas

Nesta seção serão apresentados os testes realizados para o desenvolvimento da metodologia de ensaio com solo arenoso inerte. Em seguida, será feita a descrição dos ensaios com a feição areno-siltosa S1 do solo residual.

3.4.1.

Esferas de Vidro

Conforme mencionado anteriormente, o objetivo desta parte do trabalho foi analisar a mobilidade de um óleo mineral na zona vadosa de uma coluna de solo artificial perfeitamente arenoso e inerte, simulando uma situação 1D.

Com a finalidade de atender aos objetivos propostos, houve a necessidade de realizar alguns ensaios pilotos. Tendo como base algumas informações levantadas por Barros (2007) em ensaios preliminares para o desenvolvimento da parte experimental de sua dissertação de mestrado, soube-se de antemão que a franja capilar, proveniente da drenagem das esferas de vidro era maior do que a esperada na teoria. A partir deste momento, a preocupação da etapa inicial da

presente dissertação de mestrado voltou-se para o desenvolvimento de uma metodologia de ensaio em que a franja capilar das esferas de vidro fosse reduzida, de forma a aumentar a área de interesse de estudo nas colunas de solo, representada pela zona vadosa.

O objetivo dos ensaios pilotos fora definir a base e as dimensões (altura e diâmetro) da coluna de acrílico, bem como a forma de adensar e drenar o material. Nesta seção, serão apresentadas as metodologias testadas e desenvolvidas para a realização dos ensaios com as esferas de vidro.

3.4.1.1.

Altura da Coluna de Acrílico

As relações de transporte e de distribuição da água e do contaminante no solo são muito complexas na zona saturada. Como a intenção do estudo em questão era analisar este comportamento em solos não saturados, aumentar o comprimento da coluna de acrílico seria uma forma de testar se a altura da coluna seria definidora da altura da franja capilar do solo e, com isso, do comprimento da área de interesse.

Foram utilizadas colunas de acrílico transparente segmentadas. Desta forma, possibilitou-se a adição ou a remoção de segmentos, conforme a necessidade de aumentar ou diminuir a altura da coluna de solo.

3.4.1.2.

Diâmetro Interno da Coluna de Acrílico

Outra variável testada no preparo das colunas foi seu diâmetro interno. Apesar de a teoria mostrar que o diâmetro não é um fator de influência na altura da franja capilar dos solos, testaram-se dois diâmetros internos distintos: 5,8cm e 11,9cm.

3.4.1.3.

Base da Coluna de Acrílico

Uma das hipóteses levantadas logo no início dos testes preliminares para a definição da metodologia de ensaio foi a de que a base da coluna estaria relacionada com a maior ou menor drenagem da água do solo. Uma base que permitisse maior drenagem poderia contribuir para a redução da franja capilar. Por este motivo, foram testadas as seguintes bases: tarugo de PVC com furo central, morim, grade com morim, tela de fundo de peneira com morim e tarugo de PVC furadinho com morim.

Foi feita a tentativa de criar um dreno natural dentro da coluna constituído de uma areia mais grossa do que a utilizada nos ensaios, no entanto não foram observadas melhorias na drenagem do material.

3.4.1.4.

Metodologias de Adensamento da Coluna

Levantou-se também a hipótese de que o tipo de adensamento das esferas de vidro na coluna de acrílico influenciava diretamente a mobilidade das partículas de água e com isso a drenagem das mesmas, aumentando ou diminuindo a altura da franja capilar ao final dessa etapa. Por este motivo, foram testadas duas metodologias de preparo das colunas de esferas de vidro: adensando a coluna toda de uma só vez e adensando-a segmento por segmento.

3.4.1.4.1.

Adensamento Camada por Camada

No caso do adensamento do solo segmento por segmento, a base foi montada e foi adicionado o segmento seguinte. Os segmentos foram unidos com fita durex larga e transparente. Em seguida, adicionou-se solo somente ao segmento inferior sendo que o segmento acoplado logo acima serviu apenas como cap. O solo foi distribuído neste segmento com o auxílio de um funil e levado ao agitador com um peso de 1 (um) quilograma no topo das esferas de vidro durante dez minutos. A altura do solo na coluna excedia a altura do primeiro segmento em

alguns centímetros de modo que após o adensamento o solo estivesse no limite do segmento de baixo. Desta forma, prosseguiu-se adicionando mais um segmento que, por sua vez, passou a funcionar como cap para o segundo segmento da coluna (o segmento que anteriormente tivera a função de cap). Adicionou-se solo e levou-se o conjunto novamente para o agitador automático por um período de dez minutos. O mesmo procedimento foi repetido até que todos os segmentos da coluna estivessem devidamente preenchidos pelas esferas de vidro e adensados. Para cada etapa deste procedimento, pesou-se o segmento vazio e após o adensamento pesou-se o segmento preenchido pelas esferas de vidro para que se pudessem extrair os índices físicos do solo.

3.4.1.4.2.

Adensamento Coluna Inteira

Montou-se a coluna de acrílico agregando os segmentos uns aos outros com fita durex larga e transparente, no intuito de não fechar a visibilidade do material dentro da coluna. Uma vez que os segmentos e o cap formaram um conjunto unitário, utilizou-se um funil para distribuir o material homogeneamente pela coluna de acrílico. Em seguida, o conjunto foi levado ao agitador automático por um período de dez minutos com um peso de 1 (um) quilograma no topo da coluna de solo. Lembrando que a coluna foi preenchida com solo até aproximadamente dois centímetros acima do início do cap de modo que, após o adensamento, o mesmo ocupasse completamente todos os segmentos de acrílico da coluna.

3.4.1.5.

Saturação das Colunas com Esferas de Vidro

A metodologia de saturação do solo independe da escolha das metodologias de adensamento e de drenagem. Nesta etapa dos ensaios, a saturação se deu lentamente, de baixo para cima, através da imersão do conjunto em água. O volume exato de água que entrou no solo foi medido através de proveta graduada (figura 3.7).



Figura 3.7 – Saturação das esferas de vidro pós-adensamento.

3.4.1.6.

Metodologias de Drenagem

Os ensaios preliminares consistiram na busca de soluções para a drenagem da franja capilar do solo. Os ensaios com esferas de vidro contaminadas por gasolina-etanol conduzidos por Barros (2007) e Renno (2007) demonstraram a presença da franja capilar após a drenagem da água no solo, no entanto os mesmos fizeram uso de uma bomba peristáltica para aplicar sucção e remover a franja capilar. Nos ensaios do presente trabalho, optou-se por testar outras soluções e, para isso, foi estudado o comportamento do solo com drenagens distintas, entre elas: a drenagem com o uso de uma areia mais grossa na parte inferior da coluna, princípio dos vasos comunicantes, bomba de sucção e a drenagem natural. É importante ressaltar que os diferentes procedimentos de drenagem foram testados para as duas metodologias de adensamento das esferas de vidro e em alguns casos para diferentes alturas da coluna.

3.4.1.6.1.

Drenagem Natural

Esta metodologia não apresenta qualquer tipo de dificuldade em sua execução. A mesma consiste simplesmente na drenagem natural da água do solo, uma vez finalizada a etapa de saturação. Para isto, deixou-se a coluna de acrílico apoiada em uma garra metálica e posicionou-se um becker ou uma vidraria semelhante embaixo da mesma com a finalidade de coletar a água drenada.

A metodologia descrita foi testada para vários intervalos de tempo, no entanto, não foi notada diferença na altura da franja capilar ao final da drenagem. Portanto, optou-se por trabalhar com o intervalo de tempo de 15 (quinze) minutos tendo em vista a praticidade na execução de uma bateria de ensaios.

3.4.1.6.2.

Bomba de Sucção

A metodologia em questão consiste na utilização de uma bomba de aplicação de sucção.

Neste caso, havia a opção de aplicar a sucção logo após a saturação ou ao final da drenagem natural com o intuito de remover a franja capilar. Após alguns testes preliminares, optou-se por aplicar a sucção logo após a saturação, uma vez que se observou uma maior homogeneidade na distribuição da água no solo neste caso.

Para o sucesso da metodologia, foi elaborada pelo torneiro mecânico do laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio, uma estrutura de adaptação da bomba à coluna de acrílico. Foi aplicada a sucção por um período de 5 minutos para que o arranjo dos grãos do solo não fosse alterado.

3.4.1.6.3.

Drenagem com Areia Grossa

Esta metodologia de drenagem foi adotada partindo do princípio que as areias grossas exercem uma função drenante quando em contato com materiais mais finos. Desta forma, seguindo as orientações do Professor Franklin dos Santos

Antunes, retiraram-se amostras de areia da Praia de Ipanema na altura do Jardim de Alah. O material foi imediatamente levado ao laboratório e lavado com água corrente para remover quaisquer resquícios de sujeira e de sal. Em seguida, foi levado à estufa a 60°C para secagem e posterior utilização no momento da drenagem propriamente dita. A areia seca foi colocada em um balde e a coluna de acrílico com as esferas de vidro foi posicionada na superfície da areia logo após a etapa de saturação (figura 3.8).



Figura 3.8 – Metodologia de drenagem através da utilização de areia grossa como material drenante.

Este procedimento se deu por aproximadamente 15 minutos quando foi notada a drenagem quase completa da água no solo e observada uma franja capilar consideravelmente reduzida. Assim como na metodologia de drenagem natural, foram testados alguns intervalos de tempo diferentes com a finalidade de observar se o fator tempo era definidor da melhor distribuição das partículas de água no

solo. No entanto, chegou-se a conclusão de que em 15 minutos a mesma se estabilizava.

3.4.1.6.4.

Drenagem com Tubo

Esta metodologia foi desenvolvida com base no princípio dos vasos comunicantes. Logo após a etapa de saturação das esferas de vidro conectou-se uma das extremidades de uma mangueira transparente saturada à base da coluna de acrílico enquanto a outra extremidade foi elevada a uma altura aproximadamente igual à do nível d'água na coluna. A drenagem se deu a partir do momento em que se abaixou a extremidade superior da mangueira. Este procedimento se deu até que a drenagem cessasse (figura 3.9).

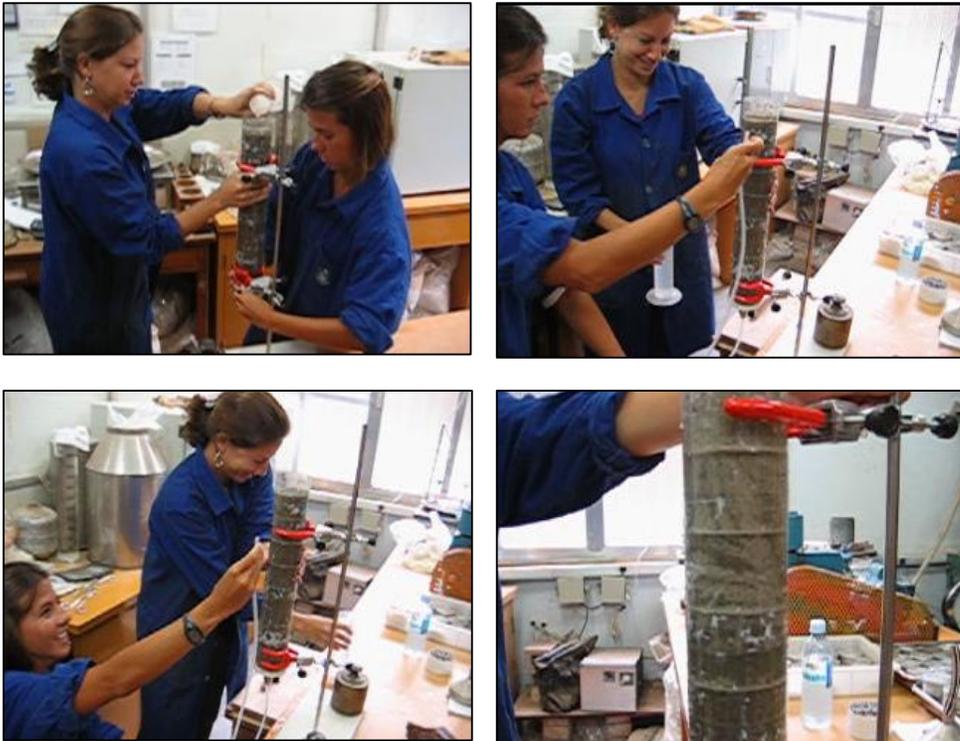


Figura 3.9 – Etapas do procedimento de drenagem através de metodologia baseada no princípio dos vasos comunicantes (drenagem com tubo).

A água drenada foi captada por uma bandeja de alumínio abaixo do conjunto e seu volume foi medido ao final da etapa através de uma proveta graduada. Esta medida não pode ser considerada uma medida de muita precisão visto que houve perdas de água em todos os ensaios. Apesar de se mostrar bastante eficiente no quesito drenagem da água no solo, a presente metodologia não apresentou repetitividade entre ensaios devido à grande influência do fator humano ao longo do procedimento de drenagem demandando grande agilidade do executor dos ensaios.

Para esse tipo de drenagem, a base da coluna teve que ser adaptada para uma base sólida com entrada para uma mangueira de diâmetro pequeno. Para tal foi utilizada uma base de tarugo de PVC com um furo e uma torneira de engate rápido.

3.4.1.7.

Contaminação das Esferas de Vidro

A contaminação das colunas de esferas de vidro se deu de cima para baixo durante um período de 24hs, simulando os efeitos de uma contaminação real no campo. Adicionou-se à coluna, a cada ensaio, um cap metálico de diâmetro igual a 4,74cm e altura igual a 4,12cm, com a finalidade de delimitar a entrada do óleo e de evitar eventuais efeitos de borda. Pesou-se o conjunto coluna + solo + cap metálico e em seguida deu-se início à contaminação através da adição de aproximadamente 60g de contaminante ao cap metálico (figuras 3.10 e 3.11).

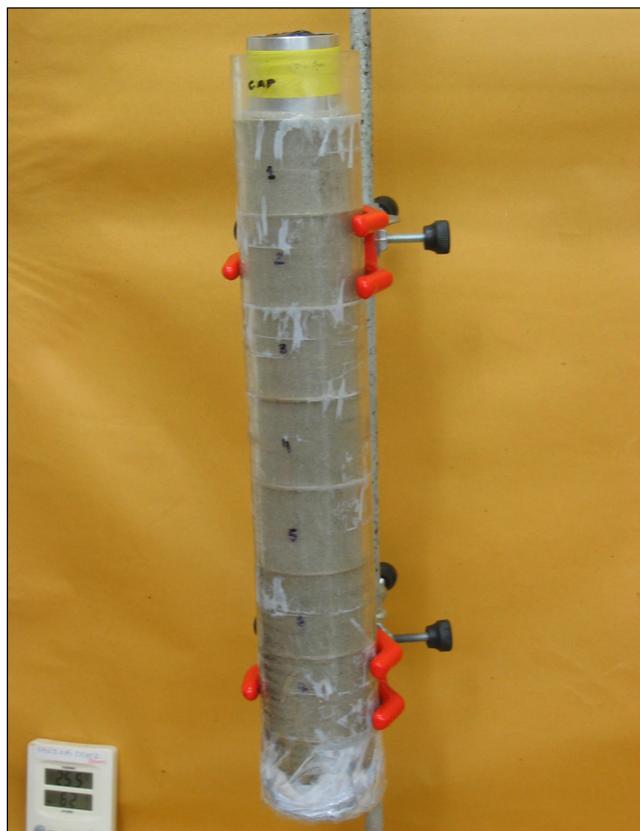


Figura 3.10 – Etapa de contaminação da coluna com as esferas de vidro (40cm).



Figura 3.11 – Detalhe do óleo mineral no topo da coluna no início da contaminação.

Esta etapa de contaminação foi executada levando em conta a metodologia de ensaio que proporcionou melhor distribuição da água e maior redução da franja capilar no solo.

3.4.1.8.

Abertura das Colunas

Terminada a etapa de contaminação das esferas de vidro, a coluna foi pesada e em seguida segmentada a cada 5cm a fim de serem realizadas amostragens para as análises químicas de cada segmento. Além da pesagem da coluna toda ao final do ensaio, foram realizadas outras medidas de peso da coluna sem o cap e sem o restante do óleo, ou seja, peso da coluna mais o solo mais o óleo que entrou. Além de pesagens de cada segmento da coluna mais o solo mais o óleo correspondente a cada segmento em particular.

3.4.2.

Solo Residual Indeformado

Nesta seção serão apresentadas as informações referentes à metodologia dos ensaios realizados com a feição areno-siltosa do solo residual proveniente do campo experimental de Duque de Caxias.

3.4.2.1.

Amostragem do Solo Residual Indeformado

Conforme descrito anteriormente na seção relativa à caracterização dos solos, foi estudada a feição areno-siltosa de um solo residual da região de Duque de Caxias. Optou-se por trabalhar com colunas de solo indeformado e para tal foi necessária uma ida ao campo com o auxílio de técnicos do Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente para retirada das amostras indeformadas de solo.

Com o intuito de viabilizar a amostragem de colunas de solo indeformado escolheu-se o tubo de PVC como material que melhor se ajustaria às condições de trabalho apresentando baixo custo. Foram confeccionadas, no Laboratório de

Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio, colunas de PVC dentre as quais todas possuíam diâmetro igual a 6,7cm, porém variadas alturas: 10; 15 e 20cm.

Foram acertadas as irregularidades no terreno da área de amostragem, formando um pequeno platô de onde as amostras pudessem ser extraídas. Foram retirados também quaisquer tipos de mato que pudessem ter brotado na área de estudo. As colunas de solo indeformado foram retiradas diretamente no PVC cravando o conjunto (bisel e coluna) no solo.

As figuras 3.12 e 3.13 ilustram a etapa de cravação e amostragem.



Figura 3.12 – Início da etapa de amostragem das colunas de solo residual indeformado.



Figura 3.13 – Cravação da coluna de PVC com auxílio de um bisel.

Ao final da amostragem as colunas foram envoltas com filme de PVC de modo a manter sua umidade de campo.

3.4.2.2.

Metodologia de Contaminação do Solo Residual Indeformado

A contaminação das colunas de solo residual foi a mesma descrita para as colunas com esferas de vidro. Desta forma, a contaminação se deu de cima para baixo, tendo sua área sido delimitada por um cap metálico de 4,74cm de diâmetro e 2,06cm de altura (figura 3.14).

Pesou-se o conjunto coluna mais solo em balança digital de precisão e em seguida, a coluna com o solo e o cap metálico. Por último, adicionou-se o óleo ao cap metálico e pesou-se novamente o conjunto. Acreditando que os caps comportariam um mesmo volume de óleo, a contaminação se deu utilizando-se este parâmetro como fonte de controle da massa de óleo inserida e, portanto, não

foi determinada a massa de óleo nos caps. No entanto, na etapa de organização dos dados, percebeu-se que a massa de óleo inserida não foi exatamente a mesma em todas as colunas de solo indeformado dificultando a análise final dos dados.



Figura 3.14 – Colunas de solo indeformado momentos antes da contaminação.

Todas as colunas de solo indeformado foram contaminadas em um mesmo dia, representando o tempo inicial zero, mas abertas em intervalos de tempo diferentes de modo a tentar reproduzir os efeitos da contaminação do solo em campo ao longo do tempo. Admitiu-se que todas as colunas de solo indeformado eram idênticas como hipótese inicial. Sabe-se, entretanto, que por mais que as colunas tenham sido amostradas de uma mesma região, há grandes possibilidades de serem completamente diferentes devido à possível heterogeneidade de solos indeformados.

A metodologia de contaminação pode e deve ser refinada a fim de se obter melhores resultados.

Após a contaminação inicial as colunas de solo indeformado foram sujeitas a duas condições distintas de temperatura, através do uso de refletores de 300W e de 500W, de modo que a metade delas esteve exposta a condições normais de temperatura e a outra metade a temperaturas elevadas (figura 3.15).



Figura 3.15 – Estrutura suporte aos refletores de 300W e de 500W. No topo da figura à esquerda destaque à vista lateral da caixa de disjuntores por meio da qual se fez o controle dos refletores.

Os ensaios de contaminação e o monitoramento das colunas ao longo do tempo foram conduzidos na Tenda do Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio (figura 3.16).



Figura 3.16 – Tenda do Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio, onde foram realizados os ensaios de contaminação de 157 dias.

3.4.2.3.

Abertura das Colunas

A abertura das colunas, em seus respectivos intervalos de tempo, se deu através da segmentação do solo indeformado a cada 5cm, de modo a permitir a avaliação dos aspectos químicos e microbiológicos de cada segmento após a contaminação. No entanto, uma das falhas do presente estudo está na não pesagem de cada segmento de solo indeformado isoladamente (figuras 3.17 a 3.20).



Figura 3.17 – Retirada do solo indeformado da coluna de PVC ao final do intervalo de tempo estipulado para o monitoramento da contaminação e da atividade microbiana.



Figura 3.18 – Solo indeformado contaminado momentos antes de sua segmentação.



Figura 3.19 – Segmentação da coluna de solo indeformado.



Figura 3.20 – Retirada de amostras compostas de solo amolgado para posteriores análises químicas e microbiológicas.

3.4.3.

Análises Químicas

Nesta seção serão descritas a metodologia de análise por extração e determinação gravimétrica de TPH e a metodologia de análise de RMN.

3.4.3.1.

Análise de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH)

Há diferentes metodologias a serem empregadas na extração de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) de solos. Optou-se por utilizar a metodologia por extração e determinação gravimétrica descrita por Achitouv et al. (2004) & Setti et al. (1993). Metodologia semelhante já havia sido utilizada em trabalho de pesquisa anterior, apresentando resultados bastante satisfatórios (Tapajós & Österreicher-Cunha et al., 2005).

3.4.3.1.1.

Solução Clorofórmio/Metanol 1:1

Para extração dos hidrocarbonetos de petróleo do solo foi usada uma solução na qual cada parte de metanol se deve adicionar uma parte de clorofórmio.

3.4.3.1.2.

Metodologia de Ensaio

Estas análises foram realizadas em amostras de solo tanto nos ensaios de coluna com esferas de vidro quanto nos ensaios de coluna com solo residual.

Ao final de cada ensaio de coluna com esferas de vidro foram retiradas amostras de cada segmento para posterior análise em duplicata. Foi feita a pesagem de cada segmento e por diferença obteve-se o peso de solo uma vez que o peso de cada segmento de coluna é pré-definido. A comparação do peso de cada segmento contaminado com o peso dos segmentos não contaminados obtidos nos ensaios preliminares possibilitou fazer uma estimativa da quantidade de óleo. No entanto, é interessante ressaltar que este valor é tomado somente como uma estimativa já que se sabe que o contaminante pode deslocar a água ao migrar no solo.

Para os ensaios realizados com solo indeformado, a cada intervalo de tempo em que as colunas foram abertas, foram retiradas amostras de solo a cada 5cm e, a partir das mesmas, foi realizada a análise de TPH. As colunas foram pesadas no dia de montagem e no dia de abertura de forma a verificar as perdas por volatilização do contaminante bem como da umidade do solo.

Para cada amostra de solo realizou-se o procedimento descrito a seguir em duplicata. Pesaram-se 5g de solo em erlenmeyer de 125mL. Em seguida, acrescentaram-se 15mL de solução Clorofórmio/Metanol 1:1. A partir deste momento, o contaminante foi extraído em ultra-som por um período de 2 horas em erlenmeyers tampados para evitar a volatilização do contaminante durante esta etapa.

Ao final deste intervalo de tempo, retiraram-se os erlenmeyers e verteu-se o conteúdo de cada um deles em um conjunto proveta (25mL) + funil para começar

a etapa de filtragem com filtro de papel quantitativo (JP42 – Faixa Azul) para reter as partículas de solo.

Os erlenmeyers foram rinsados com 5mL da mesma solução de Clorofórmio/Metanol 1:1. Concluída esta etapa acrescentaram-se novamente 5mL de solução Clorofórmio/Metanol 1:1 a cada erlenmeyer e iniciou-se mais uma extração de 30 min no ultra-som. Esta etapa foi acrescida à metodologia porque se pôde notar que, em solos com contaminação muito elevada, ao final de duas horas de extração ainda havia vestígios de contaminante no solo. Procedeu-se novamente a etapa de filtragem e ao final da mesma, avolumou-se a proveta com Clorofórmio P.A. Destes 25mL representativos de cada replicata foram retirados 5mL e colocados em béqueres de 10mL de peso conhecido. Deixaram-se os béqueres em repouso até que o solvente volatilizasse por completo e o peso dos mesmos se estabilizasse. Por diferença obtiveram-se as massas de óleo em cada amostra.

Em se tratando de compostos tóxicos todas as etapas deste procedimento foram realizadas dentro de uma capela com exaustor ligado e o responsável pelas análises utilizou jaleco e luvas descartáveis para sua segurança.

3.4.3.2.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As amostras de resíduo oleoso foram analisadas pela Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H em um espectrômetro de campo sob as condições apresentadas na tabela 3.10.

Núcleo observado	^1H
Frequência de observação	200.026
Largura espectral	4001.6
Tempo de aquisição	4.0
Solvente	CdCl_2
Concentração	todo o material obtido
Intervalo entre pulsos	1s
Pulso	45°
N° de transientes acumulados	500
Temperatura	ambiente
Tubo	5mm od
Modo do desacoplador	nnn

Tabela 3.10 – Condições para obtenção do espectro ^1H .

O objetivo desta análise foi quantificar os tipos de hidrogênio presentes em percentual molar. Os resultados apresentados devem ser comparados entre si apenas dentro de um mesmo conjunto de dados, uma vez que os procedimentos de preparo, as condições para execução dos ensaios e o processamento dos espectros foram rigorosamente os mesmos para todas as amostras.

Os resíduos foram solubilizados em CdCl_2 . As áreas e/ou sinais dos espectros considerados levaram em consideração as informações conhecidas a respeito das respectivas estruturas presentes naquelas regiões e foram as seguintes (tabela 3.11).

Desloc. Quím. (ppm)	Tipos de Hidrogênios
9.5 - 7.4	Hidrogênios ligados a anéis aromáticos principalmente de poliaromáticos
7.4 - 6.5	Hidrogênios ligados a anéis aromáticos principalmente de monoaromáticos
4.0 - 0.5	Hidrogênios de grupos alfa-CH ₂ e alfa-CH ₃ em relação a anéis aromáticos, CH e CH ₂ de naftênicos, beta-CH ₂ e beta-CH ₃ de aromáticos e iso-parafinas e CH ₂ e CH ₃ de alifáticos

Tabela 3.11 – Tipos de hidrogênios e respectivos deslocamentos no espectro (PPM).

3.4.4.

Análise Microbiológica

A atividade degradadora total da microbiota foi determinada pelo método de medida de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), conforme descrito por Adam & Duncan (2001) com algumas modificações. O FDA é uma molécula reconhecida e hidrolisada pela maior parte das enzimas presentes no ambiente, sejam elas endo ou exo-enzimas de origem microbiana ou vegetal. A hidrólise de FDA permite, então, determinar taxas de degradação total do solo, as quais, neste caso, correspondem à atividade degradadora de bactérias e fungos essencialmente, devido à natureza sub-superficial do solo utilizado.

3.4.4.1.**Preparo de Soluções e Reagentes**

Abaixo seguem as especificações técnicas para preparo de todos os reagentes e soluções a serem utilizados ao longo da análise de medida de atividade enzimática.

3.4.4.1.1.**Solução Clorofórmio/Metanol 2:1**

Para cada parte de metanol adicionar duas partes de clorofórmio.

3.4.4.1.2.**Solução Tampão Fosfato**

Para cada litro de água destilada, adicionar 8,7g de K_2HPO_4 e 1,3g de KH_2PO_4 .

3.4.4.1.3.**Solução FDA**

Diluir 0,1g de FDA em 80mL de acetona P.A. e avolumar para 100mL.

3.4.4.2.**Metodologia de Ensaio**

O material utilizado foi esterilizado para garantir que os resultados representem com fidelidade a atividade microbiana referente ao solo em questão, sem que haja influências externas. A esterilização foi feita em autoclave a 121°C e a 1atm por um período de 20 (vinte) minutos.

As amostras de solo foram analisadas em triplicata com um controle branco, sem FDA.

Adicionaram-se 16,5mL de solução tampão fosfato a cada erlenmeyer anteriormente à esterilização em autoclave. Ao final desta etapa, alíquotas de 2g de solo foram adicionadas a cada erlenmeyer dentro do fluxo laminar de forma a garantir a continuidade da esterilidade do material. Em seguida, adicionaram-se 0,2mL de solução FDA a cada erlenmeyer com exceção ao destinado ao branco. A incubação teve duração de 40 minutos a uma temperatura de 30°C. Ao final desta etapa, a reação foi interrompida adicionando-se 15mL de Clorofórmio/Metanol 2:1 dentro de capela com exaustor ligado (figura 3.21).



Figura 3.21 – Interrupção da reação através de solução clorofórmio / metanol.

Em seguida, verteu-se o conteúdo dos erlenmeyers em tubos falcon de 50mL. Os mesmos foram, então, centrifugados a 2000 RPM durante 3 minutos e os sobrenadantes filtrados em conjunto proveta (25mL) + funil + papel filtro.



Figura 3.22 – Destaque para o volume de filtrado nas provetas e sua coloração esverdeada devido à presença de fluoresceína nas amostras.

O volume de filtrado foi lido nas provetas e em seguida transferido para tubos de ensaio de boca fina de modo a facilitar o armazenamento em geladeira após a finalização do ensaio (figura 3.22).

A fluoresceína formada durante a incubação foi medida nos filtrados em espectrofotômetro a 490nm utilizando-se cubetas de quartzo. Os resultados são dados em termos de absorbância e $\mu\text{g/mL}$ em função de uma curva padrão pré-estabelecida.

O material não filtrado foi armazenado em garrafas específicas para “esgoto de FDA” para descarte em consonância com as normas técnicas referentes a materiais tóxicos.

3.4.5.**Controle da Temperatura**

A idéia inicial do controle de temperatura no presente estudo fora estudar a influência da temperatura tanto na entrada do contaminante no solo indeformado quanto na ação dos microrganismos naturais do mesmo. Para garantir que o aumento considerável de temperatura nas colunas com refletor não fosse prejudicial à sobrevivência da população microbiana, a temperatura foi controlada através do uso de termômetros não só na região em que as colunas foram colocadas sob a influência dos refletores, como também na região em que estiveram as colunas sem refletores, de modo a garantir que as mesmas não ultrapassassem o valor de 40°C. Houve ainda o controle da umidade do ar, no entanto, este se deu apenas para as colunas em temperatura ambiente.