



IBP2766_10

BIORREMEDIAÇÃO EM SEDIMENTOS IMPACTADOS POR PETRÓLEO NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA: AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS SATURADOS*

Lima, D. F.¹; Oliveira, O. M. C. de.²; Cruz, M.J.³; Trigüis, J. A.⁴; Queiroz,
A. F. de S.⁵.

Copyright 2010, Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis - IBP

Este Trabalho Técnico foi preparado para apresentação na *Rio Oil & Gas Expo and Conference 2010*, realizada no período de 13 a 16 de setembro de 2010, no Rio de Janeiro. Este Trabalho Técnico foi selecionado para apresentação pelo Comitê Técnico do evento, seguindo as informações contidas na sinopse submetida pelo(s) autor(es). O conteúdo do Trabalho Técnico, como apresentado, não foi revisado pelo IBP. Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões do Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis, seus Associados e Representantes. É de conhecimento e aprovação do(s) autor(es) que este Trabalho Técnico seja publicado nos Anais da *Rio Oil & Gas Expo and Conference 2010*.

Resumo

O desenvolvimento industrial, principalmente por parte da indústria petrolífera e a conseqüente expansão urbana na região de São Francisco do Conde, Candeias e Madre de Deus, municípios baianos localizados às margens da Baía de Todos os Santos (BTS), acarretou na redução de grandes áreas de manguezais. A biorremediação é uma técnica aplicada para amenizar diversos impactos ambientais, dentre eles os gerados por derivados do petróleo, através da introdução de microorganismos no ambiente, ou criando condições ótimas para os mesmos se desenvolverem. O presente estudo objetivou avaliar a degradação de hidrocarbonetos saturados através da técnica do bioestímulo em sedimento de manguezal impactado por atividades petrolíferas, testando a potencialidade de dois fertilizantes (NPK e OSMOCOTE) como agentes aceleradores da biodegradação dos componentes de petróleo, sob condições experimentais. O experimento foi realizado no período entre setembro e dezembro de 2008, em Laboratório de Simulação, montado na área de estudo. O monitoramento geoquímico foi realizado por cromatografia líquida e cromatografia gasosa (GC-FID). Para entendimento do processo de biorremediação foi utilizada o monitoramento dos parâmetros físico-químicos, quantificação dos teores de nutrientes, e o comportamento dos compostos saturados ao longo de todo o experimento. O monitoramento dos parâmetros físico-químicos mostrou condições favoráveis para o processo de biorremediação durante todas as fases de investigação. Os perfis cromatográficos demonstraram uma maior degradação dos hidrocarbonetos saturados nas unidades com NPK, evidenciando uma melhor eficiência desse fertilizante no processo de bioestímulo testado. Os perfis das unidades tratadas com OSMOCOTE não sofreram modificações significativas durante o experimento.

Abstract

Industrial development, primarily by the oil industry and the resulting urban sprawl in the region of São Francisco do Conde, Candeias and Madre de Deus, Bahianos municipalities located on the shores of the Bay of Todos os Santos (BTS), caused a reduction of large areas of mangroves. Bioremediation is a technique used to mitigate various environmental impacts, among which are generated by petroleum, through the introduction of microorganisms in the

environment, creating optimum conditions for them to develop. This study aimed to evaluate the degradation of saturated hydrocarbons using the technique of biostimulation in mangrove sediments impacted by oil activities, testing the potential of two fertilizers (NPK and Osmocote) as agents to accelerate the biodegradation of oil under experimental conditions. The experiment was conducted between September and December 2008, Simulation Laboratory, assembled in the study area. The geochemical monitoring was performed by liquid chromatography and gas chromatography (GC-FID). To understand the process of bioremediation was used to monitor the physical and chemical parameters,

¹Doutoranda, Estudante, PPGG/NEA/IGEO/UFBA

²Doutora, Professor/Pesquisador, DGGG e NEA/IGEO/UFBA

³Doutor, Professor/Pesquisador, NEA/DGQ/IGEO/UFBA

⁴Doutor, Professor/Pesquisador, NEA /IGEO/UFBA

⁵Doutor, Professor/Pesquisador, NEA/DGQ/IGEO/UFBA

quantification of the nutrient levels, and behavior of saturated compounds throughout the experiment. The monitoring of physico-chemical parameters showed favorable conditions for the bioremediation process during all phases of research. The chromatographic profiles showed greater degradation of saturated units with NPK, indicating a better efficiency of fertilizer in the process of biostimulation tested. The profiles of the units treated with Osmocote not changed significantly during the experiment.

1. Introdução

Os processos biológicos estão ganhando mundialmente cada vez mais importância no tratamento de ambientes especialmente aqueles contaminados com compostos orgânicos. Estes métodos são favorecidos por serem ecologicamente corretos, mais limpos, com custos baixos e de mais fácil aplicação em grande escala, além de não alterar o equilíbrio dos ecossistemas (Yeung *et al.*, 1997). A biorremediação é definida como o processo pelo qual os resíduos orgânicos são biologicamente degradados em condições controladas para um estado inócuo e se caracteriza pela aceleração do processo de degradação natural do petróleo onde os microrganismos utilizam como principal fonte de carbono os hidrocarbonetos em seus processos metabólicos (Vidali, 2001; Prince, 1993; Atlas, 1995a e 1995b; Pritchard & Costa, 1991). A biorremediação é uma tecnologia emergente que envolve a adição de materiais (por exemplo, nutrientes ou outros fatores de crescimento) em ambientes contaminados para acelerar os processos de biodegradação natural (EPA, 2006).

A bioestimulação de populações de microrganismos autóctones com o objetivo de aumentar as taxas de biodegradação é freqüentemente empregada em projetos de biorremediação (Atlas, 1997). Durante a bioestimulação existem fatores limitantes como nutrientes e aceptores de elétrons que estimulam o metabolismo e a velocidade de crescimento dos degradadores o que acelera as taxas de biodegradação em condições ambientais favoráveis. A adição de nutrientes em ambientes contaminados permite a degradação mais rápida e eficaz dos hidrocarbonetos por parte dos microrganismos nativos (Vallejo *et al.*, 2005). Segundo Vallejo *et al.* (2005) reporta que a bioestimulação acelera as taxas de biodegradação dos solos contaminados quando os fatores são controlados, como pH, porcentagens de umidade, concentração de HTPs (das frações mais difícil de degradação), aceptores de elétrons e temperatura. A maioria dos estudos se baseia na adição de nutrientes em forma de fertilizantes de compostos inorgânicos e inorgânicos simples. O NPK e OSMOCOTE vêm sendo usados largamente como estimuladores. O NPK é um fertilizante solúvel em água, composto por fosfato monoamônico $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, sulfato de amônia $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, cloreto de potássio (KCl) e farelo de algodão. O OSMOCOTE também é um fertilizante solúvel, possui a mesma composição se diferenciando por ser do tipo *slow release* (liberação lenta), onde os nutrientes inorgânicos ficam revestidos com materiais hidrofóbicos como parafina ou vegetal.

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a degradação dos hidrocarbonetos saturados através da técnica do bioestímulo em sedimento de manguezal, testando a potencialidade de dois fertilizantes (NPK e OSMOCOTE) como agentes aceleradores da biodegradação dos componentes de petróleo sob condições experimentais.

2. Materiais e métodos

2.1 Amostragem

O local de coleta das amostras de substrato do manguezal foi numa área contaminada da floresta de manguezal localizado na Baía de Todos os Santos, no município de São Francisco do Conde, Bahia, Brasil. A coleta do sedimento foi realizada no dia 04 de setembro de 2008. Foram coletados 72 testemunhos de sedimento com auxílio de um testemunhador de 30 cm. Em seguida os testemunhos foram homogeneizados em um recipiente metálico com a finalidade de evitar erros analíticos. Após ser homogeneizado, o sedimento foi dividido em três porções: 1º porção foi mantida a composição natural do sedimento (referência); 2º porção foi adicionada o fertilizante NPK (0,5g para cada kg de sedimento); e a 3º porção foi adicionada o fertilizante OSMOCOTE (0,5g para cada kg de sedimento).

2.2 Metodologia de Montagem do Experimento

O experimento foi montado em cubas de vidro (aquários) contendo 50 cm de altura, 30cm de largura e 40cm de comprimento, cada uma contendo: 08 (oito) provetas de vidros; suporte de madeira para as provetas; uma torneira na parte inferior para drenar a água e bomba para aeração. As provetas de vidro foram revestidas com sacos de algodão. No total foram montadas nove Unidades de Simulação: Unidade 1, 2 e 3 constituíram-se das amostras referências (Controle); Unidade 4, 5 e 6 constituíram-se das amostras que continham NPK (Biorremediação 1); Unidade 7, 8 e 9 constituíram-se das amostras que continham OSMOCOTE (Biorremediação 2). Nas unidades referências foi avaliado a ação do intemperismo natural do petróleo, e nas unidades de biorremediação 1 e 2, foi verificado a aceleração da

biodegradação do petróleo como resultado da aplicação de nutriente NPK e OSMOCOTE, respectivamente. As unidades de simulação (cubas de vidro) foram colocadas na bancada de simulação, e nelas foram instaladas as bombas de oxigenação, sendo duas para cada aquário.

2.3 Metodologias de Simulação

A água para simular a maré foi bombeada diretamente do estuário do rio São Paulo, BA e armazenada em um tanque de 1000L e foram renovados todos os dias de simulação. Um dia de simulação consistiu nas seguintes etapas: ligar o sistema de torneira com uma pequena vazão a fim de simular a subida da maré proveniente do tanque de armazenamento de água; após atingir o limite do aquário (22 litros) todas as bombas de oxigenação foram ligadas e contadas duas horas de simulação; depois os parâmetros físico-químicos (salinidade, OD, pH, E_H e temperatura) eram medidos; por fim os aquários eram esvaziados, também com uma pequena vazão para simular a descida da maré. Os aquários não foram esvaziados totalmente com o intuito de deixar o sedimento sempre em contato com a água.

2.4 Metodologia de Retirada de Amostras

A retirada das amostras de sedimento das unidades de simulação foi realizada com intervalo de 1, 30, 60 e 90 dias e foram determinados, para esta pesquisa, os seguintes parâmetros: Hidrocarbonetos Saturados, amônia, nitrato e fósforo. As amostras coletadas durante o período de experimento foram retiradas após 2 horas de simulação. Posteriormente cada amostra foi homogeneizada individualmente em um recipiente de inox, sendo que para cada triplicata de aquário existia um recipiente diferente com a finalidade de evitar mistura entre as amostras dos aquários referência, NPK e OSMOCOTE. As amostras para análise de Hidrocarbonetos Saturados, amônia (NH_4^+), nitrato (NH_3^-) e fósforo (P) foram coletadas em recipientes de vidro. Todas as amostras foram acondicionadas a temperatura baixa em caixas térmicas.

2.5 Monitoramento das Unidades de Simulação

Durante os três meses de simulação as unidades foram monitoradas diariamente. Os parâmetros físico-químicos não conservativos (pH, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido) foram mensurados quando a água chegava ao aquário e após 2 horas de simulação com auxílio de equipamentos de alta precisão.

2.6 Procedimentos Analíticos

2.6.1 Determinação de Nutrientes

Foram realizadas análises de amônia (NH_4^+), nitrato (NH_3^-) e fósforo (P). As determinações de nitrogênio total, nitrato e amônia foram realizados segundo o Método de Kjeldahl por via úmida (Embrapa, 1999). O fósforo assimilável foi extraído pelo método Aspila *et al.* (1976) e determinado por Grasshoff (1983).

2.6.2 Determinação de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP)

Os Hidrocarbonetos saturados foram determinados segundo método USEPA 8015B. O equipamento utilizado para leitura dos perfis cromatográficos foi um cromatógrafo em fase gasosa Hewlett Packard, modelo 6890 com detector de ionização em chama (FID) com ar sintético.

3.0 Resultados e Discussão.

3.1 Avaliação dos parâmetros físico-químicos (pH, temperatura, OD., salinidade).

Para avaliação dos parâmetros físico-químicos foi calculado a média entre as triplicatas (para cada experimento). O gráfico da **Figura 1a** permite analisar as variações das médias da temperatura da água do canal de maré e das unidades de simulação, ocorridas durante o 1º, 30º, 60º e 90º dia. A temperatura da amostra background (água do canal de maré) se apresentou mais baixa que as das unidades de experimento (após duas horas de simulação) isso pode ser justificado pelo fato do Laboratório de Simulação ter uma temperatura maior do que a do ecossistema natural, em função de ser um ambiente artificial, que segundo Santana (2008) a alta temperatura pode ser reflexo do tipo de telha (transparente) utilizada na cobertura do laboratório de simulação, a qual permite a entrada da energia solar com grande intensidade tornando o ambiente semelhante a uma estufa. Os resultados para temperatura mostraram valores dentro do limite ideal para o desenvolvimento dos microrganismos necessários para o aumento da biodegradação durante todos os dias monitorados (1º, 30º, 60º e 90º dia). Conforme Koning (2002) são as temperaturas mais altas, a princípio, as mais vantajosas, já que a solubilidade dos contaminantes e a biodisponibilidade dos compostos orgânicos

umentam, facilitando o processo de degradação.

Os valores medianos de pH apresentaram-se compatíveis para águas marinhas, variando entre 7,13 e 7,92. O gráfico da **Figura 1b** permite analisar as variações de pH da água do canal de maré e das unidades de simulação, ocorridas durante o 1°, 30°, 60° e 90° dia. A maior parte dos microorganismos tolera valores de pH na faixa de 5 a 9 e preferencialmente funcionam na faixa de 6,5 a 7,5 (Atlas, 1981).

Quando altas concentrações de compostos orgânicos estão presentes no subsolo com baixa alcalinidade é necessário o controle do pH para que a biodegradação se efetue. Cavalho (2007), Celino *et al.* (2007) e Santana (2008) em estudos realizados no Norte da Baía de Todos os Santos, obtiveram valores próximos, aos encontrados neste trabalho. Durante a simulação verificou-se que o pH manteve-se dentro da amplitude definida na caracterização inicial (1° dia de simulação), indicando a capacidade de tamponamento para patamares mais alcalinos (Esteves, 1998) (**Figura 1b**). Segundo Vallejo *et al.* (2005) o pH tem a capacidade de inibir o crescimento dos heterótrofos e degradadores reduzindo as taxa de degradação dos hidrocarbonetos. Os resultados de pH mostraram-se adequados para o desenvolvimento de microrganismos responsáveis pela biodegradação dos contaminantes, não comprometendo portanto o processo de biorremediação.

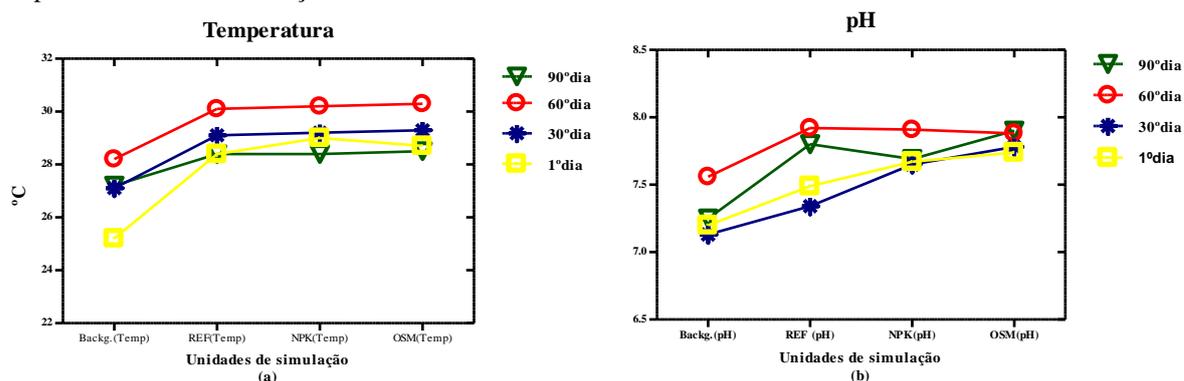


Figura 1. (a) Gráfico com variação da Temperatura (Temp.) nas unidades de simulação no 1°, 30°, 60° e 90° dia. (b) Gráfico com variação do pH nas unidades de simulação no 1°, 30°, 60° e 90° dia.

A **Figura 2a** permite analisar as variações de salinidade da água do canal de maré e dos aquários, ocorridas durante os 1°, 30°, 60° e 90° dias. Os valores para salinidade variaram entre 30,67 e 40,67. A salinidade durante todo o experimento se comportou de forma adequada para o desenvolvimento dos microrganismos típicos do manguezal do estuário do rio São Paulo quando comparados com valores ideais de ambientes de água salina (superior a 30) (Conama, 2005). O background (água do canal) teve maiores valores em relação ao encontrados nas unidades de simulação. Sendo que durante o experimento os maiores valores foram encontrados no 60° dia de experimento tanto para a água do canal como para as unidades de simulação, podendo estar relacionado diretamente com o aumento da temperatura ou ao ciclo de maré, que irá determinar uma maior ou menor entrada de água salina no estuário. O aumento da salinidade nas unidades de simulação com NPK e OSMOCOTE em comparação com as unidades referências pode estar relacionado com o uso de sais nutrientes, tais como amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-).

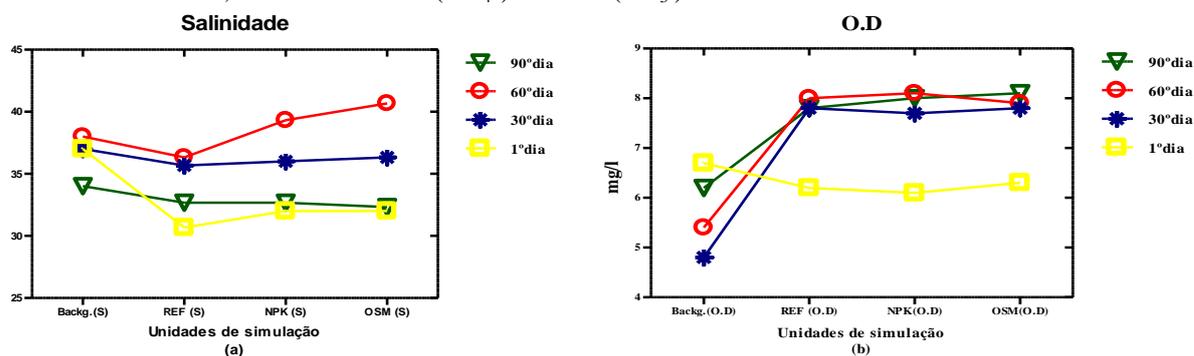


Figura 2. (a) Gráfico com variação da Salinidade (S) nas unidades de simulação no 1°, 30°, 60° e 90° dia. (b) Gráfico com variação do O.D. nas unidades de simulação no 1°, 30°, 60° e 90° dia.

O O.D. ao longo do experimento variou entre 4,8 e 8,1 mg/L. Na **Figura 2b** acima pode se observar a variação do O.D. mg/L no 1°, 30°, 60° e 90° dia. Segundo o Conama (2005) para águas com salinidade superior a 30 ° O.D. deve ser superior a 6 mg/L. A taxa de O.D. ideal para biodegradação está em torno de 8,0 mg/L. Os valores médios nas unidades de simulação se encontraram abaixo ou no limite desse valor ideal para biodegradação, mas são condições necessárias para desenvolvimento de microrganismos típicos de manguezal. Chayabutra & Ju (2000) concluíram que sob condições microaeróbicas a taxa de desnitrificação decresce com a redução da concentração do oxigênio dissolvido,

implicando que as reações que requerem oxigênio são limitantes para a continuidade da biodegradação. A disponibilidade de oxigênio é crucial para a biorremediação rápida, a biodegradação de hidrocarbonetos é essencialmente um processo aeróbio sendo a limitação de oxigênio um problema potencial em um ambiente (Zhu *et al.*, 2004b).

3.2 Avaliação dos nutrientes (Amônia (NH_4^+), Nitrato (NH_3^-) e Fósforo (P)).

Os nutrientes monitorados durante o experimento foram os teores dos íons de fósforo, amônio e nitrato, em amostras de sedimento extraídas das provetas de todas as unidades de simulação, durante os intervalos de 1, 30, 60, 90 dias. A amostra utilizada como *background* é produto da homogeneização de todas as amostras coletadas e representa uma amostra supostamente padrão desse substrato contaminado. A média dos teores de fósforo, amônia e nitrato na amostra background foi de $29,03\text{mg kg}^{-1}$, $2,03\text{ mg N-NH}_4^+\text{kg}^{-1}$ e $2,01\text{ mg N-NH}_3^-\text{kg}^{-1}$, respectivamente, bem próximo daqueles valores encontrados nas unidades de simulação referências no primeiro dia de experimento. As concentrações medianas do fósforo para as unidades referência variaram entre $18,24$ e $31,61\text{mg kg}^{-1}$.

Na **Figura 3** pode-se observar que os teores de fósforo nas unidades referências se comportaram de forma semelhante durante todo o experimento, tendo uma diminuição no 90º dia. As concentrações para os valores de amônia das unidades de simulação referências variaram entre $3,38$ e $22,08\text{ mg N-NH}_4^+\text{kg}^{-1}$. Na **Figura 4** pode-se observar que os teores de amônia nas unidades referências tiveram um aumento no 30º dia decaindo no 60º dia e tendo um leve aumento no 90º dia. O aumento nos teores de nutrientes favorece o crescimento da população microbiana responsável pela biodegradação do óleo contido no ambiente.

Os teores para os íons nitrato nas unidades referências variaram ao longo do experimento entre $3,66$ a $23,48\text{ mg N-NH}_3^-\text{kg}^{-1}$.

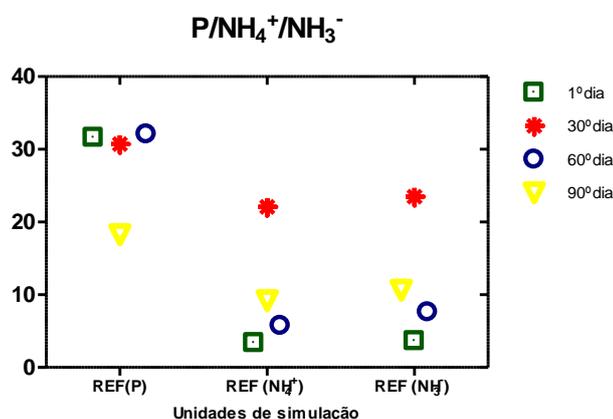


Figura 3. Gráfico com variação dos teores de fósforo, amônia e nitrato do 1º, 30º, 60º e 90º dia de experimento nas unidades de simulação com REFERÊNCIA (REF).

Na **Figura 3** acima pode-se observar que os teores de nitrato nas unidades referências tiveram um comportamento semelhante ao nutriente amônia. Comparando os teores de nutrientes encontrados na amostra background e as amostras das unidades referência pode-se observar que há heterogeneidade entre as amostras, pois teoricamente essas amostras deveriam conter as mesmas concentrações de nutrientes.

As concentrações do fósforo nas unidades com NPK variaram entre $122,01$ e $171,41\text{mg kg}^{-1}$. Os teores de fósforo, durante todo o experimento foram mais elevados do que àquelas das demais unidades de simulação sendo que apresentou uma queda no 60º e 90º dia de experimento. Este fato pode ser justificado uma vez que o NPK é bastante solúvel e à medida que a maré era simulada é possível que esses nutrientes fossem utilizados pelos microrganismos como fonte energia para seu metabolismo. Segundo Vallejo *et al.*(2005) são encontrados valores baixos de fósforo ao longo do experimento pelo fato dos microrganismos o consumirem rapidamente no início da biodegradação. Isso não foi observado neste experimento.

Os valores de fósforo se mantiveram em níveis altos durante toda a experiência, podendo ser inferido pelo estágio de degradação do óleo, onde não foi possível detectar os hidrocarbonetos de baixo peso molecular, os primeiros a serem degradados. Os teores de amônia nas unidades com NPK obtiveram valores mais altos nos primeiros dias de experimento, diminuindo sensivelmente a partir do 30º dia de experimento (**Figura 4**).

As concentrações de amônia variaram entre $8,80$ e $323,51\text{mg N-NH}_4^+\text{kg}^{-1}$. O consumo da amônia pode estar relacionado com a incorporação na biomassa microbiana no processo de biodegradação (VALLEJO *et al.*, 2005). Os teores de nitrato nas unidades onde foi adicionado NPK obtiveram valores mais altos nos primeiros dias de experimento decaindo a partir 30º dia de experimento, variando entre $9,73$ e $265,55\text{ mg N-NH}_3^-\text{kg}^{-1}$. Essa queda pode estar relacionada com a solubilização do nitrato que é maior nesse tipo de fertilizante e em consequência disso é assimilado mais rapidamente pelos microrganismos degradadores (Vallejo *et al.*, 2005).

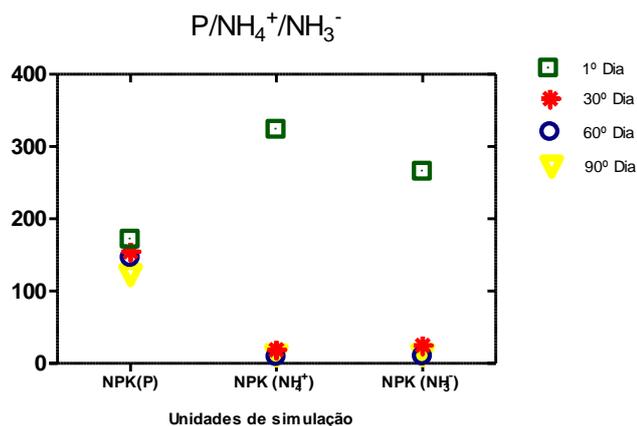


Figura 4. Gráfico com variação dos teores de fósforo, amônia e nitrato do 1º, 30º, 60º e 90º dia de experimento nas unidades de simulação com NPK.

As unidades com OSMOCOTE só apresentaram valores mais elevados a partir do 30º dia, mas quando comparados aos aquários com NPK os teores de fósforo são menores, e este fato pode ser justificado pelo tipo de liberação (lenta) típica deste fertilizante. Os teores de fósforo nessas unidades variaram entre 34,03 e 144,61 mg kg⁻¹.

Nas unidades de simulação com OSMOCOTE os teores de amônia aumentaram gradativamente até o 30º dia de experimento, tendo uma queda no 60º dia de experimento. A baixa concentração do nitrato em relação às concentrações de amônia sugere que esta é a fonte principal de nitrogênio neste experimento (Vallejo *et al.*, 2005). Os teores de nitrato nas unidades com OSMOCOTE variaram entre 20, 56 a 44,10 mg N-NH₃ kg⁻¹. Os resultados encontrados corroboram a idéia de alguns autores de que em sistemas abertos pode haver deficiência nos teores de nutrientes o que pode resultar na inibição do processo de biodegradação (Lindstrom *et al.*, 1991; Furnas, 1992 *apud* Hoff, 1993; Bragg, 1992 *apud* Rytkenon *et al.*, 1997). Por isso a necessidade da adição dos nutrientes, o que pode aumentar a velocidade da degradação.

O fósforo foi o único nutriente que continuou ao longo de todo o experimento sendo liberado uniformemente tanto nas unidades com NPK como nas unidades com OSMOCOTE (Figura 5). Os nutrientes em certos ambientes costeiros são escassos e a ausência principalmente de fósforo biodisponível pode provocar a redução da população microbiana, dificultando assim o processo de degradação do óleo (Leahy & Colwell, 1990; Prince, 1993). Dibble & Bartha (1972) indicam que concentrações de nitrogênio e fósforo severamente limitam a extensão da degradação de hidrocarbonetos e que a adição de nitrogênio e fósforo pode ser usada para estimular degradação microbiana de hidrocarboneto.

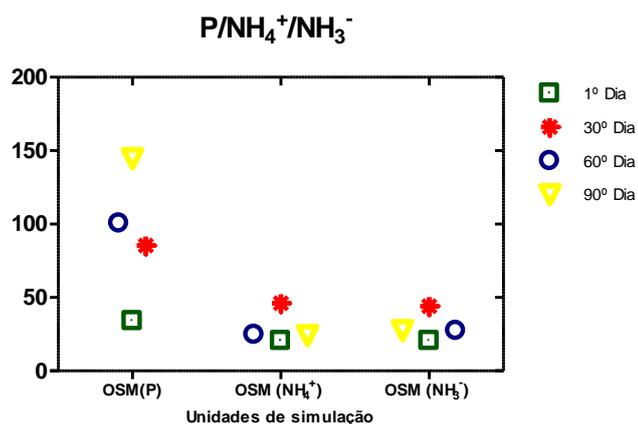


Figura 5. Gráfico com variação dos teores de fósforo, amônia e nitrato do 1º, 30º, 60º e 90º dia de experimento nas unidades de simulação com OSMOCOTE (OSM).

3.3 Avaliação da cromatografia Gasosa

Um dos parâmetros mais usados para o monitoramento da biodegradação de hidrocarbonetos saturados é a distribuição dos *n*-alcanos. Esses compostos são representados normalmente pelos maiores picos registrados num cromatograma. Entretanto, quando o óleo se encontra em processo de biodegradação ocorre uma redução desses compostos (*n*-alcanos), alterando o perfil cromatográfico.

3.3.1 Background.

O cromatograma do extrato orgânico da amostra do substrato, considerada *background* se pode observar a ausência dos *n*-alcanos de baixo peso molecular, que devem ter sido evaporados, possivelmente logo após o derrame. (**Figura 6**). Wang & Fingas (1994); Fingas (1996) afirmam que nos primeiros dias de um derrame a evaporação é responsável pela retirada de 40 a 70% dos hidrocarbonetos voláteis, para óleos médios e leves. Nota-se, pelo cromatograma da **Figura 6**, que alguns picos estão ainda mostrando uma série homóloga dos *n*-alcanos de mais alto peso molecular, porém com valores bastante baixos de abundância relativa, dada pelas alturas dos picos. A ausência dos *n*-alcanos e a elevação da linha (*hump*) de base são parâmetros que comprovam que o óleo encontrado no substrato já se encontra em estágio de degradação.

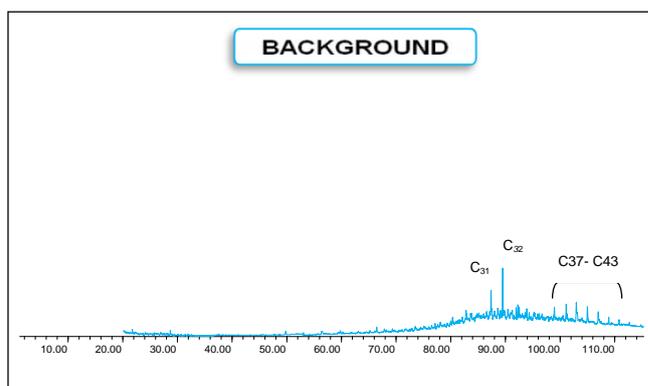


Figura 6. Cromatograma dos Hidrocarbonetos Saturados da amostra *background* do substrato do manguezal do estuário do rio São Paulo.

3.3.2 Unidades de simulação Referência

As amostras de referência 1, 2 e 3 identificadas no 1º dia do experimento (**Figura 7a**), apresentam *fingerprints* (perfil cromatográfico) similares da amostra padrão do substrato. Este mesmo *fingerprint* se repete praticamente em todas as amostras de referência coletadas durante o experimento. Em todos estes cromatogramas pode-se observar a ausência dos *n*-alcanos de baixo peso molecular e isoprenóides. Pode-se observar uma elevação na linha de base (UCM) com presença de *n*-alcanos de mais alto peso molecular, assim como o encontrado no perfil cromatográfico do substrato *background* apesar de apresentar picos maiores.

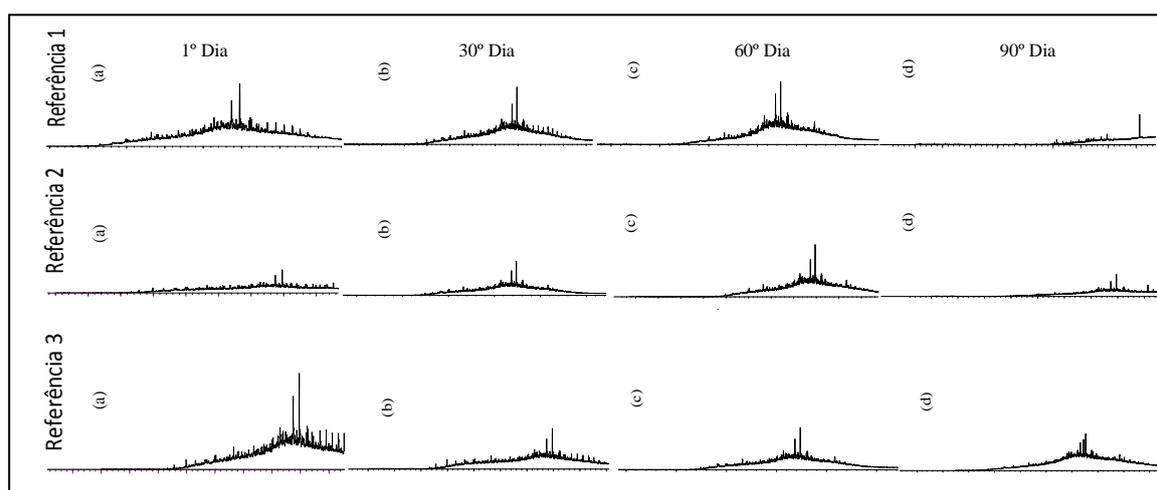


Figura 7. Cromatogramas dos hidrocarbonetos saturados das amostras extraídas das unidades referências 1, 2, e 3 no 1º(a), 30º(b), 60º(c) e 90º(d) dia de simulação do experimento de biorremediação em sedimentos do manguezal do estuário do rio São Paulo.

Nascimento (2006), em seu experimento simulando derrame de óleo no manguezal do Rio das Ostras, Rio de Janeiro em amostras de sedimento, verificou que após 56 dias de experimento não era mais possível identificar os *n*-alcanos nas unidades de simulação controle, onde se observou a degradação natural. Isso pode confirmar a ausência dos

n-alcanos e isoprenóides nos primeiros dias de experimento, já que para o ensaio foi utilizado um substrato que já se encontrava contaminado há algum tempo e que provavelmente deve ter sofrido a ação dos processos intempéricos, principalmente evaporação.

Como pode ser observado na **Figura 7b, c e d** acima referente ao 30°, 60° e 90° dia do experimento, as amostras apresentaram além da redução dos picos a ausência de alguns *n*-alcanos de alto peso molecular identificados nos primeiros dias do experimento. Os resultados das unidades referência, no geral, sugerem a ocorrência de biodegradação natural. Porém a biodegradação natural é considerada como um processo lento.

3.3.3 Unidades de Simulação NPK.

Os perfis cromatográficos do primeiro dia de experimento, para as amostras das unidades com NPK (**Figura 8a**), apresentam pequenas variações. Estes perfis são bem parecidos com os encontrados nas unidades referências, com ausência dos *n*-alcanos de baixo peso molecular e presença de *n*-alcanos de alto peso molecular, confirmando que o óleo extraído do substrato já se encontra em processo de biodegradação. Estudos realizados por Rosa e Trigüis (2006) mostraram que a biorremediação com a utilização do fertilizante NPK se apresentou eficiente na degradação completa de alcanos normais e ramificados em água do mar. Alguns autores relatam que a taxa de biodegradação são similares em água e sedimento. Nascimento (2006), observou que por volta do 7° dia de experimento já não era possível identificar a presença dos *n*-alcanos e isoprenóides.

Nos cromatogramas do 30°, 60° e 90° dia de experimento, para as amostras das unidades com NPK (**Figura 8b, c e d**), pode-se observar além da redução dos picos a ausência de *n*-alcanos alto peso molecular. A diminuição na degradação dos hidrocarbonetos no 90° dia pode estar relacionada com a deficiência dos nutrientes já que se observou uma redução das concentrações dos nutrientes nesse dia.

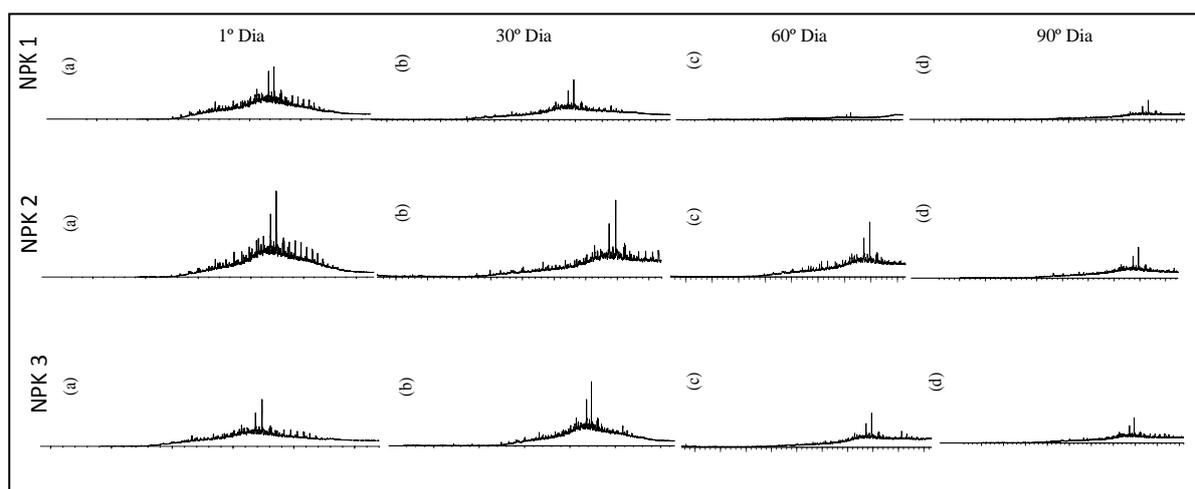


Figura 8. Cromatogramas dos hidrocarbonetos saturados das amostras extraídas das unidades NPK 1, 2, e 3 no 1º(a), 30º(b), 60º(c) e 90º(d) dia de simulação do experimento de biorremediação em sedimentos do manguezal do estuário do rio São Paulo.

3.3.4 Unidades de simulação OSMOCOTE

As unidades de simulação em que se adicionou OSMOCOTE, estes apresentaram uma variação no perfil cromatográfico um pouco diferenciado daqueles observados no material referência e nas unidades com NPK, desde o primeiro dia do experimento (**Figura 9a**). Pode ser observado que o óleo extraído se encontra em um estágio diferenciado com uma menor elevação da linha de base, mas com ausência de *n*-alcanos de baixo peso molecular. Estudos realizados por Xu *et al.*, (2004) testando a utilização do fertilizante OSMOCOTE, apresentaram um aumento drástico nas atividades metabólicas dos microrganismos, acelerando a biodegradação dos hidrocarbonetos. No entanto, no presente experimento, pôde-se observar um perfil cromatográfico (**Figura 9b, c e d**) similar ao do 1º dia, sugerindo-se que o OSMOCOTE não aumentou significativamente a taxa de degradação, comprovada também pelos resultados da cromatografia Líquida.

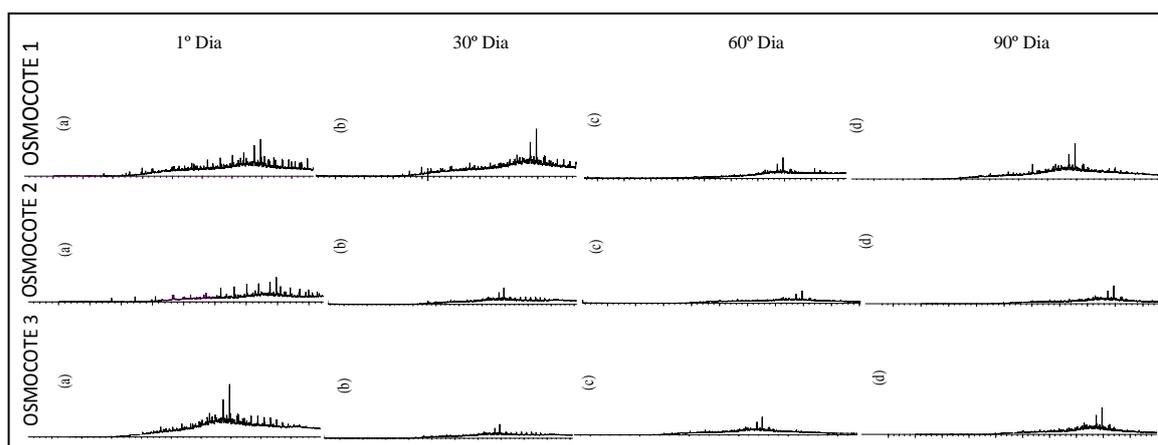


Figura 9. Cromatogramas dos hidrocarbonetos saturados das amostras extraídas das unidades OSMOCOTE 1, 2, e 3 no 1º(a), 30º(b), 60º(c) e 90º(d) dia de simulação do experimento de biorremediação em sedimentos do manguezal do estuário do rio São Paulo.

4. Conclusões

O monitoramento dos parâmetros físico-químicos mostrou condições favoráveis para o processo de biorremediação durante o experimento, não sendo fatores limitantes para o processo de biorremediação. Os resultados da avaliação dos compostos inorgânicos mostraram que o fósforo foi o único nutriente que continuou sendo liberado uniformemente ao longo de todo o experimento, tanto nas unidades com NPK como nas unidades com OSMOCOTE atribuído ao consumo desse nutriente ocorrer nos primeiros dias de biodegradação dos hidrocarbonetos, o que não ocorreu no presente trabalho devido ao estágio de degradação que óleo se encontrava. Já os resultados para os íons amônia e nitrato mostraram altos teores nos primeiros dias, sendo consumido ao longo do experimento nas unidades que continha NPK, podendo ser atribuído a solubilidade desse fertilizante. Nas unidades com OSMOCOTE os resultados mostraram um aumento crescente a partir do 30º dia de experimento, confirmando a sua liberação lenta. A análise por cromatografia gasosa das amostras de óleo extraída das unidades de simulação com NPK mostraram que a atuação da biodegradação nessas amostras foi mais significativa do que nas amostras extraídas das unidades de simulação com OSMOCOTE. Considera-se que ao final da simulação houve a degradação quase completa dos *n*-alcanos de alto peso molecular nas unidades com NPK, enquanto que nas unidades com OSMOCOTE não se observou diferenças significativas no perfil cromatográfico. Os resultados encontrados para os testes de comparação entre os fertilizantes NPK e OSMOCOTE indicaram que há eficiência do NPK na aceleração do processo de biodegradação, podendo ser indicativo de futuras utilizações no âmbito da biorremediação em áreas impactadas por atividades petrolíferas.

5. Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo. À FINEP, pelo apoio financeiro através do convênio FINEP-FAPEX nº01.05.0016.00, que permitiu a realização de todas as fases deste trabalho. À equipe do Núcleo de Estudos Ambientais – NEA(UFBA). Ao Laboratório de Estudos de Petróleo (LEPETRO/IGEO/UFBA) pela realização das análises. Ao Laboratório de Engenharia e Exploração de Petróleo-LENEP-UENF.

6. Referências

- ATLAS, R. M. Stimulated petroleum biodegradation. **Critical Review in Microbiology**, Pensilvânia, p. 371-386, 1977.
- ATLAS, RONALD M. Bioremediation. **Chemical & Engineering News**, 3 : p. 32- 42, 1995a.
- ATLAS, RONALD M. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. **Marine Pollution Bulletin**, 31 (4), p.178-182, 1995b.
- BLEINKINSOPP, S.*et al.* The freshwater biodegradation Potential of Nine Alaskan Oils. **Proceedings of the 20 th Arctic and Marine Oilspill Program Technical Seminar**, Canada, p.581-608, 1997.
- CARVALHO, L. V. M.. **Estudo da qualidade da água superficial em zona estuarina no Rio São Paulo – Região de Candeias- Ba.** 2007. 129f. Dissertação (Mestrado em Geologia), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2007.

- CELINO, J.J.; QUEIROZ, A.F. de S.; TRIGUIS, J.A.; OLIVEIRA, O.M.C.; SANTIAGO, J.S. Fonte da matéria orgânica e grau de contaminação por hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) em sedimentos de manguezais na porção norte da Baía de Todos os Santos, Bahia. In: 4^oPDPEURO, 2007, Campinas – São Paulo. **Anais eletrônicos...** Campinas, 2007. Disponível em: <http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPEURO_6_2_0026-1.pdf> Acesso em: 06 fev. 2009.
- CONAMA, **Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução n° 357, de 17 de março de 2005**(on-line). Disponível em: <www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf> Acesso em 30/06/2008.
- CHAYABUTRA, C.; JU, L.K.. Degradation of n-hexadecane and its metabolites by *Pseudomonas aeruginosa* under microaerobic and anaerobic denitrifying conditions. **Appl Environ Microbiol** **66** (2), p.493–498, 2000.
- DIBBLE J.T; BARTHA R.. Effect of iron on the biodegradation of petroleum in seawater. **Appl Environ Microbiol** **31**(4), p.544–550, Apr 1972.
- EPA - Environmental Protection Agency (EUA). **Design Document for Passive Bioventing. How To Evaluate Alternative Cleanup Technologies For Underground Storage Tank Sites: A Guide For Corrective Action Plan Reviewers**, 2006 (EPA 510-B-94-003; EPA 510-B-95-007; and EPA 510-R-04-002). Disponível em: http://www.epa.gov/swrust1/pubs/tum_ch3.pdf. Acesso em: 10 de Novembro de 2008.
- ESTEVES, F. A.. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro. Interciência: FINEP, 574 p., 1988.
- FINGAS, M.F. *et al.* The effect of energy, settling time, and shaking time on the swiflask dispersant apparatus. **Spill Science and Technology Bulletin** **3**(4), p.193-194,1996.
- GAGLIANONE, P. C., TRINDADE, L. A. F.. Caracterização Geoquímica dos óleos da Bacia do Recôncavo. **Geochimica Brasiliensis**, v. 2, n. 1, pp. 15-39. 1988.
- HOFF, R.Z.. Bioremediation: an overview of its development and use for oil spill cleanup, **Marine Pollution Bulletin**, **26** (9), p. 476-481, 1993.
- LINDSTROM, J. E. *et al.* Microbial populations and hydrocarbon biodegradation potentials in fertilized shoreline sediments affected by the T/V Exxon Valdez oil spill. **Appl. Env. Micro** **57**(1), Alaska, p.2514-2522, Sep.1991.
- LEAHY, J.G.; COLWELL, R.R.. Microbial Degradation of hydrocarbons in the environment. **Microbial Reviews**, **53**(3), p.305-315, 1990.
- NASCIMENTO, T. V.. **Aplicação da Biorremediação a Derrames de Petróleo Em Manguezal do Rio Das Ostras, Rj: Simulação Laboratorial** . 2006. 73f. Monografia (Bacharel em Engenharia de Exploração e Produção de Petróleo), Universidade Estadual Norte Fluminense, Macaé, 2006.
- PRINCE, R.C. Petroleum spill bioremediation in marine environments, **Critical Reviews in Microbiology**, **19** (4), p. 217-242, 1993.
- PRITCHARD P. H.; C. F. COSTA. "EPA's Alaska Oil Spill Bioremediation Project." **Environ. Sci. Technol.** **25**, p.372-379, 1991.
- RYTKONEN J., ITAVAARA M., PAULSEN J. E. The Improvement of oil biodegradation on the shoreline. **In: Proceedings of the 7th International Offshore and Polar Engineering Conference**, Honolulu, USA, **2**(1), p.25-30, 1997.
- ROSA, A.P. & TRIGÜIS, J. A. Processo de biorremediação usando o fertilizante NPK, em eventuais derrames de óleo – Experimentos Laboratoriais. **Revista Brasileira de Geociências**, V. 36, n. 2, p. 232 – 242, 2006.
- SANTANA, R. C.. O Método da Biorremediação Aplicado na Limpeza de Substrato de Manguezal Impactados por Petróleo, na Baía de Todos os Santos – Bahia. **2008. 59f. Monografia (Bacharel em Oceanografia), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.**
- TISSOT, B. P.; WELTE, D. H.. **Petroleum formation and occurrence**. Secon revised and enlarged edition. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, p. 699, 1984.
- VALLEJO, V.; SALGADO, L.; ROLDAN, F.. Evaluacion de la bioestimulacion em la biodegradacion de TPHs em suelos contaminados com petróleo. Bioestimulation process during the biodegradation of THH in oil contaminated soil. **Rev. colomb. Biotecnol.** Vol. VII no. 2, p.67-78, 2005.
- VIDALI, M. Bioremediation: An overview, **Journal of Applied Chemistry**, **73** (7), p.1163-1172, 2001,
- WANG, Z.; BARTHA, R.. Effects of bioremediation on residues, activity and toxicity in soil contaminated by fuel spills. **Soil Biology Biochemistry**, **22**(4), p.501-505, 1990.
- WANG, Z.; FINGAS, M.. Study of the effects of weathering on the chemical composition of a light crude oil. **Proceedings of 17th Arctic and Marine Oilspill Program Technical Seminar**. 1, p.133-171, 1994.
- WOLFE DA, HAMEEDI *et al.* The fate of the oil spilled from the Exxon Valdez. **Environ Sci Technol** **28**, p.561A–568, 1994.
- YEUNG, P.Y.; JOHNSON, R.L.; XU, J.G. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil as affected by heating and forced aeration. **Journal of Environmental Quality** **26**, p. 1511–1516, 1997.
- ZHU, X.; VENOSA, A.D.; SUIDAN. M.T.. **Literature review on the use of commercial bioremediation agents for cleanup of oil-contaminated estuarine environments**. EPA/600/R-04/075, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., 2004b.
- XU, R.; LAU, N. L. A.; K. L. NG; OBBARD, J.P.. Application of a Slow-Release Fertilizer for Oil Bioremediation in Beach Sediment.j. **Environ. Qual.** **33**, p.1210–1216, 2004.