

5. Resultados e Discussão

5.1 Ensaio com solo natural (biótico)

5.1.1 Atividade Microbiana Degradadora

A tabela 14 mostra os resultados obtidos a partir da determinação da atividade microbiana degradadora dos solos dos microcosmos C e E. As três primeiras amostras são referentes à microbiota aeróbia do solo natural recém coletado e foram analisadas em presença de oxigênio. As seguintes foram analisadas em condições anóxicas, sendo as três primeiras um dia antes da saturação e as três últimas no dia em que os microcosmos foram saturados. A análise teve como objetivo observar a variação da atividade microbiana entre as diferentes condições de oxigenação aporte de água e matéria orgânica contaminante.

Tabela 14 – Valores das concentrações de fluoresceína resultantes da análise em triplicata da hidrólise de FDA em aerobiose e anaerobiose relativas aos microcosmos C e E.

Amostras	C			E		
	Concentr.	média	d.p.	Concentr.	média	d.p.
	(µg.g ⁻¹ .min ⁻¹)			(µg.g ⁻¹ .min ⁻¹)		
Solo natural aeróbio 1	0,100	0,149	±0,048	-		
Solo natural aeróbio 2	0,151			-		
Solo natural aeróbio 3	0,195			-		
Solo natural anaeróbio 1	0,011			0,023		
Solo natural anaeróbio 2	0,016	0,012	±0,004	0,007	0,018	±0,009
Solo natural anaeróbio 3	0,008			0,023		
Solo saturado anaeróbio 1	0,025			0,027		
Solo saturado anaeróbio 2	0,042	0,029	±0,012	0,012	0,024	±0,011
Solo saturado anaeróbio 3	0,019			0,034		

Através da tabela 14 é possível verificar uma queda significativa na atividade microbiana degradadora quando imposta uma condição anóxica. Apesar de terem ocorrido variações entre os valores das replicatas de uma mesma amostra, foi considerado que estes tenham se mantido razoavelmente dentro de uma mesma faixa. Embora os níveis de atividade das amostras analisadas em anaerobiose tenham se demonstrado próximos, é possível perceber um ligeiro aumento na atividade da microbiota do solo saturado. Este aumento foi possível devido, provavelmente, ao preenchimento dos espaços vazios entre os grãos de solo com a adição de água (contaminada ou não), garantindo a retirada completa do oxigênio (O₂) do solo. Outras justificativas para tais ocorrências serão apresentadas a seguir.

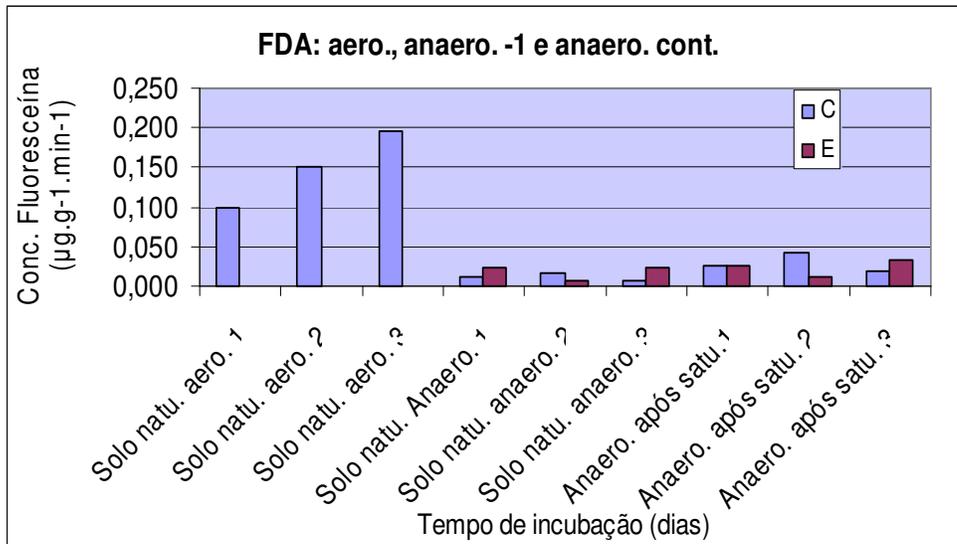


Figura 22 – Variação de atividade microbiana entre diferentes condições do solo: aeróbio insaturado, anaeróbio insaturado, anaeróbio saturado com água e anaeróbio saturado com água contaminada. Os números indicam a quantidade de replicatas. Cada microcosmo está representado no gráfico por “C” e “E”.

Na figura 22 é possível perceber que a atividade microbiana de hidrólise do FDA foi muito maior nas amostras de solo em aerobiose que nas amostras em anaerobiose. Esta diferença pode ter se dado por vários motivos.

A atividade em presença de oxigênio gera maior energia aos microrganismos que na ausência dele e.g. Österreicher *et al.*, 2007, Zwolinsky *et al.*, 2000. No solo em questão, a população microbiana aeróbia já estava ativa e bem adaptada à condição oxidante antes do solo ter sido coletado. Já continha ou era capaz de produzir as enzimas necessárias à degradação da matéria orgânica presente. Quando o solo foi refrigerado, sua atividade cessou, entrando num estado de dormência, mas sua biomassa não diminuiu. Com o retorno à temperatura ambiente, a população microbiana facilmente voltou à sua atividade normal. Com a imposição de uma atmosfera anóxica ao solo, mesmo retornando à temperatura ambiente, os microrganismos aeróbios se tornam incapazes de voltar à sua atividade, o que, entretanto, não ocorre com os microrganismos facultativos, que retornam facilmente. Não havendo mais oxigênio na atmosfera, a população anaeróbia começa a entrar em atividade e a assumir o papel da degradação. Contudo, é possível perceber que a imposição de uma nova condição ao ambiente é capaz de selecionar um grupo geneticamente melhor adaptável.

Os microrganismos das amostras recém saturadas em anaerobiose mantiveram sua atividade praticamente estável. A saturação do solo, principalmente com hidrocarbonetos monoaromáticos, além de ser impactante, pode ser tóxica a alguns microrganismos, sendo capaz de interferir no crescimento microbiano ou até eliminá-los (Alcamo, 1996).

Para que a atividade em condições de anaerobiose e saturação (inclusive saturação tóxica) possa aumentar, é necessário à microbiota anaeróbia um tempo de adaptação para geração de energia. Durante este período, são selecionadas populações geneticamente mais resistentes e com capacidade de degradar (oxidar) a matéria orgânica xenobiótica (redutoras ou metanogênicas) que, por sua vez, iniciam a produção ou ativação de enzimas específicas ao ataque de determinados compostos. Micronutrientes disponíveis no meio, como por exemplo, ferro, cobre e zinco são usados para a síntese de enzimas e, por isso, podem ser capturados pela microbiota e utilizados a nível celular (Alcamo, 1996; Lovely & Anderson, 2000). É esperado que, com um aporte de enzimas produzidas ou ativadas durante o tempo de adaptação, os microrganismos dêem início à degradação dos hidrocarbonetos através de reações de oxi-redução, utilizando aceptores de elétrons disponíveis no solo.

A tabela 15 apresenta a média e o desvio padrão dos valores de concentração de fluoresceína obtidos através da análise da atividade microbiana degradadora dos microcosmos C e E ao longo do ensaio, com duração de 93 dias.

Tabela 15 – Resultado da análise de hidrólise de FDA dos microcosmos C e E referente a todo o tempo do ensaio.

Dia	C		E	
	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	d. p.	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	d. p.
Inicial	0,029	$\pm 0,012$	0,025	$\pm 0,010$
8 ^o	0,038	$\pm 0,007$	0,025	$\pm 0,002$
21 ^o	0,021	$\pm 0,008$	0,036	$\pm 0,002$
35 ^o	0,043	$\pm 0,006$	0,035	$\pm 0,013$
49 ^o	0,045	$\pm 0,005$	0,041	$\pm 0,012$
65 ^o	0,044	$\pm 0,010$	0,032	$\pm 0,009$
93 ^o	0,027	$\pm 0,008$	0,007	$\pm 0,002$

A figura 23 foi elaborada baseada nos valores da tabela 15 e demonstra as tendências de aumento e decréscimo em cada um dos microcosmos analisados. É válido lembrar que as linhas de tendência, por ser uma tentativa de modelagem dos pontos experimentais, nem sempre são perfeitas, por isso devem ser observados nas tabelas tanto as linhas de tendência quanto os pontos dos valores de amostragens.

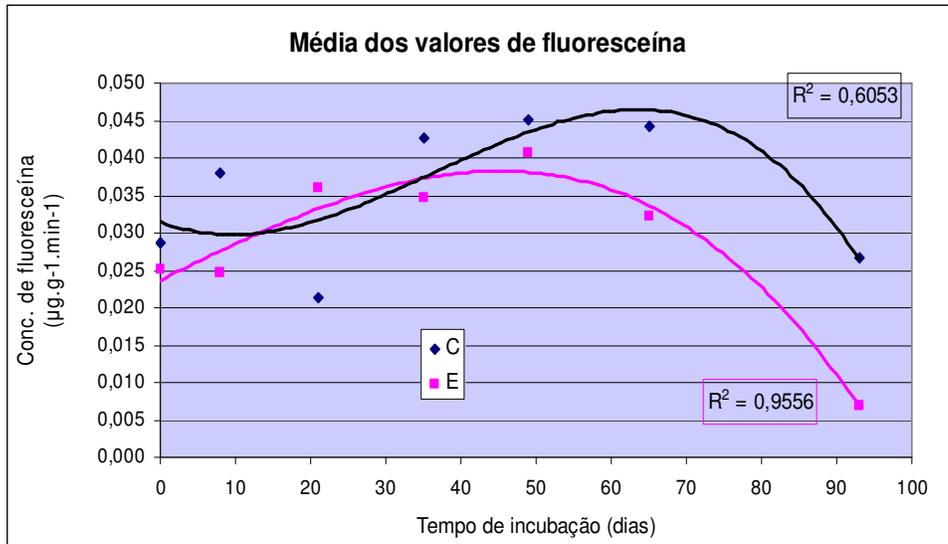


Figura 23 – Atividade microbiana degradadora no microcosmo C e E avaliada durante o ensaio, através da hidrólise de FDA e consequente produção de fluoresceína ($\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de solo úmido $\times \text{min}^{-1}$).

Os resultados mostraram em ambos os microcosmos uma variação na atividade microbiana típica de análises de amostras biológicas. A segunda lei da termodinâmica afirma que a energia não pode ser criada ou destruída, mas simplesmente transferida; no entanto, essas transferências nunca são completamente eficientes, havendo uma perda. Toda atividade desenvolvida pelos microrganismos envolve ganho e perda de energia, sendo essencial a obtenção de novas quantidades de energia de tempos em tempos para que a atividade seja mantida.

Além disso, é comum que gerações ou grupos mais adaptados de microrganismos sejam substituídos devido à seleção natural no decorrer da degradação de algum tipo de composto orgânico. A degradação dos compostos iniciais gera metabólitos, modificando a composição química do ambiente, então uma nova seleção irá ocorrer de uma população capaz de produzir enzimas mais eficientes, ou simplesmente a população existente terá de produzir ou até ativar tais enzimas. É possível que as pequenas variações ocorridas em curto espaço de tempo, apresentadas na tabela 15, estejam naturalmente cumprindo esta teoria.

É compreensível que ocorram determinadas distinções entre a atividade promovida no microcosmo C e no microcosmo E, dado que um foi saturado somente com água e o outro com água contaminada com a mistura BTEX-Etanol. Até aproximadamente o 8º dia de incubação, por exemplo, a atividade microbiana em cada um dos microcosmos comportou-se de forma diferenciada. No microcosmo C, a atividade cresce rapidamente, porém no microcosmo E este aumento demora alguns dias para ocorrer. Esta disparidade está possivelmente ligada à presença de contaminantes no microcosmo E, pois, como dito anteriormente, contaminantes podem ser tóxicos à microbiota, interferindo no crescimento e atividade da população, sendo necessário a ela um determinado tempo para se adaptar às novas condições, já que foram adicionados compostos nunca antes presentes neste solo.

No microcosmo C, embora também tenha ocorrido a adaptação da microbiota, visto o impacto da saturação, a atividade aumentou mais rapidamente. Este fato pode ter ocorrido devido ao aporte de água, o que pode ter causado a biodisponibilização de nutrientes e também devido ao fato de que a quantidade e o tipo da matéria orgânica presente neste solo não foram alterados. No microcosmo E ocorre uma dupla seleção: em relação à nova condição de anaerobiose e ao aporte de contaminantes, apresentando concomitantemente aporte de carbono e toxicidade.

Após aproximadamente 30 dias, a atividade se manteve praticamente estável, caindo no final da incubação. A queda da atividade pode ter ocorrido devido à escassez de matéria orgânica ou de nutrientes disponíveis.

No microcosmo E a atividade não se apresentou tão intensa quanto a do microcosmo C, pois além dos BTEX serem tóxicos à população microbiana, é possível que a degradação de cada composto seja exclusiva a um tipo específico de enzimas ou população, o que promoveria novas seleções de tempos em tempos. A queda final em sua atividade também pode estar ligada à escassez de nutrientes biodisponíveis ou à eliminação dos compostos de BTEX-Etanol.

5.1.2 Medições de pH e potencial de oxi-redução

As medidas de pH variaram em torno de 4. Este valor é comum quando se refere a solos tropicais, que apresentam geralmente pH ácido. Os sedimentos utilizados por trabalhos como Anderson *et al.* (1998), Lovely *et al.* (1991) e Zheng *et al.* (2002), como são originados de zonas temperadas, variam seus valores de pH entre 6 e 7.

Quanto maior o tempo de incubação, mais estabilizado ficou o pH dos solos, como pode ser verificado na tabela 16.

Os potenciais de oxi-redução do microcosmo C variaram entre a mínima de 94 e a máxima de 238 mV, e a do microcosmo E, entre a mínima de 90 e a máxima de 203 mV.

Tabela 16 - Valores de potencial de redução e pH dos microcosmos C e E obtidos durante todo o tempo de ensaio.

Dia	C (mV)	C (pH)	E (mV)	E (pH)
Inicial	203	4	139	4,3
8 ^o	203	4,3	90	4,1
21 ^o	238	4,2	158	4
35 ^o	120	4	125	3,9
49 ^o	180	4,1	203	4,1
65 ^o	94	4	158	4
93 ^o	166	4	136	4

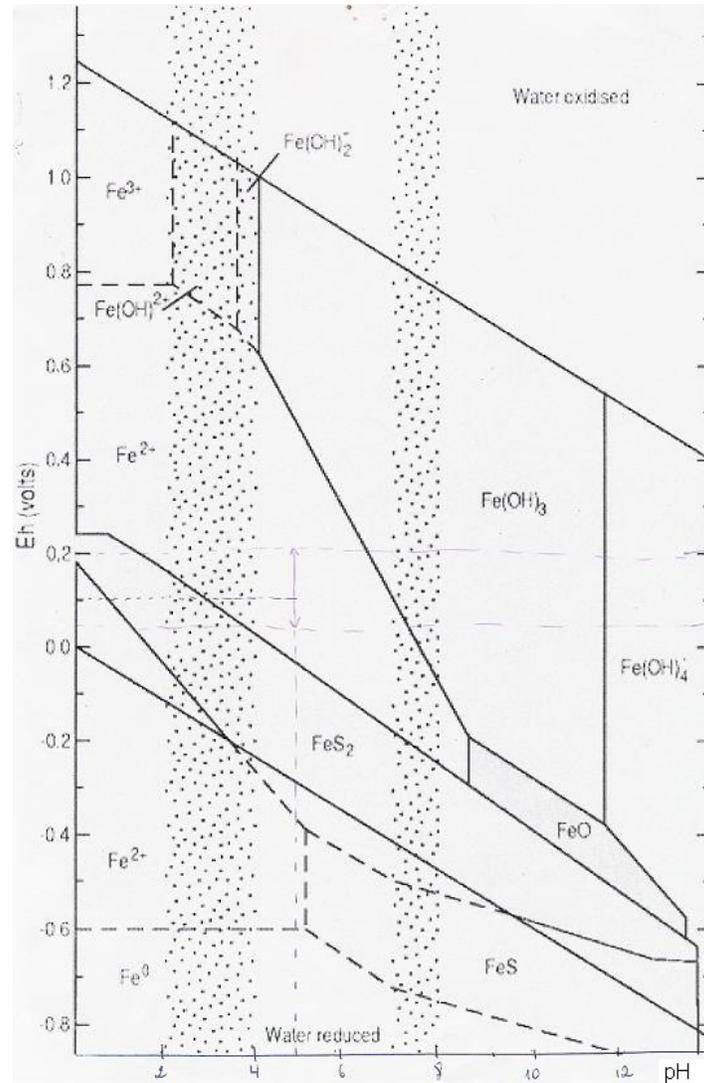


Figura 24 – Diagrama de especiação de ferro no solo sob diferentes condições de pH e Eh (potencial redox) (USEPA, 2003).

De acordo com a figura 24, a relação entre as variações obtidas nos valores de pH e potencial redox das amostras analisadas durante o ensaio indicou, por todo o tempo, a disponibilidade de Fe^{2+} nas amostras, tanto no microcosmo C quanto no E.

A variação do potencial redox e pH promove um aumento ou diminuição da solubilidade do ferro no solo. Impondo condições redutoras, é capaz de mobilizar a fração óxido, que passa a se associar com as frações facilmente trocáveis (CTC), orgânicas e ligadas ao manganês, tornando-a mais biodisponível. Shuman (1988), ao adicionar matéria orgânica ao solo, causou condições redutoras alternando-as

entre secas e úmidas. Neste trabalho a saturação também pode ter favorecido à formação de uma condição redutora, uma vez que a água tenha expulsado todo o oxigênio ainda preso entre os grãos de solo. O ferro mudou das formas menos solúveis para as formas trocáveis e orgânicas em resposta ao aumento da matéria orgânica.

5.1.3

Determinação de Fe^{+2} e Fe biodisponível total.

As tabelas 17 e 18 apresentam os valores encontrados de Fe biodisponível total e Fe^{+2} dos microcosmos C e E analisados ao longo do ensaio. Durante as análises, não foi possível a determinação da concentração de Fe biodisponível referente ao dia 35.

Tabela 17 – Concentrações de Fe biodisponível total nos microcosmos C e E ao longo do ensaio.

Dias	C		E	
	Média ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	d.p.	Média ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	d.p.
Inicial	0,096	$\pm 0,007$	0,195	$\pm 0,068$
21 ^º	0,303	$\pm 0,055$	0,284	$\pm 0,025$
35 ^º	0,879	$\pm 0,053$		
49 ^º	1,395	$\pm 0,000$	0,086	$\pm 0,035$
65 ^º	2,453	$\pm 0,137$	0,087	$\pm 0,035$
93 ^º	3,838	$\pm 0,629$	0,127	$\pm 0,029$

Tabela 18 – Concentrações de Fe⁺² nos microcosmos C e E ao longo do ensaio.

Dias	C		E	
	Média (µg.g ⁻¹)	d.p.	Média (µg.g ⁻¹)	d.p.
Inicial	0,062	±0,027	0,079	±0,053
21 ^ª	0,012	±0,005	0,064	±0,029
35 ^ª	0,059	±0,012	0,016	±0,010
49 ^ª	0,053	±0,034	0,035	±0,032
65 ^ª	0,128	±0,044	0,070	±0,016
93 ^ª	0,209	±0,049	0,076	±0,013

Ao comparar os valores de Fe⁺² obtidos em Stemmler & Berthelin (2003) em solo tropical (1.19 ±0,12mg.L⁻¹) com os obtidos neste trabalho, nota-se que estes foram baixos. Algumas razões podem ser consideradas para esta diferença, visto que o solo utilizado pelos autores, apesar de também ser um solo tropical, foi coletado em local alagado (pântano) a partir de um horizonte mais superficial. Suas propriedades mineralógicas também são diferentes, visto que usaram um solo com presença de argila e maior quantidade de matéria orgânica. O solo estudado neste trabalho, como visto no capítulo 4, foi coletado a maior profundidade (3m aproximadamente) em um perfil de intemperismo, sendo, por isso, possível conter formas de ferro mais insolúveis.

Outra justificativa pode ter sido o tempo insuficiente para um aumento mais significativo na redução provocada pela microbiota, visto que nos últimos dias de incubação a quantidade de Fe⁺² tende a aumentar. Em Anderson *et al.* (1998), além de analisarem sedimentos anaeróbios de três pontos já contaminados há anos, também foram coletados sedimentos aeróbios não contaminados próximo a um dos pontos do aquífero de Bemidji, onde a oxidação do benzeno estava ocorrendo junto à redução de Fe(III). Estes sedimentos foram contaminados, incubados em anaerobiose e analisados da mesma forma que os outros. Os resultados das análises mostraram que não houve oxidação de benzeno nos sedimentos recém contaminados. Isto sugere que as populações microbianas não tiveram tempo suficiente para se adaptarem, contrastando-se com as populações das outras áreas contaminadas há anos, as quais estavam ativamente degradando o benzeno *in situ* mesmo antes de serem coletadas. Zheng *et al.* (2002), ao

avaliarem a biodegradação de tolueno em sedimento de aquífero contaminado, perceberam que a queda do contaminante foi mais intensa durante o período final do ensaio. Tal efeito teve como justificativa a necessidade de um tempo de adaptação da microbiota que, ao aumentar sua biomassa, estimulou a perda de tolueno biologicamente.

Dethlefsen *et al.* (2004) avaliaram alguns estudos sobre a redução microbiológica de Fe(III) realizados tanto em campo quanto em laboratório e perceberam que somente parte do Fe(III) do sedimento é reduzido a Fe⁺² pelos microrganismos. Após realizarem várias análises sobre a redução de ferridrato, observaram que apenas 30% (aproximadamente) do total de Fe(III) foi reduzido a Fe(II) e, a partir deste resultado, consideraram que o revestimento do óxido de Fe(III) causado pela produção de Fe(II) foi a razão do bloqueio da superfície do óxido de Fe(III), o que impediu uma maior taxa de redução.

Stipp *et al.* (2002) também considera que quando o ferridrato precipita na presença de outros minerais, isto pode formar partículas separadas ou pode produzir um revestimento na superfície presente. Tal revestimento, mesmo promovido somente por algumas camadas atômicas, é suficiente para interferir na interação do substrato com a solução. Também é possível considerar que este fenômeno possa ter ocorrido neste trabalho, resultando em valores baixos de Fe⁺².

Outro fator pode ter possibilitado a determinação de baixos valores de íons ferrosos: a metodologia de extração. É possível que no método tenha ocorrido um fenômeno não antes previsto: o DTPA que, segundo Lindsay & Norvell (1978), Lovely & Anderson (2000) e USEPA (2003), é capaz de quelar somente Fe(III) nas condições estabelecidas, parece ter sido capaz de quelar também o Fe(II), impossibilitando-o de ser totalmente complexado pela fenantrolina (Fig. 15).

A suspeita de complexação de Fe⁺² com DTPA foi levantada após a realização de uma análise teste, onde a solução extratora foi substituída por cloreto de cálcio (CaCl₂) 0,01M com o objetivo de averiguar a eficiência da extração anterior. Foram agitados 5g de solo de cada microcosmo com 50mL de CaCl₂; a solução foi centrifugada e filtrada. A partir de então, o filtrado foi processado com o uso de fenantrolina, da mesma maneira que no método adotado para as amostras extraídas com DTPA. A extração com CaCl₂ foi procedida no mesmo dia que a extração feita com DTPA e, inclusive com alíquotas de solo referentes ao mesmo tempo de incubação. Entretanto os resultados obtidos

apresentaram-se muito diferentes (Fig. 25). Para a extração com DTPA, as concentrações de Fe^{+2} encontradas foram: $C=0,218$ e $E=0,070\mu\text{g.g}^{-1}$ de solo úmido, enquanto para a extração feita com CaCl_2 , foram: $C=12,851$ e $E=0,736\mu\text{g.g}^{-1}$ de solo úmido. Este fato pode ter ocorrido devido aos baixos índices de Fe biodisponível presentes no solo e ao excesso de DTPA em solução, estipulado pela metodologia.

Segundo Herrera *et al.* (1988), quando a quantidade de Fe(III) representa mais que 50% do ferro total da amostra, a o-fenantrolina é capaz de reduzi-lo, superestimando a quantidade de Fe(II). Este fato não foi considerado para o resultado do teste de extração com CaCl_2 , pois caso tivesse ocorrido, a amostra E deveria ter apresentado valores de Fe(II) tão altos quanto a amostra C.

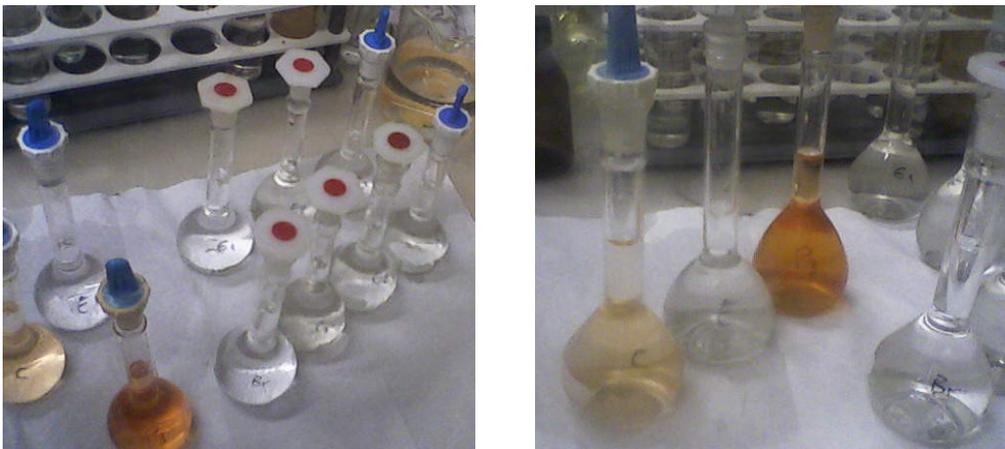


Figura 25 – A foto do lado esquerdo mostra as soluções resultantes da extração de Fe com DTPA misturadas à fenantrolina. A foto do lado direito mostra as soluções resultantes da extração de Fe com CaCl_2 misturadas à fenantrolina em comparação com o padrão de $3\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Heron *et al.*(1994) afirmam que o Fe^{+2} é facilmente quantificado pela extração anaeróbia com CaCl_2 , pois este é capaz de extrair o Fe^{+2} do sedimento através de troca catiônica, não alterando a forma do mineral e mantendo-o biodisponível. Já a molécula de DTPA, por atuar como um agente quelante, promove uma ligação com o ferro, o que altera sua forma e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade.

Para a confirmação da complexação de Fe(II) pelo DTPA, é necessário um estudo mais específico de tal molécula e suas forças de ligação com as diferentes formas de ferro.

Nas duas figuras 26 e 27 estão representadas as concentrações de Fe^{+2} e Fe biodisponível de cada microcosmo separadamente. Na figura 26 verifica-se que o Fe biodisponível tem um comportamento bem diferente do Fe^{+2} .

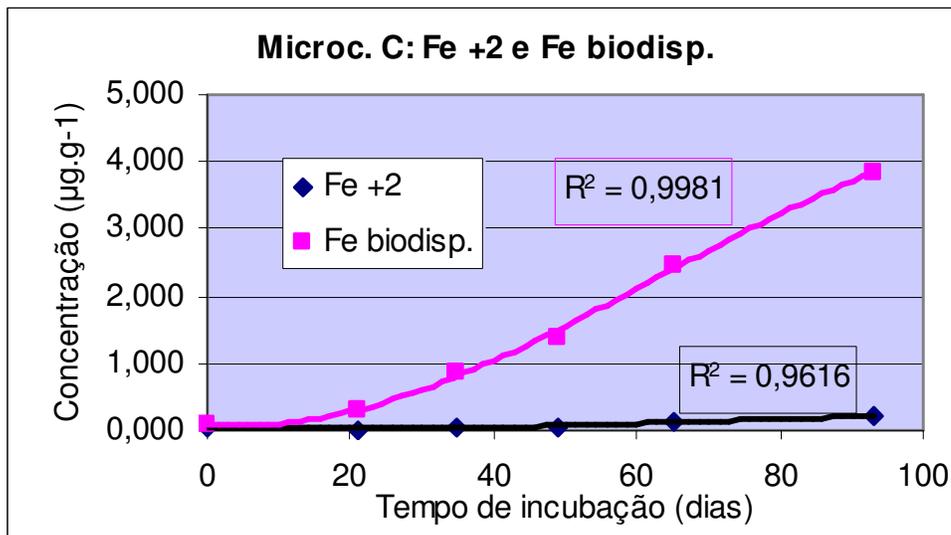


Figura 26 – Representação das concentrações de Fe^{+2} e Fe biodisponível total encontradas no microcosmo C.

Na figura 26 é possível notar que a concentração de Fe^{+2} se mantém praticamente estável e próxima de zero. Isto se torna possível uma vez que os óxidos presentes neste solo possuem muito mais Fe(III) que Fe(II) em sua composição. Inclusive, este solo possui pouca matéria orgânica para que possa ocorrer um processo significativo de oxidação química ou biológica com a redução do Fe^{+3} a Fe^{+2} . A presença do mínimo valor de Fe^{+2} pode ser justificada pela biodegradação da baixa quantidade de matéria orgânica natural do solo e pela transformação abiótica do ferro, através de processos geoquímicos (Zheng *et al.*, 2002).

Os valores de Fe biodisponível, entretanto, apesar de terem apresentado um valor inicial praticamente igual ao de Fe^{+2} , a partir de dias antes do 20º dia de

incubação começaram a aumentar até o tempo final do ensaio de forma significativa. Possivelmente houve adaptação da microbiota até por volta deste período de incubação. A partir da saturação do solo, é esperado que os Fe(III) e Fe(II) mais solúveis sejam diluídos e se tornem biodisponíveis em solução, tanto por atividade química quanto biológica. E, quanto maior o tempo de contato com a água, maior a probabilidade de reações que disponibilizem o ferro, inclusive por troca iônica com cátions presentes na água.

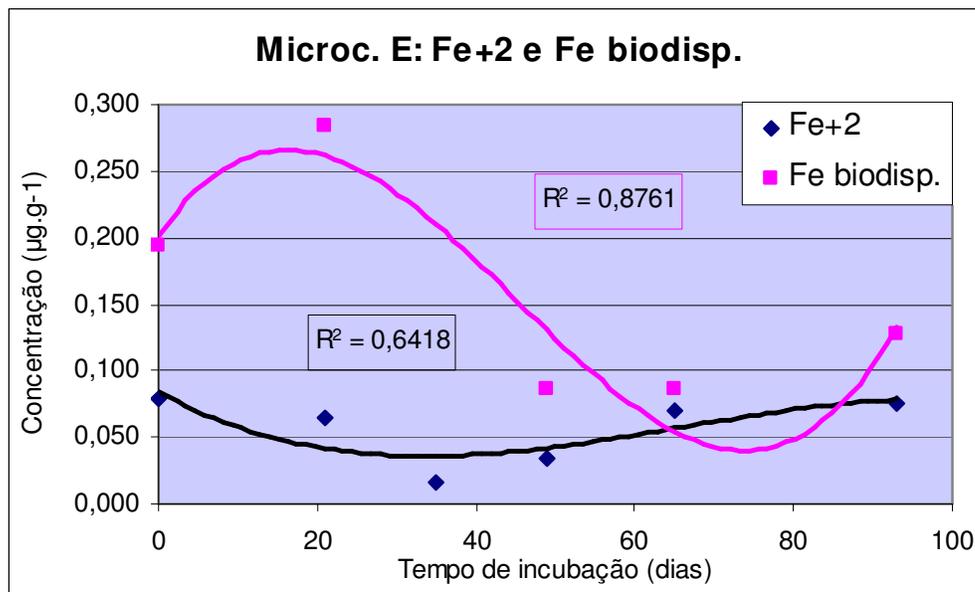


Figura 27 - Representação das concentrações de Fe+2 e Fe biodisponível total encontradas no microcosmo E.

O comportamento do ferro no microcosmo E difere do verificado no microcosmo C exatamente por conter contaminantes, o que provoca mudanças químicas, físicas e biológicas no meio.

Na figura 27, nota-se que o valor de Fe⁺² decresce até aproximadamente o 36º dia e daí tende a aumentar. Este solo, além de ter sido induzido a uma condição de anaerobiose, como o outro microcosmo, também recebeu um aporte de compostos orgânicos xenobióticos, ou seja, apesar de a microbiota estar se adaptando às novas condições atmosféricas, também precisa de tempo de adaptação para iniciar uma atividade metabólica degradadora dos contaminantes.

Para isso, os microrganismos precisam produzir enzimas ou ativar enzimas já presentes. Anderson *et al.* (1998) citam que em estudos prévios com material sedimentar de aquíferos sem o aumento artificial de nutrientes ou aceptores, a degradação anaeróbia de benzeno foi observada somente após longos períodos (eg.: 140 a 400 dias). Segundo eles, estes longos períodos indicam que as populações microbianas precisam se adaptar para ativarem a degradação do benzeno em incubações em laboratório, quando não são coletados de um ambiente já em degradação.

É possível que neste tempo inicial da incubação possa ter ocorrido também outro fator que justifica a demora para a redução de Fe(III): a redução da pequena quantidade de manganês presente neste solo, visto que sua redução é preferencial à redução do Fe(III).

Como já citado anteriormente, alguns metais presentes no meio ambiente, assim como o ferro, são utilizados para a produção dessas enzimas e, inclusive, outras proteínas como as ferredoxinas, que são pequenas proteínas contendo átomos de ferro e enxofre que atuam como agentes de transferência de elétrons nas reações redox dentro das células dos microrganismos. Esses fatores promovem o aumento da demanda de Fe⁺² para o uso intracelular, fazendo com que possa ocorrer nos primeiros dias de incubação a captura de Fe⁺² do solo. Após o tempo de adaptação, a microbiota começa a oxidar os BTEX-E reduzindo o Fe⁺³ e, com isso, a concentração de Fe⁺² tende a aumentar.

Já o Fe biodisponível total demonstra um aumento até aproximadamente o 15º dia, devido à dissolução química e biológica do ferro. Porém, um decréscimo ocorre até, aproximadamente, o 45º dia, possivelmente provocado pela captação de ferro pelas bactérias do solo. A estabilização pode indicar a redução de Fe⁺³ a Fe⁺² no meio. O aumento final pode ser considerado estatisticamente estável ou indicar realmente um aumento na disponibilização de Fe (III) proveniente dos óxidos de ferro, na tentativa de restabelecer o equilíbrio químico do ambiente.

Nota-se, então, que em ambos os microcosmos o Fe biodisponível aumenta nos primeiros dias, sugerindo disponibilização devido às novas condições (saturação e anaerobiose). Além da dissolução química, em anaerobiose, a microbiota disponibiliza o Fe(II) do solo, mantendo-o solúvel em condições redutoras. Esses processos modificam o estado do óxido de ferro de uma forma menos solúvel para formas mais biodisponíveis (Lovley & Anderson, 2000).

Lovely & Coates (2000) consideram que a transferência de elétrons para óxidos insolúveis de Fe(III) apresenta problemas que não estão associados com a redução dos considerados aceptores de elétrons solúveis. Uma vez que o aceptor apresenta-se numa forma insolúvel, é comum que ocorra uma dificuldade de contato entre os microrganismos redutores de Fe(III) e o próprio Fe(III) do óxido tornando necessária a transferência prévia de elétrons a um aceptor externo. Este mecanismo torna-se possível a partir da produção e/ou adição de vários tipos de compostos que complexam o Fe(III), como ácidos diversos e sideróforos (agentes quelantes de Fe(III) secretado por bactérias), o que leva a uma solubilização dos oxihidróxidos férricos, como a goetita (Lovely & Anderson, 2000). Anderson *et al.* (1998) citam um trabalho anterior (Lovely *et al.*, 1994) onde o benzeno foi oxidado a dióxido de carbono a partir da redução de Fe(III) estimulada por quelantes sintéticos em sedimentos de aquífero. Tem-se que os quelantes solubilizaram o Fe(III) tornando-o mais acessível à redução microbiana. Já em Schmitt *et al.* (1996) não foram adicionados ligantes, mas os ácidos orgânicos produzidos na degradação dos BTEX durante a redução inicial de nitrato e sulfato podem ter se tornado complexantes do Fe(III) devido à sua similaridade com os agentes quelantes usados por Lovely. Outra causa considerada possível foi a redução abiótica do Fe(III) por sulfito, sendo este produto da redução do sulfato.

Neste trabalho nenhum tipo de quelante sintético ou substância húmica foi adicionado nas amostras com a finalidade de estimular a redução dos óxidos insolúveis de Fe(III), pois o objetivo do ensaio foi exatamente analisar a atenuação natural dos BTEX-Etanol e, inclusive, suas limitações. Outro parâmetro que não é possível comparar com os trabalhos citados acima é a presença e consequente reações de determinadas formas de enxofre durante a biodegradação de compostos monoaromáticos no solo, pois as amostras estudadas neste trabalho não continham enxofre e nem mesmo nitrato.

Sem uma grande quantidade de matéria orgânica (contaminantes), a presença de Fe⁺² se manteve razoavelmente estável e o Fe biodisponível aumenta. Com o aporte de contaminantes, houve também disponibilização do ferro, mas sua concentração cai novamente por ser capturado e utilizado pela microbiota.

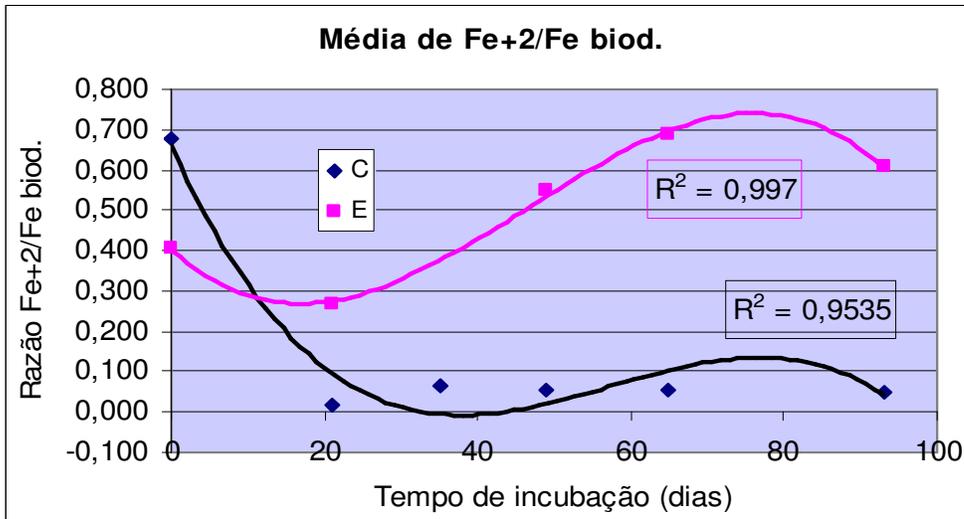


Figura 28 - Razão Fe⁺²/ Fe⁺² + Fe⁺³ nos microcosmos C e E ao longo do ensaio.

A razão Fe⁺²/ Fe biodisponível total foi plotada contra o tempo de incubação na figura 28. Por isso, percebe-se que o valor apresentou um comportamento invertido, ou seja, quanto maior foi a quantidade de Fe biodisponível total, menor o valor de Fe⁺² e vice-versa. Como, por exemplo, é possível perceber que no microcosmo E um decréscimo da razão ocorre até aproximadamente o 20º dia de incubação, devido ao aumento de Fe biodisponível, como pôde ser observado na figura 27.

A partir de então, houve um grande aumento da razão até alguns dias antes do 60º, quando então tendeu a se estabilizar, com uma possível queda por volta do 80º dia. Ao comparar a figura 28 com a figura 26, verificou-se o comportamento invertido na diminuição do Fe biodisponível, devido à captura microbiana, ocorrendo em seguida uma estabilização ou pequeno aumento do disponível, como detalhado anteriormente. Também é possível considerar que este aumento de Fe⁺² em relação ao Fe biodisponível total indique a ocorrência da degradação (oxidação) dos BTEX-E com a redução do Fe⁺³ e a produção de Fe⁺². Isto também justificaria a queda da produção de Fe⁺² próximo ao 60º dia, tempo em que, inclusive, a atividade microbiana degradadora e as concentrações dos compostos passam a diminuir (Fig. 23).

Se a quantidade de Fe⁺² ao passar do tempo tivesse diminuído em relação ao disponível, poderia estar ocorrendo uma precipitação de Fe⁺². E, caso a

quantidade de Fe^{+2} se mantivesse igual à de Fe biodisponível, a oxidação do Fe^{+2} poderia ser tida como justificativa.

No microcosmo C, entretanto, ocorreu uma queda inicial brusca da razão até dias antes ao 40º devido à disponibilização de Fe dos óxidos após a saturação com água, como na figura 26. A partir de então, a razão se manteve praticamente estabilizada em valores baixos, pois em C houve uma alta dissolução de Fe biodisponível, mas não houve produção significativa de Fe^{+2} .

5.1.4

Quantificação das concentrações dos BTEX-Etanol em solo contaminado

Como já informado no capítulo 3, uma boa resolução foi obtida para a mistura de BTEX-Etanol nas condições estabelecidas por CG-DIC. Os tempos de retenção estão apresentados na tabela 8. As curvas de calibração dos BTEX-E também foram mostradas no capítulo 3.

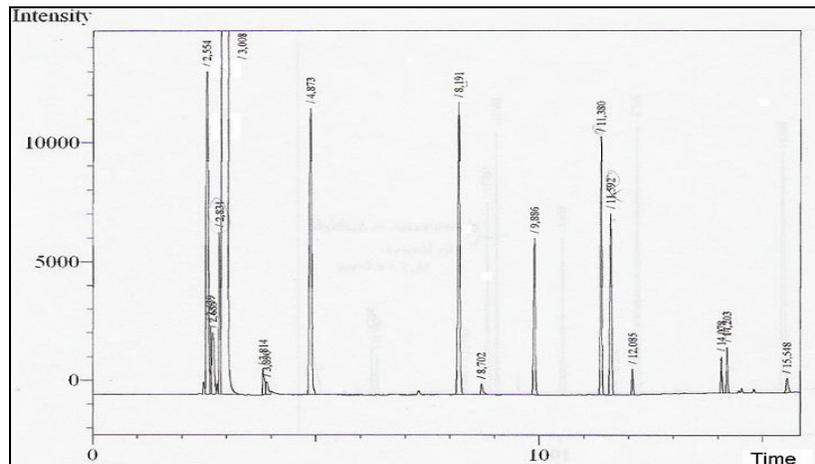


Figura 29 – Cromatograma da mistura de BTEX-Etanol a 10.000ppm em água, por CG-DIC nas condições citadas no capítulo 3.

A amostra de água contaminada (branco) foi analisada (Fig. 29), porém não foi possível quantificar seus constituintes, devido a um erro no volume do padrão interno. Para que fosse possível a comparação entre as concentrações dos BTEX-E obtidas na fase gasosa da amostra de água contaminada e as obtidas na fase gasosa das amostras de solo, foram considerados os valores encontrados na solução de água contaminada preparada durante o ensaio estéril, uma vez que a solução é preparada da mesma forma e com as mesmas concentrações.

Os resultados referentes a esta amostra de água contaminada e às amostras do ensaio são apresentados na tabela 19 e figura 30.

Tabela 19 – Concentrações dos BTEX-Etanol presentes na fase gasosa extraída de cada amostra e determinadas durante todo o tempo do ensaio. Alguns valores não foram possíveis de serem detectados.

Dias	Etanol		Benzeno		Tolueno		Etilbenzeno		Xilenos	
	Média (mg.L ⁻¹)	d.p.								
Água cont.	1927,2	±101,1	1089,2	±110,8	2998,9	±473,4	4108,8	±803,9	4804,9	±917,4
Inicial	278,0	±5,1	152,1	±7,6	455,7	±28,6	777,5	±61,9	1203,5	±84,0
9°	113,7	±22,1	62,3	±25,7	232	±124,1	569	±321,6	878	±424,9
21°	97	±19,7	30,7	±4,7	74,3	±42,1	187	±115,9	391	±158,2
36°	64	±9,0	29,3	±9,0	119	±62,2	293,5	±232,6	329	±316,8
49°	52	±13,7	19	±0,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
65°	41,3	±9,5	18	±0,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
93°	57,3	±30,1	18	±0,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = não determinado

Os altos valores de desvio padrão mostram que houve uma grande variação nas concentrações das amostras em triplicata. Isto pode estar relacionado à homogeneização não tão perfeita do contaminante no microcosmo ou variações ocorridas durante a extração do contaminante do solo. Vale considerar que em amostras biológicas é comum ocorrer variações.

Os baixos valores de etanol encontrados na água contaminada podem estar ligados à volatilização ocorrida durante a manipulação da amostra no interior do fluxo laminar.

A variação entre as concentrações dos compostos ocorrida na amostra do dia inicial confirma a variação ocorrida na amostra de água contaminada. Visto isso, é possível considerar que a variação ocorreu da mesma forma entre a água contaminada e as amostras. Através da comparação entre os resultados destas amostras, também foi possível verificar que parte dos compostos fica retido no solo durante a extração.

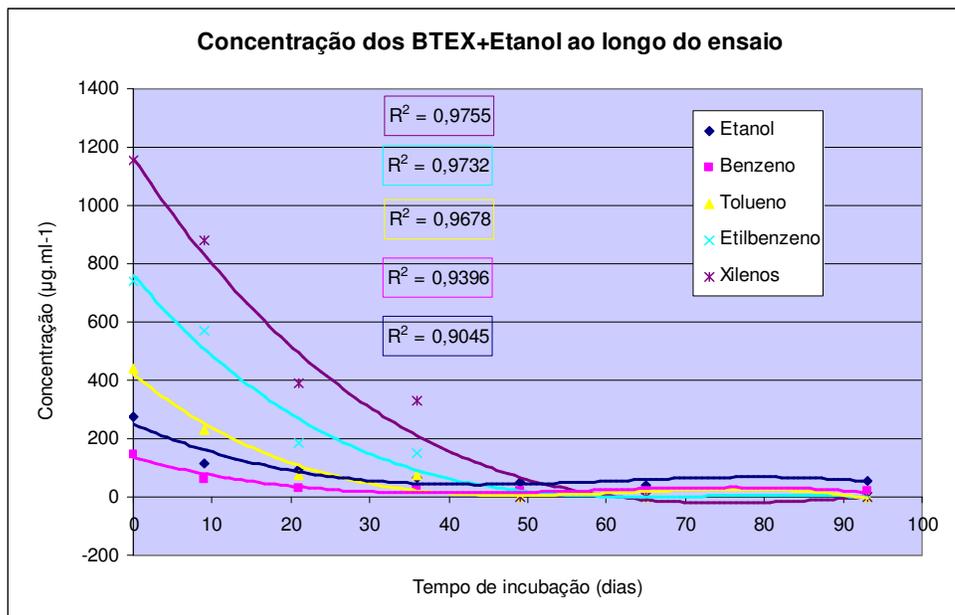


Figura 30 – Níveis de BTEX-E presentes na fase gasosa extraída do solo ao longo do ensaio.

A seguir, esses dados serão mostrados em dois gráficos separados a fim de facilitar a visualização dos compostos cujas concentrações encontram-se em níveis mais próximos.

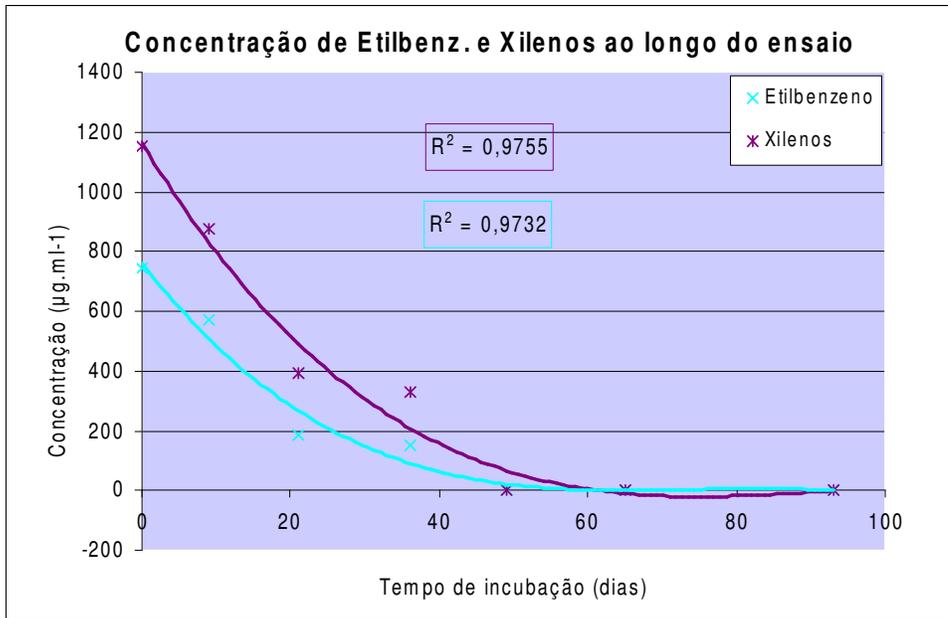


Figura 31 - Concentrações de etilbenzeno e xilenos obtidas da fase gasosa durante as extrações das amostras de solo.

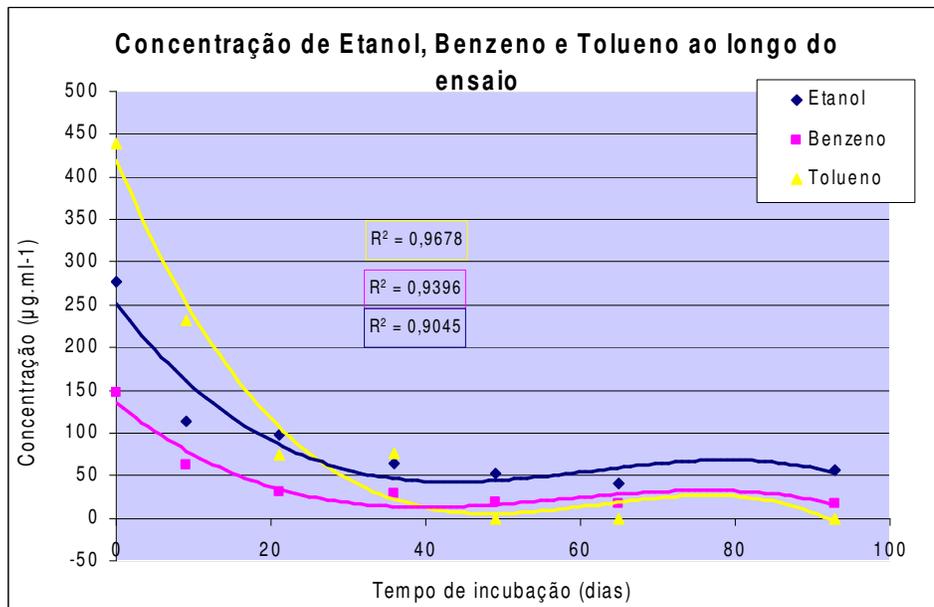


Figura 32 - Concentrações do etanol, benzeno e tolueno obtidas da fase gasosa durante as extrações das amostras de solo.

Através da análise do *headspace* (fase gasosa da amostra extraída) foi possível avaliar as tendências com que as concentrações dos contaminantes decrescem ao longo do ensaio (Fig.30), embora até o presente momento, não tenha sido possível descobrir a relação entre a concentração de cada composto na fase gasosa da amostra extraída e o valor presente na amostra de solo, pois não foram feitas análises adequadas para isto.

De acordo com os gráficos, é possível perceber que nos primeiros dias o decréscimo das concentrações de todos os compostos foi mais rápido, provavelmente devido à volatilização. A partir do 20º dia, aproximadamente, o comportamento da queda passa a ser diferente entre os compostos, principalmente entre o tolueno, etanol e benzeno.

Entre todos os BTEX, o tolueno foi o que aparentou ser degradado mais facilmente, pois após 20 dias de incubação já se encontrava em níveis bem baixos. Esta eficiência na degradação do tolueno, segundo Zwolinski *et al.* (2000), deve-se à produção do metabólito fumarato, que por sua vez, é usado como acceptor de elétrons por algumas espécies microbianas.

O etanol e o benzeno seguiram comportamentos semelhantes de degradação, evidenciando uma correlação entre os mesmos.

Aparentemente a presença do etanol atrasa mais a degradação do benzeno que a do tolueno, visto que a degradação do benzeno é mais complexa sob condições anaeróbias e isto se agrava devido à queda dos receptores de elétrons durante a degradação do etanol. Já a degradação do tolueno não é tão sensível à falta de receptores de elétrons, pois seu grupo metil é eletrofílico e facilita o ataque nucleofílico pela água ou por enzimas catabólicas anaeróbias (Da Silva e Alvarez, 2007; Ruiz-Aguilar *et al.*, 2003). Em Da Silva e Alvarez (2004) foi sugerido, inclusive, que a presença de tolueno inibe a degradação do benzeno, embora seus degradadores não sejam competitivos.

Apesar do etilbenzeno e xilenos terem alcançado níveis baixos após 40-50 dias de incubação, a taxa de degradação mostrou-se alta considerando que estes se encontravam em níveis inicialmente mais elevados que o benzeno e o tolueno.

5.1.5 Integração dos resultados

Ao integrar os dados obtidos através das diferentes análises foi possível perceber que durante o tempo inicial (até aproximadamente o 20º dia de ensaio) o rápido e semelhante decaimento dos contaminantes provavelmente não indicou um fenômeno de biodegradação, mas uma perda por volatilização, visto que neste período a atividade microbiana degradadora se manteve baixa, devido à sua necessidade de adaptação ao novo meio e também ao novo tipo e quantidade e matéria orgânica presente. Outro fator que confirma a baixa atividade degradadora da microbiota em tal período foi o aumento da biodisponibilidade das de ferro do solo além da diminuição dos valores de Fe^{+2} , o que indicou um consumo de ferro pelos microrganismos a fim de promover energia necessária à atividade de oxidação biológica dos compostos orgânicos presentes.

A partir do 20º dia de incubação, quando o ferro previamente disponibilizado passa a ser utilizado e os valores de Fe^{+2} começam a aumentar, a atividade degradadora microbiana também aumenta e com isso os BTEX-Etanol passam a cair com velocidade e perfil diferentes, o que indica o início do processo de biodegradação.

Durante os dias finais de incubação foi considerado que o processo de biodegradação tendeu a finalizar-se, pois os compostos se mantiveram a níveis muito baixos e a atividade degradadora microbiana diminuiu bastante. Com isso, a quantidade de Fe^{+2} se estabilizou e assim a de Fe biodisponível, tendo esta última apresentado uma leve tendência de aumento. Ambos os resultados de ferro relacionam-se à falta da mobilidade microbiana. A leve tendência do Fe biodisponível a aumentar pode estar ligada à disponibilização química.

Como dito anteriormente, não foi possível determinar se a queda da atividade degradadora microbiana ocorreu devido à eliminação dos BTEX-Etanol ou à escassez de nutrientes e/ou acceptor de elétrons biodisponíveis. A segunda justificativa mostra-se mais provável devido ao fato de ter sido usado um solo jovem e, conseqüentemente, composto de óxidos de Fe(III) muito insolúveis, sendo assim indisponíveis à microbiota (Lovely & Coates, 2000). A indisponibilidade do Fe(III) à microbiota também pode ter ocorrido devido à

possível geração de um bloqueio entre a microbiota e o Fe(III) formado pela camada de FeII produzida pela redução microbiana do Fe(III) mineral (Roden & Zachara, 1996). É possível ainda, segundo observações citadas por Anderson *et al.* (1998), que o tempo pode não ter sido suficiente para a microbiota se adaptar à degradação total de tais contaminantes.

Em muitos outros trabalhos, como Anderson *et al.* (1998), Lovely & Coates (2000), Lovely *et al.* (1991) e Zheng *et al.* (2002), o Fe(III) tem sido indicado como o principal acceptor de elétrons na biodegradação anaeróbia de hidrocarbonetos monoaromáticos. Porém, determinadas condições utilizadas nestes trabalhos são muito diferentes das utilizadas no presente estudo. Podem-se apontar como principais diferenças a origem e as características física e química do material analisado nos ensaios.

Nos trabalhos citados acima foram coletados sedimentos (em maioria areia e cascalhos) de aquíferos já contaminados há alguns anos por hidrocarbonetos aromáticos devido a vazamentos de gasolina e diesel. Todos os aquíferos são pertencentes aos Estados Unidos, ou seja, foram usados sedimentos de uma região de clima temperado e com pH normalmente próximo a neutro. Os ensaios foram desenvolvidos sob a temperatura de 8 a 10°C, onde foram adicionados e analisados compostos como o benzeno e/ou tolueno. No presente estudo, como já visto no capítulo 4, foi utilizado um solo natural residual jovem de feição siltosa, apresentando área superficial muito maior que sedimentos de aquíferos, o que torna possível a maior adsorção dos contaminantes. Por ser um solo de origem tropical, apresenta um pH mais ácido, o que favorece à redução do Fe(III). Uma vez que o solo tenha sido coletado em condições aeróbias no horizonte C e nunca antes contaminado, apresentava pouca matéria orgânica, baixa atividade enzimática e populações microbianas não adaptadas à biodegradação anaeróbia. O ensaio foi processado sob a temperatura de 25 a 30°C, o que favorece a volatilização dos BTEX-Etanol adicionados.

Outra grande diferença entre o presente trabalho e os citados anteriormente, incluindo Schmitt *et al.* (1996), foi o uso do Etanol na mistura contaminante, o que, como visto no capítulo 2, é capaz de atrasar a atenuação natural dos BTEX, pois além de poder ser tóxico para os microrganismos degradadores dos hidrocarbonetos monoaromáticos (Corseuil e Marins, 1998), aumenta a solubilidade, mobilidade e recalcitrância destes compostos em água subterrânea,

além da sua degradação preferencial provocar a redução de nutrientes e aceptores de elétrons que poderiam ser utilizados na biodegradação dos BTEX (Costa *et al.*, 2006; Nunes e Corseuil, 2005; Österreicher-Cunha *et al.*, 2007; Ruiz-Aguilar *et al.*, 2003). Mesmo entre trabalhos que também avaliaram a biodegradação anaeróbia da mistura BTEX-Etanol, como Chen *et al.* (2008), Corseuil *et al.* (1997) e Ruiz-Aguilar *et al.* (2003), foram encontradas condições diferentes das utilizadas no presente trabalho, como a utilização de sedimento de aquífero, manipulação no aumento de nutrientes, bioaugmentação, análise da água subterrânea e redução preferencial de outro tipo de aceptor, como nitrato e sulfato.

Quanto à comparação entre os microcosmos C e E, foi possível perceber que a atividade degradadora microbiana do E, embora tenha sido mais impactada, promoveu a degradação de um teor muito mais significativo de matéria orgânica e uma mobilização de ferro muito maior que a do microcosmo C.

5.2 Ensaio estéril

5.2.1 Atividade Microbiana Degradadora

A tabela 20 mostra os resultados obtidos a partir da determinação da atividade microbiana degradadora do solo estéril dos microcosmos Ce e Ee. Todas as amostras foram analisadas em anaerobiose e saturadas, sendo que a saturação do microcosmo Ce foi realizada com água destilada e autoclavada e a do microcosmo Ee com a mesma água, porém contaminada com 10.000ppm da mistura BTEX-Etanol. A análise teve como objetivo comparar a atividade microbiana degradadora do solo natural (não-estéril) com o solo estéril, permitindo, desta forma, avaliar o papel dos mecanismos bióticos nos dados obtidos com solo natural.

Tabela 20 – Concentrações de fluoresceína resultantes da análise em triplicata da hidrólise de FDA em anaerobiose relativas aos microcosmos Ce e Ee estéreis.

Dia	Ce		Ee	
	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	d.p.	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	d.p.
Inicial	0,007	$\pm 0,003$	0,012	$\pm 0,001$
16 ^o	0,003	$\pm 0,001$	n.r.	n.r.
19 ^o	0,003	$\pm 0,001$	0,002	$\pm 0,002$
29 ^o	0,006	$\pm 0,002$	0,005	$\pm 0,000$

n.r. = não realizado

Os resultados obtidos foram muito baixos comparados com os valores de atividade do solo dos microcosmos não-estéreis (Tab. 20). A atividade em C foi considerada praticamente nula. Nota-se que a atividade no E no dia inicial mostra-se ligeiramente mais alta que a dos dias seguintes. Esta se torna justificável, pois é possível que, com a contaminação, algumas estirpes aeróbias provenientes da mistura contaminante, podem ter sido introduzidas no solo junto com a água. Em seguida, esta atividade desaparece, visto que as condições não foram adequadas para sua sobrevivência. Não foi possível avaliar com este ensaio se houve vestígio de atividade microbiana devido a uma esterilização incompleta do solo, mas acredita-se que com três autoclavagens isto se torna muito improvável. Contudo, foi possível verificar que não houve atividade no solo estéril.

5.2.2

Determinação de Fe^{+2} e Fe biodisponível total.

As tabelas 21 e 22 mostram as médias das concentrações obtidas de Fe^{+2} e Fe biodisponível das amostras de solo estéril dos microcosmos Ce e Ee. Lembrando que não foi possível realizar a análise nas amostras do microcosmo E no 16^o dia de incubação.

Tabela 21 – Concentrações de Fe biodisponível total em amostras de solo dos microcosmos Ce e Ee ao longo do ensaio estéril.

Dias	Ce		Ee	
	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	d.p.	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	d.p.
Inicial	3,432	$\pm 0,059$	0,127	$\pm 0,029$
14 ^o	0,416	$\pm 0,041$	n.r.	n.r.
17 ^o	0,292	$\pm 0,000$	0,329	$\pm 0,031$
27 ^o	0,396	$\pm 0,035$	0,426	$\pm 0,025$

n.r. = não realizado

Tabela 22 - Concentrações de Fe⁺² em amostras de solo dos microcosmos Ce e Ee ao longo do ensaio estéril.

Dia	Ce		Ee	
	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	d.p.	Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	d.p.
Inicial	0,208	$\pm 0,049$	0,076	$\pm 0,013$
16 ^o	0,060	$\pm 0,029$	n.r.	n.r.
19 ^o	0,073	$\pm 0,000$	0,079	$\pm 0,031$
29 ^o	0,073	$\pm 0,040$	0,059	$\pm 0,032$

n.r. = não realizado.

As concentrações de Fe biodisponível e Fe⁺² do microcosmo Ee se mantiveram baixas durante todo o tempo do ensaio estéril, mostrando que o ferro, apesar de ser disponibilizado quimicamente devido à saturação, não foi mobilizado neste ambiente.

No microcosmo Ce, apesar dos valores de ferro terem se apresentado um pouco mais altos no dia inicial, devido a algum processo físico-químico possivelmente ligado ao processo de esterilização, caem e se estabilizam em valores baixos, visto não haver microbiota para mobilizar o ferro. Comparando-o com o microcosmo C biótico (que contém biota ativa) é possível notar uma grande diferença no comportamento do ferro, pois no solo biótico o Fe disponível demonstrou-se inicialmente baixo e aumentou com o passar do tempo, devido à

disponibilização microbiana e não utilização pela mesma devido ao pequeno aporte de matéria orgânica. A quantidade de Fe^{+2} do solo biótico também se mostrou baixa no início do ensaio e aumentou um pouco devido redução biológica.

É possível que a esterilização possa ter causado alguma mudança nas propriedades do solo, uma vez que eleva a pressão a 1 kgf/cm^2 (1 atm) e a temperatura do solo a 121°C em ambiente úmido (vapor de água), o que poderia explicar também a presença de ferro disponível em teores aumentados. Em Lovely *et al.* (1991) foi visto que é possível ocorrer uma baixa redução não enzimática de Fe(III) devido à presença de compostos orgânicos, mas mesmo ocorrendo, a baixa transferência de elétrons para o Fe(III) é mínima quando comparada com a completa oxidação da matéria orgânica na presença de microrganismos redutores de Fe(III) . Em Zheng *et al.* (2002), a produção de uma baixa concentração de Fe^{+2} na coluna estéril foi justificada como decorrência da dissolução abiótica do ferro mineral ou reações inorgânicas, mas não foi considerada um processo significativo nos experimentos.

Neste trabalho, o ensaio estéril mostra então que a microbiota parece ser responsável pela mobilização do ferro e pelo desaparecimento do ferro disponibilizado no ensaio biótico.

5.2.3

Quantificação das concentrações dos BTEX-Etanol em solo contaminado

A tabela abaixo (Tab. 23) mostra os valores das concentrações de BTEX-Etanol contidas na fase gasosa da extração de cada amostra analisada no decorrer do ensaio estéril. Vale lembrar que valores encontrados na fase gasosa da amostra extraída não são os teores presentes no solo, mas somente indicativos. Alguns valores de Etilbenzeno e Xilenos não foram possíveis de serem detectados.

Tabela 23 – Concentrações dos BTEX-Etanol presentes na fase gasosa extraída de cada amostra analisada durante todo o tempo do ensaio estéril.

Amostra	Etanol		Benzeno		Tolueno		Etilbenzeno		Xilenos	
	Média (mg.L-1)	d.p.								
Sol. Cont.	1908	-	1089	-	2516	-	3193	-	3755	-
Dia inicial	92	±7	51	±12	109	±43	201	±107	300	±50
19º dia	65	±16	28	±2	27	±3	1	±1	114	±28
29º dia	74	±3	21	±2	4	±6	n. d.	-	n. d.	-

n.d. = não detectado.

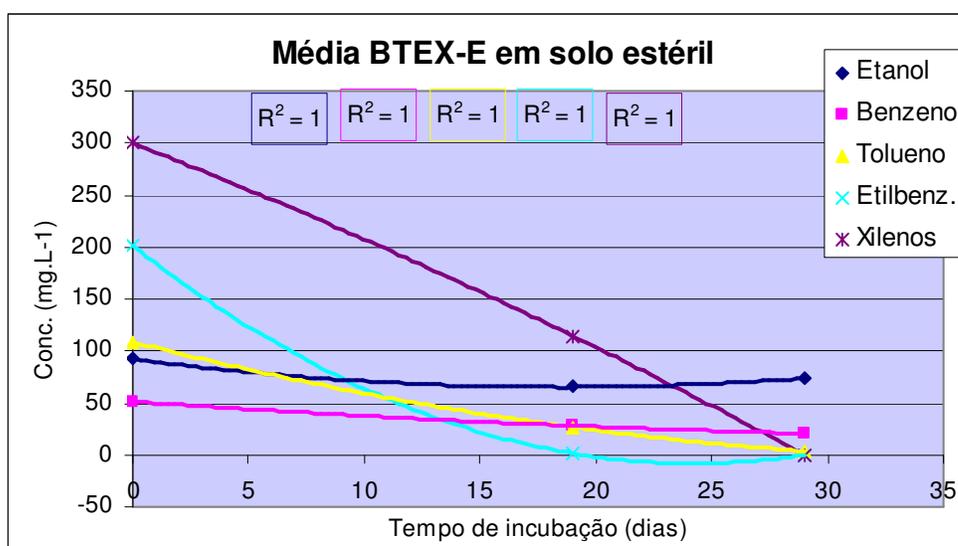


Figura 33 – Concentração dos BTEX-E presentes na fase gasosa da extração das amostras de solo estéril.

Em comparação com o ensaio biótico, as concentrações iniciais de BTEX-E foram menores no ensaio estéril. Isto pode estar relacionado à perda por volatilização ocorrida durante a montagem do ensaio. Uma vez que os microcosmos foram preparados dentro do fluxo laminar, a ventilação pode ter facilitado a volatilização dos BTEX-E.

Devido a esta diferença, foram desenvolvidas curvas normalizadas com os valores de concentração dos BTEX-E, a fim de apresentar o comportamento de queda dos contaminantes em relação ao que havia no início do tempo de incubação, de forma comparativa à atenuação do ensaio biótico.

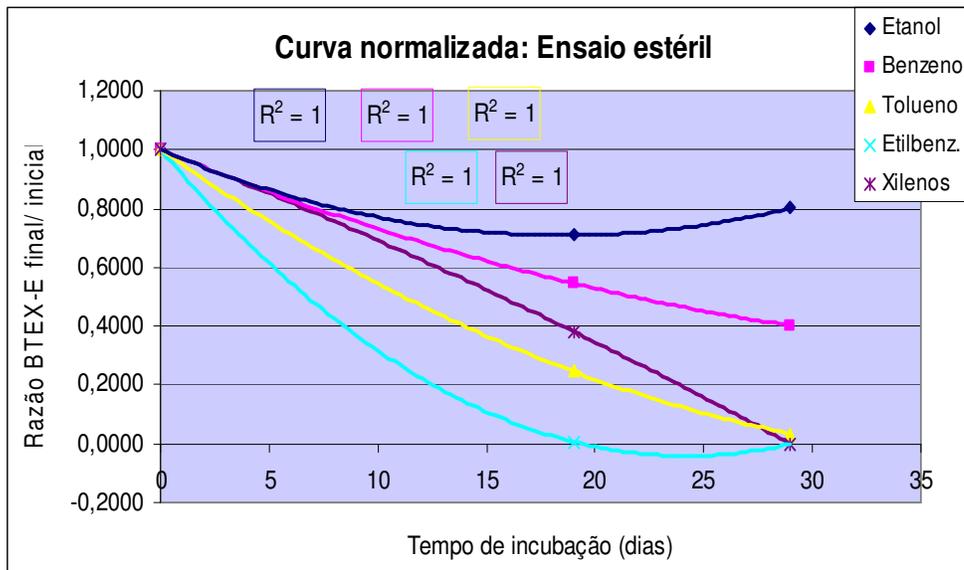


Figura 34 – Curva normalizada dos valores das concentrações de BTEX-E presentes na fase gasosa extraída das amostras de solo estéril.

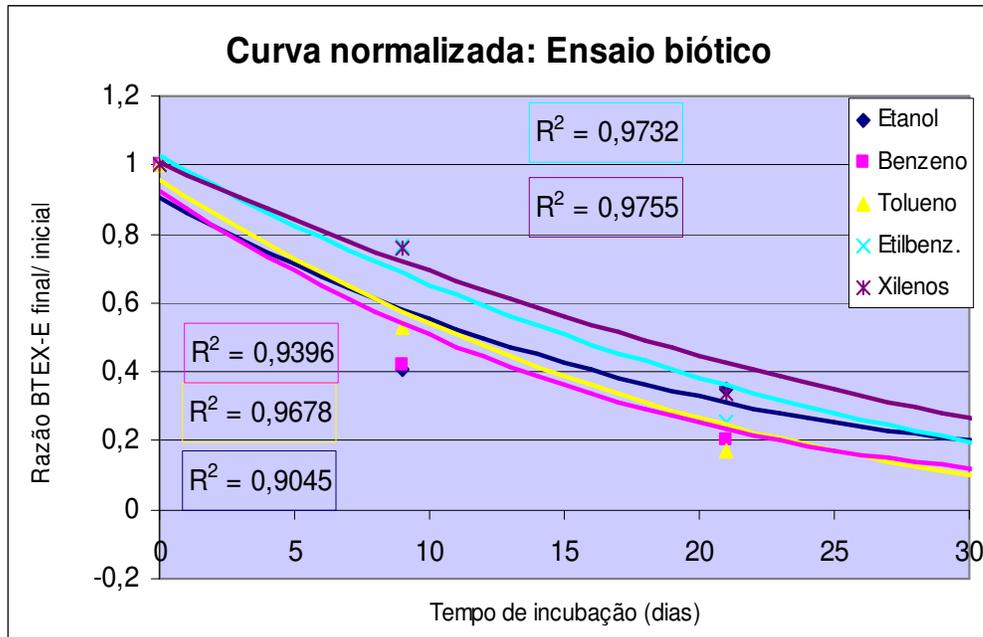


Figura 35 – Curva normalizada das concentrações de BTEX-E presentes na fase gasosa da extração das amostras de solo biótico em escala de tempo comparativa à do ensaio estéril.

As curvas normalizadas mostram que no ensaio biótico todos os compostos caem de maneira igual em relação ao teor inicial, enquanto no ensaio estéril o decaimento é diferente, os compostos mais solúveis decaem bem menos, possivelmente por ficarem na água e não volatilizarem tanto. O etanol, por exemplo, não decai tanto, pois não havendo microbiota, não há assimilação do etanol, apenas sua volatilização.

Desta forma, foi constatado que o decaimento com ação microbiana é igual para todos. Já no estéril, como não há microbiota, não acontece o mesmo. O etanol, por não ter afinidade com as partículas de solo, fica na água e se perde parcialmente por volatilização, como também deve ser o caso para os BTEX, sendo que estes podem também ter sido adsorvidos nas partículas do solo. Como visto em Zheng *et al.* (2002), quanto maior o tempo de contato dos compostos com o solo, maior a concentração adsorvida, tornando-se mais indisponíveis com o passar do tempo.

No trabalho de Zheng *et al.* (2002), a perda do tolueno durante o ensaio estéril foi justificada somente pela sua adsorção ao solo. Neste trabalho, além da

possível adsorção ao solo, a volatilização dos compostos também foi considerada. Esta diferença pode estar associada ao fato de que em Zheng *et al.* (2002) o ensaio foi desenvolvido sob a temperatura de 8 a 10°C, já no presente trabalho o mesmo foi desenvolvido sob a temperatura de 25 a 30°C e, inclusive, com a presença de etanol, o que, segundo Österreicher *et al.* (2007), é capaz de aumentar a pressão de vapor dos BTEX em até 7%.

Considerando tais processos abióticos e tendo visto que o processo de biodegradação encontra-se inativo, a justificativa da atenuação dos compostos ficou restrita aos mecanismos físico-químicos.

5.2.4 Integração dos resultados do ensaio estéril

Através do ensaio estéril, ou seja, com a atividade microbiana praticamente nula no solo, verificou-se que a mobilização do ferro provém do metabolismo dos microrganismos, visto que se manteve estável em solo estéril. As concentrações de BTEX-E avaliadas na fase gasosa extraída das amostras diminuem, embora de forma e em velocidade diferentes das originadas do solo com microbiota ativa. O etanol, em solo estéril, passa a ter outro comportamento em relação à concentração inicial do que os BTEX. A queda dos contaminantes, quando ocorre sem coincidir com o aumento da atividade degradadora microbiana e sem o aumento da concentração de Fe^{+2} , não indica biodegradação (Lovely *et al.*, 1991; Zheng *et al.*, 2002).

O conjunto de resultados indica a ausência da biodegradação no ensaio estéril e ocorrência exclusiva de volatilização e processos abióticos, porém em níveis variados entre os compostos, mostrando o papel da microbiota.