

# **AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES GEOQUÍMICAS EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS IMPACTADAS POR BIODIESEL B20 EM EXPERIMENTOS DE ATENUAÇÃO NATURAL E BIOESTIMULAÇÃO METANOGÊNICA**

Renata Martins Pacheco

Orientador: Prof. Henry Xavier Corseuil

Co-orientadora: Débora Toledo Ramos

2011/2





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL

RENATA MARTINS PACHECO

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES GEOQUÍMICAS EM ÁGUAS  
SUBTERRÂNEAS IMPACTADAS POR BIODIESEL B20 EM  
EXPERIMENTOS DE ATENUAÇÃO NATURAL E  
BIOESTIMULAÇÃO METANOGÊNICA

FLORIANÓPOLIS, (SC)

FEVEREIRO/2012

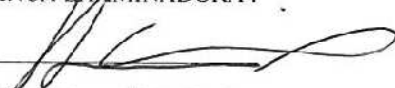
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E  
AMBIENTAL

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES GEOQUÍMICAS EM ÁGUAS  
SUBTERRÂNEAS IMPACTADAS POR BIODIESEL B20 EM  
EXPERIMENTOS DE ATENUAÇÃO NATURAL E  
BIOESTIMULAÇÃO METANOGÊNICA


RENATA MARTINS PACHECO

Trabalho submetido à Banca Examinadora como parte dos requisitos para  
Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental–  
TCC II

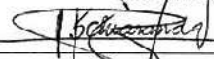
BANCA EXAMINADORA :



Prof. Henry Corseuil Xavier, Dr.  
(Orientador)



Débora Toledo Ramos, M. Sc.  
(Co-orientadora)



Helen Simone Ciparanda, Dra.  
(Membro da Banca)



Prof. William Gerson Matias, Dr.  
(Membro da Banca)

FLORIANÓPOLIS, (SC)

FEVEREIRO/2012

## **Agradecimentos**

Agradeço a todos que colaboraram para a conclusão deste trabalho, especialmente ao Professor Henry, à Débora, que me orientaram e ao professor William e à Helen que fizeram parte da banca de avaliação.

## **Resumo**

O aumento da incidência de acidentes ambientais com combustíveis fósseis e as consequências associadas a esses compostos incentivaram a busca por fontes de energia alternativas, como os biocombustíveis. Dentre os biocombustíveis, pode ser destacado o biodiesel, o qual foi introduzido na matriz energética brasileira, no ano de 2005, na forma de misturas com diesel. Com o aumento da utilização do biodiesel, é possível também que haja um aumento da incidência de contaminações ambientais com o mesmo. No entanto, pouco se sabe sobre os seus impactos nas águas subterrâneas, principalmente quando associado a misturas contendo diesel fóssil. Com o objetivo de analisar o comportamento dos compostos presentes nas misturas de biodiesel B20 (20% em volume de biodiesel e 80% de diesel) no ambiente subterrâneo, estão sendo conduzidos dois estudos na Fazenda Experimental da Ressacada. Em duas áreas experimentais foi feita uma liberação controlada de 100 litros da mistura B20 sendo que duas técnicas de remediação diferentes estão sendo analisadas: Atenuação Natural Monitorada e Bioestimulação Metanogênica. Na técnica de atenuação natural apenas se monitora a degradação natural e o avanço da contaminação, sem outras intervenções. Na área experimental onde foi aplicada a técnica de bioestimulação metanogênica, são realizadas injeções semanais de acetato de amônio, que é um substrato facilmente degradável e é capaz de estimular o crescimento de microrganismos, acelerando o processo de remediação do aquífero. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar as alterações geoquímicas nas águas subterrâneas impactadas por biodiesel B20 nos experimentos de atenuação natural e bioestimulação metanogênica. O estudo apresentou indícios de que as alterações geoquímicas se deram com maior intensidade no experimento de bioestimulação metanogênica, onde também houve indícios da degradação dos compostos BTEX junto à região da fonte. Ambos os fatos são justificados, possivelmente, pelas injeções de acetato de amônio.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biodiesel; Biorremediação; Atenuação Natural; Bioestimulação Metanogênica

## **Abstract**

The increasing frequency of environmental accidents involving fossil fuels and the consequences associated to these compounds has led to the search of alternative energy sources, such as the biofuels. Among the biofuels, biodiesel draws special attention. It was introduced in Brazil's energetic matrix in the year 2005, in form of mixtures with diesel. With the increasing use of biodiesel, an increase in the frequency of environmental accidents is also possible. However, little is known about its effect in groundwater, especially when associated with fossil diesel. In order to evaluate the behavior of the compounds present in the B20 biodiesel blend (20% in volume of biodiesel and 80% of diesel) in groundwater, two studies are being conducted at the Ressacada Experimental Farm. Two experimental areas were contaminated with 100 liters of the B20 blend and each one uses a different remediation technique: Natural Attenuation and Methanogenic Biostimulation. In the natural attenuation experiment, natural degradation and the contamination progress are monitored, without other interventions. As for the methanogenic biostimulation experiment, weekly ammonium acetate injections are performed. Ammonium acetate is an easily degradable compound which is capable of stimulating the growth of microorganisms that can accelerate the remediation process. In that context, this study aimed the evaluation of the main geochemical changes in both experiments to identify which are the major degradation processes in each experiment, as well as, evaluate BTEXs behavior. The results indicate that the geochemical changes were more pronounced in the methanogenic biostimulation experiment and that there was BTEX degradation near the source zone. Both remarks are justified by the ammonium acetate injections.

**Keywords:** Biodiesel; Bioremediation; Natural Attenuation; Methanogenic Biostimulation

## Lista de Figuras

Figura 1- Transesterificação de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente (LEUNG et al., 2006). .....	3
Figura 2-Compostos monoaromáticos (BTEX). .....	5
Figura 3 - Distribuição espacial dos processos de óxido-redução presentes em aquíferos contaminados com derivados de petróleo. Adaptado de: Lovley (2001). .....	7
Figura 4 - Localização da Fazenda Experimental da Ressacada. Foto aérea dos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS). Fonte: Google Maps (acesso em 27/11/2011). .....	11
Figura 5 – <i>Layout</i> área experimental. Em destaque os 5 poços de injeção, à montante da fonte de contaminação (em vermelho). Os demais 41 poços são utilizados para o monitoramento da área experimental.....	13
Figura 6 - Esquema das profundidades de influência para os experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS).....	16
Figura 7 - Piezômetros (PZ), poço estratigráfico (PE) e poço de monitoramento (PM) utilizados na determinação do nível médio do lençol freático. Os poços PM5, PZ03 e PZ05 (em vermelho) foram utilizados para o experimento de atenuação natural (AN) e os poços PZ01, PZ02, PZ07 e PE6 (em azul) foram utilizados para o experimento da bioestimulação metanogênica (BS). .....	18
Figura 8 - Área de influência definida para a realização dos cálculos de massa.....	20
Figura 9 - Área de influência definida para a análise do comportamento dos BTEX. ....	20



Figura 10 - Comportamento do oxigênio dissolvido, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).....	21
Figura 11 - Comportamento do ferro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).....	22
Figura 12 - Comportamento do sulfato, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis). ....	23
Figura 13 - Comportamento do sulfeto, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis). ....	24
Figura 14 - Comportamento do metano, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis). ....	25
Figura 15 - Comportamento do acetato, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis). ....	26
Figura 16 - Comportamento dos BTEX na área restrita à fonte de contaminação, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo (soma das massas dos níveis 3m, 4m, 5m e 6m de profundidade). ....	27

## **Lista de Tabelas**

Tabela 1-Limites de detecção para os compostos analisados. ....	14
Tabela 2 - Massa de oxigênio dissolvido encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulaçãometanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade .....	38
Tabela 3 - Massa de Ferro (II) encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulaçãometanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade. ....	38
Tabela 4 - Massa de sulfato encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulaçãometanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade. ....	39
Tabela 5 - Massa de sulfeto encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulaçãometanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade. ....	39
Tabela 6 - Massa de metano encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulaçãometanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade. ....	40
Tabela 7 - Massa de acetato encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulaçãometanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade. ....	40
Tabela 9 - Massa de BTEX encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade, na área restrita à região da fonte de contaminação. ....	41

## Sumário

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	iv
Abstract .....	v
Lista de Figuras .....	vi
Lista de Tabelas.....	viii
1. Introdução.....	1
1.1. Contextualização .....	1
1.2. Objetivos .....	2
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. Biodiesel.....	3
2.2. Compostos Aromáticos .....	4
2.3. Biodegradação .....	5
2.3.1. Biodegradação Aeróbia .....	6
2.3.2. Biodegradação Anaeróbia .....	6
2.4. Tecnologias de Biorremediação .....	7
2.4.1. Atenuação Natural Monitorada (AN).....	8
2.4.2. Bioestimulação (BS).....	9
3. Materiais e Métodos .....	10
3.1. Descrição dos Experimentos .....	10
a) Atenuação Natural.....	11
b) Bioestimulação Metanogênica .....	11
3.2. Área Experimental.....	11
3.3. Análises da Água Subterrânea.....	14

3.4.	Cálculos de massa.....	15
3.4.1.	Porosidade .....	15
3.4.2.	Profundidade de Influência.....	15
3.4.3.	Definição da Área.....	18
4.	Resultados e Discussão.....	20
<b>4.1.</b>	<b>Cálculos de Massa.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1.1.</b>	<b>Oxigênio Dissolvido .....</b>	<b>20</b>
4.1.2.	Ferro Ferroso .....	21
4.1.3.	Sulfato/Sulfeto .....	23
<b>4.1.4.</b>	<b>Metano .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1.5.</b>	<b>Acetato .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1.6.</b>	<b>BTEX .....</b>	<b>26</b>
4.2.	Discussão.....	28
5.	Conclusão .....	29
6.	Bibliografia.....	30
	ANEXO I.....	37

## **1. Introdução**

### **1.1. Contextualização**

Devido à crescente demanda por fontes de energia, associada a uma maior preocupação com o meio ambiente, os biocombustíveis surgem como uma alternativa promissora (BARNWAL; SHARMA, 2005). Dentre eles, destaca-se o biodiesel, que é uma opção para os motores, geradores e outros equipamentos movidos a diesel com pouca ou nenhuma necessidade de adaptação (MELLO, 2007), dependendo da mistura utilizada.

A possibilidade de se usar óleos vegetais como combustível é conhecida desde o final do século XIX. Entretanto, combustíveis provenientes de óleos vegetais ganharam importância depois da crise petróleo nos anos 70 (SCHLEICHER et al., 2009). O biodiesel é um combustível de queima limpa obtido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais e possui como principais vantagens ambientais o fato de ser renovável, biodegradável e de baixa toxicidade (GERPEN, 2005).

A participação do biodiesel na matriz energética do país pode reduzir a dependência em relação ao petróleo e também contribuir para uma significativa redução nas emissões de poluentes. De fato, a maioria dos estudos tem mostrado uma redução considerável na emissão de material particulado e, também, diminuição das emissões de monóxido de carbono e compostos aromáticos (LAPUERTA, 2008).

No Brasil, o uso do biodiesel para veículos comerciais a diesel passou a ser autorizado pelo governo a partir de janeiro de 2005 com a Lei Nº 11.097, permitindo uma adição de 2% em volume ao diesel (B2). Em janeiro de 2008, a mistura de 2% passou a ser obrigatória em todo diesel nacional (BRASIL, 2005) e desde janeiro de 2010, ficou determinada a adição mínima obrigatória de 5% em volume de biodiesel ao óleo diesel comercial (CNPE, 2009).

Com a crescente comercialização do biodiesel, o destino deste no meio ambiente passa a ser de grande interesse, pois apesar de seu potencial para reduzir as emissões gasosas, pouco se sabe sobre os impactos deste biocombustível nos corpos hídricos, especialmente quando associados a misturas contendo diesel fóssil (GOMES, 2008).

O biodiesel não possui hidrocarbonetos aromáticos em sua composição. Entretanto, é frequentemente adicionado ao diesel fóssil que contém tais compostos. Dentre os muitos hidrocarbonetos do petróleo, os compostos monoaromáticos tais como o benzeno, tolueno,

etilbenzeno e os xilenos (BTEX) são os de maior interesse, pois são os mais solúveis em água e os mais tóxicos quando liberados ao meio ambiente (CHAPELLE, 2001). Nesse contexto, é importante saber como esse potencial contaminante se comporta no meio ambiente e de que forma remediar um eventual acidente.

Com o intuito de avaliar o comportamento dos principais compostos monoaromáticos (BTEX) presentes nas misturas de biodiesel B20 (20% em volume de biodiesel e 80% de diesel) estão sendo conduzidos dois experimentos na Fazenda Experimental da Ressacada. Em duas áreas experimentais, foi feita a liberação controlada de 100 litros da mistura B20. Em uma das áreas é empregada a técnica de atenuação natural monitorada onde apenas se monitora a degradação natural e o avanço da contaminação, sem outras intervenções. Na segunda área experimental, foi aplicada a técnica de bioestimulação metanogênica onde são realizadas injeções semanais de acetato de amônio, o qual é um substrato facilmente degradável e capaz de estimular o crescimento de microrganismos, resultando na aceleração no processo de remediação do aquífero.

Uma das maneiras de se avaliar o progresso do processo de descontaminação é o monitoramento das alterações geoquímicas no aquífero ao longo do tempo (LOVLEY; CHAPELLE, 1995). Nesse sentido, o presente trabalho consiste em um estudo comparativo das alterações geoquímicas observadas durante o primeiro ano dos experimentos.

## **1.2. Objetivos**

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar as alterações geoquímicas em águas subterrâneas impactadas por biodiesel B20 em experimentos de atenuação natural e bioestimulação metanogênica.

Sendo os dois objetivos específicos destacados a seguir:

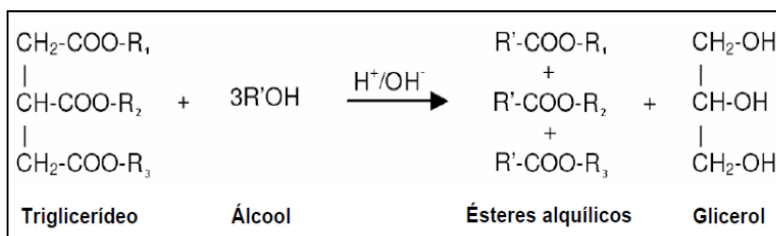
- a) Avaliação da influência do acetato de amônio sobre as alterações geoquímicas no experimento de bioestimulação metanogênica.
- b) Avaliação da interferência da bioestimulação metanogênica na degradação dos BTEX dissolvidos próximos à fonte de contaminação.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Biodiesel

O biodiesel é um combustível processado, equivalente ao diesel, derivado de fontes biológicas. Tem atraído atenção mundial como componente de mistura ou substituto direto do diesel em motores. O biodiesel puro é chamado de B100. Quando misturado ao diesel, passa a ser chamado de BXX, sendo o “XX” referente ao percentual em volume de biodiesel presente na mistura (DEMIRBAS, 2009).

Composto de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos, o biodiesel, é obtido a partir de uma reação de transesterificação de triglicerídeos, pela mistura de óleos vegetais ou gorduras animais com alcoóis de cadeia curta (metanol ou etanol) e em presença de um catalisador básico, tendo a glicerina ou glicerol como um subproduto (BARNWAL e SHARMA, 2005). A Figura 1 mostra uma representação esquemática de uma reação de transesterificação.



**Figura 1- Transesterificação de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente (LEUNG et al., 2006).**

O biodiesel pode ser proveniente de diversas fontes animais como: sebo bovino, óleos de peixes, banha de porco entre outras. Também pode ser fabricado a partir de fontes vegetais como exemplo: soja, palma, canola, mamona, girassol além de óleos residuais de frituras. A composição final do biodiesel varia conforme a fonte, devido às diferentes distribuições dos ácidos graxos presentes na matéria prima (PARENTE, 2003).

Dada a grandeza do agronegócio da soja no mercado brasileiro, a soja apresenta o maior potencial para servir de modelo para o desenvolvimento de um programa nacional de biodiesel (RAMOS, 2003). Quase 90% da produção de óleo no Brasil são provenientes da

soja que se constitui em um componente importante no esforço de produção de biodiesel (PARENTE, 2003).

Por fim, a produção de biodiesel gera um novo mercado para a produção adicional de óleos vegetais e de gorduras animais, diminui a dependência de petróleo importado e ainda, pode gerar menos poluição ambiental, ou seja, pode contribuir para a redução de emissões atmosféricas de gases de efeitos estufa (GERPEN, 2005).

## **2.2. Compostos Aromáticos**

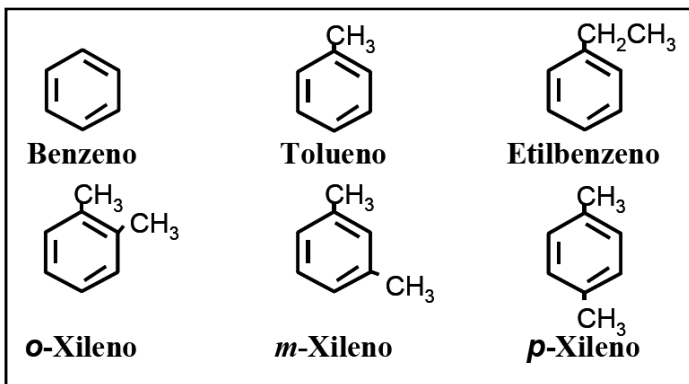
Uma das principais consequências advindas do uso de combustíveis fósseis é a contaminação do ambiente subsuperficial pelos seus componentes. No caso dos derivados do petróleo os compostos aromáticos são os contaminantes mais frequentes e os mais preocupantes entre os hidrocarbonetos (HOLLIGER et al., 1997).

Os compostos aromáticos são uma classe de compostos orgânicos cíclicos que possuem um anel em sua estrutura molecular (Figura 2). Além da ocorrência natural, atividades humanas contribuíram para o aumento da introdução de compostos aromáticos na natureza pela manufatura, mineração e combustão. Esses compostos podem influenciar negativamente o ecossistema e a saúde humana, por este motivo, se faz necessário o estudo destes compostos na natureza (YANG, 2006).

Vazamentos de combustível de depósitos subterrâneos ou derramamentos durante o transporte podem levar à contaminação do solo e das águas subterrâneas com hidrocarbonetos monoaromáticos, conhecidos como BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos,) (DOU, 2008). Dentre os muitos hidrocarbonetos de petróleo esses compostos são os de maior interesse, pois além de serem mais solúveis em água, são também mais tóxicos quando presentes nos corpos hídricos (CHAPELLE, 2001).

Os BTEX podem migrar pelos sistemas de águas subterrâneas, podendo contaminar os suprimentos de água potável até de regiões afastadas da fonte de contaminação (DOU, 2008). O destino destes compostos em solos e águas contaminadas tem sido o foco de estudos recentes devido a sua alta toxicidade e carcinogenicidade (MEHLMAN, 1992).





**Figura 2-Compostos monoaromáticos (BTEX).**

### 2.3. Biodegradação

A biodegradação pode ser considerada o processo que mais influencia no destino dos contaminantes em sistemas subsuperficiais e é dependente das características geoquímicas do aquífero, da população microbiana presente e do tipo de contaminante (WIEDEMEIER, 1999). Trata-se de um processo de degradação onde microorganismos fazem uso de um contaminante orgânico como fonte de energia ou alimento. Nesse processo, os compostos são quebrados gerando moléculas mais simples encontradas no ambiente tais como o dióxido de carbono e água (BEDIENT, 1997).

Os compostos orgânicos são biodegradados por meio de reações de oxidação-redução, em que os contaminantes (doadores de elétrons) são oxidados na presença de receptores de elétrons ( $O_2$ ,  $NO_3^-$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $CO_2$ ), produzindo espécies reduzidas, conhecidas como subprodutos metabólicos ( $NO_2^-$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $S^{2-}$ ) e produtos finais ( $H_2O$   $CH_4$ ). A variação destes indicadores no ambiente indica a ocorrência de biodegradação dos contaminantes e identificam quais processos estão ocorrendo (WIEDEMEIER et al, 1999).

Quando ocorre a contaminação de um aquífero com misturas de diesel/biodiesel, a concentração de oxigênio no meio é reduzida, uma vez que este receptor de elétrons é termodinamicamente mais favorável e capaz de gerar mais energia para as células microbianas. Uma vez restrita a disponibilidade de oxigênio no ambiente, os microrganismos passarão a utilizar outros receptores de elétrons, tais como, nitrato ( $NO_3^-$ ), sulfato ( $SO_4^{2-}$ ), manganês ( $Mn^{4+}$ ), ferro ( $Fe^{3+}$ ) e gás carbônico ( $CO_2$ ) para realizar a oxidação da matéria orgânica (CHAPELLE, 2001).

### **2.3.1. Biodegradação Aeróbia**

A biodegradação de contaminantes orgânicos em ambientes subsuperficiais ocorre, inicialmente, por meio de processos aeróbios, onde as populações microbianas autóctones, com potencial para biodegradar esses contaminantes, encontram-se num ambiente oxigenado (FERNANDES, 2002). Todos os compostos BTEX podem ser degradados por microrganismos aeróbios e a degradação aeróbia pode ter um importante papel na remoção natural dos BTEX das águas subterrâneas (SALANITRO, 1993).

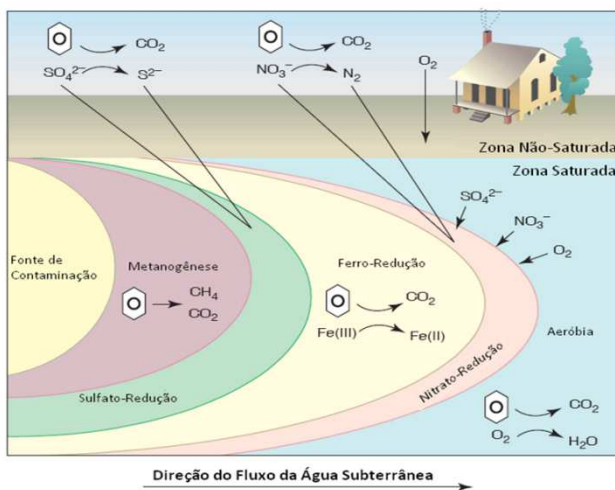
Em condições aeróbias, os BTEX são mineralizados a dióxido de carbono e água por meio de reações de óxi-redução. Os microrganismos usam o oxigênio molecular como receptor final de elétrons, enquanto os hidrocarbonetos servem como doador de elétrons ou fonte de energia (RISER-ROBERTS, 1992). Entretanto, a quantidade de oxigênio que pode ser dissolvida na água subterrânea é pequena e a taxa de difusão de oxigênio em regiões subsuperficiais é baixa. Dessa forma, a atividade de microrganismos aeróbios, que tem potencial para degradar hidrocarbonetos, pode extinguir rapidamente o oxigênio do ambiente, fazendo com que condições anaeróbias tornem-se predominantes no sistema (LOVLEY, 2000).

### **2.3.2. Biodegradação Anaeróbia**

Com a ausência de oxigênio no meio subsuperficial, os microrganismos anaeróbios começam a ter uma maior participação nas atividades de biodegradação. Esses passam a consumir outros receptores de elétrons, tais como, nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), manganês ( $\text{Mn}^{4+}$ ), ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) e gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) para realizar a oxidação da matéria orgânica. A utilização dos receptores de elétron se dá em uma ordem termodinâmica, ou seja, conforme a quantidade de energia que esses podem fornecer às células microbianas e, também, de acordo com a disponibilidade desses no meio (CHAPELLE, 2001).

Em um cenário de contaminação, normalmente formam-se zonas onde ocorrem diferentes processos de degradação, variando com a distância da fonte de contaminação. A presença de oxigênio inibe o crescimento e a atividade de microrganismos anaeróbios, mas, tipicamente, esse se encontra disponível apenas na franja da pluma de contaminação. Em condições anóxicas, os microrganismos anaeróbios passam a utilizar receptores de elétrons como nitrato, Fe(III) ou sulfato para realizar a oxidação dos contaminantes. Uma vez extintos os receptores de elétrons, o metabolismo anaeróbio prossegue pela

conversão da matéria orgânica à metano e dióxido de carbono. A produção de metano predomina próximo à fonte de contaminação, uma vez que, neste local há a maior concentração dos contaminantes que exercem uma maior demanda bioquímica de oxigênio, exaurindo todos os receptores de elétrons termodinamicamente mais favoráveis (LOVLEY, 2001). A Figura 3 mostra ilustra o fato mencionado.



**Figura 3 - Distribuição espacial dos processos de óxido-redução presentes em aquíferos contaminados com derivados de petróleo. Adaptado de: Lovley (2001).**

## 2.4. Tecnologias de Biorremediação

A biorremediação baseia-se na degradação bioquímica dos contaminantes por meio da atividade de microorganismos presentes ou adicionados no local de contaminação (BERNOTH et al., 2000).

Geralmente as tecnologias de biorremediação são classificadas em *in situ* ou *ex situ*. A biorremediação *in situ* visa o tratamento do contaminante no próprio local enquanto que na biorremediação *ex situ* o contaminante é tratado em outro lugar (AGGARWAL et al., 1990).

A remediação *in situ* pode ser descrita como o processo onde os poluentes orgânicos são biologicamente degradados em condições ambientais, seja para dióxido de carbono e água, ou para um produto de transformação atenuado. Constitui uma abordagem que é de baixo custo, envolve pouca manutenção e que é sustentável para a remediação de áreas contaminadas (MEGHARAJ et al., 2011).

Em virtude da necessidade de escavar a área contaminada para o tratamento, o custo da biorremediação *ex situ* pode ser consideravelmente mais alto. Além disso, ambos os métodos de remediação dependem essencialmente do metabolismo microbiano sendo que a remediação *in situ* é considerada mais vantajosa, uma vez que facilita a restauração das condições ecológicas do solo e água contaminados (JORGENSEN, 2007).

Dentre as estratégias de remediação disponíveis destacam-se a atenuação natural, que depende do processo natural de degradação, e a bioestimulação, onde a degradação dos compostos orgânicos é estimulada por meio da adição de nutrientes e receptores ou doadores de elétrons. A sustentabilidade de uma determinada tecnologia de remediação é determinada por vários fatores como as condições da área contaminada, população microbiana presente e tipo, quantidade e toxicidade do poluente presente (MEGHARAJ et al., 2011).

#### **2.4.1. Atenuação Natural Monitorada (AN)**

O processo de bioatenuação ou atenuação natural transforma os poluentes em formas menos tóxicas ou os imobiliza. Tal fato se deve em grande parte à biodegradação microbiana (SMETS, 2003) e, também, em menor fração, à presença natural de compostos químicos e sorção no solo (MEGHARAJ et al., 2011).

A biodegradação é, geralmente, o mecanismo mais significativo para a atenuação dos hidrocarbonetos, exceto próximo da superfície do solo onde o processo de volatilização tem papel mais expressivo. A biodegradação é mais lenta para os hidrocarbonetos sorvidos ao solo, enquanto para os hidrocarbonetos dissolvidos é relativamente mais rápida (CHAPELLE, 2001).

A atenuação natural é uma técnica muito empregada em solos e águas subterrâneas impactados por combustíveis (ATTEIA; GUILLOT, 2007). O tempo para a atenuação natural varia consideravelmente com as condições locais. Muitos locais não requerem intervenções agressivas o que torna a bioatenuação eficaz e menos dispendiosa (WIEDEMEIER et al., 1999). Apesar de a atenuação natural poder ser usada em diversas áreas contaminadas, raramente é possível empregá-la como única forma de tratamento, visto que, os processos de biodegradação sem intervenções de engenharia são lentos (MULLIGAN, 2004).

As principais limitações da utilização da AN são: longo período de monitoramento para acompanhamento do processo de remediação; variação nas condições hidrogeológicas (direção e velocidade do fluxo

da água subterrânea, disponibilidade dos doadores e receptores de elétrons); complicações na caracterização do local devido à heterogeneidade do aquífero; e toxicidade de produtos intermediários gerados durante a biodegradação do contaminante original (WIEDEMEIER et al., 1999).

As principais vantagens da utilização da AN em sistemas de remediação de águas subterrâneas contaminadas incluem: a biodegradação completa dos contaminantes e não somente a transferência de local ou mudança de fase dentro do ambiente, reduzindo a geração e transferência de resíduos; pode ser utilizada sozinha ou em conjunção com outras tecnologias de remediação (MULLIGAN, 2004; WIEDEMEIER et al., 1999); reduz os custos de remediação; é potencialmente mais aceita pelo público diminuindo os riscos de exposição humana; e é menos intrusiva (MULLIGAN, 2004; ALVAREZ, 2005).

#### **2.4.2. Bioestimulação (BS)**

Bioestimulação se refere à adição de nutrientes específicos, doadores ou receptores de elétrons em áreas contaminadas, de maneira a possibilitar que os microrganismos autóctones estejam presentes em número e variedade suficientes para degradar o contaminante (BHANDARI et al., 2007; SCOW e HICKS, 2005). A bioestimulação atua de forma a acelerar o processo de biodegradação natural por meio da otimização de determinadas condições ambientais como: teor de oxigênio, temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes (TRINDADE et al., 2005).

A bioestimulação pode ser efetivamente empregada usando nutrientes essenciais como carbono, nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio para acelerar a biodegradação de contaminantes, aumentando a densidade bacteriana (EVANS et al., 2003). Pode ser conduzida com sucesso *in situ*, bem como, *ex situ* utilizando bactérias aeróbias ou anaeróbias havendo a possibilidade de combinação com outros processos de biorremediação como, por exemplo, a fitorremediação (BHANDARI et al., 2007).

As reações aeróbias de biodegradação são termodinamicamente mais favoráveis, entretanto, o aumento na demanda bioquímica de oxigênio exercida pela presença de poluentes orgânicos, extingue o oxigênio dissolvido, resultando em condições fortemente redutoras associadas à metanogênese (CORSEUIL et al., 2011). Nesse sentido, as técnicas de biorremediação anaeróbias são geralmente mais vantajosas,

em especial, na região da fonte por se tratar de um ambiente predominantemente anaeróbio. Diversos estudos já demonstraram a viabilidade do uso de nitrato, ferro e sulfato para reduzir o tempo de degradação de hidrocarbonetos (CUNNINGHAM et al., 2001; ANDERSON; LOVELY, 2000 ; SCHREIBER; BAHR, 2002 ; BELLER et al., 1992)

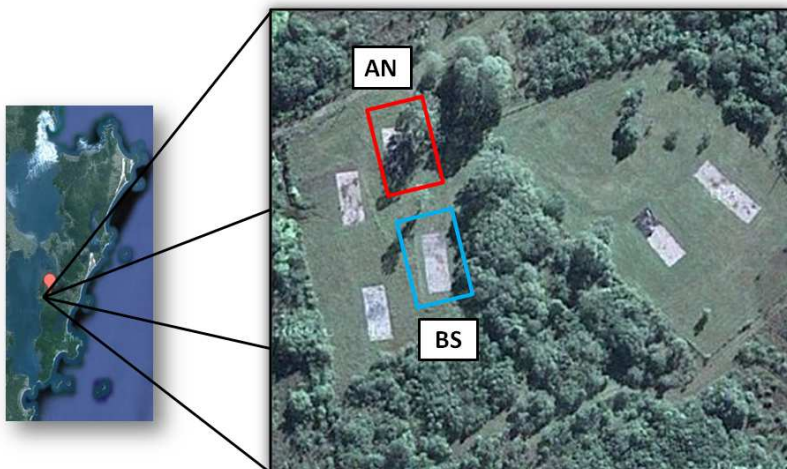
#### **i) Bioestimulação Metanogênica**

A adição de um substrato orgânico ao meio subsuperficial reduz a disponibilidade de oxigênio no ambiente, ocasionando a diminuição do potencial de óxido-redução. Dessa forma, surgem zonas redutoras que levam ao estabelecimento de condições metanogênicas, sendo essa a tendência natural de um aquífero impactado por compostos orgânicos. A adição de substrato orgânico ainda estimula o crescimento de microrganismos específicos associados à degradação anaeróbia de hidrocarbonetos de petróleo, acelerando o processo de degradação desses compostos (RAMOS et al., 2011).

### **3. Materiais e Métodos**

#### **3.1. Descrição dos Experimentos**

O presente estudo utilizará dados de dois projetos conduzidos pelo Laboratório de Remediação de Águas Subterrâneas (REMAS). Ambos os experimentos estão sendo realizados na Fazenda da Ressacada, propriedade da Universidade Federal de Santa Catarina, que está localizada próxima ao Aeroporto Hercílio Luz, no município de Florianópolis. A Figura 4 mostra a localização dos experimentos citados.



**Figura 4 - Localização da Fazenda Experimental da Ressacada. Foto aérea dos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS). Fonte: Google Maps (acesso em 27/11/2011).**

**a) Atenuação Natural**

Os dados referentes ao projeto “Alterações Biogeoquímicas em Águas Subterrâneas Impactadas por Biodiesel de Soja e Misturas de Diesel/Biodiesel (B20)” serão retirados do banco de dados do Laboratório. A metodologia empregada na obtenção dos dados foi feita conforme Chiaranda (2011).

**b) Bioestimulação Metanogênica**

Os dados provenientes do projeto “Bioestimulação de Processos Fermentativos<sup>1</sup> para Degradação Acelerada de Hidrocarbonetos de Petróleo em Águas Subterrâneas Contaminadas com Biodiesel B20” foram obtidos conforme Ramos et al. (2011) e serão descritos nos itens 3.2 e 3.3.

### **3.2. Área Experimental**

O experimento de campo está localizado na Fazenda experimental da Ressacada em Florianópolis. O clima local é úmido

---

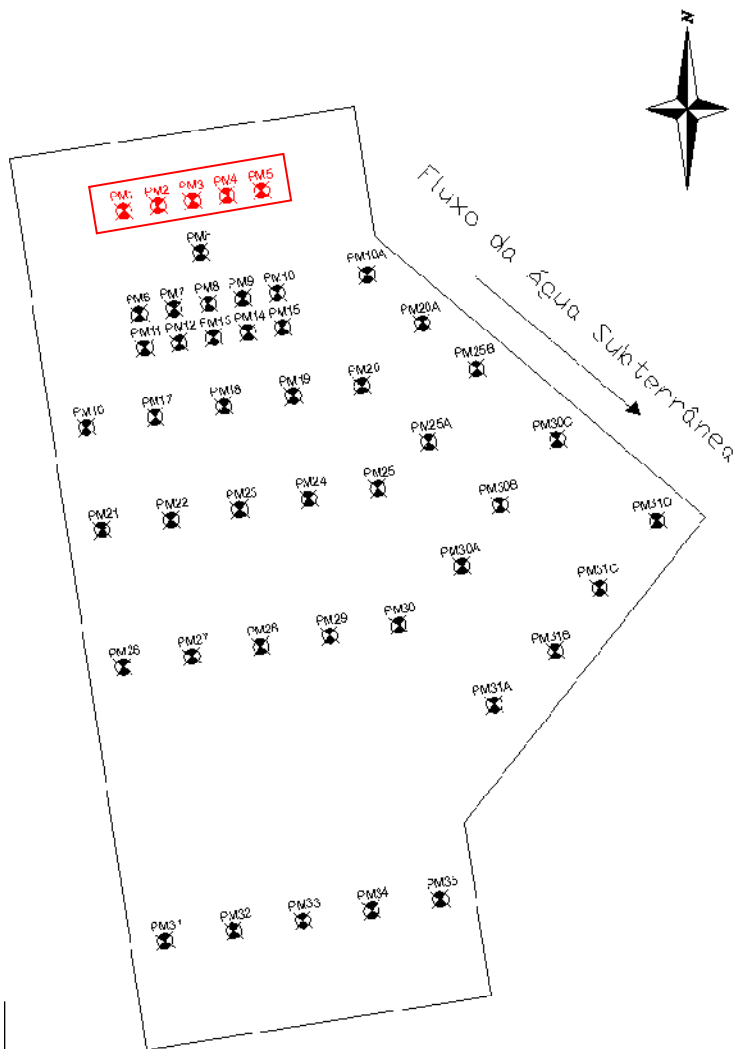
<sup>1</sup>Ao longo do estudo o termo “fermentativo” foi substituído por “metanogênico” por ser conceitualmente mais adequado.

mesotérmico com uma média anual de precipitação de 1165mm. A temperatura da água subterrânea é de aproximadamente 26°C no verão e 22°C no inverno. A camada subsuperficial é composta por 80% de areia fina, aproximadamente 5% de silte e menos que 5% de argila. A média de carbono orgânico no solo varia de 0,16% a 0,68%. A velocidade da água subterrânea na área experimental é de 6 metros/ano.

A fonte de contaminação foi estabelecida em uma área de 1m x 1m que foi escavada até 1,6m abaixo da superfície. Foram liberados 100L de B20 (80% diesel e 20% biodiesel) e 3kg do traçador brometo de potássio em julho de 2010. A área experimental possui 330m<sup>2</sup> e contém 41 poços de monitoramento e 5 poços de injeção com 5 profundidades (2, 3, 4, 5 e 6 metros) (RAMOS et al., 2011)

Para promover a bioestimulação metanogênica, um mês após a liberação da mistura B20, foi iniciado o procedimento de injeção do sal acetato de amônio nos poços de injeção localizados à montante da fonte de contaminação, procedimento esse realizado semanalmente. Para tanto, foi preparada uma solução de 25 litros de água subterrânea contendo 700g de acetato de amônio. Desta solução, injetava-se 1L em cada nível de profundidade dos 5 poços destacados em vermelho na Figura 5.





**Figura 5 – Layout área experimental. Em destaque os 5 poços de injeção, à montante da fonte de contaminação (em vermelho). Os demais 41 poços são utilizados para o monitoramento da área experimental.**

### 3.3. Análises da Água Subterrânea

Para avaliar as principais alterações geoquímicas das águas subterrâneas e a degradação dos compostos BTEX foram realizadas as análises descritas a seguir:

As análises de pH, potencial redox, oxigênio dissolvido e temperatura foram medidas em campo com um medidor de célula de fluxo (Flowcell MP20).

As análises de ferro (II) e sulfeto foram conduzidas em espectrofotômetro HACH-DR / 2500. Para o ferro (II), o método seguido foi 3500-Fe D- método 1,10 fenantrolina. Para sulfeto, foi utilizado o método 4500-S2 D- método colorimétrico azul de metileno (Standard Methods, APHA 2002).

Os ânions acetato, brometo, fosfato, nitrato, nitrito e sulfato foram analisados em um cromatógrafo de íons (Dionex, modelo ICS-1000), equipado com detector de condutividade iônica e coluna AS4A-SC. Carbonato e bicarbonato de sódio foram utilizados na fase.

Os compostos BTEX e metano foram analisados por meio de cromatografia à gás, equipada com detector de ionização de chama e coluna capilar (30m x 0,25mm x 0,25 mm). Os limites de detecção de cada composto analisado estão relacionados na Tabela 1.

**Tabela 1-Limites de detecção para os compostos analisados  
(Adaptado de Corseuil et. al, 2011).**

<b>Composto</b>	<b>Limite de detecção</b>
<b>Ferro II</b>	0,01 mg/L
<b>Sulfeto</b>	5 µg/L
<b>Acetato</b>	0,1 mg/L
<b>Brometo</b>	0,1 mg/L
<b>Fosfato</b>	0,1 mg/L
<b>Nitrato</b>	0,1 mg/L
<b>Nitrito</b>	0,1 mg/L
<b>Sulfato</b>	0,1 mg/L
<b>Metano</b>	10 µg/L
<b>Benzeno</b>	1 µg/L
<b>Tolueno</b>	1 µg/L
<b>Etilbenzeno</b>	1 µg/L
<b>m, p-Xileno</b>	2 µg/L
<b>o-Xileno</b>	2 µg/L

### **3.4. Cálculos de massa**

Os cálculos de massa foram realizados para diferentes períodos amostrais, desde antes da liberação do combustível até 13 meses decorridos do início do experimento, por meio do programa *Surfer 8.0*.

O cálculo da estimativa de massa corresponde à massa solubilizada de um composto de interesse em um volume pré-determinado. Neste trabalho, sempre que possível, foi empregado o método de interpolação da mínima curvatura. A opção pelo método da mínima curvatura foi feita com base no estudo realizado por Nunes (2006) que comparou diversos métodos de interpolação. Nesse estudo, foi constatado que o erro médio quadrático (RMSE) para o método da mínima curvatura foi menor do que para os demais avaliados.

Ao longo do desenvolvimento dos cálculos de massa, para determinadas variáveis, o método da mínima curvatura não convergiu devido à insuficiência de dados disponíveis. Nesses casos, o método aplicado foi o inverso da distância ponderada pelo fato do erro médio quadrático diminuir para esses dados. Os valores obtidos em cada cálculo de massa, assim como o método empregado, encontram-se no Anexo I. Para o emprego desses métodos, é necessária a definição de algumas variáveis que serão apresentadas a seguir:

#### **3.4.1. Porosidade**

Pelo fato de os dados de concentração serem expressos em unidades de massa de soluto por unidade de volume de água do aquífero ( $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e não possuírem caráter aditivo, é necessário converter os dados de concentração em variáveis aditivas. Assim, esses valores devem ser multiplicados pela porosidade efetiva do meio, a qual representa o volume drenante do meio poroso em estudo. Para os experimentos da Fazenda da Ressacada, utiliza-se o valor de 0,20 - característico de solos arenosos - que foi determinado experimentalmente no Laboratório de Solos da Universidade Federal de Santa Catarina (FERNANDES, 2002).

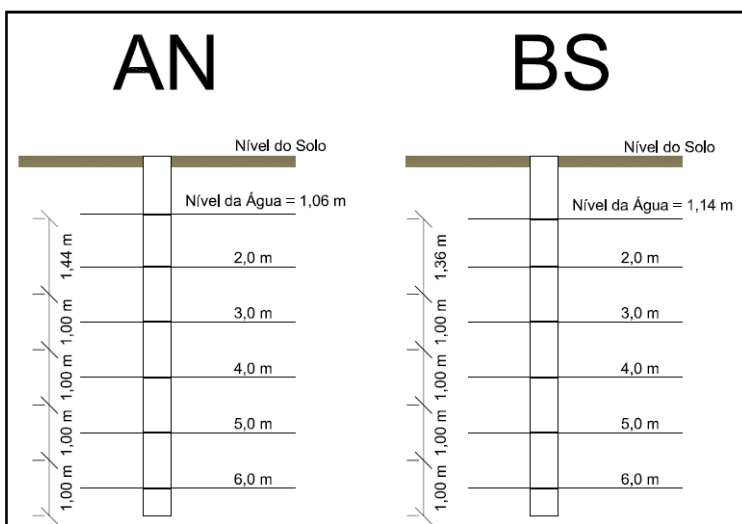
#### **3.4.2. Profundidade de Influência**

Em razão de a análise realizada ser bidimensional, as densidades volumétricas das concentrações ( $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{mg.L}^{-1}$ ) devem ser convertidas em densidades por área do aquífero ( $\text{mg.m}^{-2}$  ou  $\text{g.m}^{-2}$ ) multiplicado-se pela espessura da camada da pluma.

A profundidade de influência, ou espessura da camada, é determinada a partir do nível médio do lençol freático (obtido por monitoramento) e dos níveis dos poços de monitoramento.

A determinação da primeira camada foi feita da seguinte forma:

- 1) Mediu-se a distância do nível do lençol até o primeiro ponto de monitoramento (na Figura 6, distância de 1,06m até 2,00m, ou seja, 94cm para a atenuação natural e 1,14m até 2,00m, ou seja, 86cm para a bioestimulação metanogênica);
- 2) Determinou-se a metade da distância do primeiro nível de monitoramento até o segundo nível (na Figura 6, metade da distância entre 2,00m e 3,00 m), ou seja, 50 cm;
- 3) Assim, a profundidade de influência da primeira camada é dada pela soma dos dois valores determinados (na Figura 6; 94 cm mais 50 cm (1,44 m) para a atenuação natural e 86 cm mais 50 cm (1,36 m) para a bioestimulação metanogênica).



**Figura 6 - Esquema das profundidades de influência para os experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS).**

Para as camadas subsequentes, devido à distância padrão de 1m entre os níveis de profundidade nos dois experimentos, a camada de

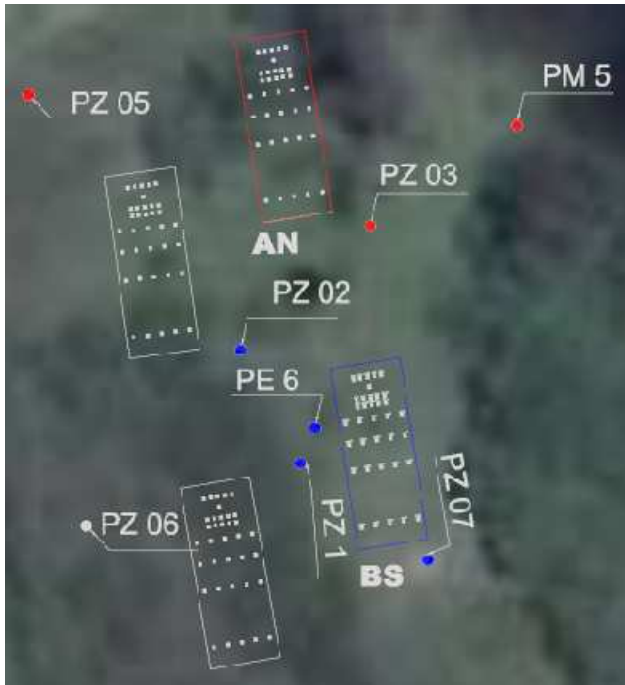
influência resultante sempre foi de 1m, iniciando e terminando na metade da distância entre níveis.

#### **a) Atenuação Natural**

Para o experimento da atenuação natural foram usados dados de novembro de 2007 até agosto de 2009. Para a determinação do nível médio do lençol freático foram utilizados os poços PM5, PZ03 e PZ05 devido à sua maior proximidade dessa área experimental. Os poços citados encontram-se destacados em vermelho na Figura 7.

#### **b) Bioestimulação Metanogênica**

Para o experimento da bioestimulação metanogênica foram usados dados de outubro de 2009 até julho de 2011. Para a determinação do nível médio do lençol freático foram utilizados os poços PZ01, PZ02, PZ07 e PE6 devido à maior proximidade desses à área experimental. Os poços citados encontram-se destacados em azul na Figura 7.



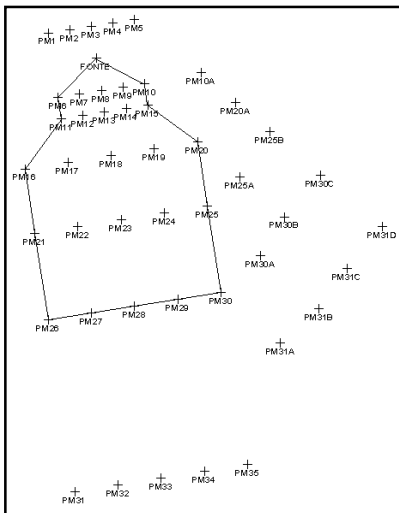
**Figura 7 - Piezômetros (PZ), poço estratigráfico (PE) e poço de monitoramento (PM) utilizados na determinação do nível médio do lençol freático. Os poços PM5, PZ03 e PZ05 (em vermelho) foram utilizados para o experimento de atenuação natural (AN) e os poços PZ01, PZ02, PZ07 e PE6 (em azul) foram utilizados para o experimento da bioestimulação metanogênica (BS).**

### **3.4.3. Definição da Área**

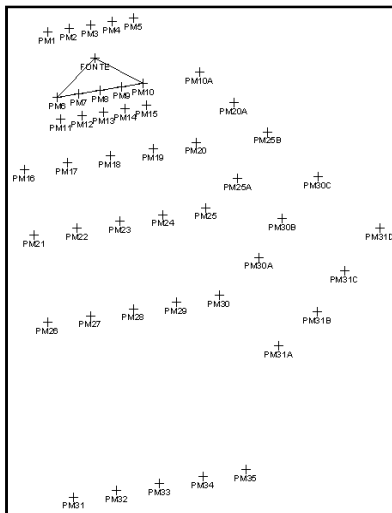
O cálculo da massa implica, finalmente, em definir uma área para a qual este cálculo deve ser efetuado, bem como, se dispor das coordenadas (geográficas ou relativas) de cada ponto de amostragem. Dessa forma, o *software Surfer 8.0*, faz uma simplificação por meio de algoritmos de integração numérica obtendo-se o valor da massa presente em cada nível de influência. O algoritmo escolhido foi o de Simpson (WANG et al., 2005).

Neste estudo foram usados os dados dos poços de monitoramento PM6 ao PM30 e FONTE. A Figura 8 ilustra a área definida neste estudo que, foi igual para os dois experimentos, visto que a disposição espacial dos poços relativa à posição da fonte de contaminação é mesma nos dois casos. A definição da área de estudo foi feita conforme a disponibilidade de dados dos poços contidos dentro do perímetro definido, minimizando assim eventuais erros de interpolação.

Ao longo do desenvolvimento do estudo, houve a necessidade do estabelecimento de uma nova área de influência, mais restrita à região da fonte, para a análise do comportamento dos BTEX. Este procedimento foi necessário porque a biodegradação dos compostos BTEX se deu somente na região da fonte (Figura 9) e não na área de influência considerada na Figura 8. Entretanto, em relação aos receptores de elétrons, manteve-se o cálculo para a área da Figura 8, pois, por serem completamente solúveis, eles migram ao longo do tempo para poços mais afastados da fonte e precisam ser considerados no cálculo de massa. Os poços incluídos na análise restrita à região da fonte foram: FONTE, PM6, PM7, PM8, PM9 e PM10. A Figura 9 mostra a referida área de influência.



**Figura 8 - Área de influência definida para a realização dos cálculos de massa.**



**Figura 9 - Área de influência definida para a análise do comportamento dos BTEX.**

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Cálculos de Massa

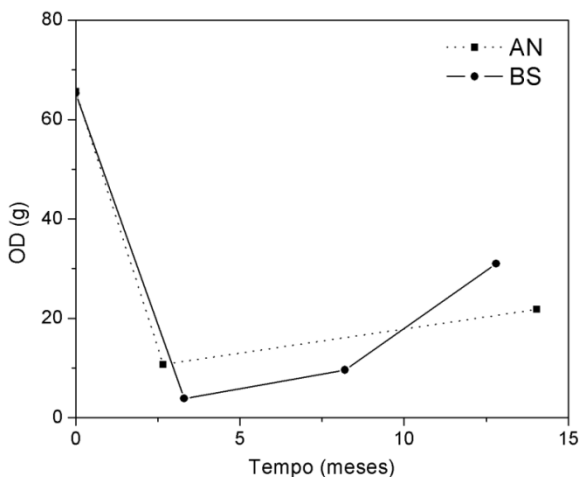
Para todas as campanhas amostrais consideradas neste estudo (três coletas para a AN e quatro coletas para a BS), foi realizado o cálculo da massa dissolvida presente no momento da coleta. O cálculo foi realizado para cada um dos cinco níveis de influência individualmente e após este passo, foi feita a soma dos valores encontrados obtendo-se a massa total. Nos itens subsequentes serão demonstradas as massas totais obtidas ao longo do desenvolvimento dos experimentos.

#### 4.1.1. Oxigênio Dissolvido

O comportamento de decréscimo do oxigênio dissolvido (OD) observado nos três primeiros meses do experimento está de acordo com o esperado, uma vez que houve um consumo acentuado do OD após a liberação do contaminante. Após esse período, o aumento da massa de OD foi devido à recarga do aquífero. De fato, como duas amostragens



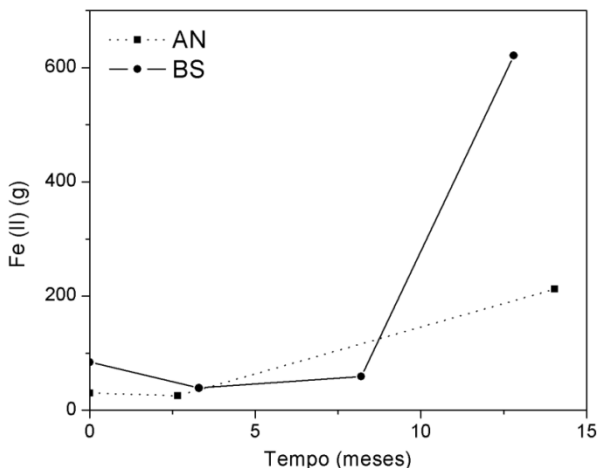
foram feitas em períodos semelhantes do ano, acredita-se que se trata de uma variação sazonal referente à precipitação local.



**Figura 10 - Comportamento do oxigênio dissolvido, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).**

#### **4.1.2. Ferro Ferroso**

Para verificar a ocorrência de ferro-redução, analisou-se apenas a forma reduzida do ferro (ferro ferroso  $\text{Fe}^{2+}$ ) visto que a sua forma oxidada (ferro férrico,  $\text{Fe}^{3+}$ ) não é solúvel em água, o que inviabiliza a sua análise em amostras aquosas.



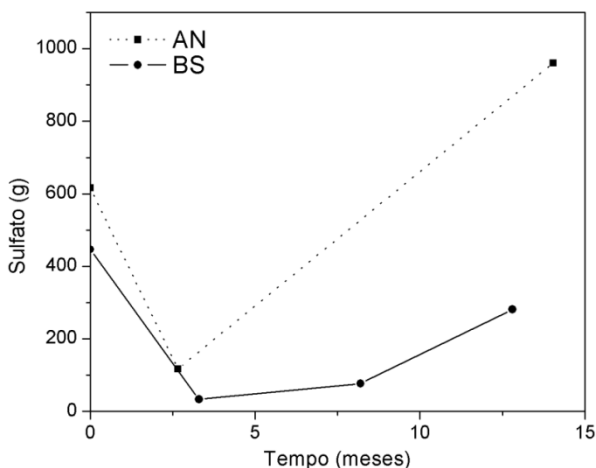
**Figura 11 - Comportamento do ferro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).**

Observa-se que houve o aumento da massa do composto nas duas áreas experimentais, sendo tal resultado um possível indício do processo de degradação do contaminante via ferro-redução (Figura 11). Entretanto, deve-se considerar também a possibilidade de que parte do  $\text{Fe}^{2+}$  detectado seja proveniente do próprio solo. Observa-se que a massa de  $\text{Fe}^{2+}$  encontrada aos 13 meses do início dos experimentos foi quase três vezes maior no experimento da bioestimulação metanogênica que no experimento de atenuação natural.

Estudos anteriores (CACCAVO et al., 1994; ANDERSON et al., 1998; HORI et al., 2007) demonstraram que as bactérias ferro-redutoras tem afinidade pelo acetato, podendo utilizá-lo como fonte de energia. Holmes et al. (2004) observou crescimento significativo de bactérias ferro-redutoras, assim como maiores taxas de redução de  $\text{Fe(III)}$  em resposta a adição de acetato ao meio. Dessa forma, a maior massa de  $\text{Fe}^{2+}$  no experimento de BS pode ser atribuída às injeções de acetato de amônio que estimularam os microrganismos específicos associados à degradação dos contaminantes via ferro-redução.

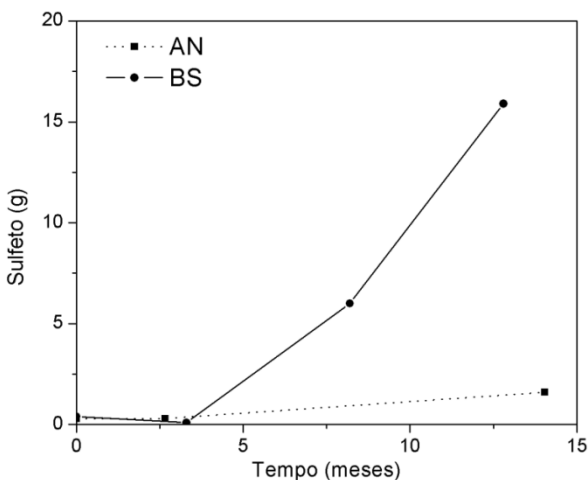
### 4.1.3. Sulfato/Sulfeto

A massa dissolvida de sulfato reduziu nos três primeiros meses do experimento, aumentando nos meses subsequentes. Esse comportamento é atribuído ao processo de recarga do aquífero que, provavelmente, transportou sulfato contido em regiões à montante das fontes de contaminação. Entretanto, observa-se que a massa de sulfato presente no experimento da atenuação natural é cerca de três vezes superior à massa do composto presente no experimento da bioestimulação metanogênica (Figura 12). Ao se analisar comparativamente esses resultados pode se supor que tenha ocorrido um maior consumo de sulfato no experimento da bioestimulação metanogênica pelo processo de sulfato-redução.



**Figura 12 - Comportamento do sulfato, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).**

Com o intuito de verificar a ocorrência do processo de sulfato-redução, foi calculada a massa sulfeto, forma reduzida do sulfato, presente ao longo do tempo nas áreas experimentais.



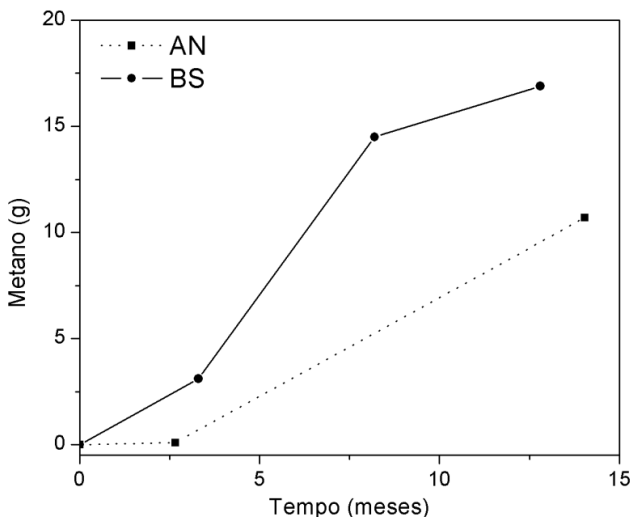
**Figura 13 - Comportamento do sulfeto, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).**

A partir dos resultados obtidos, observa-se que a massa de sulfeto encontrada no experimento da BS foi cerca de 10 vezes maior que no experimento de AN. Isso corrobora com o comportamento da massa de sulfato observado anteriormente.

A maior massa de sulfeto presente no experimento da BS pode ser atribuída à estimulação da biomassa realizada por meio das injeções de acetato de amônio. De fato, Anderson et al. (2003) realizaram um estudo com bioestimulação onde foram feitas injeções regulares de acetato de sódio e observou-se que isso promoveu o crescimento de microrganismos sulfato-redutores. Dessa forma, esse fato poderia justificar a maior produção de sulfeto e a menor concentração de sulfato detectada no experimento de bioestimulação.

#### **4.1.4. Metano**

Os resultados da análise de metano revelaram um aumento contínuo da massa dissolvida ao longo do tempo nos dois experimentos, demonstrando de que forma se deu o estabelecimento de condições metanogênicas nos experimentos (Figura 14).



**Figura 14 - Comportamento do metano, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).**

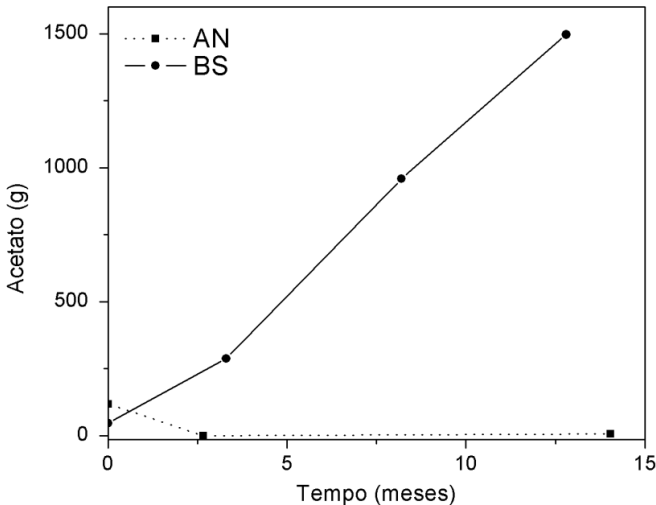
Foi constatado que houve um aumento mais acentuado na massa de metano no experimento da BS que no da AN. Isso é um indicativo de que houve o estabelecimento de condições metanogênicas a uma taxa mais elevada no experimento da BS. Isso é atribuído ao fato do acetato ser um substrato orgânico facilmente degradável e o amônio fonte de nitrogênio, nutriente necessário para o crescimento celular. Dessa forma, houve a estimulação de microorganismos específicos, dentre eles os metanogênicos. Diversos estudos demonstraram a afinidade que as bactérias metanogênicas têm pelo acetato (ZEHNDER et al., 1980, KLEIKEMPER, 2005) e que a adição de acetato ao meio aumentou a produção de metano (HORI et al., 2007).

Adicionalmente, a presença de acetato de amônio exerce uma forte demanda bioquímica de oxigênio, levando o aquífero à condições fortemente redutoras, associadas à metanogênese. Portanto, a maior produção de metano observada no experimento de bioestimulação pode ser atribuída à estimulação de microorganismos metanogênicos e ao estabelecimento de zonas anaeróbias fortemente redutoras associadas à presença do acetato de amônio.

#### 4.1.5. Acetato

O acetato é um metabólito do processo de biodegradação dos BTEX, e a pequena massa encontrada no experimento de atenuação natural (Figura 15) pode ser um indicativo de que houve pouca biodegradação do contaminante no período analisado. Outro fator que pode explicar a pequena massa de acetato no experimento de AN seria sua conversão à metano pelas bactérias metanogênicas, visto que há produção de metano nessa área.

A massa mais elevada no experimento de bioestimulação se deve, em grande parte, às injeções semanais de acetato de amônio. Entretanto, deve-se considerar que parte do acetato detectado no experimento pode também ser proveniente da degradação dos BTEX.

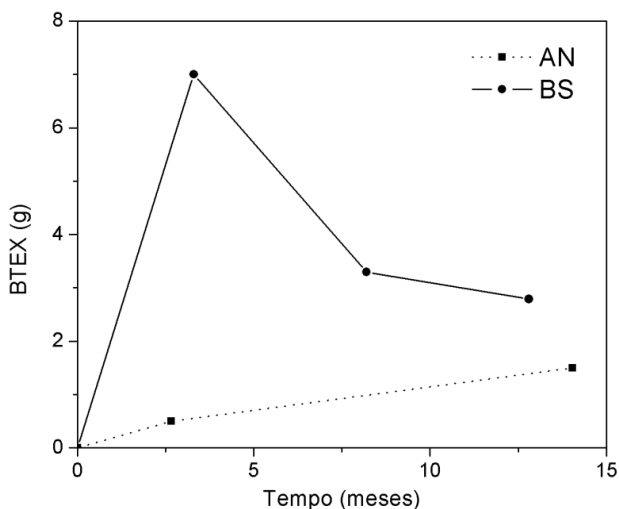


**Figura 15 - Comportamento do acetato, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo para a massa total (soma da massa dos cinco níveis).**

#### 4.1.6. BTEX

Em cálculos prévios, para a área de influência considerada na Figura 8, verificou-se que, para todo o período analisado, a fase predominante era a da liberação dos compostos BTEX para o meio. Assim, conforme exposto no item 3.4.3, para o cálculo da massa dos compostos BTEX foi considerada apenas a região da fonte, pois o processo de biodegradação no tempo considerado se restringiu a essa

área (Figura 9). Desta forma, foi feito um novo cálculo de massa, restrito à região da fonte, para se verificar o comportamento do contaminante. O novo cálculo de massa mostrou indícios da existência de processos de degradação dos BTEX. Nestes cálculos levando em consideração somente a região da fonte, não foram incluídos os dados do nível de 2m de profundidade já que durante determinados períodos amostrais, não havia água neste nível, inviabilizando o processo de bombeamento para coleta da amostra. Dessa forma, a Figura 16 mostra o comportamento da soma das massas dos níveis de 3m, 4m, 5m e 6m de profundidade.



**Figura 16 - Comportamento dos BTEX na área restrita à fonte de contaminação, ao longo do tempo após a liberação do combustível, nas áreas de estudo (soma das massas dos níveis 3m, 4m, 5m e 6m de profundidade).**

No cenário, restrito à região da fonte de contaminação, observa-se que para o período analisado, a massa de BTEX no experimento de BS reduziu ao longo do tempo enquanto que no experimento de AN a massa continuou aumentando. Isso indica que, até o presente momento, o processo de biodegradação está podendo estar ocorrendo no experimento de BS, porém, somente na região da fonte de contaminação. Com relação ao experimento de AN, a atenuação dos compostos BTEX ainda não foi detectada na área experimental, o que é coerente uma vez que a

atenuação natural é um processo mais lento por não dispor de intervenções de engenharia para acelerar a remediação.

## 4.2. Discussão

Com base nos resultados obtidos nos cálculos de massa, observa-se que, no período analisado, as alterações geoquímicas ocorreram mais significativamente no experimento da BS. A aceleração e maior intensidade observada nos processos de degradação são atribuídas às injeções semanais de acetato de amônio, uma vez que ambos os experimentos contém 100L de B20 e mesmo assim, foram observadas diferenças entre os dois experimentos.

Decorridos 13 meses do início do experimento a massa de  $\text{Fe}^{2+}$  observada no experimento da BS foi quase três vezes maior do que a massa de observada no experimento de AN. Tal resultado pode ser atribuído ao estímulo promovido pelas injeções de acetato de amônio à microrganismos específicos associados a ferro-redução. Vários estudos demonstraram a relação entre a presença de acetato e o crescimento de microrganismos (CACCAVO et al., 1994; ANDERSON et al., 1998; HORI et al., 2007).

Com relação ao sulfato, foi observada uma menor concentração deste receptor de elétrons no experimento da bioestimulação metanogênica aos 13 meses do início do experimento quando comparado ao experimento de atenuação natural. Isso sugere que houve um consumo de sulfato no experimento da bioestimulação metanogênica para a realização do processo de sulfato-redução. De fato, a massa de sulfato encontrada no final do período analisado foi cerca de 10 vezes maior no experimento da bioestimulação metanogênica. Esses dois fatores se complementam e são fortes indicativos da ocorrência mais acentuada do processo de sulfato-redução no experimento da bioestimulação metanogênica. Tal fato corrobora com o que foi observado no estudo realizado por Anderson et al. (2003) que estabeleceu uma relação direta entre as injeções de acetato e o crescimento de bactérias capazes de realizar sulfato-redução.

A massa de metano presente nos três primeiros meses dos experimentos foi cerca de 60 vezes maior no experimento da bioestimulação metanogênica quando comparado ao experimento da atenuação natural. No experimento da atenuação natural, a maior parte do acetato, possivelmente, é proveniente da degradação do próprio biodiesel, uma vez que não foi detectada a existência de processos de degradação dos BTEX nesta área experimental. Dessa forma, nos três



primeiros meses do experimento não foi observada uma presença significativa de metano. Em contrapartida, devido à grande disponibilidade de acetato no experimento da bioestimulação metanogênica, o processo de metanogênese foi observado desde o início do experimento uma vez que o acetato é um dos principais substratos para a metanogênese (FERRY, 1993; CONRAD, 1999). Aos 13 meses do início do experimento, a massa de metano encontrada no experimento da bioestimulação metanogênica foi aproximadamente 1,5 vezes maior que no experimento da atenuação natural. Esse é outro fato que indica que o estabelecimento de condições metanogênicas se deu de forma mais rápida e intensa no experimento da bioestimulação metanogênica.

Com relação ao acetato, a massa presente no experimento da bioestimulação metanogênica é muito superior à do experimento da atenuação natural. Esse fato era esperado visto que são realizadas semanalmente injeções de acetato de amônio. Entretanto, ao se avaliar conjuntamente as massas das espécies reduzidas (ferro ferroso e sulfeto) e do metano, têm-se fortes indícios de que parte do acetato encontrado no experimento da bioestimulação metanogênica pode também ser proveniente da biodegradação dos BTEX, uma vez que, na região da fonte, foi observada a atenuação desses compostos.

Ao se analisar a área restrita à região da fonte, constatou-se que para o experimento da atenuação natural não houve redução da massa do contaminante em nenhum momento do período amostral avaliado. Em contrapartida, no experimento da BS, verificou-se que a massa do composto começou a reduzir ainda nos oito primeiros meses do experimento. Isso se deve em parte à maior dispersão do poluente provocada pelas injeções de acetato de amônio, possivelmente à volatilização e, com base nas análises geoquímicas, à biodegradação do contaminante.

## **5. Conclusão**

Com base nos dados analisados, foi observado que as alterações geoquímicas ocorreram de forma mais acentuada no experimento da bioestimulação metanogênica. Por meio do acompanhamento das massas dos metabólitos de degradação como metano, ferro ferroso e sulfeto, foi possível observar as diferentes condições geoquímicas que se estabeleceram ao longo do tempo, nos dois experimentos. A produção desses metabólitos de degradação foi significativamente maior no experimento de bioestimulação metanogênica do que o experimento de

atenuação natural. Uma vez que ambos os experimentos estão expostos à mesma quantidade e ao mesmo contaminante (B20), a aceleração das alterações geoquímicas no experimento de bioestimulação metanogênica se justifica pelas injeções contínuas de acetato de amônio.

Os resultados demonstraram que a bioestimulação metanogênica exerceu uma influência positiva sobre a degradação dos BTEX, na região da fonte de contaminação. Enquanto que no experimento BS a atenuação dos BTEX passou a ocorrer ainda nos primeiros oito meses do experimento, tal resultado não foi observado em nenhum período amostral no experimento de AN. A redução no tempo de atenuação dos contaminantes se deve, também, à presença do acetato de amônio, o qual é capaz de estimular microorganismos específicos associados à degradação anaeróbia dos BTEX. Dessa forma, pode-se concluir que, pela avaliação das alterações geoquímicas, bem como, pelo cálculo da massa do contaminante ao longo do tempo, a bioestimulação metanogênica foi capaz de acelerar a degradação dos BTEX, na região da fonte de contaminação, uma vez que, para o mesmo período amostral, não foram evidenciados processos de degradação no experimento de atenuação natural.

## 6. Bibliografia

AGGARWAL, P.K., MEANS, J.L., HINCHEE, R.E., HEADINGTON, G.L., GAVASKAR, A.R. Methods to select chemicals for in-situ biodegradation of fuel hydrocarbons, Tyndall AFB, **Air Force Engineering and Services Center**, Florida, 1990.

ALVAREZ, P.J.J.; ILLMAN, W. **Bioremediation and Natural Attenuation of Groundwater Contaminants: Process Fundamentals and Mathematical Models**. New Jersey: John Wiley & Sons Hoboken, 2005, p. 436.

ALVAREZ, P.J.J., VOGEL, T.M. Degradation of BTEX and their aerobic metabolites by indigenous microorganisms under nitrate reducing conditions. **Water Science and Technology**, v.31, n.1, p.15-28, 1995.

ANDERSON, R.T., LOVLEY, D.R.. Anaerobic bioremediation of benzene under sulfate-reducing conditions in a petroleum-contaminated aquifer. **Environmental Science and Technology**.v.34,n.11, p.2261–2266, 2000.

ANDERSON R. T., ROONEY-VARGA J. N., GAW C. V., LOVLEY D. R. Anaerobic benzene oxidation in the Fe(III) reduction zone of petroleum-contaminated aquifers. **Environ. Sci. Technol.** v.32, p.1222–1229, 1998.

ANDERSON, R. T., VRIONIS, H. A., ORTIZ-BERNAD, I.; RESCH, C. T.; LONG, P. E., DAYVAULT, R., KARP, K., MARUTSKY, S., METZLER, D. R., PEACOCK, A., WHITE, D. C.; LOWE, M., LOVLEY, D. R. Stimulating the in situ activity of *Geobacter* species to remove uranium from the groundwater of a uranium-contaminated aquifer. **Appl. Environ. Microbiol.** v.69, p.5884–5891, 2003.

ATTEIA, O; GUILLOT, C. Factors controlling BTEX and chlorinated solvents plume length under natural attenuation conditions. **J ContamHydrol**, v.90, p. 81–104, 2007.

BARNWAL, B.K.; SHARMA, M.P.. Prospects of biodiesel production from vegetable oils in India. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 9, p.363-378, 2005.

BEDIENT, P. B; NEWELL, C. J.; RIFAI, H. S. **Ground water contamination: transport and remediation**. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall PTR, 1997.

BELLER, H.R., GRBIC-GALI, D., REINHARD, M. Microbial degradation of toluene under sulfate-reducing conditions and the influence of iron on the process. **Applied and. Environmental Microbiology**. v.58, n.3, p.786-793, 1992.

BERNETH, I.; FIRTH, I.; MCALLISTER, P. & RHODES, S. Biotechnologies for remediation and pollution control in the mining industry. **Miner. Metall. Proc.**, n.17, p.105-111, 2000.

BHANDARI, A.; SURAMPALLI, R. Y.; CHAMPAGNE, P.; ONG, S. K.; TYAGI, R. D.; Lo, I. M. C. **Remediation Technologies for Soils and Groundwater**; American Society of Civil Engineers, Reston, VA, 2007.

BRASIL. Lei n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. Lex: Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>> Acesso em 16 jul. 2011.

CACCAVO, F., LONERGAN, D.J., LOVELY, D.R., DAVIS, M., STOLZ, J.F., MCINERNEY, M.J. *Geobactersulfurreducens* sp. nov., a hydrogen-, and acetate-oxidizing dissimilatory metal-reducing microorganism. **Appl Environ Microbiol**, v.60, p. 3752–3759, 1994.

CHAPELLE, F. H. **Groudwatermicrobiology and geochemistry**. 2. ed. New York: John Wiley&Sons, Inc., 2001.

CHIARANDA, H.S. **Alterações biogeoquímicas em águas subterrâneas impactadas por biodiesel de soja e misturas de diesel/biodiesel (B20)**. 2011. 221f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

CONRAD, R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments [review]. **FEMS Microbiol Ecol**. v.28, p.193–202, 1999.

CONSELHO NACIONAL DE POLÍTICA ENERGÉTICA - CNPE. Estabelece em cinco por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, de acordo com o disposto no art. 2º da Lei no 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Resolução N° 6, de 16 de setembro de 2009.

CORSEUIL, H. X., MONIER, A. L., FERNANDES, M., SCHNEIDER, M.R., NUNES, C.C., DO ROSARIO, M, ALVAREZ, P.J.J. BTEX plume dynamics following an ethanol blend release: geochemical footprint and thermodynamic constraints on natural attenuation. **EnvironSciTechnol**. v. 45, p. 3422–3429, 2011.

COSTA, Ana Hilda Romero. **Bioestimulação com injeção de nitrato em águas subterrâneas impactadas por derramamento de gasolina com etanol**. 2008. 229 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

CUNNINGHAM, J.A.; RAHME, H.; HOPKINS, G.D.; LEBRON, C. & REINHARD, M. Enhanced in situ bioremediation of BTEX-contaminated groundwater by combined injection of nitrate and sulfate. **Environmental Science and Technology**, v.35, p.1663-1670, 2001.

DOU, J. et al. Anaerobic BTEX biodegradation linked to nitrate and sulfate reduction, **Journal of Hazardous Materials**, v.151, p.720-729, 2008.

DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. **Energy Conversion and Management**, v.50, p.14-34, 2009.

EVANS, G. M.; FURLONG, J. C. **Environmental Biotechnology: theory and applications**. John Wiley and Sons, West Sussex, UK, 2003.

FERNANDES, M. **Atenuação natural da contaminação de aquífero submetido a derramamento de gasolina**. 2002. 213 f. Tese (Doutorado em Química) – Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

FERRY, J. G. **Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics**. New York: Chapman & Hall, 1993.

GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, v.86, p.1097-1107, 2005

GOMES, A. P. N. **Biodegradação de biodiesel de soja, mamona e hidrocarbonetos monoaromáticos em ambientes aquáticos**. Florianópolis. 2008. 102p. Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental – Universidade Federal de Santa Catarina.

HOLLIGER, C., GASPARD, S., GLOD, G., HEIJMAN, C., SCHUMACHER, W., SCHWARZENBACH, R.P., VAZQUEZ, F. Contaminated environments in the subsurface and bioremediation: organic contaminants, **FEMS Microbiology Reviews**, v.20, p.517-523, 1997.

HOLMES, D.E., NEVIN, K.P., AND LOVLEY, D.R. In situ expression of Geobacteraceae in subsurface sediments. **Appl Environ Microbiol.** v.70, p.7251–7259, 2004.

HORI, T., NOLL, M., IGARASHI, Y., FRIEDRICH, M.W., CONRAD, R. Identification of acetate-assimilating microorganisms under methanogenic conditions in anoxic rice field soil by comparative stable isotope probing of RNA. **Appl Environ Microbiol.**v.73, p.101–109, 2007.

JORGENSEN, K.S., In situ bioremediation. **AdvApplMicrobiol**, v. 61, p. 285–305, 2007.

KLEIKEMPER, J., POMBO, S.A., SCHROTH, M.H., SIGLER, W.V., PESARO M., ZEYER, J. Activity and diversity of methanogens in a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer. **Appl Environ Microbiol**, v. 71, p. 149–158, 2005.

LAPUERTA M. et. al., Effect of biodiesel fuels on diesel engine emissions. **ProgrEnergy Combust Sci**, v.34, p. 198–223, 2008.

LEUNG, D.Y.C. ; KOO, B.C.P. ; GUO, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions. **Bioresource Technology**. v. 97, p. 250-256, 2006.

LOVLEY, D.R. Anaerobes to the rescue. **Science**, v. 293, p. 1444–1446, 2001.

LOVLEY, D. R. Cleaning up with genomics: applying molecular biology to bioremediation. **Nature Rev. Microbiol**. v. 1, p. 35–44, 2003.

LOVLEY, D.R., CHAPELLE, F.H., Deep subsurface microbial processes. **Rev. Geophys**. v. 33, p.365–381, 1995.

MEGHARAJ, M.; RAMAKRISHNAN, B.; VENKATESWARLU, K.; SETHUNATHAN, N. NAIDU, R., Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective. **Environmental International**, v.37, p. 1362-1375, 2011.

MEHLMAN, M.A., Dangerous and cancer-causing properties of products and chemicals in the oil refining and petrochemical industry. VIII. Health effects of motor fuels: carcinogenicity of gasoline-scientific update, **Environ. Res.**, v. 59, p. 238–249, 1992.

MELLO, F. O. T.; PAULILLO, L. F.; VIAN, C. E. F. O BIODIESEL NO BRASIL: panoramas, perspectivas e desafios. **InformaçõesEconômicas**, v.37, n.1, 2007.

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N. Natural attenuation of contaminated soils. **Environ. Int.**, v.30, p. 587–601, 2004.

NUNES, C.C. **Dinâmica da Variação de Receptores de Elétrons e Subprodutos Metabólicos em Águas Subterrâneas impactadas por Derramamentos de Gasolina com Etanol.**2006. 244f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). UFSC, Florianópolis (SC), 2006.

RAMOS, D.T.; CHIARANDA, H.S. SILVA, M.L.B. and CORSEUIL, H.X. Assessment of Stimulatory Fermentative Processes to Enhance Natural Attenuation of Groundwater Contaminated with Biodiesel (B20)..In:International Symposium on Bioremediation and Sustainable Environmental Technologies, July 2011, Reno. Proceedings of International Symposium on Bioremediation and Sustainable Environmental Technologies, 2011.

RAMOS, L. P.; DOMINGOS, A. K.; KUCEK, K. T.; WILHELM, H. M. Biodiesel: Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**. v. 31, p. 28-37, 2003.

PARENTE, E. J. S. **BIODIESEL: Uma aventura tecnológica num país engraçado.** Fortaleza: Tecbio, 2003. 68 p.

SALANITRO, JP. The role of bioattenuation in the management of aromatic hydrocarbon plumes in aquirers. **Ground Wat Monitor Remed.** v.13, p. 150-161, 1993.

SCHLEICHER, T. et al. Microbiological stability of biodiesel–diesel-mixtures, **Bioresource Technology**, v.100, p.724-730, 2009.

SCHREIBER, M.E. AND BAHR, J.M. Nitrate-enhanced bioremediation of BTEX-contaminated groundwater: parameter estimation from natural-gradient tracer experiments. **Journal of Contaminant Hydrology**, v.55, p.29-56, 2002.

SCOW, K.M., HICKS, K.A., Natural attenuation and enhanced bioremediation of organic contaminants in groundwater, **Curr. Opin. Biotechnol**, v. 16, p. 246–253, 2005.

SMETS, BF., Elucidating the microbial component of natural attenuation. **Curr Opin Biotechnol**, v.14, p. 283–288, 2003.

TRINDADE, L.G., SOBRAL, A.C.L. RIZZO, S.G.F. LEITE, A.U. Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study. **Chemosphere**, v. 58, p. 515–522, 2005.

WANG, P.P., ZHENG, C. & GORELICK, S.M. A general approach to advective-dispersive transport with multirate mass transfer. **Advances in Water Resources**, v. 28, p.33-42, 2005.

WIEDEMEIER, T.H., RIFAI, H.S., NEWEL, C.J. & WILSON, J.T. - **Natural Attenuation of Fuels and Chlorinated Solvents in the Subsurface**. New York: John Wiley & Sons, Inc.,1999.

YANG, H., JIANG, Z., SHI, S. Aromatic compounds biodegradation under anaerobic conditions and their QSBR models. **Sci Total Environ**, n.358, p. 265–276, 2006.

ZEHNDER, A. J. B., Huser, B. A., Brock, T. D., Wuhrmann, K. Characterization of an acetate-decarboxylating non-hydrogen-oxidizing methane bacterium. **Archives of Microbiology**, v. 124, p. 1-11, 1980.



## **ANEXO I**

Serão mostrados a seguir os valores obtidos por meio dos cálculos de massa. Na maioria das situações foi possível empregar o método da mínima curvatura. Os casos em que foi necessária a utilização do método do inverso da distância ponderada encontram-se destacados em cinza nas tabelas a seguir.

**Tabela 2 - Massa de oxigênio dissolvido encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade**

		Oxigênio Dissolvido (g)							
		AN			BS				
Tempo (meses)		Branco	1ª coleta	2ª coleta	Branco	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	
		0	3	14	0	3	8	13	
N í v e l (m)	2	35,60	2,76	6,37	39,59	0,53	1,92	10,92	
	3	6,64	1,87	3,71	6,64	0,63	1,99	4,19	
	4	7,17	1,83	3,42	7,17	0,74	1,80	5,11	
	5	7,27	1,87	3,72	7,27	0,83	1,95	5,11	
	6	9,01	2,39	4,57	4,62	1,19	1,97	5,65	
	total	65,69	10,72	21,80	65,28	3,91	9,64	30,98	

**Tabela 3 - Massa de Ferro (II) encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade.**

		Ferro (II) (g)							
		AN			BS				
Tempo (meses)		Branco	1ª coleta	2ª coleta	Branco	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	
		0	3	14	0	3	8	13	
N í v e l (m)	2	0,42	11,91	64,92	60,39	1,45	10,80	19,30	
	3	15,31	7,59	58,86	15,31	37,45	8,84	4,97	
	4	3,51	1,72	28,23	3,51	0,00	0,30	2,97	
	5	4,82	1,40	24,54	4,82	0,00	1,02	530,29	
	6	6,34	2,82	35,64	0,09	0,12	38,09	63,17	
	total	30,40	25,44	212,18	84,12	39,03	59,05	620,71	

**Tabela 4 - Massa de sulfato encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade.**

		Sulfato (g)							
		AN			BS				
Tempo (meses)		Branco	1ª coleta	2ª coleta	Branco	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	
		0	3	14	0	3	8	13	
N í v e l (m)	2	115,61	24,27	183,39	45,36	8,60	25,09	79,62	
	3	118,86	24,84	266,42	118,86	7,80	18,82	69,23	
	4	87,07	14,26	172,54	87,07	5,34	14,16	57,04	
	5	129,59	17,30	164,29	129,59	6,33	11,01	44,97	
	6	164,84	36,71	173,80	65,78	5,48	7,89	30,17	
	total	615,98	117,38	960,45	446,66	33,54	76,96	281,04	

**Tabela 5 - Massa de sulfeto encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade.**

		Sulfeto (g)							
		AN			BS				
Tempo (meses)		Branco	1ª coleta	2ª coleta	Branco	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	
		0	3	14	0	3	8	13	
N í v e l (m)	2	0,07	0,11	0,82	0,22	0,01	0,07	0,30	
	3	0,07	0,05	0,17	0,07	0,02	0,11	0,04	
	4	0,04	0,06	0,19	0,04	0,01	0,01	0,99	
	5	0,07	0,05	0,21	0,07	0,01	0,16	4,27	
	6	0,04	0,03	0,23	0,04	0,02	5,69	10,33	
	total	0,28	0,30	1,62	0,43	0,06	6,04	15,93	

**Tabela 6 - Massa de metano encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade.**

		Metano (g)							
		AN			BS				
Tempo (meses)		Branco	1ª coleta	2ª coleta	Branco	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	
		0	3	14	0	3	8	13	
N í v e l (m)	2	0,00	0,02	6,89	0,00	1,31	12,58	12,20	
	3	0,00	0,00	2,97	0,00	0,43	0,97	2,23	
	4	0,00	0,01	0,51	0,00	0,29	0,14	0,79	
	5	0,00	0,00	0,16	0,00	0,28	0,18	0,37	
	6	0,00	0,02	0,21	0,00	0,74	0,62	1,30	
	total	0,00	0,05	10,74	0,00	3,06	14,49	16,89	

**Tabela 7 - Massa de acetato encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade.**

		Acetato (g)							
		AN			BS				
Tempo (meses)		Branco	1ª coleta	2ª coleta	Branco	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	
		0	3	14	0	3	8	13	
N í v e l (m)	2	87,56	0,00	5,10	0,00	35,12	3,75	12,64	
	3	6,29	0,09	0,01	6,29	0,00	1,84	5,10	
	4	13,42	0,00	0,33	13,42	0,15	0,47	5,96	
	5	5,95	0,05	0,00	5,95	0,16	1,09	125,36	
	6	5,72	0,00	1,24	21,35	252,23	951,57	1347,67	
	total	118,95	0,14	6,68	47,02	287,66	958,71	1496,74	

**Tabela 8 - Massa de BTEX encontrada nos experimentos de atenuação natural (AN) e bioestimulação metanogênica (BS) conforme a coleta e nível de profundidade, na área restrita à região da fonte de contaminação.**

		BTEX (g) - Região da Fonte						
		AN			BS			
Tempo (meses)		Branco	1ª coleta	2ª coleta	Branco	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta
		0	3	14	0	3	8	13
n í v e i s (m)	2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
	3	0,00	0,31	0,65	0,00	3,97	1,50	1,06
	4	0,00	0,03	0,44	0,00	2,01	0,94	0,92
	5	0,00	0,13	0,23	0,00	0,48	0,70	0,67
	6	0,00	0,02	0,14	0,00	0,51	0,17	0,13
	total	0,00	0,50	1,46	0,00	6,97	3,30	2,79