

## 4 Apresentação e Discussão dos Resultados

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os dados provenientes dos ensaios com os blocos de solo residual indeformado.

Apesar de todos os cuidados que tivemos, o ensaio ficou comprometido por questões que escapam ao nosso controle. A atividade degradadora total dos solos, por alguma razão que não conseguimos detectar, estava baixa e não estimulável. Além das questões do solo, as análises químicas, que poderiam oferecer uma discussão mais rica, são preliminares. Mas a discussão será realizada assim mesmo, pois possuímos outros resultados de análises que permitem que isso ocorra.

Conforme descrito anteriormente, foram monitorados quatro blocos de solo indeformado onde dois desses possuíam feições predominantemente arenosas e outros dois siltosas.

As análises químicas e microbiológicas foram executadas ao longo do monitoramento conforme descrito na Tabela 4 do item 3.5 sendo que no dia da abertura dos blocos em sua parte central foram realizados apenas os ensaios para verificar atividade degradadora total e perfil metabólico. Os resultados apresentados nesta seção foram dispostos de forma a facilitar a compreensão dos dados e serão interligados com o intuito de verificar a hipótese inicial de que os microrganismos possuem um papel fundamental na degradação de hidrocarbonetos de petróleo, que o tipo de solo influencia tal degradação e que o etanol retarda a degradação dos outros contaminantes derivados do petróleo.

### 4.1.1. Reflectometria no Domínio do Tempo (TDR)

A coleta dos blocos foi realizada em setembro, época de estiagem no município de Duque de Caxias como se pode verificar na Figura 25, onde estão expostos os volumes de água por mês do ano de estudo, não ocorreram precipitações no mês de setembro. Estudo anterior com esses solos *in situ* (Österreicher et al., 2012) indicou que, no período de estiagem, os solos

apresentaram as menores atividades do ano. Logo, a coleta dos blocos foi realizada em um momento de baixa atividade *in situ* dos solos.



Figura 25: Volume de chuva da região de Duque de Caxias no ano de 2013 (INMET – Instituto Nacional de Meteorologia).

Os valores tidos como iniciais ( $t=0$ ) foram obtidos no dia da contaminação, imediatamente após essa. Os dados anteriores a esse dia estão em forma de tabelas comparativas (Tabela 6 e 7) e devem ser tratados como aproximações da realidade *in situ* para que se tenha um parâmetro de comparação para o ensaio propriamente dito. Os resultados de umidade e constante dielétrica ( $K_a$ ) após a contaminação serão apresentados a seguir sob forma de gráficos.

Anteriormente a contaminação, os solos arenosos apresentaram as menores umidades volumétricas, como já era esperado, visto que a perda de água para o meio em solos arenosos ocorre de forma mais rápida (Tabela 6). Segundo a análise de variância - ANOVA (Tabela 7) da umidade antes e após a contaminação, houve uma significativa variância entre essas duas etapas.

A média de umidade após a contaminação do solo arenoso foi baixa, variando de 10 a 28% em volume, enquanto oscilações entre 25 a 47% foram encontradas nos blocos siltosos. O bloco BS possuía feições arenosas em seu interior o que poderia explicar a proximidade de valor com os blocos arenosos. Os resultados das medições com o TDR mostraram que os blocos siltosos mantiveram durante todo o experimento umidades superiores aos blocos arenosos. As variações de umidade foram em torno de 15% em todos os blocos (Tabela 6 e Figura 26).

Tabela 6: Cálculo da umidade volumétrica a partir da constante dielétrica obtida pelo TDR no topo do bloco antes e logo após a contaminação.

Bloco	Umidade Volumétrica (%)	
	Antes <sup>1</sup>	Após <sup>2</sup>
	EA	10.3
ES	18.2	46.6
BA	8.2	15.4
BS	10.8	25.8

<sup>1</sup>Antes da contaminação; <sup>2</sup>Após a contaminação.

Tabela 7: Análise de variância entre as umidades antes e logo após a contaminação (ANOVA).

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
Antes <sup>1</sup>	4	47.5	11.87	19.04
Após <sup>2</sup>	4	113	28.25	172.38

Fonte da variação	SQ	Gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	536.28	1	536.28	5.60	0.055	5.98
Dentro dos grupos	574.29	6	95.71			
Total	1110.57	7				

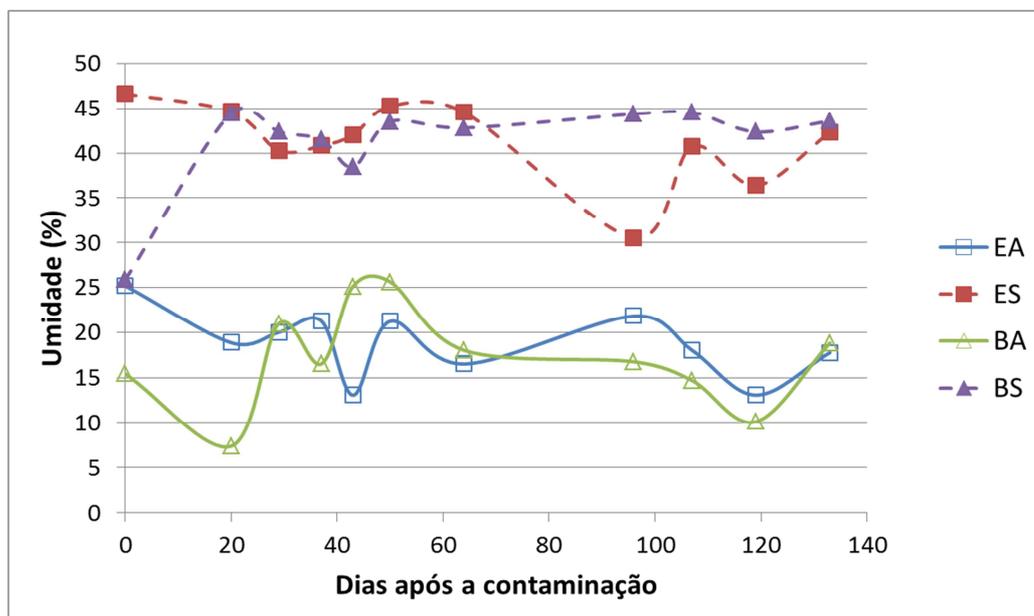


Figura 26: Variação da umidade ao longo do ensaio após a contaminação medida por TDR.

Os valores de  $K_a$  24 horas após a contaminação do solo foram maiores nos solos contendo BTE. Os resultados mostraram não haver grandes diferenças de  $K_a$

com a adição da solução BT no solo. O etanol misturado à solução de benzeno e tolueno causou maiores diferenças nas propriedades elétricas do solo, devido à diferença de constantes dielétricas do etanol e dos componentes da gasolina (24.3 para etanol e 2.0 - 2.6 para BT).

Assim como ocorre com a umidade, já que ambas variáveis são dependentes, a constante dielétrica também apresenta uma forte variância entre os dados de antes e depois da contaminação, como podemos verificar a partir da análise de variância dos dados de Ka (Tabela 9).

Tabela 8: Medições realizadas pelo TDR no topo do bloco antes e logo após a contaminação.

Bloco	Ka	
	Antes <sup>1</sup>	Após <sup>2</sup>
EA	6.3	12.9
ES	8.0	16.3
BA	5.5	8.4
BS	6.3	9.8

<sup>1</sup>Antes da contaminação; <sup>2</sup>Após a contaminação.

Tabela 9: Análise de variância de Ka antes e logo após a contaminação (ANOVA).

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
Antes <sup>1</sup>	4	26.1	6.52	1.10
Após <sup>2</sup>	4	47.4	11.85	12.33

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	56.71	1	56.71	8.43	0.027	5.98
Dentro dos grupos	40.33	6	6.72			
Total	97.04	7				

Como já mencionado anteriormente, a constante dielétrica medida no solo é determinada principalmente pelo conteúdo de água presente. Em solos contaminados, as variações de Ka podem ser causadas tanto pela variação do conteúdo de água quanto pelo aumento da atividade microbiana, que produz ácidos e biossurfactantes. A variação do Ka nos solos contendo apenas benzeno e tolueno poderia então ser justificada pelo aumento da atividade já que suas constantes dielétricas são insignificantes quando comparadas à água, e pelo fato

de que, após 24h de contaminação, foram esses os solos que apresentaram aumentos mais expressivos de atividades, como pode ser verificado na Tabela 10.

Contudo, estudo anterior com estes solos não constatou aumento de Ka com o aumento de atividade e isso pode ser reforçado pelo presente estudo já que apesar dos dados de constante dielétrica terem apresentado uma forte variância antes e após a contaminação pela análise de variância (ANOVA), o mesmo não ocorre para os dados de atividade degradadora total. Segundo a análise de variância para atividade degradadora antes e logo após a contaminação, esses dados apresentam pequena variação entre as duas etapas, sugerindo que a atividade não estaria influenciando fortemente a variação de Ka.

Tabela 10: Medições das atividades degradadoras totais imediatamente antes e depois da contaminação.

<b>Atividade Degradadora Total (<math>\mu\text{g} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}</math>)</b>		
<b>Bloco</b>	<b>24 h antes</b>	<b>24 h depois</b>
EA	0.0000	0.0000
ES	0.0521	0.0441
BA	0.0267	0.0547
BS	0.0000	0.2138

Tabela 11: Análise de variância de atividade degradadora total antes e após a contaminação (ANOVA).

<b>Grupo</b>	<b>Contagem</b>	<b>Soma</b>	<b>Média</b>	<b>Variância</b>
24 h antes	4	0.07	0.01	0.00062
24 h depois	4	0.31	0.07	0.00873

<b>Fonte da variação</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>valor-P</b>	<b>F crítico</b>
Entre grupos	0.0068	1	0.0068	1.45	0.27	5.98
Dentro dos grupos	0.0280	6	0.0046			
<b>Total</b>	<b>0.0349</b>	<b>7</b>				

Após a contaminação dos solos, a água residual presente pode ser expulsa dos poros do solo pelo contaminante (drenagem); ou caso haja grande quantidade de água residual nos poros do solo, os contaminantes de baixa densidade, como os *light non-aqueous phase liquids* (LNAPLs), não terão pressão suficiente para

deslocar a água (fluido molhante) e podem não conseguir ficar retidos nas partículas do solo, volatilizando-se de forma mais rápida. Entretanto, quando os compostos BT são misturados a etanol as forças que agem na água e no BT se modificam, suas interfaces são modificadas devido ao efeito de solubilidade do etanol sobre o BT, cuja solubilidade em água é aumentada (fenômeno da co-solvência). Essa mudança na solubilidade dos compostos BT pode causar um movimento diferenciado da água e dos contaminantes nos poros do solo (Haydn et al., 1997).

Os resultados deste estudo sugerem que a água residual não foi expulsa pela solução BT ou pela BTE, pois não houve significativa variação dos resultados de  $K_a$  ao longo do ensaio após a contaminação. O volume de contaminante utilizado (1 L) pode não ter sido suficiente para expulsar a água. Caso a água residual tivesse sido expulsa, certamente os valores decresceriam mais, pois como já dito anteriormente, os valores de  $K_a$  dos compostos BTEX são insignificantes quando comparados com o da água. A volatilização do etanol nos blocos sujeitos a solução BTE também poderia ser responsável pela queda mais acentuada nos valores de  $K_a$  após a contaminação, o que não ocorreu neste estudo.

#### **4.1.2. Atividade Degradadora Total**

As medidas da atividade degradadora total foram realizadas ao longo de todo o monitoramento. Os gráficos apresentam-se na mesma escala de modo a facilitar a comparação visual entre os resultados.

Os valores tidos como iniciais ( $t=0$ ) foram obtidos no dia seguinte à contaminação. Os dados anteriores a esse dia são mostrados separadamente e devem ser tratados como aproximações da realidade para que se tenha um parâmetro de comparação para o ensaio propriamente dito. Os resultados serão apresentados ao longo deste tópico sob forma de gráficos.

A primeira análise de hidrólise de FDA foi realizada 4 dias após a coleta, ou 36 dias antes da contaminação dos blocos. Na Figura 27 se pode constatar que, com exceção do bloco siltoso (ES), as atividades já estavam muito abaixo dos níveis geralmente encontrados para esses solos. Estudos realizados *in loco* no talude de onde foram extraídos os blocos mostraram atividades variando entre 0,10 e 0,6  $\mu\text{g fluoresceína} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$  ao longo de dois anos de monitoramento,

durante os quais somente a feição arenosa apresentou valores abaixo de  $0,10 \mu\text{g fluoresceína} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$  em épocas de estiagem (Österreicher-Cunha et al, 2012).

A análise 4 dias após a coleta indica que um dos blocos siltosos (ES) apresentou a atividade mais compatível com estudos anteriores para o mesmo solo (Österreicher et al, 2009). Um mês depois, um dia antes da contaminação, o bloco arenoso (BA) apresentava um aumento de sua atividade, enquanto os blocos siltosos apresentaram queda, o que pode ser atribuído a uma aeração maior no solo arenoso, que costuma estimular a atividade da microbiota.

A análise microbiológica realizada logo após a contaminação detectou um impacto inicial na atividade microbiológica semelhante ao ocorrido em estudos anteriores, porém aqui as atividades foram muito inferiores às ocorridas anteriormente. Os blocos submetidos à solução BT aumentaram suas atividades, os submetidos à solução BTE um reduziu sua atividade (ES) e o outro manteve sua ausência (EA). Contudo, visto a atividade excepcionalmente baixa desses solos logo após a coleta, somente o solo siltoso submetido à solução BT atinge um nível de atividade médio para esse solo após a contaminação, de acordo com estudo anterior.

Estudos anteriores com estes solos mostraram que a atividade microbiana sofre uma queda imediatamente após a contaminação com gasolina e gasolina-etanol, mas também que o impacto é transiente e mais curto nos solos com etanol; a microbiota se recupera, adaptando-se ao novo meio e iniciando a degradação dos contaminantes (Österreicher-Cunha et al, 2004, 2007). Neste estudo uma queda significativa ocorre no 7º dia de ensaio, quando todas as atividades chegam próximas ou a zero.

Medidas de hidrólise de FDA mostraram aumento na atividade enzimática a partir do 13º (BS) e 19º (BA e ES) dia após a contaminação. Sem nenhuma estimulação, como aeração ou entrada de nutrientes para sustentar esse aumento, a atividade volta a ficar próxima a zero ou zero no 36º dia após a contaminação. Em oposição ao corrido em estudo anterior (2007), a presença do etanol parece não ter estimulado a microbiota mais do que no solo contaminado apenas com BT, indo contra o fato de que o etanol é degradado de forma constitutiva, integrando imediatamente o ciclo bioquímico da célula, não requerendo uma ativação ou síntese. Era de se esperar que o metabolismo fosse maior e mais duradouro nos solos contendo BTE devido a essa degradação constitutiva do etanol. Uma vez

que o etanol não estivesse mais presente, devido à volatilização ou degradação, se esperaria que a atividade decrescesse mais vagarosamente do que no solo sujeito a solução BT, o que não ocorreu. As quantidades pequenas de contaminante podem ter impossibilitado visualizar esses processos, que podem ter sido rápidos e/ou de pequena amplitude.

Pode-se verificar que, ao longo do experimento, as oscilações na atividade estiveram sempre presentes, como pode ser visto nas Figuras 28 e 29. Quando a microbiota é exposta a um contaminante, ela pode entrar em um estado de dormência, ou somente manter as taxas metabólicas em detrimento da multiplicação celular. Essas estratégias tornam a microbiota não cultivável. Porém, a população pode voltar a mostrar seu potencial de reação quando adequadamente estimulada ou quando a toxicidade do meio se reduz (Österreicher-Cunha et al., 2004). As baixas atividades enzimáticas microbianas com oscilações constantes detectadas nos solos amostrados neste trabalho podem ser fruto dessa estratégia de manutenção das taxas metabólicas. Ao final do período de monitoramento as atividades apresentaram uma tendência comportamental semelhante entre blocos.

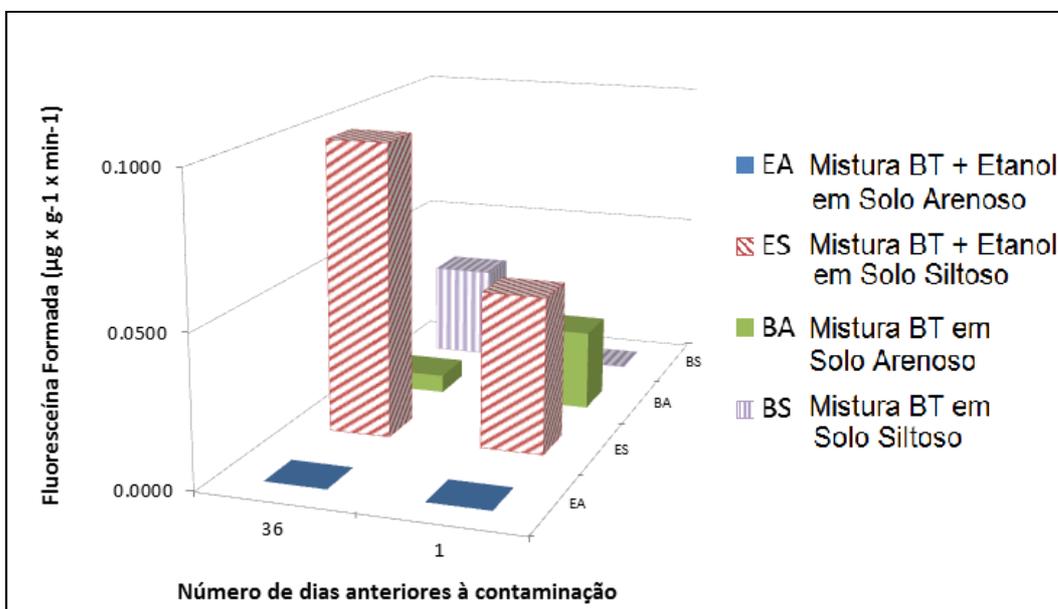


Figura 27: Atividade microbiana dias antes da contaminação.

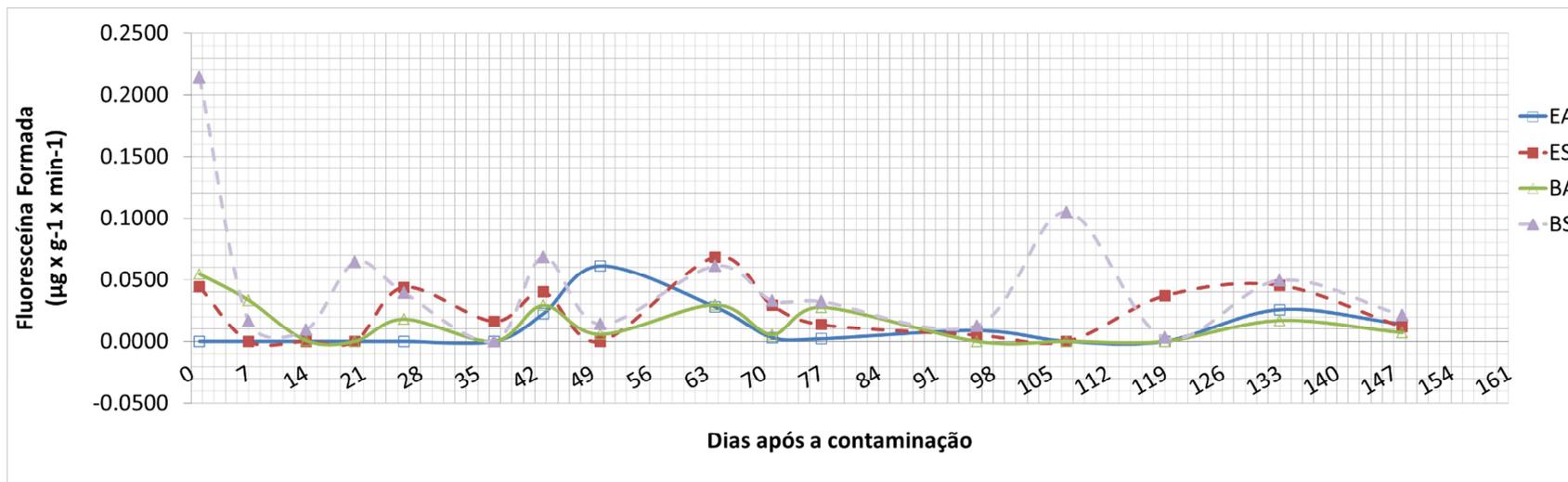


Figura 28: Evolução da atividade microbiana do solo após a contaminação.

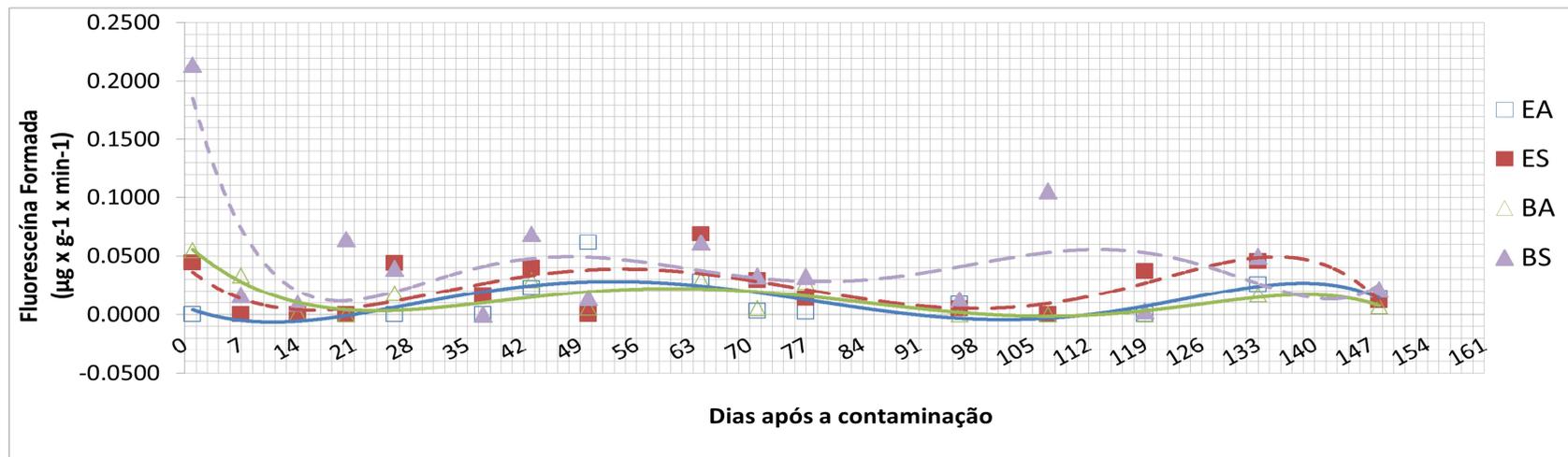


Figura 29: Tendência da atividade microbiana ao longo do ensaio após a contaminação.

### 4.1.3. Carbono Disponível

O carbono disponível do solo foi determinado conforme descrito no Capítulo 3. Os resultados estão em mg de carbono por grama de solo ( $\text{mg} \times \text{g}^{-1}$ ).

Foram analisadas amostras de solo de cinco etapas distintas do ensaio. Neste item, a fim de comparar os resultados antes e após a contaminação, o tempo tido como 0 ( $t=0$ ) é o dia anterior ao da contaminação, os outros tempos com seus correspondentes dias após a contaminação estão dispostos na Tabela 12 a seguir.

Tabela 12: Marcações de tempo e os dias correspondentes após a contaminação

<b>Tempo</b>	<b>Dias após a contaminação</b>
<b>1</b>	1
<b>2</b>	43
<b>3</b>	96
<b>4</b>	133

Como já era esperado, no tempo 0 antes da contaminação os solos siltosos apresentaram maior quantidade de carbono disponível no solo. Após a contaminação, a quantidade de carbono disponível variou de acordo com a atividade microbiana. De modo geral, o aumento da atividade corresponde à redução dos níveis de carbono disponível (Figura 28).

Com uma maior quantidade de argila nos solos siltosos, seria esperado uma maior proteção do carbono orgânico e sua menor mobilização pela biota. Porém, com um conteúdo de água maior e com uma maior quantidade de carbono disponível nesse solo, as atividades degradadoras também foram maiores. Nos solos arenosos, mais pobres em carbono orgânico, a variação de carbono disponível é menos expressiva, sugerindo que ele não é mobilizado (Österreicher-Cunha et al., 2012).

Uma análise da biomassa microbiana mostrou que ela, em geral, não se correlaciona com o conteúdo de água, mas com a quantidade de C disponível no solo. Sendo a quantidade de C do solo fortemente influenciada pelo conteúdo de argila deste (Balkwill et al., 1998). O C disponível é essencial para manutenção da atividade celular e produção de biomassa. No presente estudo, o C disponível

parece estar diretamente relacionado à atividade enzimática microbiana, já que seus níveis variaram do mesmo modo. Quando há o aumento da atividade ocorre uma posterior queda nos níveis de carbono, já que um é consequência do outro. Diferentemente do que já havia sido observado em estudo anterior (Österreicher-Cunha, 2012), as atividades nos solos com maiores quantidades de carbono disponível (blocos siltosos) se apresentaram maiores (Figura 30).

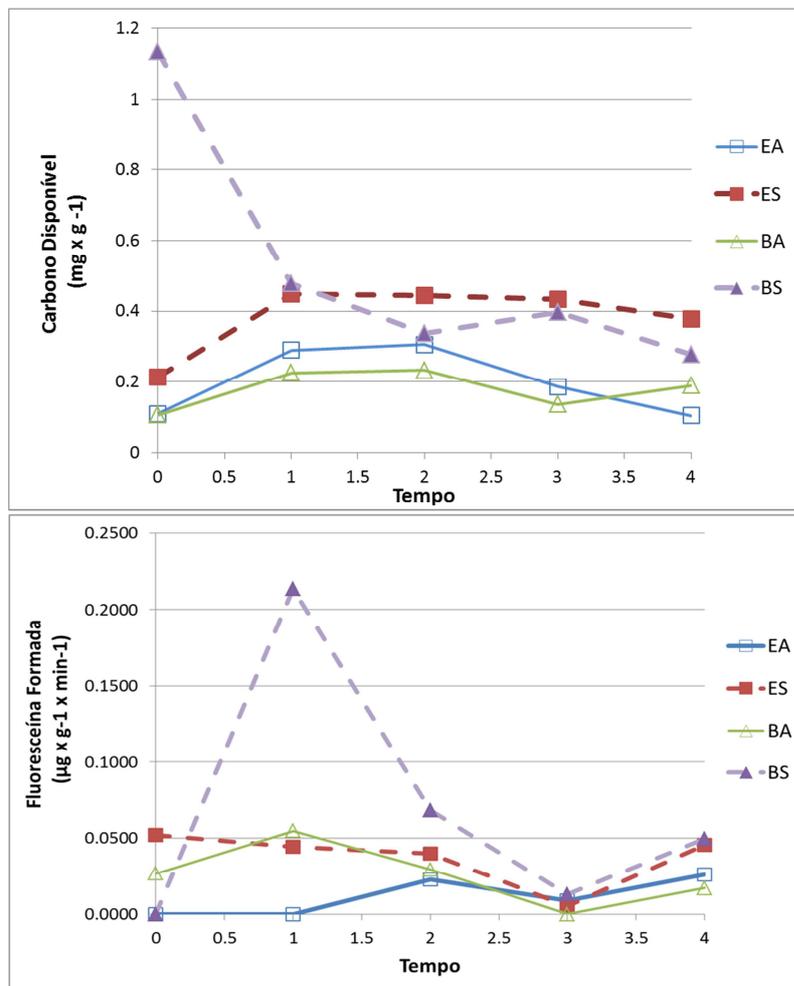


Figura 30: Comparação entre os níveis de carbono disponível e a atividade microbiana.

Até aqui foram apresentados os resultados de umidade, atividade degradadora total e carbono disponível. A Figura 31 nos mostra esses três resultados sendo apresentados em conjunto para fins comparativos.

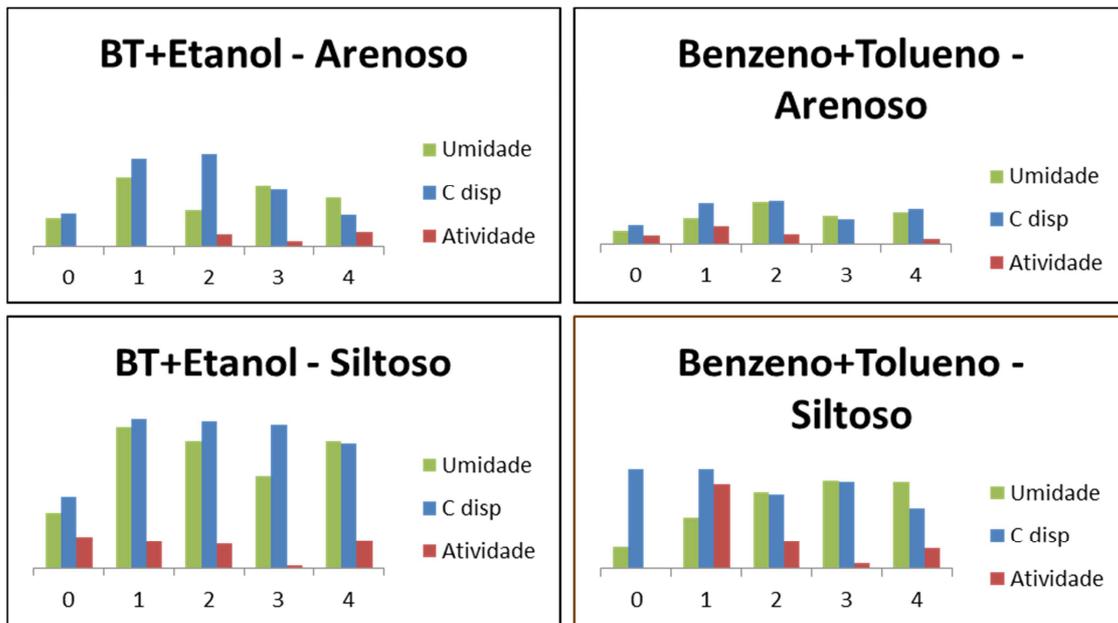


Figura 31: Correlação entre as variáveis: umidade, carbono disponível e atividade degradadora total entre blocos de mesmo tipo de feição e mesmo tipo de contaminante.

Podemos notar correlações tanto entre solos de mesma estrutura quanto em blocos submetidos ao mesmo contaminante. Nos blocos siltosos as três variáveis são mais expressivas que nos blocos arenosos, no entanto podemos notar que para o mesmo tipo de contaminante os blocos submetidos ao etanol, benzeno e tolueno possuem valores maiores de umidade e carbono disponível.

De modo a estudar melhor a relação entre variáveis também foi feita uma análise estatística para analisarmos as correlações entre os mesmos parâmetros acima citados: tempo, umidade, carbono disponível e atividade total degradadora. A Figura 32 ilustra os resultados dessa análise. De maneira geral, todos os blocos apresentam correlações entre variáveis distintas. O que nos indica que mesmo se tratando de solos de mesmo tipo ou contaminados com os mesmos contaminantes, o equilíbrio das reações é algo que se torna único de cada solo estudado. Apesar disso, os gráficos da Figura 31 nos faz acreditar na ideia de que há uma relação mais íntima entre solos de mesmo tipo do que em solos submetidos ao mesmo contaminante.

EA	Tempo	Umidade	C disp	Atividade
Tempo	1			
Umidade	0.298	1		
C disp	-0.190	0.337	1	
Atividade	0.781	-0.209	-0.039	1

BA	Tempo	Umidade	C disp	Atividade
Tempo	1			
Umidade	0.582	1		
C disp	0.217	0.765	1	
Atividade	-0.580	-0.06	0.560	1

ES	Tempo	Umidade	C disp	Atividade
Tempo	1			
Umidade	0.438	1		
C disp	0.502	0.822	1	
Atividade	-0.446	0.0595	-0.487	1

BS	Tempo	Umidade	C disp	Atividade
Tempo	1			
Umidade	0.931	1		
C disp	-0.814	-0.919	1	
Atividade	-0.188	-0.072	-0.307	1

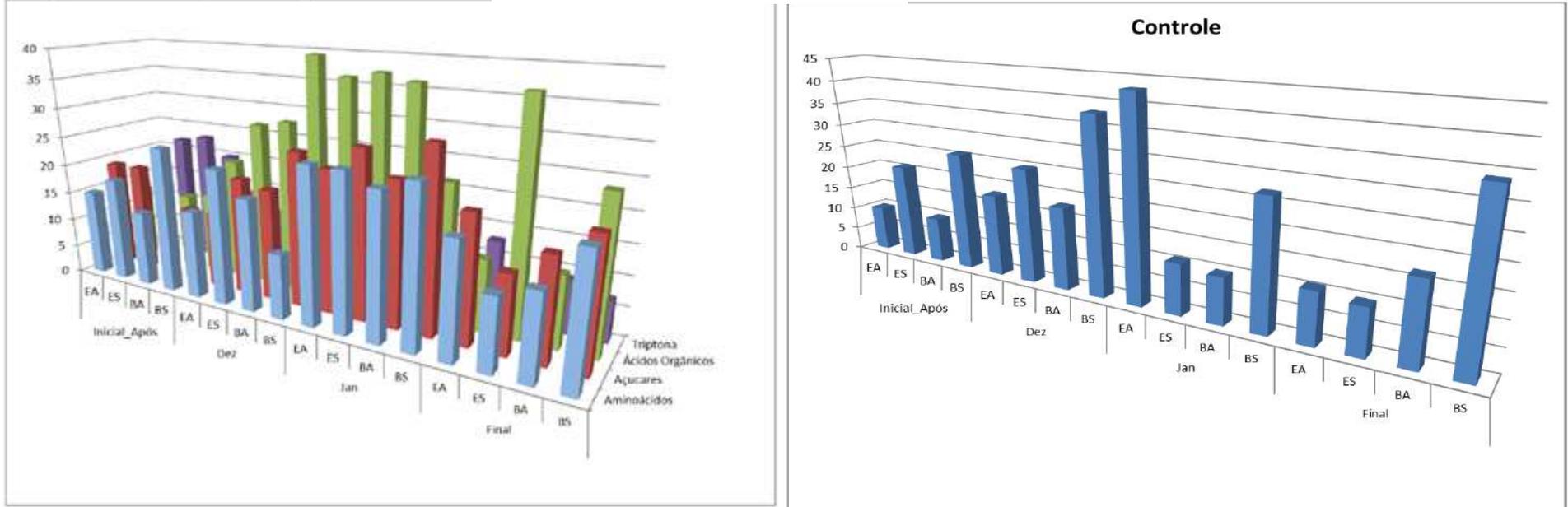
Figura 32: Correlação entre variáveis medidas ao longo do monitoramento.

#### 4.1.4. Perfil Metabólico

Os resultados dos níveis de atividades atingidos com o estímulo fornecido pelas fontes de carbono, segundo descrito no Capítulo 3, são apresentados na Figura 33 abaixo. Foram analisadas amostras de solo de quatro etapas distintas do ensaio, nos dias 14, 37, 71 e 148 após a contaminação.

Podemos concluir que não há diferença significativa entre no nível de utilização dos diversos substratos, nem com o controle, o que significa que o perfil metabólico potencial das diferentes amostras é o mesmo e não muda em função do solo nem do contaminante; Há diferenças significativas no "*lag time*" para atingir esse nível; ou seja, as linhagens (bactérias geneticamente iguais) realmente ativas mudam em função do solo e/ou do contaminante. A comunidade aparenta ser muito similar em todas as amostras, mas seu estado metabólico é diferente, com linhagens ativas/inativas, rapidamente ativadas ou não, e isso certamente se deve ao ambiente (características do solo, efeitos da contaminação, etc.). O *lag time* mais longo sugere a ativação ou mesmo síntese de enzimas para responder à presença do substrato, ou seja, são enzimas que estavam inativas na amostra.

Tempo em horas para atingir o nível máximPUÇ-Rio - Certificação Digital Nº 1221959/CA



Nível máximo de ativação

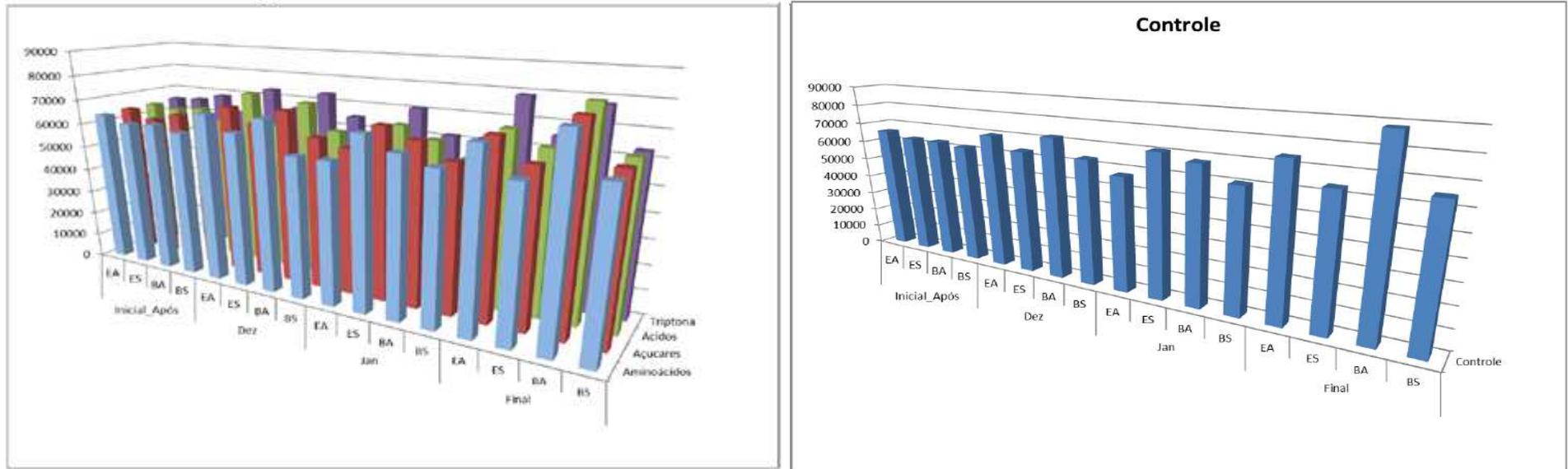


Figura 33: Resultados dos níveis de ativação com estímulo de fontes de carbono ao longo do monitoramento

#### 4.1.5. Concentração de Contaminantes

A concentração dos contaminantes foi determinada segundo descrito no Capítulo 3. Os resultados estão em ppm e são apresentados na Figuras 34 abaixo. Foram analisados amostras de solo de três etapas distintas do ensaio, no dia da contaminação (tempo 0) e nos dias 20 e 37 após a contaminação.

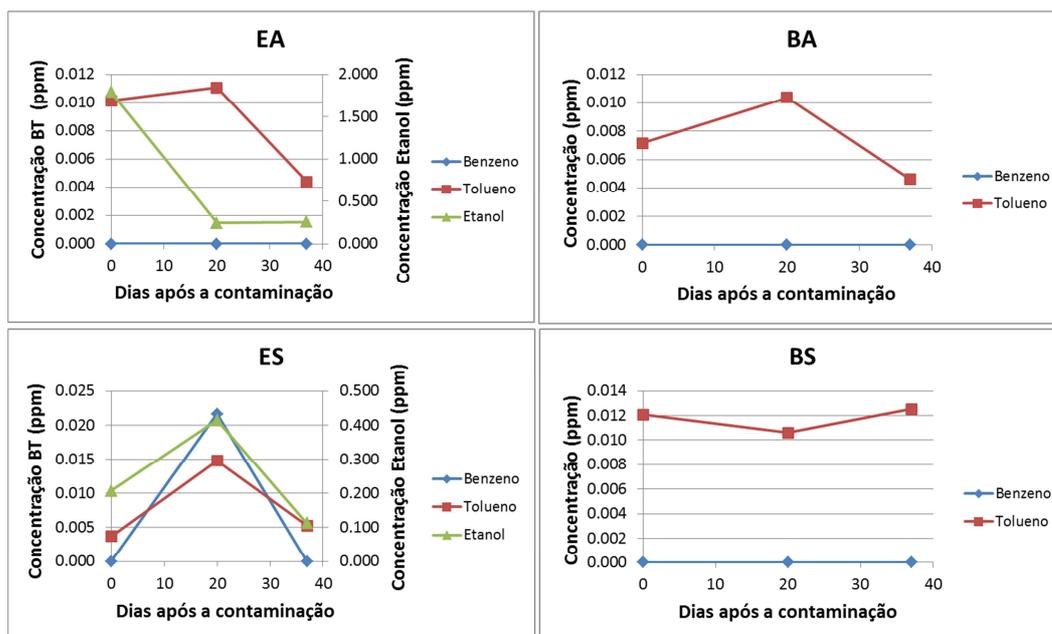


Figura 34: Concentração (ppm) de benzeno, tolueno e etanol nos blocos EA e ES; Concentração (ppm) de benzeno e tolueno nos blocos BA e BS.

Os resultados aqui dispostos são análises preliminares e não apresentaram conclusões convenientes à hipótese inicial considerada, o atraso da degradação do benzeno e tolueno devido à presença de etanol. Cada análise química foi proveniente de amostras de faces distintas o que certamente influenciou na falta de linearidade dos resultados até aqui encontrados, já que o contaminante se distribui de forma diferenciada no interior do bloco devido a sua estrutura. Também se pode concluir de tais análises que a quantidade de contaminante (1 L) utilizada não foi suficiente, não sendo detectada de forma significativa em nenhuma das análises feitas nesse estudo. Novas análises estão em andamento.

#### 4.1.6. Discussão Integrada dos Resultados Apresentados

A seguir serão feitas análises com diferentes fatores como a estrutura do solo, o tipo de interação entre contaminantes e bactérias, composição química do solo e parâmetros de engenharia aplicados à microbiologia, sempre tentando elucidar a influência desses fatores sobre a atividade microbiana do solo.

- **Estrutura do solo**

Estudo anterior realizado por Österreicher-Cunha et al. (2012) para estes mesmos solos mostrou que as diferenças nos parâmetros microbianos nas faces arenosas e siltosas indicaram que a estrutura do solo seria o principal fator que afeta a atividade microbiana no intervalo do tempo de estudo. Diferentes respostas a alterações no conteúdo de água no solo seriam, provavelmente, devido ao papel da estrutura do solo na distribuição e circulação de água e de ar, bem como na entrada de nutrientes a partir da superfície e disponibilidade de carbono. Essa constatação parece ser confirmada pelo presente estudo, já que os comportamentos dos solos se assemelharam de acordo com sua estrutura mais do que com o tipo de contaminante aplicado.

A estrutura do solo inclui o tamanho dos poros e como esses estão interligados, definindo sua permeabilidade. Já foi observada a relação do tamanho dos poros com as taxas de mineralização do carbono e concluiu-se que nos poros de maiores tamanhos ocorriam as maiores taxas, progredindo da argila para solos arenosos. No entanto, cada ambiente do solo apresenta um equilíbrio ideal entre a água e a disponibilidade de oxigênio, onde os processos microbianos são otimizados. As diferenças entre os dois tipos de solo estão refletidas nos parâmetros microbianos por causa de uma retenção e distribuição diferenciada de água, ar e de microrganismos. A proporção mais elevada de partículas finas poderia levar a uma menor atividade degradadora, por causa da menor disponibilidade de oxigênio nos poros do solo. Porém, segundo Ranjard & Richaume (2001), existe uma preferência de bactérias por microporos em micro agregados, como os encontrados em solos argilosos, que levaria a uma maior atividade degradadora total nesses solos. Essa população seria exposta a nutrientes e contaminantes de diferentes formas comparadas àquelas que vivem em macroporos. No presente estudo as maiores atividades foram encontradas nos

solos com maior número de finos, contrariando a primeira hipótese de que os arenosos possuiriam maiores atividades ao longo do ensaio. Esses resultados corroboram os obtidos anteriormente para estes solos, onde as atividades nos siltosos se apresentaram mais elevadas (Österreicher et al, 2012).

Contabilizando o fato de que existe um equilíbrio ideal entre a água e a disponibilidade de oxigênio, independente da fatura de ambos, para otimizar os processos microbianos, podemos sugerir que o ambiente mais equilibrado é o do solo siltoso, neste caso e nestas condições. Nos solos arenosos, onde a retenção de água é menor, porém há maior quantidade de oxigênio nos poros, houve uma menor atividade microbiana, não muito inferior àquela encontrada nos solos siltosos.

Outra possibilidade que explicaria as maiores atividades encontradas nos solos siltosos, com maior conteúdo de finos ou mais matéria orgânica, é o fato de terem maior conteúdo de água durante todo o tempo do experimento; isso quer dizer que menos oxigênio está disponível nos solos siltosos, portanto, deveriam ser menos propensos à biodegradação aeróbia por causa da menor disponibilidade de oxigênio. A partir desse fato, é sugerido também que a maior média de atividades microbianas nos solos siltosos pode estar relacionada a uma biodegradação anaeróbia, apesar de ser algo muito pouco provável.

- **Interação contaminantes x bactérias**

Outro fator importante é como o contaminante entrará em contato com a microbiota para possivelmente iniciar sua degradação. É fundamental entender como será o fluxo do contaminante no interior do solo. Quando um LNAPL, como a solução BT, é introduzido em solo não saturado e submetido a um gradiente, ele inicia um processo de deslocamento de ar dos poros do solo, caracterizando o avanço da frente de molhamento. Entretanto, nem todo o ar é deslocado e uma quantidade residual permanece trapeada. Se a saturação de água é baixa, como neste experimento, as forças que agem na água são tão fortes que acabam por expulsá-la. Porém, neste experimento, os resultados obtidos para o  $K_a$  sugerem que, mesmo com uma saturação residual de água baixa, a água não teria sido expulsa, pois não houve grandes variações no valor de  $K_a$  ao longo do experimento para nenhum dos blocos, sugerindo que a quantidade de contaminante foi pequena não sendo capaz de expulsar a água residual. No

interior dos poros do solo que contém água, ela é a fase molhante, portanto, interações entre as microbiota e os contaminantes podem sofrer certo impedimento já que os contaminantes formarão um filme sobre água e serão mais facilmente drenados ou volatilizados sem entrar em contato com a microbiota. Esses processos físicos que ocorrem parecem ser largamente regulados pela quantidade de água residual e conteúdo de matéria orgânica (Haydn, 1997). Assim sendo, a interação do contaminante com as bactérias do solo neste estudo pode ter sido dificultada pelo fato dos solos estudados aqui serem pobres em matéria orgânica e por conter água residual que mesmo em baixa quantidade não foi expulsa pela pequena quantidade de contaminante, fato este sugerido pela não variação significativa ao longo do experimento do valor de  $K_a$  após a contaminação.

Quando a mistura BTE é introduzida no solo, o ar continua a ser deslocado e uma fração da massa do contaminante também será retida por forças de capilaridade. Entretanto, o movimento da solução de BTE muda devido à alta solubilidade em água que o etanol possui. O etanol modifica a pressão interfacial causada pela água, passando a ser mais facilmente deslocada. No estudo realizado por Österreicher-Cunha et al. (2009), os tanques experimentais com solo não saturado inerte mostraram diferenças de comportamento no meio poroso entre a gasolina pura e misturada com etanol. Grandes quantidades de água no efluente percolado do solo contaminado com a gasolina misturada indica que a presença de etanol provoca um maior deslocamento de água residual do solo.

Como esperado, os blocos submetidos à mistura com etanol tiveram um significativo aumento nos valores de  $K_a$  logo após a contaminação, devido a alta solubilidade do etanol (que possui alto valor de constante dielétrica) em água e a outros fatores expostos anteriormente. Sendo assim, o etanol teve maiores interações com as partículas do solo e mesmo assim não houve a resposta esperada em relação ao estímulo das atividades enzimáticas degradadoras, pois as mesmas mantiveram-se baixas e pouco diferentes do estímulo realizado pela mistura de BT. Além disso, a baixa variação ao longo do experimento dos valores de  $K_a$  nos blocos submetidos a solução BTE também sugerem que, nesse caso, a água residual não teria sido expulsa, dificultando a interação de BT com as partículas de solo.

- **Composição química dos solos**

A composição química também se relaciona a atividade microbiana, pois dependendo da composição química de um solo a disponibilidade de substratos será diferenciada e, de acordo com a profundidade, essa disponibilidade se modifica drasticamente. O conteúdo de argila, que controla as trocas iônicas, e de matéria orgânica, que controla a abundância e disponibilidade de nutrientes, também se reduzem com a profundidade (Holden et al., 2005). Devido à baixa capacidade de troca catiônica, a baixa atividade coloidal (ambas constatadas em estudo anterior - Österreicher-Cunha, et al., 2004) e ao baixo conteúdo de matéria orgânica (0.2 – 0.4) do solo estudado aqui, já era esperada uma baixa interação físico-química (sorção) entre o solo e o contaminante. Solos com baixos teores de matéria orgânica costumam ser menos favoráveis ao crescimento bacteriano, o que também poderia elucidar as baixíssimas atividades enzimáticas aqui encontradas.

- **Parâmetros de engenharia**

Outra correlação que pode ser feita com a atividade microbiana é em relação aos limites de liquidez e plasticidade, principalmente em relação às questões de engenharia. O limite de plasticidade define o teor de umidade abaixo do qual o solo passa do estado plástico para o estado semi sólido, enquanto o limite de liquidez é o teor de umidade a partir do qual o solo muda de um estado plástico para um estado fluido viscoso (Pinto, 2006). Os teores de umidade natural encontrados em todos os blocos estiveram abaixo de seus limites de plasticidade, caracterizando solos mais rígidos que serão menos sensíveis para o desenvolvimento microbiano.