



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

**ESTRATÉGIAS DE BIORREMEDIAÇÃO APLICADAS A SOLOS
CONTAMINADOS COM HIDROCARBONETOS: REVISÃO LITERÁRIA**

JUCILENE FÁTIMA LIMA SOUZA

**Belo Horizonte
2021**

JUCILENE FÁTIMA LIMA SOUZA

**ESTRATÉGIAS DE BIORREMEDIAÇÃO APLICADAS A SOLOS
CONTAMINADOS COM HIDROCARBONETOS: REVISÃO LITERÁRIA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Ambiental e Sanitarista.

Orientador: Prof. MSc. Túlio César Floripes Gonçalves

Belo Horizonte
2021



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

FOLHA DE APROVAÇÃO DE TCC

JUCILENE FÁTIMA LIMA SOUZA

**ESTRATÉGIAS DE BIORREMEDIAÇÃO APLICADAS A
SOLOS CONTAMINADOS COM HIDROCARBONETOS:
Revisão Literária**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Ambiental e Sanitarista.

Aprovado em 09 de setembro de

2021 Banca examinadora:

Túlio Cesar Floripes Gonçalves – Presidente da Banca Examinadora
Prof. Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, CEFET/MG – Orientador

Clarisse de Oliveira Carmo
Prof.^a. Mestre em Engenharia Civil

Larissa Marques Diniz Martins
Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, PifPaf Alimentos

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus.

Aos meus pais Aparecida de Lima e Fernando Souza que sempre me incentivaram a buscar fazer o meu melhor, por mais difícil que fosse com palavras sábias, carinho e atenção.

Ao meu orientador, Túlio Floripes pela confiança depositada desde o início desse trabalho até o final. Gratidão pelo apoio em todas as decisões a serem tomadas com muita paciência, dedicação e rapidez no que precisasse.

Ao meu professor, Frederico Keizo Odan Fred que auxiliou em todos os questionamentos para confecção deste trabalho na reta final.

Ao meu namorado Ivan que sempre me apoiou e esteve comigo em todas as decisões com muita positividade e companheirismo diário.

Ao CEFET-MG, minha eterna gratidão!

RESUMO

SOUZA, Jucilene Fátima Lima. “Estratégias de biorremediação aplicadas a solos contaminados com hidrocarbonetos: Revisão Literária”. 2021. 69 páginas. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) – Departamento de Ciência e Tecnologia Ambiental, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

A contaminação do solo é um processo causado pela presença de substâncias químicas em níveis que ocasionam alterações nas suas condições típicas ou naturais. Os contaminantes podem ser oriundos de postos de combustível, atividades minerárias, agrícolas e industriais causado por descarte inadequado dos resíduos urbanos ou acidentes. Após essa contaminação a condição natural dos solos pode ser restabelecida pela ação natural de microrganismos, que consomem os resíduos como fonte de energia e matéria nas suas atividades metabólicas de nutrição e crescimento. Porém, o processo natural é muito lento e, por vezes, limitado por diversos fatores ambientais. Assim, o presente trabalho tem como objetivo geral realizar uma revisão literária entre os trabalhos publicados sobre a utilização de estratégias de tratamento biológico para a remediação de solos contaminados por HTP. Para atender aos objetivos propostos no trabalho foi realizado o levantamento bibliográfico e análise de artigos que contemplassem estratégias de biorremediação com resultados da degradação do contaminante. Diversas vertentes de estudo têm ampliado as técnicas auxiliares, ou estratégias, para melhorar a eficiência do processo de biorremediação. Uma das estratégias que permitem acelerar o processo de biorremediação é a utilização de bioaugmentação, bioestimulação, surfactantes, biosurfactantes, consórcios microbianos e adição de material estruturante. Os consórcios possibilitaram a aceleração do processo de degradação, já nos primeiros dias de processo, e ainda permitiam a degradação de até 99% de hidrocarbonetos nonano, dcano e undecano; melhorou também a eficiência de compostos mais complexos, como de benzeno e diesel, 66,2% e 75,4% e apresentou melhores resultados que todos os isolados bacterianos. A adição de materiais estruturantes também é uma estratégia para melhorar fatores físicos, químicos e biológicos fundamentais para a subsistência e atividade dos microrganismos. A eficiência da degradação de HTP com o uso desses materiais aumentou em média 30%, sendo que para casos de baixíssima eficiência de degradação em condições originais, o acréscimo melhorou o processo em até 31 vezes. Logo, a biorremediação é uma boa opção para a mitigação da contaminação de solo e a sua eficiência pode ser melhorada por meio de estratégias.

Palavra-chave: Biorremediação. Estratégias. Ambientes.

ABSTRACT

SOUZA, Jucilene Fátima Lima. *“Bioremediation strategies applied to soil contaminated with hydrocarbons: Literary Review”*. 2021. 69 pages. Monograph (Graduate in Environmental and Sanitary Engineering) – Department of Environmental Science and Technology, Federal Center for Technological Education of Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

Soil contamination is a process caused by the presence of chemical substances at levels that cause changes in their typical or natural conditions. Contaminants can come from gas stations, mining, agricultural and industrial activities caused by improper disposal of urban waste or accidents. After this contamination, the natural condition of the soils can be reestablished by the natural action of microorganisms, which consume the residues as a source of energy and matter in their metabolic activities of nutrition and growth. However, the natural process is very slow and sometimes limited by various environmental factors. Thus, the present work has as general objective to carry out a literature review among the published works on the use of biological treatment strategies for the remediation of soils contaminated by HTP. To meet the objectives proposed in the work, a bibliographic survey and analysis of articles that contemplated bioremediation strategies with results of contaminant degradation were carried out. Several lines of study have expanded auxiliary techniques, or strategies, to improve the efficiency of the bioremediation process. One of the strategies that allow accelerating the bioremediation process is the use of bioaugmentation, biostimulation, surfactants, biosurfactants, microbial consortia and addition of structuring material. The consortia enabled the acceleration of the degradation process, already in the first days of the process, and still allowed the degradation of up to 99% of nonane, dodecane and undecane hydrocarbons; it also improved the efficiency of more complex compounds, such as benzene and diesel, 66.2% and 75.4% and showed better results than all bacterial isolates. The addition of structuring materials is also a strategy to improve physical, chemical and biological factors fundamental to the survival and activity of microorganisms. The efficiency of HTP degradation with the use of these materials increased by an average of 30%, and for cases of very low degradation efficiency under original conditions, the addition improved the process by up to 31 times. Therefore, bioremediation is a good option for mitigating soil contamination and its efficiency can be improved through strategies.

Keywords: Bioremediation. Strategies. Environments.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2.OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivo Específicos	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 Solo e a sua composição.....	15
3.2 Contaminação do solo com petróleo e seus derivados	15
3.3 - Efeitos causados pela poluição do solo	18
3.4 Legislações Ambientais.....	23
3.4.1 <i>Legislação Federal</i>	<i>23</i>
3.4.2 <i>Legislação Estadual de Minas Gerais</i>	<i>24</i>
3.4.3 <i>Legislação Estadual de São Paulo</i>	<i>26</i>
3.5 Biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos.....	28
3.5.1 <i>Tratamento de solos.....</i>	<i>28</i>
3.5.2 <i>Remediação in-situ e ex-situ</i>	<i>30</i>
3.6 Contextualização de Técnicas de Biorremediação.....	31
3.6.1 <i>Compostagem.....</i>	<i>31</i>
3.6.2 <i>Biorreatores</i>	<i>32</i>
3.6.3 <i>Landfarming</i>	<i>34</i>
3.6.4 <i>Fitorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos.....</i>	<i>34</i>
3.7 Estratégias de Biorremediação	36
3.7.1 <i>Atenuação natural ou intrínseca</i>	<i>37</i>
3.7.2 <i>Bioaugmentação.....</i>	<i>37</i>
3.7.3 <i>Oferta de nutrientes (bioestimulação)</i>	<i>37</i>
3.7.4 <i>Adição de materiais estruturantes.....</i>	<i>39</i>
3.7.5 <i>Adição de Surfactante.....</i>	<i>40</i>
3.7.6 <i>Consórcios microbianos</i>	<i>41</i>

3.8 Fatores Físico-químicos e Microbiológicos do solo que afetam a Biorremediação	41
3.8.1 <i>Umidade</i>	43
3.8.2 <i>PH</i>	43
3.8.3 <i>Aeração - Teor de O₂ disponível no solo</i>	43
3.8.4 <i>Teor de nutrientes</i>	44
3.8.5 <i>Temperatura</i>	44
4 METODOLOGIA	46
4.1 <i>Delimitação do trabalho</i>	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 <i>Avaliação da estratégia de consórcios microbianos</i>	58
5.2 <i>Avaliação da técnica de adição de surfactante ou biosurfactante</i>	60
5.3 <i>Avaliação da estratégia adição de material estruturante aplicado a compostagem</i>	64
5.4 <i>Vantagens e desvantagens do processo de biorremediação de contaminante</i>	67
5.5 <i>Microrganismos com capacidade de degradar o solo contaminado por HTP</i>	59
6 CONCLUSÕES	60
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Formação do solo	15
Figura 3. 2 - Quadro de Estruturas químicas e efeitos tóxicos de 16 HPAs	19
Figura 3.3- Total de registros, por acidentes ambientais atingidos, em 2017, 2018 e 2019	20
Figura 3.4 - Total de registros, por ambientes atingidos, em 2017, 2018 e 2019.....	20
Figura 3.5- Empreendimentos com maior quantidade de áreas contaminadas e reabilitadas no estado de Minas Gerais	21
Figura 3.6 - Atividades potencialmente geradora de contaminação no estado de São Paulo em dezembro de 2020.....	21
Figura 3.7 - Percentual de ocorrência de grupos de substâncias químicas no estado de Minas Gerais.	22
Figura 3.8 - Grupos de contaminantes em áreas cadastradas dezembro de 2020 no estado de São Paulo.....	23
Figura 3.9 - Técnicas de remediação de solo contaminado.....	28
Figura 3.10 - Ação de microrganismos em processos de biorremediação.	29
Figura 3.11- Compostagem	32
Figura 3.12 - Biorreator.....	33
Figura 3.13 - Máquina realizando a remediação <i>landfarming</i>	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Resumo das legislações em âmbito federal	24
Tabela 3.2 – Valores de referência (S), de alerta (T) e de intervenção (I) para solos, segundo a lista Holandesa.....	26
Tabela 3. 3 - Comparativo destacando as legislações no estado de Minas Gerais e São Paulo.	27
Tabela 5.1 - Eficiência da degradação dos compostos <i>nonano</i> , <i>decano</i> e <i>undecano</i> por culturas puras e consórcio.	59
Tabela 5.2 - Eficiência dos isolados bacterianos e do consórcio na degradação de benzeno e diesel após seis dias de incubação.	60
Tabela 5.3 - Eficiência da degradação de HTP em amostra de solo com adição de surfactina líquida, em pó e sem adição de biossurfactante.....	63
Tabela 5. 4 - Eficiência da degradação de HTP para solo contaminado puro e com aditivos.	65
Tabela 5.5 - Eficiência de degradação de HTP para solo sem nenhuma adição de material estruturante e para o mesmo solo com adição do composto J/R.	67
Tabela 5.6 - Vantagens da biorremediação, conforme estudado por diversos autores.	56
Tabela 5. 7 - Desvantagens da biorremediação, conforme estudado por diversos autores.....	57
Tabela 5.8 - Microrganismos com capacidade de degradar o solo contaminado, conforme estudado por diversos autores.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BTEX – Compostos formados por benzeno, tolueno, etil-benzeno e os xilenos.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

C:N:P – Proporção entre carbono, nitrogênio e fósforo

COPAM - Conselho Estadual de Política Ambiental (Copam)

COV - Compostos orgânicos voláteis

FEAM-Fundação do Estado de Minas Gerais

HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

MMA - Ministério do Meio Ambiente

PAHs - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

Ppm – Partes por milhão

SO₂ - Dióxido de Enxofre

SO₃- Óxido sulfúrico

HTP - Hidrocarbonetos Totais de Petróleo.

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

1 INTRODUÇÃO

Devido à demanda energética e as necessidades do mundo moderno, a extração, produção e o consumo do petróleo têm sido intensificados, principalmente após a Revolução Industrial. Mesmo apesar da ampliação e dos avanços tecnológicos, essas atividades ainda podem provocar diversos impactos ambientais.

Apesar das inovações tecnológicas também trazerem maior seguridade aos processos envolvidos, ainda é comum evidenciar acidentes nas mais variadas fases da cadeia de obtenção, beneficiamento e distribuição dos derivados do petróleo e assim contaminar o ecossistema.

Esses danos ambientais ocorrem principalmente devido aos derivados do petróleo apresentarem elevada toxicidade, o que justifica sua classificação como resíduos perigosos, pela Norma Técnica Brasileira de Resíduos - NBR 10004/04, apresentando riscos ao meio ambiente e à saúde pública devido às suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade.

De acordo com Aislábie (2004) e Marín (2006), há décadas a humanidade é extremamente dependente dos produtos derivados do petróleo, principalmente para as atividades industriais que esses insumos se fazem presentes. Mesmo com os esforços em desenvolvimento de tecnologias que supram à demanda por petróleo, ainda é extremamente difícil se desvincular dessa matriz tão tradicional.

Nesse sentido, durante o processo de exploração (seja em terra - *on-Shore*, ou em mar - *off-Shore*), refino, armazenamento e transporte do petróleo e seus derivados podem ocorrer derramamentos acidentais originando à contaminação tanto do ar, dos solos e das águas.

Os principais acidentes relacionados com petróleo no Brasil são relacionados com seus derivados. Esses acidentes acarretam um grande problema, e representam grandes desafios de contenção, remediação e recuperação das áreas afetadas (DIEMER, 2008).

Ainda de acordo com Diemer (2008), entre os acidentes com petróleo e seus derivados, os mais frequentes são em decorrência de vazamentos em tanques subterrâneos, falhas mecânicas ou humanas em operações de carga e descarga.

Uma das formas de remediar as áreas contaminadas é por meio da técnica biológica (biorremediação). Esta técnica biológica tem apresentado elevada eficiência na descontaminação de águas subterrâneas e de solos e têm levantado interesse para a descontaminação do solo (ANDRADE; AUGUSTO e JARDIM, 2010). O processo consiste na ação de microrganismos de ocorrência natural ou cultivados, que possuem a capacidade de metabolizar vários poluentes introduzidos no meio ambiente, inclusive os derivados de petróleo (MEYER, 2015).

Além disso, a técnica da biorremediação apresenta vantagens como o baixo custo, capacidade de eliminar ou transformar diversos contaminantes em compostos menos prejudiciais através da atividade biológica dos microrganismos, sendo aplicável a vários compostos de hidrocarbonetos (VIDALLI, 2001) e (ANDRADE, AUGUSTO e JARDIM, 2010).

Logo, o presente trabalho optou por desenvolver um estudo bibliográfico acerca das estratégias de remediação biológicas para o tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos. Dessa forma, objetiva integrar resultados de trabalhos expressivos sobre a temática e, principalmente, poder contribuir com a esfera de estudo em questão.

2.OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar a revisão literária entre os trabalhos publicados sobre a utilização de estratégias de tratamento biológico para a remediação de solos contaminados por HTP.

2.2 Objetivo Específicos

- Descrever as técnicas e estratégias de biorremediação de solos contaminados por HTP;
- Avaliar as vantagens e desvantagens das técnicas de biorremediação de solo contaminado por HTP;
- Apresentar as espécies de microrganismos com capacidade de degradar o solo contaminado por HTP;
- Correlacionar estudos expressivos sobre as estratégias biorremediação, apontando suas principais contribuições e conclusões.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Solo e a sua composição

Por definição, solo é um material proveniente da decomposição das rochas pela ação de agentes físicos ou químicos podendo ou não conter matéria orgânica (ABNT 6502 1995).

No solo estão presentes componentes como ar e água, o que resulta em um sistema trifásico, ou seja, que possui constituintes no estado sólido, líquido e gasoso. As partículas em fase sólida variam em seu tamanho, forma e composição química.

Para Lima e Lima (2007), a caracterização final de determinado solo resulta da ação entre o clima e microrganismos existentes, que atrelados às especificidades das rochas presentes, e tipo de relevo, determinam um processo contínuo de formação do solo, no decorrer de anos.

Sendo assim, a formação do solo é resultante da atuação conjunta e integrada dos fatores e elementos, conforme descrito (Figura 3.1).

Figura 3.1 – Formação do solo



Fonte - Lima e Lima (2007).

3.2 Contaminação do solo com petróleo e seus derivados

“Etimologicamente, a palavra petróleo provém do latim *petroleum*, que significa pedra (*petrus*) e óleo (*oleum*), que nos remete a sua característica de líquido oleoso de origem fóssil”. (MARTINS *et al.*, 2015).

De acordo com Carvalho (2012), o petróleo é formado a partir de matéria orgânica depositada e decomposta na forma de rochas sedimentares ao longo de milhares de anos. Além disso, o

petróleo é a principal fonte de energia usada pela sociedade atualmente, apesar de ser considerado um recurso natural não renovável.

A coloração do petróleo varia entre verde, marrom e preto, dependendo das características do local onde for extraído. Ele é composto por aproximadamente 90% de hidrocarbonetos, sendo o restante formado pelos chamados contaminantes, como compostos contendo enxofre, íons metálicos (níquel e vanádio), oxigênio e nitrogênio (ANP, 2018).

Através de diversos processos físico-químicos, do petróleo podem ser obtidos muitos derivados, cada um com suas características e aplicações. De modo geral, o óleo cru e seus derivados são comuns em inúmeros setores de produção, como na construção civil, na agricultura, na aviação etc. Sendo assim, com tamanha diversidade de aplicações em diversos setores, é comum ocorrer a contaminação do solo com óleo cru ou até mesmo com os produtos resultantes do seu beneficiamento, por ocasião de acidentes com derramamento.

Segundo o MMA (2019), a contaminação de determinada área ocorre por meio da introdução de quaisquer componentes que possam ficar depositados, serem acumulados, armazenados, enterrados ou infiltrados seja de forma planejada, acidental ou até mesmo natural.

A legislação apresenta índices de máxima concentração de contaminantes que norteiam a avaliação de quando um solo deve ser considerado contaminado, além de determinar a necessidade de alguma intervenção de contenção dos poluentes, tratamento ou remediação das áreas (BRASIL, 2019).

Segundo Bueno (2003), a contaminação do solo por HTP pode propagar-se e apresentar alta mobilidade, se estendendo para regiões circunvizinhas e contaminando corpos de água. Como consequência, estes contaminantes podem ser introduzidos nas cadeias tróficas terrestres e aquáticas, desbalanceando todo o ecossistema natural e assim gerando impacto ambiental (ANDRADE, AUGUSTO e JARDIM, 2010).

De acordo com o Conama 1986, impacto ambiental é definido como:

Qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente, causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetam a saúde, a segurança e o bem-estar da população;

as atividades sociais e econômicas; a biota, as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente e a qualidade dos recursos ambientais.

De acordo com a CETESB (2018), o gerenciamento de uma área contaminada, deve ocorrer na etapa de identificação do contaminante como na reabilitação de áreas contaminadas, em sete situações:

Área Contaminada sob Investigação (ACI): área onde foram constatadas por meio de investigação confirmatória concentrações de contaminantes que colocam, ou podem colocar, em risco os bens a proteger;

Área Contaminada com Risco Confirmado (ACRi): área onde foi constatada, por meio de investigação detalhada e avaliação de risco, contaminação no solo ou em águas subterrâneas, a existência de risco à saúde ou à vida humana, ecológico, ou onde foram ultrapassados os padrões legais aplicáveis;

Área Contaminada em Processo de Remediação (ACRe): área onde estão sendo aplicadas medidas de remediação visando à eliminação da massa de contaminantes ou, na impossibilidade técnica ou econômica, sua redução ou a execução de medidas contenção e/ou isolamento;

Área em Processo de Monitoramento para Encerramento (AME): área na qual não foi constatado risco ou as metas de remediação foram atingidas após implantadas as medidas de remediação, encontrando-se em processo de monitoramento para verificação da manutenção das concentrações em níveis aceitáveis;

Área Reabilitada para o Uso Declarado (AR): área, terreno, local, instalação, edificação ou benfeitoria anteriormente contaminada que, depois de submetida às medidas de intervenção, ainda que não tenha sido totalmente eliminada a massa de contaminação, tem restabelecido o nível de risco aceitável à saúde humana, ao meio ambiente e a outros bens a proteger;

Área Contaminada Crítica (ACcrítica): são áreas contaminadas que, em função dos danos ou riscos, geram risco iminente à vida ou saúde humana, inquietação na população ou conflitos entre os atores envolvidos, exigindo imediata intervenção pelo responsável ou pelo poder público, com necessária execução diferenciada quanto à intervenção, comunicação de risco e gestão da informação;

Área Contaminada em Processo de Reutilização (ACRu): área contaminada onde se pretende estabelecer um novo uso do solo, com a eliminação, ou a redução a níveis aceitáveis, dos riscos aos bens a proteger, decorrentes da contaminação. (CETESB, 2018).

3.3 - Efeitos causados pela poluição do solo

Rocha (2019), expõe que o solo é de fundamental importância para o ciclo hidrológico e a cadeia alimentar, uma vez contaminado, poderá ocasionar contaminação em alimentos e águas superficiais e subterrâneas.

Para Bueno (2003), o petróleo e seus derivados estão entre os onze maiores agentes poluentes em todo o mundo, e estes poluentes podem ser envolvidos em diversos acidentes, desde o seu processo de extração, até as etapas de processamento e transporte.

Segundo Andrade, Augusto e Jardim (2010), uns dos compostos derivados do petróleo são os hidrocarbonetos e entre as variedades destes compostos o BTEX, HPAs (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) e HTP são os que mais destacam pela alta toxicidade e mobilidade no meio ambiente, facilitando sua dispersão no ecossistema.

De acordo com Mazzuco (2004) e Andrade, Augusto e Jardim (2010), os BTEX são derivados dos monoaromáticos e a sigla BTEX significa benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno, m-xileno e p-xileno. Ele é um composto líquido incolor, com odor aromático característico e altamente volátil, o que facilita muito a contaminação por inalação (MARIANO, 2001).

Segundo Amaral *et al.*, (2016) o BTEX é capaz de provocar efeitos adversos para saúde humana, como síndromes mielodisplásicas, cujos sintomas incluem falta de ar, fadiga, propensão a surgimento de hematomas e possível progressão para leucemia mielogênica.

Além disso, o BTEX é considerado substância carcinogênica, podendo causar sérios problemas no sistema nervoso central se inalado (SILVA *et al.*, 2009)

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) listou 16 HPAs de maiores riscos ambientais devido à elevada ecotoxicidade (USEPA, 2000 *apud* FRONZA 2006). Conforme pode ser observado na Figura 3.2, compostos com dois anéis aromáticos (naftaleno) a 6 anéis (benzo[ghi]perileno) são de elevada toxicidade ambiental.

Figura 3. 2 - Quadro de Estruturas químicas e efeitos tóxicos de 16 HPAs

Nomenclatura (IUPAC)	Efeito
Naftaleno	Tóxico
Acenafteno	Mutagênico
Antraceno	Mutagênico
Fluoranteno	Carcinogênico e mutagênico
Criseno	Carcinogênico e mutagênico
Benzo (b) fluoranteno	Carcinogênico e mutagênico
Benzo(a) pireno	Carcinogênico e mutagênico
Benzo (g,h,i) perileno	Carcinogênico
Acenaftileno	Mutagênico
Fluoreno	Mutagênico
Fenantreno	Tóxico e mutagênico
Pireno	Carcinogênico e mutagênico
Benzo(a) antraceno	Carcinogênico e mutagênico
Benzo (k)fluoranteno	Carcinogênico e mutagênico
Dibenzo (a,h) antraceno	Carcinogênico e mutagênico
Indeno (1,2,3 -c,d) pireno	Carcinogênico

Fonte - Adaptado Fronza (2006).

É importante destacar ainda que, essa atividade gera contaminação no meio ambiente por meio do processo de refino, transporte e nas operações de armazenamento do petróleo (NASCIMENTO, *et al.*, 2013). Neste contexto, os derramamentos de petróleo e seus derivados constituem a principal causa de contaminação tanto na água como no solo.

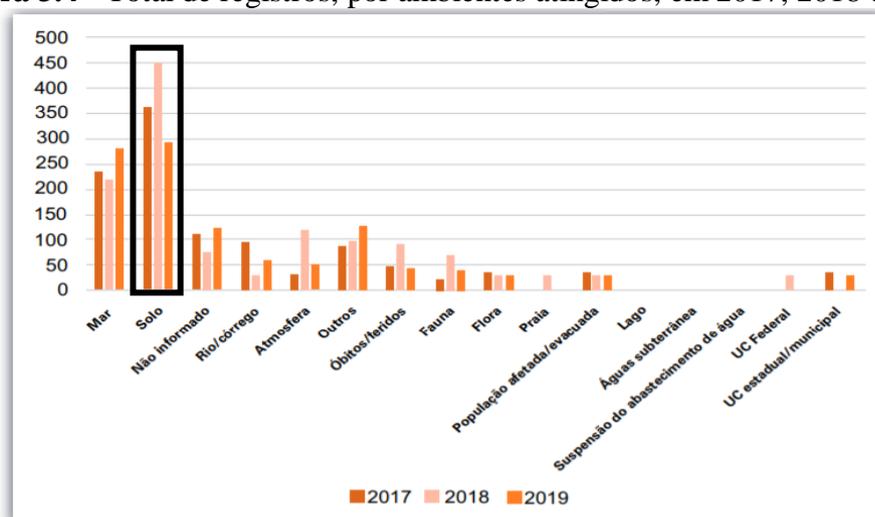
O IBAMA disponibiliza anualmente dados que demonstram acidentes ambientais no âmbito federal ocorridos tanto no mar quanto no solo (Figura 3.3). Acidentes estes que ocasionam a contaminação do meio ambiente. No ano de 2017 o IBAMA contabilizou 359 ocorrências de acidentes no solo no país, já no ano de 2018 foram contabilizados 447 acidentes e no ano de 2019 ocorreram 290 acidentes.

Figura 3.3- Total de registros, por acidentes ambientais atingidos, em 2017, 2018 e 2019

Objeto atingido/Ano	2017	2018	2019
Mar	233	217	280
Solo	359	447	290
Não informado	106	70	117
Rio/córrego	93	27	56
Atmosfera	29	117	51
Outros	86	94	124
Óbitos/feridos	43	87	41
Fauna	20	66	37
Flora	32	26	26
Praia	3	6	2
População afetada/evacuada	8	4	4
Lago	1	3	2
Água subterrânea	3	2	2
Suspensão de abast. de água	2	2	1
UC federal	1	4	2
UC estadual/municipal	6	3	8

Fonte – IBAMA (2019).

Conforme ilustrado na Figura 3.4, fica evidente que no ano de 2019 houve um decréscimo considerável de acidentes ocorridos no solo em relação aos anos de 2017 e 2018.

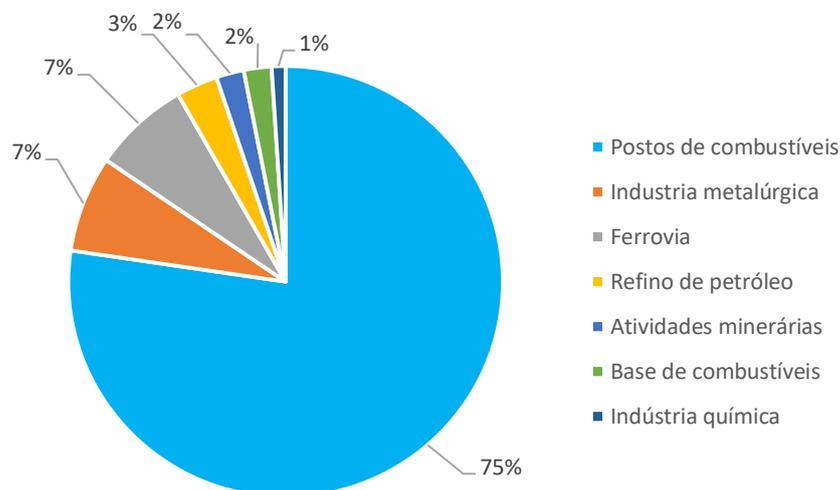
Figura 3.4 - Total de registros, por ambientes atingidos, em 2017, 2018 e 2019.

Fonte - Adaptado, IBAMA, 2019.

Feam (2020a), expõe que os vazamentos ou infiltrações de produtos no solo e subsolo representam a principal origem da contaminação no Estado de Minas Gerais, somando 83,9% do total das fontes de contaminação. Ressaltando ainda que os empreendimentos responsáveis pela maior área contaminada são os postos de combustíveis (75%), seguido da indústria metalúrgica (7%), ferrovias (7%), refino de petróleo (3%), atividade de mineração (2%), base de combustíveis (2%) e indústria química (1%). Os demais 3% correspondem a

empreendimento menores, mas em grande número, como mecânicas automotivas. Essa distribuição encontra-se ilustrada na Figura 3.5.

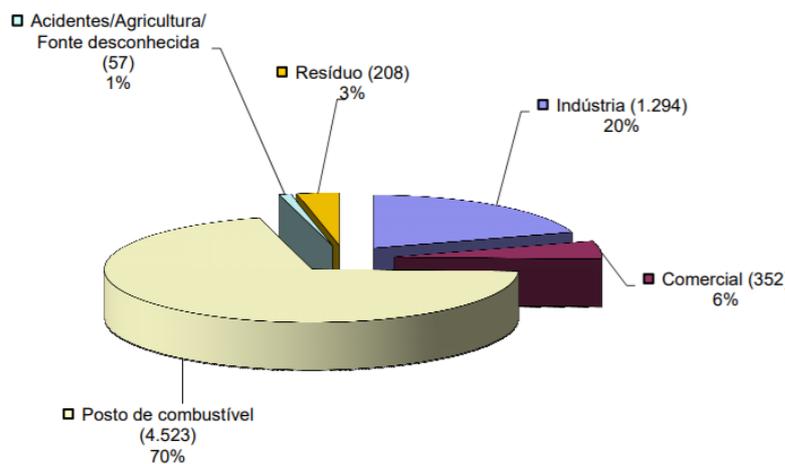
Figura 3.5- Empreendimentos com maior quantidade de áreas contaminadas e reabilitadas no estado de Minas Gerais



Fonte - Adaptado, FEAM (2020a).

Assim como no Estado de Minas Gerais no Estado de São Paulo a atividade que mais ocorre contaminação do solo é proveniente de postos de combustíveis, sendo 70% derivadas de atividades potencialmente por meio de empreendimentos o que equivale a 4.523 acidentes de um total de 6.434 acidentes conforme ilustrado na Figura 3.6.

Figura 3.6 - Atividades potencialmente geradora de contaminação no estado de São Paulo em dezembro de 2020.



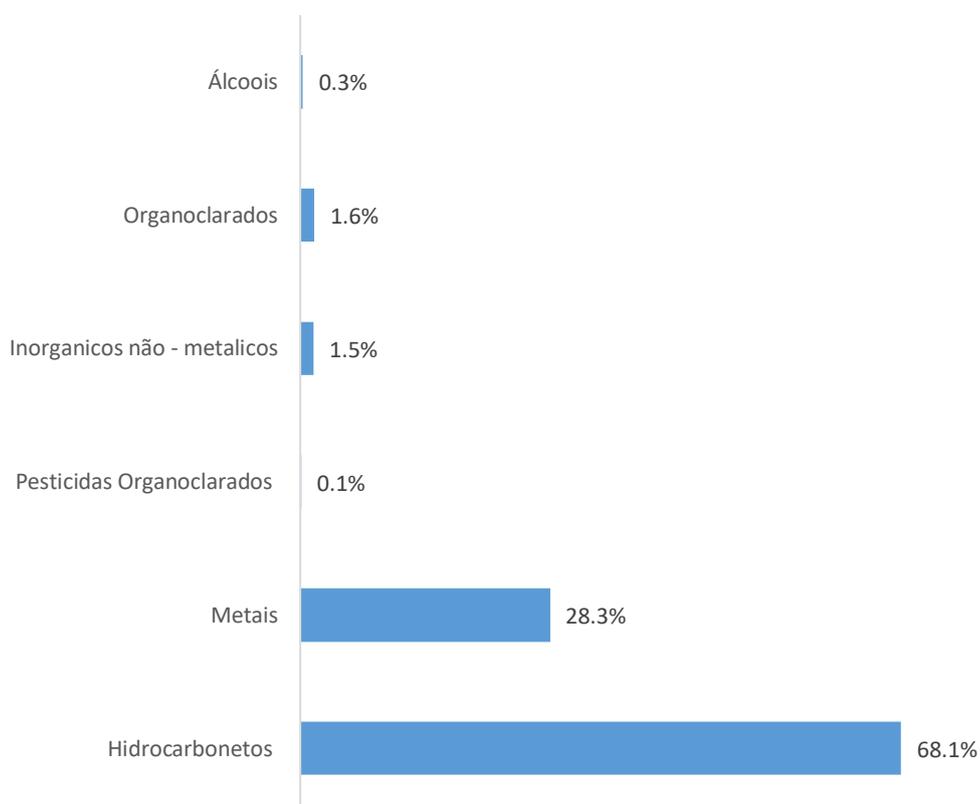
Fonte – CETESB (2020).

O estado de São Paulo quanto o estado de Minas Gerais são os estados que contabilizam uma maior quantidade de postos de combustíveis, a saber: São Paulo (21,8%); Minas Gerais

(10,9%); Rio Grande do Sul (7,7%); Bahia (6,9%); Paraná (6,8%); e Santa Catarina (4,8%) (ANP 2019).

No estado de Minas Gerais, os principais contaminantes são derivados dos hidrocarbonetos aromáticos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, conforme Figura 3.7 (FEAM, 2020a).

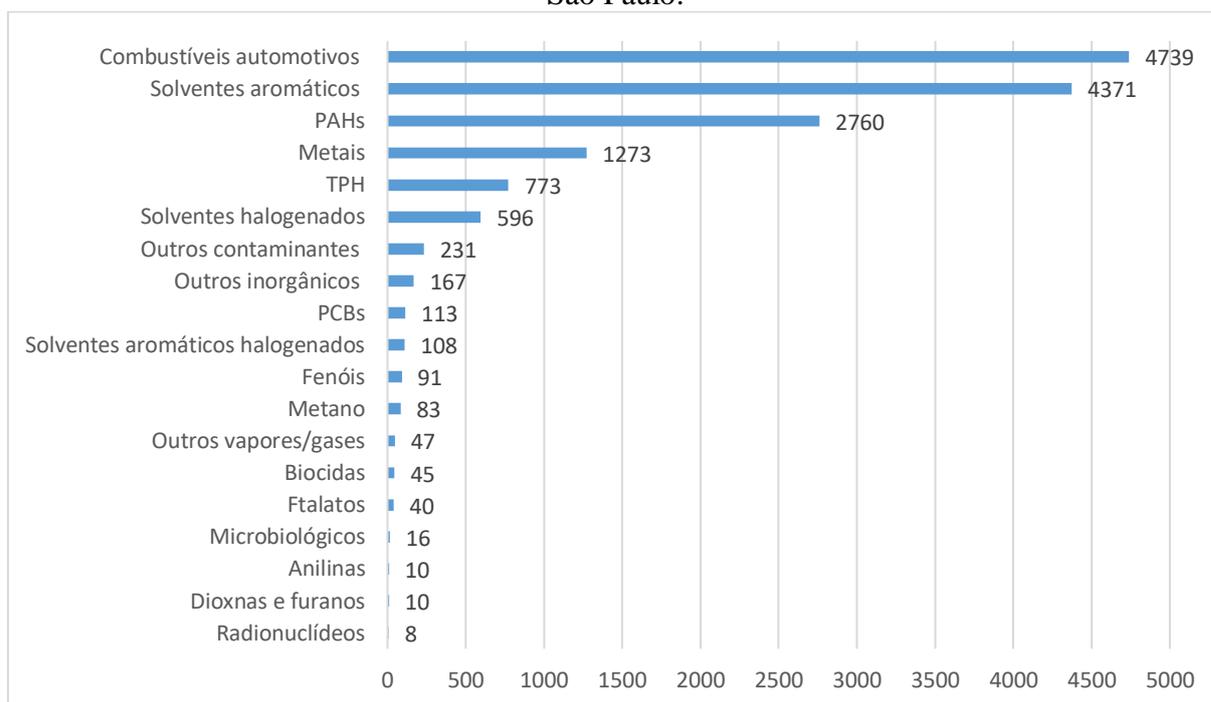
Figura 3.7 - Percentual de ocorrência de grupos de substâncias químicas no estado de Minas Gerais.



Fonte - Adaptado, FEAM (2020a).

No estado de São Paulo no ano de 2020, foram contabilizados 11.870 acidentes que envolviam contaminantes relacionados aos hidrocarbonetos, sendo provenientes de combustíveis automotivos seguido de solventes aromáticos, PAHs conhecidos como Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e HTP, conforme Figura 3.8.

Figura 3.8 - Grupos de contaminantes em áreas cadastradas dezembro de 2020 no estado de São Paulo.



Fonte – Adaptado, CETESB (2020).

Para o gerenciamento das áreas contaminadas, os órgãos ambientais contam com o auxílio de Legislações ambientais.

3.4 Legislações Ambientais

Devido a preocupações relacionadas ao potencial de contaminação de águas subterrâneas e com o solo contaminado por hidrocarbonetos, criaram-se leis para regulamentar, fiscalizar e aplicar multas e punições para violações ocasionadas ao ecossistema.

De acordo com Souza *et al.*, (2010), a legislação brasileira exige que áreas contaminadas devem ser remediadas, com o intuito de minimizar a interferência ambiental e restaurar os ecossistemas.

3.4.1 Legislação Federal

É função da sociedade preservar o meio ambiente a fim de conservar os recursos naturais, além de garantir o equilíbrio do ecossistema e a qualidade de vida a todos para a população atual e futuras.

Além disso, uma das legislações em âmbito federal no Brasil é a Lei Federal nº 6.938/1981, a qual dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente e evidencia quem são os responsáveis legais e solidários pela remediação de uma área contaminada.

“Art 3º - IV – O poluidor, a pessoa física ou jurídica, de direito público ou privado, responsável, direta ou indiretamente, por atividade causadora de degradação ambiental.”

Na Tabela 3.1 um resumo sobre as principais legislações em âmbito Federal no Brasil.

Tabela 3.1 - Resumo das legislações em âmbito Federal

Legislação	Instituição
Lei Federal nº 6.938 de 1981;	Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências.
Resolução CONAMA nº 273 de 2000;	Estabelece diretrizes para o licenciamento ambiental de postos de combustíveis e serviços e dispõe sobre a prevenção e controle da poluição.
Resolução CONAMA nº 420 de dezembro de 2009;	Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.
Decreto nº 6.514 de 22 de julho de 2008;	Dispõe sobre as infrações e sanções administrativas ao meio ambiente, estabelece o processo administrativo federal para apuração destas infrações, e dá outras providências.
Lei nº 9.605 de fevereiro de 1998.	Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências.

Fonte – Autora (2021).

3.4.2 Legislação Estadual de Minas Gerais

É competência da Fundação Estadual de Meio Ambiente – FEAM, tratar sobre questões relacionadas ao solo no estado de Minas Gerais e vinculado tem a FEAM temos a Gerência da Qualidade do Solo e Áreas Contaminadas (GERAQ), que é a responsável por estabelecer diretrizes com foco na preservação da qualidade do solo e o gerenciamento de áreas contaminadas.

Para o auxílio na regularização de áreas contaminadas no estado de Minas Gerais encontra vigente a Deliberação Normativa do COPAM 116/2008, que estabelece diretrizes de gestão de áreas contaminadas de empreendimentos. E para o maior controle de contaminação em solos por substâncias químicas no estado de Minas Gerais, a Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM) desenvolveu o projeto de gestão de áreas contaminadas no qual os empreendedores devem cadastrar informações a respeito da gestão de resíduos de suas empresas anualmente atentando as seguintes situações:

Se a área for enquadrada como área suspeita de contaminação ou área contaminada o empreendedor deverá preencher o Formulário de Cadastro de áreas suspeitas de contaminação e contaminadas por substâncias químicas.

Se a área não for enquadrada como área suspeita de contaminação ou contaminada, o empreendedor deverá preencher a Declaração de Inexistência de áreas suspeitas de contaminação ou contaminadas (FEAM, 2020b).

Os dados registrados formam o Banco de Dados Ambientais (BDA), que é uma ferramenta *on-line* utilizada pela FEAM que permite ao usuário realizar o cadastramento de áreas suspeitas de contaminação ou já contaminadas por substâncias químicas provocadas por seus empreendimentos.

Após esse cadastro realizado pelo empreendedor a FEAM desenvolve relatórios anuais a partir das informações extraídas do Banco de Dados Ambientais (BDA) para subsídio ao desenvolvimento de novos indicadores de qualidade ambiental, bem como a definição de procedimentos para regularização e fiscalização das atividades impactantes ao meio ambiente (FEAM, 2021b).

Além disso, para controle e gerenciamento de áreas contaminadas no estado de Minas Gerais a FEAM adota a Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH nº 02 de 2010 que expõe os “Valores Orientadores” permitidos para avaliar a qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas como alguns tipos de hidrocarbonetos como os hidrocarbonetos aromáticos, voláteis e clorados. Entretanto, não possui valores orientados de limites para os HTP.

Cabe ressaltar, que também não há valores orientadores para HTP em âmbito federal. Por esse motivo, alguns órgãos ambientais como a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) e a FEAM (Fundação Estadual do Meio Ambiente do Estado de Minas Gerais), fazem

uso da lista holandesa de Valores de Qualidade do Solo e da Água Subterrânea, uma vez que ela contempla os HTP (CETESB, 2016 *apud* GUEDES 2020).

Encontra ilustrado na Tabela 3.2 os valores de referência como de alerta e intervenção para solos contaminados pela substância HTP.

Tabela 3.2 – Valores de referência (S), de alerta (T) e de intervenção (I) para solos, segundo a lista Holandesa.

Composto	Concentração em peso seco (mg kg ⁻¹)		
	S	T	I
HTP	10	505	1000

Fonte – Adaptado, ALVES (2014).

Cabe ressaltar, que os valores orientados no estado de Minas Gerais encontram-se divididos em três categorias (BRASIL, 2010):

§1º - Os Valores de Referência de Qualidade (VRQ) são utilizados para caracterizar a ocorrência natural de substâncias químicas, considerando a política de prevenção e controle das funções do solo.

3.4.3 Legislação Estadual de São Paulo

A Lei nº 13.577, de 8 de julho de 2009, dispõe sobre diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento de áreas contaminadas.

O Decreto nº 59.263, de 5 de junho de 2013 regulamenta a lei nº 13.577, de 8 de julho de 2009, que dispõe sobre diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento de áreas contaminadas.

Na tabela 3.3 encontra resumido as legislações ambientais voltadas para solo no estado de e Minas Gerais e São Paulo.

Tabela 3.3 - Comparativo destacando as legislações no estado de Minas Gerais e São Paulo.

	Minas Gerais		São Paulo	
	Legislação	Intuito	Legislação	Intuito
Órgão Competente	Decreto nº 47.760/2019;	Contém o Estatuto da Fundação Estadual do Meio Ambiente e dá outras providências;	Lei Estadual nº 13.542/2009;	Altera a denominação da CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental e dá nova redação aos artigos 2º e 10 da Lei nº 118, de 29 de junho de 1973;
Atividades potencialmente geradoras de áreas contaminadas	Deliberação Normativa COPAM nº116/2008;	Dispõe sobre a declaração de informações relativas à identificação de áreas suspeitas de contaminação e contaminadas por substâncias químicas no Estado de Minas Gerais.	Resolução SMA nº 10/2017;	Dispõe sobre a definição das atividades potencialmente geradoras de áreas contaminadas.
Proteção da qualidade do solo e contaminado	Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH nº 02/2010;	Institui o Programa Estadual de Gestão de Áreas Contaminadas, que estabelece as diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas.	Lei nº 13.577/2009; Decreto nº 59.263/2013;	Regulamenta a Lei nº 13.577, de 8 de julho de 2009, que dispõe sobre diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento de áreas contaminadas, e dá providências correlatas.
Defesa do Meio ambiente	Lei nº 7.772/1980;	Dispõe sobre a proteção, conservação e melhoria do meio ambiente;	Lei nº 9.509/1997;	Dispõe sobre a Política Estadual do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação.
Infrações, Sanções, multas e embargos	Decreto Estadual nº 47.383/2018.	Estabelece normas para licenciamento ambiental, tipifica e classifica infrações às normas de proteção ao meio ambiente e aos recursos hídricos e estabelece procedimentos administrativos de fiscalização e aplicação das penalidades.	Decreto Estadual nº 64.456/2019; Resolução SIMA 05/2021.	Dispõe sobre as condutas infracionais ao meio ambiente e suas respectivas sanções administrativas e dá providências correlatas.

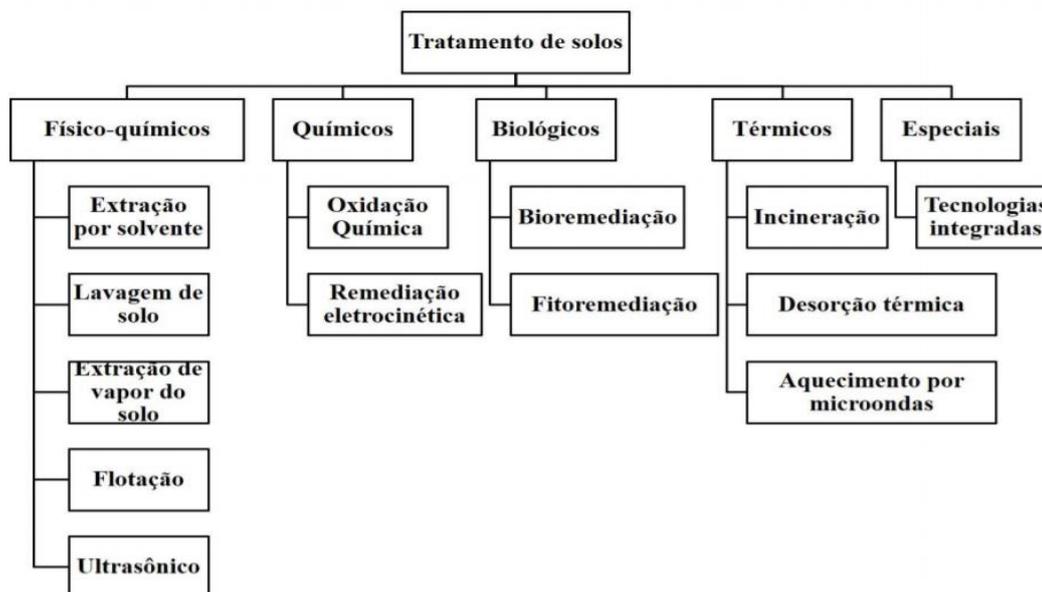
Fonte – Autora (2021).

3.5 Biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos

3.5.1 Tratamento de solos

Existem formas de tratar o solo contaminado, como por exemplo por meio de processos físico-químicos, químicos, biológicos, térmicos e especiais conforme ilustrado na Figura 3.9.

Figura 3.9 - Técnicas de remediação de solo contaminado



Fonte - Rocha (2019).

De acordo com Mariano (2001) a biorremediação é uma técnica para remediar o solo contaminado por meio do uso de microrganismos. Esta técnica pode ser empregada para tratar contaminantes específicos no solo tais como o petróleo e seus derivados (SILVA, *et al.*, 2007).

Mariano (2001) expõe ainda que o objetivo da biorremediação é a remoção total ou parcial de poluentes do ambiente natural, no qual os microrganismos convertem substâncias contaminantes em outras secundárias, notoriamente menos prejudiciais ao meio ambiente e aos seres vivos.

Vários organismos podem ser utilizados na degradação de compostos, como bactérias, fungos ou plantas (fitorremediação, nesse trabalho interpretado como um método de biodegradação). Sua eficácia depende da presença de enzimas hábeis em degradar o produto, pois elas apresentam especificidade para a maioria dos substratos.

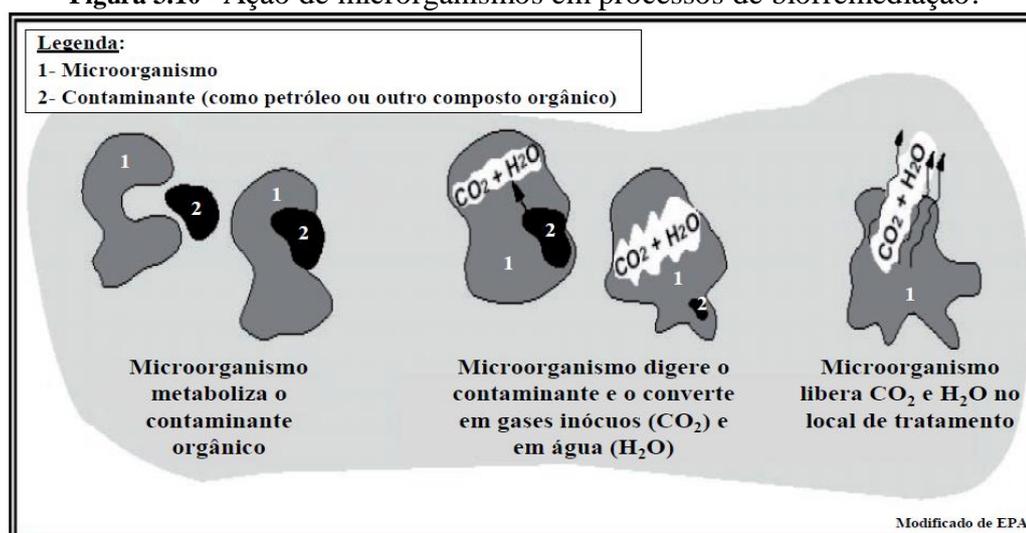
Segundo Pereira e Freitas (2012), a biorremediação é um processo no qual plantas, bactérias ou fungos filamentosos são utilizados para remover total ou parcialmente poluentes lançados no ambiente (remediação). No geral, os estudos apontam que o uso de microrganismos tem mostrado muito eficiente para degradar moléculas recalcitrantes (espécies de difícil degradação – não biodegradáveis) convertendo-as em substâncias inócuas.

Cabe ressaltar, que dentre as tecnologias disponíveis para a descontaminação, a biorremediação tem se destacado uma vez que se apresenta como ambientalmente correta, capaz de atenuar ou ainda regenerar o equilíbrio do ecossistema original (NASCIMENTO, *et al.*, 2013).

Pedroti (2007), afirma que o fator principal que proporciona uma boa eficácia do processo de biorremediação é a criação de condições favoráveis para o crescimento e desenvolvimento da atividade microbiológica, conforme Figura 3.10. Os microrganismos metabolizam as substâncias orgânicas e obtêm nutrientes e energia. Cabendo ressaltar que esses microrganismos devem estar ativos para desempenharem a sua tarefa de biodegradação (EPA, 2000 *apud* ANDRADE, AUGUSTO e JARDIM, 2010).

Quando os microrganismos agem os poluentes são decompostos em substâncias atóxicas por meio do metabolismo microbiano e assim os subprodutos não oferecem riscos ao ecossistema.

Figura 3.10 - Ação de microrganismos em processos de biorremediação.



Fonte – EPA (2000) *apud* ANDRADE, AUGUSTO e JARDIM (2010).

Dentre as técnicas existentes de remoção de hidrocarbonetos de petróleo e de seus derivados no solo, a biorremediação vem se destacando em estudos e experimentos em diversos lugares do

mundo, a fim de eliminar os contaminantes do solo por meio da ação de microrganismos (GALARDE; BELLINASO; MANFIO, 2005).

A capacidade de degradar hidrocarbonetos do petróleo é apresentada por diversos gêneros microbianos, principalmente bactérias, fungos e leveduras, todavia, cianobactérias, algas e mesmo protozoários também possuem essa capacidade (TRINDADE, 2002; SOUZA, *et al.*, 2010). Tais microrganismos podem ser encontrados tanto no solo quanto na água.

A biodegradabilidade refere ao processo pelo qual os microrganismos fazem uso dos contaminantes orgânicos como uma fonte de energia ou alimento. Neste processo os compostos são facilmente quebrados em moléculas mais simples encontradas no ambiente, tal como o dióxido de carbono e água, ou em alguns casos, a atividade metabólica muda a forma química do contaminante, processo conhecido como (biotransformação).

Além disso, a biodegradabilidade é considerada um processo de suma importância na atenuação natural dos contaminantes, porque reduz o volume dos contaminantes e ainda transforma em produtos não-tóxicos, o que diminui os riscos ao meio ambiente e seres vivos.

Também segundo Tonini, Rezende e Grativol (2010), para que o processo da biodegradação do petróleo, seja satisfatório não pode ocorrer apenas por uma única espécie microbiana isolada, uma vez que este poluente é constituído por vários compostos e nenhum microrganismo é capaz de degradar sozinho todos eles. Nesse sentido, para melhorar a eficácia de degradação é necessário acontecer a formação de consórcios microbianos de diferentes gêneros e espécies, cada um especializado em degradar uma ou várias frações do óleo.

Ressalta ainda que alguns dos componentes do petróleo podem apresentar toxicidade para certos microrganismos, mas servir de fonte de carbono e energia para outros. Além disso, o metabolismo de microrganismos resistentes podem degradar compostos tóxicos para outras espécies mais sensíveis e gerar subprodutos que serão utilizados por outras espécies, em uma sequência de degradação em cadeia (TONINI, REZENDE e GRATIVOL 2010).

3.5.2 *Remediação in-situ e ex-situ*

Entende que a técnica de biorremediação necessita adaptar às condições locais específicas. Sendo assim, a observação de uma série de fatores se faz indispensável antes de se aplicar qualquer manejo.

De acordo com Tonini, Rezende e Gratiol (2010), é fundamental determinar fatores como:

- a. se, e em que proporção o contaminante é biodegradável;
- b. e se houver residual, qual a quantidade de contaminante no local;
- c. se já ocorre biodegradação de maneira natural no local contaminado e qual as condições físicas ou nutritivas do local devem ser melhoradas para contribuir com a microbiota indígena atuante (nativo) o que pode facilitar o projeto;
- d. se a permanência da contaminação no local pode colocar em risco o ecossistema circunvizinho ou prejudicar as atividades antrópicas existentes, como agropecuária ou até habitação.

Nesse sentido, define-se a tratativa da contaminação se dará no próprio local ou se haverá a necessidade de remoção do solo contaminado para tratamento fora daquela região.

A biorremediação *in situ* é aquela realizada no próprio local, sem que haja remoção de material contaminado. Esse tipo de remediação deve ser recomendado sempre que possível, pois além de ser capaz de evitar custos também gera menores impactos ao ambiente (PEDROTI e CASSINI, 2007).

Entretanto, em determinadas situações se torna inviável ou impraticável realizar o tratamento no local de origem. Sendo assim, partindo-se de uma análise criteriosa das condições locais de cada caso prático e dos riscos oferecidos ao ecossistema (como propagação da contaminação facilitada pela hidrografia e relevos circunvizinhos) ou ocorrência de atividades antrópicas, torna-se necessário realizar a biorremediação *ex-situ*, que consiste na remoção da camada de solo contendo a contaminação para seu tratamento em outro local (PEDROTI e CASSINI, 2007).

O tratamento *in-situ* é comumente realizado a partir de técnicas de pilhas de compostagem ou utilização de biorreatores que empregam processos biológicos aeróbios ou anaeróbios. Essas técnicas também são recomendadas para concentrações muito elevadas de contaminante no local.

3.6 Contextualização de Técnicas de Biorremediação

3.6.1 Compostagem

De modo geral a compostagem consiste em um processo biológico, no qual microrganismos convertem resíduos orgânicos, tais como restos de plantas, alimentos e esterco, em compostos

que geram grandes benefícios ao meio ambiente, destacando-se, por exemplo, a produção dos adubos naturais.

A compostagem é um processo mais simples, menos custoso e, por outro lado, mais demorado. O material é isolado em áreas nas quais é disposto em pilhas, conforme Figura 3.11. A partir de então se emprega a técnica de revolvimento mecânico de tempos em tempos para constantemente homogeneizar o material e tornar o contaminante mais bem disperso na matriz e, assim, mais disponível a atuação direta dos microrganismos (JACQUES *et al.*, 2007).

Figura 3.11- Compostagem



Fonte – Embrapa (2021).

É importante que o local permita o controle da lixiviação e do escoamento superficial dos líquidos originados das pilhas. Neste solo, será desencadeado um processo em que os microrganismos aeróbios irão degradar os contaminantes orgânicos, transformando-os em material orgânico estabilizado, CO₂.

Namkoong (2001) aponta que a compostagem é a tecnologia que apresenta a melhor relação custo benefício para o tratamento de solos contaminados. Em suma, determina ainda que entre as tecnologias existentes de biorremediação, a compostagem apresenta vantagens mais expressivas, que incluem: baixo custo de instalação e operação; simplicidade na modelagem e no operacional (pilhas de compostagem); eficiência de tratamento elevada; tecnologia que já apresenta histórico de utilização para tratamentos de solo em larga escala etc.

3.6.2 Biorreatores

A técnica que envolve os reatores biológicos, por sua vez, é uma forma de tratamento *in-situ* recomendada quando o contaminante encontra em níveis muito elevados em áreas menores. O método envolve mais etapas e maior atuação direta de controle do processo, o que a torna muito

mais onerosa. Além disso, a quantidade de material a ser tratado é fator limitante vinculado à capacidade dos ciclos de tratamento dos reatores. Entretanto, a técnica

demonstra maior eficiência e redução dos contaminantes com um tempo muito menor de tratamento (JACQUES *et al.*, 2007; PEREIRA e FREITAS 2012).

Além disso, existem diversas configurações de biorreatores que, em sua maioria, podem ser comparados a tanques aéreos fechados, conforme Figura 3.12. Nestes reatores, o solo contaminado é acondicionado em leitos de tanques fluidizados em água e mecanicamente agitados, o que possibilita o aumento da disponibilidade dos contaminantes aos microrganismos e a diminuição da heterogeneidade do meio, fatores limitantes à técnica *in situ*. Ao término do processo, o material deve ser desidratado e a água pode ser reaproveitada em uma batelada subsequente (JACQUES *et al.*, 2007).

Figura 3.12 - Biorreator



Fonte – Tecnal (2021).

Além disso, esses sistemas também permitem o melhor controle das condições de pH, nutrientes, aeração (ou anaerobiose) e de temperatura, visando sempre as condições ideais de crescimento microbiano. Os sistemas de biorreatores também facilitam a inoculação de microrganismos com elevada capacidade de degradação, de mecanismos metabólicos apropriados para mineralizar (degradar) os contaminantes (ANDRADE, AUGUSTO e JARDIM 2010) e (PEREIRA e FREITAS 2012).

A técnica de biorreatores geralmente é conduzida a partir da bioestimulação e bioaumentação necessários em um meio cuja suspensão é preparada com cerca de 10% - 30% de solo contaminado e 70% - 90% de água. Nesses sistemas pode ser mantida aeração e movimentação constantes. Já foram observadas reduções de concentração de *HAPs* de até 75%, em média, em períodos de 10 a 30 dias de tratamento, logo, a utilização de biorreatores é uma ferramenta ideal para obtenção de resultados satisfatórios em curtos períodos de tempo (JACQUES, *et al.*, 2007).

3.6.3 Landfarming

Encerrando o contexto dos processos ativos de incremento da eficácia da biorremediação, seja *in situ* ou *ex-situ*, é muito utilizado o termo “*landfarming*”, que se trata de uma técnica em que os microrganismos heterotróficos da camada superficial do solo são estimulados a degradar os contaminantes ali presentes através da estimulação por meio de revolvimento do solo por operações de aração e gradagem, com intuito de aerar e homogeneizar as camadas com diferentes concentrações de contaminantes, além da adição de corretivos, fertilizantes e de água. Logo, a técnica é limitada para contaminações superficiais, região arável, conforme Figura 3.13.

Figura 3.13 - Máquina realizando a remediação *landfarming*.



Fonte - Fernández, *et al.*, (2007).

3.6.4 Fitorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos

De acordo com Aguiar *et al.*, (2012), a fitorremediação é uma técnica utilizada para a mitigação de contaminação de solos e da água a partir da utilização de plantas. O termo “fitorremediação” significa: fito = planta e remediação = correção. Essa técnica vem sendo amplamente utilizada

nos Estados Unidos e Europa, e consiste na ação seletiva que algumas espécies de plantas, microrganismos associados e respectivas enzimas visando a mitigação de contaminações dos solos e água por contaminantes orgânicos e inorgânicos (metais pesados, hidrocarbonetos de petróleo, agrotóxicos, solventes clorados etc) do ambiente.

Segundo Procópio *et al.*, (2007), os mecanismos de atuação das plantas consistem na absorção dos contaminantes pelas raízes e sua translocação para outros tecidos do corpo vegetal.

Posteriormente, parte desses contaminantes pode ser então volatilizada, sofrer completa ou parcial degradação, sendo transformados em componentes secundários menos tóxicos que acabam ligando-se ao tecido das plantas. Essa metabolização de um componente tóxico a um composto menos tóxico ou não tóxico é denominado de fitodegradação.

Logo, o principal objetivo da técnica de fitorremediação é remover ou imobilizar os contaminantes presentes no solo ou águas e reaver as condições anteriores de eventual contaminação do ecossistema local.

A maioria das pesquisas em fitorremediação estuda a viabilidade do uso de plantas denominadas hiperacumuladoras, que apresentam a capacidade de estocar componentes como metais pesados que não lhe servem de fonte de carbono ou energia.

Porém, foi observado que solos vegetados apresentam maiores taxas de desaparecimento de compostos orgânicos que os solos não vegetados, o que instigou as investigações acerca da combinação do uso de plantas em consórcio com os microrganismos, de modo a aprimorar sua capacidade de atuação na biorremediação – a fitoestimulação (JACQUES, 2007).

Segundo Jacques (2007), trabalhos já determinaram que a biorremediação de solo quando vegetado pode apresentar até 20% mais eficácia na redução de poluentes e uma população de microrganismos degradadores até 24 vezes maior que o solo não vegetado.

A fitorremediação pode ter sua eficiência melhorada por mecanismos, conforme Tabela 3.4. Esses mecanismos possibilitam degradar, reter, imobilizar ou reduzir a níveis não-tóxicos os contaminantes ambientais (AGUIAR, *et al.*, 2012).

Tabela 3.4 - Mecanismos da técnica de fitorremediação.

Mecanismo Fitorremediador	Descrição
Fitoextração	Consiste na remoção dos contaminantes e a sua retenção no tecido vegetal;
Fitotransformação	Ocorre a degradação dos contaminantes através do metabolismo da planta;
Fitoestimulação	Ocorre a estimulação da atividade dos microrganismos degradadores dos contaminantes pela rizosfera da planta;
Fitoestabilização	As plantas são utilizadas para reduzir a migração dos contaminantes no solo;

Fonte - Adaptado de Jacques (2007).

3.7 Estratégias de Biorremediação

Existem várias estratégias para aumentar a eficiência da biorremediação como: uso de microrganismos do próprio local, sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação (biorremediação intrínseca ou natural); adição de agentes estimulantes, como nutrientes (bioestimulação) ou surfactantes; inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (consórcios microbianos e bioaumentação); uso de plantas para melhorar as condições de proliferação de microrganismos no solo (fitoestimulação); adição de materiais estruturantes com finalidade de aumentar a disponibilidade dos contaminantes aos microrganismos degradadores bem como sua homogeneidade; utilização de técnicas *ex-situ* com possibilidade de melhor controle das variáveis determinantes para atividade microbiota degradadora (compostagem, *landfarming*, biorreatores) (BENTO *et al.*, 2003), (LEAL, 2009), (TEIXEIRA, 2007).

Da literatura sabe-se que os microrganismos de interesse para degradação podem ser mais facilmente isolados em locais que tenham histórico de contaminação por hidrocarbonetos.

Tal fato pode ser assimilado como um processo de seleção natural desses organismos, devido à disponibilidade de contaminantes como fonte de substrato para crescimento, além de outras condições adequadas, ocorrendo o enriquecimento seletivo *in-situ* desses organismos

(microrganismos que conseguem desenvolver e crescer nesses locais contém genes relacionados ao catabolismo de hidrocarbonetos) (TEIXEIRA *et al.*, 2007; LEAL, 2009).

3.7.1 Atenuação natural ou intrínseca

A biorremediação natural ou intrínseca é um processo que ocorre de forma natural, ou seja, os microrganismos do próprio local agem sem qualquer interferência de estratégias para remediar o solo contaminado.

O processo geralmente ocorre mais lentamente e deve ter a sua viabilidade analisada em cada caso específico, para determinar se há consequências de os contaminantes permanecerem no local por maiores períodos, avaliando também a possibilidade de dispersão no ambiente por ação de chuvas, por exemplo (BENTO *et al.*, 2003); (COUTINHO *et al.*, 2015).

3.7.2 Bioaugmentação

Os acidentes com derramamento de contaminante oleoso podem ocorrer nos mais variados locais, atingindo solos com distintas características e, nem sempre, ideias à ocorrência dos microrganismos capazes de efetuar a biorremediação.

Nesse sentido, o método de bioaugmentação consiste na adição nas áreas afetadas de microrganismos com elevado potencial na decomposição de determinado contaminante. A inclusão pode ser tanto de microrganismos adaptados por característica própria ou de seres geneticamente modificados para melhor se adaptar àquela contaminação (TORTORA; FUNKE; CASE 2012).

Segundo Pereira e Freitas (2012) a seleção dos microrganismos usados na bioaugmentação ocorre em estudos *in-vitro* em meios seletivos e com presença do contaminante. Assim, é possível avaliar o potencial metabólico de degradação de contaminantes.

3.7.3 Oferta de nutrientes (bioestimulação)

A ação dos microrganismos baseia-se no consumo de matéria orgânica dos contaminantes. Entretanto, o bom funcionamento metabólico desses organismos depende também da disponibilidade de inúmeros nutrientes (orgânicos e inorgânicos), como fósforo e nitrogênio orgânicos, bem como outros compostos determinados como micronutrientes, como enxofre,

cálcio e magnésio, que podem ser inseridos ao solo carente dos mesmos através da aplicação de fertilizantes (DIAS, 2007).

Para haver maior eficiência da biorremediação, seja *in-situ* ou *ex-situ*, a condição do solo deve ser determinada e monitorada ao longo do processo. Desse modo, entende-se que mesmo um solo carente de matéria orgânica e com baixa diversidade microbiana pode ter suas condições melhoradas a fim de se estimular a biodegradação no próprio local, se for considerado viável no caso prático.

Sendo assim, a disponibilidade desses nutrientes é fator determinante para eficácia de crescimento celular e consequente degradação dos poluentes. Além disso, quando possui a ocorrência de grandes derramamentos de combustíveis, por exemplo, ao se utilizar a técnica de biorremediação, haverá sempre grande disponibilidade de matéria orgânica, sendo que a disponibilidade de nutrientes inorgânicos pode ser fator limitante do processo (DECESARO, 2013).

Ainda de acordo com Decesaro (2013), a razão ótima de nutrientes C (carbono), N (nitrogênio), P (fósforo) e K (potássio) para crescimento celular dos microrganismos é 100:15:1:1. Deve-se salientar, entretanto, que razões muito divergentes dessa podem ocasionar, por exemplo, inibição da atividade microbiana, como acontece para o caso de níveis de compostos nitrogenados muito elevados (para razão N/C maior que 20).

Nesse contexto, a bioestimulação dos processos de biorremediação surge como opção de acelerar o metabolismo microbiano, muitas vezes limitado pela carência de recursos apresentada nos solos. Nesse sentido, para aumentar as taxas de biodegradação de contaminantes oleosos podem ser introduzidos nutrientes nas áreas afetadas, os bioestimuladores, principalmente os nitratos e os fosfatos, essenciais para o crescimento celular microbiano (DECESARO, 2013).

Além disso, a concentração desses nutrientes deve ser constantemente monitorada a fim de manter as condições ideais para desenvolvimento microbiano. A correção pode ser feita aplicando-se fertilizantes típicos da agricultura, com ureia, além de sais inorgânicos, como amônio (DECESARO, 2013).

Sendo assim com níveis adequados de nutrientes, há aumento de biomassa microbiana e, consequentemente, aumento da velocidade de degradação do contaminante.

3.7.4 Adição de materiais estruturantes

Para que o processo de remediação seja bem sucedido, é preciso proporcionar um ambiente adequado para que os microrganismos se desenvolvam. Em muitos casos, eles não conseguem crescer porque as condições ambientais no local não são favoráveis, como a baixa oxigenação ou baixa disponibilidade dos contaminantes na matriz do solo.

Sabe-se que a extensão da sorção dos HTP no solo influencia sua biodisponibilidade à microbiota degradadora e, assim, a eficiência da biorremediação. A capacidade de absorção na fase sólida do solo é determinada principalmente pela diferença de formação (composição mineralógica) e conteúdo de matéria orgânica presente (SANTOS, 2007).

Sendo assim, diferentes tipos de condições do solo contaminado requerem diferentes abordagens e preparação para aplicação da técnica de biorremediação.

Nesse contexto, utiliza-se o emprego de agentes estruturantes, que são materiais de baixa densidade que quando adicionados ao solo contaminado aumentam a porosidade deste proporcionando maior eficiência do processo de oxigenação e consequentemente de biorremediação (SANTOS, 2007).

Os materiais estruturantes são compostos que possuem como característica baixa densidade e capacidade de aumentar o processo de aeração do solo. Além disso, eles diminuem a densidade, aumentam a porosidade e a permeabilidade do solo, auxiliando na formação de componentes estáveis com a água. Podem também ser fontes de nutrientes, como é o caso do bagaço da cana-de-açúcar.

Outra característica importante é que os materiais estruturantes são predominantemente compostos de matéria orgânica, apolares, e, sendo assim, apresentam afinidade com os contaminantes de natureza apolar, como é o caso dos HTP, o que favorece muito sua biodisponibilidade no seio da matriz do solo

Raimundo (2004) *apud* Furakawa [2007?] exemplifica a adição de materiais estruturantes, como bagaço de cana-de-açúcar, casca de coco, casca de arroz, palha, cavaco de madeira, serragem e farelo de trigo, que podem colaborar com o processo microbiológico, melhorando as condições de desenvolvimento e proliferação dos microrganismos no solo.

Alguns trabalhos encontrados na literatura reportam, que os materiais estruturantes têm apresentado bons resultados com a sua adição, devido principalmente apresentarem baixo custo, não competitividade com o contaminante como fonte de carbono (reduzida biodegradação) e disponibilidade para o seu reaproveitamento (SANTOS, *et al.*, 2007).

3.7.5 Adição de Surfactante

Sabe-se que muitos compostos orgânicos, como petróleo e seus derivados, apresentam baixa solubilidade em água, além de demonstrarem elevada afinidade à matéria orgânica do solo, o que resulta em uma baixa taxa de transferência desses contaminantes da fase sólida para a aquosa.

Quanto maior o tamanho da cadeia saturada das moléculas oleosas, maior seu caráter hidrofóbico, que é considerado um dos principais limitantes da ação de microrganismos degradadores da matéria oleosa (PEREIRA e FREITAS 2012).

Desse modo, a característica hidrofóbica dos contaminantes orgânicos e sua afinidade pela fase sólida do solo dificultam a ação dos microrganismos nos processos de biorremediação, uma vez que esse processo ocorre em sua maior parte no meio aquoso (ANDRADE, AUGUSTO e JARDIM 2010).

No sentido de diminuir os efeitos dessa limitante físico-química do processo, pode-se fazer a aplicação de algum composto tensoativo juntamente das áreas contaminadas – os surfactantes (como o dodecil sulfato de sódio). Esses compostos quando aplicados, são capazes de diminuir a tensão superficial entre a fase aquosa e orgânica, favorecendo o processo de dessorção e aumentando a solubilidade dos compostos orgânicos no meio aquoso, tornando-os mais disponíveis aos microrganismos (DECESARO, 2013).

Alguns microrganismos, entre bactérias, leveduras e fungos filamentosos, podem produzir seus próprios biossurfactantes, que são moléculas constituídas de uma fração polar e uma apolar. Sua ação aumenta a disponibilidade dos poluentes apolares na fase aquosa do solo (interstícios entre os grânulos com maior taxa de umidade), facilitando a formação de microemulsões propícias ao processo de biodegradação (PEREIRA e FREITAS 2012).

Os biossurfactante apresentam como vantagens alta biodegradabilidade, baixa toxicidade à microbiota, estabilidade molecular em larga faixa de pH e temperatura, o que possibilita maior

amplitude de aplicação - em sítios contaminados de condições geológicas, físicas e químicas muito distintas entre si (GONZAGA, 2013).

Por outro lado, apesar de o mercado de biossurfactantes apresentar bom crescimento nas últimas décadas (aumento de competitividade no mercado), ainda existe uma desvantagem competitiva em relação aos surfactantes sintéticos, principalmente devido à dificuldade e custo de produção em larga escala, desafio técnico de purificação e baixo rendimento produtivo.

3.7.6 Consórcios microbianos

O processo de biodegradação de contaminantes que ocorre naturalmente no ambiente não é resultado de uma única espécie de microrganismo existente no solo, mas sim da integração da ação de várias espécies presentes, o que pode ser denominado de consórcio microbiano.

Assim, quando várias espécies agem em conjunto é então gerada no solo uma maior diversidade de produtos enzimáticos fruto de suas atividades metabólicas distintas. (LEAL, 2009).

Tal noção de diversidade é fruto do interesse de estudos na comunidade científica que demonstram seu grande potencial em aumentar a degradabilidade de poluentes (tanto quantitativa quanto qualitativamente) como os hidrocarbonetos que, na verdade, são constituídos por vários compostos dificilmente degradáveis pela atividade de espécies únicas e isoladas (culturas puras).

3.8 Fatores Físico-químicos e Microbiológicos do solo que afetam a Biorremediação

As técnicas utilizadas na remediação de solos contaminados dependem de vários fatores como condições físico-químicas e biológicas do local contaminado, natureza e toxicidade do contaminante (ANDRADE, AUGUSTO e JARDIM 2010).

Galarde; Bellinaso; Manfio (2005), afirma que cada processo de biorremediação é particular, necessitando assim, na maioria das vezes, adequação para aplicação em diferentes locais afetados, o que exige uma análise integrada e cautelosa de parâmetros físicos, químicos e biológicos.

A taxa de atividade microbiana na biodegradação de contaminantes orgânicos é diretamente influenciada por fatores físicos, químicos e microbiológicos relacionados ao solo bem como às características físico-químicas do material contaminante (DECESARO, 2013).

Entre variados fatores determinantes ao processo, destaca alguns a seguir que limitam a atividade microbiana, sendo:

- teor de nutrientes,
- concentração
- composição dos contaminantes;
- temperatura;
- pH;
- teor de umidade
- aeração;
- permeabilidade do solo;
- materiais de subsuperfície a origem do resíduo;
- condições hidrogeológicas;
- outros.

Na tabela 3.5, seguem níveis ideais dos parâmetros citados acima para melhor eficiência na biodegradação. Em seguida, será explicado melhor como os principais fatores influenciam o processo.

Tabela 3.5 – Condições ideais para degradação.

Parâmetros	Condições requeridas a atividade microbiana	Valor ideal para a degradação de óleo
Umidade do solo	25- 28 % da capacidade retenção de água	30- 90 %
pH do solo	5,5 - 8,8	6,5 - 8,0
Aeração (teor de oxigênio)	Aeróbico: espaço cheio de ar de no mínimo 10% dos poros	10 % - 40 %
Teor de nutrientes	Nitrogênio e fósforo para crescimento microbiano	C:N:P ≅ 100:10:1
Temperatura	15- 45 °C	20° - 30°

Fonte - Adaptado, VIDALI (2001).

3.8.1 Umidade

Em média, o volume total de poros contido em determinado volume de solo pode variar entre 50 a 60%, sendo que destes 15 a 45 % são ocupados por água e o restante por gases, como os encontrados na atmosfera. A manutenção de determinado nível de umidade é fundamental para maior eficácia no processo de biorremediação, sendo fator básico para haver a movimentação microbiana, bem como o transporte de nutrientes no solo (DECESARO, 2013).

Maior eficiência de biorremediação é obtida quando se mantém a umidade do solo entre 30 e 90 %. Além disso, teores mais elevados de umidade podem limitar o processo ao impedir o transporte de oxigênio (DECESARO, 2013); (MUTECA, 2012); (TONINI, REZENDE e GRATIVOL 2010); (VIDALI, 2001).

3.8.2 PH

Segundo Muteca (2012), cada espécie de microrganismo apresenta tolerância específica em relação ao pH do meio. Além disso, é apontado também que a solubilidade dos contaminantes orgânicos e sua adsorção no solo também podem variar em função do pH.

A biodegradação apresenta maior eficácia quando o meio encontra - se nas faixas de pH próximo à 7,0 (aproximação do pH da célula do microrganismos), sendo que a faixa de pH ótima para o crescimento da maioria dos microrganismos biorremediadores é de pH 6 a 8 (básico). Por outro lado, a mesma taxa de atividade microbiana decai abruptamente em ambientes extremamente alcalinos ou ácidos, por causarem a desestabilidade enzimática (MUTECA, 2012 e VIDALI, 2001).

3.8.3 Aeração - Teor de O₂ disponível no solo

Os microrganismos envolvidos na biodegradação de contaminantes do solo superficial são seres heterotróficos, cujo aceptor final de elétrons é o oxigênio (respiração aeróbia), ou seja, o consumo da matéria orgânica e sua decomposição em compostos mais simples necessitam de oxigênio. Sendo assim, a concentração de oxigênio no solo é reconhecidamente um fator limitante para o processo.

Nesse sentido, solos muito compactados, de baixa porosidade, apresentam baixo teor de oxigênio disponível para as atividades desses organismos. Desse modo, esse fator pode ser controlado a partir de alguns métodos, como: o revolvimento mecânico (muito comum nas pilhas de compostagem); o aumento da porosidade através e a adição de agentes estruturantes

(matéria orgânica de característica granular, como serragem, casca de café, casca de coco, bagaço de cana etc.); utilização de biorreatores (tratamento *ex-situ*) através da dissolução do solo em maior volume de água e movimentação mecânica controlada etc. (SANTOS *et al.*, 2007).

3.8.4 Teor de nutrientes

Como discutido no tópico de nutrientes e bioestimulação, a ação regular dos microrganismos necessita tanto de matéria orgânica (proveniente dos contaminantes) quanto da disponibilidade de inúmeros nutrientes orgânicos e inorgânicos, como fósforo, nitrogênio e potássio orgânicos, além de micronutrientes, como enxofre, cálcio e magnésio (DIAS, 2007).

Segundo Decesaro (2013), a razão ótima de nutrientes C, N, P e K para crescimento celular dos microrganismos é 100:15:1:1. Entretanto, tratam de um processo “vivo”, cuja razão dos nutrientes ideal pode variar a depender das condições típicas de cada projeto ou investigação científica, como tipo de identidade do contaminante presente, espécies microbionas utilizadas, condições físicas do meio (temperatura).

Contudo, o processo biológico deve ser compreendido como um sistema suscetível a apresentar variações. Desse modo, é fundamental o direcionamento científico para concretizar projetos reais em maior escala, o que não afasta, entretanto, a necessidade de controle e monitoramento do processo real em cada uma de suas fases.

3.8.5 Temperatura

Considera-se que a temperatura tenha efeito duplo na eficiência do processo de biorremediação: primeiramente por influenciar nas características físicas e composição química dos contaminantes e, principalmente por ser determinante para a taxa metabólica dos microrganismos.

Aislabie (2006) aponta que a temperatura ótima para o processo de biorremediação seria entre 15 – 30 °C para processos aeróbicos e de 25 – 35 °C para os anaeróbios. Além disso, sabe-se que a atividade enzimática e o metabolismo dos microrganismos dobram a cada aumento de 10 °C até atingir temperaturas máximas de 40 °C, considerada limítrofe, a partir da qual as atividades são inibidas.

Assim, baixas temperaturas limitam a degradação dos poluentes, uma vez que o metabolismo microbiano diminui e, além disso, a viscosidade dos *HAPs* aumenta nestas condições, diminuindo sua solubilidade e disponibilidade no meio. Por outro lado, em altas temperaturas, a toxicidade destes compostos aumenta (TONINI, REZENDE e GRATIVOL 2010).

4 METODOLOGIA

4.1 Delimitação do trabalho

A proposta do presente trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre a aplicação de estratégias para a eficiência das técnicas de biorremediação de áreas contaminadas por HTP.

Para realizar a avaliação e interpretação dos estudos foi realizado a leitura de aproximadamente vinte artigos no qual destes foram selecionados sete artigos relevantes que abordassem sobre o tema, que contemplasse resultados sobre a degradação do contaminante e que tivessem sido publicados após o ano de 2000.

Cabe ressaltar, ainda, que a seleção dos estudos ocorreu por meio de buscas nas bases do *Scielo*, *Google Scholar*, periódico da *Capes*. Para a busca das informações foi crucial o uso de palavras chaves como: hidrocarbonetos, contaminação, descontaminação, remediação, biorremediação, áreas contaminadas e outros.

Além disso, utilizou como critério para a busca das informações os idiomas da língua portuguesa e da língua inglesa.

A consulta foi realizada em periódicos, eventos científicos bem como Teses de Doutorado, trabalhos de conclusão de curso, artigos e legislações.

Por fim, como estratégia os principais resultados abordados, foram organizados em quadros já que possibilitam sua melhor visualização e interpretação .

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da estratégia de consórcios microbianos

Leal (2009) realizou um estudo comparativo da eficiência do processo de biodegradação de hidrocarbonetos alcanos em meio de cultivo acrescido de óleo diesel por cinco isolados bacterianos, em culturas puras e em consórcio: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ochrobactrum anthropi*, *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus subtilis*.

A escolha das espécies utilizadas no estudo foi baseada na suscetibilidade de cada uma para produção de biossurfactantes e eficiência para degradar diferentes hidrocarbonetos do petróleo (presença de genes que codificam enzimas específicas e atuantes no metabolismo dos compostos do petróleo).

A incubação foi realizada em frascos de *headspace*, e a avaliação do crescimento da comunidade microbiana foi realizada através de um respirômetro, através da medição do dióxido de carbono emitido pela atividade de crescimento. Já a eficiência em degradação pode ser investigada através de ensaios em cromatógrafo gasoso com amostras após decorridos 7, 15 e 30 dias da data de incubação.

Todos os isolados microbianos testados, em culturas puras e em consórcio, apresentaram bons resultados na degradação dos hidrocarbonetos. Entretanto, a cultura em consórcio demonstrou ainda maior eficiência de degradação e em menor tempo quando comparado às culturas puras.

É possível observar na Tabela 5.1 que a degradação de compostos *nonano*, *decano* e *undecano* apresentou elevadas taxas de eficiência tanto para as culturas puras quanto para o consórcio.

Entretanto, deve-se ressaltar que para as três classes de hidrocarbonetos mensurados, o consórcio apresentou superioridade nas taxas de degradação comparando-se a todas as culturas puras.

Observou-se redução de *nonano*, *decano* e *undecano* superior a 99 % após 30 dias de incubação, o que evidencia a complementaridade metabólica (quanto ao consumo dos hidrocarbonetos para crescimento) exercida pelos organismos em consórcio. A melhor condição de trabalho determinada por Leal (2009) foi: temperatura - 35°C; relação C:N:P - 125:10:1; umidade – 60%.

Além disso, deve-se ressaltar também que o consórcio foi o que apresentou maior eficiência de degradação nos primeiros sete dias de incubação para os três hidrocarbonetos, fator que pode interessar para estudos de projeções e modelagem de projetos de maiores escalas, como reatores, por exemplo, conforme Tabela 5.1

Tabela 5.1 - Eficiência da degradação dos compostos *nonano*, *decano* e *undecano* por culturas puras e consórcio.

Espécies	Degradação dos Hidrocarbonetos [%]			Dias
	NONANO	DECANO	UNDECANO	
-				-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	78,1	75,3	79,3	7
	90,2	89,5	91,1	15
	98,7	93,8	94,7	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	77,9	89,2	90,1	7
	88,6	92,5	96,9	15
	99,2	93,7	97,2	30
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	80,9	82,4	85,4	7
	93,6	87,6	94,8	15
	95,8	93,8	97,8	30
<i>Acinetobacter baumannii</i>	79,3	80,9	77,2	7
	86,9	92,4	88,3	15
	98,6	97,4	94,6	30
<i>Bacillus subtilis</i>	89,9	78,6	83,4	7
	96,5	92,7	94,4	15
	98,6	95,8	96,9	30
Consórcio	90,7	95,3	93,9	7
	97,1	97,6	96,4	15
	99,3	99,9	99,5	30

Fonte - Adaptado de Leal (2009).

Leal (2009), concluiu que a utilização de consórcio apresenta grande potencial em melhorar a eficiência de degradação de HTP em relação às culturas puras e que por isso pesquisas nesse âmbito devem avançar. Além disso, a produção de surfactantes pelos microrganismos também deve ser reconhecida como estratégica para melhorar a técnica de degradação dos contaminantes.

Prakash *et al.*, (2014) realizou um estudo para avaliar o potencial de biodegradação de HTP por bactérias isoladas em locais contaminados por petróleo cru em Meerut, Índia. Para obtenção dos isolados, foram coletadas amostras de solo em sítios com histórico de contaminação por petróleo. A partir de então inúmeras amostras foram submetidas a ensaios de crescimento controlado cujo substrato principal para obtenção de carbono era petróleo.

A partir desses ensaios foi possível determinar os isolados microbianos com maior crescimento, dos quais se selecionou quatro (considerados os de maior potencial de degradação dos compostos de petróleo - como benzeno, diesel, tolueno, antraceno e naftaleno) dos seguintes gêneros: *Pseudomonas* (2 isolados), *Bacillus* (1 isolado) e *Micrococcu* (1 isolado).

O consórcio foi obtido a partir da mistura de volumes iguais de cada isolado selecionado, para avaliar a complementariedade metabólica exercida pelo conjunto em relação aos isolados puros, quanto à capacidade de metabolizar os contaminantes de petróleo.

As amostras foram incubadas por seis dias à 30°C e 200 rpm. Foi observado que a melhor eficiência de degradação de benzeno e diesel foi obtida através das atividades do consórcio microbiano, conforme descrito na Tabela 5.2, a seguir:

Tabela 5.2 - Eficiência dos isolados bacterianos e do consórcio na degradação de benzeno e diesel após seis dias de incubação.

Isolado/consórcio	Degradação de benzeno [%]	Degradação de diesel [%]
<i>Bacillus</i> (isolado 1)	54,8%	61,2%
<i>Pseudomonas</i> (isolado 2)	60,2%	68,4%
<i>Pseudomonas</i> (isolado 3)	40,9%	53,7%
<i>Micrococcus</i> (isolado 4)	32,5%	39,3%
Consórcio	66,2%	75,4%

Fonte - Adaptado de Prakash *et al.*, (2014).

Prakash *et al.*, (2014) concluiu, então, que a utilização do consórcio microbiano apresenta maior eficiência na assimilação ou degradação de benzeno e diesel que seus isolados constituintes puros.

Tal característica deve ser atribuída a complementariedade das rotas metabólicas das espécies presentes, bem como a maior viabilidade das atividades microbianas em meio aquoso com agitação e temperatura controladas.

5.2 Avaliação da técnica de adição de surfactante ou biosurfactante

Luiz (2017) realizou um estudo sobre a influência da adição de surfactante Dodecil Sulfato de Sódio – Lauril (SDS) sobre a degradação de solo contaminado por óleo diesel com o intuito de melhorar a disponibilidade do contaminante no meio.

Assim, Luiz (2017) promoveu a comparação entre a inoculação de amostras de solo contaminado por óleo diesel sem adição de surfactante (processo de degradação natural) e amostra de solo contaminada com óleo diesel com acréscimo de SDS em concentração de 0,1% e 0,2% (base mássica).

O experimento completo teve período de 112 dias e a verificação do processo de degradação era realizada semanalmente pela determinação da quantidade de dióxido de carbono originado pela atividade de degradação dos microrganismos. Ao término do tempo de incubação também foi realizada a caracterização final do solo – análise de óleo residual.

Foi verificado por Luiz (2017) que houve maior produção de gás carbônico nos frascos sem adição de surfactante SDS. Além disso, ao se comparar os dois níveis de concentração de surfactante utilizados constatou-se maior eficiência de degradação para os frascos com concentração de SDS 0,1% do que 0,2%.

Luiz (2017) avaliou hipóteses para explicar o fato de observar maior nível de degradação do processo natural comparado quando se adiciona o surfactante SDS: a principal foi a possibilidade de o surfactante SDS apresentar toxicidade para os microrganismos.

Entretanto, é interessante atentar que se obteve melhor desempenho em degradação para menor concentração de SDS (a adição de 0,1% de SDS apresentou melhor resultado que a de 0,2%), o que aponta a necessidade de mais investigações sobre os efeitos da adição de concentrações menores do SDS ao meio.

Margesin (2000) obteve resultados nesse mesmo sentido: para a adição do SDS nos ensaios de degradação de hidrocarbonetos foram verificados eficiências de degradação de 45%, 43%, 33%, 23% do teor de contaminação inicial para adição de SDS em concentrações mássicas de 0,005%; 0,01%; 0,05% e 0,1%, respectivamente; enquanto sem a presença de SDS, foi reportado eficiência global de 57% de degradação de hidrocarbonetos.

Os resultados obtidos por Margesin (2000) e Luiz (2017) demonstram que a biodegradação natural foi melhor que a biodegradação com adição de SDS, o que sugere que a microbiota não foi capaz de se adaptar ao tipo de surfactante

Frente ao empecilho de baixa adaptação dos microrganismos a alguns surfactantes tradicionais, como o SDS, ganham espaço os estudos a respeito dos biosurfactantes – produzidos pelos próprios organismos degradadores.

Gonzaga (2013) avaliou a efetividade da surfactina desidratada em *spray dryer* (um biosurfactante produzido a partir de isolados de *Bacillus subtilis*), como agente potencializador da biodisponibilidade de petróleo em amostras de solos franco-argilo-arenoso (FAA) e argiloso (ARG), objetivando aumentar a eficiência da biodegradação desse contaminante.

Os biosurfactantes também apresentam a capacidade de reduzir a tensão superficial entre os componentes de polaridade diferentes do meio a que são adicionados – ação de emulsificação. Desse modo, os hidrocarbonetos no solo tornam-se mais disponíveis na parte úmida onde ocorre a maioria das ações da microbiota.

Gonzaga (2013) utilizou dois tipos de solo para estudo da degradação do contaminante: o primeiro classificado como franco-argilo-arenoso, proveniente de Viçosa- Minas Gerais (MG), e o segundo classificado como solo muito argiloso, proveniente de Capinópolis (MG). O objetivo do estudo foi comparar o efeito da surfactina em pó, produzida por um processo de secagem, sobre a biorremediação de dois solos tropicais brasileiros contaminados com petróleo.

Os dois tipos de solo foram caracterizados para determinar qualitativa e quantitativamente seus materiais constituintes. A partir desses resultados foi possível determinar as correções ou adições necessárias de nutrientes inorgânicos e orgânicos. Assim, foram realizadas as aplicações de nitrogênio na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; de potássio, na forma de KH_2PO_4 ; de fósforo, na forma de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

O biosurfactante foi obtido de material excretado no meio de crescimento do cultivo de *Bacillus subtilis*. Foram utilizadas a surfactina em solução e em pó. O estudo foi realizado com a preparação de microcosmos em tubos de ensaio para os dois tipos de solo. A monitoração ocorreu por 60 dias, em períodos de 30, 45, e 60 dias.

As curvas com as taxas respiratórias para ambos os tipos de solo com contaminação de petróleo apresentaram um comportamento similar: tanto para o solo franco-argiloarenoso quanto para o argiloso, os microcosmos apresentaram uma rápida fase de elevação da taxa respiratória, seguida de decréscimo e estabilização. Por outro lado, os valores das taxas respiratórias foram

maiores para o solo argiloso com adição de surfactina, o que justifica a maior eficiência no processo de crescimento para essa amostra.

Os resultados de eficiência de degradação de contaminantes apontaram para remoção parcial dos HTPs em todos os microcosmos, para os dois tipos de solos decorridos os 60 dias de incubação. Observou-se que, de fato, houve maior degradação para solo contaminado com adição de surfactina líquida, a surfactina em pó apresentou resultados intermediários (estatística não apresentada pelo autor) e a incubação sem nenhuma adição de surfactante apresentou as menores eficiências de degradação para os dois tipos de solo, conforme Tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Eficiência da degradação de HTP em amostra de solo com adição de surfactina líquida, em pó e sem adição de biosurfactante.

	Surfactina líquida	Surfactina em pó	Sem adição de biosurfactante
Solo franco-argiloso	38%	Intermediário	19,6%
Solo argiloso	73%	Intermediário	62,6%

Fonte - Adaptado de Gonzaga (2013).

Gonzaga (2013) demonstrou que o microcosmo composto por: petróleo + inoculante + surfactina líquida, apresentou as maiores eficiências de remoção de HTPs durante o período de incubação - 38 e 73 % para os solos franco-argiloso-arenoso e argiloso, respectivamente.

Além disso, concluiu também que tanto a surfactina desidratada quanto a líquida resultam em aumento da eficácia sobre a degradação dos HTPs,

O fato de o solo argiloso apresentar as maiores porcentagens de remoção de HTPs indica que a textura dos solos está diretamente vinculada à eficiência do processo.

Finalmente, entende-se que os biosurfactantes podem ser mais facilmente empregados que os surfactantes tradicionais, por se tratar de insumo de origem biológica e que por esse motivo tendem a apresentar menos efeitos nocivos aos microrganismos. Além disso, a utilização de outros mecanismos como etapas de pré-tratamento ou condicionamento dos solos, podem servir de estímulo à biorremediação (condicionam diferentes matrizes de solo, com distintas formações geoquímicas e geofísicas) como bioaumentação, bioestimulação, revolvimento mecânico periódico ou a adição de biosurfactante, por exemplo.

5.3 Avaliação da estratégia adição de material estruturante aplicado a compostagem

A adição de matéria orgânica granular (casca de arroz, de coco, de amendoim ou bagaço de cana, material seco triturado não aproveitado da colheita de leguminosos ou cereais etc) resulta na melhoria da eficiência da biodegradação.

Esses materiais orgânicos são denominados estruturantes, e eles melhoram as condições da matriz do solo via alteração de propriedades físicas, como: diminuição da densidade, aumento da porosidade, da permeabilidade e da aeração.

Além disso, é interessante apontar que todos esses compostos aditivos podem servir aos microrganismos como fonte de obtenção de carbono orgânico. Logo, estes aditivos são um mecanismo de bioestimulação (melhora da qualidade nutricional do solo).

Namkoong (2001), realizou um estudo na Coreia do Sul para investigar a otimização da razão entre solo contaminado por óleo diesel com o uso de dois aditivos: lodo de esgoto e material orgânico maturado por compostagem. O objetivo foi melhorar a condição de crescimento de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos.

Como indicador da eficiência do processo com os aditivos, também foi avaliada a eficiência de degradação do solo contaminado na ausência de aditivos.

É importante se determinar a razão ótima de aditivos orgânicos a ser adicionada, pois valores muito discrepantes à necessidade microbiológica podem ser ineficientes, inibindo ou retardando o consumo dos contaminantes. Pode ocorrer o consumo preferencial dos materiais estruturantes, causando a inibição dos contaminantes orgânicos.

O composto orgânico utilizado por Namkoong (2001) trata-se de uma mistura de restos de comida e serragem, que foi submetida a processo de cura por dois meses. O solo utilizado no ensaio foi caracterizado como limo arenoso, com proporções de 59,5%, 23,0% e 17,5% para areia, silte e argila, respectivamente.

O experimento foi conduzido em um sistema fechado, em uma estrutura típica de um reator, mas sem agitação mecânica, para se aproximar das condições da pilha de compostagem e ainda assim permitir a captação do CO₂ liberado no processo.

As amostras de solo foram contaminadas por óleo diesel. Foi determinada a capacidade máxima de retenção de água do solo matriz, que serviu de parâmetro para determinação da umidade inicial do solo no experimento – 70% da capacidade de retenção de umidade do solo. A temperatura foi mantida a 20°C e utilizou aeração mecânica a um fluxo constante de 100 mL/min. As razões de solo contaminado para os aditivos (lodo de esgoto e composto maturado) testados foram: 1:0,1; 1:0,3; 1:0,5 e 1:1 em base úmida. Com um período de incubação de 30 dias.

Namkoong (2001) obteve resultados que demonstram a melhora de eficiência de degradação na presença dos aditivos orgânicos: para o solo sem presença de aditivo no qual obteve a redução de 64% dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP), para solo contaminado com o aditivo lodo de esgoto obteve-se redução máxima de 98,1% para as razões de 1:0,3 e 1:0,5 (solo contaminado: aditivo), para o solo contaminado com aditivo composto maturado obteve-se 98,4% para razão de 1:0,5.

O resumo dos resultados obtidos encontra-se na Tabela 5.4, abaixo:

Tabela 5. 4 - Eficiência da degradação de HTP para solo contaminado puro e com aditivos.

Aditivo	Razão – solo: aditivo (base mássica úmida)	Degradação de HTP [%]
Lodo de Esgoto	1:0,1	86
	1:0,3	98,1
	1:0,5	98,1
	1:1	94,6
Composto Maturado	1:0,1	67,1
	1:0,3	93,1
	1:0,5	98,4
	1:1	97,1
-	Somente solo contaminado	64,5

Fonte - Adaptado de Namkoong (2001).

A partir da avaliação dos dados da Tabela 5.4 fica claro que a quantidade de aditivo agregado ao solo contaminado é fator determinante para a atividade da microbiota e que pode melhorar muito a eficiência da degradação dos HTP em relação ao solo sem nenhum aditivo. Para o lodo de esgoto, é observado que as razões 1:0,3 e 1:0,5 resultaram no máximo de eficiência, enquanto para concentrações inferiores de lodo é observado uma queda no rendimento do processo. Da mesma forma, para o composto maturado observa-se um incremento expressivo na eficiência de degradação próximo a razão de 1:0,5 (eficiência máxima), sendo que para concentrações menores é observada queda expressiva da eficiência.

Sari, Rihadiningrum e Matuzahroh (2019), realizaram um estudo na Indonésia sobre a biorremediação de solo contaminado por petróleo cru pelo processo de compostagem aeróbia com adição de resíduo orgânico de jardinagem e resíduo orgânico de rúmen bovino visando à redução dos hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos de petróleo (HTP).

Sari, Rihadiningrum e Matuzahroh (2019), avaliaram o método de compostagem para degradação dos HTP como eficiente e de relação custo/benefício muito competitivos comparado aos outros métodos.

O solo contaminado foi identificado como franco-argiloso (25% argila, 56% silte e 20% areia). A concentração inicial de HTP foi de 51083,04 mg/kg e a população bacteriana também foi contabilizada: $1,76 \times 10^{10}$ UFC/g.

O aditivo orgânico foi preparado por via de mistura do resíduo de jardinagem e rúmen bovino (J/R), na proporção de 3:1. A razão C/N, umidade e pH da mistura final foram: 29,96 e 62,50% e 5,00, respectivamente.

O experimento foi conduzido em duplicata, com amostras de solo contaminado sem adição de material orgânico (base de comparação) e com adição da mistura J/R na razão de 1:1. A duração dos ensaios foi de 150 dias. Amostragens foram realizadas nos dias: 0; 20; 40; 60; 80; 100; 120 e 150.

Sari, Rihadiningrum e Matuzahroh (2019), utilizaram a biodegradação a partir dos microrganismos de incidência natural em seu estudo e, ao término do processo, foram identificadas três colônias de bactérias majoritárias em 150 dias sendo, portanto, consideradas as principais degradadoras dos hidrocarbonetos: *Bacillus sp.*; *Bacillus pantothenicus* e *Bacillus cereus* (espécies indígenas do local de coleta das amostras de solo contaminado).

A Eficiência de degradação de HTP obtida nos ensaios de Sari, Rihadiningrum e Matuzahroh (2019), conforme reportado na Tabela 5.5. No geral, observou eficiência de remoção 31 vezes maior com adição de composto J/R.

Tabela 5.5 - Eficiência de degradação de HTP para solo sem nenhuma adição de material estruturante e para o mesmo solo com adição do composto J/R.

	Solo contaminado sem nenhuma adição	Solo contaminado com adição composto J/R
Eficiência de Degradação de HTP [%]	2,36%	74,68%

Fonte - Adaptado de Sari, Rihadiningrum e Matuzahroh (2019).

De modo geral, Sari, Rihadiningrum e Matuzahroh (2019), obtiveram êxito em demonstrar a viabilidade da adição da mistura orgânica ao solo contaminado por óleo cru em comparação ao processo biodegradativo sem nenhuma adição

5.4 Vantagens e desvantagens do processo de biorremediação de contaminante

A partir das informações organizadas nas tabelas 5.6 e 5.7, entende que a biorremediação é um processo viável tecnicamente e economicamente para a remediação de solos contaminados por hidrocarbonetos.

Entretanto, é importante se atentar que a tecnologia de biorremediação também apresenta limitações como período mais longo de tratamento, necessidade de acompanhamento durante o processo, nem todo microrganismo é capaz de degradar hidrocarbonetos, as condições ambientais e nutricionais específicas dos organismos devem ser atendidas, os contaminantes mais recalcitrantes podem não serem degradados e se acumular no ambiente etc.

A tabela 5.6 apresenta as vantagens do processo de biorremediação.

Tabela 5.6 - Vantagens da biorremediação, conforme estudado por diversos autores.

Item	Vantagens	Fonte
A	Possui baixo custo de execução, principalmente se realizado <i>in-situ</i> ;	(MARIANO <i>et al.</i> , 2008);
B	É considerado de relativa simplicidade de execução e manutenção;	(BENTO <i>et al.</i> , 2003; ANDRADE; AUGUSTO e JARDIM 2010);
C	É capaz de ocasionar a destruição de contaminantes a partir da atividade biológica natural que possui a capacidade de metabolizar estes poluentes e transformá-los em substâncias inertes, como CO ₂ ;	(JACQUES <i>et al.</i> , 2007);
D	Alternativa segura e eficaz;	(MARIANO <i>et al.</i> , 2008);
E	Eficiência em meios homogêneos;	(JACQUES <i>et al.</i> , 2007);
F	Conta com os processos de biodegradação endógenos que podem ser mais rápidos;	(MARIANO <i>et al.</i> , 2008).
G	Pode ser usado em conjunto com outras tecnologias de tratamento.	(MARIANO <i>et al.</i> , 2008).

Fonte – Autora (2021).

A tabela 5.7 apresenta as desvantagens do processo de biorremediação.

Tabela 5. 7 - Desvantagens da biorremediação, conforme estudado por diversos autores

Item	Desvantagens	Fonte
A	Existência de compostos recalcitrantes a biodegradação;	(FRANCISCO e QUEIROZ, 2018);
B	O tempo de operação pode ser mais longo, comparado aos métodos físico-químicos de tratamento;	(JACQUES <i>et al.</i> , 2007);
C	A toxicidade do poluente pode inibir a atividade microbiana além de serem facilmente carregados do local contaminado devido a sua solubilidade.;	(SILVA, 2007);
D	Pode ser limitado pela escassez de microrganismos degradadores dos HAPs no solo pois, em sua maioria, os microrganismos presentes no solo não possuem a capacidade de degradá-los;	(JACQUES <i>et al.</i> ,2007);
E	Pode requerer monitoramento extensivo;	(FRANCISCO e QUEIROZ, 2018);
F	Condições climáticas, propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo podem alterar a biodegradação.	(FRANCISCO e QUEIROZ, 2018).

Fonte – Autora

5.5 Microrganismos com capacidade de degradar o solo contaminado por HTP

A habilidade em degradar hidrocarbonetos não é restrita a apenas alguns gêneros de microrganismos, como as bactérias (conforme demonstrado na tabela 5.8), pesquisas também relacionam fungos com essa capacidade (MARIANO, 2006).

Os fungos desempenham um papel fundamental na degradação dos derivados do petróleo no solo. O mecanismo de ação consiste na atuação de suas enzimas extracelulares que podem fornecer substratos para o crescimento de bactérias através da hidrólise de polípolímeros e também importantes metabólitos secundários.

Tabela 5.8 - Microrganismos com capacidade de degradar o solo contaminado, conforme estudado por diversos autores.

Item	Gêneros de bactérias e fungos	Fonte
A	<i>Achromobacter, Acinetobacter, Alcaligenes, Arthobacter, Bacillus, Flavobacterium, Nocardia e Pseudomonas</i>	(LEAHY E COLWELL 1990 <i>apud</i> PERREIRA <i>et al.</i> , 2012).
B	<i>Acinetobacter sp., Aeromonas sp., Bacillus sp., Escherichia coli, Flavobacterium sp., Klebsiella cepacia, Micrococcus luteus, Moraxella phenylpiruvica, Nocardia sp., Ochrobactrum anthropi, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas sp., Proteus mirabilis, Vibrio sp., Rhodococcus sp., Streptomyces sp., Vibrio fisheri e Xanthomonas maltophilia.</i>	KADRI <i>et al.</i> , (1986), SHAMSHOOM <i>et al.</i> , (1990), SORKHOH <i>et al.</i> , (1990), AL-HADHRAMI <i>et al.</i> , (1995) <i>apud</i> (MARIANO, 2006).
C	<i>Acidovorans, Acinetobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Aeromonas, Arthobacter, Beijemickia, Burkholderia, Bacillus, Comomonas, Corynebacterium, Cycloclasticus, Flavobacterium, Gordonia, Microbacterium, Moraxella, Mycobacterium, Micrococcus, Neptunomonas, Nocardia, Paracoccus, Pasteurella, Polaromonas, Pseudomonas, Ralstonia, Rhodococcus, Sphingomonas, Stenotrophomonas, Streptomyces e Vibrio.</i>	(PEREIRA, 2012; WELTER- TONINI <i>et al.</i> , 2010).
D	<i>Aspergillus e Penicillium</i>	(RISERROBERTS, 1992 <i>apud</i> MARIANO, 2006).

Fonte - Autora (2021).

6 CONCLUSÕES

A utilização da técnica é um grande desafio. Inicialmente, para garantir a eficiência e segurança do processo é necessário avaliar cautelosamente as condições ideais para degradação para o caso prático: características físico-químicas do solo do sítio contaminado, características dos microrganismos indígenas do sítio contaminado, características geológicas do solo do local, avaliar se há risco de expansão da contaminação para outros sítios, avaliar legislações, entre outros.

A partir dessa avaliação primária criteriosa, é possível decidir as melhores práticas e estratégias de remediação para o caso específico, por exemplo: avaliar se é possível promover o tratamento *in-situ* ou se é necessário e viável realizar a retirada do material contaminado para tratamento *ex-situ*; avaliar a situação nutricional disponível aos microrganismos da matriz de solo contaminado (nutrientes orgânicos e inorgânicos podem ser adicionados – bioestimulação); avaliar os gêneros de microrganismos indígenas e a necessidade de adicionar microrganismos de metabolismo específico aos hidrocarbonetos (bioaumentação); avaliar a condição do microcosmo quanto ao tipo de solo e a biodisponibilidade resultante das interações dos contaminantes nessa matriz (avaliar a necessidade de adição de surfactantes ou biosurfactantes, adição de material estruturante, controle de umidade etc).

A partir do aprofundamento na temática, foi possível verificar que existem distintos sistemas de implementação da técnica de biorremediação disponíveis para serem aplicados, como o *landfarming*, compostagem e biorreatores – cada uma com suas peculiaridades, viabilidade técnica e financeira.

A maioria das pesquisas já realizadas e em andamento são direcionadas principalmente ao desenvolvimento de estratégias para possibilitar o aumento de eficácia dessas técnicas. Entre essas estratégias pode-se citar: seleção de microrganismos e sua utilização em consórcios; bioestimulação; fitoestimulação; adição de surfactantes e biosurfactantes; adição de material estruturante, entre outros.

No tocante ao uso de consórcios microbianos, nota-se que a técnica possibilitou a aceleração do processo de degradação já nos primeiros dias de processo e ainda permitiu degradação de até 99% de hidrocarbonetos *nonano*, *dacano* e *undecano* em apenas 30 dias de incubação. A complementariedade metabólica dos consórcios também permitiu a melhora da degradação de

compostos mais complexos, como de benzeno e diesel, 66,2% e 75,4%, em apenas seis dias o consórcio atingiu melhores resultados que todos os seus isolados puros.

O uso de surfactantes melhora a biodisponibilidade dos contaminantes na matriz de atividades dos microrganismos no solo. Logo, sua utilização também é objeto de intensas pesquisas. Diferentes substâncias podem apresentar efeitos diversos e o uso de cada uma deve ser avaliado. Por um lado, algumas espécies químicas de surfactantes podem reduzir a eficiência do processo, o que pode estar relacionado à possível toxicidade aos microrganismos. Entretanto a classe dos biosurfactantes têm sido investigadas e otimizadas quanto aos seus custos de produção e isolamento, e tem demonstrado resultados promissores para diferentes tipos de solos: melhora de 10,4% para degradação em solos argilosos e de até 18% em solos franco-argilosos.

A adição de materiais estruturantes - casca de arroz, de coco, de amendoim ou bagaço de cana, resíduos orgânicos de jardinagem, lodo de esgoto - também é uma estratégia para melhorar fatores físicos, químicos e biológicos fundamentais para a subsistência e plena atividade dos microrganismos na matriz do solo. Trabalhos científicos já mostraram sua capacidade de incrementar a eficácia de degradação em média 30%. Entretanto, para casos de baixíssima eficiência de degradação em condições originais, o acréscimo dos materiais estruturantes permitiu aumento de até 30 vezes da eficiência de degradação.

Já são conhecidos diversos gêneros de bactérias e fungos que possuem capacidade de degradar os contaminantes oleosos em seus processos metabólicos. Entretanto, mais pesquisas são fundamentais para determinar espécies mais adaptáveis e com maior eficiência para atividade de degradação de cada contaminante específico.

Entre as técnicas utilizadas tradicionalmente para a biorremediação de solos contaminados por óleo, a compostagem apresenta bons resultados técnicos e eficácia na redução dos hidrocarbonetos. A técnica se destaca também pelo fácil manejo, baixo custo e simplicidade de operação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT - **NBR 6502: Rochas e solos**. 1995. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT, 1995.
- ABNT - **NBR 10004: Resíduos Sólidos**. 2004. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT, 2004.
- AISSLABIE, Jackie M; BALKS, Megan R; FOGHT, Julia.M; WATERHOUSE, Emma J. **Hydrocarbon spills on Antarctic soils: effects and management**. Environ. Sci. Technol., 38:1265-1274, 2004.
- AISSLABIE, Jackie; SAUL, David; JULIA, Foght. **Bioremediation of hydrocarbon contaminated polar soils**. Extremophiles, v. 10, p. 171–179, 2006.
- ALVES, Bárbara Samartini Queiroz. **Levantamento de informações sobre técnicas de biorremediação da contaminação de solos e aquíferos por derramamentos de gasolina**. (Monografia). Gestão Ambiental em Municípios. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Mendianeira.p.88. 2014.
- AMARAL, Isabele Campos Costa; Carvalho, Leandro Vargas Barreto de; PIMENTEL, Joyce Neri da Silva; PEREIRA, Angélica Cardoso; VIEIRA, Jucilene Aparecida; CASTRO, Vinício Soares de; Borges, ALVES, Sérgio Rabello; NOGUEIRA, Simone Mitri; TABALIPA, Marianne de Medeiros; OTERO, Ubirani Barros; OLIVEIRA, Katia Maria Pinto Guedes de; CORRÊA, Sérgio Machado; Fonseca, Antônio Sérgio Almeida; MOREIRA, Josino Costa; PERES, Frederico; TEIXEIRA, Liliane Reis; MENEZES, Marco Antônio Carneiro; MATTOS, Rita de Cássia Oliveira da Costa; SARCINELLI, Sarcinelli; LARENTIS, Ariane Leites. **Avaliação ambiental de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) e biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores de postos de combustíveis**: Environmental assessment of BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes) and biomarkers of genotoxicity in gas stations workers. 2016.
- ANDRADE, Juliano de Almeida; AUGUSTO, Fabio; JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes. **Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados**: Biorremediação de solos. Eclética Química. Volume 35,3, p. 14. 2010.
- ANDRADE, Júlio Cesar Matta; TAVARES, Sílvio Roberto de Lucena; MAHLER, Cláudio Fernando. **Fitorremediação: O uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. São Paulo: Oficina de Textos, 2007. 176 p.
- ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil). **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**: 2018. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Rio de Janeiro: ANP, 2018.
- ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil). **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2019**. Seção 3 – Comercialização. Rio de Janeiro: ANP, 2019.
- BENTO, Fatima Menezes; CAMARGO, Flávio Anastácio de Oliveira; OKEKE, Benedict; JUNIOR, Willian Thomas Frankenberger. **Bioremediation of soil contaminated by diesel oil**. *Brazilian Journal of Microbiology*. São Paulo, v.34, supl.1, p. 65-68, nov. 2003.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Conama nº 001, de 23 de Janeiro de 1986**. Dispõe sobre critérios básicos e diretrizes gerais para a avaliação de impacto ambiental.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009**. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Diário Oficial da União, Brasília, nº 249, 30 dez. 2009. p. 81-84.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 273, de 29 de novembro de 2000**. Estabelece diretrizes para o licenciamento ambiental de postos de combustíveis e serviços e dispõe sobre a prevenção e controle da poluição.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Acidentes ambientais 2019**. 2019.

BRASIL. **Decreto nº 6.514, de 22 de Julho de 2008**. Dispõe sobre as infrações e sanções administrativas ao meio ambiente, estabelece o processo administrativo federal para apuração destas infrações, e dá outras providências. Presidência da República Casa Civil: Subchefia para Assuntos Jurídicos.

BRASIL. **Lei nº 6.938, de 31 de Agosto de 1981**. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Presidência da República Casa Civil: Subchefia para Assuntos Jurídicos.

BRASIL. **Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998**. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Presidência da República Casa Civil: Subchefia para Assuntos Jurídicos.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 460, de 30 de dezembro de 2013**. Altera a Resolução CONAMA nº 420, de 28 de dezembro de 2009, que dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e dá outras providências.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução nº 273, 29 de Novembro de 2000**. Estabelece diretrizes para o licenciamento ambiental de postos de combustíveis e serviços e dispõe sobre a prevenção e controle da poluição. Diário Oficial da União.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução no 273 de 29 de novembro 2000**. Estabelece diretrizes para o licenciamento ambiental de postos de combustíveis e serviços e dispõe sobre a prevenção.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Áreas Contaminadas**. 2019.

BUENO, Cátia. **Planejamento operacional de refinarias**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina, 2003.

CARVALHO, Michelle Cristina Nogueira de. **Estudo da interação asfalteno inibidor de agregação por métodos de dinâmica molecular e funcional de densidade**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

COUTINHO, Pablo Wenderson Ribeiro; CADORIN, Danielle Acco; NORETO, Lorena Maia; JUNIOR, Affonso Celso Gonçalves. **Alternativas de remediação e descontaminação de solos: biorremediação e fitorremediação**. 2015.

DECESARO, Andressa. **Bioestimulação de solo contaminado por compostos oleosos com biomassa microalgal inativa**. Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, 2013.

DIAS, Fabio Guimaro. **Utilização de consórcio microbiano para biorremediação do meio ambiente contaminado com derivados de petróleo**. 2007. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

DIEMER, Francielle. **Estudo da permeabilidade do solo da região de Ijuí-RS percolando água e óleo diesel**. Trabalho de conclusão de curso de Engenharia Civil. Universidade de Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, 2008.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Fazendinha Agroecológica. **Composteira**. 2021.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Brasília-DF, 2006. Empregando a combinação da tecnologia eletroquímica e fitorremediação. 78 f. 2006.

FERNÁNDEZ, Maria Teresa Hernández; IZQUIERDO, Carlos García; MONTORO, Juan Albaladejo; FERRÁNDEZ, Asunción Roig García; SÁNCHEZ, Victor Castillo; VALERO, José Antônio Pascual; ORTEGO, José Luís Moreno; GARCÍA, María Martínez-Mena; MONEDERO, Miguel Sánchez; MUÑOZ, Margarita Ros; BARBERÁ, Gonzalo González. **Usos alternativos para lodos procedentes de la depuración de aguas residuales urbanas: biorrecuperación de suelos contaminados con hidrocarburos en ambientes semiáridos**. 2007.

FERREIRA, Renata Marques; LOFRANO, Fábio Cunha; MORITA, Dione Mari. **Remediação de áreas contaminadas: uma avaliação crítica da legislação brasileira: remediation of contaminated sites: a critical analysis of brazilian legislation**. Remediation of contaminated sites: a critical analysis of Brazilian legislation. 2018.

FRANCISCO, Wellington Camilo; QUEIROZ, Tânia Márcia de. **Biorremediação**. 2018.

FRONZA, Lice. **Capacidade de liberação de hidrocarbonetos dos sedimentos de áreas contaminadas do estuário da Lagoa dos Patos – RS**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica, Instituto de Oceanografia, 2006.

FURUKAWA, Gisele Giseé. **Estudo da aplicação de material estruturante e bioestímulo na biorremediação de solos contaminados por petróleo**. [2007?].

GALARDE, Christiane Claire; BELLINASO, Maria de Lordes; MANFIO, Gilson Paulo. **Biorremediação: Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos.** 2005.

GONZAGA, Livia Vieira. **Surfactina desidratada como agente potencializador da biorremediação de solos contaminados com petróleo.** Dissertação, 2013.

GUEDES, Pedro Augusto Pereira. **Avaliação dos Valores Orientadores de Investigação para os Hidrocarbonetos Totais de Petróleo Em Solos e Água Subterrânea de Minas Gerais.** 2020. 78 f. Dissertação - Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Acidentes Ambientais. Relatório 2019.** São Paulo, 2019.

JACQUES, Rodrigo Josemar Seminoti; BENTO, Fátima Menezes; ANTONIOLLI, Zaida Inês e CAMARGO, Flávio Anastácio de Oliveira. **Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos:** Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. 2007.

KUMAR, Vivek. **Biodegradation potential of petroleum hydrocarbons by bacteria and mixed bacterial consortium isolated from contaminated sites.** Turkish Journal of Engineering & Environmental Sciences. Vol.1. p. 41 – 50. 2014.

LEAL, Patrícia Lopes. **Atividade e dinâmica populacional de um consórcio bacteriano durante biodegradação de óleo diesel no solo.** Tese. Universidade Federal de Viçosa, 2009.

LIMA, Valmiqui Costa; LIMA, Marcelo Ricardo de. **O solo no meio ambiente: Abordagem para Professores do Ensino Fundamental e Médio e Alunos do Ensino Médio.** Curitiba: 2007. 141 p.

LUIZ, Isabela Márcia de Carvalho. **Estudo do potencial de biorremediação de óleo diesel em solos ácidos contaminados através de atenuação natural de surfactantes.** Congresso ABES FENASAN, 2017.

MARGESIN, Rosa. **Potential of cold adapted microorganisms for bioremediation of oil polluted Alpine soils.** International Biodeterioration & Biodegradation, v. 46, p.3-10, 2000.

MARIANO, Adriano Pinto. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel.** (Mestrado em Geociências e Meio Ambiente) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

MARIANO, Adriano Pinto; TOMASELLA, Richard Clayton; OLIVEIRA, Luciano Marcondes de; CONTIERO, Jonas; ANGELIS, Dejanira de Franceschi de. **Biodegradability of diesel and biodiesel blends.** African Journal of Biotechnology. v.7, n 9, p.1323-1328, 2008.

MARIANO, Jacqueline Barboza. **Impactos ambientais do refino de petróleo.** 2001.

MARÍN, José A; MORENO, José. L; HERNÁNDEZ, Tereza; GARCÍA, Carlos. **Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid conditions.** Biodegradation, 17:251-261, 2006.

MARTINS, Silas Sarkiz da Silva; AZEVEDO, Matheus Oliveira de; SILVA, Mikaias Pereira da; SILVA, Valdenildo Pedro da. **Produção de petróleo e impactos ambientais: algumas considerações.** Holos, [s.l.], v. 6, p. 54, 2015.

MAZZUCO, Lilian Maria. **Atenuação natural de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados com óleo diesel.** 2004.

MEYER, Daniel; HECK, Karina; ANDRIGHETTI, Marília; BENTO, Fátima. Microbial activity in two soils with different clay content contaminated by different diesel biodiesel mixtures. **Academic Journals: African Journal of Microbiology Research.** Porto Alegre, p. 1-9. 2015.

MINAS GERAIS. **Lei nº 7.772, de 8 de Setembro de 1980.** Dispõe sobre a proteção, conservação e melhoria do meio ambiente. Belo Horizonte: Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais, 1980.

MINAS GERAIS. **Deliberação Normativa Copam nº116, 27 de Junho de 2008.** Dispõe sobre a declaração de informações relativas à identificação de áreas suspeitas de contaminação e contaminadas por substâncias químicas no Estado de Minas Gerais.

MINAS GERAIS. Constituição da República Federativa do Brasil 2010. **Lei nº COPAM/CERH nº 02, de 08 de setembro de 2010.** Institui o Programa Estadual de Gestão de Áreas Contaminadas, que estabelece as diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas. Diário do Executivo.

MINAS GERAIS. **Decreto nº 47.347, de 24 de Janeiro de 2018.** Contém o Estatuto da Fundação Estadual do Meio Ambiente. Diário do Executivo - Minas Gerais, 2018.

MINAS GERAIS. Fundação Estadual do Meio Ambiente. **Feam divulga inventário de áreas contaminadas e reabilitadas em Minas:2020.** FEAM, 2020a.

MINAS GERAIS. Fundação Estadual do Meio Ambiente. **Banco de Declarações Ambientais facilita o cumprimento de requisitos da legislação ambiental.** FEAM, 2021b.

MONTEIRO, Marcela Teixeira. **Fitorremediação de rejeito contaminado proveniente do canal do fundão, na baía da Guanabara - RJ.** 2008. 340 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MUTECA, Felisberto Lucas Luis. **Biorremediação de solo contaminado com óleo cru proveniente de Angola.** Dissertação (Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

NAMKOONG, Wan; HWANG, Namkoong; YOUNG, Eui; PARK, Joon-Seok; CHOI, Jung-Young. **Biorremediation of diesel-contaminated soil with composting**. Department of environmental engineering, College Engineering. 2001.

NASCIMENTO, Edileine Aparecida do; ARAUJO, João Carlos de Souza Batista; OLIVEIRA, Rosiane Martins; ALVES, Fabiana. **Diversidade microbiana utilizada na biorremediação de solos contaminados por petróleo e derivados**. 2013.

PEDROTI, Giselle Intra; CASSINI, Sérgio Túlio Alves. **Ensaio de biodegradabilidade aeróbia de hidrocarbonetos derivados do petróleo em solos**. 2007. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.

PEREIRA, Aline Ramalho Brandão; FREITAS, Diego Antônio França de. **Uso de microorganismos para a biorremediação de ambientes impactados**. 2012.

PRAKASH, Ajeet; BISHT, Sandeep; SINGH, Jagvijay; TEOTIA Priyanku; KELA, Ritu KUMAR, Vivek. **Biodegradation potential of petroleum hydrocarbons by bacteria and mixed bacterial consortium isolated from contaminated sites. Turkish Journal of Engineering & Environmental Sciences**. Vol.1. p. 41 – 50. 2014.

PROCÓPIO, Sergio de Oliveira; PIRES, Fábio Ribeiro; SANTOS, José Barbosa dos; SILVA, Antônio Alberto da. **Fitorremediação de Solos com Resíduos de Herbicidas: fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas. Fitorremediação de Solos com Resíduos de Herbicidas**. 2009.

ROCHA, Ingrid Medeiros Veras. **Remediação de solos contaminados com petróleo empregando a combinação da tecnologia eletroquímica e fitorremediação**. 2019. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

SANTOS, Renata da Matta dos Santos. **Avaliação da adição do pó da casca de cocô verde, como material estruturante, na biorremediação de solo contaminado por petróleo**. 2007. 16f. (Mestrado) – Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

SANTOS, Renata da Matta dos; LEITE, Selma Gomes Ferreira; SOBRAL, Luiz Gonzaga Santos e RIZZO, Andréa Camardella de Lima. **Remediação de solo contaminado por petróleo em biopilhas – ECALA PILOTO**. 2007.

SÃO PAULO. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Áreas contaminadas**. São Paulo: CETESB, 2010.

SÃO PAULO. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea – Valores STI**. São Paulo: CETESB, 2016.

SÃO PAULO. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Relatório de áreas contaminadas e reabilitadas no estado de São Paulo**. 2020.

SÃO PAULO. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Resolução SMA nº 10, de 08 de fevereiro de 2017**. Dispõe sobre a definição das atividades potencialmente geradoras de áreas contaminadas. Secretaria de estado do meio ambiente. São Paulo, 2017.

SÃO PAULO. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Texto explicativo relação de áreas contaminadas e reabilitadas no estado de São Paulo 2020**. 2020.

SÃO PAULO. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Lei Estadual nº 13.542, de 08.05.2009**: Altera a denominação da CETESB - companhia de tecnologia de saneamento ambiental e dá nova redação aos artigos 2º e 10 da lei nº 118, de 29 de junho de 1973. Altera a denominação da CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental e dá nova redação aos artigos 2º e 10 da Lei nº 118, de 29 de junho de 1973. 2018.

SÃO PAULO. **Decreto nº 59.263, de 5 de Junho de 2013**. Regulamenta a Lei nº 13.577, de 8 de julho de 2009, que dispõe sobre diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento de áreas contaminadas, e dá providências correlatas. Assembleia legislativa de São Paulo.

SÃO PAULO. **Decreto nº 64.456, de 10 de setembro de 2019**. Dispõe sobre o procedimento para apuração de infração ambientais e imposição de sanções, no âmbito do sistema estadual de Administração da Qualidade Ambiental, Proteção, Controle e Desenvolvimento do Meio Ambiente e Uso Adequado dos Recursos Naturais - SEAQUA, e dá providências correlatas. Assembleia legislativa de São Paulo.

SÃO PAULO. **Lei nº 13.577, de 8 Julho de 2009**. Dispõe sobre diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento de áreas contaminadas, e dá outras providências correlatas. Assembleia legislativa de São Paulo.

SÃO PAULO. **Resolução SIMA nº 05, de 8 de janeiro de 2021**. Dispõe sobre as condutas infracionais ao meio ambiente e suas respectivas sanções administrativas e dá providências correlatas. Secretaria de Estado De Infraestrutura e Meio Ambiente Gabinete do Secretário.

SARI, Gina Lova; RIHADININGRUM, Yulinah; MATUZAHROH, Ni. **Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Crude Oil Contaminated Soil from Wonocolo Public Oilfields using Aerobic Composting with Yard Waste and Rumen Residue Amendments**. Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems. Vol.3. p 482-492. 2019.

SERGIPE, Sergio de Oliveira Procópio. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Fitorremediação de Solos com Resíduos de Herbicidas**. 2009.

SILVA, Flamys Lena do N; SANTOS, José Ribeiro dos; NETO, Silva, Flumignan, Danilo Luiz; OLIVEIRA, José Eduardo de. **Determinação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos em gasolina comercializada nos postos do estado do Piauí**: Determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in commercial gasoline from Piauí state. 2009.

SILVA, Vera Lucia; ALSINA, Odelsia Leonor Sánchez; GOMES, Wólía Costa. **Utilização do bagaço de cana de açúcar como biomassa adsorvente na adsorção de poluentes orgânicos**. Revista eletrônica de Materiais e Processos, v. 2, p. 27-32, 2007.

SOUZA, Daniela Boaneres; BRITO, Gabriela Cristina Barbosa; VASCONCELOS, Fernanda Carla Wasner; BRAGA, Letícia da Conceição. Estudo de microrganismos presentes em uma área contaminada por gasolina comercial. **Revista de Estudos Ambientais**, 2010. Santa Catarina, v. 12, n. 2, p.1-9.

TAVARES, Silvio Roberto de Lucena. Técnicas de Remediação: conceitos básicos e fundamentos. **Remediação de Solos e Águas Contaminadas**. Rio de Janeiro: Clube de Autores, 2013. 1-198.

TEIXEIRA, Aline Schneider. **Isolamento e Caracterização de Bactérias Degradadoras de Gasolina Comercial**. 2007. 95 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

TONINI, Rita Maria Costa Wetler; REZENDE, Carlos Eduardo de; GRATIVOL, Adriana Daudt. **Degradação e biorremediação de compostos de petróleo por bactérias: Revisão**.2010.

TORTORA, Gerard. J; FUNKE, Berdell. R; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 10^a.ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2012, Cap.1, p.17. ANDERSON, Cynthia; ANDERSON, Rod. 2012.

TRINDADE, P. V. O. **Avaliação das técnicas de bioaugmentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo**. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2002.

VIDALI, M. **Bioremediation an overview**. Pure Appl. Chem., Pádova, Itália: v. 73, n. 7, p. 1163 –1172, 2001.

VIEIRA, Glaucia Eliza Gama; SILVEIRA, Caroline Ramos da. **Avaliação dos principais aspectos da fitorremediação aplicados na redução da poluição no solo e água**: Evaluation of key aspects of phytoremediation applied in reduction of pollution in soil and water. 2011.