



PROGRAMA EQ-ANP

**Processamento, Gestão e Meio Ambiente na Indústria
do Petróleo e Gás Natural**



**UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO**
UFRJ



**Processo de *Landfarming* para Tratamento
de Resíduos Oleosos**

Leonardo Jordão da Silva

Dissertação de Mestrado

Orientadores

**Profa. Francisca Pessôa de França, D.Sc.
Fernando Jorge Santos de Oliveira, D.Sc.**

Junho de 2009

PROCESSO DE *LANDFARMING* PARA TRATAMENTO DE RESÍDUOS OLEOSOS

Leonardo Jordão da Silva

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

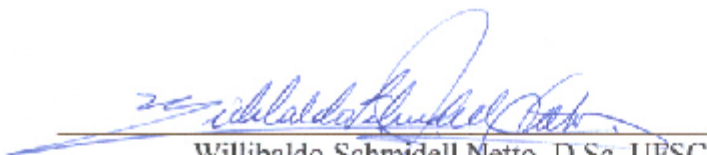
Aprovado por:



Francisca Pessoa de França, D.Sc. EQ-UFRJ
(Orientadora – Presidente da banca)



Fernando Jorge Santos de Oliveira, D.Sc. PETROBRAS
(Co-orientador)



Willibaldo Schmidell Netto, D.Sc. UPSC



Maria Cristina Moreira Alves, D.Sc. POLI-UFRJ



Magali Christe Cammarota, D.Sc. EQ-UFRJ

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Junho de 2009

Ficha catalográfica

Silva, Leonardo Jordão da.

Processo de *Landfarming* para Tratamento de Resíduos Oleosos

Leonardo Jordão da Silva. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2009.

xvi, 91 p.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2009. Orientadores: Francisca Pessôa de França / Fernando Jorge Santos de Oliveira.

1. *Landfarming*. 2. Biorremediação. 3. Resíduos. 4. Dissertação. (Mestrado – UFRJ/EQ).

5. Francisca Pessôa de França / Fernando Jorge Santos de Oliveira. I. Título.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais pela idealização
de todos os momentos de minha vida.

“No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório E-109 do Departamento de Engenharia Bioquímica - Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Aos meus pais Luiz Carlos Baiense da Silva e Helena Maria Jordão Silva, verdadeiros amigos e companheiros de todos os momentos. Aos meus irmãos Flávio e Gustavo fundamentos para tudo o mais na vida. À Andrea Ribeiro pelos momentos de compreensão e carinho.

À Profa. Francisca Pessôa de França, pela orientação sábia e experiente conferida para o desenvolvimento de todas as etapas deste trabalho. Agradeço, também, a disponibilidade de infra-estrutura.

Ao D.Sc. Fernando Oliveira, pela orientação e colaboração indispensáveis para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço, também, pelo exemplo de sabedoria e perseverança.

Ao M.Sc. Aike Costa da Silva pelos conselhos e pela amizade construída.

Aos amigos (Camila Gonzalez, Diogo Dias, Rafael Bittencourt, Ulrich, Jamile, Flávia e Paulo Cesar) do Laboratório E-109 pelos bons momentos.

À Refinaria Isaac Sabbá (REMAN-PETROBRAS) pelo suporte logístico e operacional. Aos engenheiros Antonio Lindolpho de Lima, Carlos Enrique e Ivan Marquezini da REMAN pela disponibilidade de infra-estrutura.

À Agência Nacional do Petróleo – ANP – e à Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP – por meio do Programa de Recursos Humanos da ANP para o Setor de Petróleo e Gás – PRH-ANP/MCT, em particular ao PRH 13, à Escola de Química - Processamento, Gestão e Meio Ambiente na Indústria do Petróleo e Gás Natural pelo apoio financeiro.

Ao CNPq, FAPERJ e CAPES pelo auxílio financeiro.

Resumo de Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química/UFRJ como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Ciências, com ênfase na área de Petróleo e Gás Natural.

PROCESSO DE *LANDFARMING* PARA TRATAMENTO DE RESÍDUOS OLEOSOS

Leonardo Jordão da Silva
Junho, 2009

Orientadores: Profa. Francisca Pessoa de França, D.Sc.
Fernando Jorge Santos de Oliveira, D.Sc.

As diversas atividades da indústria do petróleo (perfuração, produção, transporte, processamento e distribuição) geram consideráveis quantidades de resíduos sólidos, contendo diversas classes de hidrocarbonetos. A disposição desses resíduos no meio ambiente pode acarretar sérios problemas ambientais. Segundo a Resolução n.º 001/86 do CONAMA, impacto ambiental é definido como a alteração das propriedades físico-químicas e biológicas do meio. Portanto, o tratamento desses resíduos é essencial para promover uma gestão sustentável de exploração e aproveitamento dos recursos minerais. As alternativas de tratamento são variadas, incluindo processos físico-químicos e biológicos, com objetivo de remover poluentes orgânicos a concentrações que sejam indetectáveis ou, se detectáveis, a concentrações inferiores aos limites estabelecidos como seguros ou aceitáveis pelas legislações. Entre as opções biotecnológicas, o processo de *landfarming* apresenta um destaque considerável em função do baixo custo operacional e disponibilidade de tratamento de grandes volumes de resíduos oleosos. Fundamenta-se no potencial de organismos e/ou dos seus produtos em auxiliar na remoção de hidrocarbonetos, dispostos na camada reativa do solo. Este trabalho avalia o tratamento de resíduos oleosos em uma área de 1.000 m² de um *landfarming*. Para tal foram empregadas metodologias operacionais de bioestimulação através de umidificação, fertilização e aeração. Paralelamente foi isolada uma área denominada de célula controle. Para avaliar o desempenho do bioprocessamento foram monitorados parâmetros relevantes, tais como: pH, umidade, teores de carbono orgânico total, fósforo, nitrogênio, elementos químicos (Sb, As, Ba, Be, Cd, Pb, Cu, Cr, Fe, Mn, Hg, Ni, Ag, Se, V e Zn), hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP); hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA); bactérias aeróbias heterotróficas (BAE), fungos filamentosos e bactérias anaeróbias heterotróficas (BAN). Os resultados obtidos, em 225 dias de tratamento, foram promissores considerando o tempo e a concentração inicial de contaminantes. O teor de HTP decresceu 89,6% no solo tratado com uma produtividade média de degradação de 25,8 mg.Kg⁻¹.dia⁻¹, enquanto o solo controle apresentou 22,4% de degradação (6,5 mg.Kg⁻¹.dia⁻¹). A concentração de HPA reduziu em 88,7% (0,13 mg.Kg⁻¹.dia⁻¹) no solo tratado e no controle a degradação atingiu 25,8% (0,04 mg.Kg⁻¹.dia⁻¹). Assim, as técnicas de bioestimulação como fertilização, umidificação e aeração foram fundamentais para o aumento da biodegradação de hidrocarbonetos. A população de BAE, fungos filamentosos e BAN apresentou valor médio de 1,4x10⁷, 2,6x10⁵ UFC.g⁻¹ e 2,2x10⁶ Cels.g⁻¹, respectivamente. O teste de ecotoxicidade no solo tratado foi um indicativo da eficiência do bioprocessamento que pode ser comprovado pela degradação de compostos policíclicos aromáticos. Assim foi possível tratar aproximadamente 387 toneladas de resíduo sólido em 7 meses.

Abstract of a Thesis presented to Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos - EQ/UFRJ as partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science with emphasis on Petroleum and Natural Gas.

**LANDFARMING PROCESS FOR TREATMENT
OF OILY SLUDGES**

Leonardo Jordão da Silva

June, 2009

Supervisors: Profa. Francisca Pessôa de França, D.Sc.

Fernando Jorge Santos de Oliveira, D.Sc.

Various activities of the oil industry such as, drilling, production, processing and distribution generate significant volumes of solid waste, containing various classes of hydrocarbons. Provision of such wastes in the environment may lead to serious environmental problems. According to Resolution No. 001/86 of CONAMA, environmental impact is defined as the change of physico-chemical and biological characteristics of the area. Therefore, treatment of wastes is essential to promote sustainable management of exploration and exploitation of mineral resources. Alternatives of treatment are varied processes including physical, chemical and biological agents in order to remove organic pollutants at concentrations that are undetectable or, if detectable, the concentrations below the limits established as well as acceptable by the laws. Among biotechnologies, process of landfarming presents a considerable emphasis on the basis of the low operational cost, and availability of treatment of large volumes of oily wastes. Landfarming is based on the potential of organisms and/or their products to assist in the removal of hydrocarbons, reactive layer in the prepared soil. This work aims the treatment of oily wastes at an area of 1,000 m². Methodologies were used for this operational biostimulation through humidification, fertilization and aeration. Along side was an isolated area known as ground control. To evaluate the performance of the bioprocess were monitored relevant parameters such as pH, humidity, levels of total organic carbon, phosphorus, nitrogen, chemical elements (Sb, As, Ba, Be, Cd, Pb, Cu, Cr, Fe, Mn, Hg, Ni, Ag, Se, V e Zn), total petroleum hydrocarbons (TPH), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), heterotrophic aerobic bacteria (BAE), filamentous fungi and heterotrophic anaerobic bacteria (BAN) during 225 days. Results of work were promising by considering the time and initial concentration of contaminants. Content of TPH decreased 89.6% (25,8 mg.Kg⁻¹.dia⁻¹ of degradation) in the treated soil, while the control soil was negligible degradation of the order of 22.4% (6,5 mg.Kg⁻¹.dia⁻¹). The concentration of PAH decreased 88.7% (0,13mg.Kg⁻¹.dia⁻¹) in the treated soil and control the degradation reached 25.8% (0,04mg.Kg⁻¹.dia⁻¹). Thus, the techniques of biostimulation, i.e. humidification, fertilization and aeration were essential for increasing biodegradation of hydrocarbons. Population of BAE, fungi and BAN showed the average value of 1.4x10⁷CFU.g⁻¹, 2.6x10⁵ CFU.g⁻¹ and 2.2x10⁶ Cels.g⁻¹, respectively. The test of ecotoxicity in treated soil was an indication of efficiency of the process can be proved by the degradation of polycyclic aromatic. Thus it was possible of treated about 387 tonnes of solid waste in 7 months.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Matriz energética mundial	5
Figura 2.2: Estrutura química de alguns compostos presentes no petróleo	6
Figura 2.3: Sistema de <i>Landfarming</i> – Perspectiva superior	19
Figura 2.4: Via metabólica de degradação de hidrocarbonetos lineares	24
Figura 2.5: Rota de biodegradação do ciclohexano por <i>Pseudomonas</i> sp. e <i>Nocardia</i> sp.	25
Figura 2.6: Estrutura química de alguns HPA	26
Figura 2.7: Via degradativa dos hidrocarbonetos aromáticos e policíclicos aromáticos	27
Figura 3.1: Foto de satélite do <i>Landfarming</i>	37
Figura 3.2: Identificação das células do <i>landfarming</i>	38
Figura 3.3: Sistema de umidificação do solo	39
Figura 3.4: Sistema de aeração do solo	40
Figura 4.1: Aspecto inicial do solo submetido a etapa de revolvimento	48
Figura 4.2: Aparência do solo após adequação do sistema	49
Figura 4.3: Curva granulométrica do solo	51
Figura 4.4: Perfil da umidade nas células tratadas e controle	52
Figura 4.5: Perfil dos valores de pH das células tratadas e controle	54
Figura 4.6: Perfil de Carbono Orgânico Total (COT) nas células tratadas	58
Figura 4.7: Perfil de Fósforo (P) e Nitrogênio (N) nas células tratadas e controle	59
Figura 4.8: Relações C:N e C:P nas células tratadas e controle	60
Figura 4.9: Degradação de hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP) nos solos tratados e controle	62
Figura 4.10: Produtividade de degradação de hidrocarbonetos totais do petróleo	63
Figura 4.11: Degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) nos solos tratados e controle	65
Figura 4.12: Produtividade de degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	67

Figura 4.13: Degradação dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos segundo a USEPA	68
Figura 4.14: Quantificações de microrganismos nos solos tratados e controle durante o processo de <i>landfarming</i>	72
Figura 4.15: Microscopia do solo em preparação a fresco	74
Figura 4.16: Microscopia de preparações coradas pelo método de Gram	75
Figura 4.17: Microscopia de preparações coradas pelo método de Gram de microrganismos crescidos em meio nutriente	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1: Resíduos perigosos e fontes geradoras de hidrocarbonetos	8
Tabela 2.2: Vantagens e desvantagens do processo <i>landfarming</i>	17
Tabela 2.3: Distribuição da população microbiana em solos e água subterrânea	20
Tabela 2.4: Gêneros microbianos hidrocarbonoclásticos	22
Tabela 2.5: Relação entre a forma de respiração microbiana, aceptores de elétrons e potencial redox	30
Tabela 3.1: Composição do meio Ágar Nutriente	45
Tabela 3.2: Composição do meio Sabouraud	45
Tabela 3.3: Composição da Solução Redutora	46
Tabela 3.4: Composição do meio Fluido ao Tioglicolato	46
Tabela 4.1: Comparativo dos valores de intervenção e de referência de qualidade com os resultados obtidos	55
Tabela 4.2: Concentração de elementos químicos no solo tratado	56
Tabela 4.3: Relação entre número de anéis benzênicos do HPA e respectiva degradação	70
Tabela 4.4: Organismos vivos no ensaio de ecotoxicologia	80

LISTA DE SIGLAS

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANP: Agência Nacional do Petróleo

API: *American Petroleum Institute*

BAE: Bactérias Aeróbias Heterotróficas

BAN: Bactérias Anaeróbias Heterotróficas

CESTEB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo

CONAMA: Conselho Nacional de Meio Ambiente

COT: Carbono Orgânico Total

EPI: Equipamentos de Proteção Individual

EQ: Escola de Química

HPA: Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

HTP: Hidrocarbonetos Totais do Petróleo

MMA: Ministério do Meio Ambiente

MME: Ministério de Minas e Energia

OECD: *Organization for Economic Cooperation and Development*

PCB: Bifenilas Policloradas

PETROBRAS: Petróleo Brasileiro S.A.

UFC: Unidades Formadoras de Colônias

UFRJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro

USEPA: *United States Environmental Protection Agency*

VOC: Compostos Orgânicos Voláteis

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABELAS	xii
LISTA DE SIGLAS	xiii
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	1
1.1 Considerações Gerais	1
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo Geral	3
1.2.2 Objetivos Específicos	3
CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 O Petróleo	4
2.1.1 Origem e Aspectos Gerais	4
2.1.2 Composição Química do Petróleo	5
2.1.3 Atividades Petrolíferas relacionadas a Resíduos Sólidos	7
2.2 Processos de Tratamento de Resíduos Sólidos	9
2.3 Biorremediação de Áreas Contaminadas com Resíduos Sólidos	10
2.3.1 Tecnologias de Biorremediação <i>In Situ</i>	12
2.3.2 Tecnologias de Biorremediação <i>Ex Situ</i>	13
2.3.2.1 <i>Landfarming</i>	13
2.3.2.2 Biopilhas	13
2.3.2.3 Compostagem	14
2.3.2.4 Biorreatores	15
2.4 Processo de <i>Landfarming</i>	15
2.4.1 Histórico e Aspectos Gerais	15
2.4.2 Metodologias de Construção e Operação de <i>Landfarming</i>	18
2.5 Microrganismos Envolvidos em Processos de Biorremediação	19
2.5.1 Mecanismos de Biodegradação de Hidrocarbonetos	23
2.5.1.1 Hidrocarbonetos Alifáticos Lineares e Ramificados	23
2.5.1.2 Hidrocarbonetos Cíclicos	25
2.5.1.3 Hidrocarbonetos Aromáticos	25
2.6 Fatores que influenciam a Biodegradação	28
2.6.1 Propriedades Físico-químicas do Substrato e Adaptação Microbiana	28

2.6.2	Aceptores de Elétrons	29
2.6.3	Teor de Umidade	31
2.6.4	Temperatura	31
2.6.5	pH	32
2.6.6	Nutrientes	33
2.6.7	Concentração de Microrganismos Degradadores de Hidrocarbonetos	34
2.6.8	Biodisponibilidade do Contaminante	35
CAPÍTULO 3: METODOLOGIA		37
3.1	Metodologias Operacionais	37
3.2	Amostragens do Solo	40
3.3	Análises Físicas	41
3.3.1	Umidade	41
3.3.2	pH	41
3.3.3	Granulometria	41
3.4	Análises Químicas	42
3.4.1	Teores de Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio e Fósforo	42
3.4.2	Hidrocarbonetos Totais do Petróleo (HTP)	43
3.4.3	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA)	43
3.4.4	Elementos Químicos	43
3.5	Análises Biológicas	44
3.5.1	Quantificação de Microrganismos	44
3.5.1.1	Bactérias Aeróbias Heterotróficas (BAE)	44
3.5.1.2	Fungos Filamentosos	45
3.5.1.3	Bactérias Anaeróbias Heterotróficas (BAN)	46
3.5.2	Avaliação Ecotoxicológica	47
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO		48
4.1	Condicionamento do <i>Landfarming</i>	48
4.2	Determinações Físico-Químicas	51
4.2.1	Curva Granulométrica	51
4.2.2	Umidade e pH	52
4.2.3	Elementos Químicos	55

4.2.4 Nutrientes: Fósforo (P), Nitrogênio (N) e Carbono Orgânico Total (COT)	58
4.2.5 Degradação de Hidrocarbonetos Totais do Petróleo (HTP)	62
4.2.6 Degradação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA)	65
4.3 Monitoramento Microbiológico e Ensaio Toxicológico	71
4.3.1 Monitoramento Microbiológico	72
4.3.2 Avaliação Ecotoxicológica	79
CAPÍTULO 5: CONCLUSÕES E SUGESTÕES	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Na indústria do petróleo e derivados é crescente a preocupação com os impactos ambientais decorrentes de suas atividades, que geram volumes consideráveis de resíduos sólidos, dentre os quais solos contaminados por hidrocarbonetos (CASTRO *et al.*, 2005). Portanto, a busca por soluções que apresentem alto desempenho técnico, bem como custos compatíveis com a sua escala de aplicação é uma necessidade urgente dentro do setor de petróleo e gás.

Solos contaminados com hidrocarbonetos podem ser tratados por diversos processos biológicos, físicos, químicos, físico-químicos ou térmicos (MARIANO, 2005). A aplicação de processos biológicos ao tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo é de interesse das comunidades científica e industrial. Os bioprocessos de tratamento utilizam organismos, tais como bactérias e fungos, e/ou vegetais para reduzir ou eliminar compostos perigosos ao meio ambiente (PICADO *et al.*, 2001).

Entre as principais vantagens do emprego dos processos biológicos está o seu baixo custo quando comparado com os processos convencionais. Destaca-se que o processo ocorre com baixo consumo de energia e que causa poucas mudanças nas características físicas, químicas e biológicas no local onde são aplicados (URURAHY, 1998).

Dentre as tecnologias biológicas de tratamento de solos contaminados, enfatiza-se o processo de *landfarming*. Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency* – USEPA), este método consiste em dispor o resíduo na camada reativa do solo, de forma que a microbiota

autóctone atue como agente de biodegradação de hidrocarbonetos. Este processo apresenta diferentes designações, como: *land spreading*, *land application*, *sludge farming*, *soil farming*, *soil incorporation*, *land disposal* e *soil cultivation*.

As técnicas operacionais de um *landfarming* incluem: aeração do solo; umidificação; adição de nutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio – macronutrientes); e, em alguns casos, bioaugmentação com microrganismos previamente selecionados. Os microrganismos responsáveis pela biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo são as bactérias (aeróbias e anaeróbias), os fungos e as microalgas (MPHEKGO & CLOETE, 2004).

De acordo com Hamdi *et al.* (2007a), a tecnologia *landfarming* apresenta excelente relação custo-benefício quando comparada aos demais processos de tratamento de resíduos sólidos. No entanto, alguns requisitos operacionais devem ser rigorosamente obedecidos a fim de obter significativa biodegradação de hidrocarbonetos e a formação de metabólitos não tóxicos (ABNT NBR ISO 13.894).

As diversas classes de hidrocarbonetos apresentam diferenciada susceptibilidade ao ataque microbiano. Os hidrocarbonetos mais simples, ou seja, os alifáticos de cadeia curta não ramificada são os mais facilmente decompostos. Por outro lado, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos requerem maior tempo para a decomposição (OLIVEIRA & de FRANÇA, 2004), embora alguns hidrocarbonetos heterocíclicos ramificados, às vezes, sejam mais recalcitrantes que os hidrocarbonetos aromáticos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Adequar o processo de *landfarming*, em escala industrial, às condições de biorremediação conforme norma técnica ABNT NBR ISO 13894 (Tratamento no Solo – *Landfarming*).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a granulometria do solo;
- Estabelecer sistemática de aeração, fertilização e umidificação do solo;
- Monitorar as variáveis: umidade e pH no período de tratamento;
- Quantificar no resíduo sólido: carbono orgânico total (COT), nitrogênio, fósforo, elementos químicos (Sb, As, Ba, Be, Cd, Pb, Cu, Cr, Fe, Mn, Hg, Ni, Ag, Se, V e Zn), hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA);
- Avaliar a biodegradação de resíduos sólidos contendo hidrocarbonetos alifáticos, cíclicos e aromáticos, através do processo de *landfarming*;
- Comparar os resultados obtidos com as legislações americana (USEPA), brasileira (CETESB) e holandesa;
- Quantificar os microrganismos autóctones: bactérias aeróbias heterotróficas, fungos e bactérias anaeróbias heterotróficas.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O PETRÓLEO

2.1.1 Origem e Aspectos Gerais

A origem do petróleo está relacionada com a decomposição biológica da matéria orgânica sob ação de microrganismos quando em condições que não permitam sua oxidação completa. A interação de condições termo-químicas apropriadas e microbiológicas é fundamental para o processo que leva à formação do petróleo (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

Os registros mais antigos da utilização do petróleo datam de períodos anteriores à Era Cristã onde este era obtido de exudações naturais. A exploração comercial do petróleo começou a partir de 1859 com a primeira perfuração de um poço na Pensilvânia, Estados Unidos, por Edwin L. Drake. Ao longo do século XIX surgiu o motor a combustão interna, que foi utilizado em larga escala e promoveu forte impulso na indústria petrolífera. Estes fatos tornaram o petróleo a principal fonte de energia da época, promovendo o desenvolvimento econômico de alguns países (THOMAS *et al.*, 2001).

Segundo dados do Ministério de Minas e Energia (MME), no ano base de 2007, o petróleo e gás natural corresponderam a 54,9% da matriz energética mundial (Figura 2.1). Somando com carvão mineral, as principais fontes fósseis representam 80,9%, com forte potencial de geração de efluentes a base de hidrocarbonetos, os quais impactam o ar, solo e água.

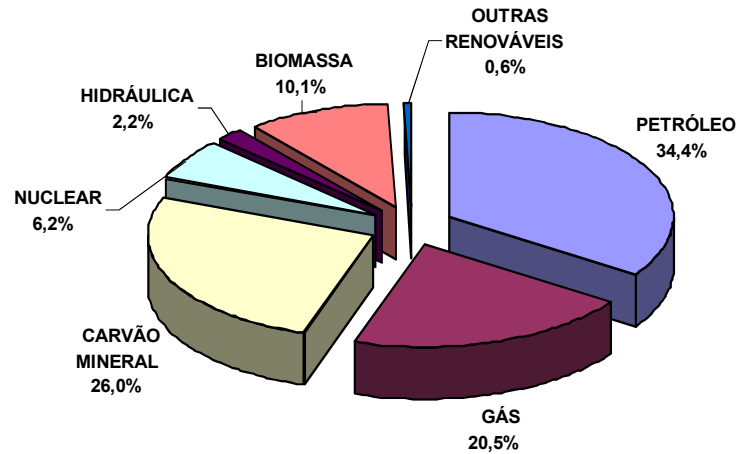


Figura 2.1: Matriz energética mundial (Fonte: MME, 2007)

A indústria do petróleo e gás natural gera poluentes desde as etapas de exploração até a distribuição dos produtos comercializáveis. Por esta razão, o setor tem investido na elaboração de processos de prevenção aos lançamentos inadequados de material no meio ambiente, bem como em pesquisas relacionadas com o tratamento de seus resíduos (MARIANO, 2005). Além disso, as operações de mitigação e de controle do aporte de óleo no meio ambiente visam ampliar a margem de lucro, diminuindo os custos relacionados com a imagem negativa e com o pagamento de multas pela indústria (OLIVEIRA & de FRANÇA, 2004).

2.1.2 Composição Química do Petróleo

Do latim *petra* (pedra) e *oleum* (óleo), o petróleo no estado líquido é uma substância oleosa, inflamável, menos densa que a água, com cheiro característico e cor variando entre o negro e o castanho-claro. Na sua composição química são predominantes as moléculas de hidrocarbonetos e, em menor proporção, compostos oxigenados, nitrogenados e sulfurados e metais pesados como o vanádio, o níquel e outros. Suas propriedades físicas e químicas dependem do sistema petrolífero inerente à bacia sedimentar de formação (THOMAS *et al.*, 2001).

Os compostos orgânicos constituintes do petróleo e a divisão a que pertencem, além de exemplos de estruturas químicas são observados na Figura 2.2

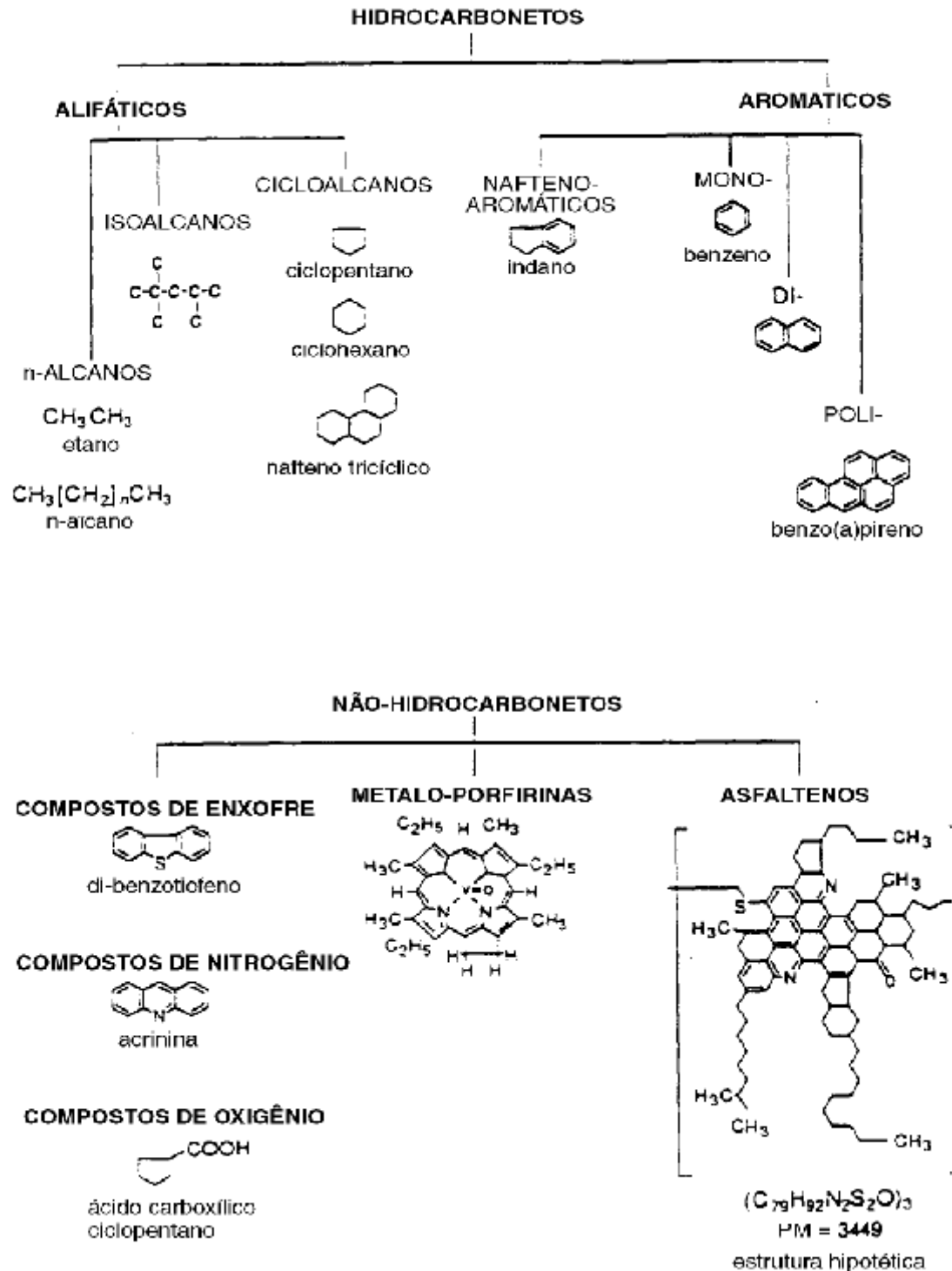


Figura 2.2: Estrutura química de alguns compostos presentes no petróleo.
(Fonte: SEABRA, 2006)

A proporção destes compostos na composição do petróleo determina a sua classificação: parafínicos, naftênicos, aromáticos intermediários, parafínico-naftênicos, aromático-naftênicos e aromático-asfálticos (THOMAS *et al.*, 2001).

Em função dessa classificação, pode-se dimensionar a quantidade das diversas frações que podem ser obtidas, assim como sua possível composição e propriedades físico-químicas. Durante o processamento, o petróleo sofre uma série de beneficiamentos para a obtenção de frações desejadas, que posteriormente serão submetidas a processos de tratamentos visando à obtenção de diferentes produtos finais (MARIANO, 2005).

2.1.3 Atividades Petrolíferas relacionadas a Resíduos Sólidos

As diversas atividades da indústria do petróleo (perfuração, produção, transporte, processamento e distribuição) geram resíduos sólidos e líquidos na forma de lamas, borras, efluentes líquidos, gasosos, etc. (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

Os resíduos oleosos gerados nas operações de perfuração e produção incluem: fluidos de perfuração; óleo cru; produtos químicos; filtros usados; areia produzida; água produzida contaminada com hidrocarbonetos; borras de separadores de água-óleo-gás; resíduos de desidratação; fluidos hidráulicos e lubrificantes. Na etapa de transporte e distribuição, o óleo e os combustíveis podem ser decorrentes de vazamentos de oleodutos e gasodutos assim como da limpeza de tanques de armazenamento (USEPA, 2009).

Na etapa de processamento do petróleo em refinarias ocorre geração de resíduos sólidos nas unidades de separação (colunas de destilação – atmosférica e à vácuo –, separadores de água-óleo, dessalinizadores, etc.), nas operações de conversão (craqueamento térmico e catalítico, coqueamento, alquilação, hidrotreatamento, etc.), no tratamento de efluentes (Tratamento Bender, Merox, DEA, etc.) e nas operações

auxiliares (trocadores de calor, tanques de estocagem, torres de resfriamento, etc.) (MARIANO, 2005).

Os resíduos gerados nas refinarias, de acordo com a ABNT NBR ISO 10.004, assim como seus constituintes perigosos estão listados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Resíduos perigosos e fontes geradoras de hidrocarbonetos em refinarias de petróleo

Fonte: ABNT NBR ISO 10.004

Resíduo perigoso	Constituintes perigosos
Sedimento do tanque de armazenamento de óleo cru, das operações de refino de petróleo	Benzeno
Borra clarificada do resíduo do tanque de óleo e/ou sólidos dos separadores/filtros de linha das operações de refino de petróleo	Benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, *, **
Catalisador gasto proveniente do hidrotreamento das operações de refino de petróleo, incluindo leitos usados para dessulfurizar as alimentações para outros reatores catalíticos	Benzeno, arsênio
Lodo resultante da separação secundária de água/óleo emulsificado de refinaria de petróleo. Qualquer lodo e/ou material flotante gerado da separação física e/ou química de água/óleo no processo de efluentes líquidos oleosos de refinarias de petróleo.	Benzeno, benzo[a]pireno, criseno, chumbo, cromo
Resíduos de fundo de destilador	Benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, dibenzo[a,h]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno

* metilbenzilciclopentaaantraceno; ** 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno

De acordo com Paudyn *et al.* (2007), as refinarias, além dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), geram outros compostos tóxicos tais como cádmio, bário, mercúrio, selênio e prata, compostos orgânicos como as bifenilas policloradas (PCB) e hidrocarbonetos halogenados.

O mecanismo de formação de HPA deve-se à repolimerização de fragmentos de hidrocarbonetos formados durante o craqueamento sob condição de baixa oxigenação. Os fragmentos perdem, com frequência, uma pequena quantidade de hidrogênio, que forma água após combinar-se com oxigênio durante as etapas da reação. Os fragmentos

ricos em carbono combinam-se para formar os HPA, que são moléculas mais estáveis com razão C:H elevada (HARMSSEN *et al.*, 2007).

A disposição desses resíduos no meio ambiente pode acarretar sérios problemas ambientais. Segundo a Resolução n.º 01/1986 do CONAMA, impacto ambiental é definido como a alteração das propriedades físico-químicas e biológicas do meio ambiente, alteração esta provocada direta ou indiretamente por atividades humanas, as quais afetam a saúde, segurança, bem-estar da população, atividades sócio-econômicas, biota, condições estéticas e sanitárias do meio. Portanto, o tratamento desses resíduos é essencial para promover uma gestão sustentável de exploração e aproveitamento dos recursos naturais.

2.2 PROCESSOS DE TRATAMENTO DE RESÍDUOS SÓLIDOS

O objetivo do tratamento de resíduos sólidos é degradar poluentes a concentrações que sejam indetectáveis ou, se detectáveis, a concentrações inferiores aos limites estabelecidos como seguros ou aceitáveis pelas legislações. Técnicas biológicas, físicas e químicas podem ser usadas em série ou em paralelo para reduzir a contaminação ambiental por hidrocarbonetos do petróleo a níveis aceitáveis (RISER-ROBERT, 1998).

Os processos físico-químicos geralmente baseiam-se nas diferentes propriedades dos contaminantes, tais como acidez, temperatura, potencial de precipitação e solubilidade. São exemplos desses processos: neutralização, oxidação, precipitação, estabilização/solidificação, adsorção em carvão ativo, destilação, troca iônica, eletrólise, osmose inversa e extração por solvente (URURAHY, 1998).

Atualmente as Tecnologias Verdes (*Green Technologies*), onde estão inseridos os processos biológicos, apresentam maior aceitabilidade do que os métodos físico-

químicos de remediação, visto que apresentam baixo custo, possibilidade de aplicação para tratamento *in situ*, e eficiência elevada para a biodegradação de diversos contaminantes (PEREIRA, 2008).

2.3 BIORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS COM RESÍDUOS OLEOSOS

A biorremediação baseia-se na capacidade de alguns organismos (microrganismos e/ou plantas) crescerem na presença de contaminantes, removendo estas substâncias devido à ação de seu metabolismo ou mesmo acumulando tais compostos (VIDALLI, 2001).

O uso de microrganismos na biorremediação pode ocorrer por espécies autóctones, alóctones ou combinação de ambos, que através do metabolismo correspondente podem formar compostos menos tóxicos ou promoverem total mineralização do contaminante produzindo dióxido de carbono e água. Por ser uma técnica aplicada em diferentes tipos de ambientes, a biorremediação envolve diversas áreas do conhecimento humano como a Microbiologia, Engenharia, Ecologia, Geologia e Química (BOOPATHY, 2000).

De acordo com Ollivier & Magot (2005) existem alguns métodos aplicados à biorremediação para acelerar a biodegradação de hidrocarbonetos. Estes métodos podem ser divididos em bioestimulação e bioaumentação:

1. Bioestimulação: é definida como a melhoria dos fatores ambientais e, dentre eles, destacam-se o pH, o teor de umidade, a temperatura, a correção de nutrientes (fontes de carbono orgânico, fósforo, nitrogênio, etc.) e de aceptores finais de elétrons;

2. Bioaugmentação: aceleração e aumento da eficiência de degradação do poluente pela inserção de linhagens hidrocarbonoclásticas alóctones que vão agir concomitantemente com os microrganismos autóctones.

Segundo Bento *et al.* (2005), a melhor performance da bioaugmentação pode ser atingida pelo emprego dos microrganismos previamente selecionados aumentando assim a população e diversidade microbiana. A partir desse pressuposto, o aumento da comunidade microbiana específica, em conjunto com a adição de nutrientes, promove uma redução substancial no tempo de tratamento. Neste artigo foi obtido, através da bioaugmentação, uma maior degradação de hidrocarbonetos das frações leves (75,2%) e pesadas (72,7%) para um solo contaminado com óleo diesel.

Por outro lado, Del'Arco & de França (1999) utilizaram um consórcio microbiano obtido de um *landfarming* e associado aos microrganismos autóctones para o processo de biorremediação de um sedimento arenoso, contendo óleo árabe leve. A adição do inóculo, no começo do experimento, resultou num aumento de 31% da eficiência de remoção da fração pesada do óleo, quando comparada à amostra sem bioaugmentação. Isto demonstra que a introdução de uma cultura exógena também pode estimular o processo de biodegradação.

As tecnologias de biorremediação podem ser divididas em duas categorias, *in situ* e *ex situ*. Os processos são classificados como *in situ* quando as operações são realizadas nos locais contaminados, ou seja, sem que haja a remoção do material. Quando o tratamento ocorre fora do local atingido, classifica-se o processo como *ex situ* (USEPA, 2009).

2.3.1 Tecnologias de Biorremediação *In Situ*

O *bioventing* e o *biosparging* são tratamentos semelhantes, usando injeção de ar atmosférico. A aeração objetiva o suprimento de oxigênio ao ambiente, favorecendo o crescimento de microrganismos aeróbios que utilizam este elemento como aceptor final de elétrons, viabilizando a biodegradação do poluente (TRINDADE *et al.*, 2005). A diferença entre as duas técnicas está relacionada com o local onde o ar é injetado; na zona saturada do solo, no caso do *bioventing*, e na zona insaturada, no caso do *biosparging*. Essas técnicas apresentam baixo custo, requerem o uso de poucos equipamentos e técnicos. No entanto, apresentam a dificuldade de aplicação em solos argilosos, principalmente quando estes têm elevado grau de compactação e elevado teor de umidade, o que dificulta a passagem do ar devido ao aumento da perda de carga (BOOPATHY, 2000).

A fitorremediação é definida como o uso de vegetais superiores para facilitar a aeração do local, degradar, reter ou eliminar os contaminantes do solo. Neste processo pode atuar o vegetal e/ou microrganismos colonizadores. No primeiro caso, o crescimento das raízes e sua penetração no solo favorecem a aeração, podendo ocorrer a adsorção do contaminante em seus tecidos (ALEXANDER, 1999), assim como metabolização das substâncias tóxicas.

A atenuação natural ou a biorremediação intrínseca é uma técnica que consiste na opção de não se intervir no local impactado, deixando que os fenômenos naturais atuem como agentes de remediação. Embora pareça um método cômodo, a biorremediação intrínseca requer constante monitoramento e adequação das análises requeridas ao acompanhamento do processo que auxiliam na avaliação da eficácia do tratamento (VIDALLI, 2001).

2.3.2 Tecnologias de Biorremediação *Ex Situ*

2.3.2.1 *Landfarming*

O *landfarming* é o processo de biorremediação onde os resíduos contaminados com hidrocarbonetos são misturados na camada superficial do solo, em local previamente preparado. Esta tecnologia visa favorecer a biorremediação por viabilizar a redução da concentração dos contaminantes no solo por ação de microrganismos através de operações adequadas de manejo e gestão do solo (PAULA *et al.*, 2006).

Para que este processo apresente a eficiência requerida, faz-se necessário a adição de nutrientes, especialmente fósforo, nitrogênio e potássio, pois o aumento da concentração de carbono orgânico no solo aumenta a demanda de nutrientes pelos microrganismos (PAUDYN *et al.*, 2007).

Além disso, podem ser feitas outras adequações no solo que incluem a adição de água para aumentar a umidade, e a adição de óxidos de cálcio e/ou magnésio para corrigir o pH. Em geral, ocorre maior degradação de hidrocarbonetos em solo de pH neutro, pois as bactérias são reconhecidas como principais agentes da biodegradação (MPHEKGO & CLOETE, 2004). Considerando-se que nosso trabalho refere-se ao processo de *landfarming*, o mesmo será descrito com mais detalhes no item 2.4.

2.3.2.2 Biopilhas

O processo de biopilha é uma variante do *landfarming*, onde estão incluídos também sistemas de adição de água e nutrientes, aeração e impermeabilização da área de disposição do material contaminado com materiais sintéticos; além disso, a disposição de material é feita em forma de pilha, havendo sistemas para coleta da lixívia e para tratamento dos gases gerados (ALEXANDER, 1999).

De acordo com Seabra (2006), as biopilhas são construídas de tal forma que passe, sob elas, um duto perfurado com a finalidade de recolher o material lixiviado e succionar o ar das colunas do solo promovendo vácuo, que força, por sua vez, a renovação do ar no interior do sistema, através da entrada de uma nova corrente. Esta tecnologia pode incluir, ainda, um sistema de irrigação com o objetivo de manter as condições ideais de umidade e até mesmo adicionar populações hidrocarbonoclásticas alóctones, aumentando a eficiência do tratamento.

Convém destacar que o emprego de materiais orgânicos oriundos dos resíduos sólidos urbanos pode favorecer a degradação de hidrocarbonetos nas biopilhas, por aumentar a população microbiana. No entanto, no primeiro momento, pode ocorrer a degradação preferencial de carboidratos ao invés de hidrocarbonetos (SEMPLE *et al.*, 2001).

2.3.2.3 Compostagem

Outra variante do *landfarming* é a compostagem. Nesta tecnologia ocorre a adição de um agente estruturante ao solo, a fim de aumentar a sua permeabilidade, conseqüentemente promovendo maior velocidade de transferência de oxigênio. Normalmente, utilizam-se os seguintes materiais como agentes estruturantes: palha, pedaços de grama e madeira, folhas, bagaço de cana e serragem. Devido à natureza orgânica destes materiais, os agentes estruturantes atuam como fontes de carbono capazes de favorecer o rápido estabelecimento de uma população numerosa (RISER-ROBERT, 1998). Porém, às vezes, a biodegradação do poluente é prejudicada pela utilização destes agentes pelos microrganismos lignolíticos, levando a problemas de competição entre os grupos microbianos (SEMPLE *et al.*, 2001).

2.3.2.4 Biorreatores

Biorreatores de vários tipos têm sido desenvolvidos principalmente para o tratamento de efluentes líquidos, entretanto tais sistemas atualmente também estão sendo usados para resíduos sólidos (URURAHY, 1998). Os custos são mais altos do que os tratamentos *in situ*, pois há gastos adicionais com o transporte do material contaminado, construção de equipamentos para uma particular descontaminação, mão-de-obra adicional e energia. Podem ser extremamente úteis em degradar compostos altamente recalcitrantes (RISER-ROBERT, 1998).

Geralmente, nos biorreatores os microrganismos podem ser utilizados de duas formas distintas: livres ou imobilizados. No entanto, somente a primeira forma tem sido utilizada para tratar resíduos sólidos. Nela, os microrganismos são mantidos em suspensão, podendo crescer livremente no seio do meio líquido ou aderidos ao solo que está em suspensão. Estes biorreatores podem ser agitados mecanicamente ou por injeção contínua de ar (ALEXANDER, 1999).

O tipo mais comum no tratamento de solo contaminado consiste em sistemas que operam em fase semi-sólida, com uma porcentagem de água variando entre 40 e 90% (v/v) (URURAHY, 1998).

2.4 PROCESSO DE *LANDFARMING*

2.4.1 Histórico e Aspectos Gerais

A utilização do solo para o tratamento de resíduo teve início na Europa no final do século XIX com a técnica de irrigação de áreas cultivadas com águas residuárias sanitárias. No início dos anos 50, o processo de tratamento no solo despertou interesse nas empresas de refino de petróleo dos Estados Unidos, sendo as primeiras a

desenvolver e praticar o tratamento no solo para seus resíduos e, para este processo de tratamento específico, elas deram o nome de *landfarming* (GENOUW *et al.*, 1994).

Outro país que desenvolveu o tratamento no solo foi a Alemanha, sendo que no ano de 1960 já estavam em operação 60 áreas para tratamento de resíduo no solo, e até o ano de 1987 esse processo ocupava uma área de 20.000 hectares (LINE *et al.*, 1996).

No Brasil, o *landfarming* foi introduzido pela PETROBRAS quando, no ano de 1982, colocou em funcionamento uma unidade na Refinaria Henrique Lage, na cidade de São José dos Campos, Estado de São Paulo. Desde então, a PETROBRAS iniciou a implantação de *landfarming* em outras refinarias (CASTRO *et al.*, 2005).

No ano de 1984, a Central de Tratamento de Efluentes Líquidos (CETREL), em Camaçari (BA), implantou duas unidades de *landfarming* em uma área de 20 hectares para o pós-tratamento do resíduo originado dos tratamentos químico e biológico dos efluentes gerados no complexo industrial de Camaçari (ALVES *et al.*, 1996).

De acordo com o *American Petroleum Institute* (API), em 1983, pelo menos um terço das refinarias norte-americanas operava com *landfarming* em escala industrial.

A Holanda, em 1989, iniciou o funcionamento do primeiro *landfarming* para tratar 500 m³ de resíduo contaminado com HPA e óleo mineral. Nesse país a legislação vigente prescreve as medidas de prevenção contra a percolação de contaminantes para o subsolo, lençol freático e águas superficiais (MARIJKE & van VLERKEN, 1998).

Jatar *et al.* (1993) avaliaram a aplicação de *landfarming* em condições de clima tropical, na Venezuela. Trabalharam em uma área de 1 hectare e usaram técnicas de umidificação, homogeneização, bioaugmentação e fertilização. O teor de HTP reduziu em 80% após um período de 9 meses de tratamento.

Segundo Al-Awadhi *et al.* (1996), durante a crise do Golfo, o Kuwait sofreu ataques bélicos, resultando em perdas de seus poços de petróleo, o que levou à formação

de 300 lagos de óleo em uma área de 49 km², com penetração no subsolo até a profundidade de 2,5 m. Foi estimado um derrame de 9x10⁶ m³ de óleo, equivalente a 25x10⁶ m³ de solo contaminado. A recuperação via biorremediação da área contaminada com óleo iniciou-se em novembro de 1992, com a implantação de 16 unidades de *landfarming*. Após 15 meses de operação, a redução da carga poluente atingiu 80%.

Castro *et al.* (2005) estudaram a otimização do *landfarming* da RPBC (Refinaria Presidente Bernardes), e a correção do pH do solo e fertilização da camada reativa resultaram em aumento da população microbiana, e consequente maximização da biodegradação de hidrocarbonetos.

Paudyn *et al.* (2007) estabeleceram quatro sistemáticas de operação em um *landfarming* canadense, sob condição de baixa temperatura: atenuação natural; aeração em intervalos de quatro dias; aeração diária; e adição de fertilizante mais aeração em intervalos de 4 dias. O resultado do efeito sinérgico de adição de fertilizante acrescida de aeração foi a redução de 90% de HTP em 700 dias. Ressaltam ainda que compostos orgânicos recalcitrantes como pristano e fitano foram degradados.

Os aspectos positivos e negativos relacionados ao processo de *landfarming* estão apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2: Vantagens e desvantagens do processo *landfarming*

Fonte: MPHEKGO & CLOETE, 2004

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> - Requer pequeno capital para implantação e operação; - Possibilidade tratar grande volume de resíduo sólido; - Pode ser aplicado <i>ex situ</i>; - Resulta em pequeno impacto ao meio ambiente; - Eficiência energética. 	<ul style="list-style-type: none"> - Limitado em relação à remoção de compostos orgânicos recalcitrantes; - Necessidade de grande área; - Pode acarretar problemas de emissão de compostos orgânicos voláteis e contaminação do lençol freático; - Presença de metais pesados pode inibir as atividades de biodegradação.

Em função desses fatos, a tecnologia *landfarming* fomenta o interesse das comunidades científica e industrial, com o objetivo de maximizar a eficiência do processo.

2.4.2 Metodologias de Construção e Operação de *Landfarming*

O *landfarming* é uma tecnologia de biorremediação na qual os resíduos são espalhados e misturados à camada reativa do solo, de forma controlada, a fim de que a própria microbiota do solo atue como agente de degradação. O processo é realizado em grandes áreas, já que a biodegradação se dá na camada superior do solo, onde a aerobiose é garantida. Os hidrocarbonetos no solo podem sofrer volatilização e biodegradação (MPHEKGO & CLOETE, 2004).

A norma ABNT NBR ISO 13.894 (Tratamento no Solo – *Landfarming*) estabelece que o projeto, construção, operação e manutenção da unidade devem ser realizados de forma a elevar ao máximo a degradação, a transformação e/ou imobilização de contaminantes da camada reativa do solo.

Esta norma preconiza, ainda, alguns requisitos relativos à topografia, solos e geologia, recursos hídricos, vegetação, vias de acesso, distância a núcleos populacionais, entre outros aspectos.

Portanto, todo um preparo da área é exigido, a fim de que se reduzam, ao máximo, os riscos de contaminação de lençóis freáticos por lixiviação de poluentes (USEPA).

A construção de um *landfarming* previne ou minimiza a transferência de contaminantes para áreas adjacentes devido a existência de uma barreira lateral e camada impermeabilizante, que pode ser de polietileno de alta densidade ou argila compactada. A Figura 2.3 apresenta o sistema sob perspectiva superior.

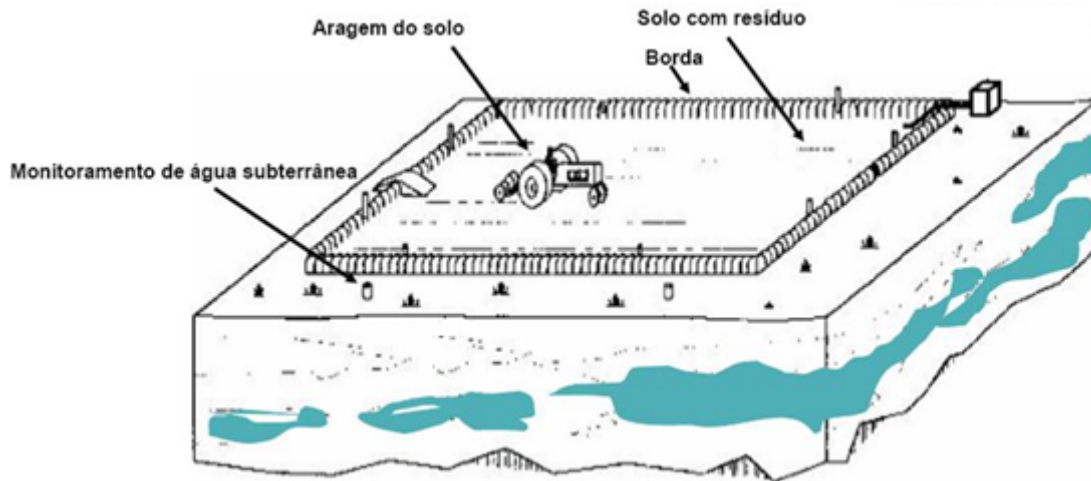


Figura 2.3: Sistema de *Landfarming* – Perspectiva superior
Fonte: Adaptado de MPHEKGO & CLOETE, 2004

As técnicas operacionais envolvem adição de nutrientes, umidificação, aeração e correção do pH do solo. Os macronutrientes adicionados são compostos a base de nitrogênio, fósforo e potássio sob a forma de fertilizantes comerciais e/ou uréia (MPHEKGO & CLOETE, 2004). A correção do pH do solo pode ser feita pela adição de óxidos de cálcio e magnésio. A aeração do solo é viabilizada através de arado acoplado a trator (MARIN *et al.*, 2005).

A USEPA desenvolveu um guia para implantação, operação e monitoramento de *landfarming*. Este algoritmo contempla questões relativas às características físico-químicas e biológicas do sistema, assim como condições climáticas do local de instalação.

2.5 MICRORGANISMOS ENVOLVIDOS EM PROCESSOS DE REMEDIAÇÃO

A microbiota altamente heterogênea do solo inclui a presença de um grande número de microrganismos capazes de utilizar hidrocarbonetos como fonte de carbono e energia. Dentre os vários agentes que possuem a habilidade de degradar hidrocarbonetos

estão as bactérias e fungos. Porém, a contribuição de cada um varia com os fatores ambientais e as propriedades físico-químicas do solo (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

A distribuição da população microbiana no solo está tipicamente associada ao conteúdo de matéria orgânica natural, a qual serve como estoque de micronutrientes (ferro, manganês, zinco, cobre, molibdênio, cloro e boro) e macronutrientes (carbono, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo e enxofre). À medida que a profundidade aumenta, a população e a diversidade microbiana reduzem devido à diminuição dos teores de matéria orgânica e oxigênio (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002). Essa tendência pode ser observada pela Tabela 2.3.

Quando a população microbiana é exposta aos compostos orgânicos do poluente ocorrem mudanças genéticas e um crescimento seletivo desta população em relação aos microrganismos degradadores os quais se apresentam em maiores proporções. Em ambientes não poluídos, geralmente os microrganismos degradadores constituem menos do que 1% da população microbiana. Já em ambientes contaminados esta proporção é de 1 a 10% (ATLAS, 1995).

Tabela 2.3: Distribuição da população microbiana em solos e água subterrânea

Microrganismos	Densidade Microbiana
	Superfície (Cels/g)
Bactérias	$10^8 - 10^9$
Actinomicetos	$10^7 - 10^8$
Fungos	$10^5 - 10^6$
Algas	$10^4 - 10^5$
	Subsolo (Cels/g)
Bactérias	$10^3 - 10^7$
	Água Subterrânea (Cels/mL)
Bactérias	$10^2 - 10^5$

Fonte: TRINDADE, 2002

A diversidade metabólica e o curto tempo de geração das bactérias caracterizam-nas como boas iniciadoras das reações de biodegradação de hidrocarbonetos. Dentre os

gêneros de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos (hidrocarbonoclasticas) predominam *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* e *Micrococcus* (BOOPATHY, 2000).

Os fungos são considerados mais eficientes sob condições adversas do processo, como valores extremos de pH, limitação de nutrientes e baixo teor de umidade. Adicionalmente estes não apresentam prioridade quanto ao ataque ao substrato, embora os mecanismos de biodegradação sejam praticamente idênticos ao bacteriano. Dentre os fungos filamentosos, algumas linhagens de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. são citadas como sendo capazes de degradar uma maior quantidade de hidrocarbonetos (ATAGANA *et al.*, 2006).

Em alguns estudos envolvendo a utilização de hidrocarbonetos de petróleo por leveduras, relatou-se que diferentes espécies do gênero *Candida* demonstraram preferência em degradar hidrocarbonetos de cadeias lineares. Outros trabalhos relevaram que leveduras pertencentes aos gêneros *Sporobolomyces* e *Rhodotorula* foram capazes de degradar hidrocarbonetos alifáticos, cíclicos e aromáticos (DEL'ARCO & de FRANÇA, 1999). Atlas (1995) citou outros gêneros de leveduras com esta mesma habilidade: *Saccharomyces* e *Trichosporium*.

Oliveira (2001) verificou que um consórcio microbiano constituído por linhagens dos gêneros *Pseudomonas*, *Serratia*, *Bacillus*, *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Streptomyces* foi capaz de degradar 100% dos *n*-alcanos, compreendidos entre o decano e o eicosano, e 40% dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos avaliados (1-metil-naftaleno, 2-metil-naftaleno, fluoreno, pireno, criseno, fenantreno, benzo(a)antraceno e benzo(b)fluoretano).

Lima (2002) avaliou a biodegradação de hidrocarbonetos em processos de *landfarming* e identificou os seguintes gêneros microbianos: *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Shigella*, *Klebsiella* e *Enterobacter*.

A partir do exposto, torna-se clara a habilidade de utilização de hidrocarbonetos por diversas espécies de microrganismos. A Tabela 2.4 apresenta os principais gêneros potencialmente degradadores de petróleo e seus derivados.

Tabela 2.4: Gêneros microbianos hidrocarbonoclasticos

Bactérias	Fungos			
	Actinomicetos	Leveduras	Bolores	
<i>Achromobacter</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Candida</i>	<i>Acremonium</i>	<i>Graphium</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Endomyces</i>	<i>Debaryomyces</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Humicola</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Nocardia</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Lulworthia</i>
<i>Agrobacterium</i>		<i>Sporobolomyces</i>	<i>Beauveria</i>	<i>Mortierella</i>
<i>Alcaligenes</i>		<i>Yarrowia</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Mucor</i>
<i>Arthrobacter</i>		<i>Picchia</i>	<i>Ceriporiopsis</i>	<i>Oxyoirus</i>
<i>Bacillus</i>			<i>Chrysosporium</i>	<i>Paecilomyces</i>
<i>Brevibacterium</i>			<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Burkholderia</i>			<i>Cochliobolus</i>	<i>Phialophora</i>
<i>Chromobacterium</i>			<i>Colorospora</i>	<i>Phoma</i>
<i>Comamonas</i>			<i>Coniothyrium</i>	<i>Pleurotus</i>
<i>Corynebacterium</i>			<i>Corioloopsis</i>	<i>Rhizopus</i>
<i>Cytiphaga</i>			<i>Cryphonectria</i>	<i>Scolecobasidium</i>
<i>Flavobacterium</i>			<i>Cylindrocarpon</i>	<i>Scopulariopsis</i>
<i>Gluconobacter</i>			<i>Dendosporium</i>	<i>Sprotrichum</i>
<i>Micrococcus</i>			<i>Dendryphiella</i>	<i>Spicaria</i>
<i>Mycobacterium</i>			<i>Drechslera</i>	<i>Tolypocladium</i>
<i>Pasteurella</i>			<i>Fusarium</i>	<i>Trametes</i>
<i>Proteus</i>			<i>Geotrichum</i>	<i>Trichoderma</i>
<i>Pseudomonas</i>			<i>Glicocladium</i>	<i>Varicosporina</i>
<i>Rhodococcus</i>			<i>Gongronella</i>	<i>Verticilium</i>
<i>Sarcina</i>				
<i>Serratia</i>				
<i>Streptomyces</i>				
<i>Vibrio</i>				
<i>Xanthomonas</i>				

Fonte: URURAHY, 1998; CRAVO, 1998; DEL'ARCO, 1999; OLIVEIRA, 2001; TRINDADE, 2002; SILVA, 2005; PEREIRA, 2008.

2.5.1 Mecanismos de Biodegradação de Hidrocarbonetos

A biodegradabilidade dos componentes do petróleo é dependente primeiramente de sua estrutura química, sendo influenciada também pelo estado físico e pela toxicidade dos compostos. O aumento das cadeias implica em uma maior complexidade estrutural e, conseqüentemente, em uma diminuição do número de microrganismos capazes de degradar estes compostos. Algumas das maiores estruturas moleculares são insolúveis e a maioria das bactérias pode somente utilizar os compostos dissolvidos em água (ATLAS, 1995).

A degradação pode ocorrer através do metabolismo de respiração aeróbia ou anaeróbia. Na primeira atuam inicialmente as enzimas oxigenases para inserir átomos de oxigênio na molécula de hidrocarboneto e, posteriormente, este elemento funciona como acceptor final de elétrons, sendo os produtos finais do metabolismo dióxido de carbono, água ou compostos resultantes da degradação parcial dos hidrocarbonetos (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

A degradação anaeróbia utiliza outros compostos como sulfato e nitrato como aceptores finais de elétrons, podendo ocorrer a formação de metano, sulfeto e nitrito (STREVETT *et al.*, 2002).

Diante da evidência de se encontrar um número extenso de microrganismos capazes de consumir hidrocarbonetos, estudos mais aprofundados envolvendo aspectos bioquímicos e mecanismos de degradação vêm sendo desenvolvidos. A seguir serão abordados alguns destes mecanismos.

2.5.1.1 Hidrocarbonetos Alifáticos Lineares e Ramificados

Os hidrocarbonetos alifáticos são os compostos do petróleo preferencialmente degradados pelos microrganismos. O início do processo se dá por ação de enzimas

monoxigenases, capazes de oxidá-los aos alcoóis correspondentes que são posteriormente transformados em aldeídos e ácidos graxos (RISER-ROBERT, 1998).

Del'Arco (1999) ressalta que existem outras rotas menos importantes como a que transforma *n*-alcanos em produtos hidroxilados, que depois são convertidos em álcoois correspondentes. Outra via metabólica consiste em oxidações subterminais que geram álcoois secundários, que são oxidados a ésteres e depois clivados, formando um ácido e um álcool que depois serão novamente oxidados. Estes compostos são metabolizados através do ciclo de Lynen ou β -oxidação. A Figura 2.4 apresenta a rota bioquímica de degradação de hidrocarbonetos lineares.

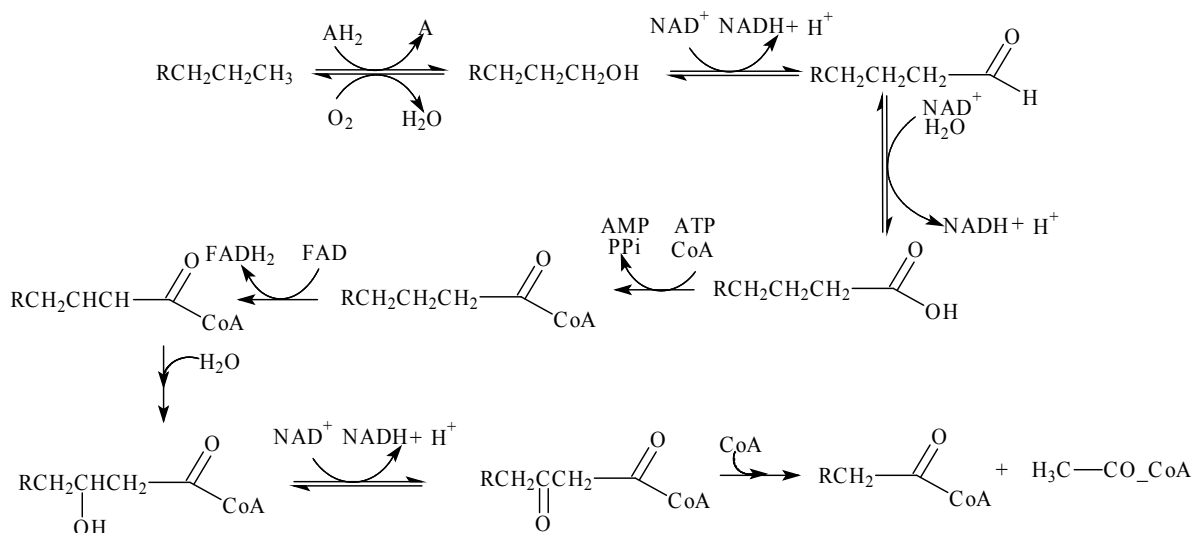


Figura 2.4: Via metabólica de degradação de hidrocarbonetos lineares
Fonte: RISER-ROBERT, 1998

Segundo Oliveira (2001), iso-alcanos de cadeia ramificada são menos susceptíveis ao ataque microbiano do que os *n*-alcanos equivalentes devido ao impedimento estérico oferecido às enzimas oxidativas, em especial quando estas ramificações ocorrem em posição β e constituem compostos ramificados quaternários.

2.5.1.2 Hidrocarbonetos Cíclicos

A degradação de formas não substituídas de cicloalcanos ocorre mais facilmente do que as formas substituídas e quanto maior o número de anéis condensados, maior a recalcitrância do cicloalcano. A degradação das cicloparafinas se dá por meio da ação de enzimas monoxigenases com a formação de um intermediário hidroxilado, que é subsequentemente oxidado a cetonas, lactonas e ácidos carboxílicos, como exemplificado na Figura 2.5.

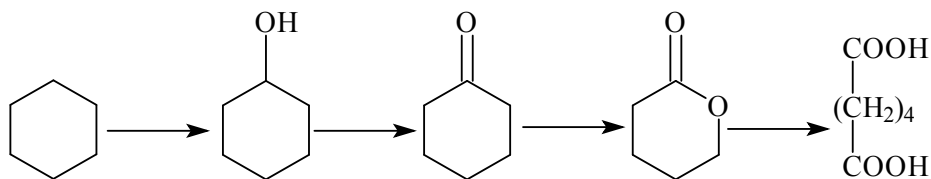


Figura 2.5: Rota de biodegradação do ciclohexano por *Pseudomonas* sp. e *Nocardia* sp.
Fonte: OLLIVIER & MAGOT, 2005

Numa etapa posterior, o ácido carboxílico é convertido em acetil CoA (coenzima A), que será percurso para as vias metabólicas do ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa (MADIGAN *et al.*, 2008).

2.5.1.3 Hidrocarbonetos Aromáticos

Os hidrocarbonetos aromáticos são constituintes de quase todas as frações do refino de petróleo e alguns destes compostos são largamente usados como solventes e outros constituem importantes matérias-primas para a indústria petroquímica. Benzeno, tolueno, etil-benzeno e xilenos (isômeros orto-, meta- e para-) (BTEX) constituem os mais significativos componentes desta classe de hidrocarbonetos, que devido a sua elevada toxicidade levam a preocupações ambientais (OLIVEIRA, 2001).

Os hidrocarbonetos aromáticos não são tão facilmente biodegradáveis como os alcanos, posto que apresentam elevada estabilidade termodinâmica devido à significativa energia de ressonância do anel (ALEXANDER, 1999).

Dentre os aromáticos, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são os compostos mais preocupantes, pois levam a afeitos carcinogênicos e mutagênicos, além de apresentarem elevada recalcitrância (PICADO *et al.*, 2001). A Figura 2.6 apresenta a estrutura química de alguns HPA.


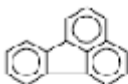
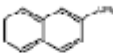




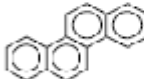
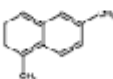
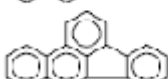

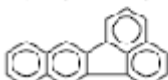

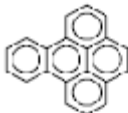
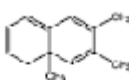
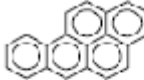
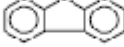
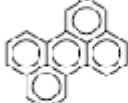

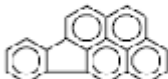

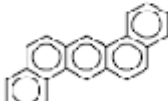
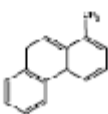
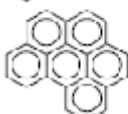
Nomenclatura (IUPAC)	Estrutura	Nomenclatura (IUPAC)	Estrutura
Naftaleno		Fluoranteno	
1-metilnaftaleno		Pireno	
2-metilnaftaleno		Benzo(a)fluoranteno	
Bifenil		Criseno	
2,6-dimetilnaftaleno		Benzo(b)fluoranteno	
Acenaftileno		Benzo(k)fluoranteno	
Acenafteno		Benzo(e)pireno	
2,3,5-trimetilnaftaleno		Benzo(a)pireno	
Fluoreno		Perileno	
Fenantreno		Indeno[1,2,3-cd]pireno	
Antraceno		Dibenzo(a,h)antraceno	
1 metil fenantreno		Benzo(ghi)perileno	

Figura 2.6: Estrutura química de alguns HPA
Fonte: PEREIRA, 2008

A degradação abrangente dos HPA se dá pela clivagem de um, dois ou mais anéis. Os grupos substituintes laterais do anel são modificados inicialmente por hidroxilação, desmetilação ou descarboxilação para produção de uma ou duas moléculas básicas. Essas são, então, clivadas por um segundo grupo de enzimas e, posteriormente, são degradadas a moléculas que serão percussoras de outras vias metabólicas.

As bactérias, geralmente, empregam dioxigenases para incorporar duas moléculas de oxigênio no substrato para formar dióxetanos, que são então oxidados a *cis*-dihidrodióis formando produtos dihidroxilados. Os fungos produzem monooxigenases para incorporar um átomo de oxigênio no substrato formando óxidos arenos, o que é seguido de atuação enzimática para produzir *trans*-dihidrodióis e fenóis (RISER-ROBERT, 1998). Essa degradação é apresentada na Figura 2.7.

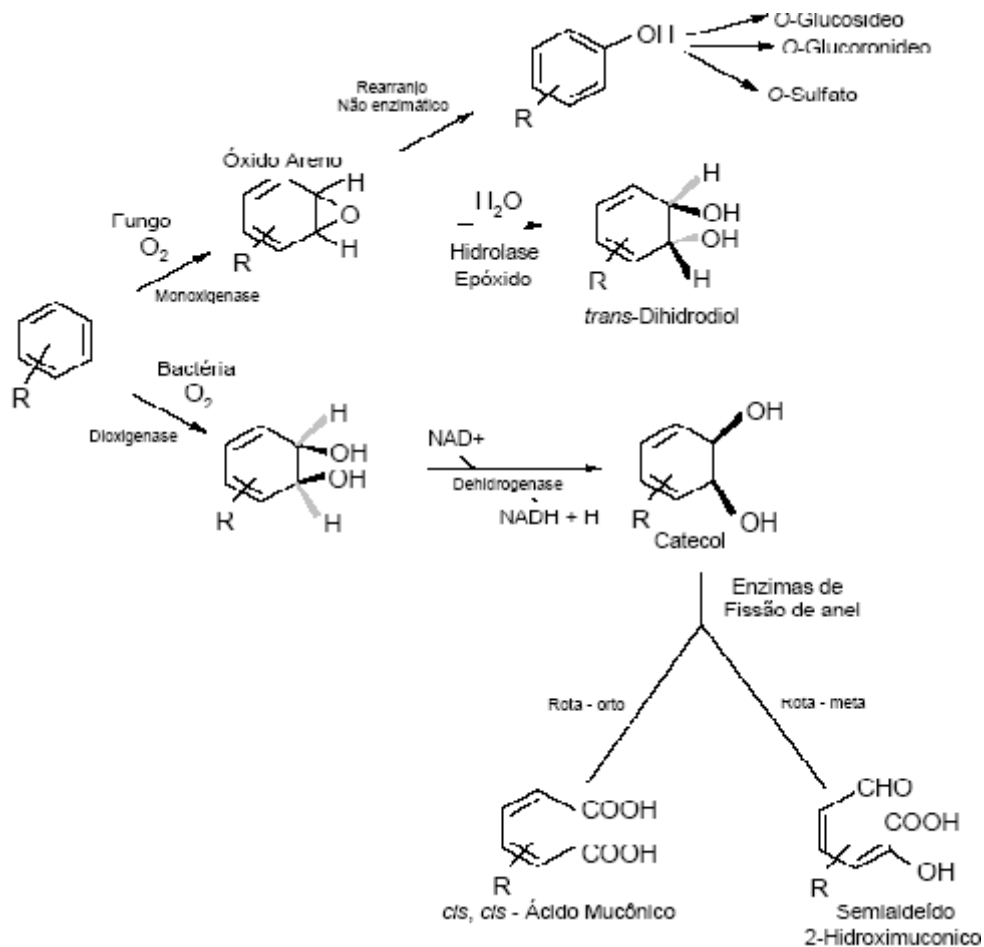


Figura 2.7: Via degradativa de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Fonte: RISER-ROBERT, 1998

Posteriormente, ocorrem dois mecanismos de clivagem do anel: na posição orto ou meta. O mecanismo mais comum é o que envolve a posição orto, seguido por uma série de reações enzimáticas até chegar aos produtos finais: ácidos orgânicos de baixo peso molecular e aldeídos (que são incorporados ao ciclo dos ácidos tricarbóxicos) (PEREIRA, 2008).

2.6 FATORES QUE INFLUENCIAM A BIODEGRADAÇÃO

As condições ambientais são de fundamental importância para a sobrevivência e crescimento microbiano. Se condições tais como pH, temperatura, umidade e aeração não são adequadas, o desempenho da microbiota é afetado de modo adverso (BOOPATHY, 2000). A manipulação e a otimização destes fatores são fundamentais para a obtenção de bons resultados.

2.6.1 Propriedades Físico-químicas do Substrato e Adaptação Microbiana

O acúmulo de um dado composto no meio ambiente poderá ser influenciado pela sua estrutura, concentração e toxicidade. Os compostos que não podem ser transformados tenderão a persistir no ambiente (ALEXANDER, 1999).

A biodegradabilidade relativa dos hidrocarbonetos em ordem decrescente de degradabilidade é dada por: Alcanos lineares (C_{10} a C_{19}); Gases (C_2 a C_4); Alcanos (C_5 a C_9); Alcanos Ramificados; Alcenos; Alcenos Ramificados; Aromáticos; Cicloalcanos; Poliaromáticos; e Asfaltenos (RISER-ROBERT, 1998).

Os produtos da biodegradação geralmente são transientes, mas alguns deles podem se acumular no ambiente. Os alcanos C_2 a C_6 podem ter efeito inibitório para alguns microrganismos, pois os hidrocarbonetos de baixo peso molecular solvatam e destroem as estruturas da membrana celular e pericelular lipídica dos microrganismos.

O acúmulo de compostos lipofílicos na membrana de microrganismos apresenta efeitos nas propriedades estruturais e funcionais, ocorrendo a perda de sua integridade e um aumento na permeabilidade de íons (MARIN *et al.*, 2005).

Observações quanto ao efeito tóxico de aromáticos, cicloalcanos, alcanos, álcoois e fenóis podem ser explicados pela interação desses compostos com os constituintes da membrana celular (HEJAZI *et al.*, 2003).

Uma forma de viabilizar a biodegradação é a adaptação dos microrganismos à fonte de carbono. Este processo visa reduzir o tempo de tratamento, aumentar a eficiência de remoção e evitar inibição do crescimento (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

Oliveira & de França (2004) relacionaram o sucesso da biorremediação de um solo arenoso contaminado com óleo cru ao uso de cultivo microbiano que havia sido adaptado por um período de cinco anos ao óleo. Os autores reportaram que a adaptação microbiana foi capaz de selecionar linhagens mais resistentes ao óleo e que podiam degradar os hidrocarbonetos alifáticos e policíclicos aromáticos com maior velocidade.

2.6.2 Aceptores de Elétrons

Um dos principais fatores que governam a biodegradação é o tipo e a biodisponibilidade de aceptores de elétrons. Na Tabela 2.5 é apresentada a relação entre a forma de respiração microbiana, os aceptores de elétrons, as características e o potencial de oxi-redução. O potencial de oxi-redução mede a tendência de uma substância doar ou receber elétrons e, por conseguinte, é uma medida quantitativa da energia livre envolvida na transferência de elétrons. Doadores e aceptores de elétrons são denominados redutores e oxidantes, respectivamente (MADIGAN *et al.*, 2008).

Tabela 2.5: Relação entre a forma de respiração microbiana, aceptores de elétrons e potencial redox

Forma de Respiração	Aceptor de Elétrons	Produto	Característica	Potencial Redox (mV)
Aeróbia	O ₂	H ₂ O	Aeróbios facultativos e estritos	+400
Redução de Ferro III	Fe ³⁺	Fe ²⁺	Aeróbios, facultativos e anaeróbios estritos	+77 (em pH 2-3)
Redução do Nitrato	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ , N ₂ O, N ₂	Aeróbios facultativos	-100
Redução de Sulfato	SO ₄ ²⁻	HS ⁻	Anaeróbios estritos	-160 a -200
Metanogênica	CO ₂	CH ₄	<i>Archaea</i> metanogênica	-300

Fonte: MADIGAN *et al.*, 2008

O oxigênio molecular atua como acceptor de elétrons durante a biodegradação aeróbia, enquanto nitrato, sulfato ou dióxido de carbono é o acceptor de elétrons para a biodegradação anaeróbia. Quando o oxigênio molecular está disponível como acceptor de elétrons, tende a ser preferencialmente utilizado em relação aos outros possíveis aceptores presentes, pois é a opção termodinamicamente mais favorável (STREVETT *et al.*, 2002). Na Tabela 2.5, verifica-se que O₂/H₂O é o mais eletropositivo; mais energia é disponibilizada quando o O₂ é usado do que quando outro acceptor de elétrons é empregado.

Em ambiente rico em matéria orgânica, os processos aeróbios consomem rapidamente o oxigênio, estabelecendo uma condição de anaerobiose. Se mais de um acceptor de elétrons está presente, somente um predominantemente suprirá mais energia aos microrganismos nativos e estes tenderão a dominar o ambiente. Essa sucessão de espécies microbianas é função do pH e do potencial redox. À medida que o potencial

diminui, ocorre transição da predominância de aeróbios para facultativos e, em seguida, anaeróbios (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002).

2.6.3 Teor de Umidade

A umidade do solo é essencial para a biodegradação uma vez que a maioria dos mecanismos de degradação ocorre na interface água-hidrocarboneto. A água é importante para o movimento dos microrganismos unicelulares que, por isso, são restritos aos filmes de água, enquanto fungos filamentosos e actinomicetos podem atravessar os vazios insaturados, através do crescimento micelial (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002). Ademais, a água serve como meio de transporte para alguns nutrientes e compostos orgânicos que se difundem para a célula microbiana e através da qual os produtos metabólicos são processados.

O teor de umidade também influencia a aeração e o pH, pois quando a matriz do solo está completamente preenchida com água, a difusão dos gases é severamente restringida, comprometendo as atividades metabólicas dos microrganismos aeróbios, visto que condições anóxicas são criadas (HARSEM *et al.*, 2007).

2.6.4 Temperatura

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes que afetam o desenvolvimento de microrganismos. Para a maioria dos microrganismos, mesófilos, a medida que a temperatura aumenta, as reações enzimáticas e químicas na célula ocorrem em maiores taxas e o crescimento torna-se mais rápido, enquanto que em temperaturas mais baixas há um declínio da velocidade das reações químicas e bioquímicas (MADIGAN *et al.*, 2008).

Em ambientes de baixa temperatura a volatilização de hidrocarbonetos é desfavorecida, assim, os compostos de menor cadeia carbônica tendem a permanecer no solo e, por conseguinte, viabilizar a solubilização da membrana dos microrganismos, o que diminui a eficiência do processo. Em temperaturas mais elevadas pode ocorrer a inativação de enzimas e/ou inviabilidade de alguns microrganismos, o que também limita o tratamento por biorremediação (ATLAS, 1995). Não se podem determinar valores adequados de temperatura, pois existem relatos da biodegradação eficiente em ambientes glaciais, tropicais, temperados e desérticos (PAUDYN *et al.*, 2007; HEJAZI *et al.*, 2003), e isto se deve a presença de microrganismos autóctones que atuam nas condições ambientais oferecidas.

2.6.5 pH

O pH é um fator determinante da taxa de crescimento dos microrganismos. Além disso, esse parâmetro pode influenciar a solubilidade de micro e macronutrientes, a mobilidade do material tóxico e a reatividade dos minerais. O ferro, o alumínio e o manganês apresentam características tóxicas em pH abaixo de 5,0. O fósforo está menos biodisponível em valores extremos de pH (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002).

As bactérias são consideradas agentes iniciadores da biorremediação e sua atividade metabólica situa-se na faixa de pH de 6,5 a 8,0. O controle desse parâmetro no solo pode maximizar a biodegradação (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

Del'Arco (1999) descreve que o pH é um parâmetro de seleção de grupos microbianos, além de um fator de otimização da biorremediação. A autora descreve que valores de pH ácido favoreceram o crescimento de fungos filamentosos e leveduras, e valores de pH na faixa de 6,0 a 7,0 favoreceram o crescimento de bactérias.

Em processos de biorremediação *in situ*, a microbiota nativa pode ser o agente do tratamento. Neste caso, estes microrganismos estão adaptados ao pH do local, viabilizando a biodegradação por técnicas de bioestimulação que não necessariamente incluem a correção do pH. No entanto, cabe destacar que durante o metabolismo de hidrocarbonetos ocorre a formação de intermediários ácidos que podem alterar o pH do meio, desfavorecendo a biodegradação.

2.6.6 Nutrientes

Os microrganismos são formados da combinação de elementos que são os componentes de seu material genético, moléculas estruturais, enzimas e plasma intracelular. O metabolismo microbiano e o crescimento são dependentes da disponibilidade de nutrientes essenciais (ALEXANDER, 1999).

Devido à grande diversidade de bactérias, a proporção de elementos nutricionais requeridos para crescimento varia muito, sendo carbono, hidrogênio, enxofre, nitrogênio e fósforo os principais elementos necessários. Os compostos orgânicos biodegradáveis são fontes de carbono que os microrganismos podem utilizar como recurso energético para o crescimento. Outros nutrientes (cálcio, nitrogênio, fósforo, etc.) são geralmente encontrados em concentrações adequadas em muitos solos (PELTOLA *et al.* 2006).

A introdução de hidrocarbonetos no solo promove o aumento da concentração de carbono orgânico e a sua remoção por ação microbiana exige a presença de nutrientes essenciais para o crescimento microbiano, como o nitrogênio e o fósforo. Oliveira & de França (2004) relatam que a adição de nutrientes é bastante frequente em processos de biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, pois viabilizam a síntese de fosfolipídios e ácidos nucleicos. Além disso, os autores

destacam que as fontes de nutrientes devem ser usadas em concentrações limitadas para que não haja inibição do crescimento microbiano e nem aumento do custo do processo.

As fontes mais comuns de nutrientes são sais de fósforo e nitrogênio encontrados em fertilizantes agrícolas, e até mesmo em subprodutos da indústria petroquímica. A adição de nutrientes é feita de modo a se estabelecer relações carbono e nitrogênio (C:N) e/ou carbono e fósforo (C:P) adequadas à biodegradação (HAMDI, *et al.*, 2007a). No entanto, uma adição descontrolada pode promover a eutrofização do local, contribuindo para o desequilíbrio ambiental.

2.6.7 Concentração de Microrganismos Degradadores de Hidrocarbonetos

O sucesso da biorremediação é dependente da diversidade da população de microrganismos presentes, mais especificamente da disponibilidade de microrganismos hidrocarbonoclásticos (PAUDYN *et al.*, 2007). Existe uma relação direta entre a taxa de degradação e o concentração da população microbiana, já que quanto maior o número de microrganismos capazes de degradar o composto, mais rápida será a sua degradação. O tamanho da população microbiana é maior na superfície do solo, visto que nesta região a temperatura, umidade, aeração e energia são relativamente mais favoráveis para o desenvolvimento dos microrganismos (VIDALLI, 2001).

De acordo com Oliveira (2001), em ecossistemas não contaminados, os microrganismos degradadores de hidrocarbonetos geralmente constituem menos do que 0,1% da população microbiana. No entanto, em ambientes contaminados, eles podem representar a totalidade da comunidade microbiana presente. Entretanto, quando a concentração da população microbiana degradadora de compostos orgânicos é baixa em determinados solos, uma opção para o aumento desta é a adição de microrganismos

autóctones (endógenos) ou alóctones (exógenos) adaptados às condições do solo a ser tratado (PAULA *et al.*, 2006).

Os actinomicetos também desempenham importante papel na biodegradação de hidrocarbonetos. Sob o ponto de vista nutricional, são microrganismos pouco exigentes e capazes de utilizar uma grande variedade de substâncias como fonte de carbono, inclusive hidrocarbonetos aromáticos (MADIGAN *et al.*, 2008).

Os fungos promovem a biodegradação de hidrocarbonetos no solo, em especial os fungos filamentosos, que são encontrados com mais frequência no solo. Alguns grupos de bactérias associadas às cianobactérias parecem formar um consórcio eficiente para a degradação de hidrocarbonetos (ATAGANA *et al.*, 2006). As cianobactérias fornecem oxigênio e nitrogênio, assim como outros elementos essenciais para as atividades das bactérias heterotróficas aeróbias. O emprego de consórcios microbianos possibilita a biodegradação de uma variedade de compostos complexos, posto que diferentes microrganismos contribuem através de seu sistema enzimático (MARIN *et al.*, 2005).

2.6.8 Biodisponibilidade do Contaminante

A degradação de compostos orgânicos pode ser influenciada pela biodisponibilidade do contaminante à população microbiana do solo. Essa dependência pode estar relacionada tanto às propriedades químicas dos compostos orgânicos quanto às características do solo. Além disso, outro fator que influencia a biodisponibilidade é a transferência de massa do contaminante, ou seja, a taxa com que o substrato pode alcançar a célula microbiana. A textura e a estrutura do solo influenciam na biodisponibilidade do hidrocarboneto, visto que os solos que apresentam partículas

maiores resultam em maior porosidade viabilizando a dispersão dos microrganismos no interior dos poros (RIBEIRO *et al.*, 2004).

A taxa de degradação de alguns compostos orgânicos adsorvidos pode ser influenciada pela densidade da população microbiana que se encontra na superfície das partículas do solo e/ou na fase líquida. Essa taxa pode ser aumentada pela produção de biossurfactantes, uma vez que estes favorecem a biodisponibilidade permitindo maior solubilização e emulsificação do composto (BAPTISTA, 2007).

Atualmente, há uma tendência mundial para a adoção de bioprodutos, devido à sua origem natural, baixa toxicidade e fácil biodegradabilidade. Estes fatos propiciaram a execução de estudos mais aprofundados sobre os biossurfactantes, o que está alinhado com a atual política ambiental de preservação dos recursos naturais.