

## 2 Revisão bibliográfica

### 2.1.Solos Residuais

O processo geológico formador do solo consiste basicamente no intemperismo, por desagregação e decomposição *in situ* da rocha subjacente, dando origem aos solos denominados residuais. Os solos residuais são aqueles que são formados a partir do intemperismo, seja ele químico, físico, ou a combinação de ambos, e que permanecem no mesmo local onde foram formados sem sofrer qualquer tipo de transporte (Oliveira & Brito, 1998).

A natureza destes solos, ou seja, sua composição mineralógica e granulométrica, estrutura e espessura, dependem de quatro fatores principais: clima, relevo, tempo geológico e rocha de origem. Assim, em regiões de clima tropical, como na maior parte do Brasil, o solo residual é formado pela decomposição das rochas com o predomínio do intemperismo químico (temperatura e precipitação) (Oliveira & Brito, 1998).

Os solos residuais se caracterizam, inicialmente, pela sua heterogeneidade, que reproduz a heterogeneidade da rocha subjacente. Esta peculiaridade, em certos casos, torna difícil a determinação de suas características por meio de ensaios de laboratório, pois corpos de prova moldados de uma única amostra podem apresentar características bem distintas. Analisando-se grandes massas destes solos, entretanto, pode-se observar que a probabilidade de se encontrarem porções semelhantes a pequenas ou grandes distâncias é praticamente igual. Outra característica marcante de solos residuais é sua anisotropia, resultante também da rocha subjacente (Pinto, 2006).

Solos residuais apresentam características geotécnicas, geológicas e microbiológicas específicas, muito diferentes de solos sedimentares usualmente encontrados no hemisfério norte, cujas características diferenciadas podem ser de grande importância quando a questão é atividade de biodegradação (Österreicher-Cunha et al., 2007).

## 2.2.Solos Não Saturados

O solo, onde se inicia a penetração da água através da infiltração, pode ser compartimentado em duas zonas, de acordo com o seu teor de umidade. O primeiro compartimento, imediatamente abaixo da superfície do terreno, corresponde à zona de aeração, assim denominado pelo fato de que uma parte dos espaços intergranulares está preenchida com água e a outra parte, com o ar. Esta zona não saturada é também conhecida como zona vadosa (Oliveira & Brito, 1998).

Sendo assim, pode-se considerar o solo não saturado como um sistema trifásico, constituído por uma fase sólida (partículas minerais), por uma fase líquida (a água) e por outra fase gasosa (ar). Em 1977, Fredlund & Morgenstern propuseram a introdução de uma quarta fase independente, referente à interface ar-água, conhecida como “membrana contráctil”. O elemento de solo não saturado com fase contínua de ar é idealizado na Figura 1 (Fredlund & Rahardjo, 1993).

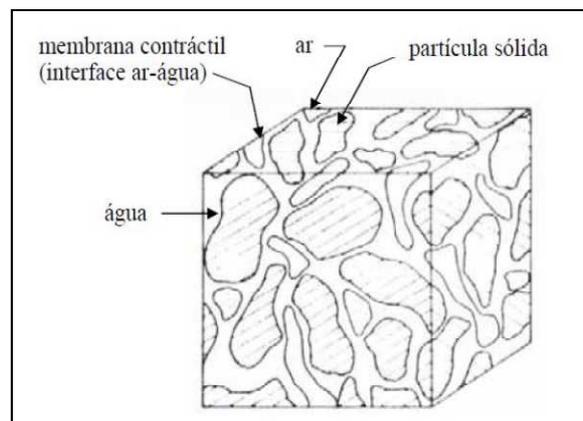


Figura 1: Elemento de solo não saturado com fase contínua de ar (Fredlund & Rahardjo, 1993).

Nos solos não saturados, os volumes ocupados pelo ar e pela água podem se encontrar num dos seguintes arranjos em função da proporção de água (Pinto, 2006):

- Bolhas de ar totalmente envolvidas pela água e pelas partículas sólidas. São bolhas oclusas, não se comunicam.
- O ar todo intercomunicado, assim como a água, formando canais que se entrelaçam no espaço; e
- O ar todo interconectado e a água se concentrando nos contatos entre partículas, além de molhá-las por delgada camada de água adsorvida.

Pela perspectiva geoquímica, a zona não saturada é importante devido aos gases que são livremente trocados com a água que, em última análise recarrega o aquífero. Já os processos microbiológicos na zona não saturada são importantes por diversas razões. A primeira delas é que processos bacterianos como o consumo de oxigênio, produção de dióxido de carbono, nitrificação e desnitrificação irão diretamente impactar a química da água que se infiltra. Em segundo lugar, os compostos antrópicos, como hidrocarbonetos de petróleo, herbicidas, pesticidas e uma série de outros compostos, irão passar pela zona não saturada impactando a qualidade da água subterrânea. Estando esses compostos biologicamente ativos eles deverão ser afetados, quanto ao seu destino e transporte, por processos realizados pelas bactérias (Chapelle, 1993).

Grande parte dos estudos é direcionada a zona saturada, onde o oxigênio é restrito para uma degradação de BTEX, e onde a água está presente em significativas quantidades. Além disso, as abordagens experimentais quase não utilizam solo inerte ou solo arenoso, deixando dúvidas importantes sobre o efeito dos componentes do solo e da microbiota na migração dos componentes da gasolina pura e misturada a etanol (Österreiche-Cunha et al., 2009).

### **2.3. Contaminação do Solo**

A contaminação do solo é causada pela introdução de quaisquer substâncias ou resíduos que nele tenham sido depositados, acumulados, armazenados, enterrados ou infiltrados de forma planejada, acidental ou até mesmo natural. Os poluentes ou contaminantes podem concentrar-se em subsuperfície nos diferentes compartimentos do ambiente, por exemplo, no solo, nos sedimentos, nas rochas, nos materiais utilizados para aterrar os terrenos, nas águas subterrâneas ou, de uma forma geral, nas zonas não saturada e saturada. Os poluentes ou contaminantes podem ser transportados a partir desses meios, propagando-se por diferentes vias, como, por exemplo, o ar, o próprio solo, as águas subterrâneas e superficiais, alterando suas características naturais ou qualidades e determinando impactos negativos e/ou riscos sobre os bens a proteger, localizados na própria área ou em seus arredores (CETESB, 1999).

Nos itens subsequentes trataremos de aprofundar os conceitos que envolvem os contaminantes estudados nesta dissertação, assim como seus mecanismos de transporte e biodegradação.

### **2.3.1. Hidrocarbonetos**

Hidrocarbonetos são compostos orgânicos, derivados do petróleo, constituídos por átomos de carbono e hidrogênio. De modo geral são divididos em alifáticos e aromáticos diferindo-se pelo padrão de ligações carbônicas.

Os hidrocarbonetos aromáticos diferenciam-se dos alifáticos por apresentarem um ou mais anéis de benzeno como componentes estruturais. O padrão de ligação entre as estruturas aromáticas contribuem para a polaridade que apresentam, ocorrendo o oposto com os compostos alifáticos que são apolares ou muito pouco polares. A polaridade das estruturas dos hidrocarbonetos explica como as moléculas desses compostos interagem entre si e com a água: com o incremento da polaridade, a solubilidade na água e o ponto de ebulição também se elevam. Os hidrocarbonetos de cadeia benzênica estão presentes em praticamente todos os tipos de petróleo, embora em pequenas quantidades na maioria deles, apresentando maior toxicidade, biodegradação lenta e estão associados a efeitos crônicos e carcinogênicos.

Os hidrocarbonetos aromáticos são representados pelos monoaromáticos, como os compostos do grupo BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos), e os poliaromáticos (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – HPA), formados pela fusão de dois ou mais anéis de benzeno. Como exemplo citam-se os compostos policíclicos antraceno, pireno e fenantreno, entre outros.

Devido à presença de propriedades carcinogênicas e/ou mutagênicas para homens e animais já citadas e, em especial, a alta solubilidade dos compostos do grupo BTEX sendo, portanto, os contaminantes que primeiro atingirão o lençol freático, a classe dos aromáticos é a que possui maior importância em estudos ambientais que envolvem hidrocarbonetos derivados do petróleo. A gasolina, por exemplo, é comumente representada em avaliações ambientais pelos hidrocarbonetos aromáticos BTEX, que representam em torno de 20% em massa e são característicos da faixa C6 a C8 (número de carbonos equivalentes).

Outra classificação que também é relevante para estudos ambientais que envolvam esses compostos é a sua persistência no meio ambiente. Trata-se de um fator baseado no tempo em que um produto permanece em determinado meio. A persistência também é definida como a quantidade do produto original que permanece no solo, sedimento, e coluna d'água após um derrame.

Dentre os hidrocarbonetos de petróleo, são classificados como não persistentes os produtos refinados de petróleo, cuja composição apresenta maior percentual de componentes de peso leve, que tendem a evaporar-se e dissipar-se de forma rápida e natural e que raramente requerem uma remediação.

São considerados persistentes aqueles petróleos e produtos refinados, constituídos por uma mistura de componentes de peso leve e intermediário e componentes pesados que tendem a se dissipar mais vagarosamente (CETESB, 2004). Uma vez expostos ao meio ambiente, a composição dos produtos vai sofrendo modificações à medida que os componentes vão sendo evaporados ou intemperizados.

### 2.3.1.1. BTEX

Os BTEXs (Figura 2) relativamente estáveis possuem baixo peso molecular e, embora sejam pouco solúveis em água, dentre os constituintes da gasolina, são os mais difíceis de serem degradados e estão entre os que mais facilmente se solubilizam em água, o que lhes confere uma alta mobilidade, um intenso efeito tóxico agudo e consequente biodisponibilidade (Costa et al., 2006; Silva, 2002).

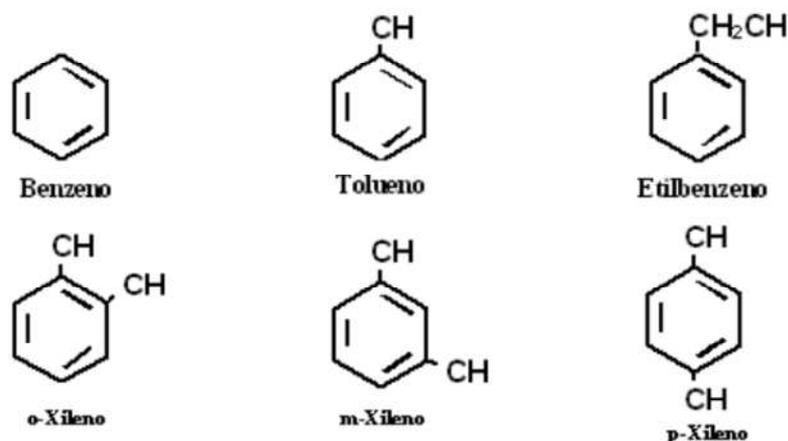


Figura 2: Fórmulas estruturais de alguns compostos monoaromáticos do petróleo (Vieira, 2004).

Em um caso de vazamento de gasolina em solo, a percolação dos BTEX pode ser retardada por volatilização e sorção nos grãos de solo, principalmente se este for rico em matéria orgânica. Entretanto, quando o vazamento atinge uma área vadosa, os compostos entram em contato com a água subterrânea e se dissolvem nela, o que facilita a permeabilidade. Em presença de etanol a quantidade dissolvida ainda é maior, devido ao seu efeito de co-solvência. Uma vez dissolvidos, os BTEX serão transportados pelo movimento da água subterrânea. A mobilização também pode ser retardada pela sorção nos grãos de solo, porém o principal mecanismo que limita o transporte dos BTEX é a biodegradação, e em menor extensão a volatilização.

Para assegurar que a pluma de contaminação diminua mais do que expanda é fundamental que a biodegradação se processe mais rápido que a velocidade de migração da pluma. Esta razão irá depender do tipo e da concentração do contaminante, das populações microbianas locais e condições hidrogeoquímicas de subsuperfície (Silva, 2002).

### **2.3.2. Álcoois**

Um álcool possui um ou mais grupos hidroxil (-OH). Álcoois são nomeados pela longa cadeia de hidrocarbonetos que incluem o átomo de carbono no qual a hidroxila é anexada. São compostos miscíveis em água e possuem significativo potencial de mobilidade em água. No entanto, muitos deles são rapidamente biodegradados.

O etanol, álcool de interesse nesse estudo, é uma substância orgânica obtida da fermentação de açúcares, hidratação do etileno ou redução a acetaldeído. No Brasil, tal substância é também muito utilizada como combustível de motores de explosão, constituindo uma vertente para produção de combustível obtido de maneira renovável e o estabelecimento de uma indústria de química de base, sustentada na utilização de biomassa de origem agrícola e renovável.

### **2.3.3. Fluxo de Contaminante na Zona Não Saturada**

O fluxo pela zona não saturada é um tópico que a maioria dos textos de hidrologia tende a abordar de maneira superficial. Historicamente, os estudos na zona não saturada se concentravam no fluxo de água e solutos para as raízes das

plantas. Mais recentemente o estudo do fluxo de contaminantes na zona não saturada vem sendo realizado de forma mais intensa devido ao aumento da importância do tema em questão.

Este estudo aborda a questão da contaminação de solo por benzeno, tolueno e etanol. Os dois primeiros compostos são ditos, como visto nos tópicos anteriores, como líquidos com baixa solubilidade em água, portanto considerados imiscíveis. A seguir são apresentados alguns conceitos básicos para compreensão dos principais fatores que controlam o fluxo dos líquidos imiscíveis com a água.

### **2.3.3.1.Saturação**

A saturação é definida como o volume de fluido armazenado nos poros, em relação ao volume total dos poros. Matematicamente, pode ser expressa pela equação:

$$S = \frac{V_f}{V_t}$$

Onde:

S - saturação;

$V_f$  - volume de fluido nos poros;

$V_t$  - volume total de poros.

Em um sistema de multicomponentes, a soma de todas as saturações é igual a 1.

### **2.3.3.2.Tensão Interfacial, Ângulo de Contato e Molhabilidade**

Quando um fluido está em contato com outras substâncias (líquida ou sólida), há uma energia interfacial livre entre eles, devido à diferença entre a atração interna dessas moléculas no interior de cada fase. Esta tensão interfacial é definida como a soma do trabalho necessária para separar uma unidade de área de uma substância da outra e é expressa como força por unidade de comprimento.

A tensão interfacial entre dois fluidos, por exemplo, a água (L) e o gás (G), e a uma superfície sólida (S) gera um ângulo da interface entre esses dois fluidos que é medido no fluido mais denso como pode ser visto na Figura a seguir.

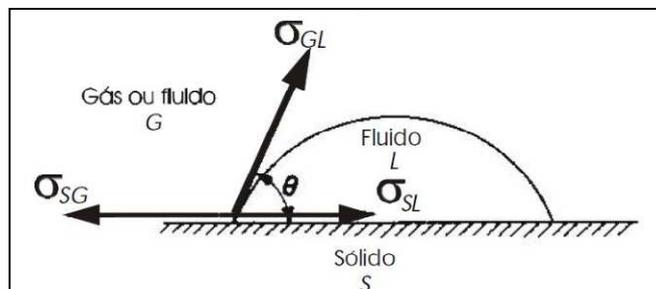


Figura 3: Tensões interfaciais e o ângulo entre as interfaces (Bear, 1972).

A Equação, conhecida como Equação de Young mostra a relação entre  $\theta$  e as tensões interfaciais para as três interfaces: gás/sólido, líquido/sólido e gás/líquido.

$$\cos\theta = \frac{\sigma_{SG} - \sigma_{SL}}{\sigma_{GL}}$$

Onde:

$\sigma_{SG}$  – 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.

A molhabilidade de um fluido é a sua tendência em se espalhar ou aderir a uma superfície sólida na presença de outros fluidos imiscíveis. Quando o ângulo de contato entre os fluido é menor que  $90^\circ$ , o fluido é considerado fluido molhante, já quando maior ele é considerado fluido não molhante. Ângulos de contato próximos a  $90^\circ$  são característicos de sistemas de “molhabilidade intermediária”. O ângulo de contato influencia a distribuição do fluido nos poros, os processos de deslocamento e as permeabilidades relativas de óleo-água. A água é sempre o fluido molhante na presença de óleo ou do ar, já o óleo é o fluido molhante na presença de ar, mas fluido não molhante na presença de água.

### 2.3.3.3.Pressão Capilar

A pressão capilar é a diferença de pressão existente entre dois fluidos imiscíveis quando em contato. Considerando que esse contato ocorra em um tubo de pequeno diâmetro, uma superfície curva se desenvolve na interface dos fluidos, e se a pressão do poro próximo à interface dos fluidos for medida, verifica-se que as pressões não são iguais. A diferença de pressão através dessa interface é chamada de pressão capilar, e é definida pela Equação a seguir.

$$P_c = P_{nw} - P_w$$

Onde:

$P_c$  – pressão capilar;

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

$P_w$  – pressão do fluido molhante.

A pressão capilar em um capilar com água e óleo é dada pela Equação.

$$P_o - P_w = \frac{2 \sigma_{ow} \cos \theta}{r}$$

Onde:

$P_o$  – pressão do óleo;

$P_w$  – pressão da água;

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

$\theta$  – ângulo de contato;

$r$  – raio do tubo.

### 2.3.3.4.Drenagem e Embebição

Para que a água seja deslocada pelo óleo em um capilar molhado com água, a pressão do óleo deve ser tal que  $P_o \geq P_w + P_c$ . Quando a  $P_{nw} \geq P_w + P_c$  o deslocamento é dito como drenagem. A drenagem refere-se ao fluxo resultante de uma diminuição na saturação do fluido molhante. Quando a  $P_{nw} \leq P_w + P_c$ , o fluido molhante inibe e desloca o fluido molhante. O termo embebição refere-se ao fluxo resultante de um aumento na saturação do fluido molhante.

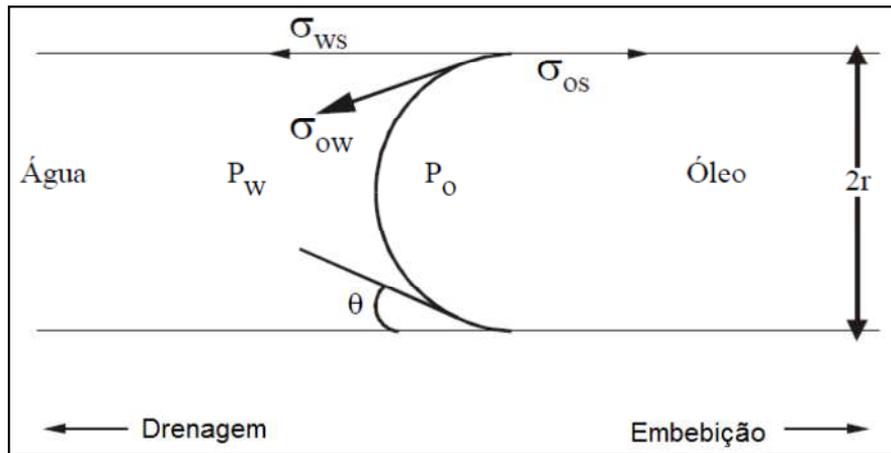


Figura 4: Conceito de pressão capilar em um capilar (Chatzis & Dullien, 1983).

A pressão capilar é função do grau de saturação do fluido molhante e não molhante. Em cada caso, o fluido que inicialmente vai saturando o meio poroso é lentamente deslocado pelo outro. As curvas formadas são frequentemente em forma de “L”. A curva de drenagem ou secamento inicia-se distante da saturação de 100% do fluido molhante, mas em algum valor finito da pressão capilar. Para o deslocamento alcançar o local, este valor deve ser excedido. Este valor limite é chamado de pressão de deslocamento ou pressão de entrada, que será requerida para um *dense non-aqueous phase liquid* (DNAPL) entrar em um aquífero com a água sendo o fluido molhante. Pode-se observar que a pressão capilar torna-se mais negativa quando a saturação do molhante diminui. Com essa sucção aumentada, o processo de deslocamento eventualmente para. O valor de saturação no qual ele para é conhecido como saturação irreduzível do fluido molhante e é designada  $S_{wr}$ , e neste ponto a pressão capilar tende ao infinito.

A curva de embebição ou molhamento (Figura 4) descreve a saturação inicial de um fluido não molhante que está lentamente sendo deslocado pelo fluido molhante. A curva não segue o mesmo caminho da curva de drenagem, devido à histerese, tendência de um material ou sistema de conservar suas propriedades na ausência de um estímulo que as gerou. Nesse deslocamento, a pressão capilar torna-se menos negativa quando a saturação do fluido molhante aumenta. Quando a pressão capilar é zero, um ponto da saturação residual do fluido não molhante é alcançado, designado como  $S_{nwr}$ . Neste ponto, não há deslocamento do fluido não molhante.

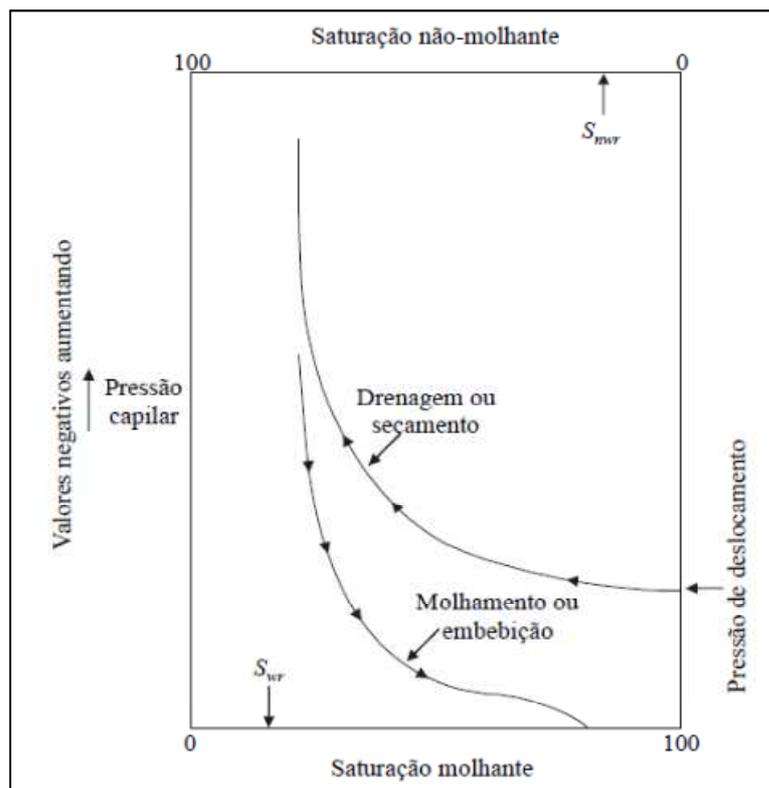


Figura 5: Curvas de drenagem ou secamento e de molhamento ou embebição. (Domenico & Schwartz, 1998)

### 2.3.3.5. Modelo de Poro Duplo

O modelo de poro duplo é um dos micromodelos mais utilizados para compreender os mecanismos de trapeamento em uma estrutura porosa. Essa estrutura compreende uma rede tridimensional de poros interconectados por uma espécie de gargantas de poros.

Em um derramamento de gasolina na zona não saturada, o contaminante se moverá descendentemente de acordo com a gravidade até alcançar a franja capilar. Nessa zona, a gasolina, que neste caso seria o fluido não molhante, deslocará a água dos poros (fluido molhante) em um processo de drenagem.

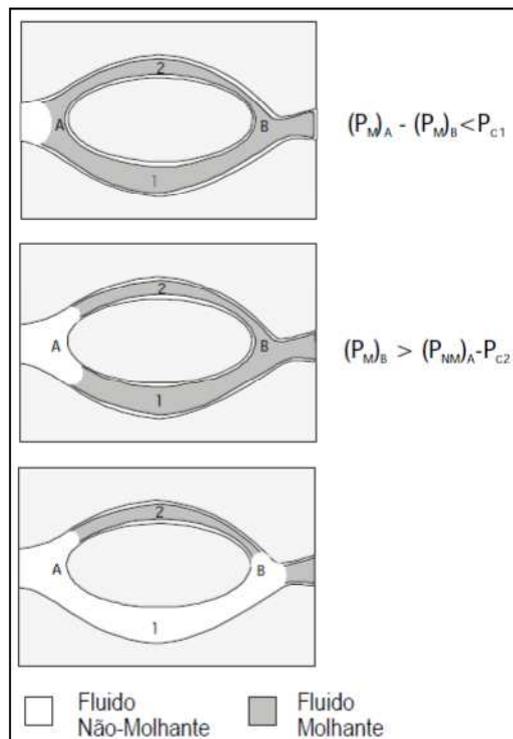


Figura 6: Modelo de poro duplo em um processo de drenagem.  $P_M$  - pressão do fluido molhante;  $P_{NM}$  - pressão do fluido não molhante;  $P_C$  - pressão capilar (Adaptado de Chatzis e Dullien, 1983).

Como pode ser visto na Figura 5 acima, o fluido não molhante seguirá o caminho do poro maior. O raio de curvatura da interface do fluido no ponto B na ramificação 1 começa a aumentar devido à geometria do poro no final da ramificação 1, mas como o raio na ramificação 2 é menor, a interface não se moverá nesse ponto. Sendo assim, o fluido molhante será trapeado totalmente pelo fluido não molhante na garganta do poro menor.

De acordo com Oliveira (1998), os resultados obtidos através dos micromodelos foram fundamentais para a decisão de aplicar etanol com o objetivo de deslocar os resíduos de gasolina em um experimento de campo.

### 2.3.3.6. Permeabilidade Relativa

A permeabilidade relativa é a razão entre a permeabilidade efetiva e absoluta. A absoluta independe dos fluidos presentes no solo, sendo uma propriedade apenas do meio poroso. A permeabilidade efetiva é uma medida realizada quando o meio poroso está saturado por pelo menos dois fluidos. Quando dois fluidos escoam juntos pelo meio, a facilidade com que cada um deles escoar é prejudicada pela presença do outro fluido. Dessa forma, permeabilidade

efetiva (sempre menor que a absoluta) varia de acordo com a saturação dos fluidos no meio poroso.

A curva de permeabilidade relativa é uma forma usual de mostrar a variação das permeabilidades relativas de acordo com as fases de saturação.

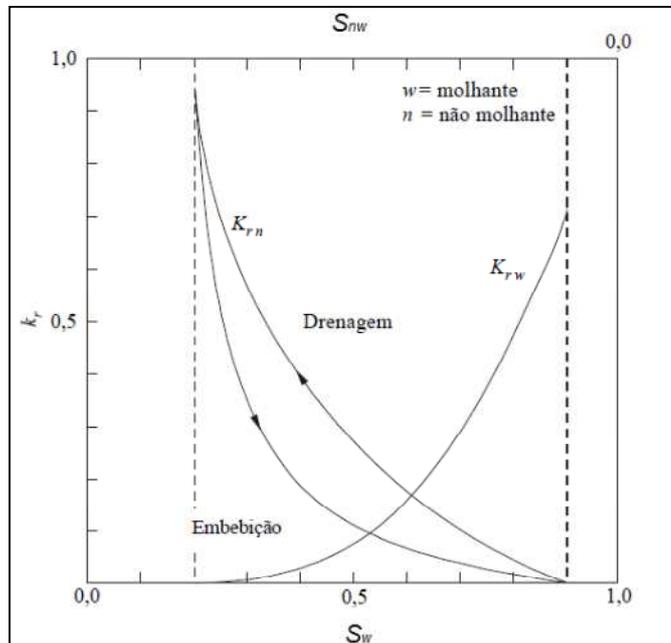


Figura 7: Curvas de permeabilidades relativas típicas.  $S_{NW}$  - Saturação do fluido não molhante;  $S_w$  - Saturação do fluido molhante (Demond & Roberts, 1987; *apud*, Domenico & Schwartz, 1998).

Como pode ser visto na Figura 7 acima, as permeabilidades relativas do molhante e do não molhante ocorrem em saturações superiores a zero e são chamadas de saturação irreduzível para o fluido molhante e saturação residual para o fluido não molhante. Um fluido nesse estado de saturação não é capaz de fluir, porque em baixos níveis de saturação o fluido não é conectado através da rede de poros.

Quando há contaminação por óleo na zona não saturada, a água é o fluido molhante, o ar não molhante e o óleo é, em relação à água, não molhante e, em relação ao ar, molhante. Neste caso, o óleo é preso como bolhas e anéis pendulares, trapeados entre água em pequenas partes dos poros.

### 2.3.3.7. Migração de Light Nonaqueous Phase Liquids (LNAPLs)

Os LNAPLs são os líquidos imiscíveis menos densos que a água. O benzeno e o tolueno, contaminantes de interesse neste estudo, pertencem a este

grupo. Quando são derramados na superfície do solo, eles migram verticalmente na zona não saturada sob a influência da gravidade e das forças de capilaridade, assim como acontece com a água. A menos que a zona não saturada esteja completamente seca, o LNAPL será o fluido não molhante e a água o molhante.

Quando volumes maiores desses compostos (LNAPLs) são liberados no solo, seu deslocamento descendente os coloca na zona de capilaridade próxima à zona saturada. Neste momento, os componentes mais solúveis do produto infiltrado são carregados mais rapidamente que os menos solúveis. No topo da zona de capilaridade, onde a água satura um grande volume de poros do solo, o produto acumulado causa uma redução na permeabilidade relativa do meio e fica impedido de mover-se para baixo. Em função de sua baixa densidade, o LNPL então tende a se espalhar e flutua sobre o topo da franja capilar, constituindo uma fase livre imiscível, passando a fluir na mesma direção do fluxo da água subterrânea.

A Figura 8 abaixo ilustra o comportamento de um vazamento de LNAPL típico, sendo que o contaminante pode estar na subsuperfície em cinco fases distintas: livre, residual, dissolvida, vapor e adsorvida (Oliveira, 1998). As fases de interesse para a zona não saturada são a residual e adsorvida.

A fase residual ocorre quando parte do produto que percola fica retido no meio poroso sob a forma de glóbulos ou grupo de glóbulos desconectados. Esta fase pode eventualmente ser remobilizada, retornando à fase livre.

A fase adsorvida é formada quando parte do produto fica adsorvido na matéria orgânica presente no solo. Em um solo seco ou com baixa umidade, a quantidade adsorvida está diretamente relacionada à área da superfície das partículas de solo e à quantidade de matéria orgânica.

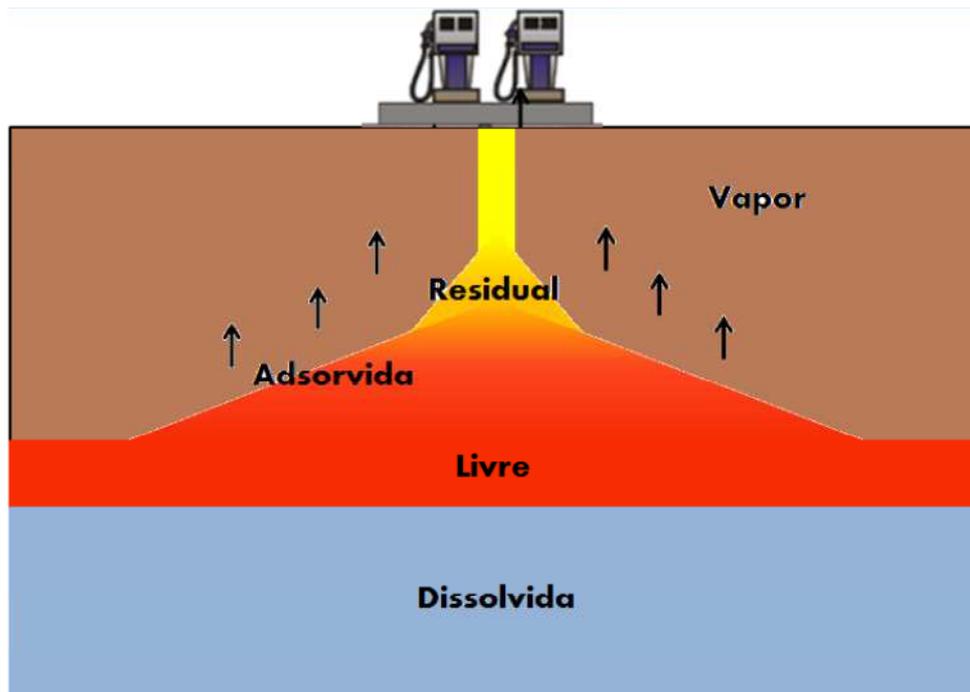


Figura 8: Fases Distintas de LNAPL após um vazamento.

Experimentos de laboratório realizados com solo inerte tem mostrado que, com a infiltração na zona não saturada da gasolina misturada à etanol, o etanol é retido na água residual do solo enquanto benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos seguem para a zona saturada, criando uma piscina de LNAPL na zona capilar na interface entre zona não saturada e saturada. O etanol carregado de água eventualmente drena lentamente para a zona capilar (Österreicher-Cunha et al., 2009).

### 2.3.3.8. Volatilização de Light Nonaqueous Phase Liquids (LNAPLs)

Volatilização é a transferência de uma substância química da fase líquida para a gasosa. É o principal processo de emissão de poluentes para a atmosfera. Compostos orgânicos podem volatilizar a partir de lixiviados e continuar movendo-se para a subsuperfície.

A taxa de volatilização depende da temperatura, pressão de vapor da substância e da diferença de concentração entre as fases líquida e a gasosa. Os contaminantes já volatilizados podem ir diretamente para a atmosfera ou percorrer um caminho tortuoso no subsolo, passando pelas interfaces solo-água-ar. A transferência do vapor entre essas interfaces depende da difusão através do meio

poroso e de variáveis como porosidade e composição do solo. A difusão pode ser definida como o movimento de um contaminante sob a influência do gradiente de concentração, onde existe a tendência de mover-se de áreas de maior concentração para áreas de menor concentração (LaGrega, Buckingham, & Evans, 1994).

No caso de solos contaminados, uma volatilização mais rápida é esperada nos solos que contenham etanol devido ao aumento da pressão de vapor causado pela adição deste à gasolina. A gasolina brasileira contém cerca de 20 a 26% de etanol misturado à gasolina e segundo estudo, para misturas que contenham cerca de 20 a 25% de etanol é observado um incremento da pressão de vapor em torno de 7% (Pumphrey et al., 2000).

#### **2.3.3.9.Efeito de Co-Solvência**

A solubilidade dos hidrocarbonetos monoaromáticos denominados BTEX encontrados na gasolina poderá ainda ser maior se a gasolina for misturada com solventes orgânicos oxigenados, tais como álcool e éteres, como é o caso da gasolina comercial brasileira, que é misturada com etanol, que é um co-solvente potencial (Corseuil e Alvarez, 1996).

A solubilidade efetiva de um composto orgânico presente na gasolina pode ser estimada a partir da solubilidade do composto puro e sua fração molar na gasolina. A solubilidade na gasolina aumenta se o composto orgânico contiver oxigênio, como o álcool e o éter. Quando a gasolina entra em contato com a água, o álcool existente neste combustível, completamente miscível em água, irá migrar para a água subterrânea (Corseuil e Fernandes, 1999). Portanto, uma alta concentração de etanol na água pode facilitar a transferência dos BTEX presentes na gasolina para a fase aquosa, aumentando a solubilidade dos hidrocarbonetos aromáticos na água subterrânea, num processo chamado de “efeito de co-solvência”.

#### **2.3.4.Remediação de Solos Contaminados**

Para a remediação de solos e águas subterrâneas impactadas com hidrocarbonetos de petróleo são utilizadas diversas tecnologias que podem ser classificadas em tecnologias ativas e passivas. Dentre as tecnologias ativas podem ser citadas a biorremediação acelerada *in situ*, aspersão de ar e bioventilação. A

atenuação natural monitorada é considerada uma estratégia de remediação passiva, isto é, sem a intervenção do homem (Corseuil et al, 1996). Esta tecnologia está baseada na degradação (redução de massa, concentração e mobilidade dos contaminantes na água subterrânea ao longo do tempo e distância do local de derramamento) devido a processos físico-químicos e biológicos naturais.

A atenuação natural monitorada ou biodegradação tem sido muito estudada e utilizada como uma estratégia de eliminação dos compostos orgânicos tóxicos do solo e aquíferos. Por serem os contaminantes compostos de origem natural, espera-se que sejam facilmente degradados pela microbiota nativa do solo e transformados em substâncias inertes, CO<sub>2</sub> e água (Jacques et al., 2007; Österreicher-Cunha et al., 2007). O processo de biodegradação pode ocorrer em presença de oxigênio (condições aeróbias) ou ausência de oxigênio (condições anaeróbias) e é capaz de reduzir a massa dos contaminantes através de processos enzimáticos da microbiota. Estes, por sua vez, promovem a oxidação dos compostos orgânicos (perdem ou doam elétrons), a redução dos receptores (ganham elétrons) que podem ser: oxigênio, nitrato, Fe(III) ou sulfato e o aparecimento de subprodutos metabólicos, como por exemplo o acetato, o Fe(II) e o metano (Jacques et al., 2007; Nunes & Corseuil, 2005).

Dentre as vantagens da atenuação natural monitorada, podem ser citadas a redução dos custos totais em relação às tecnologias de remediação ativa e a transformação dos contaminantes a compostos inofensivos à saúde humana. O seu uso não é aconselhado em locais onde ela resultaria na migração dos contaminantes até locais críticos (poços de abastecimento de água, rios, etc). É importante destacar a relevância do custo da remediação de áreas impactadas para países em desenvolvimento, onde as demandas sociais e de infraestrutura são muito altas e a questão ambiental é frequentemente deixada para segundo plano por ausência de alocação de recursos para este fim. Assim, a biodegradação deve ser avaliada como uma estratégia adequada, dentro de seus limites de aplicação, para recuperação de áreas impactadas com hidrocarbonetos de petróleo.

### **2.3.4.1. Biodegradação de Hidrocarbonetos Aromáticos**

A biodegradação é um tratamento biológico que consiste na degradação de compostos orgânicos pela ação de microrganismos. A biodegradação altera a estrutura molecular dos compostos orgânicos e o nível de degradação determina se haverá a biotransformação ou a mineralização. A biotransformação se refere à simplificação do composto orgânico inicial e a mineralização é a completa quebra das moléculas orgânicas em massa celular, dióxido de carbono, água e resíduos inorgânicos inertes. Sendo assim, a biotransformação é a degradação parcial e a mineralização é a completa. O tratamento biológico pode ser efetivo para qualquer composto orgânico, pois, teoricamente, todos os orgânicos podem ser degradados se houver o estabelecimento, manutenção e controle de uma população microbiana adequada (LaGrega, Buckingham, & Evans, 1994).

A biodegradação de materiais orgânicos no meio ambiente é realizada por dois grupos de microrganismos: bactérias e fungos. As bactérias são encontradas em todos os ambientes que contenham organismos vivos, podendo elas próprias serem as únicas representantes desses organismos. Isso não sugere, entretanto, que todos os tipos de bactérias são encontradas em todos os ambientes. Elas possuem uma série de características que as colocam em um grupo de organismos de sucesso. Essas características, como rápido crescimento e metabolismo, plasticidade genética e habilidade de se ajustar rapidamente a uma variedade de ambientes, são fatores que fazem com que as bactérias sejam microrganismos competentes para biodegradação (Baker & Herson, 1994).

### **2.3.4.2. Efeito do Etanol na Biodegradação de Hidrocarbonetos**

Estudos já indicaram (Österreicher-Cunha, et al., 2004) que há preferência pela degradação do etanol por parte dos microrganismos, retardando a degradação dos compostos BTEX. Os compostos BTEX são degradados por enzimas induzidas que são inibidas pela presença de compostos de mais fácil degradação como o etanol. Além disso, a degradação do etanol reduz a quantidade de oxigênio e aceptores de elétrons do meio para a degradação do BTEX (Österreicher-Cunha et al., 2007).

Em comparação aos constituintes da gasolina, o etanol pode ser degradado sob condições aeróbias e anaeróbias em muito menos tempo do que os compostos

BTEX. Isso porque, apesar do fato de que a microbiota do solo geralmente possui as enzimas necessárias para a degradação do BTEX, uma fase de adaptação é necessária para que a população se ajuste a presença do contaminante BTEX e inicie sua degradação. O etanol, no entanto, é degradável constitutivamente pelos microrganismos porque entra no ciclo bioquímico basal dos organismos vivos do meio. Sendo assim, é de se esperar que a degradação do BTEX atrase em relação ao BTEX mais etanol. O metabolismo pode ser maior e mais duradouro nos solos contendo BTEX mais etanol devido a essa degradação constitutiva do etanol. Uma vez que o etanol não esteja mais presente, devido à volatilização ou degradação, se espera que a atividade decresça mais vagarosamente do que no solo sujeito a solução BTEX. Esse lento decréscimo pode ser causado pela subsequente degradação de BTEX. Porém, tanto os compostos BTEX quanto o etanol, podem ser tóxicos aos microrganismos do solo quando em altas concentrações e um espaço de tempo poderá ser necessário para a recuperação da microbiota (Österreicher-Cunha, et al., 2004).

A biodegradação do etanol e dos hidrocarbonetos de petróleo é uma reação de oxirredução realizada pela ação microbiana, onde os substratos (etanol e compostos BTEX) funcionam como doadores de elétrons. Na biodegradação aeróbia, o oxigênio dissolvido é o acceptor de elétrons e, na degradação anaeróbia, os aceptores de elétrons podem ser o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), o sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), o manganês (IV), o íon ferro (III) e o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ).

O oxigênio é o acceptor preferencial dos microrganismos, pois seu uso lhes proporciona maior ganho de energia nas reações aeróbias. Este ganho de energia permite à microbiota degradar mais rápida e efetivamente os compostos e, inclusive, uma maior gama deles. Os demais aceptores participam de reações anaeróbias e são usados em sequência de acordo com o maior rendimento de energia que cada um possa promover, a disponibilidade de aceptores de elétrons e com a cinética da reação microbiana associada aos diferentes aceptores. Em solos onde estão presentes somente aceptores energeticamente menos favorecidos, as taxas de degradação tendem a diminuir substancialmente (Silva, 2002). Com isso é possível verificar que a degradação completa ou parcial de BTEX é dependente da variação das condições geoquímicas do solo em questão.

### 2.3.4.3. Fatores que Afetam a Biodegradação

A biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo depende de fatores tais como as condições físicas e a natureza do contaminante, bem como sua própria concentração, além das propriedades da microbiota. A estrutura com a qual os hidrocarbonetos se encontram, a disponibilidade do contaminante para os microrganismos e as características biológicas do sistema devem ser levadas em consideração na avaliação da efetividade da biodegradação.

A seguir será feito uma revisão sobre os principais componentes que governam o processo de biodegradação: o contaminante e o sistema envolvido (microbiota).

#### Biodegradabilidade do Contaminante

O sucesso de uma biodegradação depende não só dos microrganismos, mas também dos compostos envolvidos. Muitos compostos orgânicos persistem por longos períodos no solo, um exemplo são os compostos do grupo BTEX que possuem sua persistência bem documentada: quando retidos na matriz do solo, eles podem estabelecer uma longa fonte de contaminação residual (Österreicher-Cunha et al., 2007).

Alguns locais que contenham esses compostos persistentes podem atribuir tal persistência à inabilidade do microrganismo de crescer e biodegradar na presença de toxinas. No entanto, muitas dessas moléculas persistentes são localizadas em ambientes nos quais os microrganismos estão proliferando e metabolizando ativamente, logo essa persistência não deve ser atribuída às condições hostis de vida microbiana. As substâncias de baixo ou alto peso molecular que resistem à biodegradação são chamadas de moléculas recalcitrantes (Alexander, 1994).

Os mecanismos da recalcitrância podem ser função das características estruturais da molécula de interesse, limitações fisiológicas dos microrganismos vivos, ou propriedades do ambiente no qual os compostos são encontrados. Uma consideração sobre o motivo da persistência deve incluir a avaliação da contribuição dos fatores químicos, microbiológicos e ambientais (Alexander, 1994).

Alexander (1965) enumerou os fatores causadores da recalcitrância molecular, são eles (Rittmann & McCarty, 2001):

- A característica estrutural da molécula dificulta a ação das enzimas;
- O composto é inacessível ou não está disponível;
- Alguns fatores para o crescimento microbiano estão ausentes;
- Enzimas necessárias estão inativas;
- A população microbiana presente é incapaz de metabolizar o composto devido a alguma inadequação fisiológica.

O primeiro item da lista sugere que, para que a biodegradação ocorra, a estrutura molecular tem que ser inerentemente biodegradável. Isso porque quanto maior a complexidade de uma molécula, maior a dificuldade para degradá-la; grandes hidrocarbonetos contendo muitos anéis aromáticos são exemplos de moléculas de difícil degradabilidade. Estruturas complexas tornam difícil o encontro de um local para o ataque enzimático inicial pelos microrganismos. Outro aspecto que influencia a degradabilidade é a baixa solubilidade em água, pois é na água onde ocorrem as principais reações e interações entre microrganismos e o contaminante.

Os próximos cinco itens que se seguem são relacionados às condições ambientais que são necessárias para que a biodegradação ocorra. Sendo que o último item indica que o organismo apropriado deve estar presente. Se a biodegradação não ocorrer naturalmente, a ausência de um ou mais itens da lista deve ser a causa.

### **Biodegradabilidade do Meio**

O crescimento microbiano em ambiente natural pode ser limitado por uma série de fatores. Interações bióticas, como a competição entre diferentes tipos de bactérias pelo mesmo substrato, podem funcionar como um mecanismo para manter o número da população baixo. Além disso, o tamanho da população microbiana pode ser limitado por fatores abióticos. Provavelmente os fatores abióticos mais relevantes para perspectiva da biodegradação são: umidade, temperatura, pH, presença de materiais tóxicos, tipo e quantidade de material orgânico presente (carbono), aceptores de elétron e nutrientes inorgânicos (nitrogênio e fósforo).

## UMIDADE

Como todas as células, bactérias necessárias à biodegradação de contaminantes são dependentes de um adequado suprimento de água para crescimento e reprodução, isso porque todas as reações e interações ocorrem na presença de água. Mais importante que a quantidade de água total presente no ambiente é a quantidade de água disponível. A água no solo pode não estar disponível aos microrganismos, pois ela poderá estar adsorvida às partículas de solo. A água não é somente importante para suprir as bactérias, mas também para o transporte dos nutrientes e subprodutos metabólicos, além de determinar o nível de oxigênio do solo.

A água está presente no solo em três formas: gravitacional, capilar e higroscópica. A água gravitacional se refere àquela que pode mover-se livremente através do solo por forças gravitacionais. Essa água primeiramente ocupa os macroporos da matriz do solo. A água gravitacional desloca o ar presente na matriz do solo, que conduz ao desenvolvimento de um ambiente anóxico. Em locais contaminados, essa água é a principal responsável pela infiltração do contaminante até as camadas mais profundas do solo e o lençol freático. A água capilar é retida pela tensão superficial em forma de películas ou capas em torno das partículas de solo. Essa água está disponível para os microrganismos. A água higroscópica representa aquela que está firmemente fixada (retida) por adsorção às partículas minerais do solo. Formam delgadas ou finas camadas (capas ou filmes) em torno das partículas de solo, principalmente pelos coloides do solo. Não se movem, nem por capilaridade e nem por gravidade; só se movimentam sob a forma de vapor d'água. É uma água indisponível aos microrganismos (Baker & Herson, 1994).

## TEMPERATURA

Entre os fatores físicos, a temperatura desempenha um papel importante na biodegradação dos hidrocarbonetos, pois afeta diretamente a química dos poluentes, bem como afeta a fisiologia e a diversidade da flora microbiana. Atlas (1981) verificou que a baixas temperaturas, a viscosidade do óleo aumentava, enquanto que a volatilidade dos hidrocarbonetos de baixo peso molecular era

reduzida, retardando o início da biodegradação. A temperatura também afeta a solubilidade de hidrocarbonetos.

Embora a biodegradação do hidrocarboneto possa ocorrer ao longo de uma vasta gama de temperaturas, a taxa de biodegradação geralmente diminui com a diminuição da temperatura. Já com o aumento de temperatura os processos biológicos também crescem até uma temperatura máxima na qual a desnaturação enzimática conduz a inibição celular ou a sua morte. Bactérias são um grupo de microrganismos que mostra uma larga tolerância à variação de temperaturas, de 0°C a 100°C, ou mais. Dentro das faixas de variação de temperatura toleráveis, a atividade microbiana geralmente cresce por um fator de 2 a 3 para cada incremento de 10°C de temperatura. Apesar da maioria dos projetos de biodegradação serem conduzidos em faixas de temperatura que variam entre 25 a 40°C, a habilidade de degradar uma variedade de contaminantes pode ocorrer em outras faixas, dependendo do tipo de microrganismo presente.

A temperatura do solo pode ocasionar profundos efeitos tanto nos componentes da matriz do solo quanto no estado físico-químico dos contaminantes. Paul & Clark (1989) observaram que a temperatura do solo influenciava o volume do solo, o potencial de oxirredução e a estrutura da água presente no interior da matriz do solo (Baker & Herson, 1994).

## **NUTRIENTES**

A massa celular contém carbono e uma série de outros elementos. O metabolismo requer estes elementos como nutrientes da mesma maneira que requer carbono inorgânico como substrato. O fósforo e o nitrogênio são considerados macronutrientes por serem necessários em maiores quantidades do que outros elementos na síntese celular (LaGrega, Buckingham, & Evans, 1994). Por isso, os primeiros nutrientes inorgânicos necessários para a biodegradação são o nitrogênio e o fósforo. O nitrogênio é necessário para a síntese da proteína celular e dos componentes da parede celular. Fósforo é necessário para os ácidos nucleicos, membranas celulares e ATP (nucleotídeo responsável pelo armazenamento de energia em suas ligações químicas) (Baker & Herson, 1994).

Alguns destes nutrientes podem tornar-se fator limitante afetando os processos de biodegradação. Atlas (1981) relata que em um grande derramamento de óleo, a oferta de carbono foi significativamente aumentada e a disponibilidade

de nitrogênio e fósforo em geral tornou-se o fator limitante para a degradação do óleo. As taxas de reabastecimento de nutrientes são geralmente inadequadas para suportar a rápida biodegradação do óleo, principalmente quando em concentrações elevadas. Por outro lado, as concentrações excessivas de nutrientes também podem inibir a atividade de biodegradação. Vários autores têm relatado os efeitos negativos dos elevados níveis de nitrogênio e fósforo sobre a biodegradação de hidrocarbonetos, especialmente em aromáticos.

Além dos macronutrientes, existem também os micronutrientes necessários ao metabolismo que incluem: enxofre, potássio, cálcio, magnésio, ferro, entre outros.

## **pH**

A atividade enzimática é função também do pH do solo. A quantidade de determinada enzima em estado ativo varia com as mudanças no pH, sendo o valor máximo obtido com pH ótimo. Da mesma forma, o crescimento de bactérias está diretamente relacionado com o pH. A maioria das bactérias cresce em uma faixa de valores relativamente estreita, em torno de 6 a 8. Dibble & Bartha (1979) observaram que um solo de pH 7.8 seria ótimo para degradação microbiana de hidrocarbonetos no solo (Baker & Herson, 1994). Valores extremos de pH costumam ter um efeito negativo na habilidade dos microrganismos de biodegradar hidrocarbonetos (La Grega, 1994).

A disponibilidade de macronutrientes, especialmente fósforo, é altamente dependente do pH. Em geral, um aumento no pH do solo causa um decréscimo da disponibilidade de cálcio, magnésio, sódio, potássio, amônia, nitrogênio e fósforo, enquanto o decréscimo de pH resulta em um decréscimo de nitrato e cloreto. Esses efeitos resultam das alterações nas ligações desses elementos no solo subsuperficial.

## **ACEPTORES DE ELÉTRONS**

O aceptor de elétron é a substância que recebe elétrons durante uma reação de oxirredução, que é o processo que ocorre quando o contaminante passa a ser um produto inofensivo devido à quebra de sua estrutura.

O oxigênio é o aceptor de elétron em ambientes aeróbios. Já o nitrato, sulfato, dióxido de carbono, compostos orgânicos reduzidos agem em ambientes

anaeróbios. Em geral, em ambientes aeróbios há o consumo de uma faixa de 0.9 a 1.4 Kg de oxigênio para cada quilo de hidrocarboneto de petróleo degradado (Wilson et al., 1986). Processos químicos que ocorrem em ambientes anaeróbios são mais dispendiosos de energia e por isso acabam por serem processos mais lentos quando comparados àqueles que ocorrem em ambientes aeróbicos.

O solo se torna um ambiente com oxigênio esgotado ou anóxico devido à limitação da difusão de oxigênio da atmosfera para os poros do solo, poros preenchidos por água e/ou contaminante e o rápido consumo de oxigênio pelos microrganismos. Em geral, um mínimo de 10% de oxigênio nos poros do solo é necessário para manter uma adequada aeração para atividade microbiana aeróbia.

## **TIPOS E QUANTIDADES DE CARBONO PRESENTE E SUPLEMENTAR**

Carbono não é considerado um típico nutriente limitante em locais nos quais está ocorrendo remediação. Os contaminantes orgânicos presentes normalmente suprem a necessidade de carbono para a população microbiana envolvida no processo de biodegradação. Existem, entretanto, várias ocasiões nas quais o contaminante orgânico pode não ser suficiente ou não estar disponível para biodegradação pelos microrganismos presentes. Primeiro, no caso do composto estar sorvido nos minerais do solo e/ou na matéria orgânica do solo, o composto pode não estar disponível biologicamente (biodisponível) e conseqüentemente não pode ser degradado. Segundo, se a concentração do composto estiver abaixo do limite necessário para suprimento de carbono e energia necessária aos microrganismos à degradação também não ocorrerá. Alternativamente, se a concentração do composto exceder o limite necessário, problemas de toxicidade podem ocorrer. Finalmente, o composto pode não ser diretamente degradado; de preferência, a degradação via processo cometabólico pode ser necessária. O cometabolismo ocorre quando há a transformação parcial dos compostos químicos para produtos que não produzem energia para o crescimento dos microrganismos envolvidos.

### **2.4. Estudos Anteriores**

Esse tópico será dedicado aos estudos anteriores realizados pelo grupo de pesquisas da PUC-Rio visto que o solo utilizado nas pesquisas em questão é

oriundo da mesma região do solo estudado aqui e, por tanto, possui as mesmas características biogeoquímicas. Os estudos que serão revisados nesse tópico foram conduzidos por Österreicher-Cunha et al. e publicados nos anos de 2004, 2007, 2009 e 2012.

Os resultados apresentados pelo estudo publicado em 2004 mostraram a possibilidade de avaliar o impacto da contaminação, bem como a estimulação através da bioventilação da microbiota do solo, através da contagem das populações bacterianas heterotróficas cultiváveis. A contagem bacteriana mostrou um atraso na reação das populações do solo à contaminação com gasolina-etanol quando comparados aos contaminados somente com gasolina, o que indicou uma possível degradação preferencial do etanol. No entanto, análises químicas adicionais e mais precisas foram ditas necessárias na ocasião para que se melhor avaliasse o resíduo de contaminante no solo e seu efeito sobre as populações de bactérias cultiváveis.

A bioventilação, por sua vez, pareceu ser uma ferramenta interessante na regeneração dos solos contaminados pela mistura gasolina-etanol, pois acelerou a desintoxicação do solo e a recuperação da microbiota. No entanto, esse estudo mostrou um efeito menor nos solos contaminados apenas com gasolina.

No estudo publicado em 2007, os parâmetros controlados durante uma experiência de 20 dias mostraram que a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) no solo melhora a atividade enzimática microbiana durante a seleção de microrganismos adaptados. Esse resultado sugeriu que a hidrólise de FDA seria uma melhor ferramenta para avaliar o efeito da contaminação sobre a microbiota do solo do que as contagens de CFU (colônia formando unidades), que só avaliam microrganismos cultiváveis. No entanto, a utilidade das contagens das populações cultiváveis foi evidenciada para avaliação rápida da toxicidade do solo devido à contaminação. Durante o estudo ficou clara a necessidade de se avaliar melhor os métodos geofísicos em outros estudos experimentais, pois as constantes dielétricas do solo não se correlacionaram com a atividade microbiana em solos contaminados.

A atividade degradante microbiana também foi maior em solos contaminados com BTEX-etanol, o que novamente sugeriu uma degradação constitutiva de etanol por microrganismos do solo. As análises químicas dos resíduos mostraram que os compostos BTEX persistiam por mais tempo, quando

na presença de etanol. No entanto, a bioventilação pareceu evitar o atraso na degradação do BTEX causado pelo etanol, pois proporcionou uma oxigenação adequada para a biodegradação continuar depois da degradação do etanol.

Como visto anteriormente, foi confirmado no estudo publicado em 2007 o fato de que a biodegradação do etanol é preferencial à dos BTEX. Essa degradação preferencial além de produzir acetato, provoca o esgotamento do oxigênio, dos nutrientes e dos receptores de elétrons necessários à biodegradação dos hidrocarbonetos.

Para tratamento em condições aeróbicas, Österreicher-Cunha et al. afirmam que a atividade enzimática aumenta em solos bioventilados, principalmente os que contêm etanol, uma vez que a ventilação colabora para sua volatilização e oxidação e providencia oxigenação adequada para a degradação aeróbica continuar após o etanol ter sido degradado.

A bioventilação foi mais eficaz para solo contaminado com a mistura BTEX-etanol do que para solo contaminado apenas com BTEX, já que o etanol, dependendo da sua concentração na mistura, aumenta um pouco a pressão de vapor dos hidrocarbonetos leves da gasolina. Em solo contaminado somente com BTEX não houve alteração.

A publicação de 2009 avaliou alguns dos processos que regulam a biodegradação e a distribuição de gasolina-etanol e gasolina em solo não saturado, analisando parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. A análise dos resultados obtidos pareceu indicar que o efeito do etanol sobre o destino de compostos da gasolina pode realmente ser motivo de preocupação: todos os parâmetros monitorados sugeriram uma retenção superior e uma degradação retardada de BTEX em solo não saturado quando o etanol é adicionado à gasolina.

Quando a gasolina foi introduzida com o etanol, mais BTEX foram retidos no solo inerte não saturado; a atenuação natural dos compostos da gasolina em solo indeformado levou mais tempo, segundo análises de resíduos do produto químico em questão; as atividades degradantes microbianas foram muito superiores e mais duradouras em solos contendo etanol; bactérias cultiváveis, incapazes de crescer sob grandes quantidades de contaminantes, voltaram a crescer muito mais tarde do que nas situações onde a gasolina não foi misturada a etanol.

O efeito de co-solvência do etanol sobre os compostos BTEX e a sua elevada solubilidade em água pareceu causar uma maior retenção de BTEX na matriz do solo. A presença de gasolina e de mistura gasolina-etanol no solo aumentou a atividade enzimática microbiana, mas suprimiu populações bacterianas cultiváveis. Os resultados apresentados demonstram a possibilidade de avaliar o impacto causado pela contaminação, bem como a redução da toxicidade do solo por meio da avaliação de populações de bactérias cultiváveis. A contagem bacteriana mostrou um atraso na reação das populações do solo à contaminação do solo com gasolina-etanol quando comparados aos contaminados somente com gasolina, o que indica uma possível degradação preferencial de etanol. Assim como constatado no estudo publicado em 2007, nesse trabalho também foi evidenciado o fato de que a análise de FDA seria a melhor ferramenta para avaliar as atividades de biodegradação do que a avaliação do contingente microbiano, que só avalia mudanças no número de populações cultiváveis.

A contaminação persistiu por mais tempo em solo não saturado, quando na presença de etanol. Ainda assim, análises químicas adicionais foram ditas necessárias para melhor avaliar o resíduo do contaminante em solo e medir a sua persistência.

O artigo publicado em 2012 por Österreicher-Cunha et al. apresentou o estudo de como as condições climáticas poderiam afetar as características do solo, atuando no ciclo microbiológico do carbono. Esta pesquisa relaciona as características das faces principais do solo aos da microbiota, relacionando biomassa e atividade às quantidades de carbono, disponibilidade e utilização, bem como a distribuição microbiana às características físico-químicas do solo.

Os dados indicaram que as maiores e mais bem distribuídas chuvas não provocaram alterações importantes nas atividades microbianas, indicando um estado de equilíbrio da microflora.

As duas principais faces do solo apresentam respostas diferenciadas às mudanças na entrada de água, basicamente, por causa de suas diferenças na estrutura e tendo em conta as propriedades particulares dos compostos residuais no solo que alteram a permeabilidade da água de forma diferente em cada uma das faces.

As diferenças nos parâmetros microbianos em ambas as faces pareceram indicar que a estrutura do solo é o principal fator que afeta a atividade microbiana

no intervalo de tempo do estudo. Diferentes respostas a alterações no conteúdo de água no solo são, provavelmente, devido ao papel da estrutura do solo para a distribuição e circulação de água, de ar e entrada de nutrientes a partir da superfície.