



**Rhaissa de Souza Rodrigues**

**Biodegradação de Mistura Gasolina Etanol  
em Solo Residual Não Saturado**

**Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia Civil da PUC-Rio.

Orientador: Eurípedes do Amaral Vargas Júnior  
Co-Orientadora: Patricia Österreicher-Cunha

Rio de Janeiro  
Dezembro de 2014



**Rhaissa de Souza Rodrigues**

**Biodegradação de Mistura Gasolina Etanol  
em Solo Residual Não Saturado**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

**Prof. Eurípedes do Amaral Vargas Júnior**

Orientador

Departamento de Engenharia Civil - PUC-Rio

**Dr<sup>a</sup>. Patricia Österreicher-Cunha**

Co-Orientadora

Departamento de Engenharia Civil - PUC-Rio

**Prof<sup>a</sup>. Raquel Quadros Velloso**

Departamento de Engenharia Civil - PUC-Rio

**Prof. Jean Remy Davée Guimarães**

Universidade Federal do Rio de Janeiro

**Prof. José Eugenio Leal**

Coordenador Setorial do Centro

Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 17 de dezembro de 2014.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora ou do orientador.

## **Rhaissa de Souza Rodrigues**

Graduou-se em Engenharia de Recursos Hídricos e do Meio Ambiente pela Universidade Federal Fluminense - UFF em 2012. As principais áreas de interesse e linhas de pesquisa são: Geotecnia Experimental e Geotecnia Ambiental.

Ficha catalográfica

Rodrigues, Rhaissa de Souza

Biodegradação de mistura gasolina etanol em solo residual não saturado / Rhaissa de Souza Rodrigues ; orientador: Eurípedes do Amaral Vargas Jr. ; co - orientadora: Patricia Österreicher-Cunha – 2014.  
93 f. : il. (color.) ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Civil, 2014.

Inclui bibliografia

1. Engenharia civil – Teses. 2. Microbiota do solo. 3. Atividade microbiana. 4. TDR. I. Vargas Jr., Eurípedes do Amaral. II. Österreicher-Cunha, Patricia. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Engenharia Civil. IV. Título.

CDD: 624

À minha mãe e pai Luiza Helena,  
Aos meus pais Franduyá e Mendes,  
Às minhas irmãs Fernanda, Mylena, Letícia e Giovanna,  
Ao meu afilhado Cauã César,  
Às minhas avós, Generosa e Nedis.

## Agradecimentos

Ao Professor e orientador Eurípedes Vargas Jr. pelos conhecimentos compartilhados ao longo do curso de mestrado que me motivaram à pesquisa.

À guia científica Patricia Österreicher, pelos vastos ensinamentos, apoio técnico e orientação metodológica, que tanto acrescentaram à minha formação acadêmica, despertando-me ainda mais o interesse pelo assunto abordado neste estudo.

Ao Curso de Pós Graduação em Engenharia Civil (Geotecnia) e toda sua equipe de profissionais, que sempre estiveram à disposição para nos auxiliar ao longo destes dois anos.

Aos técnicos laboratoriais Amaury Cardoso Fraga, Alexandro Alves Lippi, Josué Pereira Martins e Rogério Ross Fonseca Daniel pelo apoio no campo e no laboratório.

Ao Laboratório de Química, sua coordenadora Professora Maria Isabel Pais da Silva e técnico Felipe Falcão pelo apoio técnico.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo apoio financeiro.

À minha família e namorado Juan Simón, pela compreensão e incentivo, e por sempre terem acreditado nos meus passos.

Aos amigos e colegas de mestrado, pelo companheirismo e marcantes lembranças: Sandra Trindade, Amanda Chrispim, Giobana García, Nathalia Louzada, Ivânia Silva, Lucianna Szeliga, Juan Manuel Girão e Orlando Rojas.

À biblioteca e seus funcionários.

## Resumo

Rodrigues, Rhaisa de Souza.; Vargas Júnior, Eurípedes do Amaral (Orientador); Österreicher-Cunha, Patricia (Co-Orientadora). **Biodegradação de Mistura Gasolina Etanol em Solo Residual Não Saturado.** Rio de Janeiro, 2014, 93p. Dissertação de mestrado - Departamento de Engenharia Civil, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A contaminação de solos por hidrocarbonetos é uma real preocupação ambiental em muitas partes do mundo devido a crescente dependência econômica dos derivados do petróleo, principalmente os combustíveis fósseis que estão frequentemente sujeitos a vazamentos e derramamentos acidentais. Estudos capazes de entender os mecanismos de biodegradação dos componentes da gasolina no solo não saturado se fazem necessários, pois auxiliam no processo de tomada de decisões em relação ao gerenciamento e controle da propagação em subsuperfície. No Brasil, o etanol é utilizado como aditivo oxigenado à gasolina e alguns autores sugerem para solo saturado que, por ser mais degradável, ele atrasa a degradação dos outros componentes mais tóxicos desse combustível. O trabalho anterior realizado por esse grupo de pesquisa para solo não saturado obteve conclusões semelhantes às já constatadas para solo saturado. No entanto, os mecanismos de degradação na zona não saturada ainda foram pouco estudados e compreendidos. Este estudo tem como objetivo analisar a degradação do contaminante em blocos não saturados indeformados de solo arenoso e siltoso, oriundos do município de Duque de Caxias – RJ, submetidos a um pulso de contaminante. Dois blocos, um arenoso (BA) e outro argiloso (BS), foram contaminados pela solução de 2% de Benzeno, 4% de Tolueno em Heptano (BT); outros dois blocos, também um arenoso (EA) e outro argiloso (ES), foram submetidos à mesma solução adicionados etanol a 20% (BTE). Foram realizados ensaios com a finalidade de monitorar a atividade degradadora total do meio, carbono disponível, perfil metabólico da microbiota, concentração dos contaminantes, além de medições da umidade volumétrica através do uso do Time Domain Reflectometer (TDR). A atividade microbiana inicial, antes da contaminação, apresentou valores baixos. Logo após a contaminação dos blocos,

àqueles sujeitos a etanol apresentaram ausência de atividade enquanto os sujeitos apenas à mistura BT mostraram um aumento, contrariando as expectativas. As atividades microbianas oscilaram ao longo de todo o experimento o que pode indicar uma adaptação da microbiota às novas condições do meio. Com base nos resultados dos ensaios e monitoramentos realizados, podemos sugerir que o principal fator determinante para alteração da atividade foi à composição do solo. O contaminante não exerceu a influência esperada e vista nos estudos anteriores.

## **Palavras-chave**

Microbiota do solo; atividade microbiana; TDR.

## Abstract

Rodrigues, Rhaisa de Souza.; Vargas Júnior, Eurípedes do Amaral (Advisor); Österreicher-Cunha, Patricia (Co-Advisor). **Biodegradation of Gasoline-Ethanol Blends in Unsaturated Residual Soil**. Rio de Janeiro, 2014, 93p. Dissertation – Departamento de Engenharia Civil, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The soil contamination by hydrocarbons is a real environmental concern in many parts of the world due to growing economic dependence on petroleum, mostly fossil fuels are often subject to leaks and accidental spills. Studies able to understand the mechanisms of biodegradation of gasoline components in unsaturated soil are necessary because they help in making decisions regarding the management and control of the propagation process in the subsurface. In Brazil, ethanol is used as an oxygenate gasoline additive and some authors suggest that for saturated soils, being more degradable, it delays the degradation of other more toxic components of this fuel. The previous study by this research group to unsaturated soil obtained similar results to those already observed for saturated soil. However, the mechanism of degradation in the unsaturated zone have few studies. This study aims to analyze the degradation mechanisms of the contaminant in unsaturated blocks of sand and silt soil from the city of Duque de Caxias - RJ, subjected to a pulse of contaminant. Two blocks, one sandy (BA) and silty (BS), were contaminated by 2% solution of benzene, 4% toluene in heptane (BT); other two blocks, also sandy (EA) and silty (ES), underwent the same solution added to 20% ethanol (BTE). Analyzes were performed to monitor the overall activity of the degrading medium, available carbon, the microbiota metabolic profile, concentration of the contaminants were performed as well as measurements of the water content through the use of Time Domain Reflectometer (TDR). The initial microbial activity before the contamination, showed low values. Soon after contamination of the blocks, those subjected to ethanol showed no activity while subject to BT mixture showed an increase, contrary to expectations. Microbial activities ranged throughout the experiment which may indicate an adaptation of microbes to new environmental conditions.



Based on the results of testing and monitoring conducted, we suggest that the main determinant for changing the activity factor was the composition of the soil. The contaminant did not exert the expected influence and seen in previous studies.

## **Keywords**

Soil microbes; microbial activity; TDR.

# Sumário

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 Introdução</b>   | <b>18</b> |
| <b>2 Revisão bibliográfica</b>                                    | <b>20</b> |
| 2.1. Solos Residuais  | 20        |
| 2.2. Solos Não Saturados  | 21        |
| 2.3. Contaminação do Solo   | 22        |
| 2.3.1. Hidrocarbonetos  | 23        |
| 2.3.1.1. BTEX   | 24        |
| 2.3.2. Álcoois  | 25        |
| 2.3.3. Fluxo de Contaminante na Zona Não Saturada                 | 25        |
| 2.3.3.1. Saturação  | 26        |
| 2.3.3.2. Tensão Interfacial, Ângulo de Contato e Molhabilidade    | 26        |
| 2.3.3.3. Pressão Capilar  | 28        |
| 2.3.3.4. Drenagem e Embebição                                     | 28        |
| 2.3.3.5. Modelo de Poro Duplo                                     | 30        |
| 2.3.3.6. Permeabilidade Relativa                                  | 31        |
| 2.3.3.7. Migração de Light Nonaqueous Phase Liquids (LNAPLs)      | 32        |
| 2.3.3.8. Volatilização de Light Nonaqueous Phase Liquids (LNAPLs) | 34        |
| 2.3.3.9. Efeito de Co-Solvência                                   | 35        |
| 2.3.4. Remediação de Solos Contaminados                           | 35        |
| 2.3.4.1. Biodegradação de Hidrocarbonetos Aromáticos              | 37        |
| 2.3.4.2. Efeito do Etanol na Biodegradação de Hidrocarbonetos     | 37        |
| 2.3.4.3. Fatores que Afetam a Biodegradação                       | 39        |
| 2.4. Estudos Anteriores   | 44        |
| <b>3 Materiais e Métodos</b>                                      | <b>49</b> |
| 3.1. Projeto Experimental   | 49        |
| 3.2. Caracterização dos Solos                                     | 50        |
| 3.2.1. Caracterização Física                                      | 51        |
| 3.2.2. Caracterização Microbiológica                              | 53        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.2.2.1. Atividade Degradadora Total                   | 53        |
| 3.2.2.2. Carbono Disponível                            | 57        |
| 3.2.2.3. Perfil Metabólico                             | 58        |
| 3.3. Monitoramento                                     | 63        |
| 3.3.1. Reflectometria no Domínio do Tempo (TDR)        | 64        |
| 3.3.2. Microbiologia                                   | 66        |
| 3.3.2.1. Atividade Degradadora Total                   | 66        |
| 3.3.2.2. Carbono Disponível                            | 66        |
| 3.3.2.3. Perfil Metabólico                             | 66        |
| 3.3.3. Concentração de Contaminantes                   | 66        |
| 3.3.3.1. Metodologia para extração do BTE              | 67        |
| 3.3.3.2. Análise de Benzeno, Tolueno e Etanol (BTE)    | 67        |
| 3.4. Abertura dos Blocos                               | 68        |
| <b>4 Apresentação e Discussão dos Resultados</b>       | <b>69</b> |
| 4.1.1. Reflectometria no Domínio do Tempo (TDR)        | 69        |
| 4.1.2. Atividade Degradadora Total                     | 74        |
| 4.1.3. Carbono Disponível                              | 78        |
| 4.1.4. Perfil Metabólico                               | 81        |
| 4.1.5. Concentração de Contaminantes                   | 83        |
| 4.1.6. Discussão Integrada dos Resultados Apresentados | 84        |
| <b>5 Conclusões e Sugestões</b>                        | <b>88</b> |
| <b>6 Referências Bibliográficas</b>                    | <b>90</b> |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1: Elemento de solo não saturado com fase contínua de ar (Fredlund & Rahardjo, 1993).  | 21 |
| Figura 2: Fórmulas estruturais de alguns compostos monoaromáticos do petróleo (Vieira, 2004).   | 24 |
| Figura 3: Tesões interfaciais e o ângulo entre as interfaces (Bear, 1972).  | 27 |
| Figura 4: Conceito de pressão capilar em um capilar (Chatzis & Dullien, 1983).  | 29 |
| Figura 5: Curvas de drenagem ou secamento e de molhamento ou embebição. (Domenico & Schwartz, 1998)   | 30 |
| Figura 6: Modelo de poro duplo em um processo de drenagem. $P_M$ - pressão do fluido molhante; $P_{NM}$ - pressão do fluido não molhante; $P_C$ - pressão capilar (Adaptado de Chatzis e Dullien, 1983).  | 31 |
| Figura 7: Curvas de permeabilidades relativas típicas. $S_{NW}$ - Saturação do fluido não molhante; $S_w$ - Saturação do fluido molhante (Demond & Roberts, 1987; <i>apud</i> , Domenico & Schwarts, 1998).   | 32 |
| Figura 8: Fases Distintas de LNAPL após um vazamento.   | 34 |
| Figura 9: Contaminação dos blocos indeformados utilizando anéis metálicos.  | 50 |
| Figura 10: Moldagem dos blocos em campo.  | 51 |
| Figura 11: Curva granulométrica do solo dos blocos EA, ES, BA e BS.   | 52 |
| Figura 12: a) Amostras de solo de cada um dos quatro blocos indeformados (EA, ES, BA e BS) e; b) pesagem das alíquotas para o ensaio.   | 54 |
| Figura 13: Tubos Falcon esterilizados contendo 15 mL de solução tampão fosfato utilizados para o ensaio de FDA.   | 54 |
| Figura 14: Processo de filtração no interior da capela de exaustão  | 55 |
| Figura 15: Curva padrão do espectrofotômetro.   | 56 |
| Figura 16: Esquema da disposição dos solos e das fontes na microplaca de cultura de células. (a) Disposição dos solos oriundos dos blocos EA, ES, BA e BS. (b) Disposição das fontes de carbono, sendo a última coluna pontilhada preenchida por água destilada estéril (controle). | 60 |
| Figura 17: Esquema de disposição dos solos na placa de diluição estéril, com poços de 2 mL, antes dos solos serem pipetados para microplaca BDOS.   | 61 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 18: Níveis de atividades atingidos na estabilização para cada fonte de carbono em cada bloco de solo.   | 62 |
| Figura 19: Tempo transcorrido para que os níveis de atividades atingissem a estabilização para cada fonte de carbono em cada bloco de solo.                            | 62 |
| Figura 20: Uso do TDR antes da amostragem de solo.   | 64 |
| Figura 21: Curva de calibração do TDR para o solo siltoso.   | 65 |
| Figura 22: Curva de calibração do TDR para o solo arenoso.   | 66 |
| Figura 23: Sequência de amostragem seguindo o número sequencial das faces.   | 66 |
| Figura 24: Metodologia adotada para segmentação dos blocos de solo indeformados.   | 68 |
| Figura 25: Volume de chuva da região de Duque de Caxias no ano de 2013 (INMET – Instituto Nacional de Meteorologia).   | 70 |
| Figura 26: Variação da umidade ao longo do ensaio após a contaminação medida por TDR.  | 71 |
| Figura 27: Atividade microbiana dias antes da contaminação.  | 76 |
| Figura 28: Evolução da atividade microbiana do solo após a contaminação.   | 77 |
| Figura 29: Tendência da atividade microbiana ao longo do ensaio após a contaminação.   | 77 |
| Figura 30: Comparação entre os níveis de carbono disponível e a atividade microbiana.  | 79 |
| Figura 31: Correlação entre as variáveis: umidade, carbono disponível e atividade degradadora total entre blocos de mesmo tipo de feijão e mesmo tipo de contaminante. | 80 |
| Figura 32: Correlação entre variáveis medidas ao longo do monitoramento.   | 81 |
| Figura 33: Resultados dos níveis de ativação com estímulo de fontes de carbono ao longo do monitoramento   | 82 |
| Figura 34: Concentração (ppm) de benzeno, tolueno e etanol nos blocos EA e ES; Concentração (ppm) de benzeno e tolueno nos blocos BA e BS.                             | 83 |

## Lista de tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1: Caracterização geotécnica dos solos oriundos dos blocos EA, ES, BA e BS.   | 52 |
| Tabela 2: Atividade Microbiana dos diferentes blocos quatro dias após a retirada do campo experimental de Duque de Caxias.                   | 57 |
| Tabela 3: Carbono disponível dos diferentes blocos um dia antes da contaminação.   | 58 |
| Tabela 4: Fontes de carbono de interesse utilizadas para traçar o perfil metabólico da microbiota dos solos estudados.                       | 59 |
| Tabela 5: Análises realizadas no período de monitoramento.   | 63 |
| Tabela 6: Cálculo da umidade volumétrica a partir da constante dielétrica obtida pelo TDR no topo do bloco antes e logo após a contaminação. | 71 |
| Tabela 7: Análise de variância entre as umidades antes e logo após a contaminação (ANOVA).   | 71 |
| Tabela 8: Medições realizadas pelo TDR no topo do bloco antes e logo após a contaminação.  | 72 |
| Tabela 9: Análise de variância de Ka antes e logo após a contaminação (ANOVA).   | 72 |
| Tabela 10: Medições das atividades degradadoras totais imediatamente antes e depois da contaminação.   | 73 |
| Tabela 11: Análise de variância de atividade degradadora total antes e após a contaminação (ANOVA).  | 73 |
| Tabela 12: Marcações de tempo e os dias correspondentes após a contaminação  | 78 |

## Lista de símbolos e abreviações

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

BT – benzeno e tolueno

BTE – benzeno, tolueno e etanol

BTEX – benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos.

C - carbono

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CFU- colônia formando unidades

DNAPL - dense non-aqueous phase liquid

FDA – hidrólise de diacetato de fluoresceína

GPR - ground penetrating radar

HPA- hidrocarboneto policíclico aromático

INMET- Instituto Nacional de Meteorologia

IP - índice de plasticidade

Ka- constante dielétrica do solo

LL -limite de liquidez

LNAPL - light nonaqueous phase liquids

LP – limite de plasticidade

MO – matéria orgânica

MTBE- éter metil terciário butílico

NBR - norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas

PAH - polycyclic aromatic hydrocarbons

SUCS - Sistema Unificado de Classificação de Solos

TDR - reflectometria no domínio do tempo

% - porcentagem

Gs - peso específico dos grãos

$\sigma_{SG}$  – energia interfacial entre o gás/sólido (dinas/cm);

$\sigma_{SL}$  – energia interfacial entre a água/sólido (dinas/cm);

$\sigma_{GL}$  – energia interfacial entre o gás/líquido (dinas/cm);

$\theta$  – ângulo de contato na interface gás/líquido.

$P_c$  – pressão capilar;

$P_{nw}$  – pressão do fluido não molhante;

$P_w$  – pressão do fluido molhante.

$P_o$  – pressão do óleo;

$P_w$  – pressão da água;

$\sigma_{ow}$  – tensão interfacial óleo-água;

$\theta$  – ângulo de contato;

$r$  – raio do tubo.

$S$  - saturação;

$V_f$  - volume de fluido nos poros;

$V_t$  - volume total de poros.

$w$  - umidade



*“Que ninguém se engane, só se consegue a simplicidade através de muito trabalho.”*  
*Clarice Lispector*